

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Ahmed DRAÏA - Adrar**

Code :



**Faculté des Sciences et de la Technologie**  
**Département de Sciences de la Nature et de la Vie**

**Thème :**

---

**L'anémie Hémolytique Auto Immune :**  
**Test De Coombs Direct**

---

**Préparé par :**

**Hamdani Zahia**

**Makhsous Nedjla**

**Ould Seddik Oumelkhier**

**Membres de jury d'évaluation :**

<b>M. BOUSLAH Yahia</b>	<b>Président</b>	<b>MCB</b>	<b>Univ. Adrar</b>
<b>M. MESSAOUDI Mohammed</b>	<b>Encadreur</b>	<b>MAB</b>	<b>Univ. Adrar</b>
<b>M. ZAIDI Raouf</b>	<b>Examineur</b>	<b>MCB</b>	<b>Univ. Adrar</b>

**Année Universitaire : 2021/2022**

## شهادة الترخيص بالإيداع

انا الأستاذ(ة): ..... مسعودي محمد  
المشرف مذكرة الماستر الموسومة بـ :

**L'anémie Hémolytique Auto Immune : Test De Coombs Direct**

من إنجاز الطالب(ة): ..... HAMDANI Zahia

و الطالب(ة): ..... MAKHSOUS Nedjla

و الطالب(ة): ..... OULD SEDDIK Oumelkhier

كلية: ..... علوم و تكنولوجيا

القسم: ..... علوم الطبيعة و الحياة

التخصص: ..... بيوكيمياء تطبيقية

تاريخ تقييم / مناقشة: ..... 2022/06/12

أشهد ان الطلبة قد قاموا بالتعديلات والتصحيحات المطلوبة من طرف لجنة التقييم / المناقشة، وان المطابقة بين  
النسخة الورقية والإلكترونية استوفت جميع شروطها.  
وإمكانهم إيداع النسخ الورقية (02) والإلكترونية (PDF).

- امضاء المشرف:

M ESSADOU

ادرار في ..... 27 جوان 2022



# *Remerciement*

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier tout d'abord et à témoigner toute notre reconnaissance au Bon Dieu le tout puissant pour nous avoir donné l'aide, la santé, la patience le courage et la volonté.

Nous adressons agréablement nous vives remerciements à notre encadreur, qui nous ont aidées à l'élaboration de notre mémoire de fin d'étude :

Mr. Messaoudi Mohammed, pour ses conseils, son encouragement tout au long de la rédaction de ce mémoire et d'avoir bien voulu le diriger.

Nous remercions tout le personnel médical et paramédical d'EPH d'ADRAR lieux de notre stage pratique, pour nous avoir fait partager toute leur expérience, leurs compétences.

Enfin, nous reformulons nos remerciements à toutes les personnes qui ont mis leurs taches dans la réalisation de ce modeste travail, et qui sont si nombreux pour en faire une liste exhaustive.



Dédicace

2022

*Dieu soit loué qui nous a permis de mener à bien ce travail ;  
Je dédie ce modeste travail à mon premier école ; la prunelle de mes yeux ; « ma chère  
maman ».*

*Mon premier enseignant et conseillers, la persévérance et le succès du printemps « mon  
père », que dieu prolonge son âge.*

*Ma grand-mère bien aimée, mes tantes, mes oncles, et surtout ma tante « Aicha », et  
mon oncles « Mohammed » que dieu lui fasse miséricorde et le place dans ses paradis ;  
et tout la famille HAMDANI.*

*À ceux qui ont tout partagé avec moi dans leur vie, à ceux qui attendaient ma réussite  
avec des regards pleins d'espoir mes frères : « Mohammed », « Noureddine », «  
Abderrahmane », « Abdelmalek », « Mourad » et ses épouses, et mon petit frère «  
Abderrahime » surtout mon frère « Mourad »*

*Qui m'a soutenu tout au long de mon parcours académique.*

*Mes sœurs, mes amours « Fatima Zohra », « Bouchra » et « Zohra » je vous aime.*

*À mon cher neveu « moeniss » que Dieu le protège.*

*Ma copine qui m'a partagé ce travail « Oumelkheir »*

*À mes amies qui m'a partagé la résidence universitaire « Nassira », « chahrazed  
»*

*À mes amies qui m'ont réuni à l'école « Rabiaa M »  
, « Chaima B », « Ibtissem M », « Zineb T », « Iman R » et « Fatima Zohra M » que  
Dieu les garde.*

*Monsieur l'encadreur « Mohammed Messaoudi » qui nous ont aidées à l'élaboration  
de notre mémoire de fin d'étude un grand merci pour lui.*

*À tous ceux qui m'ont appris une lettre, je n'oublierai jamais vos efforts.*

*À ceux qui j'ai eu le plaisir d'accompagner ... aux étudiants de collège de sciences  
naturelle et de la vie promotion 2022 ... je dédie ce travail.*

Zahia





Dédicace

2022

*Je dédie ce travail a mon soutint et source de joie et de Bonheur a mon père "Ahmed"*

*A la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur qui nourrir mon fils mes chères  
mamans "Djemaa"*

*A mes frères et mes sœurs chaque un à son nom*

*A mon mari qui m'a soutien financièrement et moralement mon cher "Samir (Tahar)" et  
mon petit "Abd elkayoum"*

*A tous mes oncles et tantes*

*A ma grande famille : Makhsous, Boullahi, Hamdani et Foullani*

*A mes trinôme : Zahia et Oumelkhier*

*A mes chères amies : Nawal, Salima, Aicha, Fadila*

*Tous mes voisins et tous les habitants de BEN AID AOUGROUT*



Nedjla





Dédicace

2022

*Je dédie ce travail à mes parents*

*Vous m'avez appris à balbutier mes premières paroles, à faire mes premiers pas dans la vie, à sourire. Vous avez fait tant de sacrifices pour mon éducation et mes études. Vous m'ont comblé par votre générosité.*

*A mon grand-père « MOHAMMED » et ma grand-mère « Mabroka »*

*A mes chères sœurs « Houda » « Ayate-allah » et « Roufaïda » et mes chères frères « Abdelhamide » « Mohamed el fatih » et surtout mon frère « Mustapha » pour l'épaule inconditionnelle que vous représentez pour moi. Que dieu te protèges et consolides les liens sacrés qui nous unissent, et réserve le meilleur avenir et beaucoup de bonheur*

*A toute les membres de ma famille mes tantes et oncles et tous les cousins et cousines surtout surtout ma tante marieme et ta petite famille mon oncles « salem » et mes petites cousine « arwa » et « moaade »*

*A mes chères amies « Zahia » « Rabiaa » « Chaimaa » « Kheira » « Fatima Zohra » et « iman »*

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des confrères sur qui je peux compter, en témoignage de l'amitié qui nous unie et des souvenirs de tout les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur. Monsieur l'encadreur « Mohammed Messaoudi »*

*A tous mes amis et camarades de promotion*

*A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail*

Oum elkhier



## ***Table des matières***

<i>Résumé</i> .....	v
<i>Liste des figures</i> .....	vi
<i>Liste des tableaux</i> .....	viii
<i>Liste des abréviations</i> .....	viii
<i>Introduction générale</i> .....	1
<i>I.1. Le sang</i> .....	2
<i>I.1.1. Définition:</i> .....	2
<i>I.2. Généralité sur le sang:</i> .....	2
<i>I.2.1. Erythropoïèse:</i> .....	2
<i>I.2.1.a. Définition :</i> .....	2
<i>I.2.1.b. facteurs impliquées dans l'érythropoïèse:</i> .....	3
<i>I.2.1.c. Régulation de l'érythropoïèse:</i> .....	5
<i>I.2.1.d. Les étapes et morphologie:</i> .....	5
<i>I.3. Les globules rouges :</i> .....	6
<i>I.3.1. Définition:</i> .....	6
<i>I.3.2. Morphologie :</i> .....	7
<i>I.3.2.a. Morphologie normale :</i> .....	7
<i>I.3.2.b. Anomalie de taille :</i> .....	7
<i>I.3.2.c. Anomalie de coloration :</i> .....	7
<i>I.3.2.d. Anomalie de forme :</i> .....	8
<i>I.4. La fonction :</i> .....	16
<i>I.5. Les globules blancs :</i> .....	16
<i>I.5.1. Les monocytes :</i> .....	17

---

<i>I.5.2. Les granulocytes (polynucléaires) :</i>	17
<i>I.5.3. Les lymphocytes:</i>	17
<i>I.6. Les plaquettes :</i>	18
<i>I.6.1. Définition :</i>	18
<i>I.6.2. Morphologie :</i>	19
<i>I.6.3. Fonction des plaquettes:</i>	19
<i>I.6.4. Le plasma :</i>	20
<i>I.6.4.a. Fonction de plasma:</i>	20
<i>II.1. Généralité</i>	23
<i>II.1.1. L'anémie</i>	23
<i>II.1.2. l'héogramme :</i>	23
<i>II.1.3. Les causes :</i>	24
<i>II.1.4. Principaux types d'anémie</i>	24
<i>II.2. L'anémie hémolytique auto immune</i>	25
<i>II.2.1. Définition :</i>	25
<i>II.2.1.a. Historique :</i>	26
<i>II.2.2. Classification :</i>	26
<i>II.2.2.a. Classification immunologique :</i>	26
<i>II.2.2.b. Classification étiologique :</i>	28
<i>II.2.2.c. Classification évolutive :</i>	28
<i>II.3. Symptômes</i>	29
<hr/>	
<i>II.4. Diagnostique</i>	29
<i>II.4.1. Diagnostic clinique :</i>	30
<i>II.4.1.a. Formes aiguës :</i>	30
<i>II.4.1.b. formes chroniques et subaiguës :</i>	30
<i>II.4.1.c. Dans les formes idiopathiques :</i>	30

<i>II.4.1.d. Les AHAI à auto-anticorps « froids »</i>	31
<i>II.4.2. Diagnostic biochimique</i>	31
<i>II.5. Traitement</i>	32
<i>II.5.1. Méasure générale</i>	Erreur ! Signet non défini.3
<i>II.5.2. traitement des anémies hémolytique auto-immunes à auto-anticorps « chauds »</i>	34
<i>II.5.2.a. traitement des formes chroniques à auto-anticorps « chauds »</i>	34
<i>II.5.2.a. transfusion</i>	34
<i>II.5.2.a. corticothérapie</i>	35
<i>II.5.2.a.c. la splénectomie</i>	35
<i>II.5.2.a.d. rituximab</i>	36
<i>II.5.2.a.e. Les autres traitements immunosuppresseurs</i>	36
<i>II.5.2.a.f. Danazol</i>	37
<i>II.5.3. Mesure d'ordre générale</i>	38

---

<i>III.1. Définition</i>	41
<i>III.2. Historique</i>	42
<i>III.3. Application</i>	42
<i>III.4. Mécanisme</i>	42

---

<i>I.1. Objectif</i>	47
<i>I.2. Technique de prélèvement</i>	47
<i>I.2.1. Principe</i>	47
<i>I.2.1.a. Prélèvement de sang veineux</i>	47
<i>I.2.1.b. Prélèvement de sang artériel</i>	47
<i>I.2.1.c. Prélèvement capillaire</i>	47
<i>I.2.1.d. L'application de la piqûre</i>	47
<i>I.2.1.e. Techniques de prélèvement : Description des étapes</i>	47
<i>I.2.1.f. Matériels</i>	48
<i>I.3. Discussion</i>	49
<i>I.3.1. Leucocytes</i>	50
<i>I.3.2. Plaquettes</i>	50
<i>I.3.3. Réticulocytes</i>	50

---

<i>I.3.4. Myélogramme :</i> .....	<b>51</b>
<i>I.4. Diagnostic biochimique :</i> .....	<b>51</b>
<i>I.5. Diagnostic immuno-hématologique :</i> .....	<b>51</b>
<i>I.5.1. Test de Coombs direct :</i> .....	<b>52</b>
<i>I.5.1.a. Principe et technique:</i> .....	<b>52</b>
<i>I.5.1.b. Sensibilité et limites :</i> .....	<b>54</b>
<i>I.5.2. Faux positifs :</i> .....	<b>54</b>
<i>I.5.3. Faux négatifs :</i> .....	<b>54</b>
<i>I.6. Résultat :</i> .....	<b>55</b>
<i>Conclusion</i> .....	<b>56</b>
<i>Bibliographie</i> .....	<b>ix</b>

---

# Résumé

## Résumé :

Le terme « anémie » se rapporte à une diminution du nombre de globules rouges et du taux d'hémoglobine dans le sang. Le terme « hémolytique » indique que la diminution des globules rouges est liée à leur destruction prématurée. Le terme « auto-immune » signifie que cette destruction est due à un anticorps produit par votre système immunitaire et dirigé contre vos propres globules rouges. Le diagnostic des anémies hémolytiques auto-immunes est un diagnostic clinico-biologique. Le test de Coombs directe (TDA) est la pierre angulaire de l'enquête étiologique d'une anémie hémolytique. Il permet de caractériser le mécanisme de l'hémolyse: immunologique ou non immunologique. Une attention particulière doit être apportée à l'interprétation des résultats du TDA. Nous ferons la synthèse du diagnostic immuno-hématologique à entreprendre devant la suspicion d'une AHAI. Cette exploration biologique répond à un triple objectif : établir le diagnostic et le type du conflit auto-immun, détecter les facteurs prédictifs de sévérité et garantir la sécurité transfusionnelle. Nous proposerons à la fin un algorithme du diagnostic immunohématologique des AHAI.

## ملخص:

يشير مصطلح "فقر الدم" الى انخفاض عدد خلايا الدم الحمراء ومستوى الهيموغلوبين في الدم . يشير مصطلح "الانحلالي" إلى أن الانخفاض في خلايا الدم الحمراء مرتبط بتدميرها المبكر ويشير مصطلح "المناعة الذاتية" يعني أن هذا التدمير ناتج عن الجسم المضاد الذي ينتجه الجهاز المناعي والموجه ضد خلايا الدم الحمراء الخاصة بك. تشخيص فقر الدم الانحلالي المناعي الذاتي هو تشخيص سريري بيولوجي. اختبار كومبس المباشر هو حجر الأساس في التحقيق المسبب للمرض. والذي يسمح بوصف آلية انحلال الدم: مناعي أو غير مناعي. يجب النظر بعناية في تفسير نتائج اختبار كومبس المباشر. نلخص التشخيص الدموي المناعي الذي سيتم إجراؤه في حالة الاشتباه في الإصابة بفقر الدم الانحلالي المناعي الذاتي يلي هذا الاستكشاف البيولوجي هدفًا ثلاثيًا: تحديد التشخيص ونوع الاشتباك المناعي الذاتي واكتشاف العوامل المسببة وضمان سلامة نقل الدم. في النهاية نقترح خوارزمية لتشخيص علم الدم المناعي لفقر الدم الانحلالي المناعي الذاتي .

## Abstract

The term "anemia" refers to a decrease in the number of red blood cells and the level of hemoglobin in the blood. The term "haemolytic" indicates that the reduction of red blood cells is linked to their premature destruction. The term "autoimmune" means that this destruction is due to an antibody produced by your immune system and directed against your own red blood cells. The diagnosis of autoimmune hemolytic anemia is a clinical-biological diagnosis. The diagnosis of autoimmune hemolytic anemia is a clinical-biological diagnosis. The direct Coombs test (DDT) is the cornerstone of the etiological investigation of hemolytic anemia. It allows characterization of the mechanism of hemolysis: immunological or non-immunological. Special attention should be paid to the interpretation of TDA results. We will summarize the immuno-hematological diagnosis to be undertaken in the event of the suspicion of an AHAI. This biological exploration meets a triple objective: establish the diagnosis and type of autoimmune conflict, detect predictive factors of severity and guarantee transfusion safety. At the end, we will propose an algorithm for the immuno-hematology diagnosis of AHAI .

## Liste des figures

<i>Figure.1. Morphologie de sang.....</i>	<b>2</b>
<i>Figure.2. Morphologie des globules rouges .....</i>	<b>6</b>
<i>Figure.3. Echinocyte .....</i>	<b>8</b>
<i>Figure.4. Acanthocyte.....</i>	<b>9</b>
<i>Figure.5. Schizocyte .....</i>	<b>10</b>
<i>Figure.6. Stomatocyte ou mouth cell .....</i>	<b>10</b>
<i>Figure .7. Elliptocyte ou ovalocyte .....</i>	<b>11</b>
<i>Figure .8. Microsphérocyte .....</i>	<b>12</b>
<i>Figure .9. Cellule cible ou target cell, hématie en cloche, codocyte .....</i>	<b>13</b>
<i>Figure .10. Dacryocytes ou hématies en larme, en poire ou en raquette .....</i>	<b>14</b>
<i>Figure.11. Cet aspect correspond à une hypochromie, le plus souvent observée au cours des grandes anémies ferriprives. ....</i>	<b>14</b>
<i>Figure .12. Poïkilocytose .....</i>	<b>15</b>
<i>Figure .13. Rouleaux d'hématies .....</i>	<b>16</b>
<i>Figure .14. Morphologie des globules blancs .....</i>	<b>17</b>
<i>Figure .15. Morphologie des plaquettes .....</i>	<b>18</b>
<i>Figure .16. Morphologie des plaquettes au repos (A) et après activation (B). (C). La membrane plasmique et le cytosquelette. (D). Les différents organites .....</i>	<b>19</b>
<i>Figure .17. Stratégie thérapeutique pour la prise en charge des AHAI à anticorps chauds de l'adulte .....</i>	<b>37</b>
<i>Figure .18. test de coombs direct.....</i>	<b>501</b>
<i>figure.19. Test antiglobuline direct.....</i>	<b>44</b>
<i>figure .20. Frottis du sang périphérique avec des microsphérocytes.....</i>	<b>49</b>

*Figure .21. Agglutination des hématies en présence d'agglutination froides.....50*  
*Figure .22. Réactif anti globuline polyvalente polyspécifiques .....52*

## Liste des tableaux

<i>Tableu.1. Principaux types d'anémie .....</i>	<b>25</b>
<i>Tableu.2. Classification et caractéristiques principales des AHAI .....</i>	<b>288</b>
<i>Tableu.3. Traitements des anémies hémolytiques auto-immunes proposés jusqu'en 2010, selon des groupes d'experts, d'après Lechner et Jäger .....</i>	<b>33</b>
<i>Tableu.4. Un tableau montrant les résultats obtenus .....</i>	<b>55</b>

---

## Liste des abréviations

<b>AAC</b>	Auto anticorps
<b>AC</b>	Anti corps
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AF</b>	Agglutination froidrs
<b>Ag</b>	Antigène
<b>AHAI</b>	Anémie hémolytique auto-immune
<b>AHAic</b>	Anémie Hémolytique auto-immune à anticorps « chauds »
<b>AMM</b>	Autorisation de mise sur le marché
<b>APL</b>	Anticorps anti phospholipides
<b>AZT</b>	La zidovudine (médicament)
<b>CDC</b>	Cytotoxicité dépendante du complément
<b>CF</b>	Cryométrie en flux
<b>CMH</b>	Complexe majeur d'histocompatibilité
<b>EPO</b>	Erythropoïétine
<b>GR</b>	Globule rouge
<b>HB</b>	Hémoglobine
<b>Hgb</b>	Hémoglobine
<b>HLA</b>	Humann Leucocyte Antigène
<b>HPF</b>	Hémoglobinurie Paroxystique à Figure

<b>Ig</b>	Immunoglobuline
<b>IV</b>	Intraveineux
<b>LB</b>	Lymphocytes B
<b>LDH</b>	Lactico-déshydrogénase
<b>LEMP</b>	leuco-encéphalopathie multifocale progressive
<b>LES</b>	Lupus érythémateux systémique
<b>LLC</b>	Leucémie lymphoïde chronique
<b>LT</b>	Lymphocytes T
<b>MAI</b>	Maladie auto-immune
<b>MCAF</b>	Maladie chronique des agglutinines «froides
<b>MMF</b>	Mycophénolate mofétil
<b>NFS</b>	Numération et formule sanguine
<b>Rh</b>	Rhésus
<b>Rituximab</b>	RTX
<b>TAI</b>	Thrombopénie auto-immune
<b>TCMH</b>	Teneur corespulaire moyenne en hémoglobine
<b>TDA</b>	Test direct à l'anti globuline
<b>VGM</b>	Volume globulaire moyenne

## Introduction générale

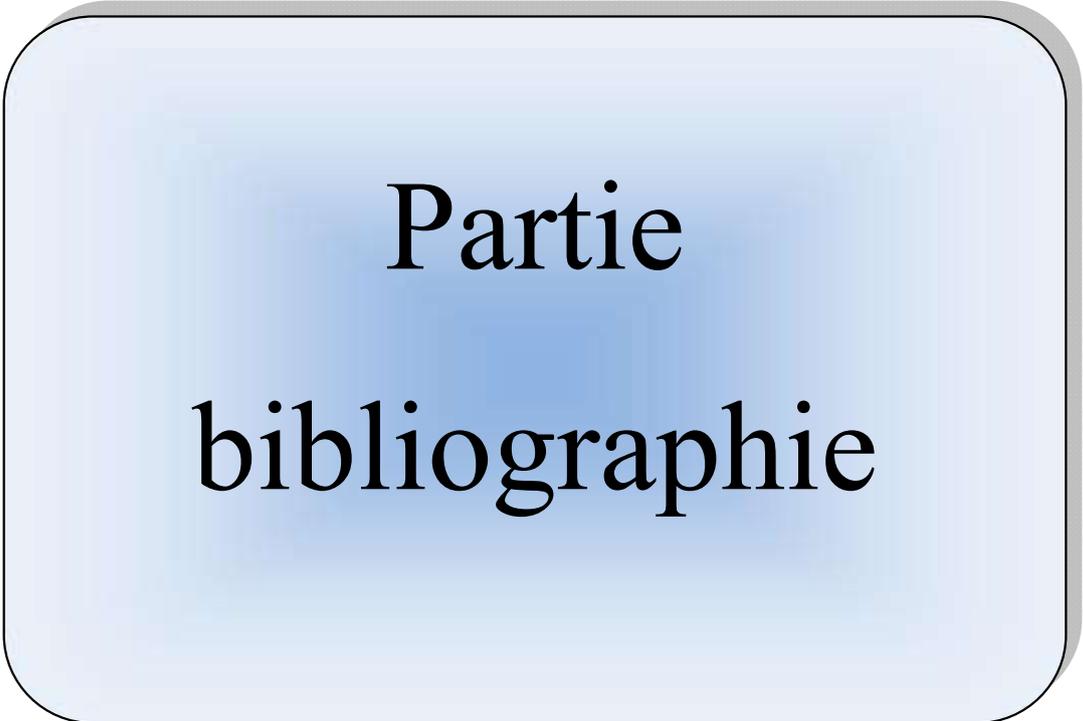
Les anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI) proviennent d'un conflit entre un anticorps produit par le sujet lui-même contre un antigène de ses propres hématies. Les conséquences de ce conflit sont variables dans leur expression clinique et immuno hématologique, pouvant engendrer une anémie extrêmement brutale et sévère.

