



HAL
open science

Recherche des agglutinines froides : étude rétrospective des prescriptions à l'EFS Occitanie entre 2019 et 2022 et signification clinique

Justine Maroilley

► To cite this version:

Justine Maroilley. Recherche des agglutinines froides : étude rétrospective des prescriptions à l'EFS Occitanie entre 2019 et 2022 et signification clinique. Sciences pharmaceutiques. 2023. <dumas-04284904>

HAL Id: dumas-04284904

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04284904v1>

Submitted on 14 Nov 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons CC BY-NC-SA 4.0 - Attribution - Non-commercial use - ShareAlike - International License

Thèse
pour l'obtention du
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue le 15 septembre 2023

Par Justine MAROILLEY

Interne en Biologie Médicale

Recherche des Agglutinines Froides : étude rétrospective
des prescriptions à l'EFS Occitanie entre 2019 et 2022 et
signification clinique

JURY : Président : Professeur Eric RAYNAUD DE MAUVERGER

Assesseurs : Docteur Aurélie CONTE (Directrice de thèse)

Docteur Noémie SIMON

Docteur Jennifer RUSSELLO

Docteur Sarah NASRADDINE

Remerciements

Au **Professeur Eric RAYNAUD DE MAUVERGER**, merci de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse. J'espère que ce travail vous apportera entière satisfaction.

A ma directrice de thèse, le **Docteur Aurélie CONTE**, merci d'avoir accepté de m'encadrer mais aussi de m'avoir si bien accueillie au sein de l'EFS lors de mon stage. Tu as toujours fait preuve de gentillesse et de motivation dans ma formation et lors de la rédaction de ce travail malgré ton emploi du temps plus que débordant. Je suis très heureuse d'avoir pu travailler en ta compagnie.

Au **Docteur Noémie SIMON**, merci d'avoir accepté de participer à mon jury mais aussi de m'avoir accueillie et formée lors de mon stage à l'EFS. Tu as toujours pris de ton temps pour me former avec gentillesse et bienveillance et j'ai beaucoup apprécié travailler avec toi.

Au **Docteur Jennifer RUSSELLO**, merci d'avoir accepté de participer à mon jury mais aussi de m'avoir tant appris en cytologie. Tu as pris le temps de me former lors de mes différents stages et travailler à tes côtés a toujours été un plaisir.

Au **Docteur Sarah NASRADDINE**, merci d'avoir fait le déplacement depuis Limoges pour participer à mon jury. Tu es une des premières à m'avoir donné le goût de la cytologie et transmis l'amour des cellules sanguines. Je suis si heureuse d'avoir pu faire ta connaissance lors de ce stage et d'avoir la chance de profiter de ton expertise lors de cette soutenance.

A mes parents, merci d'avoir fait de moi celle que je suis, de m'avoir soutenue dans mes choix de vie et de m'avoir toujours apporté le meilleur. Merci à **ma mère** pour avoir toujours été une épaule rassurante, pour m'avoir donné la détermination de réussir. Merci à **mon père** pour avoir toujours cru en moi et m'avoir poussée à ne jamais abandonner, pour m'avoir transmis tes meilleurs conseils, pour m'avoir donné le goût de la justice et du travail bien fait.

A **mon frère**, merci d'avoir été si attentionné envers moi. Tu es quelqu'un de bien plus fort que ce que les gens peuvent imaginer et je ne te serais sûrement jamais arrivée à la cheville si la situation avait été inversée. Je ne te souhaite que le meilleur parce que c'est ce que tu mérites. Je t'aime.

A **Victor**, merci d'être mon soutien indéfectible dans tout ce que j'entreprends. Je ne saurai jamais assez te remercier pour ces beaux moments passés à tes côtés. J'ai hâte de tout ce chemin qu'il nous reste à parcourir ensemble. Je t'aime.

A **mes amis**, merci pour tous ces moments partagés au fil des ans.

Aux **techniciens** et **biologistes** des laboratoires d'immuno-hématologie de l'EFS et d'hématologie du CHU, merci pour votre accueil et votre implication lors de mes stages.

Table des matières

1. Introduction	4
1.1. Anémie hémolytique auto-immune	4
1.2. Auto-anticorps chauds et froids	5
1.3. Maladie ou Syndrome des agglutinines froides	6
1.4. Diagnostic biologique	7
1.5. Manifestations cliniques	12
1.6. Prise en charge	13
1.7. Objectifs de l'étude	14
2. Matériels et méthodes	14
2.1. Plan d'étude	14
2.2. Critères d'inclusion et d'exclusion.....	14
2.3. Recueil des données.....	14
2.4. Résultats immuno-hématologiques	15
2.5. Traitement des résultats	17
3. Résultats	17
3.1. Etudes des recherches d'agglutinines froides à l'EFS Occitanie.....	17
3.1.1. Caractéristiques générales des patients	17
3.1.2. Etude des prescripteurs.....	19
3.1.3. Caractérisation immuno-hématologiques.....	21
3.1.3.1. Examen Direct à l'Antiglobuline	21
3.1.3.2. Amplitude thermique	22
3.1.3.3. Titration des agglutinines froides	23
3.1.3.4. Spécificité des agglutinines froides	25
3.1.3.5. Recherche d'Anticorps anti-Erythrocytaires	26
3.1.4. Rendu des résultats de recherche d'agglutinines froides à l'EFS.....	27
3.2. Etude des recherches d'agglutinines froides à l'EFS Occitanie provenant du CHU de Montpellier.....	30
3.2.1. Caractéristiques générales des patients	30
3.2.2. Caractéristiques immuno-hématologiques.....	30
3.2.2.1. Examen Direct à l'Antiglobuline	30
3.2.2.2. Titration d'agglutinines froides.....	31
3.2.3. Caractéristiques clinico-biologiques.....	31
3.2.3.1. Examen clinique lors de la recherche d'agglutinines froides	31
3.2.3.2. Caractérisation de l'anémie.....	33

3.2.4.	Exploration diagnostique complémentaire.....	35
3.2.5.	Etiologies et pathologies associées aux agglutinines froides.....	36
3.2.5.1.	Maladie idiopathique des agglutinines froides.....	36
3.2.5.2.	Hémopathies malignes.....	37
3.2.5.3.	Néoplasies.....	38
3.2.5.4.	Maladies auto-immunes.....	40
3.2.5.5.	Infections.....	41
3.2.5.6.	Autres pathologies.....	43
3.2.5.7.	Evènements iatrogènes.....	45
3.2.5.8.	Association multi-pathologiques.....	46
3.2.6.	Prise en charge thérapeutique.....	48
4.	Discussion.....	48
4.1.	Examens immuno-hématologiques et caractérisation des agglutinines froides.....	48
4.2.	Aspects cliniques liés à la présence d'agglutinines froides.....	52
4.3.	Etiologies.....	55
4.4.	Prise en charge.....	61
4.5.	Conclusions rendues lors de la recherche d'agglutinines froides à l'EFS.....	62
4.6.	Limites et perspectives.....	63
5.	Conclusion.....	64
6.	Bibliographie.....	66
7.	Liste des abréviations.....	74
8.	Table des figures.....	76
9.	Table des tableaux.....	77

1. Introduction

1.1. Anémie hémolytique auto-immune

L'anémie est définie comme la diminution du taux d'hémoglobine qui est déterminé en fonction du sexe, de l'âge ainsi que de l'état physiologique comme la grossesse. Elle ne constitue pas une pathologie à part entière mais est la conséquence d'une atteinte sous-jacente. Elle touche une grande partie de la population mondiale à tous les âges (1). Il existe différents types d'anémies et la classification repose soit sur les caractéristiques hématologiques de l'anémie, soit sur l'atteinte sous-jacente à l'origine de la chute d'hémoglobine. Sont ainsi différenciées les anémies microcytaires, normocytaires et macrocytaires en se basant sur le Volume Globulaire Moyen (VGM), les anémies hypochromes et normochromes en se basant sur la Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH), et les anémies régénératives et arégénératives en se basant sur le taux de réticulocytes. Concernant la classification à partir des atteintes sous-jacentes, elle permet de différencier les anémies d'origines centrale et périphérique. Les anémies d'origine centrale séparent les insuffisances d'hémoglobine quantitatives dues à un envahissement médullaire, une aplasie médullaire ou une anomalie constitutionnelle, des insuffisances qualitatives dues à des carences vitaminiques ou martiale, une insuffisance rénale ou un syndrome myélodysplasique. A propos des anémies d'origine périphérique, elles peuvent être la conséquence de différents mécanismes comme l'hémorragie, une anomalie corpusculaire généralement constitutionnelle ou une anomalie extra-corpusculaire le plus souvent acquise. Les anémies corpusculaires regroupent les anomalies membranaires comme la sphérocytose, les hémoglobinopathies comme la drépanocytose, les déficits enzymatiques comme le déficit en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G6PD) et l'Hémoglobinurie Paroxystique Nocturne (HPN) qui est une étiologie acquise. Les anémies extra-corpusculaires, quant à elles, regroupent les anémies d'origines immunologique comme l'immuno-allergie médicamenteuse ou l'allo-immunisation fœto-maternelle, infectieuse comme le paludisme, toxique comme le saturnisme ou mécanique comme la Microangiopathie Thrombotique (MAT). Ainsi l'Anémie Hémolytique Auto-Immune (AHA) est une anémie d'origine périphérique extra-corpusculaire induite par un mécanisme immunologique. Elle est le plus souvent régénérative, normocytaire et normochrome (1–3).

En 2020, ont été publiées les Recommandations de la Première réunion de Consensus International à propos du diagnostic et du traitement de l'AHA chez l'adulte (4). Il est défini qu'une anémie hémolytique correspond à une chute de l'hémoglobine liée à la diminution de la durée de vie des hématies en raison d'une destruction de ces dernières. L'anémie est qualifiée d'auto-immune lorsque cette destruction est causée par des auto-anticorps dirigés contre des antigènes exprimés à la surface des hématies. Ainsi le type d'auto-anticorps permet de distinguer les AHA en plusieurs

groupes : les AHAI médiées par des auto-anticorps chauds (wAHAI) dans 65% des cas, par des auto-anticorps froids (cAHAI) dans 30% des cas ou de type mixte lorsqu'elles sont médiées par les deux types d'auto-anticorps dans 5% des cas. La définition d'un auto-anticorps chaud ou froid provient de la capacité de liaison de l'anticorps aux antigènes érythrocytaires selon leur optimum thermique. En effet un auto-anticorps chaud se liera préférentiellement à une température de 37°C, tandis qu'un auto-anticorps froid se liera préférentiellement à une température de 4°C (5,6).

1.2. Auto-anticorps chauds et froids

Les wAHAI des cAHAI sont différenciables par bien d'autres facteurs. En effet dans les wAHAI, les auto-anticorps seront majoritairement des immunoglobulines G (IgG) polyclonales. La destruction des hématies sera alors principalement imputable à une cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) se produisant dans la rate, à l'origine d'une hémolyse extravasculaire (5–7). Toutefois l'hémolyse est médiée par le complément dans presque 50% des wAHAI (8). Différents anticorps peuvent être responsables de cAHAI. Tout d'abord, il y a les Agglutinines Froides (AF), principalement de type immunoglobuline M (IgM), retrouvées dans la maladie des agglutinines froides (CAD) et le syndrome des agglutinines froides (CAS). Également, il existe des anticorps biphasiques de type IgG retrouvés dans l'hémoglobinurie froide paroxystique. Ces derniers, aussi appelés anticorps Donath-Landsteiner, sont des hémolysines biphasiques de type IgG et de spécificité dirigée contre l'antigène érythrocytaire P. Elles se fixent aux hématies à froid sans provoquer ni agglutination érythrocytaire ni hémolyse. Lors du réchauffement des hématies à 37°C dans la circulation centrale, leur fixation aux hématies entrainera l'activation du complément à l'origine d'une hémolyse intravasculaire (9).

Les AF sont des auto-anticorps anti-érythrocytaires pouvant être à l'origine d'une hémolyse médiée par le complément. Elles lient les antigènes érythrocytaires dans les parties acrales de la circulation sanguine où la température est plus basse (10). Généralement ces antigènes érythrocytaires correspondent à des polymères à chaîne ramifiée correspondant à l'antigène I « adulte » (4). En effet l'antigène I se retrouve chez plus de 99% des hématies de personnes âgées de 18 mois et plus et la spécificité anti-I concerne environ 90% des AF (11). Néanmoins il existe également des AF avec une spécificité anti-i (12), correspondant à une immunisation contre l'antigène i linéaire présent à la surface des hématies néonatales. Plus rarement, il existe une spécificité anti-Pr dirigée contre des groupements glucidiques des glycophorines présentes sur les hématies « adultes » et néonatales (13,14). Les antigènes I et i, retrouvés sur toutes les cellules sanguines, ne correspondent pas à des paires alléliques. En effet l'antigène I est formé par ramification de son précurseur l'antigène i (15). Comme décrit dans la Figure 1, après fixation des AF sur les hématies, on observe une activation de la voie classique du complément aboutissant à la formation de la fraction C3b recouvrant la surface des

hématies. Il s'agit du phénomène d'opsonisation. En passant dans la circulation centrale on assiste à un réchauffement à 37°C entraînant un détachement des AF. En revanche le C3b reste lié et les hématies ainsi opsonisées sont détruites par phagocytose dans le foie, entraînant une hémolyse extravasculaire. Sur certaines hématies, l'activation du complément peut se poursuivre jusqu'à la génération de la C5 convertase à l'origine de l'initiation de la cascade terminale du complément. Dans ce cas, une hémolyse intravasculaire due à la formation du complexe d'attaque membranaire est observée. A la surface des hématies non lysées le C3b est clivé en C3d (8,16,17).

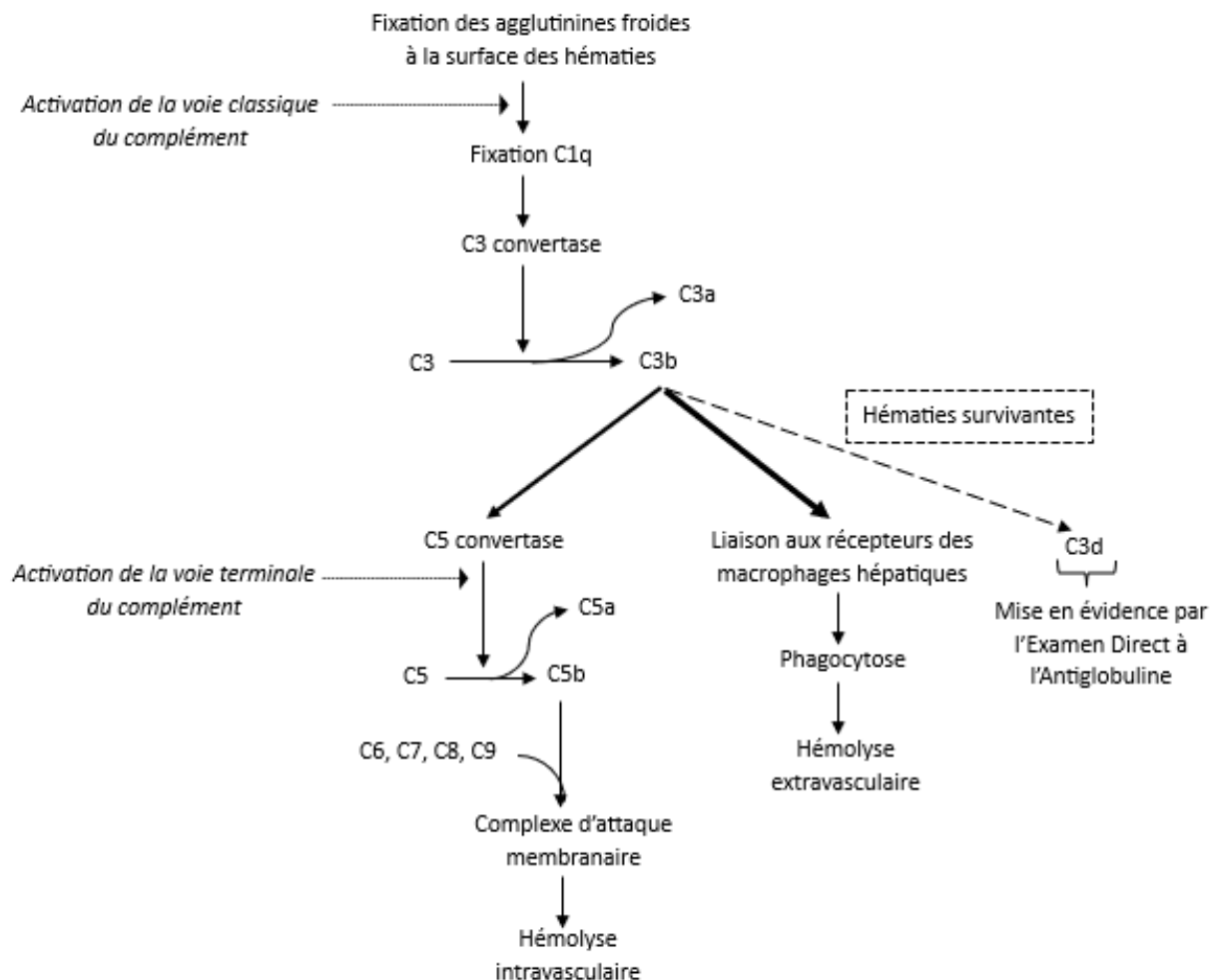


Figure 1 Mécanismes à l'origine de l'hémolyse induite par les agglutinines froides

1.3. Maladie ou Syndrome des agglutinines froides

L'origine de ces AF peut être primaire dans le cas de la CAD, ou secondaire dans le cas du CAS. Ainsi on définit la CAD comme un trouble lymphoprolifératif idiopathique au cours duquel sont sécrétées des AF monoclonales (18). En effet, il a été démontré l'existence au niveau de la moelle osseuse d'un trouble lymphoprolifératif clonal à cellules B de bas grade chez les patients atteints de CAD. Anciennement ce trouble était classé de façon variable en lymphome lymphoplasmocytaire (LPL), lymphome à petites cellules, lymphome de la zone marginale (LZM), gammopathie monoclonale ou

lymphocytose réactive. (8,10). En 2014 et 2020 des études ont montré que la CAD présentait des caractéristiques histologiques, immunophénotypiques et génétiques différentes des lymphomes non hodgkiniens à cellules B (19,20). En 2022, la 5^{ème} édition de la Classification des Tumeurs Hématologiques Lymphoïdes de l'Organisation Mondiale de la Santé a redéfini la CAD comme une maladie rare correspondant à une prolifération lymphoïde clonale à cellules B matures ne répondant pas aux critères d'un lymphome à cellules B et pouvant être classée dans les gammopathies monoclonales (21). Cette même année, la Classification Consensuelle Internationale des Tumeurs Lymphoïdes Matures a également reconnu la CAD comme une nouvelle entité distincte où la mutation L265P de MYD88 est absente contrairement au lymphome lymphoplasmocytaire où elle est majoritairement présente (22). Les AF retrouvées sont le plus souvent des IgM monoclonales présentant une restriction du gène VH4.34, des chaînes kappa monoclonales et une spécificité anti-I (23). Généralement le ratio entre les chaînes kappa et lambda est supérieur 3,5 ou plus rarement inférieur 0,9 (10). Dans de rares cas, des AF de type IgG, IgA ou à chaînes lambda peuvent être retrouvées (4).