L'AHAJ est cliniquement caractérisée par l'existence d'une anémie hémolytique combinée à un test direct à l'anti globuline (test de Coombs direct) positif, qui reste un diagnostic obligatoire et incontournable bien que parfois non définitif. Toutefois, un test de Coombs direct négatif n'a pas définit une AHAJ. **(Sacha Z, 2010)**

Les causes précises de la survenue de cette hémolyse auto-immune ne sont pas connues chez la plupart des patients qui sont atteints d'AHAJ. Dans de rares cas, cette maladie est due par une infection, ou la prise d'un médicament. Chez environ la moitié des patients, l'AHAJ est généralement associée avec une autre maladie, celle-ci pouvant être elle aussi auto immune ou associée à un excès de lymphocytes par dérèglement du système lymphatique.

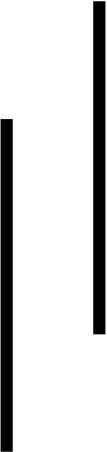
On a vu plusieurs formes d'AHAJ en fonction des caractéristiques de l'anticorps responsable de la maladie. Le plus souvent, il s'agit d'anémies hémolytiques auto-immunes dites à « anticorps chauds ». A l'inverse, il existe des AHAJ dites à « anticorps froids » au cours desquelles la destruction des globules rouges est attaquée par l'exposition au froid.

L'anémie hémolytique auto-immune peut s'observer à tout âge, mais elle est plus fréquente chez les personnes âgées de 60 à 70 ans. Elle touche un peu plus de femmes (60 %) que d'hommes. L'AHAJ n'est ni contagieuse, ni héréditaire. **(sokol RJ, Stamps R et al., 2002)**

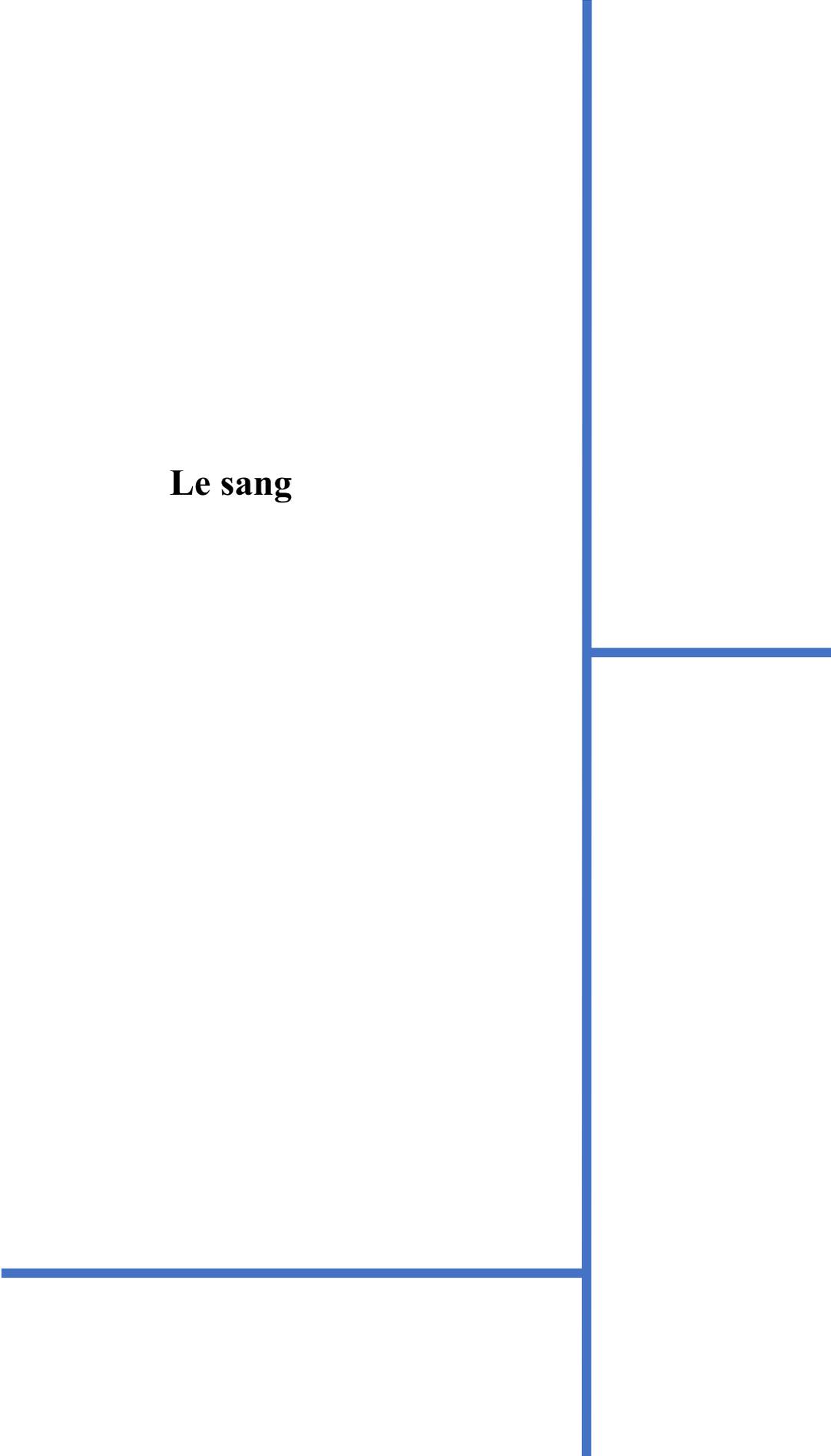


Partie  
bibliographie

Chapitre I:



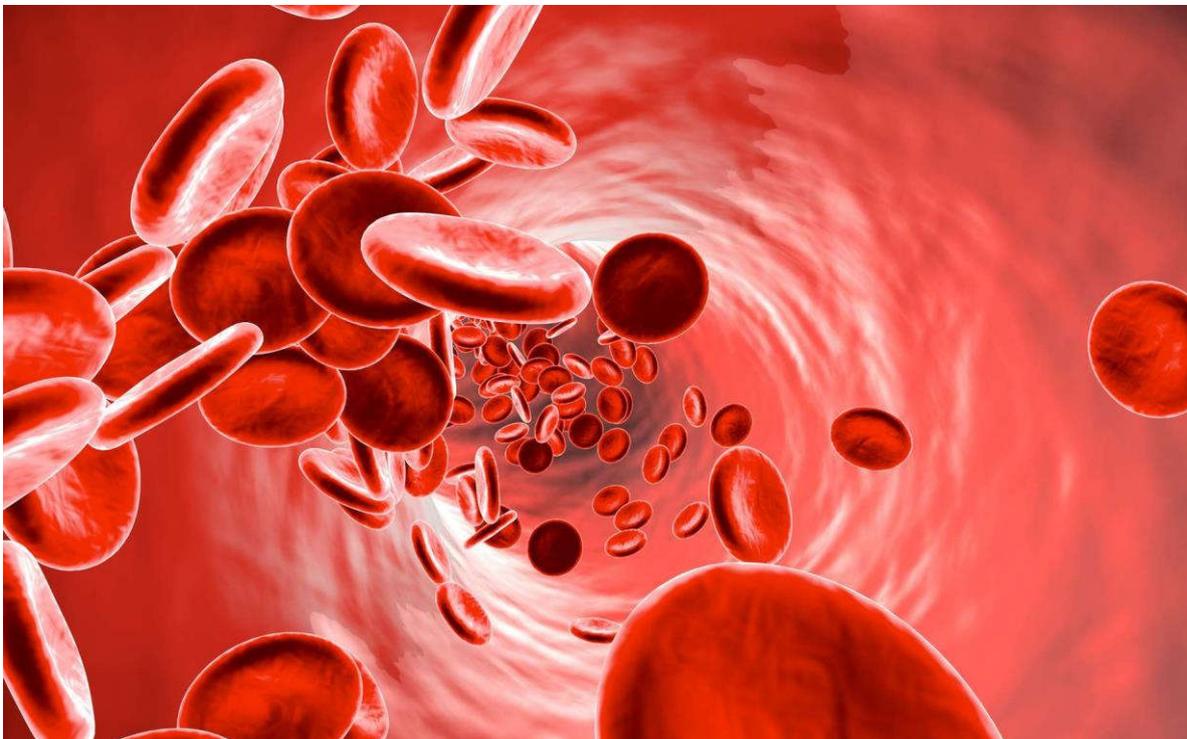
**Le sang**



## I.1. Le sang

### I.1.1. Définition:

Le sang, est un fluide qui transporte l'oxygène et les nutriments vers les cellules et élimine le dioxyde de carbone et d'autres déchets. Techniquement, le sang est un liquide de transport pompé par le cœur (ou une structure équivalente) vers toutes les parties du corps, après quoi il est renvoyé au cœur pour répéter le processus. Le sang est à la fois un tissu et un fluide. C'est un tissu car c'est un ensemble de cellules spécialisées similaires qui remplissent des fonctions particulières. Ces cellules sont en suspension dans une matrice liquide (plasma), ce qui rend le sang fluide. Si le flux sanguin arrête, la mort surviendra en quelques minutes en raison des effets d'un environnement défavorable sur des cellules très sensibles. (C. lockrd Conley,2020)



**Fig 1 : Morphologie de sang** ([www.futura-sciences.com](http://www.futura-sciences.com))

## I.2. Généralité sur le sang:

### I.2.1. Erythropoïèse:

#### I.2.1.a. Définition :

L'érythropoïèse est l'évolution de formation des GR matures. Cette production représente la productivité du système hématopoïétique, avec une production estimée à 200 milliard d'hématies par jour. Cette formation est réglée par l'effet combiné du microenvironnement et des facteurs de croissances comme l'Epo (facteur de croissance majeur de l'érythropoïèse),

Le proérythroblaste (premier précurseur) se divise pour donner un érythroblaste basophile puis polychromatophile, puis acidophile qui expulse son noyau en sortant de la moelle, devenant un réticulocyte. Celui-ci se transforme au bout de 48 heures en hématies, dont la durée de vie dans la circulation est de 120 jours. Lors des stades hâtifs, la prolifération cellulaire est nécessaire qui demande la synthèse d'ADN, puis à un stade un peu plus tardif, la synthèse d'hémoglobine, nécessite de la globine (donc des acides aminés) et du fer. Les cellules se divisent et se différencient en fabriquant de l'Hb, jusqu'à ce qu'une certaine concentration de celle-ci soit obtenue dans le cytoplasme des érythroblastes, leur signalant qu'ils doivent bloquer de se diviser et terminer leur maturation. (J.J Lefrère et al, 2009)

### **I.2.1.b. facteurs impliqués dans l'érythropoïèse:**

#### **L'évolution de la lignée érythroblastique comporte :**

- des divisions cellulaires au cours desquelles un précurseur érythroblastique, après 4 mitoses, donne naissance à 16 globules rouges. Ces divisions nécessitent donc la synthèse d'ADN.
- une maturation cytoplasmique avec spécialisation extrême. Les cellules érythroblastiques synthétisent de grands volumes d'hémoglobine, après expulse petit à petit tous les organites, noyaux, ribosomes, mitochondries. Le globule rouge majeur ne contient plus que de l'hémoglobine et les enzymes nécessaires au maintien de sa structure.

#### ❖ Les éléments nécessaires à la synthèse de l'ADN :

Ce sont d'une part les acides nucléiques, et d'autre part des vitamines : la vitamine B 12 et les folates.

Elles agissent sur les mitoses de toutes les cellules mais particulièrement sur celles des érythroblastes.

#### -La vitamine B12 (cobalamine)

- Origine : elle est apportée par des aliments d'origine animale: viande, lait, œufs et non par les végétaux. Elle est très répandue et abondante de telle sorte que la carence d'apport est rare, sauf chez les végétariens stricts.
- Les besoins sont de quelques µg (2-5 µg/jour)
- Absorption : elle se fait par l'iléon distal. Elle nécessite un facteur synthétisé par les cellules gastriques : le facteur intrinsèque (FI). Le FI et la vitamine B12 (vit B12) forment un complexe qui est absorbé, mais seule la vit B12 passe dans le sang.
- En pathologie: Il existe une maladie rare, caractérisée par une atrophie de la muqueuse gastrique qui entraîne un déficit de sécrétion du FI. Elle a pour conséquence l'absence d'absorption du vit B12, responsable de l'anémie de Biermer

- Transport : le vit B12 se fixe sur des globulines les transcobalamines. Certaines sont sécrétées par les cellules granuleuses. Ceci explique que l'augmentation des granuleux s'accompagne d'une augmentation de la vit B12. Ce phénomène s'observe principalement dans le cadre des leucémies myéloïdes chroniques (LMC) où les globules blancs sont très augmentés.
- Stockage de la vit B12 : il est hépatique (2- mg). Les réserves peuvent assurer les besoins pendant 3 à 4 ans. Ceci explique qu'après une gastrectomie totale supprimant la sécrétion de facteur intrinsèque, une anémie ne survienne, en l'absence d'apport thérapeutique de vit B12, qu'après ce délai.
- Elimination : elle est très faible et s'effectue à parties égales dans les selles et les urines.

#### -Les folates:

Sous ce nom on désigne différents dérivés de l'acide folique.

- Origine : elle est alimentaire, les folates étant présents dans les végétaux frais et certains aliments d'origine animale.
- Besoins quotidiens : 100 à 200 µg
- Absorption : s'effectue au niveau du duodénum et du jéjunum proximal.
- Transport : il se fait par liaison à diverses protéines sériques.
- Stockage : dans le foie. Mais les réserves sont relativement faibles (5 à 15 mg) et ne couvrent les besoins que pour 3-4 mois.

#### ❖ Les éléments nécessaires à la synthèse de l'Hb :

Les acides aminés sont nécessaires à la synthèse des chaînes de globine. Une carence protéique entraîne une anémie.

Les vitamines. La vitamine B6 ou pyridoxine intervient dans la synthèse de l'hème. En son absence il y a anémie par insuffisance de l'hémoglobinosynthèse avec augmentation des sidéroblastes (anémie sidéroblastique). Le défaut d'apport n'existe pas, mais il peut y avoir des carences par antagonisme de certains médicaments avec la vitamine. La vitamine C intervient dans le métabolisme du fer (absorption digestive).

Le fer est un élément fondamental à toutes les cellules. C'est le plus abondant des métaux de l'organisme et entre dans la composition de l'hème. Une carence en fer est causé un défaut dans la synthèse de l'Hb, et cela provoque une anémie dite hypochrome (les globules rouges sont peu colorés parce qu'ils contiennent peu d'hémoglobine), sidéropénique (par manque de fer). Dans cette anémie les globules rouges sont petits car les divisions sont normales (ADN normal) mais le cytoplasme est pauvre en hémoglobine. C'est la cause d'anémie la plus fréquent

### **I.2.1.c. Régulation de l'érythropoïèse:**

L'érythropoïétine est le principal facteur de régulation de l'érythropoïèse dont l'activité consiste à remplacer les globules rouges sénescents par de jeunes réticulocytes. L'érythropoïèse peut être huit fois plus active dans un grand nombre de situations cliniques, comme une hémorragie, une hémolyse, ou une diminution de l'apport en oxygène aux tissus. L'érythropoïétine est le facteur primaire d'induction de l'érythropoïèse par l'hypoxie, car la production de l'érythropoïétine par le rein est régulée par l'apport en oxygène. L'érythropoïétine agit en se liant à son récepteur spécifique présent sur les progéniteurs érythroïdes permettant de protéger ces progéniteurs de l'apoptose, entraînant ainsi leur prolifération et l'induction de leur différenciation terminale. Le dosage de l'érythropoïétine circulante est une aide à la prise en charge des pathologies liées à l'érythropoïétine (polyglobulies ou anémies). Un taux bas d'érythropoïétine est retenu comme un des critères (critère mineur) pour le diagnostic d'une polyglobulie primitive (ou de vaquer). À l'inverse, un taux élevé d'érythropoïétine doit faire rechercher une sécrétion anormale d'érythropoïétine dans le cas des polyglobulies secondaires. (M.-H. Schlageter, C. dosquet, C.chomienne)

### **I.2.1.d. Les étapes et morphologie:**

Les précurseurs médullaires de l'évolution de la lignée érythroblastique. Elle se caractérise par une diminution progressive de la taille des cellules après chaque globule rouge sont les érythroblastes. Dans la moelle osseuse normale ils représentent environ 20% des cellules nucléées. Leur différenciation dure en moyenne 7 jours de mitose. Le noyau se condense au cours des divisions cellulaires successives, il devient ensuite picnotique et est expulsé. Le cytoplasme, très basophile chez les cellules jeunes, devient acidophile au fur et à mesure de la synthèse de l'Hb et de la disparition des ribosomes. La cellule souche orientée vers la lignée érythroïde est dénommée BFU-E (burst forming unit). Elle évolue vers les CFU-E (colony forming unit) qui, sous l'effet d'une hormone, l'érythropoïétine, vont se différencier et se diviser pour donner naissance au proérythroblaste.

- Le proérythroblaste est une cellule de grande taille au noyau rond et au cytoplasme très basophile.
- Les divisions successives vont conduire à l'érythroblaste basophile (au cytoplasme bleu au MGG), à l'érythroblaste polychromathophile (cytoplasme gris verdâtre), et à l'érythroblaste acidophile (cytoplasme rose). Ces cellules contiennent encore un noyau qui va être expulsé en bloc ou fragmenté et est phagocyté par les macrophages.

Elles donnent alors naissance au réticulocyte dont la maturation va conduire au globule rouge mature.

Le réticulocyte est un globule rouge jeune venant d'être formé par la moelle osseuse et contenant encore un érythrocyte.

Un peu d'ARN. Il a la morphologie du globule rouge adulte avec cependant un volume un peu plus grand. Il ne comporte pas de noyau. Le réticulocyte vit environ 24 heures dans la moelle, puis il en sort par diapédèse grâce à des mouvements pseudopodiques, et passe dans le sang où il poursuit sa maturation. En 24 heures environ le réticulocyte perd l'ARN qu'il contient et se transforme alors en un globule rouge adulte. (Martinez, 2007)

### I.3. Les globules rouges :

#### I.3.1. Définition:

Les globules rouges (hématies, érythrocytes, normocytes) sont des cellules anuclées, en formes de disque biconcave, d'environ 7,5  $\mu\text{m}$  de diamètre. Le volume globulaire moyen est de 85 à 95  $\mu\text{m}^3$ .

Le rôle principal des globules rouges est de maintenir à l'état fonctionnel le pigment respiratoire qu'est l'hémoglobine. La concentration normale de l'hémoglobine dans le sang est 13 à 18 g/100ml chez l'homme et de 12 à 16 g/100ml chez la femme. La membrane plasmique de l'hématie porte des antigènes qui déterminent les groupes sanguins (A, B, O, Rhésus, etc.). La durée de vie des globules rouges est de 120 jours.



**Fig 2 : Morphologie des globules rouges** ([www.futura-sciences.com](http://www.futura-sciences.com))

### **I.3.2. Morphologie :**

#### **Morphologie microscopique optique : le globule rouge adulte normal :**

Il s'agit d'une cellule de 5 à 7  $\mu\text{m}$  de diamètre d'aspect homogène, coloré en orangé au May Grunwald Giemsa. Son épaisseur est de 1,8  $\mu\text{m}$ . Son volume moyen est de 90 fentolitres ( $\mu\text{m}^3$ ). Le nombre de globules rouges est d'environ 5 tera/l (millions/ $\text{mm}^3$ ), la taux est peu élevé chez l'homme par rapport les femmes (5,7 et 4,5 tera/l). (Kohler,2008)

#### **Morphologie des globules rouges normales et pathologiques :**

L'étude de la morphologie de ces cellules vient compléter la numération globulaire, apportant souvent un au diagnostic de différente pathologie concernée par ces cellules.

On peut observer les hématies à l'état frais, entre lame et lamelle ou sur un frottis sanguin, après coloration.

A partir les techniques de coloration utilisées, elles présentent rouge-brun (coloration de Wright) ou rose (May- Grunwald-Giemsa . dans le cas de variations de pH des colorants, elles peuvent apparaitre plus grises.

#### **I.3.2.a. Morphologie normales :**

Une hématie est une cellule anucléé avait un forme d'un disque biconcave...; Sa taille est d'environ 7 microns de diamètre et 2,5 microns d'épaisseur.

Il existe une zone centrale plus claire, l'hémoglobine se distribuant de façon majoritaire en périmètre de la cellule.

#### **I.3.2.b. Anomalies de taille :**

- La microcytose caractérise des hématies de taille inférieure à la normale et s'observe surtout au cours des anémies ferriprives et des thalassémies.
- La macrocytose correspond à des hématies de taille supérieure à la normale. Elle s'observe au cours de différentes dysérythropoïèses (anomalie de synthèse au niveau de la moelle, avec érythropoïèse inefficace) : carence en folates ou vitamine B12, alcoolisme, traitement par AZT. Les hématies de grande taille observées sur frottis évidence après coloration au bleu de crésyl.
- L'anisocytose est définie par une grande diversité de taille des hématies sur un même frottis.