A contrario le CAS regroupe un ensemble hétérogène de cAHAI dont la production d'AF polyclonales survient secondairement à diverses pathologies telles que des infections, des hémopathies malignes ou des maladies auto-immunes. Les causes retrouvées sont notamment des lymphomes non-hodgkiniens, des tumeurs d'organes solides, des infections virales ou atypiques à *Mycoplasma pneumoniae*, ou des atteintes auto-immunes comme le lupus érythémateux systémique (LES) (15,24–26). La production d'AF peut-être aiguë et transitoire notamment chez les jeunes enfants et adolescents atteints d'infections virales, mais elle peut aussi être chronique surtout chez l'adulte atteint d'une hémopathie ou d'une maladie auto-immune au long cours (12). Dans le CAS, les AF sont plutôt des IgM polyclonales (15) dont la spécificité anti-I ou anti-i peut varier selon la pathologie associée et même, en cas d'infection, selon l'agent infectieux en cause (4). Il semblerait que le titre d'AF à 4°C diffère entre la CAD avec des titres volontiers supérieurs à 500, et le CAS avec des titres plus généralement inférieurs à 64 (26). Mais la véritable façon de les différencier consiste à effectuer des recherches étiologiques poussées.

1.4. Diagnostic biologique

Biologiquement, les AF entraînent différentes perturbations. Une chute de l'hémoglobine souvent régénérative associée à des stigmates d'hémolyse est retrouvée en cas d'association à une anémie hémolytique : augmentation des taux de lactate déshydrogénase (LDH), de bilirubine non-conjugée (BNC) et des réticulocytes, diminution du taux d'haptoglobine et présence d'une hémoglobinurie voir d'une hémosidérinurie (5). Lors de la réalisation de la numération sanguine il est possible de retrouver des anomalies artéfactuelles dues à l'agglutination érythrocytaire *in vitro* comme

une fausse augmentation du VGM ou une fausse diminution du nombre d'hématies (15,27). Une fausse augmentation de la CCMH ainsi que des interférences sur la mesure de l'hématocrite peuvent aussi être observées. Pour limiter ces anomalies, il est conseillé de transporter les tubes d'analyses sanguines rapidement en laboratoire à chaud (28). Au frottis sanguin, il est possible d'observer la présence d'agglutinats érythrocytaires ainsi qu'une polychromasie et d'une anisocytose révélatrices d'une réticulocytose (4). La présence de sphérocytes ou microsphérocytes au frottis sanguin est également possible (26) ainsi qu'une poïkilocytose (29).

Afin de mettre en évidence la présence d'AF fixées sur les hématies ou le stigmate de leur fixation, il est recommandé de réaliser un Examen Direct à l'Antiglobuline (EDA) (11). Cette analyse permet également de prédire la nature des auto-anticorps fixés. En effet en cas cAHAI, l'EDA est préférentiellement positif isolément en C3d (25) alors qu'en cas de wAHAI il s'agit plutôt d'un EDA mixte ou positif isolément en IgG (5). La Recherche d'Anticorps anti-Erythrocytaires (RAI) est le plus souvent négative mais il est possible d'observer une positivité du témoin auto révélant la présence d'auto-anticorps malgré la réalisation de l'analyse à 37°C (30). Du fait de l'agglutination érythrocytaire (Figure 2 ; Figure 3), la détermination du groupage ABO peut être perturbée. En ce cas il est possible de laver les hématies en solution saline à 37°C afin de décrocher les AF et de lever l'interférence lors du groupage (15).

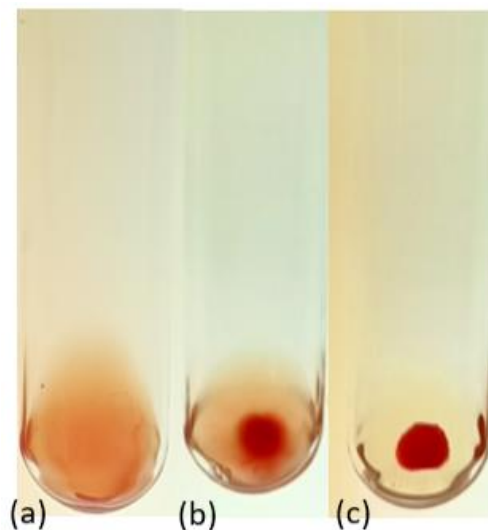


Figure 2 Titrage d'agglutinines froides en tube : (a) absence d'hémagglutination ; (b) hémagglutination ; (c) hémagglutination forte

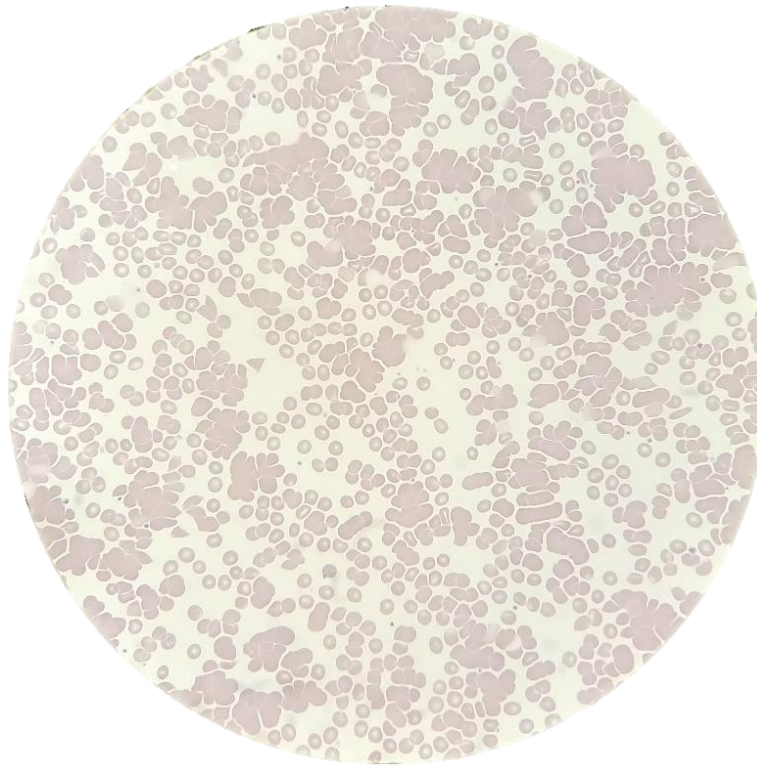
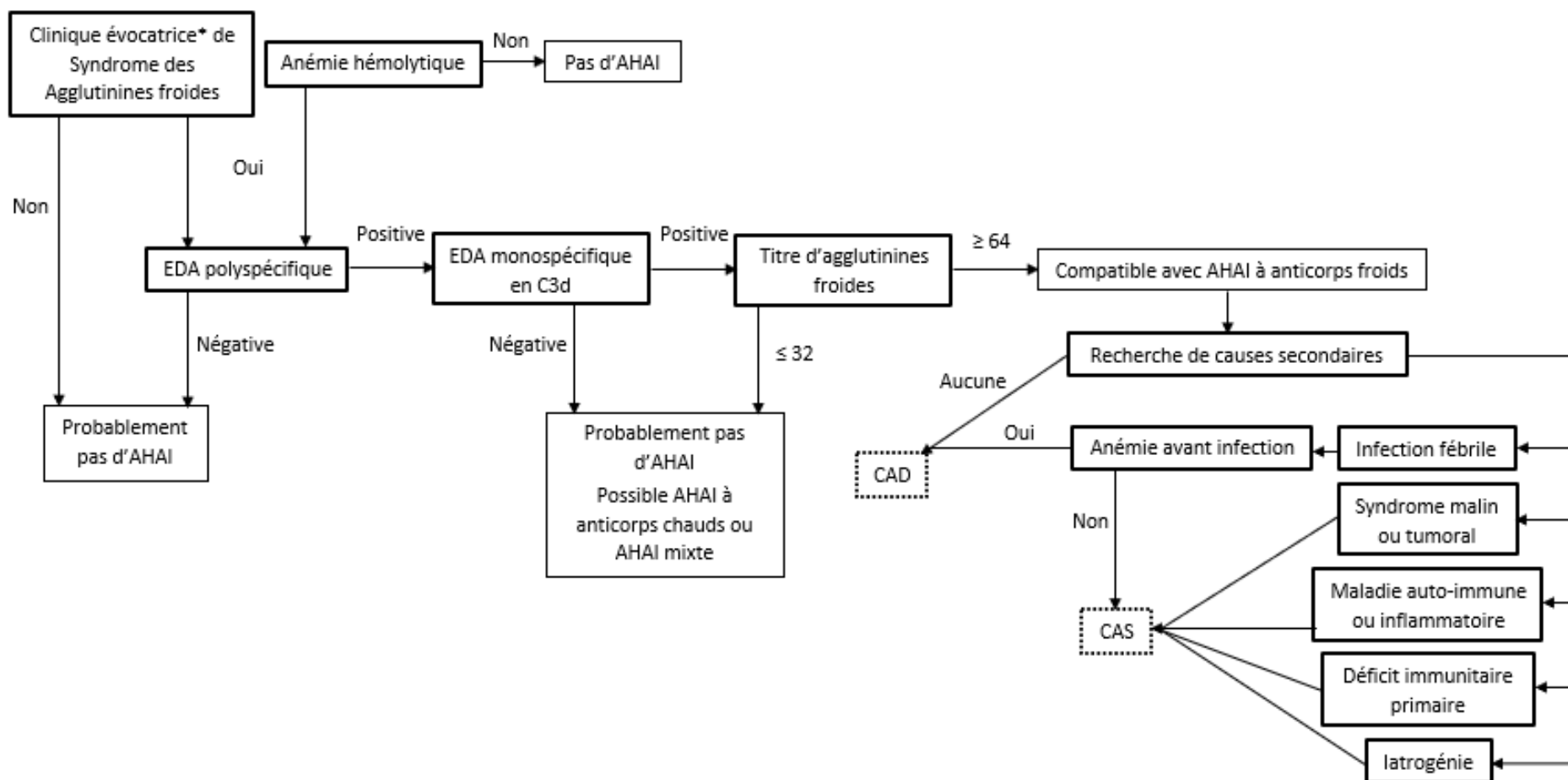


Figure 3 Hémagglutination due aux agglutinines froides sur un frottis sanguin

Pour arriver à un diagnostic il est nécessaire de commencer par mettre en évidence la présence d'AF puis il faut déterminer si l'origine de ces AF est primaire (CAD) ou secondaire (CAS). La Figure 4 et le Tableau 1 résumant les données publiées sur cette démarche diagnostique au fil des années. Les publications (4,11,12) recommandent la réalisation d'un EDA afin de mettre en évidence une positivité en C3d. La négativité de cet EDA en C3d oriente vers une wAHAI ou une AHAI mixte mais elle n'exclut pas la présence d'une cAHAI. En effet il est possible d'obtenir un EDA mixte, positif uniquement en IgG ou même négatif dans un contexte de cAHAI (25). Une fois mises en évidence, il est essentiel de titrer les AF et de déterminer leur amplitude thermique. Le titre d'AF correspond à l'inverse de la dernière dilution du plasma du patient avec des hématies tests pour lesquelles une agglutination à froid est retrouvée. L'amplitude thermique correspond à la capacité des AF à agglutiner les hématies à froid uniquement si l'amplitude est faible, ou à froid et à chaud si l'amplitude est forte. Il existe une certaine disparité dans les publications concernant le titre d'AF retenu comme significativement lié à une clinique évocatrice de CAD ou CAS. Certains évoquent un titre ≥ 256 (29) voir ≥ 512 (15). Il est finalement considéré qu'un titre ≥ 64 est associé à un retentissement clinique et peut correspondre à une CAD en l'absence d'étiologie en faveur d'un CAS (20,31,32).



*clinique évocatrice correspondant à des signes d'anémie (pâleur cutanéomuqueuse, dyspnée d'effort, fatigue, tachycardie), des signes d'hémolyse chronique (ictère clinique, hémoglobinurie), acrocyanose, nécrose des extrémités.

AHAI = Anémie Hémolytique Auto-Immune ; CAD = Maladie des Agglutinines Froides ; CAS = Syndrome des Agglutinines Froides ; EDA = Examen Direct à l'Antiglobuline
D'après les données de la littérature (4,11,12,20,31,32).

Figure 4 Arbre décisionnel lors du diagnostic d'anémie hémolytique auto-immune à auto-anticorps froids

Objectifs	Tests à effectuer chez l'ensemble des patients		Tests à effectuer dans certaines circonstances
Mise en évidence d'une anémie	Hémogramme	Taux d'hémoglobine Paramètres érythrocytaires Taux de réticulocytes	
	Frottis sanguin	Taux de schizocytes Agglutination et morphologie érythrocytaire	
Mise en évidence d'une hémolyse	Taux d'haptoglobine, de LDH et de bilirubine non-conjuguée		
Mise en évidence d'anticorps fixés à la surface des hématies	EDA en IgG et C3d		EDA en IgG et C3d après lavage à froid EDA en en IgA, IgM, C3c
Mise en évidence d'anticorps anti-érythrocytaires	RAI		
Elimination d'autres troubles sous-jacents	Maladies auto-immunes	Anticorps anti-nucléaires et anti-ADN	Anticoagulant lupique Anticorps anti-cardiolipine et anti-β2GPI
	Hémopathies et tumeurs solides	Electrophorèse des protéines sériques Immunofixation Immunophénotypage des lymphocytes B du sang périphérique TDM (thorax, abdomen, bassin)	Biopsie ostéo-médullaire ± myélogramme Biopsie des ganglions lymphatiques
	Immunodéficience primaire	Taux d'IgG, IgA et IgM	Phénotypage des lymphocytes T, NK et B mémoires Sérologies post-vaccinales
	Infections	Recherche VIH, VHC, VHB	Recherche CMV, EBV, parvovirus B19, <i>Mycoplasma pneumoniae</i>

ADN : Acide désoxyribonucléique ; CMV : Cytomégalovirus ; EBV : Epstein-Barr Virus ; EDA : Examen Direct à l'Antiglobuline ; Ig : Immunoglobuline ; LDH : Lactate déshydrogénase ; NK : lymphocytes Natural Killer ; RAI : Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires ; TDM : Tomodensitométrie ; VHB : Virus de l'Hépatite B ; VHC : Virus de l'Hépatite C ; VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

D'après les données de la littérature (4,11,12).

Tableau 1 Tests biologiques et paracliniques à effectuer pour explorer la présence d'agglutinines froides

Un ensemble d'examens doit être pratiqué pour investiguer les éventuelles étiologies responsables de la présence de ces AF. Une partie des examens est recommandée chez tous les patients en raison de la forte prévalence de certaines pathologies responsables de CAS, tandis que d'autres examens sont recommandés uniquement chez quelques patients en cas de clinique évocatrice ou après des examens préliminaires anormaux orientant vers une étiologie précise (Tableau 1). Cette liste d'examens est non-exhaustive puisque dépendante de chaque situation. Parmi les étiologies de CAS, 5 grandes catégories de pathologies ont été retenues : les hémopathies malignes, les tumeurs malignes, les maladies auto-immunes, les infections et les événements iatrogènes. D'autres catégories de pathologies sont également décrites comme responsables de CAS comme les déficits immunitaires tels que le déficit immunitaire commun variable (DICV) ou la greffe de cellules souches hématopoïétiques entraînent un déficit immunitaire transitoire associé à une réaction allo-immune (6,26).

Concernant les hémopathies malignes, il s'agit le plus souvent de troubles lymphoprolifératifs comme les lymphomes non-hodgkiniens à cellules B (30) mais des cas de leucémies aiguës myéloïdes ou lymphoïdes ou encore de myélodysplasies ont également été décrits (34). La présence concomitante d'un lymphome lymphoplasmocytaire (LPL) est souvent décrite mais il est important de noter que la CAD a longtemps été classée comme un LPL par erreur alors que les deux pathologies se différencient par l'aspect histologique de la moelle osseuse mais aussi par la présence de la mutation L265P de MYD88 dans le LPL généralement absente dans la CAD (10).

La présence de maladie auto-immune est également décrite comme pouvant être responsable de la présence d'AF. Les étiologies décrites sont la polyarthrite rhumatoïde, la colite ulcéreuse (35), la sarcoïdose, les troubles du tissu conjonctif comme le LES, le syndrome de Gougerot-Sjögren, le syndrome d'Evans ou encore la sclérodermie (26).

De nombreuses infections peuvent entraîner la présence d'AF. Les principaux agents pathogènes incriminés sont *Mycoplasma pneumoniae*, le virus Epstein-Barr (EBV) et même plus récemment l'infection au Sars-cov-2 (10). D'autres agents pathogènes sont également décrits comme le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le virus de l'hépatite C (VHC), le cytomégalovirus (CMV), le pneumocoque, la leishmanie ou encore le bacille de Koch responsable de la tuberculose (26).

Les tumeurs malignes et les événements iatrogènes sont plus souvent associés à des auto-anticorps chauds (36) mais des cas sont décrits dans les cAHA1 (5).

1.5. Manifestations cliniques

L'examen clinique peut être très peu perturbé avec parfois uniquement une pâleur révélatrice d'une anémie de sévérité variable (37) plus ou moins associée à un ictère et une hémoglobinurie

révélateurs d'une hémolyse (5). En plus de cette anémie chronique d'origine inconnue il est possible de retrouver des symptômes circulatoires induits par l'exposition au froid tel que l'acrocyanose ou le syndrome de Raynaud pouvant, dans de rares cas, conduire à une nécrose cutanée nécessitant une amputation (11). L'acrocyanose correspond à une décoloration cutanée violette à grise des zones acrales du corps (doigts, orteils, nez, oreilles) lors de l'exposition au froid. Le syndrome de Raynaud correspond à un trouble brutal de la circulation sanguine dans les zones acrales suite à une exposition au froid pouvant entraîner une coloration bleue ou une décoloration blanche de ces zones, leur gonflement et une perte de sensibilité. D'autres manifestations cliniques peuvent survenir dans les CAS en lien avec les pathologies associées (12).

1.6. Prise en charge

La prise en charge dépend du type d'affectation mise en évidence : CAD ou CAS. Dans le cas d'une CAD, il est préférable de traiter les patients présentant une anémie symptomatique, des symptômes circulatoires (37) ou une dépendance transfusionnelle (12). En premier lieu il est indispensable d'avertir les patients de la nécessité d'éviter l'exposition au froid dans la mesure du possible. En ce sens, il est essentiel d'appliquer cette même précaution en cas de chirurgie où le patient doit être maintenu normotherme en réchauffant les fluides infusés ainsi que les agents anesthésiques mais aussi en augmentant la température de la salle d'opération ou à défaut en utilisant des dispositifs permettant de maintenir le corps du patient à bonne température. Le suivi de la température du patient est indispensable lors de ce type de procédures. Il est recommandé d'éviter la splénectomie qui ne montre aucune efficacité en raison de la destruction des hématies au niveau hépatique et non splénique (4). Environ 70% des patients ont besoin d'un traitement pharmacologique le plus souvent du fait de l'anémie chronique. Le Rituximab, un anticorps monoclonal anti-CD20 (Cluster de Différenciation), est le traitement de première intention. Contrairement à la wAHAI, l'administration de corticostéroïdes, d'azathioprine ou de cyclophosphamide n'est pas préconisée en raison d'une faible réponse à ce traitement (5). En deuxième intention une association du Rituximab avec de la Fludarabine, un agent alkylant, peut être justifiée en cas de non-réponse à la monothérapie. Une association avec de la Bendamustine, un autre agent alkylant, est également possible (4).

Concernant le CAS, le pronostic est généralement bon avec une résolution spontanée en quelques semaines le plus souvent. La prise en charge repose principalement sur le traitement de la cause sous-jacente lorsque cela est possible (4).

Concernant les traitements de soutien, il peut être recommandé l'administration d'acide folique pour compenser la consommation due à l'hémolyse, ou d'érythropoïétine (10). En cas de transfusion sanguine, il est conseillé d'utiliser un chauffe-sang pour que les poches de sang transfusées soient

maintenues à une température de 37°C (15,18). La plasmaphérèse peut être utilisée dans le but d'épurer le plasma des AF dans des situations aiguës ou avant une chirurgie nécessitant une hypothermie (11,38). L'utilisation d'inhibiteurs du complément comme l'Eculizumab, un anticorps monoclonal anti-C5, permet de bloquer la voie terminale du complément et ainsi de limiter l'hémolyse intravasculaire (1,6).

1.7. Objectifs de l'étude

La recherche d'AF est une analyse biologique réalisée à l'Etablissement Français du Sang (EFS) d'Occitanie soit à la demande du prescripteur en cas d'anémie hémolytique et/ou de signes cliniques évocateurs, soit par le biologiste en cas d'anomalies immuno-hématologiques suggestives. Dans un premier temps, nous avons étudié les résultats des prescriptions d'AF ainsi que les résultats immuno-hématologiques et épidémiologiques des patients associés. Puis, nous avons étudié tout particulièrement la population de patients du CHU de Montpellier présentant une recherche d'AF positive afin d'investiguer les contextes clinico-biologiques associés.

2. Matériels et méthodes

2.1. Plan d'étude

Il s'agit d'une étude descriptive, rétrospective, multi-centrique, menée sur des patients ayant bénéficié d'une recherche d'AF à l'EFS Occitanie entre le 1^{er} janvier 2019 et le 31 décembre 2022.

2.2. Critères d'inclusion et d'exclusion

L'étude se décompose en 2 temps. Dans un premier temps, ont été inclus tous les patients ayant bénéficié d'une recherche d'AF à l'EFS Occitanie durant la période d'étude. Dans un second temps, ont été inclus tous les patients ayant bénéficié d'une recherche d'AF provenant du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Montpellier. Dans les deux cas, ont été exclus les patients dont la recherche d'AF a été annulée.

2.3. Recueil des données

Pour l'ensemble des patients, les données épidémiologiques (âge, sexe, établissement et service prescripteurs, site EFS ayant traité la prescription) et biologiques (groupage sanguin ABO-RH-K, RAI, EDA, dépistage et titrage des AF) ont été collectées à partir du logiciel Inlog® utilisé à l'EFS.

Pour chaque patient hospitalisé au CHU de Montpellier, les données épidémiologiques (âge, sexe, service prescripteur), biologiques (groupage sanguin ABO-RH-K, RAI, EDA, dépistage et titrage des AF, numération formule sanguine, haptoglobine, taux de LDH, bilirubine totale, conjuguée et non conjuguée, cryoblobulinémie, myélogramme et/ou biopsie ostéo-médullaire, immunophénotypage

par cytométrie en flux sur moelle ou sur sang périphérique), cliniques (signes d'anémie, signes d'hémolyse, signes d'héماغglutination périphérique, signes généraux, signes infectieux, comorbidités) et thérapeutiques (traitements de support, étiologiques et spécifiques) ont été collectées à partir des logiciels Inlog® utilisé à l'EFS et Dxcare® utilisé au CHU de Montpellier.

Une anémie était définie comme une diminution de l'hémoglobine (Hb) < 12 g/dL chez la femme et < 13 g/dL chez l'homme, associée ou non à des signes de régénération médullaire comme l'hyperréticulocytose > 80 G/L. Une hémolyse était définie par l'association d'une augmentation du taux de LDH (> 248 UI/L) et de BNC (> 5 µmol/L), et d'une diminution du taux d'haptoglobine (< 1 g/L).

2.4. Résultats immuno-hématologiques

Nous avons extrait les résultats immuno-hématologiques des tests biologiques réalisés à l'EFS : groupage ABO-RH-K, EDA, dépistage et titrage des AF.

Les groupages ABO ont été réalisés par des techniques d'agglutination directe en microfiltration ou sur microplaque selon les patients, en associant une épreuve globulaire de Beth-Vincent permettant de mettre en évidence la présence d'antigènes A, B, H à la surface des hématies à l'aide d'anti-sérums, à une épreuve plasmatique de Simonin permettant de mettre en évidence la présence d'anticorps anti-A1 ou anti-B dans le plasma à l'aide d'hématies tests.

Les phénotypages du rhésus (RH :1, RH :2, RH :3, RH :4, RH :5) ont été réalisés par des techniques d'agglutination directe en microfiltration ou sur microplaque selon les patients à l'aide d'anti-sérums permettant de mettre en évidence la présence d'antigène du système rhésus à la surface des hématies.

Les RAI, permettant de mettre en évidence la présence d'allo ou d'auto-anticorps sous forme libre dans le plasma, ont été réalisés de la façon suivante. Tout d'abord une étape de dépistage sur un panel de 3 hématies tests de groupe O, en microfiltration ou sur microplaque. Puis une seconde étape d'identification en cas de positivité du dépistage, sur un panel d'au moins 11 hématies tests de groupe O, en microfiltration.

Les EDA, permettant d'évaluer la sensibilisation in vivo des hématies par des anticorps, ont été réalisés en microfiltration en milieu de basse force ionique associé à la présence d'antiglobuline humaine spécifique anti-IgG et anti-C3d, ou si besoin anti-C3c, anti-IgM et anti-IgA.

Les recherches d'AF ont été réalisées en deux étapes, en tube en verre, selon une procédure harmonisée dans les différents sites EFS de la région Occitanie. L'analyse s'effectuait sur tube EDTA datant de moins de 72h et était réalisée en deux étapes. Tout d'abord un EDA et une RAI étaient réalisés systématiquement sur l'échantillon à réception avant que ce dernier ne soit incubé 30 minutes à 30°C au bain marie (Figure 5). Une première étape de dépistage permettait de mettre en évidence la

présence d'AF dans le plasma. Ces dépistages ont été réalisés à l'aide de suspensions à 4% d'hématies OI (pool de 3 hématies issues du panel GHRH (UPR) ou d'hématies de patients adultes), Oi (1 hématie issue de sang de cordon) et autologue natives en solution saline, et de plasma patient pur et dilué au 1/5 en solution saline. Quatre gammes étaient réalisées : avec plasma patient pur et avec plasma dilué au 1/5, avec incubation pendant 30 minutes (min) à 4°C et à 37°C. En cas de positivité du dépistage, c'est-à-dire en cas d'obtention d'une agglutination des hématies OI et/ou Oi de la gamme incubée à 4°C avec le plasma dilué au 1/5, un titrage des AF à 4°C était réalisé. Ces titrages ont été réalisés à l'aide des suspensions 4% d'hématies les plus réactives OI et/ou Oi, avec des dilutions successives de raison 2 de plasma patient (1/1 à 1/2048). La gamme de dilution était incubée à 4°C pendant 30 min (Figure 6). Le titre rendu correspond à la dernière dilution donnant une agglutination nettement visible, c'est-à-dire supérieure ou égale à 1+.

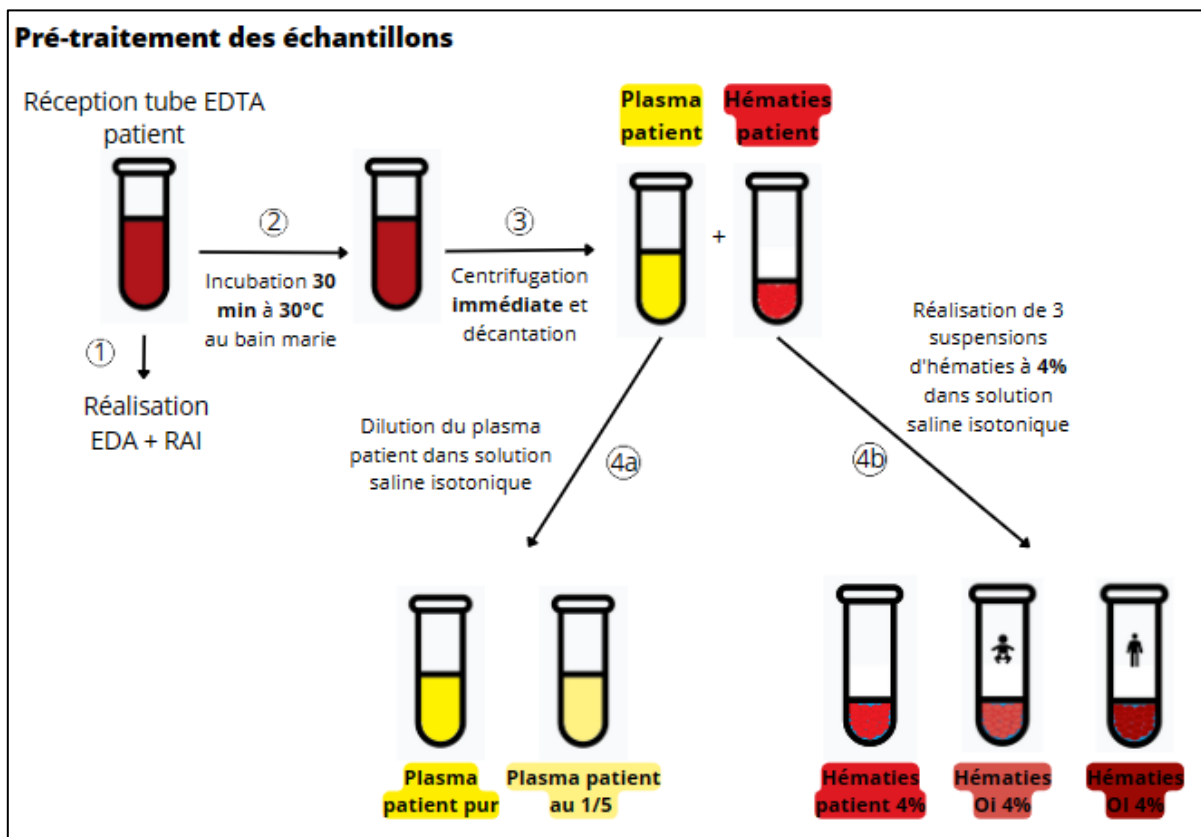


Figure 5 Pré-traitement des échantillons sanguins en cas de recherche d'agglutinines froides à l'EFS Occitanie

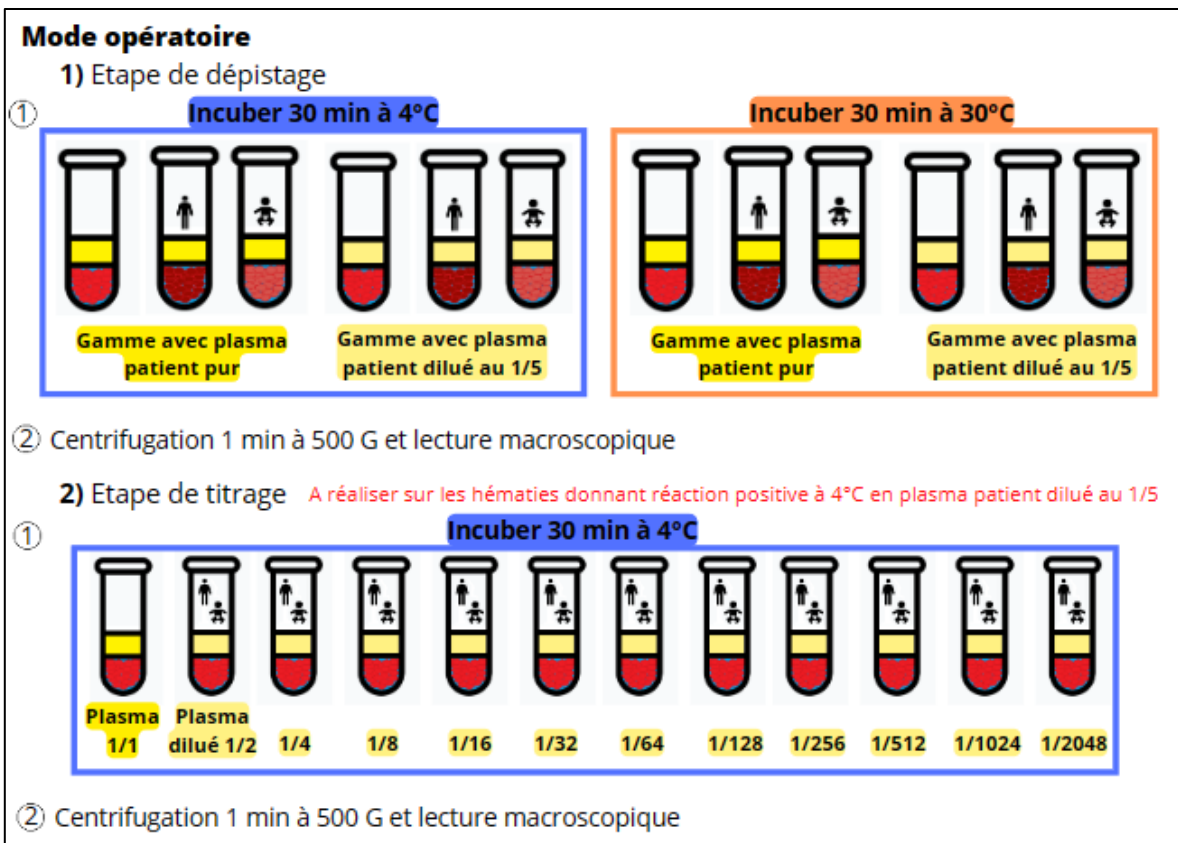


Figure 6 Etapes de dépistage et de titrage des agglutinines froides à l'EFS Occitanie

2.5. Traitement des résultats

Les résultats statistiques ont été traités selon les test du Chi², test exact de Fisher, test exact avec estimation de Monte Carlo, test de Student et test de Wilcoxon. Le seuil de significativité a été fixé à une valeur de $p < 0,05$.

3. Résultats

3.1. Etudes des recherches d'agglutinines froides à l'EFS Occitanie

3.1.1. Caractéristiques générales des patients

1092 prescriptions de recherches d'AF ont été effectuées sur les sites EFS de la région Occitanie entre 2019 et 2022 ce qui représentait 953 patients différents. En effet, la nette majorité des prescriptions n'a été réalisée qu'une fois par patient mais certaines ont été réalisées plusieurs fois sur un même patient (Tableau 2) pour divers motifs : prélèvement de contrôle pour confirmer ou infirmer un résultat précédent, suivi d'un patient au long cours plusieurs mois ou années après le diagnostic, prescription systématique lors d'un bilan d'entrée ou nouveau bilan d'exploration du fait d'un changement de service ou de structure hospitalière.

Nombre de prescriptions	Patients	
	n	%
1	850	89.2
2	84	8.8
3	12	1.3
4	3	0.3
5	2	0.2
6	0	0.0
7	1	0.1
8	0	0.0
9	1	0.1
Total	953	100.0

Tableau 2 Nombre de prescriptions effectuées par patient

La répartition par sexe était de 552 femmes (57.9%) et 401 hommes (42.1%), ce qui correspondait au total à 641 prescriptions pour les femmes (58.7%) et 451 prescriptions pour les hommes (41.3%). La répartition par âge était la suivante (Tableau 3) avec une majorité de patients entre 41 et 75 ans. La moyenne d'âge était significativement différente selon le sexe ($p=0.0243$; selon test de Student) avec les hommes plus âgés que les femmes.