#### **I.3.2.c. Anomalie de coloration :**

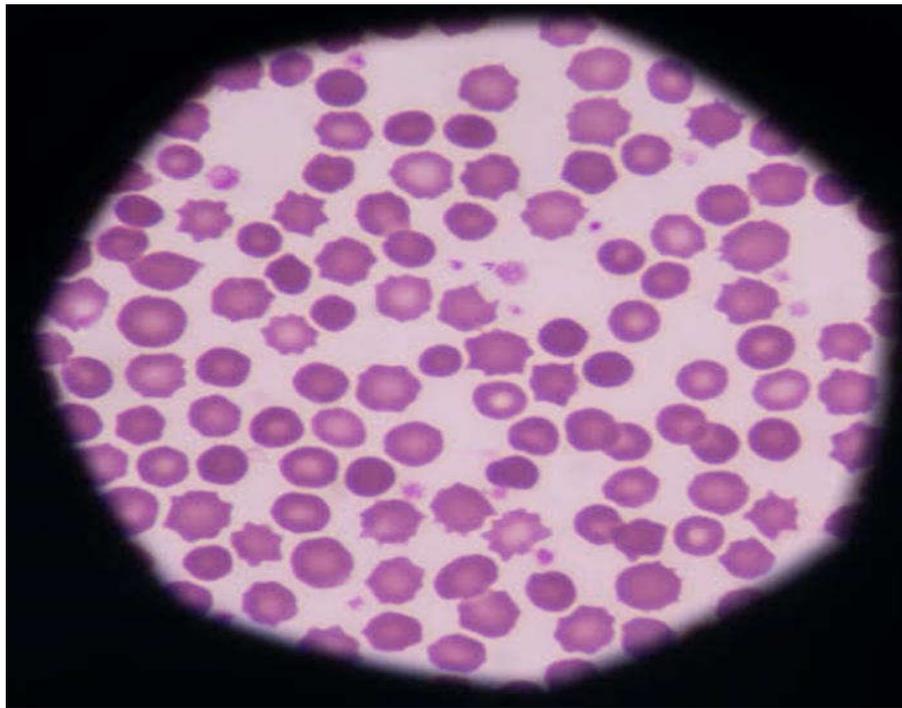
- L'hypochromie est la diminution de coloration des hématies, généralement associée à une microcytose au cours de anémies ferriprives, ou à une macrocytose au cours des dysérythropoïèses.

- L'anisochromie est définie par la variabilité de l'intensité de coloration des hématies sur un même frottis.
- La polychromatophilie est caractérisée par une variabilité de coloration des hématies qui peuvent présenter des teintes différentes sur un même frottis, de façon plus ou moins homogène. Elle s'observe au cours des anémies hémolytiques et des dysérythropoïèses. (Françoise Balédent , 2002)

#### I.3.2.d. Anomalie de forme :

##### 1. Echinocyte: il nommé aussi cellules crénelée,

- Il s'agit d'une hématie en forme de disque ou de sphère, hérissée de spicules fins, régulièrement distribue sur toute la surface de la cellule;
- Cet aspect correspond souvent à un artéfact : frottis mal séché ou sang trop longtemps conservé. On peut cependant observer des échinocytes au cours de différents états pathologiques : urémie, pathologie gastrique tumorale ou ulcéreuse. (Medialab , 2013)

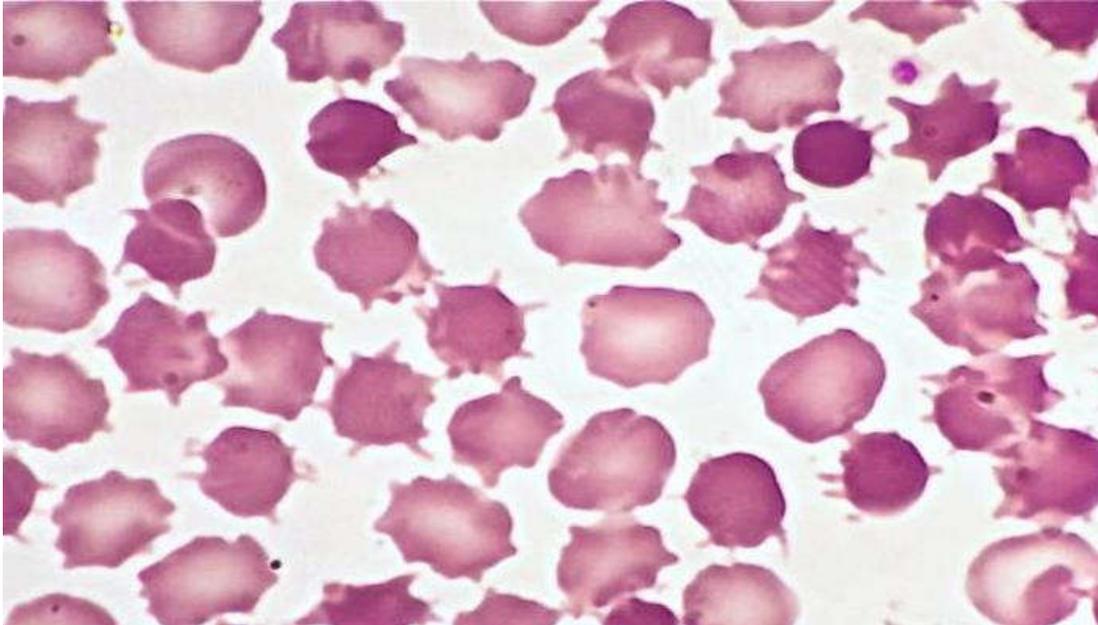


**Fig 3 : Echinocyte ( Medialab , 2013 )**

##### 2 . A c a n t h o c y t e :

L'hématie présente des épines irrégulières en nombre divers (3 à 12) de taille, et de distribution inégale, fréquemment terminés par une extrémité bombée,

On observe les acanthocytes essentiellement au cours de cirrhoses éthyliques sévères, mais également en cas d'abéta-lipoprotéïnémie, après splénectomie, au cours de malabsorption. (**Alarcon ,2011**)



**Fig 4 :Acanthocyte (Alarcon , 2011)**

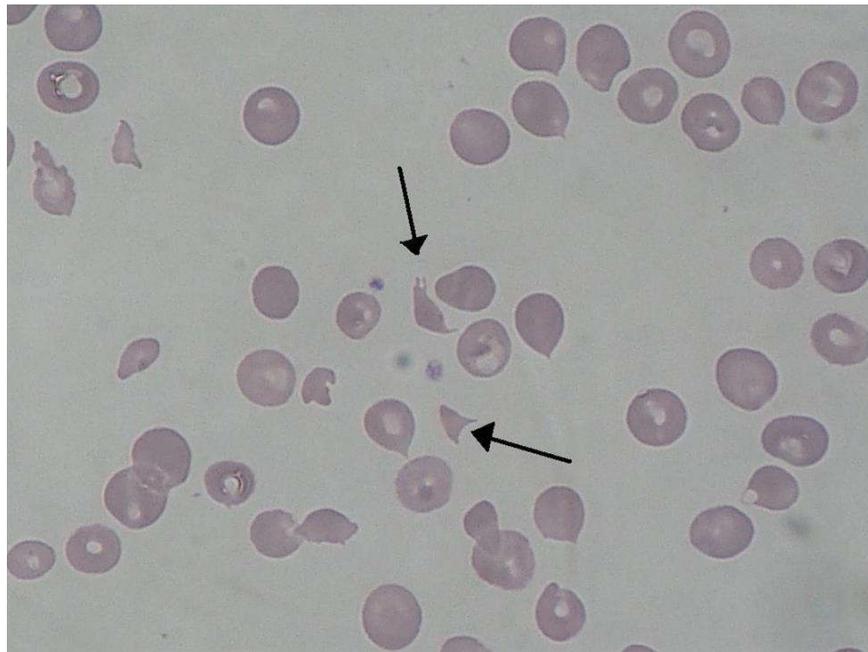
### **3. Schizocyte :**

Le schizocyte accord a un morceau d'hématie irrégulier, de taille et de forme différent, contient au moins deux extrémités pointue, parfois l'hématie prend un forme d'un casque.

Cet aspect est observé au cours :

- D'anémies hémolytiques microangiopathiques,
- D'hémolyses dues à des prothèses valvulaires cardiaques,
- Des brûlures sévères

( **Zini et al., 2012** )

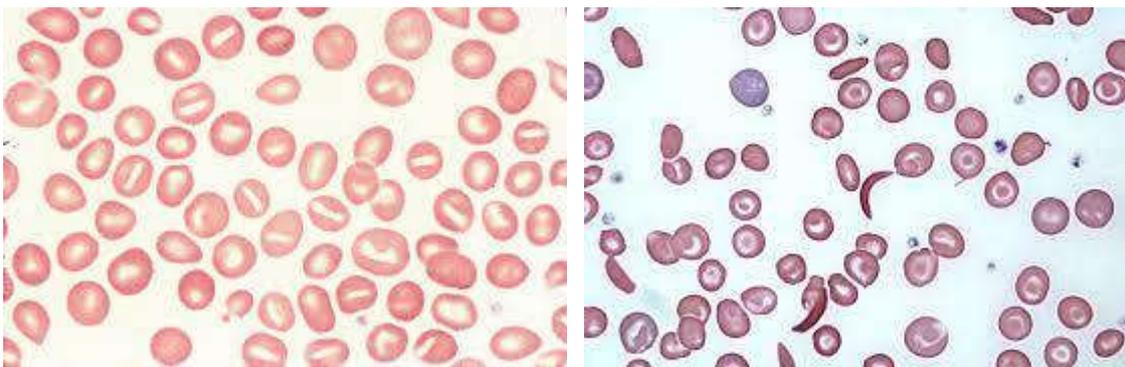


**Fig 5 : Schizocyte ( Zini et al., 2012 )**

#### **4. Stomatocyte ou mouth cell :**

Il s'agit d'un disque uniconcave, en forme de coupe à l'état frais. Sur frottis, la zone claire centrale de l'hématie prend la forme d'une fente ou d'un ovale.

On l'observe au cours d'anomalies congénitales de la membrane des hématies : stomatocytose, mais également en cas d'alcoolisme, au cours des cirrhoses ou des obstructions des voies biliaires. (Hoffman et al ., 2012)



**Fig 6 :Stomatocyte ou mouth cell (Hoffman et al ., 2012)**

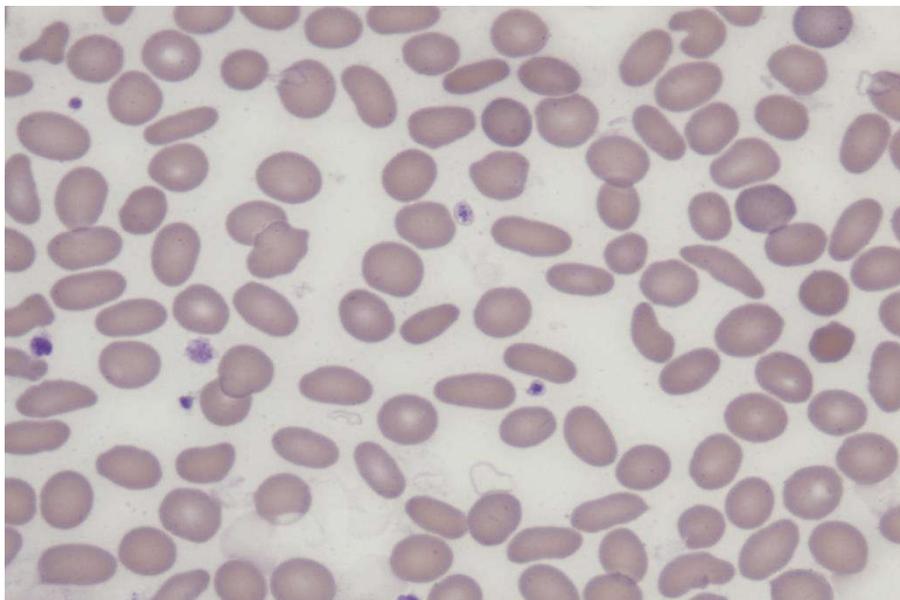
### 5. Elliptocyte ou ovalocyte :

L'hématie est dans ce cas allongée, ovale ou ellipsoïde.

Les elliptocytes sont parfois très allongés, mais les extrémités sont toujours arrondies, sans spicules, ce qui les différencie des drépanocytes.

Cet aspect s'observe au cours de l'elliptocytose héréditaire, pathologie congénitale de la membrane du globule rouge.

On peut retrouver des elliptocytes, moins nombreux et non spécifiques au cours de différentes dysérythropoïèses. **(Hoffman et al ., 2012)**



**Fig 7 : Elliptocyte ou ovalocyte (Hoffman et al ., 2012)**

### 6. Drépanocyte ou sickle cell, hématie falciforme :

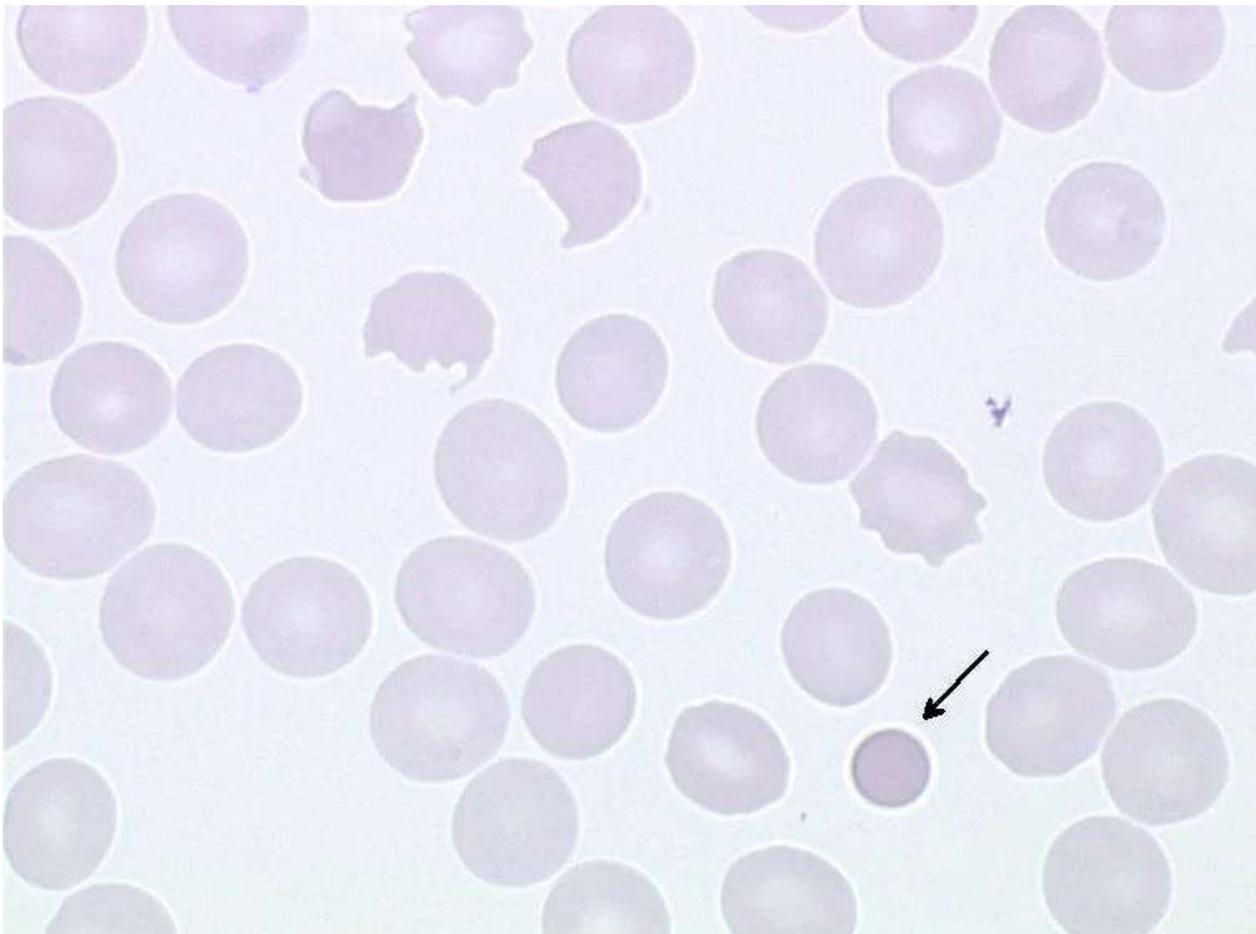
L'hématie caractérisée par une forme allongée, classiquement en forme de faucille ou de croissant, avec deux spicules bipolaires : extrémités pointues, plus ou moins effilées.

Cet aspect est spécifique dans la quasi-totalité des cas d'une hémoglobinopathie : la drépanocytose. **(Hoffman et al ., 2012)**

## 7. Microsphérocyte :

Les hématies observées à l'état frais sont sphériques. Sur frottis, elles apparaissent comme microcytaires alors que le volume globulaire moyen (VGM) est normal. Leur coloration est foncée et homogène, avec disparition du centre clair.

On les observe au cours de la maladie de Minkowski Chauffard ou sphérocytose héréditaire (anomalie congénitale de la membrane des hématies), mais également au cours d'autres anémies hémolytiques : elles sont dans ce cas moins nombreuses. (Hoffman et al., 2012)

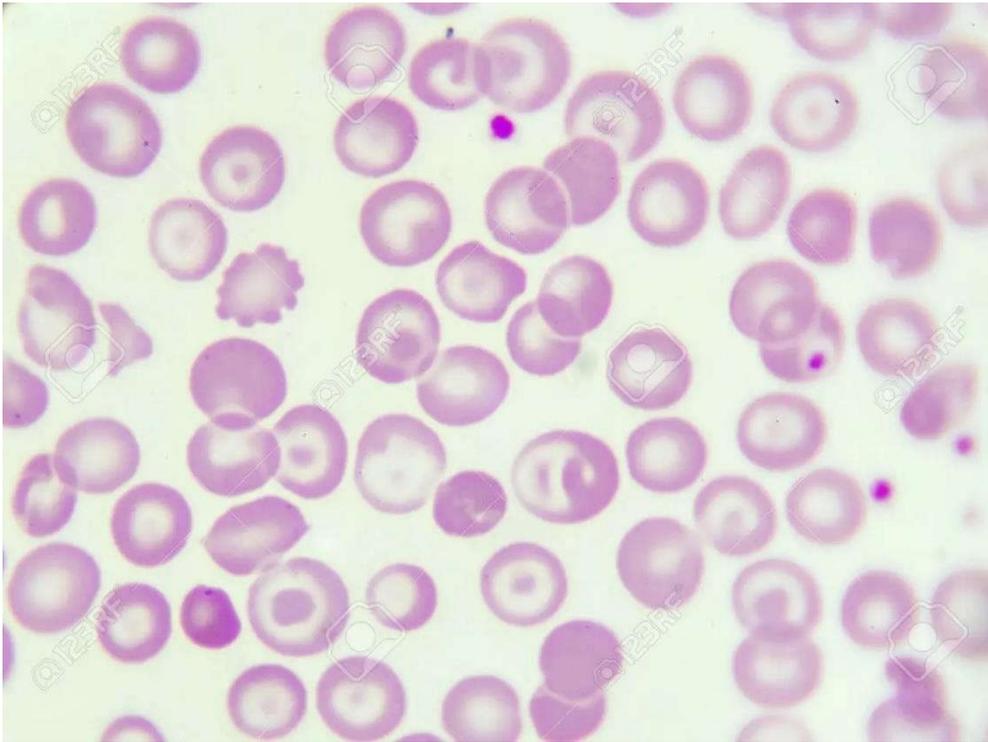


**Fig 8 : Microsphérocyte (Hoffman et al., 2012)**

## 8. Cellule cible ou target cell, hématie en cloche, codocyte :

La forme sur frottis est celle d'une cible ou d'une cocarde, l'hémoglobine étant répartie en périphérie et au centre de la cellule.

Les cellules cibles s'observent surtout au cours de certaines hémoglobinopathies (hémoglobinose C, thalassémie), parfois au cours des carences martiales. (Hoffman et al., 2012)

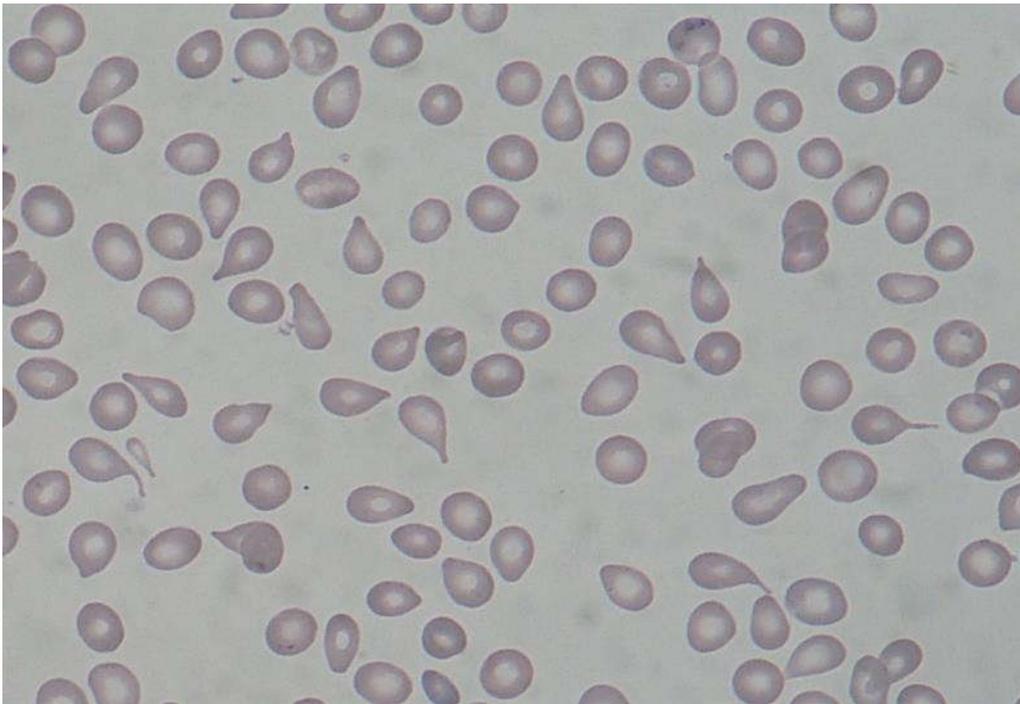


**Fig 9 : Cellule cible ou target cell, hématie en cloche, codocyte (Hoffman et al. 2012)**

#### **9. Dacryocytes ou hématies en larme, en poire ou en raquette :**

Les hématies caractérisées par une poire avec une extrémité arrondie et l'autre allongée, plus ou moins effilée.