	Prescriptions (n=1092)			Patients (n=953)		
	Population générale	Hommes (n=451)	Femmes (n=641)	Population générale	Hommes (n=401)	Femmes (n=552)
Moyenne	58.6	59.9	57.6	57.9	59.8	56.5
Médiane	63	65	60	62	65	59
IC95%	57.3 – 59.9	57.9 – 61.9	56.0 – 59.3	56.5 – 59.3	57.6 – 61.9	54.7 – 58.4
Min	0	0	2	0	0	2
Intervalle interquartile	44 – 75	50 – 75	40 – 75	41 – 75	49 – 75	39 – 74.5
Max	100	98	100	100	98	100

Tableau 3 Répartition de la population en fonction du sexe et de l'âge

Parmi les 1092 prescriptions, 805 étaient négatives (73.7%) et 287 étaient positives (26.3%). Aucune association significative n'a été mise en évidence entre le sexe et le résultat de l'analyse positif ou négatif ($p=0.3617$; selon test du Chi²) (Tableau 4).

	Homme		Femme	
	n	%	n	%
Recherche positive (n=287)	112	24.8	175	27.3
Recherche négative (n=805)	339	75.2	466	72.7
Total	451	100.0	641	100.0

Tableau 4 Résultats des recherches d'agglutinines froides selon le sexe

Aucune association significative n'a été mise en évidence dans la répartition des patients selon le groupe sanguin (Tableau 5) en comparaison à la population générale en France ($p=0.0708$) d'après les données de l'EFS de 2022. 118 données manquantes sur les groupages sanguins des 953 patients ont été recensées. La répartition des résultats de la recherche d'AF (Figure 7) n'était pas différente selon le groupe sanguin ($p=0.0604$; selon test du χ^2).

Groupe sanguin	Patients (n=953)		Population générale en France	
	n	%	%	
A	334	40.0	44.0	
B	99	11.9	10.0	
AB	32	3.8	4.0	
O	370	44.3	42.0	
Total	835	100.0	100.0	

Tableau 5 Répartition de la population en fonction du groupe sanguin

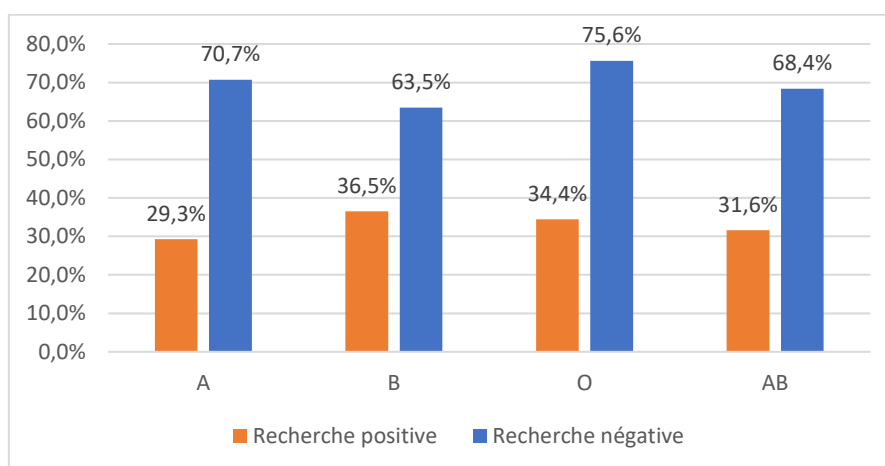


Figure 7 Résultat de la recherche d'agglutinines froides en fonction du groupe sanguin

3.1.2. Etude des prescripteurs

Au total il y a eu 227 prescriptions de recherche d'AF réalisées en 2019, 299 en 2020, 265 en 2021 et 301 en 2022. Aucune différence significative n'a été mise en évidence dans le nombre de recherches positives ou négatives selon l'année ($p=0.9537$; selon test du χ^2) (Tableau 6). Les établissements EFS impliqués dans la validation de ces prescriptions étaient les sites de Toulouse (51.9%), de Montpellier (39.5%), de Nîmes (8.4%), d'Albi (0.1%) et de Perpignan (0.1%).

	2019		2020		2021		2022	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Recherche positive (n=287)	62	27.3	80	26.8	69	26.0	76	25.2
Recherche négative (n=805)	165	72.7	219	73.2	196	74.0	225	74.8
Total	227	100.0	299	100.0	265	100.0	301	100.0

Tableau 6 Répartition des résultats de recherche d'agglutinines froides selon les années

La majorité des prescriptions étaient issues des CHU à 65.3% tandis que les Centres Hospitaliers Généraux (CHG), les cliniques privées, les laboratoires privés et les médecins indépendants ne représentaient que 34.7% des prescriptions (Tableau 7). Parmi ces prescripteurs, la majorité provenait des services de médecine interne, de dermatologie, d'hémo-oncologie et de néphrologie (Tableau 8). Le service n'était pas précisé pour 183 prescriptions. La fréquence de résultats positifs de recherche d'AF était significativement différente selon le type de service ($p < 0.0001$; selon test du χ^2) avec des résultats plus volontiers positifs en hémo-oncologie ou en médecine interne qu'en dermatologie ou en néphrologie par exemple.

Type d'établissement	Etablissement	Nombre de prescription (n)	Pourcentage de prescription
Centre Hospitalier Universitaire (CHU)	CHU Toulouse	410	37.5 %
	CHU Montpellier	220	20.1 %
	CHU Nîmes	82	7.5 %
		712	65.3 %
Centre Hospitalier Général (CHG)	CHG Albi	8	0.7 %
	CHG Alès	7	0.6 %
	CHG Andorre	1	0.1 %
	CHG Auch	12	1.1 %
	CHG Béziers	21	1.9 %
	CHG Cahors	3	0.3 %
	CHG Carcassonne	26	2.4 %
	CHG Castres	9	0.8 %
	CHG Lavaur	1	0.1 %
	CHG Lunel	1	0.1 %
	CHG Mende	1	0.1 %
	CHG Millau	4	0.4 %
	CHG Perpignan	38	3.5 %
	CHG Narbonne	1	0.1 %
	CHG Rodez	38	3.5 %
	CHG Sète	3	0.3 %
	CHG Tarbes	12	1.1 %
	CHG Villefranche	1	0.1 %
	187	17.1 %	
Clinique privée		90	8.2 %
Laboratoire privé		79	7.2 %
Médecin indépendant		24	2.2 %

Tableau 7 Répartition des prescriptions de recherches d'agglutinines froides par type d'établissement prescripteur

	Recherche agglutinines froides					
	Négative		Positive		Total	
	n	%	n	%	n	%
Médecine interne	152	74.5	52	25.5	204	100.0
Non précisé**	84	45.9	99	54.1	183	100.0
Dermatologie	148	94.3	9	5.7	157	100.0
Hémato-oncologie	103	71.0	42	29.0	145	100.0
Autres services*	70	72.9	26	27.1	96	100.0
Néphrologie	67	93.1	5	6.9	72	100.0
Urgences	27	75.0	9	25.0	36	100.0
Médecine vasculaire	25	83.3	5	16.7	30	100.0
Neurologie	25	89.3	3	10.7	28	100.0
Maladies infectieuses et tropicales	16	66.7	8	33.3	24	100.0
Gastro-entéro-hépatologie	14	60.9	9	39.1	23	100.0
Réanimation médicale	17	77.3	5	22.7	22	100.0
Rhumatologie	16	84.2	3	15.8	19	100.0
Consultation	16	84.2	3	15.8	19	100.0
Chirurgie	11	61.1	7	38.9	18	100.0
Centre de prélèvement	14	87.5	2	12.5	16	100.0
Total	805	73.7	287	26.3	1092	100.0

*correspondant au regroupement des services de pédiatrie (n=13), gynéco-obstétrique (n=11), maladies endocriniennes et métaboliques (n=10), pneumologie (n=9), hospitalisation de jour sans précision (n=9), soins continus (n=8), ORL (n=7), anesthésie (n=6), cardiologie (n=6), gériatrie (n=5), médecine nucléaire et radiologie (n=2), psychiatrie (n=2), orthopédie (n=2), recherche clinique (n=2), médecine légale (n=1), soins palliatifs (n=1), soins pré-thérapeutiques (n=1) et urologie (n=1) et représentant individuellement moins de 1.2% des recherches d'agglutinines froides.

** correspondant soit à l'absence de service renseigné, soit à un service d'appellation non-explicite.

Tableau 8 Répartition des prescriptions de recherches d'agglutinines froides par type de service prescripteur

3.1.3. Caractérisation immuno-hématologiques

3.1.3.1. Examen Direct à l'Antiglobuline

Un EDA a été réalisé et validé pour 1046 des 1092 prescriptions. 46 prescriptions n'étaient pas associées à un EDA soit parce que l'analyse n'avait pas été réalisée du fait d'une redondance ou d'un oubli de prescription, soit parce que celui-ci était ininterprétable. Le type d'EDA était significativement associé avec le résultat de la recherche d'AF ($p < 0.0001$; selon test du Chi²) (Tableau 9) avec un EDA majoritairement négatif en cas de recherche négative (65.7%) et positif en C3d en cas de recherche positive (65.6% dont 42.6% isolément en C3d et 23% mixte).

	Recherche négative		Recherche positive	
	n	%	n	%
EDA négatif (n=580)	510	65.7	70	25.9
EDA isolément positif en C3d (n=211)	96	12.4	115	42.6
EDA isolément positif en IgG (n=111)	88	11.3	23	8.5
EDA mixte (n=144)	82	10.6	62	23.0
Total	776	100.0	270	100.0

Tableau 9 Répartition du type d'EDA selon le résultat de la recherche d'agglutinines froides

3.1.3.2. Amplitude thermique

La mesure de l'amplitude thermique a été réalisée à partir du test de dépistage de la recherche d'AF. Ainsi une faible amplitude thermique était définie comme un résultat de dépistage positif à 4°C et négatif à 30°C, et une forte amplitude thermique comme un résultat de dépistage positif à 4°C et à 30°C. 1088 tests de dépistage ont été réalisés sur 1092 prescriptions (Tableau 10) avec 4 tests non-réalisés en raison d'un manque de volume suffisant.

	Prescriptions		Recherches positives	
	n	%	n	%
Faible amplitude thermique	148	13.6	92	32.5
Forte amplitude thermique	191	17.6	189	66.8
Amplitude thermique incohérente*	2	0.2	2	0.7
Test de dépistage négatif**	746	68.6	0	0.0
Total	1088	100.0	283	100.0

*correspondant à un test de dépistage négatif à 4°C mais positif à 30°C.

**correspondant à un test de dépistage négatif à 4°C et à 30°C.

Tableau 10 Résultats de la mesure de l'amplitude thermique

L'amplitude thermique était significativement associée au type d'EDA ($p < 0.0001$; selon test du Chi²) avec, en cas de forte amplitude thermique, un EDA isolément positif en C3d (57.1%) ou mixte (32.4%) (Tableau 11). Un EDA négatif n'était retrouvé que dans 7.1% des cas tandis que ce type d'EDA était retrouvé dans 28.4% des cas lorsque l'amplitude thermique était faible.

	Faible amplitude thermique		Forte amplitude thermique	
	n	%	n	%
EDA négatif (n=52)	40	28.4	12	7.1
EDA isolément positif en C3d (n=157)	60	42.6	97	57.1
EDA isolément positif en IgG (n=18)	12	8.5	6	3.5
EDA mixte (n=84)	29	20.6	55	32.4
Total	141	100.0	170	100.0

Tableau 11 Amplitude thermique selon le type d'EDA

L'intensité réactionnelle de l'EDA était également associée à l'amplitude thermique ($p=0.0102$; selon test du χ^2) (Tableau 12). Une faible intensité était définie comme une réaction à l'EDA $\leq 2+$, et une forte intensité comme une réaction à l'EDA $> 2+$. Pour l'EDA mixte une forte intensité était définie dès lors que la réaction en C3d et/ou en IgG était $> 2+$. Ainsi en cas d'EDA de forte intensité une forte amplitude thermique était majoritairement retrouvée (79.5%).

	EDA de faible intensité réactionnelle		EDA de forte intensité réactionnelle	
	n	%	n	%
Faible amplitude thermique (n=101)	93	42.3	8	20.5
Forte amplitude thermique (n=158)	127	57.7	31	79.5
Total	220	100.0	39	100.0

Tableau 12 Intensité réactionnelle de l'EDA selon l'amplitude thermique

3.1.3.3. Titrage des agglutinines froides

267 titrages d'AF ont été réalisés sur les 287 recherches positives (Figure 8). 20 titrages n'ont pas été effectués en raison d'un volume insuffisant pour réaliser l'analyse ou de redondance. Parmi les titrages effectués, 46.1% étaient < 64 et 53.9% étaient ≥ 64 . Il n'y avait aucune différence significative de titre selon le sexe ($p=0.4774$; selon test du χ^2). En revanche la répartition du titre était significativement différente selon la tranche d'âge ($p=0.0017$; selon test du χ^2) (Tableau 13) avec un titre ≥ 64 plus souvent retrouvé chez des patients âgés de plus de 45 ans contrairement à un titre < 64 plus souvent retrouvé chez ceux de moins de 45 ans.

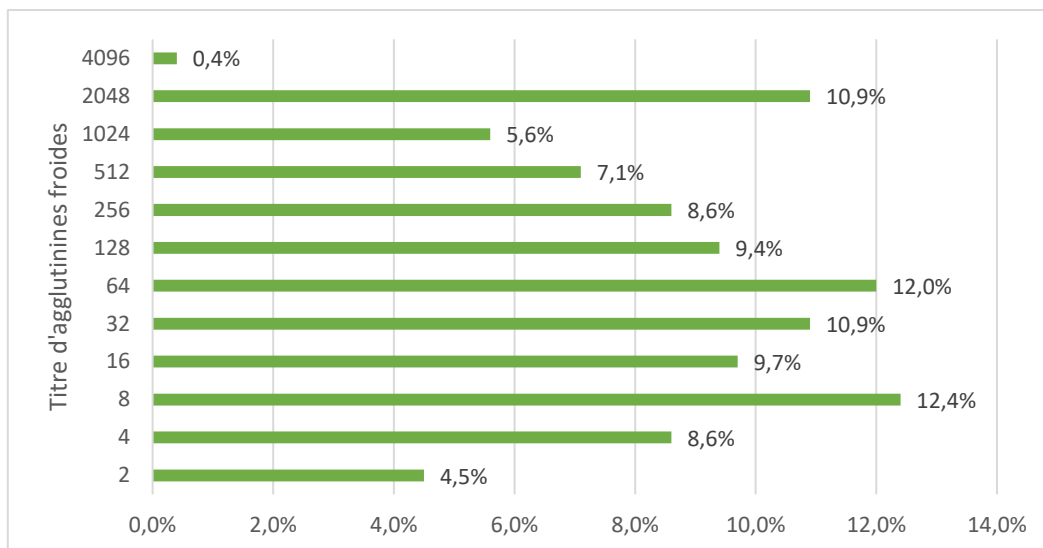


Figure 8 Répartition des titres d'agglutinines froides parmi les recherches positives

Tranche d'âge	Titre < 64		Titre ≥ 64	
	n	%	n	%
< 45 ans	11	91.7	1	8.3
45 – 63 ans	36	55.4	29	44.6
64 – 75ans	37	40.2	55	59.8
> 75 ans	39	39.8	59	60.2
Total	123	46.1	144	53.9

Tableau 13 Répartition des titres d'agglutinines froides selon la tranche d'âge

Le type d'EDA retrouvé était significativement associé au titre d'AF ($p < 0.0001$; selon test du χ^2) avec un titre ≥ 64 en cas d'EDA positif en C3d isolément (62.7%) ou mixte (60.3%) (Figure 9). De plus, l'intensité réactionnelle de l'EDA, comme définie précédemment, était significativement associée au titre d'AF ($p < 0.0001$; selon test du χ^2) avec une nette majorité d'EDA de forte intensité réactionnelle en cas de titre ≥ 64 (88.9%) (Tableau 14).

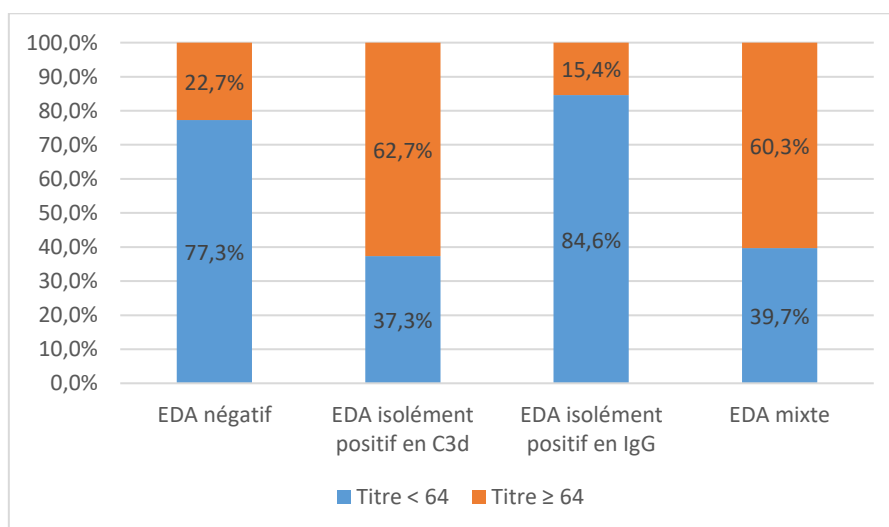


Figure 9 Répartition du type d'EDA en fonction du titre d'agglutinines froides

	EDA de faible intensité réactionnelle		EDA de forte intensité réactionnelle	
	n	%	n	%
Titre < 64 (n=90)	86	46.7	4	11.1
Titre ≥ 64 (n=130)	98	53.2	32	88.9
Total	184	100.0	28	100.0

Tableau 14 Intensité réactionnelle de l'EDA selon le titre d'agglutinines froides

L'association entre l'amplitude thermique et le titre d'AF était significative ($p < 0.0001$; selon test du χ^2). Ainsi un titre d'AF élevé était associé à une forte amplitude thermique et inversement (Figure 10).