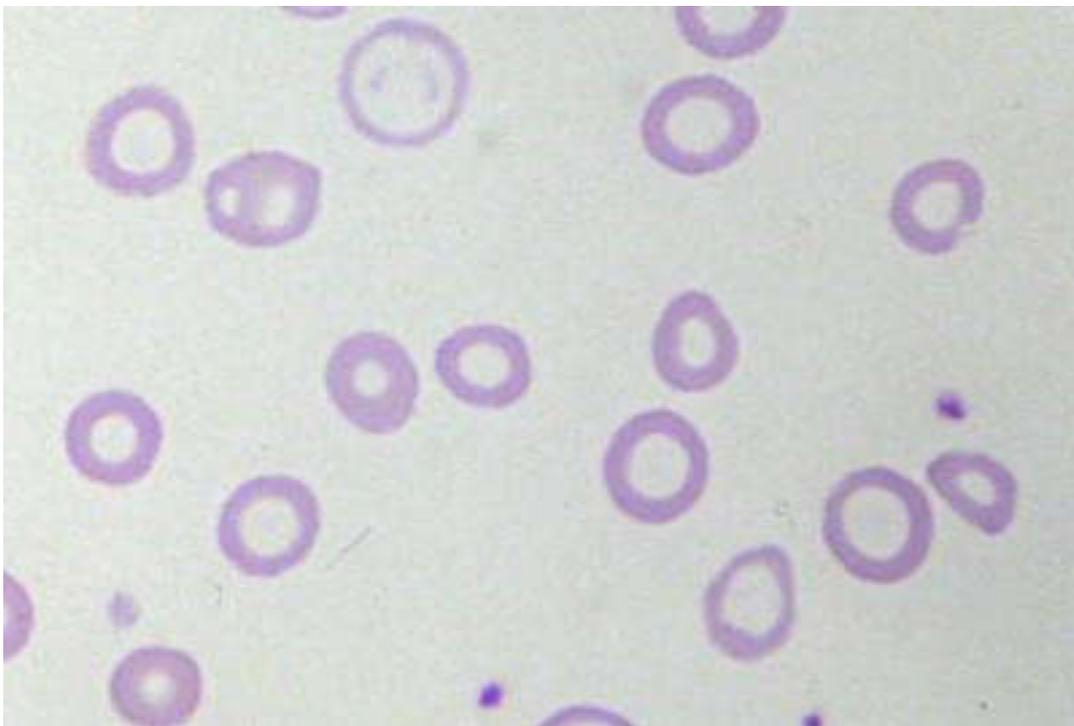
Ce forme est évocateur de fibrose médullaire et est rencontré au cours de la splénomégalie myéloïde, des dysérythropoïèses acquises, et de pathologies tumorales s'accompagnant de fibrose médullaire. **(Hoffman et al ., 2012)**



**Fig 10 : Dacryocytes ou hématies en larme, en poire ou en raquette (Hoffman et al ., 2012 )**

#### **10. Annulocyte :**

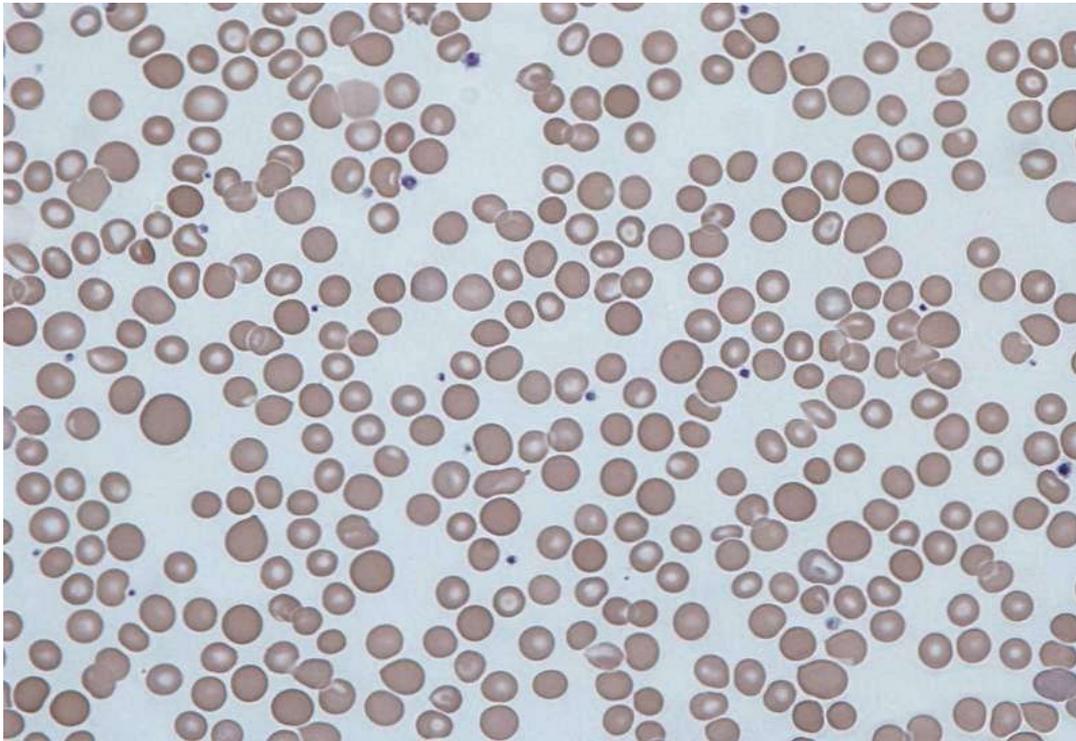
C'est une hématie dont le centre clair est anormalement important.



**Fig 11 : Cet aspect correspond à une hypochromie, le plus souvent observée au cours des grandes anémies ferriprives. (Hoffman et al ., 2012)**

### 11. Poikilocytose :

Les hématies présentent dans ce cas des formes variées avec association de nombreux aspects morphologiques différents. (Hoffman et al., 2012)



**Fig 12 : Poikilocytose (Hoffman et al, 2012)**

### 12. Rouleaux d'hématies :

Les globules rouges peuvent parfois s'accoler les uns aux autres, réalisant une image de rouleaux ou de piles d'assiettes.

Cet aspect est observé au cours des gammopathies monoclonales ou après perfusion de macromolécules. (Hoffman et al., 2012)



**Fig 13 :Rouleaux d'hématies (Hoffman et al, 2012)**

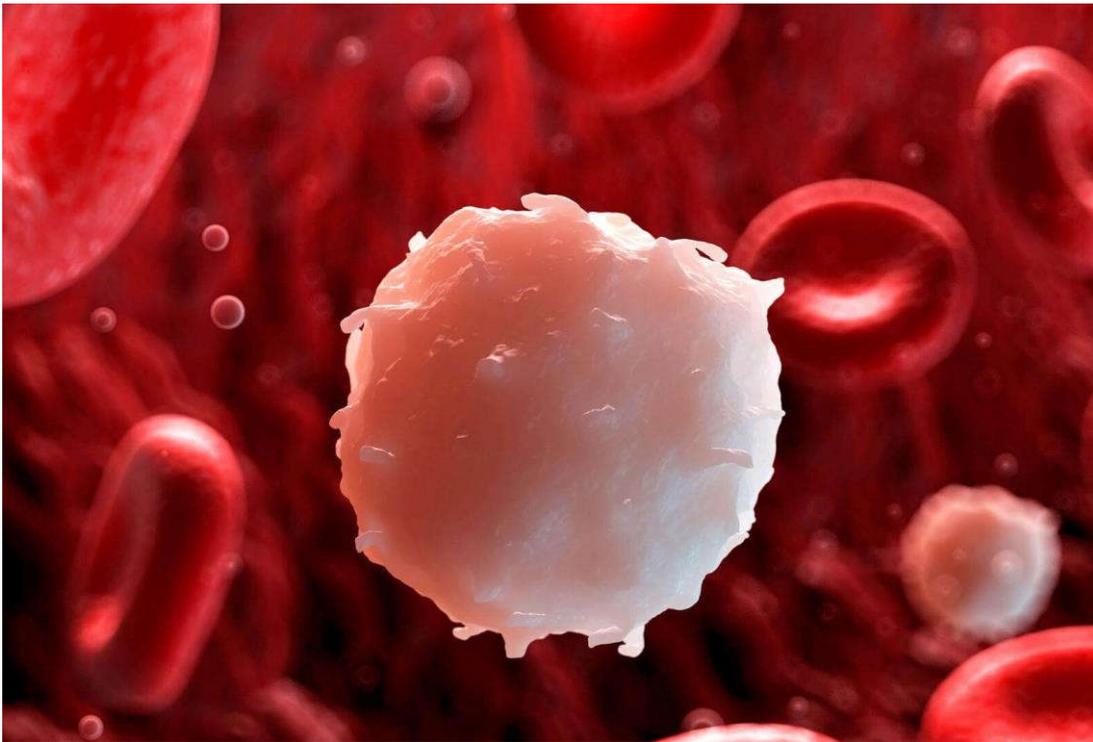
#### **I.4. La fonction :**

Les principales fonctions des hématies sont : le transport de l'oxygène des poumons aux tissus périphériques, la participation au transport du gaz carbonique et la participation à la régulation du pH sanguin. (CANFIELD, 1998 ; GASPER, 2000 et HARVEY, 2000)

Les globules rouges contribuent au volume sanguin (par leur masse) et interviennent aussi dans la dynamique des fluides du sang. (COLES, 1986)

#### **I.5. Les globules blancs :**

Contrairement aux globules rouges, ils sont dotés d'un noyau. Ils jouent un rôle de défenseur de l'organisme contre les étrangers, les agents pathogènes et les processus inflammatoire. Les leucocytes se divisent en 2 groupes : les polynucléaires neutrophiles, basophiles, éosinophiles et les agranulocytes = mononucléaires : le noyau n'est pas segmentée, on distingue les monocytes et les lymphocytes. (BENDJEBLA, 2004)



**Fig 14 : Morphologie des globules blancs (www.auquaportail.com)**

### **I.5.1. Les monocytes :**

Ce sont les plus grands de leucocytes normaux (12 à 20 $\mu$ m). Leur noyau est volumineux, central ou périphérique, réniforme ou indenté. Leur cytoplasme est caractérisé par des expansions cytoplasmiques et par la présence de grains azurophiles correspondant à des lysosomes primaire.

### **I.5.2. Les granulocytes (polynucléaires) :**

Les granulocytes possèdent un noyau unique qui présente plusieurs lobes de formes diverses, ayant pu faire croire, à tort, qu'ils étaient multi nucléés, d'où le nom de " polynucléaires ". Le cytoplasme des granulocytes contient différents types de granulations, caractéristiques de chaque granulocyte. Selon les affinités tinctoriales en microscopie optique de leurs granulations, les granulocytes sont répartis en trois catégories : neutrophiles, éosinophiles et basophiles

### **I.5.3. Les lymphocytes:**

Les lymphocytes se caractérisent par: leur forme, régulière, arrondie; leur taille, le plus souvent petite (voisine celle d'une globule rouge) ; toutefois, à côté de ces petits lymphocytes, on distingue des moyens et des grands lymphocytes, de taille plus grande; leur noyau, sphérique, foncé, sans nucléole visible, occupant la presque totalité du volume de la cellule ; leur cytoplasme, réduit à une mince couronne contenant les organites cellulaires habituels en quantité très restreinte. Ce sont les cellules effectrices du système immunitaire (**André 2008**)

## I.6. Les plaquettes :

### I.6.1. Définition :

Les plaquettes sanguines, aussi appelées "thrombocytes", sont issues des mégacaryocytes grosses cellules produites par la moelle osseuse. Elles jouent un rôle primordial lors de certaines étapes de la coagulation, phénomène très complexe. L'activation plaquettaire a lieu lors des saignements liées à des plaies et évitent également les hémorragies internes

Sont des fragments cellulaires anuclées de 2 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre. On distingue deux zones: le centre de la cellule (chromomère) contenant des granulations et la elles apparaissent riches en granulations azurophiles denses aux électrons contenant de l'ADP, du glycogène. Leur cytosquelette est très développé avec notamment un faisceau marginal de microtubules circulaires et des microfilaments d'actine (thrombas thénine). Il existe également un réseau canalaire constitué par invagination de la membrane plasmique augmentant ainsi la surface de la membrane. **(Dr Anne-Christine Della Valle ,2019)**

Elles circulent à raison de 150 à 350 000 plaquettes par  $\mu\text{l}$  de sang sous la forme de petites lentilles discoïdes de près de 7  $\mu\text{m}$  de diamètre pour un volume moyen de l'ordre de 10  $\mu\text{m}^3$ . **(Bull. Acad. Natle Méd. 2013)**

-Leur durée de vie est de 8 à 12 jours. **(Bull. Acad. Natle Méd. 2013)**

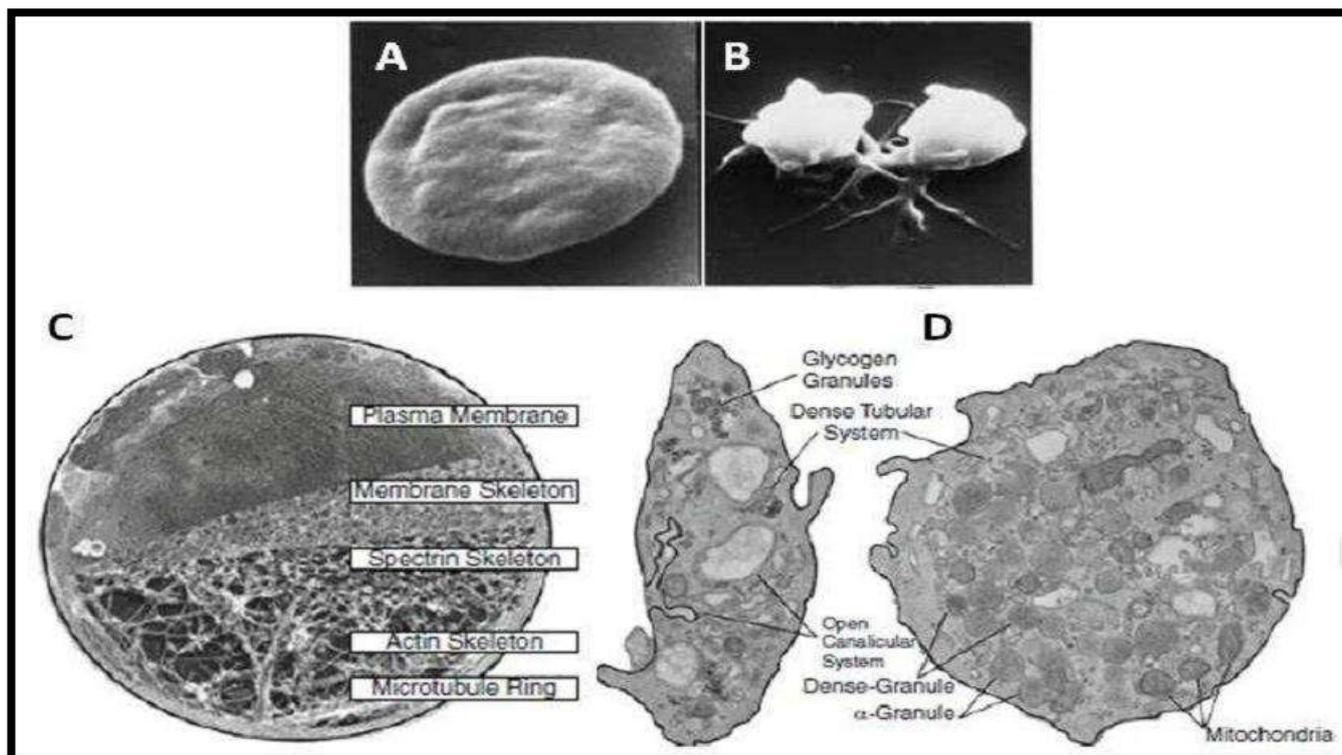


**Fig 15 : Morphologie des plaquettes (Radio-Canada, 2018 )**

### I.6.2. Morphologie :

Les plaquettes sont des éléments circulants du sang. Elles se présentent au repos sous une forme discoïde avec un diamètre de 2 à 4  $\mu\text{m}$  et un volume de 6 à 8  $\mu\text{m}^3$  (Figure 1). Lors de l'activation, ces cellules anucléées évoluent en sphère compacte avec de longs prolongements dendritiques facilitant leur adhérence (Figure 1B). L'observation en microscopie électronique à transmission permet de distinguer 3 parties : la membrane plasmique, le cytosquelette et les différents organites intracellulaires (Figure 1) (Thi Kim Anh NGUYEN, 2013)

Observation des plaquettes en microscopie électronique à balayage (A, B) et transmission (C, D)



**Fig 16 : Morphologie des plaquettes au repos (A) et après activation (B). (C). La membrane plasmique et le cytosquelette. (D). Les différents organites (Thi Kim Anh NGUYEN,2013)**

### I.6.3. Fonction des plaquettes:

Elles jouent un rôle fondamental dans les phénomènes initiaux de coagulation. Le feuillet externe de la membrane plasmique contient un épais glycoleme riche en molécule d'adhésion qui sont exprimées quand la plaquette est activée. Elles adhèrent ainsi au collagène quand il y a effraction de l'endothélium. L'actine et le système de microtubules provoquent une adhésion des

plaquettes entre elles. Le faisceau de microtubules en se dépolymérisant en filaments participe à l'agrégation des plaquettes. La couronne d'actine périphérique permet également, en se contractant, l'extrusion du contenu des granulations par le réseau canalaire, et provoque la synthèse de thromboxane à partir de l'acide arachidonique contenu dans les phospholipides de membranes plasmiques. Le thromboxane libéré a une action vasoconstrictrice. Les substances excrétées provoquent l'adhérence. (KOHLER,2011)

#### **I.6.4. Le plasma :**

Le plasma sanguin correspond au composant liquide du sang. Les cellules sanguines y sont en suspension. Il représente environ 55% du volume total du sang C'est un liquide de composition chimique, c'est la partie liquide du sang dans laquelle est suspendue les cellules sanguines. Il se présente sous forme d'un liquide jaunâtre qui contient par litre : (Dr. Monique Quillard2019)

- De l'eau à 91 %
- Des substances organiques = nutriments (protides : 75 g ; lipides = 6 g ; glucides : 1 g)
- Des produits de déchets = substances intermédiaires du métabolisme : acide urique et urée, acide lactique
- Eléments minéraux : K<sup>+</sup>, Ca<sup>+</sup>, Mg, Ph, Cl<sup>-</sup>, bicarbonates
- Gaz dissout : O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>,
- Fibrinogène
- Vitamines (Dr Laouamri Okba;2012)

##### **I.6.4.a. Fonction de plasma:**

**a) Le plasma apporte les nutriments :** Le glucose source d'énergie pour toutes les cellules Acides gras : source d'énergie pour les muscles. Les acides aminés : sous unités des protéines. Les ions : leur concentration est importante dans le maintien de l'équilibre osmotique du sang et du liquide interstitiel. Certains ions maintiennent le pH du sang alcalin (entre 7,35 et 7,45). Cholestérol : Utilisé par les cellules pour produire leur membrane. Utilisé par certaines cellules pour produire les hormones stéroïdes

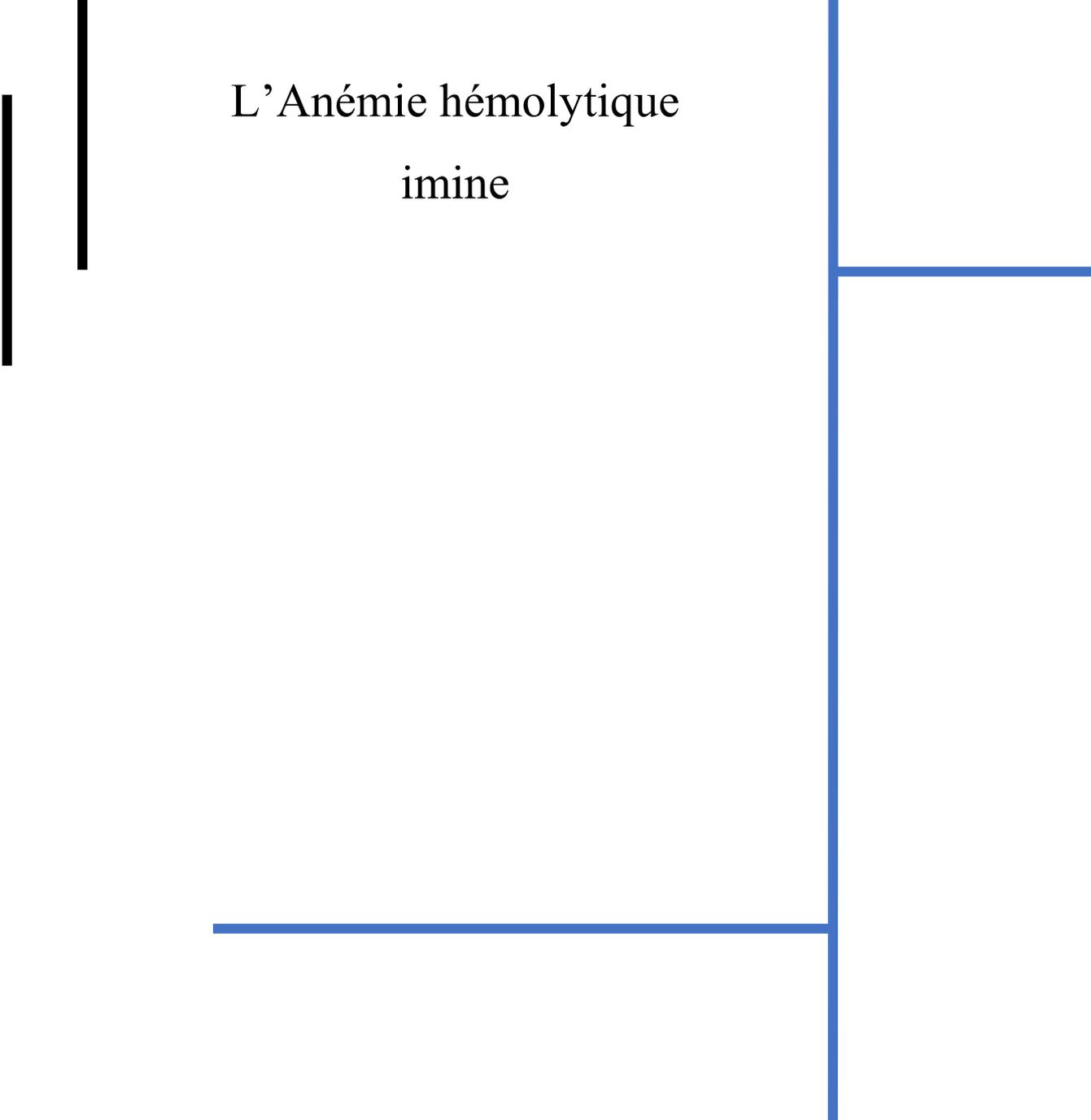
**b) Les protéines du plasma assurent différentes fonctions :** Les protéines sont les éléments les plus abondants du plasma, interviennent dans le transport et dans l'hémostase (coagulation). Elles donnent la couleur jaune opalescente, qui caractérise le plasma et donne la viscosité au plasma

**c) Le plasma transporte les déchets du métabolisme :** Les cellules produisent lors des réactions métaboliques des déchets (dioxyde de carbone et ammoniaque issu du catabolisme des acides aminés)

**d) Le plasma contient les gaz respiratoires à l'état dissous · PaO<sub>2</sub> · PaCO<sub>2</sub> · Bicarbonates (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>).** (Dr. Monique Quillard2019)

Chapitre II:

L'Anémie hémolytique  
imine



## II.1. Généralité

### II.1.1. L'anémie

L'anémie est un taux anormalement bas d'hémoglobine mesuré sur un échantillon de sang, cette substance est présente dans les globules rouges du sang. Elle leur permet de transporter l'oxygène vers tous les organes du corps. Ces besoins varient en fonction de l'âge, du sexe d'une personne, de l'altitude à laquelle elle vit, de ses habitudes tabagiques et du stade de la grossesse. On pense que, dans le monde, la carence en fer est la cause la plus courante d'anémie. Néanmoins, d'autres carences nutritionnelles (en acide folique, en vitamine B12 et en vitamine A), des inflammations aiguës ou chroniques, des parasitoses et des troubles héréditaires ou acquis affectant la synthèse de l'hémoglobine, la production des hématies ou leur survie peuvent aussi provoquer de l'anémie. On ne peut se baser uniquement sur le taux d'hémoglobine pour diagnostiquer une carence en fer. En revanche, ce dosage doit être fait, même si la carence en fer n'est pas à l'origine de toutes les anémies. La prévalence de l'anémie est un indicateur sanitaire important et, utilisée avec d'autres dosages du bilan martial, la concentration en hémoglobine donne des informations sur la gravité de la carence en fer (WHO, 2007)

### II.1.2. l'hémogramme :

L'hémogramme ou numération et formule sanguine (NFS), examen hématologique complet, formule sanguine complète (FSC) ou hémato complet est un examen qui donne des informations sur les éléments contenu (l'analyse quantitative « numération » et qualitative « (formule) » des éléments figurés du sang) : hématies ou globules rouges ou encore érythrocytes, leucocytes ou globules blancs et thrombocytes ou plaquettes

L'analyse à partir d'une prise de sang prélevé sur un tube contenant un anticoagulant, se fait de nos jours par un automate d'analyses médicales. Cette machine mesure directement le nombre d'érythrocytes, le volume globulaire moyen (VGM) de chacun d'entre eux et dose le taux d'hémoglobine. Il calcule ensuite l'hématocrite (rapport représenté par l'ensemble des globules rouges dans le sang), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), paramètre ayant moins d'importance. Les résultats de l'hémogramme varient physiologiquement en fonction du sexe, de l'âge et de l'ethnie. Les normes ci-dessous sont celles d'un adulte mais, chez les enfants ou les femmes enceintes, les normes diffèrent.