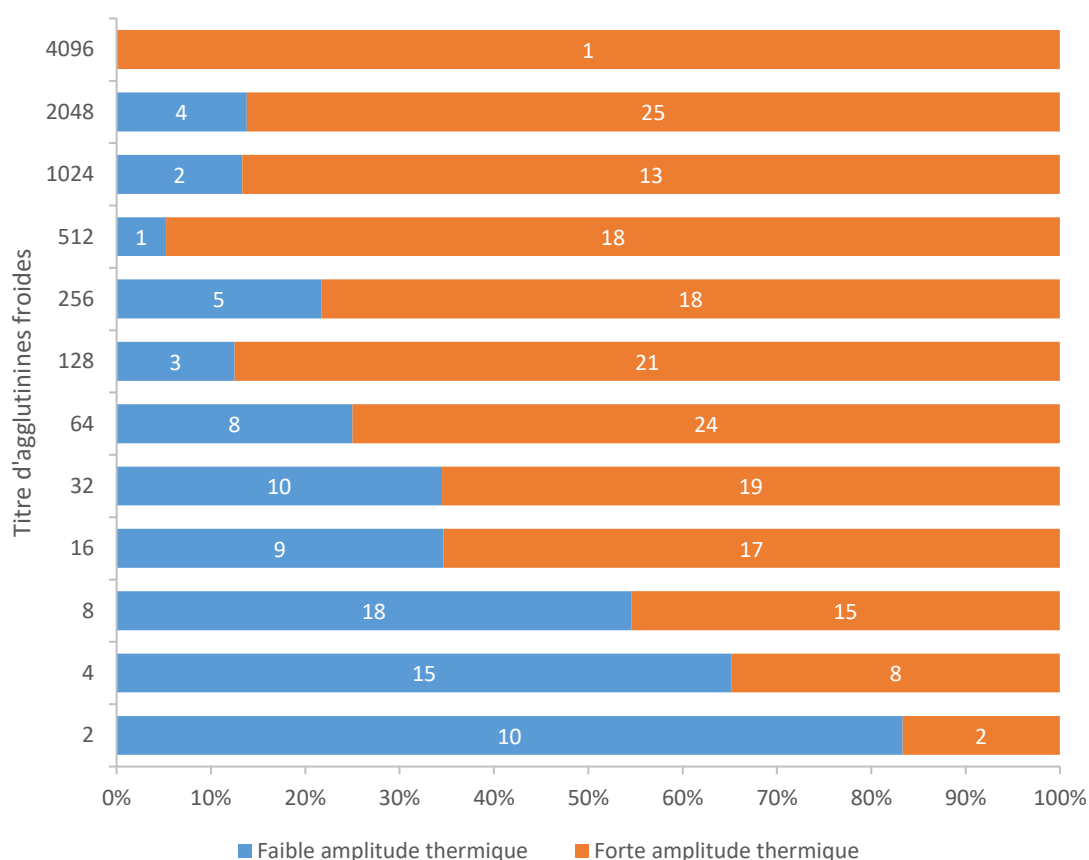


Figure 10 Répartition des titres d'agglutinines froides selon l'amplitude thermique

3.1.3.4. Spécificité des agglutinines froides

A l'EFS Occitanie, la spécificité des AF ne figure pas sur le compte-rendu de résultat. Néanmoins le titrage d'AF était réalisé sur des hématies adultes OI ou de nouveau-né Oi selon la réactivité retrouvée lors de l'étape de dépistage. Ainsi 34 patients (85%) présentaient une AF plus réactive sur les hématies OI tandis que 6 patients (15%) présentaient une AF plus réactive sur les hématies Oi.

3.1.3.5. Recherche d'Anticorps anti-Erythrocytaires

Une RAI a été réalisée dans 1043 cas sur les 1092 prescriptions. Une recherche d'AF négative était significativement associée à une RAI négative dans 86.2% des cas ($p < 0.0001$; selon test exact avec estimation de Monte Carlo) tandis qu'une recherche d'AF positive était significativement associée à une RAI positive dans 62.5% des cas et majoritairement à un auto-anticorps (52.9%) (Tableau 15).

		Recherche négative		Recherche positive	
		n	%	n	%
RAI négative	(n=773)	676	86.2	97	37.5
Dépistage de la RAI positif non-confirmé à l'identification	(n=19)	5	0.6	14	5.4
Allo-anticorps	(n=19)	15	1.9	4	1.5
Auto-anticorps	(n=210)	73	9.3	137	52.9
Association d'un allo et d'un auto-anticorps	(n=7)	4	0.5	3	1.2
Anticorps sans spécificité	(n=10)	6	0.8	4	1.5
Autres*	(n=5)	5	0.6	0	0.0
Total		784	100.0	259	100.0

*correspondant à des résultats de RAI en faveur d'une interférence due au Daratumumab (n=3), au Rhophylac (n=1) et aux réactifs (n=1).

Tableau 15 Résultats de la RAI selon le résultat de la recherche d'agglutinines froides

Le résultat de la RAI était également significativement associé au titre d'AF ($p = 0.0147$; selon test du χ^2) avec une majorité de RAI négative en cas de titre < 64 (50.5%) et une majorité de RAI positive en cas de titre ≥ 64 avec principalement la présence d'un auto-anticorps (59.3%) (Tableau 16). L'amplitude thermique était significativement associée au résultat de la RAI ($p = 0.0018$; test exact avec estimation de Monte Carlo) avec la détection d'auto-anticorps à la RAI en cas de forte amplitude thermique (69.9%) (Tableau 17).

		Titre < 64		Titre ≥ 64	
		n	%	n	%
RAI négative	(n=95)	53	50.5	42	31.1
Dépistage de la RAI positif non-confirmé à l'identification	(n=13)	4	3.8	9	6.7
Auto-anticorps	(n=123)	43	41.0	80	59.3
Autres*	(n=10)	5	4.8	5	3.7
Total		105	100.0	136	100.0

*correspondant à des résultats de RAI en faveur d'un allo-anticorps (n=4), d'une association d'un allo et d'un auto-anticorps (n=3) et d'un anticorps sans spécificité (n=2).

Tableau 16 Résultats de la RAI selon le titre d'agglutinines froides

		Faible amplitude thermique (n=137)		Forte amplitude thermique (n=171)	
		n	%	n	%
RAI négative	(n=131)	77	58.8	54	41.2
Dépistage de la RAI positif non-confirmé à l'identification	(n=15)	9	60.0	6	40
Auto-anticorps	(n=144)	40	27.8	104	72.2
Autres*	(n=17)	10	58.8	7	41.2

*correspondant à des résultats de RAI en faveur d'un allo-anticorps (n=7), d'une association d'un allo et d'un auto-anticorps (n=5) et d'un anticorps sans spécificité (n=5).

Tableau 17 Résultats de la RAI selon l'amplitude thermique des agglutinines froides

Les résultats de la RAI étaient significativement associés aux résultats de l'EDA ($p < 0.0001$; selon test exact avec estimation de Monte Carlo) avec un EDA majoritairement négatif en cas de RAI négative et un EDA positif en cas de détection d'auto-anticorps à la RAI (Tableau 18).

		EDA négatif (n=565)		EDA positif isolément en C3d (n=200)		EDA positif isolément en IgG (n=105)		EDA mixte (n=133)	
		n	%	n	%	n	%	n	%
RAI négative	(n=752)	503	66.9	101	13.4	84	11.2	64	8.5
Dépistage de la RAI positif non-confirmé à l'identification	(n=19)	4	21.1	9	47.4	0	0.0	6	31.6
Auto-anticorps	(n=197)	47	23.9	76	38.6	17	8.6	57	28.9
Autres*	(n=35)	11	31.4	14	40.0	4	11.4	6	17.1

*correspondant à des résultats de RAI en faveur d'un allo-anticorps (n=18), d'une association d'un allo et d'un auto-anticorps (n=7) et d'un anticorps sans spécificité (n=10).

Tableau 18 Résultats de la RAI en fonction du type d'EDA

3.1.4. Rendu des résultats de recherche d'agglutinines froides à l'EFS

Le rendu des résultats de recherche d'AF est harmonisé au sein des sites EFS de la région Occitanie selon 3 codes associés à des conclusions (Tableau 19). Ainsi le code « - » correspond à l'absence d'AF, le code « + » à la présence d'AF de faible amplitude thermique et de titre faible, et le code « ++ » à la présence d'AF de forte amplitude thermique et de titre élevé.

Dépistage à 4°C pur	Dépistage à 4°C dilué au 1/5	Dépistage à 30°C pur	Dépistage à 30°C dilué au 1/5	Titration à 4°C	Code	Conclusion rendue
-	-	-	-	NR	-	Absence d'agglutinines froides à activité pathologique.
+	-	-	-			
+	+	-	-	1 à 16	+	Présence d'agglutinines froides de titre faible, inactives à 30°C. Ce résultat n'est pas en faveur d'une anémie hémolytique à auto-anticorps froids.
+	+	+	-	32 à >		Présence d'agglutinines froides de titre élevé, actives à 30°C.
+	+	+	+	2048	++	Résultat compatible avec une anémie hémolytique à auto-anticorps froids.

Tableau 19 Procédure de validation de la recherche d'agglutinines froides à l'EFS Occitanie

Parmi les 1092 recherches d'AF réalisées, 8% des conclusions des recherches positives ont été rendues sans utiliser un de ces 3 codes. Les causes étaient les suivantes : ininterprétable (n=3), quantité insuffisante pour réaliser le test de dépistage (n=1) ou le titrage (n=4), présence d'AF de faible titre mais actives à 30°C (n=10) et présence d'AF de titre élevé mais inactives à 30°C (n=4) (Figure 11).

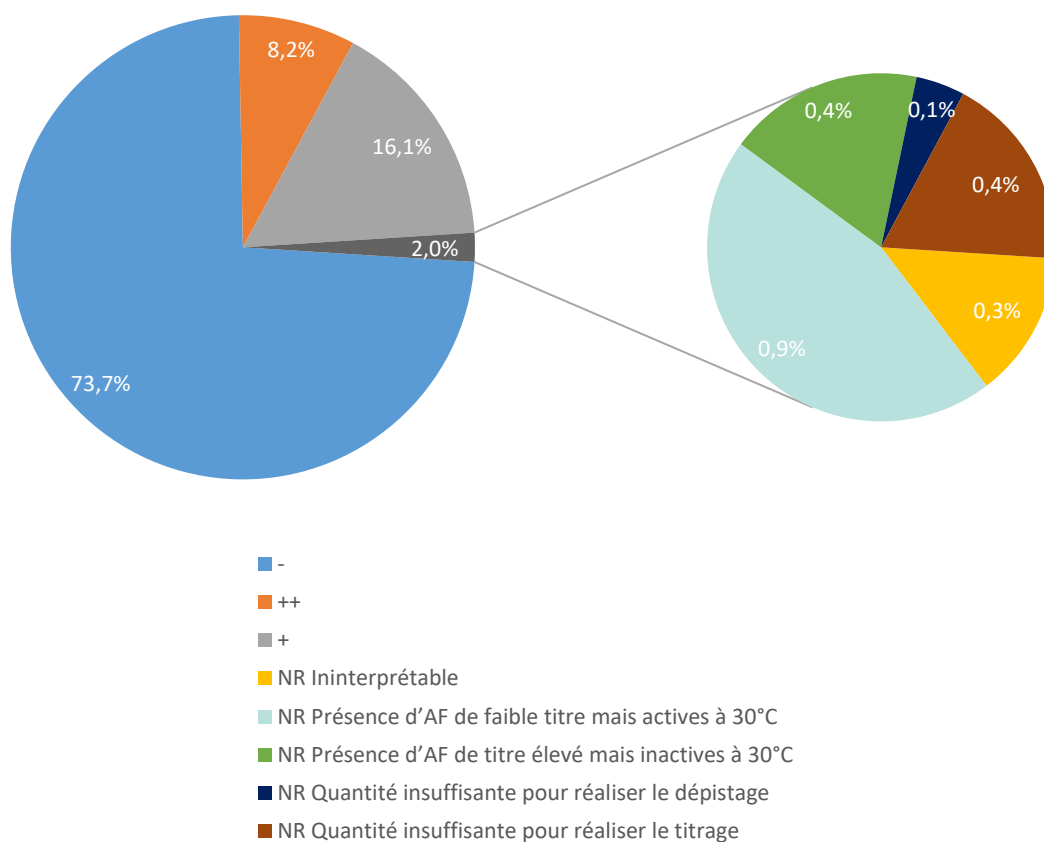


Figure 11 Conclusions rendues lors de la recherche d'agglutinines froides et causes de conclusion non-rendue

Il existait une association significative entre le code de conclusion rendu et le titre d'AF ($p < 0.0001$; selon test du χ^2) (Figure 12) ainsi qu'avec l'amplitude thermique ($p < 0.0001$; selon test exact avec estimation de Monte Carlo) (Figure 13). Il existait également une corrélation entre le code de conclusion rendu et le type d'EDA retrouvé ($p < 0.0001$; selon test du χ^2) (Figure 14).

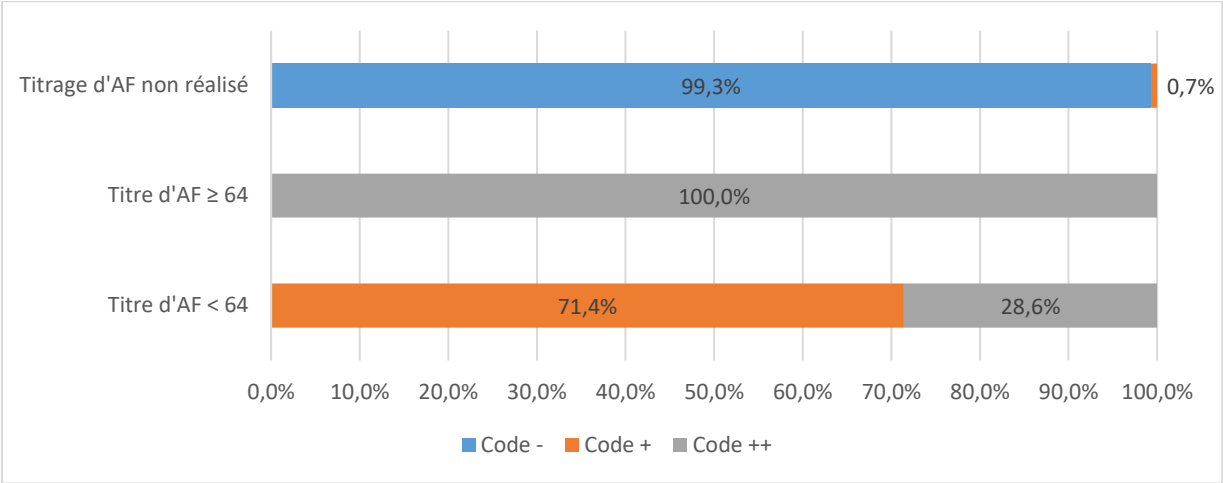


Figure 12 Code de conclusion rendu en fonction du titre d'agglutinines froides

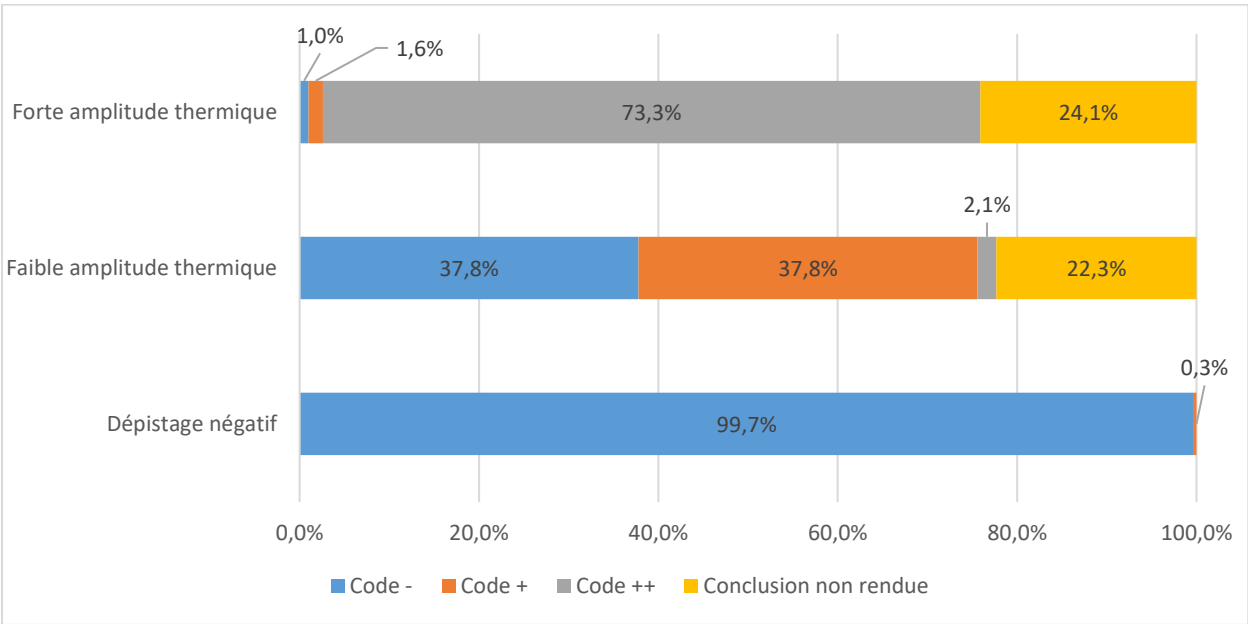


Figure 13 Code de conclusion rendu en fonction de l'amplitude thermique

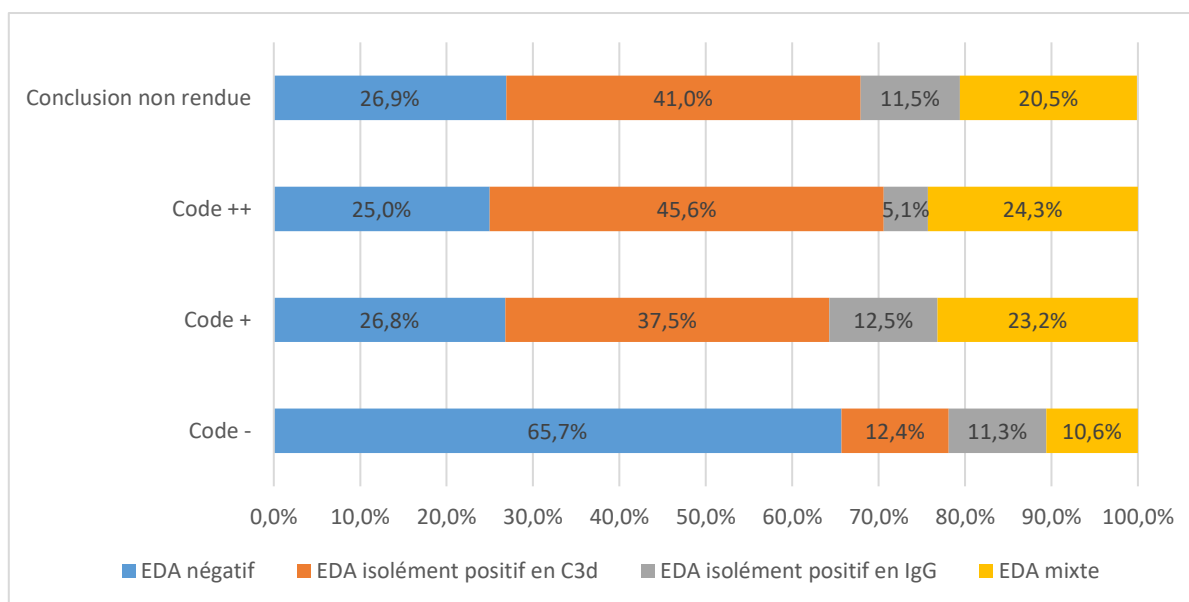


Figure 14 Code de conclusion rendu en fonction du type d'EDA

3.2. Etude des recherches d'agglutinines froides à l'EFS Occitanie provenant du CHU de Montpellier

3.2.1. Caractéristiques générales des patients

48 prescriptions de recherche d'AF positives ont été faites par le CHU de Montpellier entre 2019 et 2022 ce qui représentait 40 patients. La répartition selon le sexe était de 35% d'hommes (n=14) et 65% de femmes (n=26). L'âge médian était de 67 ans et n'était pas significativement différent selon le sexe (p=0.2686 ; selon test de Wilcoxon) avec un âge médian de 73 ans pour les hommes et 61 ans pour les femmes (Tableau 20).

	Moyenne	Médiane	IC95%	Min	IIQ	Max
Hommes (n=14)	67.8	73	56.2 – 69.7	30	58 - 77	92
Femmes (n=26)	63.0	61	59.1 – 76.5	34	51 – 73	92

Tableau 20 Répartition de la population en fonction du sexe et de l'âge

3.2.2. Caractéristiques immuno-hématologiques

3.2.2.1. Examen Direct à l'Antiglobuline

Un EDA a été réalisé dans 47 cas sur 48 et les résultats étaient les suivants : EDA négatif (16.7%), EDA isolément positif en C3d (43.8%), EDA isolément positif en IgG (8.3%) et mixte (29.2%). L'EDA n'était associé ni à l'hémolyse (p=0,7494), ni à l'anémie (p=0,8016), ni à la sévérité de l'anémie (Tableau 21). Les caractéristiques permettant de définir l'hémolyse, l'anémie et sa sévérité sont définis au 3.2.3.2.

	EDA négatif		EDA isolément positif en C3d		EDA isolément positif en IgG		EDA mixte		Valeur de p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Hémolyse									0,7494
Oui	2	33,3	9	60,0	2	66,7	6	60,0	
Non	4	66,7	6	40,0	1	33,3	4	40,0	
Anémie									0,8016
Oui	6	85,7	15	78,9	3	75,0	9	64,3	
Non	1	14,3	4	21,1	1	25,0	5	35,7	
Sévérité de l'anémie									0,8649
Absence d'anémie	1	14,3	4	20,0	1	25,0	5	35,7	
Mineure	2	28,6	5	25,0	0	0,0	4	28,6	
Modérée	3	42,9	5	25,0	1	25,0	2	14,3	
Sévère	1	14,3	6	30,0	2	50,0	3	21,4	

Tableau 21 Présence d'une hémolyse, d'une anémie et sévérité de l'anémie en fonction du type d'EDA

3.2.2.2. Titrage d'agglutinines froides

Un titre < 64 était retrouvé dans 54.6% des cas (n=24) et un titre ≥ 64 était retrouvé dans 45.4% des cas (n=20). Il n'existait aucune association significative entre le titre d'AF et l'âge (p=0.9109 ; selon test du Chi²) ni avec le sexe (p=0.1634 ; selon test du Chi²) (Tableau 22).

	Titre < 64		Titre ≥ 64		Total	
	n	%	n	%	n	%
Sexe						
Hommes	6	40.0	9	60.0	15	100.0
Femmes	18	62.1	11	37.9	29	100.0
Tranche d'âge						
30 – 59 ans	10	55.6	8	44.4	18	100.0
≥ 60 ans	14	53.8	12	46.2	26	100.0

Tableau 22 Répartition des titres d'agglutinines froides selon le sexe et l'âge

3.2.3. Caractéristiques clinico-biologiques

3.2.3.1. Examen clinique lors de la recherche d'agglutinines froides

Les caractéristiques cliniques correspondaient à l'examen clinique réalisé lors de chaque prescription de recherche d'AF : anémie (n=33), acrocyanose (n=4), syndrome de Raynaud (n=3), ictère cutanéomuqueux (n=4), fatigue (n=13), altération de l'état général (n=11), dyspnée d'effort (n=11), splénomégalie (n=4), hépatomégalie (n=2) et hématurie (n=2). Il n'a été mis en évidence aucun cas de nécrose cutanée. Aucune association significative n'a été retrouvée entre les signes cliniques et l'amplitude thermique ni avec le titre d'AF (selon test exact de Fisher) (Tableau 23 et Tableau 24).

Signes cliniques	Faible amplitude thermique		Forte amplitude thermique		p (test exact de Fisher)
	n	%	n	%	
Acrocyanose					
Oui	0	0.0	4	12.9	0.3024
Non	13	100.0	27	87.1	
Altération de l'état général					1.0000
Oui	3	23.1	8	25.8	
Non	10	76.9	23	74.2	
Anémie					0.0654
Oui	7	57.1	26	84.4	
Non	6	42.9	5	15.6	
Dyspnée d'effort					0.4607
Oui	2	15.4	9	29.0	
Non	11	84.6	22	71.0	
Ictère cutanéomuqueux					0.5695
Oui	2	15.4	2	6.5	
Non	11	84.6	29	93.5	
Hématurie					0.5208
Oui	1	7.1	1	3.1	
Non	13	92.9	31	96.9	
Hépatomégalie					0.0919
Oui	2	14.3	0	0.0	
Non	12	85.7	31	100.0	
Nécrose cutanée					1.0000
Oui	0	0.0	1	3.2	
Non	13	100.0	30	96.8	
Splénomégalie					0.0775
Oui	3	21.4	1	3.1	
Non	11	78.6	31	96.9	
Syndrome de Raynaud					0.5436
Oui	0	0.0	3	9.7	
Non	13	100.0	28	90.3	

Tableau 23 Répartition des signes cliniques lors de la recherche d'agglutinines froides selon l'amplitude thermique

Signes cliniques	Titre < 64		Titre ≥ 64		p (test exact de Fisher)
	n	%	n	%	
Acrocyanose					
Oui	1	4.5	2	10.5	0.5883
Non	21	95.5	17	89.5	
Altération de l'état général					
Oui	8	36.4	2	10.5	0.0752
Non	14	63.6	17	89.5	
Anémie					
Oui	18	78.3	15	75.0	1.000
Non	5	21.7	5	25.0	
Dyspnée d'effort					
Oui	7	31.8	3	15.8	0.2919
Non	15	68.2	16	84.2	
Hématurie					
Oui	2	8.7	0	0.0	0.4906
Non	21	91.3	20	100.0	
Hépatomégalie					
Oui	1	4.5	1	5.0	1.0000
Non	21	95.5	19	95.0	
Ictère cutanéomuqueux					
Oui	2	9.1	1	5.3	1.0000
Non	20	90.9	18	94.7	
Nécrose cutanée					
Oui	0	0.0	1	5.3	0.4634
Non	22	100.0	18	94.7	
Splénomégalie					
Oui	3	13.0	1	5.0	0.6105
Non	20	87.0	19	95.0	
Syndrome de Raynaud					
Oui	0	0.0	3	15.8	0.0909
Non	22	100.0	16	84.2	

Tableau 24 Répartition des signes cliniques lors de la recherche d'agglutinines froides selon le titre d'agglutinines froides

3.2.3.2. Caractérisation de l'anémie

Le taux d'hémoglobine a été mesuré pour 46 prescriptions sur 48, avec une moyenne de 9.8 g/dL et des extrêmes allant de 3.6 à 14.8 g/dL. Une anémie était définie comme un taux d'hémoglobine < 12 g/dL chez la femme et < 13 g/dL chez l'homme, et a été retrouvée dans 33 cas. Sa sévérité a été définie de la manière suivante : anémie mineure en cas d'hémoglobine > 10 g/dL, anémie modérée en cas d'hémoglobine entre 8 et 10 g/dL et anémie sévère en cas d'hémoglobine < 8 g/dL. Ainsi parmi les anémies, 11 étaient mineures, 10 étaient modérées et 12 étaient sévères. L'EDA était isolément positif en C3d (n=15) ou en IgG (n=3), mixte (n=9) ou négatif (n=6). Aucune association significative n'a été retrouvée entre le titre d'AF et la présence d'anémie (p=1.000 ; selon test exact de Fisher) (Figure 15), ni avec la sévérité de cette dernière (p=1.000 ; selon test exact avec estimation de Monte Carlo) (Figure 16). Aucune association significative n'a été retrouvée entre l'amplitude thermique et la présence

d'anémie ($p=0.0654$; selon test exact de Fisher) (Figure 15), ni avec la sévérité de cette dernière ($p=0.1788$; selon test exact avec estimation de Monte Carlo) (Figure 16).

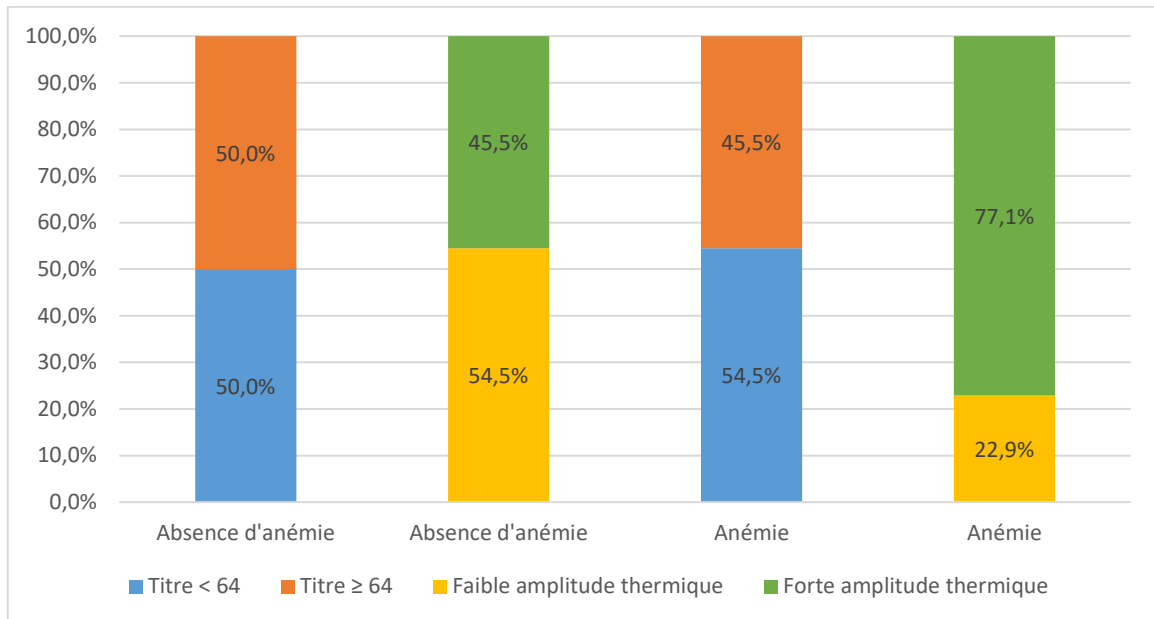


Figure 15 Présence ou absence d'anémie en fonction du titre d'agglutinines froides et de l'amplitude thermique

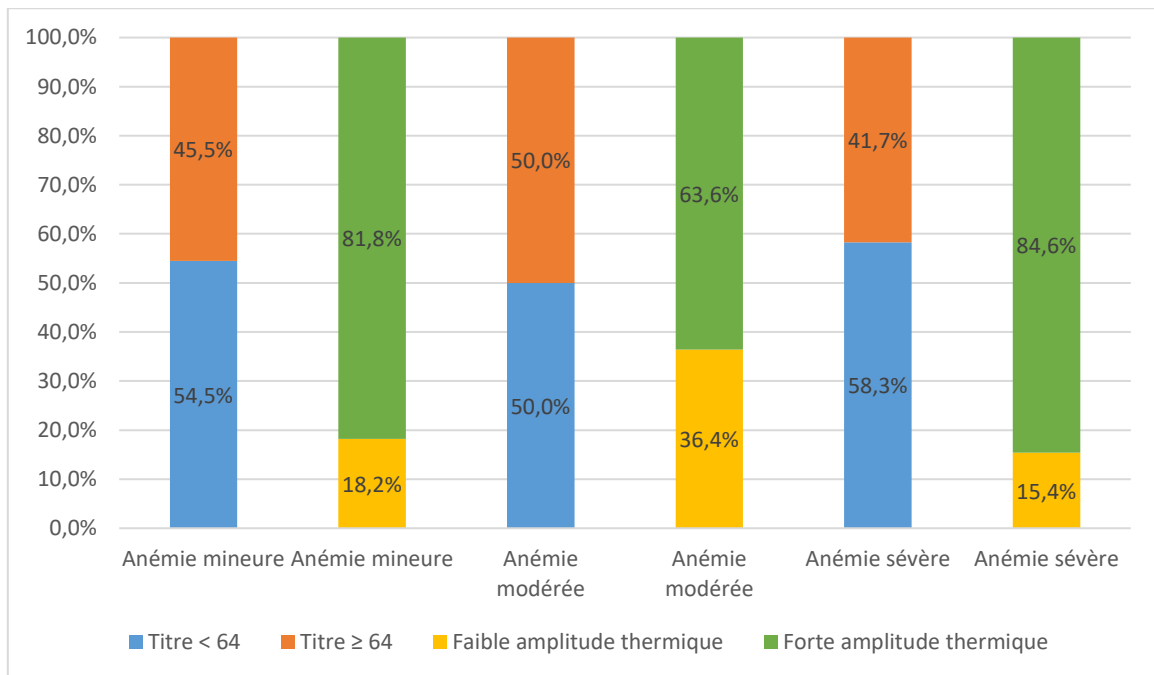


Figure 16 Sévérité de l'anémie en fonction du titre d'agglutinines froides et de l'amplitude thermique

Une hémolyse était définie par l'association d'une augmentation des taux de LDH (> 248 UI/L) et de BNC (> 5 $\mu\text{mol/L}$), ainsi que d'une diminution du taux d'haptoglobine (< 1 g/L). En moyenne, il a été retrouvé un taux de LDH de 529.5 UI/L, un taux de BNC de 40.3 $\mu\text{mol/L}$ et un taux d'haptoglobine de 0.62 g/L. 20 patients présentaient une hémolyse. L'EDA était isolément positif en C3d ($n=9$) ou en IgG ($n=2$), mixte ($n=6$) ou négatif ($n=2$). Il n'a été retrouvé aucune association significative entre la présence

d'anémie hémolytique et le titre d'AF ($p=0.4497$; selon test exact de Fisher), ni avec l'amplitude thermique ($p=0.0680$; selon test exact de Fisher) (Figure 17).

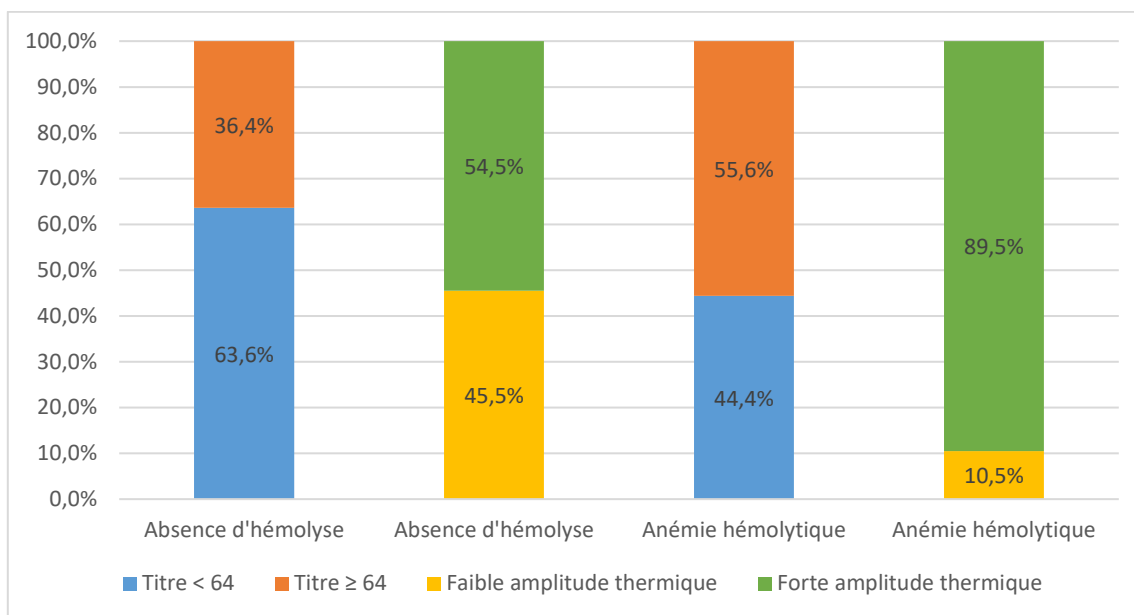


Figure 17 Présence ou absence d'hémolyse en fonction du titre d'agglutinines froides et de l'amplitude thermique

3.2.4. Exploration diagnostique complémentaire

Un ensemble d'examens complémentaires ont été réalisés chez les patients de façon concomitante à la recherche d'AF. Certains examens ont pu être réalisés de façon quasi-systématique comme la numération sanguine (95.8%), le bilan biochimique d'hémolyse (72.9%) ou l'EDA (97.9%) tandis que d'autres étaient plus rarement effectués comme l'EDA en IgM, C3c et IgA (2.1%) (EDA : Examen Direct à l'Antiglobuline ; Ig : Immunoglobuline ; PCR : Polymerase Chain Reaction ; RAI : Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires

Tableau 25). Parmi les 17 recherches de cryoglobuline, 12 étaient négatives, 1 n'a pas pu être réalisée en raison d'un sérum lactescent faussant l'analyse, 1 était une redondance et 3 étaient positives et mettaient en évidence une cryoglobuline de type II avec une association d'IgM kappa monoclonale associée à une IgG kappa de faible intensité et à des Ig polyclonales. Le typage des immunoglobulines correspond à la recherche du type d'Ig en cause ainsi que de son isotype par électrophorèse, immunofixation et dosage pondéral. Pour 14 de ces typages, une IgM était mise en évidence dont 9 d'isotype kappa, 1 d'isotype lambda et 2 d'isotype kappa/lambda. 1 typage révélait une association d'un IgM kappa et d'une IgG lambda et 4 typages révélaient un profil oligoclonal sans anomalie. Les dosages pondéraux de ces Ig (n=10) montraient des taux allant de 2 à 23 g/L.