Une bonne technique de prélèvement améliore la qualité des résultats de l'hémogramme. Il se réalise par ponction veineuse franche, chez un sujet non à jeun mais à distance d'une ingestion de corps gras, normo hydraté. Le prélèvement se réalise sur tube contenant une substance anticoagulante (solution d'EDTA) qui va empêcher le sang de se "gélifier". Si l'on opère des prélèvements multiples, les prélèvements destinés aux analyses hématologiques -hémogramme et coagulation- doivent être réalisés en premier. Les prélèvements ne doivent pas être réalisés dans une veine perfusée ou à partir d'une ligne de perfusion (risque de dilution du sang par le produit de perfusion). Si un hémogramme est réalisé sur cathéter, une purge préalable de la ligne de perfusion doit être préalablement réalisée. Les tubes de prélèvement (la couleur du bouchon est normalisée en fonction de l'anticoagulant, en l'occurrence, le violet) utilisés dans la plupart des cas ont un volume nominal de 5 ml et sont calibrés pour des prélèvements de 3 à 4,5 ml. (Revmedvet. 2001)

### II.1.3. Les causes :

La production et la « survie » des globules rouges dépendent du bon fonctionnement de certains organes, mais aussi d'un apport adéquat en vitamines (B12, B9, et C) et en fer.

- ✚ Tout ce qui affecte la production des globules rouges, augmente leur destruction peut entraîner l'anémie (parfois provoquée par des enzymes défectueuses dans les globules rouges).
- ✚ Une fuite de sang importante en dehors du système circulatoire – l'hémorragie – provoque l'anémie.
- ✚ Un défaut de production des globules rouges ou une destruction anormale des globules rouges.
- ✚ Dans certains cas, l'anémie est liée à un processus de destruction des globules rouges, qui survient pendant la grossesse, en cas d'incompatibilité sanguine entre la mère et le futur bébé. (MARTEL ,1998)

### II.1.4. Principaux types d'anémie

Types d'anémies	Description
Anémie ferriprive (anémie microcytaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La forme d'anémie la plus répandue.</li> <li>• L'anémie ferriprive modifie la taille des globules rouges, qui deviennent plus petits que la normale.</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La menstruation abondante et une alimentation pauvre en fer en sont les causes les plus fréquents</li> </ul>
<b>Anémie causée par une carence en vitamines (anémie macrocytaire)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ce type d'anémie produit des globules rouge déformés et très gros.</li> <li>• Cette anomalie est soit le fait de dysfonctionnements complexes : Dy hématopoïèse ou Dy métabolisme soit le fait d'une carence vitaminique B12 ou B9</li> </ul>
<b>Anémie causée par une maladie chronique (anémie normocytaire)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les non régénératives traduisent une production médullaire anormale : hypoplasie.</li> <li>• Les régénératives correspondent à anémie hémolytiques par destruction des globules rouges. Elles font rechercher une hémolyse clinique (ictère, splénomégalie), une hémorragie aigue, une régénération de la moelle par exemple après chimiothérapie.</li> </ul>

**Tab 1 : Principaux types d'anémie (FMC, 2007)**

## **II.2. L'anémie hémolytique auto immune**

### **II.2.1. Définition :**

L'anémie hémolytique auto immune (AHAI) est une maladie du sang qui se traduit par une baisse anormale du nombre de globules rouges (hématies) et de taux d'hémoglobine, ce qu'on appelle une anémie. Chez les personnes atteintes d'AHAI, la durée de vie des globules rouges en circulation, qui est normalement de 120 jours, est nettement diminuée. La destruction accélérée des globules rouges (hémolyse) est due à la présence anormale dans le sang du malade de certains anticorps (substances fabriquées par le système immunitaire de défense de l'organisme). Ces

anticorps sont des « auto-anticorps » car ils sont dirigés contre les propres globules rouges du malade. Du fait du rôle majeur de ces « auto-anticorps », on parle d'anémie hémolytique « auto-immune » (**Marc.M et autres**).

L'anémie hémolytique auto-immune (AHAI) est la situation pathologique provoquée par la fixation d'anticorps, dirigés contre des auto-antigènes exprimés à la surface des globules rouges, et responsables de leur destruction prématurée provoquant ainsi une anémie plus ou moins sévère, elles restent un événement rare comparativement à d'autres maladies auto-immune puisque l'incidence annuelle est estimée à l'ordre de là 3 cas pour 100.000 habitants et pouvant s'observer à tout âge de la vie . (**Philippe. P 2007**)

### **II.2.1.a. 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 déclenché (ement des anémies hémolytiques acquises aiguës. (**Dameshek W, Schwartz SO 1938**)

### **II.2.2. Classification :**

En raison de la grande variabilité des AHAI, il est habituel de les classer selon trois axes :

#### **II.2.2.a. Classification immunologique :**

Elle est plus fondée sur l'activité thermique de l'auto-anticorps en cause que sur sa classe immunochimique. On distingue donc les AHAI « chaud » (AHAIc) et les AHAI « froides » dites aussi « cryopathiques ». Cette distinction revêt autant un intérêt clinique que biologique. Chacune de ces deux grandes variétés possède un tableau clinique et un traitement qui leur sont propres. (**Michel M.et al 2009**)

#### **1 Les AHAI à anticorps chauds :**

Les auto-anticorps « chauds » sont le plus souvent d'iso type IgG, non agglutinants liée à la présence d'une auto anticorps dont l'activité hémolytique maximale ou « optimum thermique » s'exerce à des températures proches de la température corporelle physiologique de 37°C.Elles représentent environ 70 de l'ensemble des AHAI et sont dans la moitié des cas associées à une maladie sous-jacente : déficit immunitaire, lupus systémique le plus souvent chez les adultes jeunes (femmes essentiellement), hémopathies lymphoïdes souvent de bas grade chez les sujet plus âgés (lymphomes non hodgkiniens, leucémie lymphoïde chronique).

## 2 Les AHAI à anticorps « froid » :

Dues à la présence d'anticorps appelés « agglutinines froid » actifs à basse température. Celles-ci peuvent être soit d'évolution aiguë et transitoire notamment lorsqu'elles sont d'origine post infectieuse (infection à mycoplasme, mononucléose infectieuse) chez les enfants ou l'adulte jeune, soit d'évolution chronique chez le sujet de 50 ans et plus correspondant alors à ce que l'on appelle « la maladie chronique des agglutinines froides » (MAF). Cette dernière est associée dans la majorité des cas à une gammopathie monoclonale de classe IgM kappa ayant une activité anticorps anti globule rouge de type « agglutinine froide » et s'apparente à une hémopathie lymphoïde B de bas grade.

- ✚ D'autres formes plus rares d'AHAI telle que les formes « mixtes » ou l'exceptionnelle hémoglobinurie paroxystique a frigorie peuvent également s'observer.
- ✚ Outre cette classification qui repose sur les caractéristiques des autos anticorps en cause, on distingue également les AHAI primitive ou « idiopathique » des AHAI secondaires selon la présence ou non affection non fortuite sous-jacente.

## 3 Les formes rares d'AHAI :

Un certain nombre d'exceptions contrecarrent cette classification immunologique :

- ✚ Les auto-anticorps « chauds » de nature IgA qui peuvent être responsables du même tableau clinique que celui des AHAIc à IgG (**Meftah Amin 2016**)
- ✚ Les rares AF de nature IgA n'activent pas le C et ne sont pas responsables d'hémolyse, mais seulement de manifestations périphériques cutanées déclenchées par le froid. (**teachey dt et al 2005**)
- ✚ La variété la plus redoutable, mais heureusement très rare, est l'AHAI à IgM « chaudes ». L'auto-anticorps IgM a une large amplitude thermique et agglutine les hématies à 37°C (**Hall AM et al 2002**)
- ✚ existe des variétés « mixtes » résultant de la présence simultanée d'autoanticorps « chauds » IgG et d'auto-anticorps « froids » IgM II.

Type d'AHAI	Terrain/ clinique	Formes « secondaires »	Classe d'Ig. agglu froides(MF)	Optimum thermique
1-AHAI à auto anticorps « chaud »	Adulte > enfant Hémolyse intra tissulaire (rate), mode d'installation subaiguë.	50 à 60 des cas	IgG >> IgA, IgM Agglutinines froides absentes ou + à taux faible	37°C
2-Maladie chronique des agglutinines froides (MAF)	Age > 50ans Hémolyse intra-tissulaire (foie), intravasculaire, acrosyndrome au froid	IgM kappa monoclonale dans 90 des cas	IgM >>> IgA ou IgG	4°C
3-AHAI à ac « froid »	Enfants, adulte jeune Hémolyse intravasculaire Prodromes infectieux	Infections (mycoplasme, EBV...)	IgM poly clonale	4°C
5-Hémoglobinurie paroxystique « à frigore »	Exceptionnelle chez l'adulte Hémolyse aiguë intravasculaire	Infections (mycoplasme, syphilis, virus)	IgG	>30°C
6-AHAI mixte	Adulte	Lymphome malin non hodgkinien	IgG, IgM	Large amplitude thermique (4°-37°C)

**Tab 2 : Classification et caractéristiques principales des AHAI**

### **II.2.2.b. Classification étiologique :**

Selon le contexte dans lequel survient l'AHAI, on distingue les formes associées à une maladie sous-jacente ou déclenchée par un agent étiologique, et les formes « idiopathiques » ou l'AHAI constitue la manifestation unique de la maladie.

### **II.2.2.c. Classification évolutive :**

On distingue enfin les formes aiguës et les formes chronique :

### **1 Les formes aiguës :**

Elles débutent brusquement et se traduisent généralement par un tableau d'hémolyse intravasculaire dont la sévérité peut mettre en jeu le pronostic vital, mais elles sont heureusement transitoires, évoluant en quelques semaines vers la guérison définitive. Elles peuvent cependant rechuter sous le même aspect et prélude à une forme chronique à poussées récidivantes. (**Rochant H. 1999**)

### **2 Les formes chroniques :**

Elles durent, par définition, plusieurs mois et en général plusieurs années, répondant plus ou moins complètement aux traitements. L'hémolyse persiste souvent compensés, intermittente ou continue de faible intensité. Ces formes chroniques se soldent rarement par une guérison définitive, tant que le processus responsable des phénomènes d'auto-immunité n'a pas été supprimé. (**Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R. et al 1993**)

## **II.3. Symptômes**

La symptomatologie est variable en fonction du type d'hémolyse :

- présentation aiguë et brutale (hémolyse intravasculaires): fièvre, frissons, douleurs lombaires, ictère, hémoglobinurie (urines foncées « rouge porto ») associés à un syndrome anémique marqué (tachycardie, pâleur, dyspnée d'effort...).
  - symptomatologie d'apparition plus progressive (hémolyse intra-tissulaire) : syndrome anémique (asthénie, palpitations, dyspnée d'effort...), subictère conjonctival ± ictère cutané, splénomégalie - symptômes non spécifiques chez le jeune enfant : fièvre, vomissements, difficultés d'alimentation.
- (**Farruggia P, Macaluso A et al 2011**)

## **II.4. Diagnostique**

Il existe 2 modes de révélation de l'AHAI : En cas d'hémolyse intravasculaire prédominante, elle peut se révéler par un syndrome anémique franc et brutal associant une asthénie intense, des palpitations, une dyspnée d'effort, une pâleur généralisé et des urines foncées de coloration « rouge porto » (du fait d'une hémoglobinurie) en cas d'hémolyse intravasculaire aiguë. A noter que dans ce contexte, la bandelette urinaire détecte la présence de « sang » mais il s'agit d'un faux positif pouvant faire penser à tort à une hématurie macroscopique et faire errer le diagnostic. Un ECBU doit être systématiquement réalisé qui permet d'infirmer le diagnostic d'hématurie. Lorsque l'hémolyse est intra-tissulaire l'AHAI se révèle habituellement sur un mode subaigu, avec un syndrome anémique moins marqué et d'aggravation progressive, un su ictère conjonctival ± une splénomégalie modérée lorsque l'hémolyse est de siège splénique. Dans ce contexte, la coloration des urines bien que parfois légèrement foncée du fait de l'ictère à bilirubine libre est proche de la

normale. En cas d'AHAI à anticorps « froids » (cf. ci-après) et notamment de maladie des agglutinines froides, des troubles vasomoteurs à type d'acrocyanose au froid peuvent être au premier plan. (Aladjidi.N et al 2006)

#### **II.4.1. Diagnostic clinique :**

Établir un diagnostic d'AHAI ne pose habituellement guère de problème. C'est le diagnostic d'une anémie, découverte le plus souvent devant un tableau insidieux non Spécifique fait du cortège plus ou moins marqué des signes fonctionnels de l'anémie, parfois devant un tableau plus spécifique de crise aiguë. Il importe de distinguer, au plan clinique les AHAI chaudes des AHAI froides. Leur symptomatologie est différente (Sacha Z.2010) :

##### **II.4.1.a. Formes aiguës :**

L'anémie s'installe en quelques jours accompagnée de fièvre, de diarrhée, parfois de vomissements qui peuvent passer pour un syndrome infectieux. La brutalité du début peut même se traduire par un véritable choc hypovolémique. Les urines noires et la pâleur doivent d'emblée attirer l'attention. L'ictère ne s'installera qu'en second lieu. (D.Rigal, F.Meyer 2011)

##### **II.4.1.b. formes chroniques et subaiguës :**

Elles se caractérisent par un début plus progressif, le tableau est dominé par les signes fonctionnels d'anémie : fatigue, céphalées, apparition d'une dyspnée d'effort, de palpitations. Les signes cliniques dépendent certes de l'intensité de l'anémie, mais beaucoup plus de l'âge des patients. Une douleur d'angine de poitrine, une phlébite des membres inférieurs, une fièvre inexplicée, l'installation d'une insuffisance cardiaque peut amener à découvrir la maladie. Il n'est pas rare que la maladie soit découverte après un événement déclenchant favorisant une poussée hémolytique sur une hémolyse chronique passée inaperçue jusqu'ici : épisode infectieux, traumatisme, intervention chirurgicale, grossesse, grande émotion.

##### **II.4.1.c. Dans les formes idiopathiques :**

L'examen clinique est souvent négatif. En dehors de la pâleur et de l'ictère, qui ne se voient que dans 20 %des cas, on peut observer une splénomégalie (SMG) (50 %des cas) souvent associée à une hépatomégalie. On peut même percevoir des petits ganglions disséminés dans les aires ganglionnaires (Rochant H 1999). En revanche, de volumineuses adénopathies, une SMG manifestement tumorale sont plutôt l'apanage des formes secondaires, qu'il faut rechercher de

principe. Une lithiase biliaire n'est pas rare, souvent asymptomatique. Dans les formes secondaires, les signes d'anémie hémolytique se superposent à ceux de la maladie associée.

#### **II.4.1.d. Les AHAI à auto-anticorps « froids » :**

##### **a. Formes aiguës :**

Ces formes s'observent surtout chez les petits enfants de moins de 5 ans, survenant après une infection virale ou une pneumopathie atypique. Le début est brutal, l'anémie est sévère (**Sachs Uj, Santoso S, Roder L, Smart E, et al 2004**).

Certains signes peuvent égarer le diagnostic comme l'agitation ou au contraire la prostration, les douleurs abdominales, l'état de choc. Les urines foncées, l'ictère discret ou de survenue retardée orientent le diagnostic vers l'hémolyse. (**Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R.1992**)

##### **b. Maladie chronique des agglutinines « froides » :**

La MCAF est une forme chronique de la maladie essentiellement observée chez le sujet âgé de plus de 50 ans avec un pic de fréquence autour de 70 ans. Les symptômes qui doivent faire conduire au diagnostic sont l'acrocyanose déclenchée par le froid, touchant les doigts, les orteils, les lobes des oreilles et le bout du nez. Typiquement, les doigts trempés dans l'eau froide deviennent froids, violacés, raides, engourdis et parfois légèrement douloureux. Ces signes sont différents de ceux du syndrome de Raynaud avec lequel on les confond parfois. Ils sont rapidement réversibles avec le réchauffement. En période d'été, ces manifestations sont plus rares. Il est plus rare d'observer des gangrènes des extrémités notamment des orteils, des ulcérations des oreilles ou des ulcères suintants de la peau. Le froid déclenche aussi, chez ces patients, des poussées d'hémoglobinurie qui se traduisent par des urines noires ou rouge porto, mais ce symptôme n'est pas constant (**Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R. 1993**)

Les signes d'anémie sont plus variables, se manifestant surtout en hiver sur un fond d'hémolyse chronique. Parmi les AHAI à auto-anticorps froids, la fréquence des formes idiopathiques ou maladie MCAF est aussi de 45% comme dans les AHAIc (**Dacies J.1992**).

#### **II.4.2. Diagnostic biochimique :**

Il s'agit des stigmates qui témoignent de la destruction des hématies :

-L'haptoglobine libre est effondrée même en dehors de l'hémolyse intra vasculaire, signe extrêmement sensible pour la détection de l'hémolyse. (**Philippe P.2007**)

-L'élévation de lactate déshydrogénase (LDH), dont le dosage peut être utilisé comme marqueur quantitatif d'hémolyse au cours du suivi des AHAI.

- Parfois une augmentation de la bilirubine non conjuguée et de l'Ur bilirubine dans les urines.

-En cas d'hémolyse intravasculaire, en plus des anomalies suscitées, la présence d'Hgb libre plasmatique, d'une hémoglobinurie et/ou d'une hémosidérinurie est classique (**Packman CH.2008**).

-Enfin, même si ce paramètre n'est pas habituellement utilisé dans ce contexte, l'Hgb glyquée est également diminuée en cas d'hémolyse et son taux est un reflet indirect de l'intensité de l'hémolyse dans les quatre à huit semaines précédant le dosage (**Petz LD, Garraty G.2004**).

## II.5. Traitement :

(Protocole national de diagnostic et de soins validé par le collège de la HAS en octobre 2009)

### Objectifs :

Le traitement médical a pour principaux objectifs :

- d'entraîner idéalement une guérison ou, à défaut, une rémission prolongée en maintenant un taux d'hémoglobine compatible avec l'absence de conséquences fonctionnelles ou de complications cardiovasculaires ;
- de permettre une qualité de vie satisfaisante.

	Première ligne	Seconde ligne	Troisième ligne
<b>Anémie hémolytique auto-immune à anticorps chauds</b>			
<b>Idiopathique sujet jeune</b>	Corticoïdes ± IVIG	Splénectomie	Cy, aza, MMF, CyA, anti-CD20
<b>Idiopathique sujet âgé</b>	Corticoïdes ± IVIG	Anti-CD20	
<b>Associé à une LLC</b>	Corticoïdes ± IVIG	Splénectomie	Cy, aza, MMF, CyA, anti-CD20, anti-CD52
<b>Induite par fludarabine ou cladribine</b>	Corticoïdes ± IVIG	Anti-CD20	
<b>Lymphome malin B ou T de haut grade</b>	Chimiothérapie ciblée		
<b>Syndrome lymphoprolifératif avec auto-immunité (ALPS)</b>	Corticoïdes ± IVIG MMF		
<b>Cancer</b>	Chirurgie		
<b>Maladies auto-immunes</b>	Corticoïdes ± IVIG	Cy, aza, CyA	
<b>Après transplantation</b>	Anti-CD20		
<b>Infections virales</b>	Rien ou transfusion		

AHAI à anticorps froids			
Avec lymphome	Chimiothérapie	Anti-CD20 spécifique ± anti- CD20	
Infections	Transfusion		

**Tab 3 : Traitements des anémies hémolytiques auto-immunes proposés jusqu'en 2010, selon des groupes d'experts, d'après Lechner et Jäger**

### II.5.1. Mesures générales :

La prise en charge d'une AHAI dépend en tout premier lieu de sa tolérance, elle-même fonction de la rapidité de constitution et de la sévérité de la chute de l'Hgb, ainsi que du terrain sur lequel elle survient.

- ✚ Une oxygénothérapie nasale selon la symptomatologie et le taux d'hémoglobine.
- ✚ Une bonne hydratation.
- ✚ Le maintien du patient au chaud et l'administration de produits transfusionnels réchauffés lors des AHAI à anticorps froids semblent être des mesures assez efficaces.
- ✚ Une surveillance clinique pluriquotidienne ou continue.
- ✚ Une surveillance biologique quotidienne ou pluriquotidienne.
- ✚ Une hémofiltration voire hémodialyse dans les formes suraiguës avec oligurie et insuffisance rénale.
- ✚ Certaines équipes préconisent la prescription quasi systématique des folates quelle que soit la gravité de l'anémie, uniquement en raison de l'augmentation des besoins du fait de l'activité régénérative, à une posologie quotidienne de 0,4mg/jour (Sacha Z .2010)

La première étape de traitement d'une AHAI est la correction de l'anémie, qui doit s'effectuer sous surveillance des paramètres vitaux. Elle nécessite entre autres des contrôles réguliers de la créatinine et de la quantité d'urine. En présence d'une indication non vitale de transfusion, il convient d'attendre d'abord les résultats immuno-hématologiques et les recommandations de transfusion qui en découlent. Dans un deuxième temps, on tentera de réduire ou d'enrayer l'hémolyse, soit en réduisant la production d'auto-anticorps, soit en inhibant la destruction précoce des érythrocytes. Il va de soi qu'un traitement efficace ne peut réussir que si l'on traite également la maladie sous-jacente à l'AHAI.

La disponibilité d'un traitement efficace pour éliminer les cellules B productrices d'auto-anticorps (le traitement par des anticorps anti-CD20) a relancé le débat sur l'utilité de la splénectomie. Les

études évaluant l'efficacité des traitements de l'AHAI sont difficilement comparables dans la mesure où il n'existe aucune définition homogène de la réponse thérapeutique et de la rémission.

Examinons d'abord le traitement de l'AHAI à auto-anticorps chauds, puis de celle à auto-anticorps froids. (Sacha Z.2010)

### **II.5.2. Traitement des anémies hémolytiques auto-immunes à auto anticorps « Chauds » :**

La prise en charge thérapeutique des AHAI à anticorps « chauds » repose sur des données empiriques et rétrospectives (Petz LD.2001) Sur un plan purement symptomatique, le recours aux transfusions est parfois nécessaire en cas d'anémie profonde et/ou mal tolérée, notamment chez les sujets âgés et/ou coronariens compte tenu du risque vital potentiel (Genty I, Michel M, Hermine O, Schaeffer A, et al .2002)

#### **II.5.2.a. Traitement des formes chroniques à auto-anticorps « chauds » :**

Elles constituent le modèle standard des essais thérapeutiques des AHAI.

##### **a) Transfusion :**

La décision de transfuser doit être guidée essentiellement par le caractère menaçant de l'anémie (hémolyse très sévère). La transfusion doit faire appel à des concentrés érythrocytaires aussi « phénocompatibles » que possible (compatibilité ABO, Rh, KEL et autres systèmes immunogènes) (Sacha Z .2010. Dacie J .1992)

L'indication d'une transfusion repose sur :

- Le taux d'Hgb
- La tolérance clinique
- Une bonne information sur le passé transfusionnel du patient

En pratique, il est habituellement impossible de respecter complètement la spécificité de l'auto-anticorps en cause dans les AHAIc, (Gerhrs BS, Friedberg RC.2002). Qui sont le plus souvent des « panagglutinines » dirigées contre des Ag fréquents et peu polymorphes de la membrane érythrocytaire (Ag du complexe Rh, glycophorine A...). La transfusion doit être lente (2 à 4 h par concentré) et le rendement transfusionnel est habituellement assez médiocre, la durée de vie des hématies transfusées étant le plus souvent inférieure à celle des hématies autologues. Sur le plan immunobiologique, un suivi post-transfusionnel étroit est nécessaire afin de détecter l'apparition éventuelle d'allo-anticorps (Rochant H.1999, Kokori SI, Ioannidis JP, Voulgarellis M, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM.2000)

**b) Corticothérapie :**

La corticothérapie reste le traitement de première intention dans les AHAI chroniques à auto-anticorps chauds. Les corticostéroïdes agiraient en diminuant la synthèse des auto-anticorps, en modifiant soit l'affinité de l'auto-anticorps pour l'Ag cible sur l'hématie, soit la clairance des cellules sensibilisées par le système macrophagique. En cas de réponse, on observe une amélioration des signes biologiques tels que : une augmentation du taux d'Hgb et, une diminution du taux de réticulocytes vers la deuxième semaine et une diminution des signes indirects d'hémolyse (LDH, bilirubine) ( **Motta.M, Cavazza A,Micliori C et al.2003, GERARD SEBAHOUN .2006**).

Le schéma thérapeutique dépend de l'âge, du degré modéré ou sévère de l'hémolyse et dans chaque cas il varie en fonction de la réponse au traitement. En cas de rémission, la diminution de la posologie de la corticothérapie au long cours ne doit débuter que lorsque le taux d'atteint 11 à 12 g/dl. En plus de cette réduction progressive et prudente des doses

Les différents principes d'administration, per os (à la posologie initiale de 1 mg/kg) ou en bolus (fréquence et posologie par bolus non codifiées), n'ont fait l'objet d'aucun essai contrôlé. Une réponse est observée dans 70 à 80 % des cas en une à trois semaines, mais après une diminution lente de la posologie sur plusieurs mois, moins de 20 % des malades ne requièrent aucun traitement (**Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R.1992**).

Au cours d'un traitement par corticoïdes, certaines précautions doivent être prises afin de réduire leurs effets indésirables. Des précautions alimentaires sont préconisées. Il est ainsi nécessaire de limiter au maximum la consommation de sel et de matières grasses, afin de prévenir la prise de poids qui est favorisée par ce type de médicament. Des protéines (viandes, poissons, œufs, produits laitiers) doivent être consommées à chaque repas pour éviter la fonte des muscles. Il est également recommandé d'avoir une alimentation riche en calcium (produits laitiers) pour limiter la décalcification des os. Par ailleurs, l'apport en potassium, par la consommation régulière de légumes et de fruits frais, doit être suffisant afin d'éviter les crampes musculaires. Enfin, la glycémie doit être régulièrement mesurée.

**c) La splénectomie :**

La splénectomie est indiquée en cas d'échec de la corticothérapie, de cortico-dépendance et en l'absence de contre-indication ;qui peut être réalisée par cœlioscopie, en l'absence de contre-indication à cette technique, avec les précautions habituelles : antibioprofylaxie par deux millions d'unités de pénicilline V quotidiens pendant au moins deux ans actuellement recommandée, vaccination antipneumococcique et pour certains anti-Haemophilus anticoagulants postopératoires puis antiagrégants tant que les plaquettes demeurent élevées. Des techniques d'embolisation splénique sont à l'étude et non encore évaluées.

En cas de récurrence après splénectomie, la corticothérapie est souvent plus efficace qu'elle ne l'était avant et doit être utilisée en première intention dans cette situation, ses indications basées sur la clinique (SMG, présence des auto-anticorps incomplets IgG sans C et à taux faible), avec une étude isotopique du site de séquestration prédominant des hématies. A ces meilleurs critères de choix, doivent s'ajouter ; la maîtrise des complications postopératoire et les contre-indications afin de diminuer les risques de mortalité liés à la splénectomie (**Sacha Z.2010, Motta.M, Cavazza A, Micliori C et al.2003**).

#### **d) Rituximab :**

C'est un AC monoclonal ciblant l'Ag CD20, qui est un marqueur très spécifique du LB. Il apparaît précocement, en grande quantité, au stade pré-B, et persiste jusqu'au stade de LB mature où la transformation en cellule plasmocytaire s'accompagne d'une perte de l'expression du CD20, indiqué dans les lymphomes folliculaire non hodgkiniens indolents avec lymphocytes CD20+. Le rituximab est une nouvelle approche dans de nombreuses MAI liées à la production d'auto-anticorps (LES, PTAI, AHAI, syndrome d'Evans, cryoglobulinémie mixte). Le rituximab induit une profonde déplétion en LB périphériques, mais doit agir aussi potentiellement sur d'autres sous populations, en particulier les LB mémoires, les LB auto-réactifs et les LT CD20+.

Le rituximab a une certaine efficacité dans les AHAI « chaudes » réfractaires de l'adulte et de l'enfant. La dose de Rituximab habituellement administrée est de 4 perfusions de 375 mg/m<sup>2</sup>/semaine après vaccination préalable par le vaccin antipneumococcique et anti-Haemophilus. Il apparaît bien toléré et le nombre d'effets secondaires rapporté est faible. Des réactions sont cependant fréquentes en cours de perfusion, en particulier lors de la première administration. Il peut s'agir d'hypertension artérielle, de fièvre, de frissons, de nausées, de rash cutané éventuellement prurigineux ou encore d'irritation laryngée. La prémédication par corticoïdes permet de réduire la fréquence de ces événements.

#### **e) Les autres traitements immunosuppresseurs :**

La plupart des patients avec une AHAI à anticorps chauds répondent suffisamment bien à la prednisone, à la splénectomie et/ou aux anti-CD20. Cependant, vu le risque potentiel certains patients résistants à toutes ces thérapeutiques ou non opérables, un traitement immunosuppresseur devrait être considéré.

Ce traitement faisant appel à des immunosuppresseurs tel que le Cyclophosphamide (utilisation rappelons-le hors AMM) sous-forme de bolus de 0,7g/m<sup>2</sup> toutes les 3 semaines, 6-mercaptopurine, azathioprine, ou le 6-thioguanine semble avoir fait ses preuves dans le traitement des AHAI réfractaires et ce en supprimant la synthèse des anticorps.

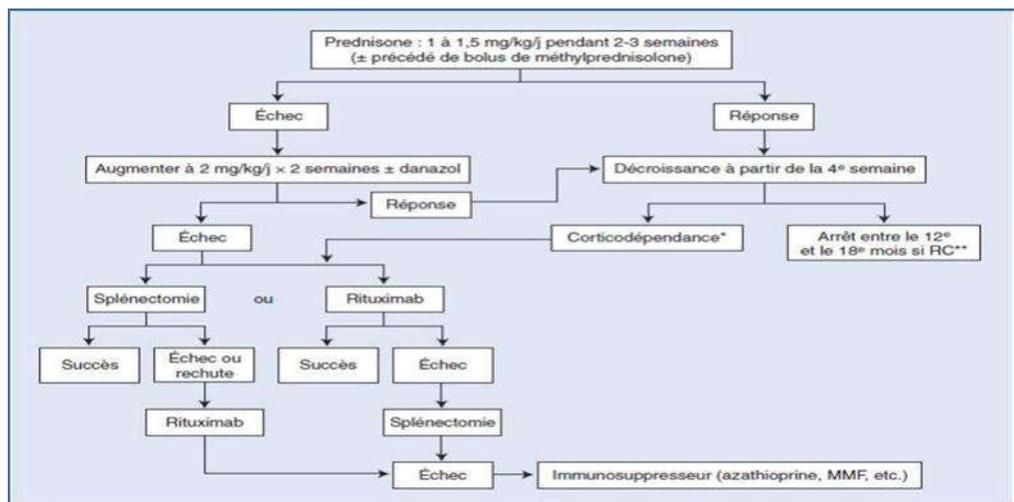
La cyclosporine A a également été utilisée avec succès chez un petit nombre de patients porteurs d'une AHAI réfractaire à la dose de 5-10mg/kg/jour.

Ces résultats sont controversés dans la mesure où ils n'ont été documentés que dans des cas isolés ou dans des toutes petites séries de patients (probablement présélectionnés).

Par ailleurs, cette option est à limiter le plus possible chez l'enfant.

## f) Danazol :

C'est un androgène dérivé de l'éthistérone ayant un effet anti gonadotrope, dénué d'effets ostrogéniques et progestatifs. Son efficacité dans les PTAI incite certains cliniciens à l'utiliser avec succès dans l'AHAI en cas d'échec ou de faible réponse à la corticothérapie. Il a été signalé comme pouvant permettre une épargne cortisonique, bien qu'aucune étude contrôlée n'ait démontré son intérêt réel (Motta.M, Cavazza A, Micliori C et al.2003)



**Fig 17 : Stratégie thérapeutique pour la prise en charge des AHAI à anticorps chauds de l'adulte. ( Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R .1992)**

### II.5.2.b. Traitement de l'AHAI à auto-anticorps froids :

Heureusement, l'AHAI à auto-anticorps froids est en général une anémie légère qui n'exige aucune correction. Dans la plupart des cas, l'hémolyse peut être évitée en observant une simple règle de base: «Keep it warm.» Les patients doivent être dûment instruits de bien se protéger du froid par le port de gants, de chaussures d'hiver fourrées et d'un bonnet.

Lorsqu'une transfusion est indiquée, le produit sanguin doit être réchauffé à 37 °C en conditions contrôlées et administré à cette même température. Dans les interventions chirurgicales, la température doit être maintenue à 37 °C pendant l'opération. Le choix du produit sanguin est guidé par les mêmes critères que pour l'AHAI à auto-anticorps chauds. Le traitement ciblé de l'AHAI à auto-anticorps froids reste par contre un exercice frustrant.

Les stéroïdes sont beaucoup moins efficaces que dans l'AHAI à auto-anticorps chauds. C'est également vrai pour les deux médicaments myélosuppresseurs que sont le cyclophosphamide et l'azathioprine. Les échanges plasmatiques permettent en situation aiguë de faire régresser transitoirement les symptômes hémolytiques et vasculaires surtout en cas de phénomènes nécrotiques.

La splénectomie n'a aucun effet sur l'AHAI à auto-anticorps froids. Un effet bénéfique du traitement par des immunoglobulines a été rapporté dans quelques cas.

Des résultats prometteurs sont rapportés pour le rituximab: deux études prospectives font état d'un taux de réponse de 40 à 50%, mais là aussi, les rémissions complètes sont rares et les récurrences fréquentes. Étant donné que les anticorps IgM ont surtout une localisation intravasculaire, une plasmaphérèse peut réduire rapidement les anticorps IgM et stabiliser ainsi le taux d'hémoglobine dans une AHAI à auto-anticorps froids. Cet effet est malheureusement de courte durée. La méthode implique en outre un travail technique considérable, la plasmaphérèse devant être effectuée à 37°C (Sacha Z .2010).

### **II.5.3. Mesures d'ordre général :**

La prise en charge d'une AHAI dépend en tout premier lieu de sa tolérance, elle-même fonction de la rapidité de constitution et de la sévérité de la chute de l'hémoglobine, ainsi que du terrain sur lequel elle survient. La prescription des folates quelle que soit la gravité de l'anémie, est probablement suffisante uniquement en raison de l'augmentation des besoins du fait de l'activité régénérative, et à une posologie quotidienne plutôt de 0,4 mg/j. Les mesures de protection contre le froid s'imposent en cas d'anticorps froids car les malades peuvent être très sensibles à l'environnement probablement en liaison avec l'optimum thermique de leur anticorps (rarement déterminé de façon précise).

Il faut prévenir avec soins la maladie thromboembolique veineuse particulièrement s'il existe des APL associés et si le malade est au repos (Hugues P, TOOGOOD A.1994).

L'éducation thérapeutique est l'ensemble des conseils destinés à aider le patient (et son entourage) à comprendre la maladie et les traitements, à participer aux soins, à prendre en charge son état de santé et à favoriser, dans la mesure du possible, un retour aux activités normales.

Elle est assortie d'une information pouvant en particulier porter sur les points suivants :

- Connaissance des signes cliniques d'anémie (pâleur, asthénie, tachycardie), d'hémolyse (ictère, coloration anormale des urines), d'infection (fièvre, signes neurologiques, digestifs, pulmonaires) devant motiver une consultation ;
- Connaissance des éventuels effets secondaires des traitements dont la survenue devra inciter à consulter rapidement ;

#### **A. Précautions à prendre en cas de traitement par corticoïdes au long cours:**

Un régime pauvre en sucres d'absorption rapide, riche en calcium, hyperprotéique, avec des apports sodés réduits en se méfiant des sels de régime qui peuvent constituer un apport potassique important,

Une supplémentation potassique justifiée (surtout chez l'adulte) pour des traitements à fortes doses (> 0,3 mg/kg/j), prescrits pendant une longue durée ou en cas de risque de troubles du rythme ou d'associations à un traitement hypokaliémie.

Un apport systématique de calcium, de vitamine D et également de biphosphonates chez l'adulte s'il existe des facteurs de risque supplémentaires d'ostéoporose (femme ménopausée par exemple) ; surveillance de la courbe de croissance staturale chez l'enfant ;

La prise en charge d'un éventuel diabète ou d'une hypertension artérielle préexistants doit être réévaluée car le traitement par corticoïdes peut entraîner leur déséquilibre.

Éviter le contact avec des sujets atteints de varicelle ou de rougeole, si le patient n'est pas immunisé vis-à-vis de ces virus. En cas de contact, prendre contact avec le médecin spécialiste, qui jugera de la prophylaxie éventuelle à proposer (immunoglobulines spécifiques, traitement antiviral).

Un traitement prophylactique de la pneumocystose devra être discuté, en particulier en cas de lymphopénie CD4 et/ou de la maladie éventuellement associée, et sera systématique si les corticoïdes sont associés à un autre immunosuppresseur.

### **B. Mesures à prendre entourant une éventuelle splénectomie :**

Dans les AHAI à auto-anticorps « froids », connaissance des précautions à prendre pour éviter l'exposition au froid (prudence vis-à-vis des bains de mer ou de piscine, des sports d'hiver, etc., vis-à-vis des interventions chirurgicales avec anesthésie générale notamment).

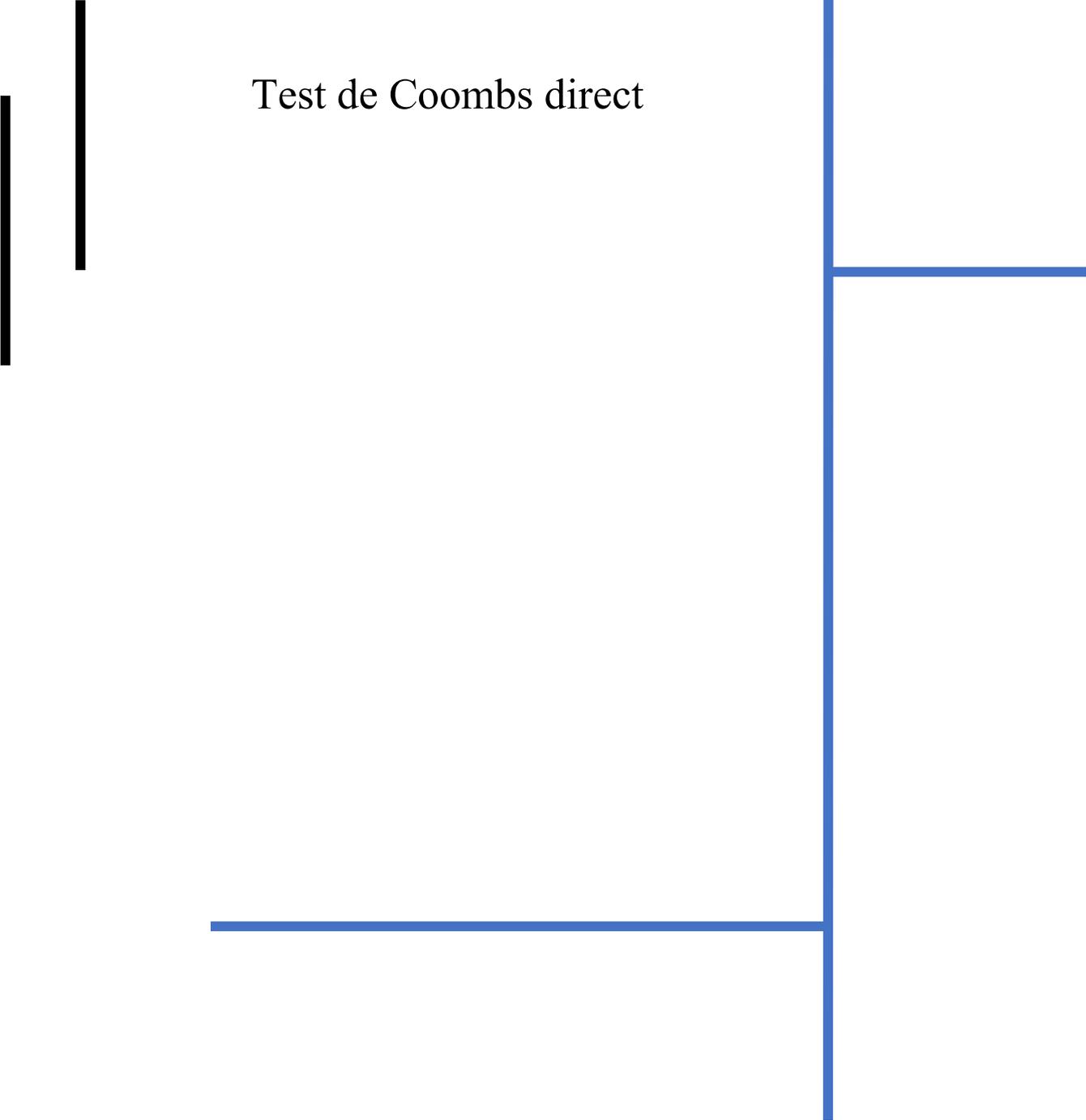
Nécessité pour le patient d'informer tout autre médecin du traitement en cours d'une AHAI afin d'éviter d'éventuelles interactions médicamenteuses et de fournir, si possible, les dernières analyses biologiques (hémogramme).

Le patient doit notamment signaler à tout autre médecin qu'il est traité par corticoïdes ou par immunosuppresseurs, et communiquer les coordonnées de son médecin spécialiste afin que le ou les autres médecins en charge de l'urgence puissent obtenir, le cas échéant, des informations complémentaires sur la maladie et le traitement. En cas d'intervention, la corticothérapie ne doit pas être interrompue brutalement et tant l'anesthésiste que le chirurgien doit être averti des traitements suivis.