	Total (n=48)	
	n	%
Agglutination érythrocytaire au frottis sanguin	9	18.8
Bilan biochimique d'hémolyse	35	72.9
EDA « classique » (IgG/C3d)	47	97.9
EDA « étendu » (IgM/C3c/IgA)	1	2.1
Immunophénotypage	16	33.3
Myélogramme et/ou Biopsie ostéo-médullaire	12	25.0
Numération sanguine	46	95.8
RAI	46	95.8
Recherche d'anticorps auto-immuns	28	58.3
Recherche de cryoglobuline	17	35.4
Recherche de schizocytes	15	31.3
Sérologies et/ou PCR d'agents infectieux	24	50.0
Typage des immunoglobulines	19	39.6

EDA : Examen Direct à l'Antiglobuline ; Ig : Immunoglobuline ; PCR : Polymerase Chain Reaction ; RAI : Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires

Tableau 25 Examens complémentaires réalisés de façon concomitante aux prescriptions de recherche d'agglutinines froides

3.2.5. Etiologies et pathologies associées aux agglutinines froides

3.2.5.1. Maladie idiopathique des agglutinines froides

2 patients (5%) étaient atteints d'une CAD comme décrit dans le Tableau 26. Le diagnostic datait de plusieurs années : respectivement en 2010 et 2022. 1 patient ne présentait aucune autre étiologie pouvant expliquer la présence d'AF tandis qu'1 patient présentait une infection pulmonaire de type bronchite aigue au moment de la recherche d'AF. Un myélogramme et un immunophénotypage médullaire ont été réalisés chez 1 patient. Le myélogramme révélait une absence d'infiltrat pathologique localement décelable ou d'anomalie significative. Concernant l'immunophénotypage médullaire, il présentait une absence de population B monoclonale associée à un déséquilibre de la répartition entre les lymphocytes T CD4 et CD8 en faveur de la sous-population CD8.

Pathologie	n	Anémie (g/dL)				Titre	Amplitude thermique	Caractéristiques immuno-hématologiques			
		Hémolyse (n=1)	< 8 (n=1)	8-10 (n=1)	> 10 (n=0)			EDA			
								Mixte (n=0)	C3d (n=2)	IgG (n=0)	Négatif (n=0)
CAD	2	1	1	1	–	64 à 256	Faible à forte	–	2	–	–

CAD : maladie des agglutinines froides idiopathique.

Tableau 26 Caractéristiques immuno-hématologiques des patients atteints de maladie idiopathique des agglutinines froides

3.2.5.2. Hémopathies malignes

15 patients (37.5%) étaient atteints d'au moins une hémopathie maligne comme décrit dans le Tableau 27. 1 patient présentait une association de syndrome myélodysplasique (SMD) et de leucémie lymphoïde chronique (LLC). 95% des patients atteints d'hémopathies malignes présentaient une anémie et 73.7% une hémolyse. Les anémies étaient majoritairement modérées (33.3%) et sévères (42.9%) avec peu d'anémies mineures (19%) et seulement 1 cas sans anémie (4.8%). Ainsi la présence d'hémopathie maligne était significativement associée à une hémolyse ($p=0.0442$; selon test exact de Fisher), à une anémie ($p=0.0123$; selon test exact de Fisher) et préférentiellement une anémie modérée à sévère ($p=0.0124$; selon test exact avec estimation de Monte Carlo).

Parmi ces patients, 6 ont bénéficié de la réalisation d'un myélogramme, 5 d'un immunophénotypage médullaire et 3 d'un immunophénotypage sanguin. Des sérologies à la recherche d'agents infectieux ont été réalisées chez 10 patients, toutes négatives, et des anticorps auto-immuns ont été recherchés chez 10 patients dont 5 présentaient des résultats positifs. Respectivement 1 patient avait des anticorps anti-nucléaires et anti-TRIM21, 2 patients avait des anticorps anti-nucléaires isolément, 1 patient avait des facteurs rhumatoïdes, et 1 patient avait des anticorps anti-nucléaires, anti-ANCA et anti-MBG. Parmi les 5 patients présentant des anticorps auto-immuns, 1 patient était atteint de façon concomitante d'une association de plusieurs maladies auto-immunes : syndrome d'Evans, LES et Syndrome des Anti-Phospholipides (SAPL).

Pathologie	n	Anémie (g/dL)				Caractéristiques immuno-hématologiques					
		Hémolyse (n=11)	< 8 (n=7)	8-10 (n=5)	> 10 (n=4)	Titre	Amplitude thermique	EDA			
								Mixte (n=3)	C3d (n=9)	IgG (n=2)	Négatif (n=3)
LAM à t(8 ;21)	1	–	–	–	–	32	Forte	–	–	–	1
LMMC	1	1	1	–	–	16	Forte	–	–	1	–
SLPB	13										
DLBCL	2	1	2	–	–	32 à 128	Forte	1	1	–	–
LLC	2	2	–	1	1	64 à 512	Forte	–	2	–	–
LPL	3	1	–	2	1	128 à 2048	Forte	1	1	–	1
Lymphome B à petites cellules	1	1	1	–	–	NR	Forte	–	1	–	–
Lymphome splénique	1	–	–	–	–	4	Faible	–	1	–	–
LZM	2	1	–	1	1	16 à 128	Forte	–	1	–	–
MGUS à IgM	2	1	1	1	–	4 à 512	Faible à forte	–	1	–	1
SLPT	2										
LAIT	1	1	1	–	–	32	Forte	1	–	–	–
Lymphome T hépatosplénique	1	1	1	–	–	4	Faible	–	–	1	–
SMD	1	1	–	–	1	64	Forte	–	1	–	–

DLBCL : Lymphome B diffus à grandes cellules ; LAIT : Lymphome T angio-immunoblastique ; LAM : Leucémie aiguë myéloïde ; LLC : Leucémie lymphoïde chronique ; LMC : Leucémie myéloïde chronique ; LMMC : Leucémie myélo-monocytaire chronique ; LPL : Lymphome lymphoplasmocytaire ; LZM : lymphome de la zone marginale ; MGUS : Gammopathie monoclonale de signification indéterminée ; NR : non réalisé ; SLPB : Syndrome lymphoprolifératif B ; SLPT : Syndrome lymphoprolifératif T.

Tableau 27 Caractéristiques immuno-hématologiques des patients atteints d'hémopathies malignes

3.2.5.3. Néoplasies

12 patients (30%) étaient atteints d'au moins une néoplasie comme décrit dans le Tableau 28. Ont été recensées uniquement les pathologies en évolution au moment de la recherche d'AF du fait d'un diagnostic récent, d'un traitement en cours ou d'une rechute récente. Ont été exclues les pathologies en rémission complète depuis plusieurs mois ou années avant la prescription de recherche d'AF. Aucun patient ne présentait d'association de plusieurs néoplasies de façon concomitante. 6

patients présentaient un antécédant de néoplasie non pris en compte dans le Tableau 28 puisqu'en rémission depuis plusieurs années au moment de la recherche d'AF : 1 adénocarcinome colique, 3 cancers du sein, 1 adénocarcinome endocervical et 1 adénocarcinome prostatique. Les patients atteints de néoplasie présentaient une anémie (76.5%) et une hémolyse (42.9%) de façon non-significative (respectivement $p=1.0000$ et $p=0.1871$; selon test exact de Fisher).

Parmi ces patients, 6 ont bénéficié de la réalisation d'un myélogramme, 4 d'un immunophénotypage médullaire et 1 d'un immunophénotypage sanguin. Ces analyses ont révélé des résultats normaux sauf en cas d'association avec une hémopathie (n=4) où des anomalies étaient retrouvées en lien avec le type d'hémopathie associé : respectivement une CAD, un DLBCL, un LPL et un LZM. Des sérologies à la recherche d'agents infectieux ont été réalisées chez 7 patients, toutes négatives, et des anticorps auto-immuns ont été recherchés chez 6 patients, dont seuls 4 présentaient soit des anticorps anti-DNA (n=1) soit des anti-nucléaires positifs (n=3). 3 de ces patients étaient atteints d'une maladie auto-immune de façon concomitante : respectivement un LES, une neuropathie sensitive démyélinisante des membres inférieurs et une association d'un syndrome d'Evans, d'un LES et d'un SAPL.

Pathologie	n	Anémie (g/dL)				Caractéristiques immuno-hématologiques					
		Hémolyse (n=5)				Titre	Amplitude thermique	EDA			
			< 8 (n=4)	8-10 (n=3)	> 10 (n=4)			Mixte (n=5)	C3d (n=4)	IgG (n=0)	Négatif (n=2)
Cancer cutané	1	–	–	1	–	4	Faible	–	–	–	1
Cancer du col de l'utérus	1	–	–	–	1	8	Faible	1	–	–	–
Adénocarcinome duodénal	1	1	–	–	1	16	Forte	–	–	–	1
Adénocarcinome prostatique	1	–	–	1	–	2048	Forte	1	–	–	–
Adénocarcinome pancréatique	1	–	–	–	1	8	Forte	–	1	–	–
Adénocarcinome pulmonaire	5	2	3	–	1	2 à 256	Faible à forte	2	2	–	–
Cancer urothélial	1	1	1	–	–	4	Forte	1	–	–	–
Etat pré-cancéreux*	1	1	–	1	–	16	Forte	–	1	–	–

*correspondant à des lésions vaginales positives à papillomavirus humain (HPV) de bas grade.

Tableau 28 Caractéristiques immuno-hématologiques des patients atteints de néoplasies ou de cancer d'organe solide

3.2.5.4. Maladies auto-immunes

17 patients (42.5%) étaient atteints d'au moins une maladie auto-immune comme décrit dans le Tableau 29. 5 patients présentaient plusieurs de ces pathologies : 1 association d'un syndrome de Gougerot-Sjögren et d'une dermatomyosite, 1 association d'un syndrome de Gougerot-Sjögren et d'un syndrome d'Evans, 1 association d'un SAPL et d'une connectivite en cours de diagnostic, 1 association d'un LES et d'un psoriasis et enfin 1 association d'un syndrome d'Evans, d'un LES et d'un SAPL. Les patients atteints de maladie auto-immune présentaient une anémie (66.7%) et une hémolyse (44.4%) de façon non-significative (respectivement $p=0.2989$ et $p=0.1756$; selon test exact de Fisher).

Parmi ces patients, 3 ont bénéficié de la réalisation d'un myélogramme, 1 d'un immunophénotypage médullaire et 3 d'un immunophénotypage sanguin. Ces analyses ont révélé des résultats normaux sauf en cas d'association avec une hémopathie ($n=3$) correspondant respectivement à un lymphome hépato-splénique, un lymphome splénique et un LZM. Des sérologies à la recherche d'agents infectieux ont été réalisées chez 11 patients, toutes négatives.

Pathologie	n	Hémolyse (n=10)	Anémie (g/dL)			Caractéristiques immuno-hématologiques					
			< 8 (n=5)	8-10 (n=6)	> 10 (n=6)	Titre	Amplitude thermique	EDA			
								Mixte (n=6)	C3d (n=6)	IgG (n=1)	Négatif (n=4)
Connectivite non-étiquetée*	1	-	-	-	-	2	Faible	-	1	-	-
Dermato-myosite	1	-	-	-	-	128	Forte	-	-	-	1
Diabète de type 1	1	-	-	-	1	8	Forte	-	1	-	-
Hypothyroïdie	2	1	1	-	1	2 à 128	Forte	-	1	-	-
LES	2	1	-	-	2	8 à 16	Faible à forte	2	-	-	-
Maladie de Berger	1	-	-	1	-	4	Faible	-	-	-	1
Neuropathie sensitive démyélinisante	1	1	1	-	-	4	Forte	1	-	-	-
Polyarthrite rhumatoïde	1	1	-	1	-	1024	Forte	-	1	-	-
Pseudo-polyarthrite rhizomélique	1	-	-	1	-	4	Faible	-	-	1	-
Psoriasis	2	1	-	-	1	4 à 16	Faible à forte	1	1	-	-
Rhumatisme articulaire aigu	1	1	1	-	-	4	Faible	-	-	1	-
Sarcoïdose	1	-	-	-	-	256	Forte	1	-	-	-
SAPL	2	1	-	1	-	2 à 16	Faible à forte	-	1	-	-
Syndrome d'Evans	2	2	1	1	-	16	Forte	-	-	1	-
Syndrome de Gougerot-Sjögren	3	1	1	-	1	8 à 128	Faible à forte	1	-	1	1
Vascularite non-étiquetée*	1	-	-	1	-	4	Faible	-	-	-	1

LES : Lupus érythémateux systémique ; SAPL : Syndrome des anti-phospholipides.

*non-étiquetée car correspondant à 2 suspicions en cours de diagnostic.

Tableau 29 Caractéristiques immuno-hématologiques des patients atteints de maladies auto-immunes

3.2.5.5. Infections

19 patients (47.5%) étaient atteints d'au moins une infection comme décrit dans le Tableau 30. 10 patients présentaient plusieurs de ces pathologies : 3 associations d'une infection pulmonaire et d'un sepsis, 1 association d'une infection cutanée et d'un sepsis, 1 association d'une infection articulaire et d'un sepsis, 1 association d'infections pulmonaire et urinaire, 1 association d'infections pulmonaire, urinaire et digestive, 1 association d'infections pulmonaire et urinaire et d'un sepsis, 1 association d'une infection VHB, d'une mononucléose infectieuse (MNI) à EBV et d'une infection urinaire, 1 association d'une tuberculose latente et d'un sepsis, 1 association de pneumopathie co-infectée à *Chlamydia pneumoniae* et à *Mycoplasma*

pneumoniae. Les patients atteints d'infections présentaient une anémie (88.9%) et une hémolyse (66.7%) de façon non-significative (respectivement $p=0.1563$ et $p=0.4916$; selon test exact de Fisher).

Parmi ces patients, seuls 3 patients présentaient un contexte infectieux isolé. Tous les autres patients présentaient donc une association avec au moins une autre pathologie : 5 d'entre eux présentaient une néoplasie associée, 11 présentaient une hémopathie dont 2 CAD, et 6 présentaient une maladie auto-immune.

Concernant les 19 patients, 6 ont bénéficié de la réalisation d'un myélogramme, 4 d'un immunophénotypage médullaire et 3 d'un immunophénotypage sanguin. Ces analyses ont révélé des résultats normaux sauf en cas d'association avec une hémopathie (n=5) : respectivement une CAD, un DLBCL, un LAIT, une LAM2 à t(8 ;21) et un lymphome T hépato-splénique. Des anticorps auto-immuns ont été recherchés chez 11 patients, dont 5 ont eu des résultats positifs : 1 patient présentait des anticorps anti-ANCA, 2 patients présentaient des anticorps anti-nucléaires, 1 patient présentait des facteurs rhumatoïdes et 1 patient présentait une association d'anticorps anti-nucléaires, anti-ANCA et anti-MBG. 2 des patients possédant des anticorps auto-immuns étaient affectés par une maladie auto-immune : respectivement d'une hypothyroïdie et une neuropathie démyélinisante des membres inférieurs.

Pathologie	n	Anémie (g/dL)				Caractéristiques immuno-hématologiques					
		Hémolyse (n=18)	< 8 (n=18)	8-10 (n=4)	> 10 (n=3)	Titre	Amplitude thermique	EDA			
								Mixte (n=7)	C3d (n=7)	IgG (n=8)	Négatif (n=7)
Infection articulaire	1	–	–	1	–	4	Faible	–	–	–	1
Infection cutanée	1	–	–	–	1	128	Forte	–	–	–	1
Infection digestive	1	1	1	–	–	16	Forte	–	–	1	–
Infection pulmonaire	1 3										
Infection pulmonaire*	9	3	6	–	–	4 à 512	Faible à forte	1	4	3	1
Pneumopathie à <i>C. pneumoniae</i>	1	1	1	–	–	2	Forte	–	–	–	–
Pneumopathie atypique à <i>M. pneumoniae</i>	2	2	1	–	1	2 à 16	Forte	–	–	–	1
Tuberculose	1	1	1	–	–	4	Forte	1	–	–	–
Infection urinaire	3	2	2	–	–	8 à 128	Faible à forte	1	–	2	–
Infection virale	3										
Infection au Sars- Cov-2	1	1	–	–	1	128	Forte	–	1	–	–
Infection à VHB	1	1	1	–	–	32	Forte	1	–	–	–
MNI à EBV	1	1	1	–	–	32	Forte	1	–	–	–
Sepsis et/ou bactériémie	9	5	4	3	–	4 à 512	Faible à forte	2	2	2	3

C. pneumoniae : *Chlamydia pneumoniae* ; EBV : Epstein Barr Virus ; MNI : Mononucléose infectieuse ; *M. pneumoniae* : *Mycoplasma pneumoniae* ; VHB : Virus de l'hépatite B.