Pour les femmes en âge de procréer, en cas de désir de grossesse, l'avis du médecin spécialiste doit être sollicité. L'AHAI n'est pas en soi une contre-indication à la grossesse, mais une grossesse est déconseillée si la maladie n'est pas bien contrôlée et/ou nécessite une dose de corticoïdes encore importante (**Hugues P, TOOGOOD A .1994**).

Chapitre III:

Test de Coombs direct



### III.1. Définition :

Le Test de Coombs Direct (TCD) dénommé aussi Test Direct à l'Antiglobuline (TDA), permet, grâce à un sérum d'antiglobuline humaine, de révéler la présence d'anticorps fixé sur l'antigène correspondant, à la surface de l'hématie in vivo et susceptible d'entraîner leur destruction (hémolyse). ( **tout sur la transfusion.com** créé le 19 Aout 2011 )

L'antiglobuline utilisée est essentiellement de deux classes : un anti-IgG or un anti-Complément. L'antiglobuline Anti-IgG est composée d'immunoglobulines dirigées contre le fragment Fc de l'IgG. Celle-ci peut donc mettre en évidence des anticorps de type IgG fixé sur les globules rouges testés. L'antiglobuline de type anti-complément est essentiellement composée d'anti-C3d. Le C3d est présent en grande quantité et de façon relativement stable à la surface des globules rouges sensibilisés in vivo à la suite de l'activation du complément par certains complexes immuns anticorps-antigène (Fig 18) .(XLABS, 2021)

Le TCD est essentiellement utilisé lors de la recherche des maladies Hémolytiques du Nouveau-Né (MHNN), d'une réaction transfusionnelle, d'Anémie Hémolytique Auto-immune (AHAI) et d'anémie hémolytique d'origine médicamenteuse an d'apparaître un confit immunologique. (XLABS, 2021)

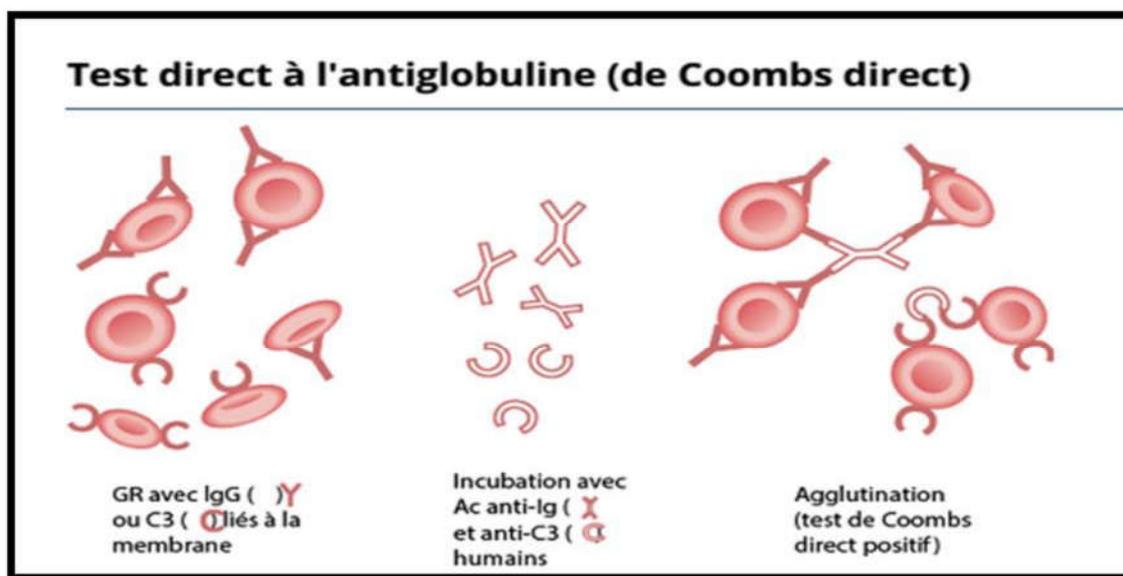


Fig 18 : test de coombs direct ( **tout sur la transfusion.com** créé le 19 Aout 2011)

### III.2. Historique :

En, Robin Coombs, Arthur Mourant et Rob Race ont décrit un test pour détecter les anticorps non agglutinants anti-Rho (anti-D). À l'origine, le test a été conçu par Robin Coombs dans le cadre de ses études de troisième cycle au laboratoire de Race and Mourant à Cambridge, en Angleterre, en. Son objectif était d'étudier les propriétés des anticorps impliqués dans le contexte de ce qu'on appelait l'érythroblastose fœtale, qui est aujourd'hui connue sous le nom de maladie hémolytique du nouveau-né (HDN), la raison la plus souvent par l'incompatibilité

Entre une mère Rh négatif sensibilisée lors d'une précédente grossesse, qui produit des anticorps IgG anti-D capables de passer la barrière placentaire en raison de leur petite taille qui recouvrent ensuite les globules rouges fœtaux. Ceux-ci sont ensuite phagocytés dans la rate et le foie, organes qui, en plus de leurs autres fonctions, maintiennent l'hématopoïèse extramédullaire chez le fœtus pour compenser l'anémie résultant de l'hémolyse. Puis, in vivo, comme on le voit dans les cas d'anémie hémolytique auto-immune (AHA). La description de la méthode et son application dans diverses maladies hématoLOGIQUES de la pathologie expérimentale en 1945 et 1946 respectivement. (JC Jaime-Pérez; C. Almaguer-Gaona,2016)

### III.3. Application :

1. Dans l'investigation des anticorps, tels que ceux chez les patients atteints d'anémie hémolytique auto-immune (Fig 19)
2. Dans l'investigation des alloanticorps, comme chez les nouveau-nés souffrant d'une maladie hémolytique du nouveau-né.
3. une réaction transfusionnelle hémolytique.
4. Diagnostic de Pour documenter la maladie hémolytique du nouveau-né.
5. Enquête sur la réaction de transfusions soupçonnées.

(JC Jaime-Pérez; C. Almaguer-Gaona,2016)

### III.4. Mécanisme :

L'antiglobuline utilisée est essentiellement de deux classes : un anti-IgG ou un anti-Complément. L'antiglobuline Anti-IgG est composée d'immunoglobulines dirigées contre le fragment de l'IgG. Celle-ci peut donc mettre en évidence des anticorps de type IgG fixé sur les globules rouges testés. L'antiglobuline de type anti-complément est essentiellement composée d'anti-C3d. Le C3d est présent en quantité abondante et de façon relativement stable à la surface des globules rouges sensibilisés in vivo à la suite de l'activation du complément par certains complexes immuns anticorps-antigène.

La positivité d'un TCD est le témoin de la sensibilisation des hématies in vivo. Pour que la réaction puisse être positive, il faut au minimum 200 molécules d'Ig ou de C3d sur le globule rouge. Mais cela ne correspond pas forcément à une hémolyse ou une anémie

chez le patient. Inversement, un TDA négatif n'indique pas l'absence d'hémolyse à la suite d'un conflit immunologique. **(XLABS, 2021)**

- TCD positif avec de l'anti-IgG :

le TCD avec de l'anti-IgG permet de mettre en évidence une sensibilisation (complexe immun anticorps-antigène) des globules rouges par un anticorps de classe IgG. La mise en évidence de ce complexe immun vous avez une grande importance lors de la recherche d'une maladie hémolytique du Nouveau-né (MHNN) suite à une incompatibilité fœto-maternelle (IFM), et lors d'un problème suite par une transfusion sanguine de globules rouges.

Dans tous les cas où une sensibilisation avec un anticorps IgG est mise en évidence dans un contexte de conflit immunologique, il va avoir déterminé l'anticorps responsable de la sensibilisation des hématies. Pour cela, une élution est réalisée. Celle-ci permet de décrocher les anticorps fixés sur les globules rouges. Puis, une identification des anticorps élués sera réalisée. **(XLABS.2021)**

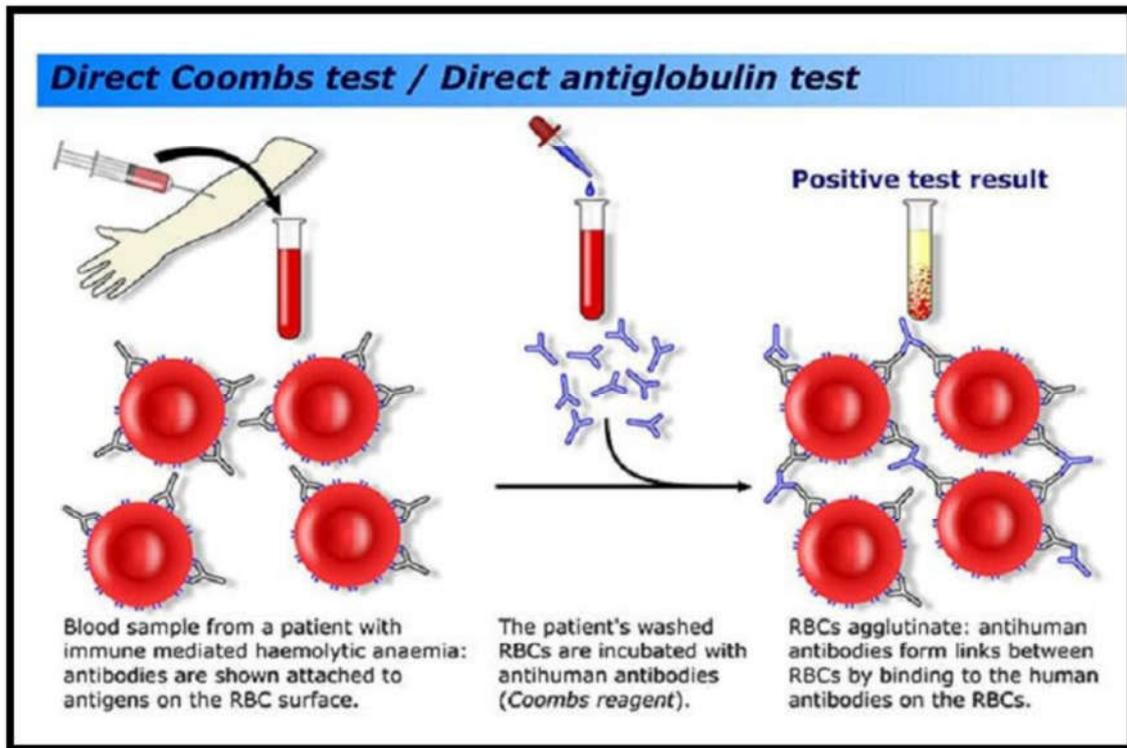
- TCD positif avec de l'anti-C3d :

Le TCD avec de l'anti-C3d (anti-complément) permet de mettre en évidence une sensibilisation (complexe immun anticorps antigène) des globules rouges par un anticorps de classe IgM ou IgG ayant activé le complément. Les anticorps de type IgM ne présentent pas de danger en transfusion sanguine et ne saute pas la barrière du placenta lors des grossesses. Ils présentent donc très peu d'intérêt en transfusion. Son intérêt principal est de confirmer la présence d'un auto anticorps à le sérum du patient lorsque celui-ci a été identifié lors de la recherche d'agglutinines irrégulières et lors de maladie hémolytique auto-immune. **(XLABS.2021)**

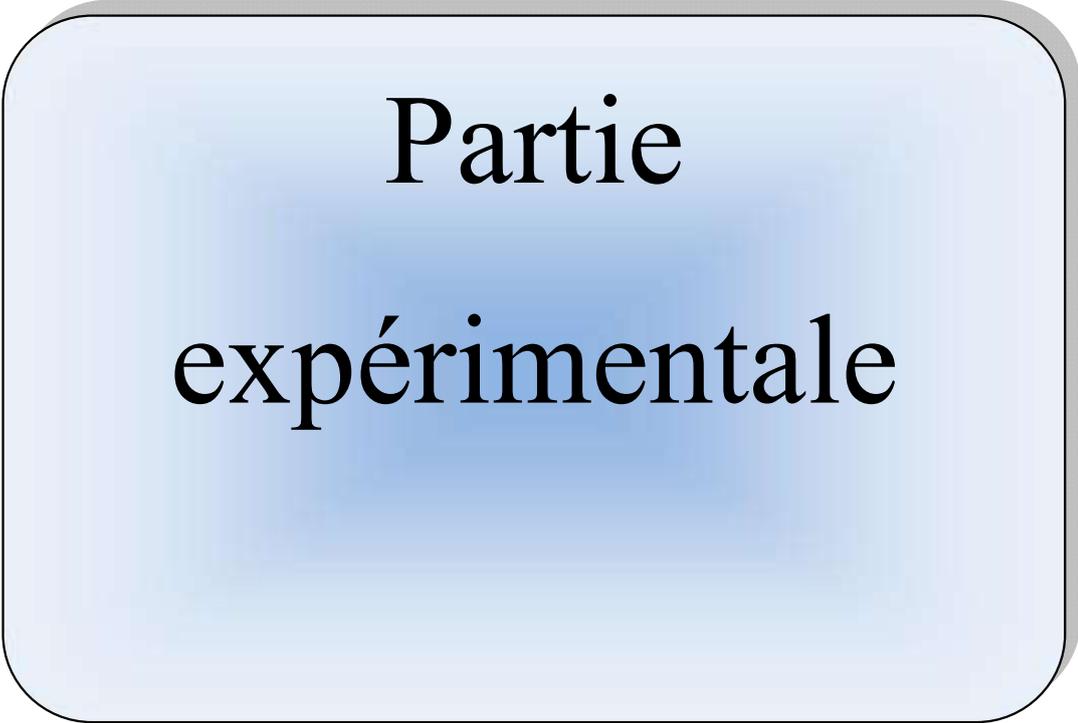
- TCD dit «mixte» :

Un TCD est dit "mixte" parce qu'il y a une réaction positive des réactifs anti-IgG et anti-C3d avec les globules rouges de patient. Cette double réactivité met en évidence la présence sur les antigènes des hématies (sensibilisation) d'anticorps de type IgG. Ces IgG ont la capacité d'activer le complément ce qui induit une réaction positive avec l'anti-complément. L'anticorps le plus fréquent qui donne ce type de résultat est l'anti-JK1. **(XLABS.2021)**

Dans tous les cas où une sensibilisation à un anticorps IgG est mise en évidence, il faudra déterminer l'anticorps responsable de cette immunisation **(XLABS, 2021)**



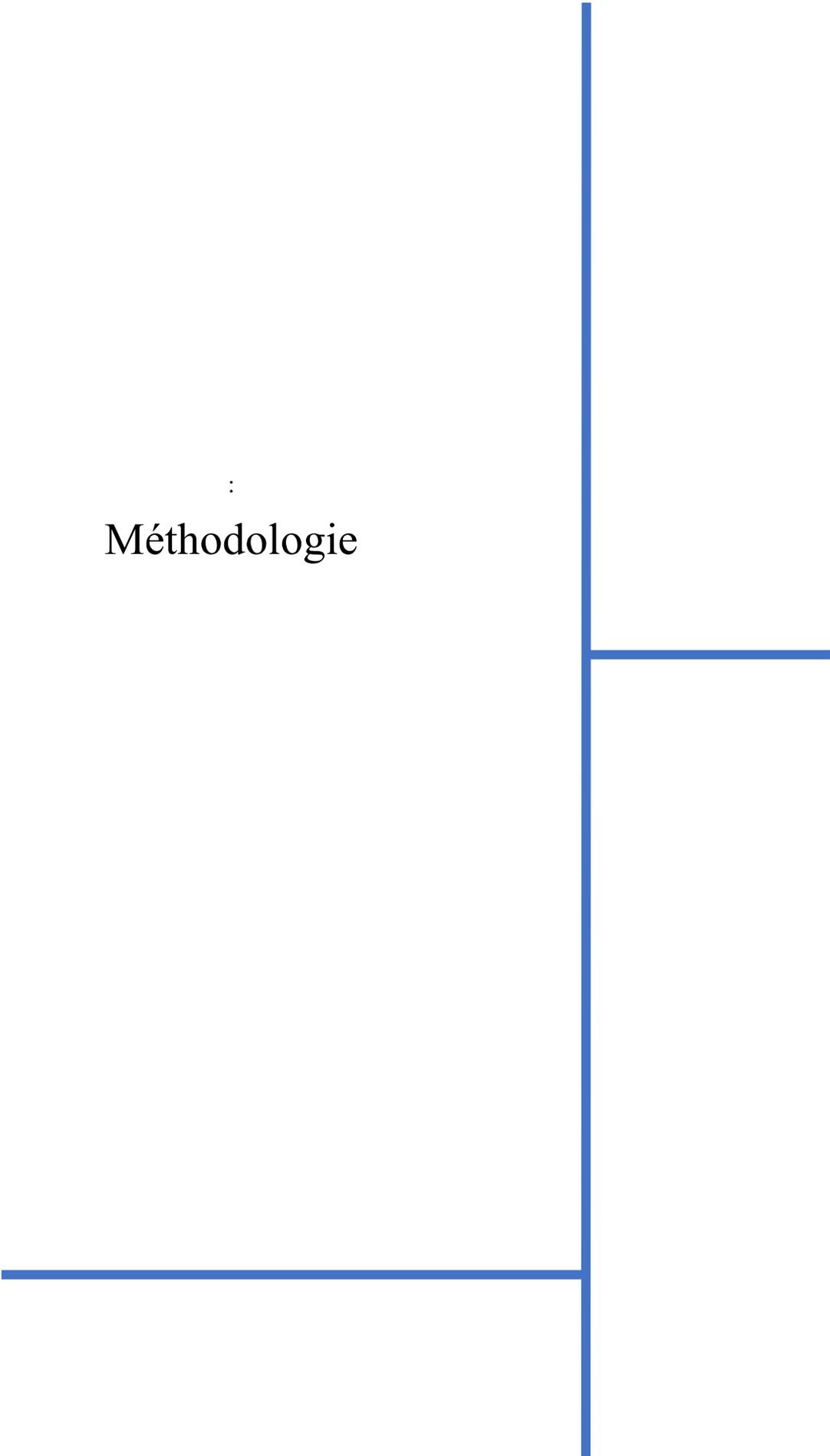
**Fig 19 : Test antiglobuline direct (microbiologyinfo.com, 2022)**



Partie  
expérimentale

Chapitre I :

:  
Méthodologie



## **I.1. Objectif :**

La détection sur l'anémie hémolytique à l'aide de l'analyse de test coombs direct.

## **I.2. Technique de prélèvement :**

### **I.2.1. Principe :**

#### **I.2.1.a. Prélèvement de sang veineux :**

Prélèvements de sang par ponction veineuse à visée diagnostique pour l'analyser :

- Investigation, surveillance, recherche de diagnostic, suivi thérapeutique
- Ou à visée thérapeutique: saignée.
- C'est un acte sur prescription médicale.

#### **I.2.1.b. Prélèvement de sang artériel :**

Prélèvement de sang par ponction artérielle à visée:

- Diagnostic spécifique comme la gazométrie (enseignée ultérieurement)
- Diagnostic non spécifique: toute analyse pouvant être faite sur du sang veineux.

#### **I.2.1.c. Prélèvement capillaire :**

Prélèvement de sang provenant du système veineux capillaire par piqûre transcutanée.

#### **I.2.1.d. L'application de la piqûre :**

A la veine du pli de coude à l'emplacement le plus visible et le plus épais, de préférence dans l'une des branches ayant la forme de lettre Y un peu au-dessous du point de jonction.

#### **I.2.1.e. Techniques de prélèvement : Description des étapes**

- a) Le patient doit installer confortablement.
- b) Demander au sujet de fermer la main pour faire gonflé les veines.
- c) Nettoyer la région de la ponction pour prévenir toute contamination bactériologique avec une solution à 70% d'alcool isopropylique.
- d) Traverser la peau en dirigeant la pointe de l'aiguille au centre de la veine.
- e) Relâcher le garrot dès l'apparition du sang dans le tube et demander au malade d'ouvrir la main.
- f) Mélanger immédiatement le tube contenant un anticoagulant (Ethylen Diamine TetraAcetic acid).
- g) Ne pas agiter trop fortement pour éviter l'hémolyse.
- h) Comprimer la veine ponctionnée avec un pansement adhésif.

**I.2.1.f. Matériels :****a) Pour désinfecter la peau :**

- Alcool 80°. Teinture d'iode si possible.
- Tampon de coton hydrophile.

**b) Pour piquer :**

- Un garrot : tube de caoutchouc souple de 2 à 5 mm de diamètre
- Les aiguilles : longueur (30 à 40 mm), diamètre (9/10 mm)

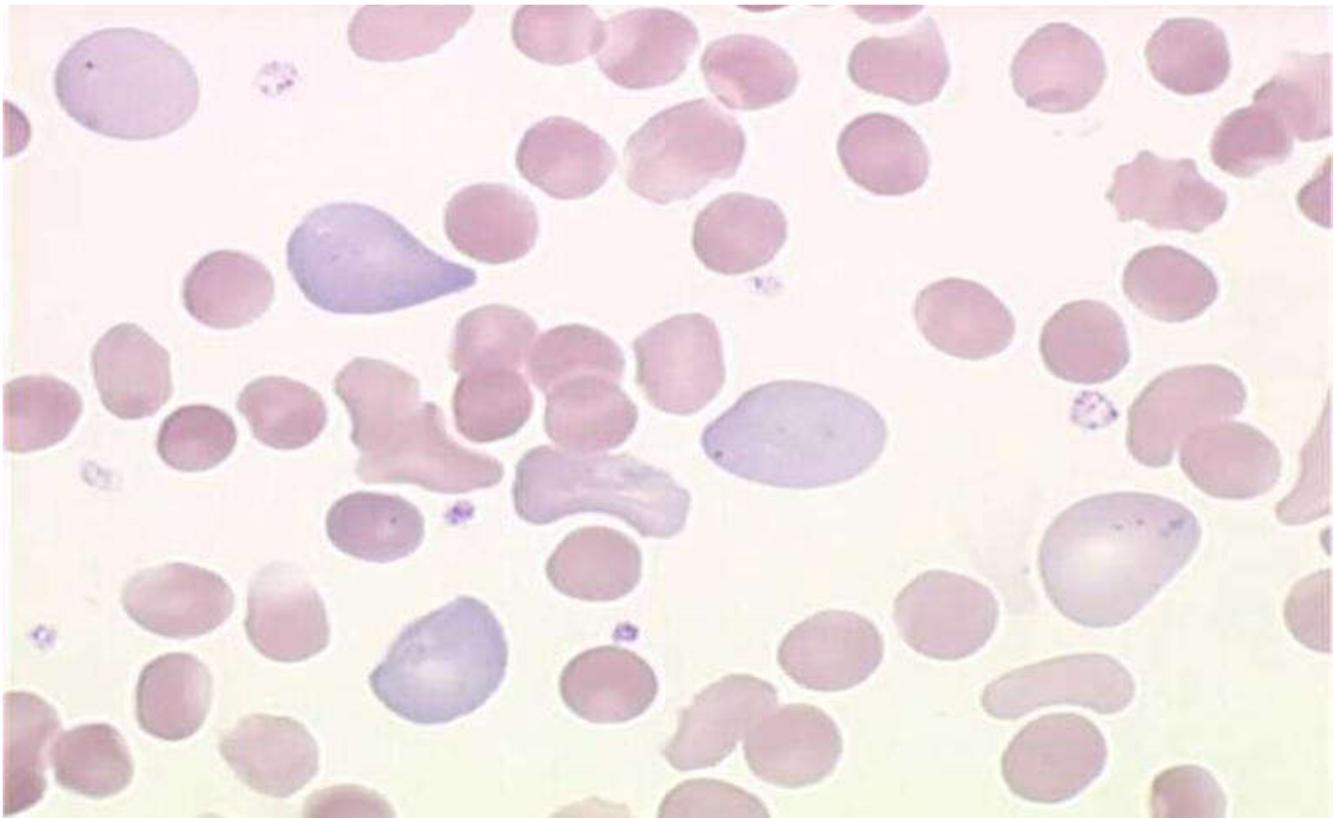
**c) Pour recueillir le sang :**

- Seringues : de 2, 5, 10 ou 20ml
- Tubes : soit vides (propres et secs) soit contenant un anticoagulant (sec ou liquide)

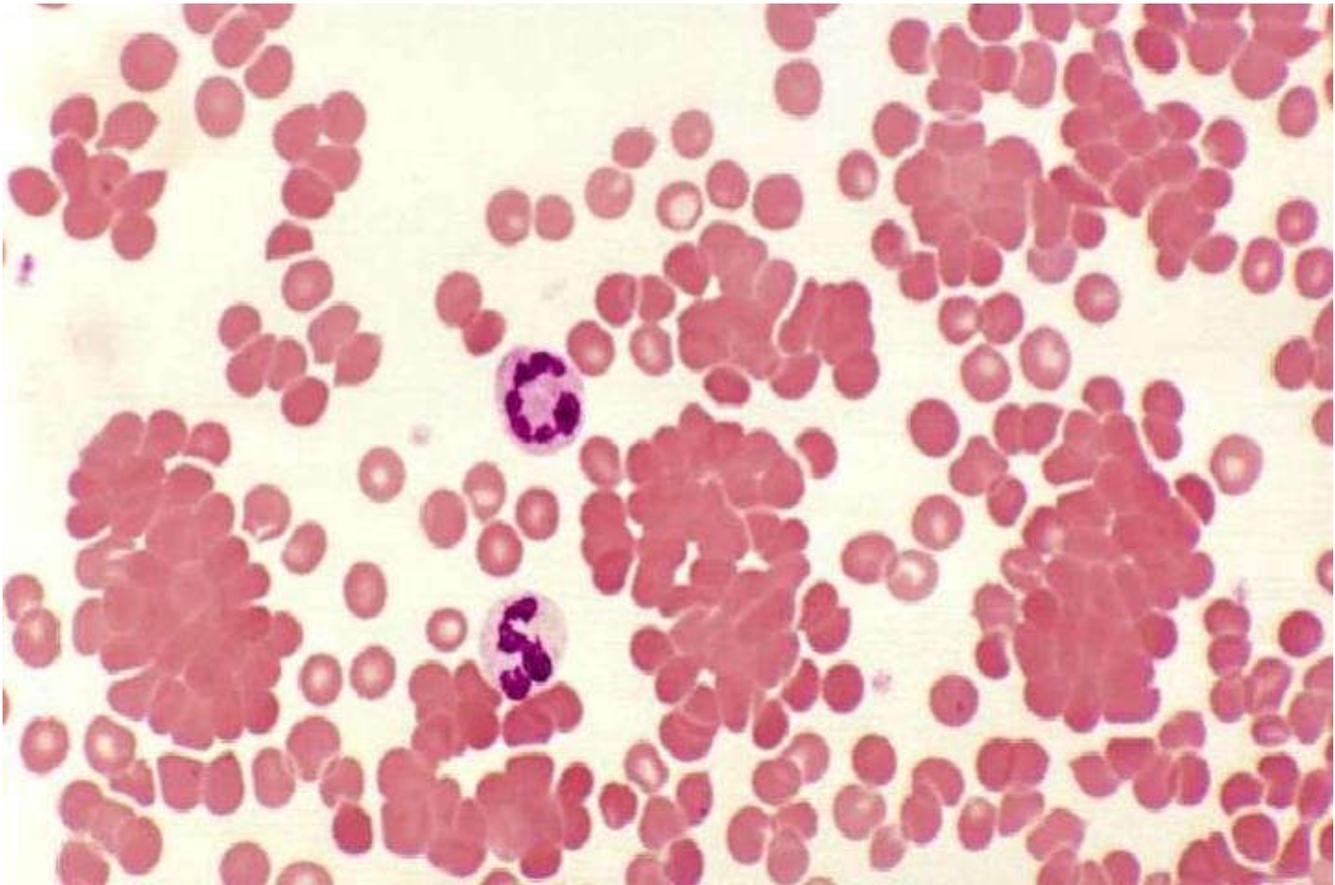
### I.3. Discussion

L'hémogramme montre une anémie d'intensité très variable, le taux d'hémoglobine est de 3 à 10g/dl, normochrome, normocytaire ou macrocytaire témoignant de l'hyperéti-culocytose

L'étude de la morphologie des hématies par l'analyse du frottis sanguin est une étape capitale du diagnostic puisqu'elle permet d'éliminer un certain nombre d'anémies hémolytiques corpusculaires ou extra-corpusculaires non immunologiques. Dans les AHAIc, le frottis montre classiquement une anisocytose et une polychromatophilie liée à l'augmentation des réticulocytes, fréquemment associée à la présence de nombreux sphérocytes (fig 19), du fait de la déformation et de la phagocytose incomplète in vitro des hématies sensibilisées par les auto-anticorps. En présence d'AF, l'auto-agglutination des hématies est régulièrement observée à température ambiante (fig 20). Enfin l'absence ou la présence en faible nombre de schizocytes est un élément déterminant pour éliminer une microangiopathie thrombotique



**Fig 20 : Frottis du sang périphérique avec des miosphérocytes (Sacha Z)**



**Fig 21 : Agglutination des hématies en présence d'agglutination froides (Forum Med Suisse,2010)**

### **I.3.1. Leucocytes :**

Les leucocytes sont généralement normaux mais quelque fois on peut avoir une hyperleucocytose modérée. Rarement, on trouve un tableau de réaction leucémoïde dans les formes d'hémolyse suraiguë.

### **I.3.2. Plaquettes :**

Les plaquettes restent également dans les limites de la normale, mais dans certains cas, on peut noter une thrombopénie à caractère auto-immun, réalisant alors le syndrome d'Evans.

### **I.3.3. Réticulocytes :**

La réticulocytose est très franchement élevée entre 150 000 et 800 000/mm<sup>3</sup>. Elle peut être retardée voire absente dans certaines formes cliniques où il existe une destruction Simultanée des globules rouges et des érythroblastes, la moelle étant alors le siège d'une érythropoïèse inefficace.

Un nombre normal, voire abaissé de réticulocytes peut néanmoins s'observer, dans 10 à 20 % des cas d'AHAI :

Au stade tout initial de l'AHAI, l'hyper-réticulocytose pouvant être retardée de quelques jours ; lorsque les auto-anticorps sont dirigés contre des Ag communs aux érythrocytes matures et aux réticulocytes et/ou aux érythroblastes ; en cas de carence en folates associée ;

#### **I.3.4. Myélogramme :**

Il est très rarement appliqué. Il n'est indiqué qu'en cas de doute sur la réalité de l'hémolyse ou lorsqu'on recherche une hémopathie lymphoïde sous-jacente avec infiltration médullaire.

#### **I.4. Diagnostic biochimique :**

Il s'agit des stigmates qui témoignent de la destruction des hématies :

- L'haptoglobine libre est effondrée même en dehors de l'hémolyse intra vasculaire, signe extrêmement sensible pour la détection de l'hémolyse.
- L'élévation de lactate déshydrogénase (LDH), dont le dosage peut être utilisé comme marqueur quantitatif d'hémolyse au cours du suivi des AHAI.
- Parfois une augmentation de la bilirubine non conjuguée et de l'Ur bilirubine dans les urines.
- En cas d'hémolyse intra-vasculaire, en plus des anomalies sus-citées, la présence d'Hgb libre plasmatique, d'une hémoglobinurie et/ou d'une hémosidérinurie est classique.
- Enfin, même si ce paramètre n'est pas habituellement utilisé dans ce contexte, l'Hgb glyquée est également diminuée en cas d'hémolyse et son taux est un reflet indirect de l'intensité de l'hémolyse dans les quatre à huit semaines précédant le dosage [29]

#### **I.5. Diagnostic immuno-hématologique :**

La preuve de la nature auto-immune des AHAI repose sur le test de Coombs direct, sur le test d'élution-fixation et sur l'identification et le titrage des auto-anticorps sériques.

### I.5.1. Test de Coombs direct :

#### I.5.1.a. Principe et technique:

Le principe de ce test, dont la mise au point initiale par ROBERT COOMBS remonte à 1945 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 C (GR« sensibilisés »). Il s'agit le plus souvent d'auto-anticorps caractéristiques des AHAI.

Les réactifs utilisés sont des anti-globulines dites polyspécifiques contenant des AC dirigés contre les différentes classes d'Ig humaines et les fractions du C (deux anti-globulines polyvalentes sont la plupart du temps utilisées car la qualité de ces réactifs est variable); une anti-globuline dirigée contre les immunoglobulines IgG humaines, caractéristiques des AHAI- auto-anticorps chauds et une anti-globuline reconnaissant les fractions du C, notamment C3d, C3b, C4d. Les autres réactifs ne sont utilisés que dans des situations rares (anti-globuline réagissant avec les IgM ou les IgA, rarement en cause dans les hémolyses auto-immunes).



**Fig 22 : Réactif anti globuline polyvalente polyspécifiques**

La seule présence d'Ig et/ou de C 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 essentielles dont découle le Test direct à l'antiglobuline (TDA):

Étape de lavage préalable des GR afin de les séparer des protéines plasmatiques à l'eau physiologie ; 6 fois

Remise en suspension des GR sensibilisés dans une solution saline dépourvue d'AC (1900ul eau physiologie et 100ul culot dz GR). Adjonction d'un sérum contenant des anti-globulines humaines polyspécifiques (anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti-C3) d'origine animale (sérum de lapin préalablement immunisé par une Ig humaine) entraînant la formation « des ponts » et l'agglutination des GR sensibilisés se fait sur plaque ou en tube. Dernièrement on va faire centrifugation à faible vitesse (1800t) pendant 1 min

Actuellement, le test de Coombs direct fait appel à des AC monoclonaux anti-globulines humaines et la technique classique en tube est le plus souvent par une technique en gel. En effet, la technique de gel filtration évite les lavages trop agressifs pouvant éluer les auto-anticorps de faible affinité remplacée

Il convient d'utiliser :

Des anti globulines anti-IgG, IgM et IgA; des anticorps contre les fractions du complément C3d et C3c.

Ainsi, les anémies hémolytiques auto-immunes à test de Coombs négatif sont devenues rares avec la technologie en gel

Il faut souligner que la présence d'IgM à la surface des hématies ne peut pas, en règle générale, être démontrée de façon directe. Les IgM étant le plus souvent spontanément éluées de la surface de GR in vitro.

Le TDA est un test semi-quantitatif dont la positivité traduit la présence d'un nombre variable d'AC (auto- ou allo-anticorps) et/ou de C (C3) fixés à la surface des GR du patient. Lorsque le TDA est positif, il convient d'une part de préciser sa spécificité (IgG et/ou C3, IgA) et d'autre part d'apprécier l'intensité de l'agglutination.

Lors d'une hémolyse chronique, en l'absence de signes d'orientation, le bilan minimal, avant de porter un diagnostic d'AHAI idiopathique, doit comporter une recherche d'AC antinucléaires (surtout chez la femme jeune), une électrophorèse des protéines sériques et une tomographie thoraco-abdominale.

En revanche, la rentabilité de la biopsie ostéomédullaire de principe, en l'absence de tout signe d'appel clinique ou biologique, paraît faible. En dehors de ces situations, la constatation d'une

AHAI au cours d'une pathologie déjà identifiée va faire discuter les éventuels liens entre les deux affections

### **I. 5.1. b Sensibilité et limites :**

Le test est hautement sensible (sensibilité 95 %) pour le diagnostic d'AHAI, il n'est pas d'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. Il connaît cependant certaines limites :

#### **I.5.2 Faux positifs :**

- ✚ La positivité du test de Coombs peut s'observer en dehors d'une hémolyse auto-immune, particulièrement après transfusion sanguine, à la suite d'injection de produits thérapeutiques d'origine humaine (Ig IV) ou animale (sérum anti lymphocytaire).
- ✚ Il est exceptionnel d'observer un test de Coombs positif en l'absence d'hémolyse auto-immune bien que la présence d'IgG ou de certaines fractions du C ait pu être décrite chez les sujets normaux.

Un test de Coombs direct positif ne signifie pas obligatoirement AHAI (nombreux faux positifs), mais peut notamment s'observer en cas d'adsorption non spécifique d'Ig dans diverses circonstances (hypergammaglobulinémie poly clonale, autre MAI, suites de l'administration d'Ig polyvalentes, myélome...) ou encore en cas d'anémie hémolytique de mécanisme immunologique induite par un médicament.

#### **I.5.3 Faux négatifs :**

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) ;
- ✚ Lorsque l'affinité de l'auto-anticorps est faible et que celui-ci est éliminé lors du 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 AC de type IgA, ce qui est le cas dans environ 2 à 3 % des AHAI .Ce qui explique la nécessité de demander systématiquement un TDA avec une antiglobuline anti-IgA lorsque le test est négatif en IgG et C3

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 »

**I.6. Résultat :**

Après l'étude sur le terrain, les cas étudiés à l'hôpital d'Adrar étaient 3cas négative et un cas positive, mais il n'y a pas d'autre cas pour comparer et d'étude à la fin on conclut que l'anémie hémolytique est une malade très rare.

	L'âge	Les résultats
cas n 01	63	Négative
cas n 02	40	Négative
cas n 03	50	Positive
cas n 04	45	Négative

**Tab 4 : Un tableau montrant les résultats obtenus**

## Conclusion

Notre étude a montré que l'anémie hémolytiques immune, Elle est très rare et ce test est le test de coombs direct.

La maladie hémolytique du nouveau-né est une maladie sanguine due à une lyse des globules rouges (GR) du nouveau-né (NN) par des anticorps maternels dirigés contre des antigènes exprimés à la surface des cellules sanguines du NN.

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

D'une part une anémie profonde avec risque d'insuffisance cardiaque, œdèmes généralisés et anasarque foeto-placentaire pouvant conduire à la mort de l'enfant.

D'autre part une hyperbilirubinémie, avec lésions possibles des noyaux gris centraux. Avant la naissance, la bilirubine est éliminée par l'organisme maternel.

On pourra traiter l'enfant par une exposition aux U.V. Ce traitement facilite l'élimination de l'excès de bilirubine. Si le taux de bilirubine continue à augmenter (20mg/l) une exsanguino-transfusion peut être envisagée pour éviter les effets toxiques de la bilirubine sur les noyaux gris centraux.

Que le diagnostic de maladie hémolytique du nouveau-né ait non confirmé, il faut impérativement traiter la mère dans la naissance de l'enfant ou au plus tard après la naissance, afin de prévenir tout phénomène d'allo immunisation. Il faut faire une injection d'anti D (Ac anti Rh) chez la mère. Ces AC vont se fixer sur les globules rouges fœtales qui ont pu passer dans la circulation maternelle et faciliter leur destruction par les macrophages. Ainsi le système immunitaire de la mère ne sera pas en contact avec ces globules rouges et il n'y aura pas d'immunisation de la mère.

Les réactions de Coombs peuvent avoir d'autres applications (Des accidents néonataux par incompatibilité ABO, En utilisant une antiglobuline plus spécifique, une anti-IgG, une anti-IgG ou une anti-IgG, on peut même préciser la nature de ces autos Ac fixés sur les globules rouges.)

## Bibliographie

- [01] **Alarcon PA** (Nov 30, 2011). "Acanthocytosis".[ en ligne] disponible sur: <http://www.dovemed.com/diseases-conditions/acanthocytosis/>
- [02] **André et al**, Les globules blancs ; 2008
- [03] **Bull. Acad. Natle Méd.** , 2013, 197, no 2, 361-373, séance du 26 février 2013
- [04] **C. lockrd Conley**. blood biochemistry
- [05] **Carole Emile** Démarche diagnostique devant une anémie vol 20, n°416, 2009
- [34] **Dacies J** The hemolytic anaemias.vol 3.The autoimmune haemolyticanaemias  
London : chrcill Livingsstone, 1992 : 1-528
- [06] **Dr Anne-Christine Della Valle** Mis à jour le 04/03/19 15:52 Le journal des Femmes santé
- [07] **Dr. Chantal KOHLER** 2010/2011Les cellules sanguines universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC)
- [08] **F.Meyer, D.** (2011). Anémies Hémolytiques auto-immunes : diagnostic biologique et nouvelles approches thérapeutiques.
- [09] **FMC**, 20/03/01, Faculté de médecine de Tours. 12. F. Balédent , (octobre 2002), Développement et Santé, n°161. Volume 180
- [40] **françoise Balédent 2002** Centre Hospitalier de Saint-Denis, 93205, France.02  
OCTOBRE 2002
- [28] **Gehre BC, Friedberg RC. Auto immune haemolytic anemia.Am J Hematol** 2002, 69: 258- 71
- [35] **Genty I, Michel M, Hermine O, Schaeffer A, et al.** Characteristics of autoimmune hemolytic anemia in adults; retrospective analysis of 83 cases.Revue med interne ; 2002 ; NOV.23(11) ; 901-9.
- [29] **GERARD SEBAHOUN.** Hématologie clinique et biologique 2e édition. 2006
- [10] **Hoffman, R ; Benz, EJ ; Silberstein, LE; Heslop, H ; Weitz J; Anastasi, J (2012).** Hematology : Basic Principles and Practice (6th ed.). Elsevier ISBN 978-1-4377-2928-3.
- [32] **Hugues P, TOOGOOD A.** Plasma exchange as a necessary prerequisite for induction for remission by human immunoglobulin in autoimmune haemolytic anemia.ACTA  
HAEMATOLOGICA. 1994, 91: 166-169
- [11] **J.J Lefrère.** Transfusion sanguine abrégés, 5 éme édition, page 73
- [12] **Keskes et Ghorbel**, les globules rouges , 2006

- [13] **Kohler 2008** morphologie des globules rouges
- [31] Kokori SI, Ioannidis JP, Voulgarellis M, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Autoimmune haemolytic anemia in patients with systemic lupus erythe-
- [14] **M. BENDJEBLA(20-10-04)** . LE SANG , APP ,2 :14-20
- [15] **M.-H. Schlageter, C. dosquet, C.chomienne.** érythropoïétine, le 11/05/2015
- [30] **matosus. Am J Med** 2000; 108:198–204
- [16] **MediaLab (July 12, 2013).** "Burr Cells (Echinocytes)"[en ligne] disponible sur : [www.medialab.sciences-po.f](http://www.medialab.sciences-po.fr)
- [38] **Michel M, Chanet V, Galicier L, Ruivard M, Levy Y, Hermine O, et al.** Autoimmune thrombocytopenic purpura and common variable immuno-deficiency: analysis of 21 cases and review of the literature. *Medicine* 2004; 83:254–63
- [26] **Motta.M, Cavazza A, Micliori C** et al. Autoimmune haemolytic anaemia in a newborn infant. *Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition* 2003, 88 : F 341
- [17] **Mr Amine Meftah .** 2016 Anémie Hémolytiques Auto Immunes thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie université MOHAMMED V-RABAT
- [18] **Patricia Aguilar-Martinez, (Janvier 2007).** ÉRYTHROCYTES, Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes, Erslev AJ. Erythropoietin. *N Engl J Med* 1991;324: 1339-44.
- [36] **Petz LD, Garraty G.** Immune haemolytic anemias. Philadelphia PA: Churchill Livingstone; 2004
- [33] **Petz LD.** Treatment of autoimmune haemolytic anemia. *Curr Opin Hematol* 2001; 8:411–
- [19] **Revmedvet.2001**[en ligne] disponible sur : [http://www.revmedvet.com/2001/RMV152\\_549\\_554](http://www.revmedvet.com/2001/RMV152_549_554)
- [27] **Rochant H.** Anémies hémolytiques auto-immunes. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Hématologie* 13-006-D-20, 1999, 19 p
- [20] **Sacha Z.** L'anémie hémolytique auto-immune un défi diagnostique et thérapeutique. *Forum Med Suisse* 2010; 10(37):626–633
- [37] Schwartz RS. Shattuck Lecture - Diversity of the Immune Repertoire and Immunoregulation. *N Engl J Med* 2003; 348:1017-26
- [21] **Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R.** the pathology of autoimmune hemolytic anemia. *J Clin Pathos* 1992; 45:1047-52
- [39] Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R. the pathology of autoimmune hemolytic anemia. *J Clin*

Pathos 1992; 45:1047-52

- [22] **Thi Kim Anh NGUYEN 2013** THESE de l'Université Jean Monnet de Saint-Étienne, Membre de l'Université de Lyon Pour l'obtention du DIPLÔME DE DOCTORAT en Biologie, Médecine, Santé
- [23] **tout sur la transfusion.com** créé le 19 Aout 2011
- [24] **WHO:** World Health Organization, 2007. Assessing the iron status of populations: report of a joint World Health Organization/ Centers for Disease Control and Prevention technical consultation on the assessment of iron status at the population level, 2nd ed., Geneva.
- [25] **Zini G, d'Onofrio G, Briggs C, et al. 2012** ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes Int J Lab Hematol.; **34:107-16**