*correspondant à une infection pulmonaire sans agent particulier mis en évidence comme l'unique cause de l'infection.

Tableau 30 Caractéristiques immuno-hématologiques des patients atteints d'infections

3.2.5.6. Autres pathologies

15 patients (37.5%) présentaient également d'autres pathologies ne pouvant être classées dans les catégories précédentes comme décrit dans le Tableau 31. Ces patients présentaient une anémie (88.9%) et une hémolyse (68.8%) de façon non-significative (respectivement $p=0.1563$ et $p=0.3064$; selon test exact de Fisher). Parmi ces patients, seul 1 ne présentait aucune autre pathologie associée. Tous les autres patients présentaient donc une association avec au moins une autre pathologie : 4 d'entre eux présentaient une néoplasie associée, 10 présentaient une hémopathie dont 1 CAD, 5 présentaient une maladie auto-immune et 9 présentaient une infection.

Concernant ces patients, 5 ont bénéficié de la réalisation d'un myélogramme, 2 d'un immunophénotypage médullaire et 6 d'un immunophénotypage sanguin. Ces analyses ont révélé des résultats normaux sauf en cas d'association avec une hémopathie (n=5) : respectivement une CAD, un lymphome B à petites cellules, un lymphome T hépato-splénique, un lymphome splénique et un LZM. Des sérologies à la recherche d'agents infectieux ont été réalisées chez 11 patients, toutes négatives, et des anticorps auto-immuns ont été recherchés chez 14 patients, dont 8 ont eu des résultats positifs : 3 patients présentaient des anticorps anti-nucléaires, 1 patient présentait des facteurs rhumatoïdes, 1 patient présentait une association d'anticorps anti-nucléaires et anti-TRIM21 et 2 patients présentaient une association d'anticorps anti-DNA et anti-nucléaires. 3 de ces patients possédant des anticorps auto-immuns étaient affectés par une maladie auto-immune : respectivement une neuropathie démyélinisante des membres inférieurs, une suspicion de vascularite en cours de diagnostic et une association d'un syndrome d'Evans, d'un LES et d'un SAPL.

Pathologie	n	Anémie (g/dL)				Caractéristiques immuno-hématologiques					
		Hémolyse (n=7)	< 8 (n=5)	8-10 (n=5)	> 10 (n=1)	Titre	Amplitude thermique	EDA			
								Mixte (n=2)	C3d (n=5)	IgG (n=0)	Négatif (n=5)
Béta-thalassémie mineure	1	–	–	1	–	4	Faible	–	–	–	1
DICV	1	1	–	1	–	512	Forte	–	1	–	–
Episodes thrombo-emboliques	7										
AVC	1	1	1	–	–	512	Forte	–	–	–	1
Embolie pulmonaire	1	–	–	1	–	4	Faible	–	–	–	1
Thrombose artérielle	1	1	1	–	–	NR	Forte	–	1	–	–
TVP	1	1	–	–	1	16	Forte	–	–	–	1
Maladie de Parkinson	1	1	1	–	–	4	Forte	1	–	–	–
Transplantation rénale	1	–	–	1	–	4	Faible	–	–	–	1
SAM	2	1	2	–	–	32 à 128	Forte	1	1	–	–
Schizophrénie	2	1	–	1	–	64 à 128	Faible	–	2	–	–

AVC : Accident vasculaire cérébral ; DICV : Déficit immunitaire commun variable ; NR : Non réalisé ; TVP : Thrombose veineuse profonde ; SAM : Syndrome d'activation macrophagique.

Tableau 31 Caractéristiques immuno-hématologiques des patients atteints d'autres pathologies concomitantes à la présence d'agglutinines froides

3.2.5.7. Evènements iatrogènes

La majorité des patients présentaient un ou plusieurs traitements médicamenteux. Chez ces patients aucun médicament n'a été incriminé comme à l'origine de la présence d'AF à l'exception de 5 patients. Parmi ces derniers 1 patient prenait de la Metformine mais, après investigation, aucun lien de causalité n'a été mis en évidence. En effet, son AHAI et la présence d'AF ont persisté chez ce patient malgré l'arrêt prolongé du traitement. Pour les 4 patients restants, la prise de médicament a été retenue comme potentielle étiologie. 1 patiente avait subi une interruption volontaire de grossesse médicamenteuse et ne présentait aucune autre pathologie. 2 patients avaient arrêté brutalement leur corticothérapie prescrite dans le cadre du traitement d'une autre pathologie. 1 patient était atteint de cholangite immuno-induite au Nivulomab. 5 patients présentaient une prothèse totale de genou ou de hanche.

3.2.5.8. Association multi-pathologiques

Comme vu précédemment, de nombreux patients étaient affectés par plusieurs pathologies de façon concomitante. 22% des patients présentaient un nombre de pathologies concomitantes ≤ 1 tandis que seulement 2.4% des patients présentaient 6 pathologies associées (Figure 18).
 Nombre de pathologies chez les patients présentant une recherche d'agglutinines froides positive).

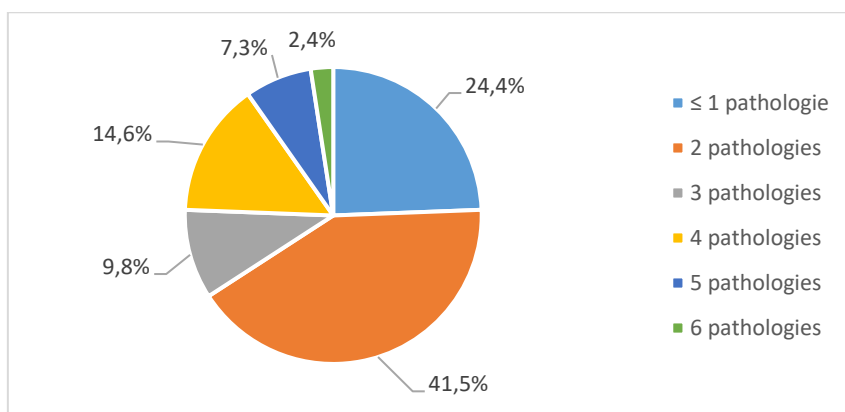


Figure 18 Nombre de pathologies chez les patients présentant une recherche d'agglutinines froides positive

Les patients présentaient parfois une association de plusieurs pathologies de la même catégorie à l'exception des patients atteints de néoplasie qui n'étaient jamais affectés par plusieurs néoplasies de façon concomitante (Figure 19). Les associations de pathologies détaillées retrouvées chez les patients présentant une recherche d'AF positive sont décrites dans le Tableau 32.

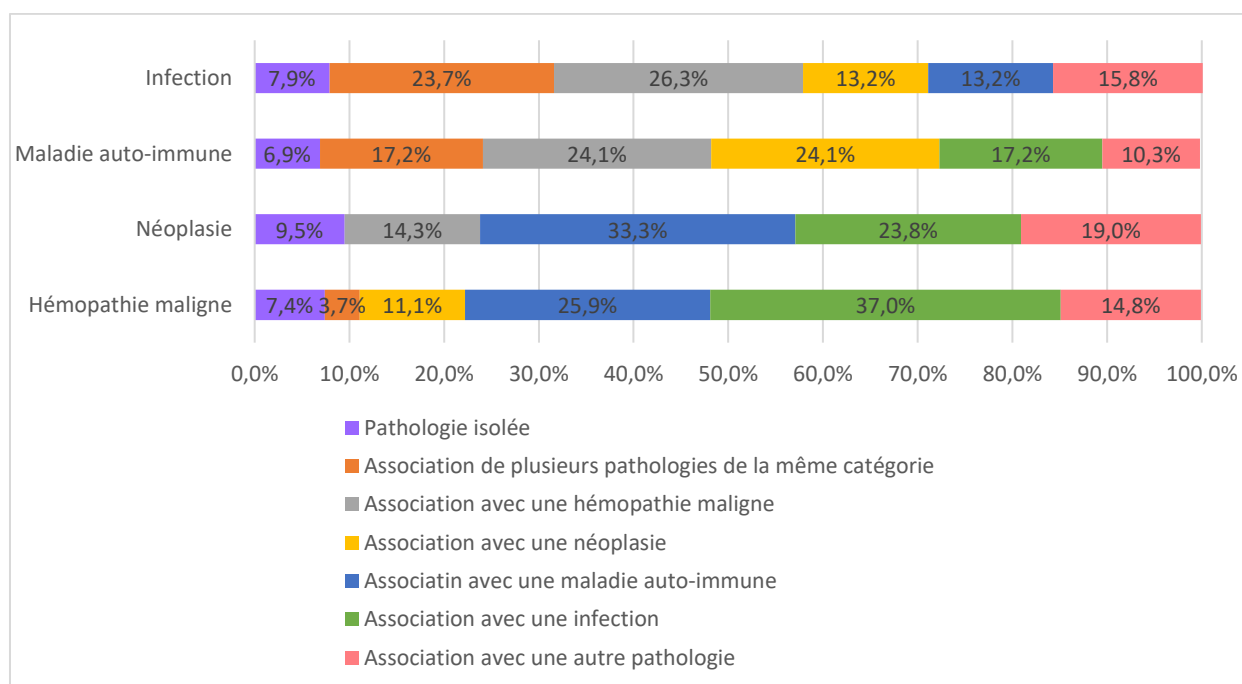


Figure 19 Association des différentes catégories de pathologies étudiées chez les patients présentant une recherche d'agglutinines froides positives

Hémopathie maligne	Néoplasie	Maladie auto-immune	Infection	Autre pathologie
LPL	Adénome prostatique			
SMD et LLC				
Lymphome B à petites cellules				Thrombose artérielle
CAD			Infection pulmonaire	
Lymphome T hépato-splénique		RAA	Infection pulmonaire et sepsis	
LZM	Etat pré-cancéreux*	Syndrome d'Evans, LES et SAPL		
MGUS à IgM		Pseudo-polyarthrite rhizomélique		
LPL		PR		
LZM		Hypothyroïdie		
DLBCL	Adénocarcinome pulmonaire		Infection pulmonaire	SAM
MGUS à IgM			Sepsis	
LPL			Infection cutanée et sepsis	
LLC			Infection pulmonaire et sepsis	DICV
LAM2 à t(8 ;21)			Infection pulmonaire	
LAIT			Infection VHB, MNI à EBV et infection urinaire	
LMMC		Syndrome de Gougerot-Sjögren et d'Evans	Infection pulmonaire, urinaire et digestive	
Lymphome splénique		Psoriasis		
DLBCL			Sepsis	SAM
	Cancer du col de l'utérus	LES		
	Adénocarcinome duodénal		Pneumopathie atypique à <i>M. pneumoniae</i>	TVP
	Adénocarcinome pulmonaire	Sarcoïdose		
	Adénocarcinome pulmonaire	Hypothyroïdie	Pneumopathie atypique à <i>M. pneumoniae</i> et <i>C. pneumoniae</i>	
	Cancer cutané	Maladie de Berger	Infection articulaire et sepsis	Transplantation rénale
	Cancer urothélial	Neuropathie sensitive démyélinisante des membres inférieurs	Tuberculose et sepsis	Parkinson
	Adénocarcinome pancréatique	Diabète de type 1		
	Adénocarcinome pulmonaire			
		Vascularite non-étiquetée**		Béta-thalassémie, EP et TVP
		Syndrome de Gougerot-Sjögren et dermatomyosite		
		SAPL et connectivite non-étiquetée**		
		LES et psoriasis		
			Infection pulmonaire et sepsis	
			Infections pulmonaire, urinaire et sepsis	

CAD : maladie des agglutinines froides ; DLBCL : lymphome B diffus à grandes cellules ; DICV : déficit immunitaire commun variable ; EBV : virus Epstein-Barr ; EP : embolie pulmonaire ; LAIT : lymphome T angio-immunoblastique ; LAM : leucémie aiguë myéloïde ; LES : lupus érythémateux systémique ; LLC : leucémie lymphoïde chronique ; LMMC : leucémie myélomonocytaire chronique ; LPL : lymphome lymphoplasmocytaire ; LZM : lymphome de la zone marginale ; MGUS : gammopathie monoclonale de signification indéterminée ; MNI : mononucléose infectieuse ; PR : polyarthrite rhumatoïde ; RAA : rhumatisme articulaire aigu ; SAM : syndrome d'activation macrophagique ; SAPL : syndrome des anti-phospholipides ; SMD : syndrome myélodysplasique ; TVP : thrombose veineuse profonde ; VHB : virus de l'hépatite B.
*correspondant à des lésions vaginales positives à HPV de bas grade. ** non-étiquetée car correspondant à 2 suspicions en cours de diagnostic.

Tableau 32 Association des pathologies pour chaque patient au moment de la recherche d'agglutinines froides

3.2.6. Prise en charge thérapeutique

La prise en charge thérapeutique dépendait de l'origine des AF. Elle pouvait correspondre au traitement unique de l'anémie (n=2), au traitement uniquement de la ou des pathologie(s) sous-jacente(s) (n=24) ou au traitement des deux à la fois (n=10). Parmi les thérapeutiques mises en place les corticoïdes étaient prescrits de façon isolée (n=13) ou en association avec du Rituximab (n=3), avec du Rituximab et de la Bendamustine (n=2) ou avec du Rituximab, de la Bendamustine et du Cyclophosphamide (n=1). Le Rituximab pouvait également être prescrit en monothérapie (n=2). Concernant les 2 cas de prise en charge de l'anémie uniquement, ils correspondent à une abstention thérapeutique en première intention et à l'instauration de Rituximab en monothérapie en cas d'aggravation. Dans les cas de prise en charge uniquement de la pathologie sous-jacente, le traitement correspondait à une association de corticoïdes et de Rituximab (n=2), de corticoïdes, Rituximab et de Bendamustine (n=1) ou de corticoïdes, Rituximab et Cyclophosphamide (n=1). Dans les cas de prise en charge à la fois de l'anémie et de la pathologie sous-jacente, le traitement correspondait à une association de corticoïdes et de Rituximab (n=4).

Des traitements de support étaient mis en place pour corriger l'anémie et/ou limiter l'hémolyse médiée par les AF. Ainsi les patients pouvaient recevoir des transfusions de Concentrés de Globules Rouges (CGR) (n=17), une supplémentation en fer (n=2) et/ou en folates (n=16) ou bénéficier de l'administration d'érythropoïétine (n=3). Une plasmaphérèse avait été pratiquée pour diminuer rapidement la quantité trop importante d'AF présente dans le plasma chez certains patients (n=2).

4. Discussion

4.1. Examens immuno-hématologiques et caractérisation des agglutinines froides

L'étude des recherches d'AF à l'EFS d'Occitanie a montré que le sexe n'avait pas de lien évident avec la présence d'AF. Ces résultats sont comparables à d'autres études montrant une répartition équilibrée selon le sexe (23) avec parfois une légère prédominance féminine (39). La majorité des patients était âgée de plus de 45 ans avec un nombre non-négligeable de patients âgés de plus de 75 ans. L'âge moyen (58.6 ans) était également comparable avec certaines études (25) même si d'autres décrivent un âge moyen plus approchant des 70 ans (18,23,41). Ainsi l'âge apparaît comme un facteur important dans la survenue d'AF avec notamment des titres plus importants chez les sujets plus âgés. En effet la cAHAI est décrite comme une pathologie du sujet âgé depuis de nombreuses années (42).

Les AF peuvent être à l'origine de difficultés d'interprétation du groupage sanguin ou de la RAI en raison de leur capacité d'hémagglutination interférant avec les tests immuno-hématologiques. Ces interférences, bien que décrites dans la littérature (15,30), étaient difficilement évaluables dans cette

étude. En effet, si les interférences étaient levées par des techniques analytiques supplémentaires alors il n'existait aucune traçabilité informatique permettant d'évaluer leur nombre. Aucun lien n'a été mis en évidence entre la présence d'AF et le groupe sanguin avec une répartition comparable à la population générale française. Il existe une répartition géographique Nord-Sud concernant les patients présentant des AF avec une prévalence 4 fois plus importante en Norvège qu'en Italie (20). De ce fait, et en sachant que la répartition des groupes sanguins varie selon les régions du monde, il pourrait être intéressant d'étudier cette répartition chez les patients présentant des AF dans des pays différents.

L'EDA est une analyse indispensable dans le dépistage des AF puisqu'il permet de mettre en évidence la présence d'anticorps fixés sur les hématies ou le stigmate de leur fixation à l'origine d'une hémolyse auto-immune (5). Cependant il faut être vigilants sur l'interprétation puisque le résultat de l'EDA n'est pas pathognomonique. En effet, il peut se positiver dans d'autres contextes comme en présence d'allo-anticorps chez des patients ayant reçu une transfusion sanguine récente ou présentant une immunisation foëto-maternelle. Il est également possible de retrouver une positivité de l'EDA en cas d'administration d'immunoglobulines par voie intra-veineuse, de globulines anti-thymocytaires ou de Daratumumab. Une positivité de l'EDA peut aussi être mise en évidence en cas de présence d'anticorps anti-médicaments ou de complexes immuns circulants (4,44–46). Les résultats mettaient en évidence un EDA négatif (65.7%) dans le cas de recherche d'AF négative tandis qu'en cas de recherche d'AF positive l'EDA était plutôt positif de type isolément en C3d (42.6%). Il pouvait également être de type mixte (23%) ou isolément positif en IgG (8.5%). La présence d'AF est généralement associée à un EDA positif isolément en C3d mais des EDA de type mixte et isolément positif en IgG ont également été décrits bien que moins fréquents (14,21). Toutefois l'EDA était négatif dans 25.9% des cas de recherche d'AF positive. Différentes causes peuvent expliquer ce résultat : un taux d'anticorps trop faible pour être détectable, un anticorps de faible affinité ou encore un type d'anticorps non-recherché par le test classique d'EDA. Des études ont montré que la sensibilité de l'EDA pouvait varier en fonction de la technique utilisée (47–50). En cas d'auto-anticorps de faible affinité, il est possible d'augmenter la sensibilité du test EDA en réalisant une méthode d'élution des hématies ou un lavage à froid (4,51). Utiliser une méthode d'EDA explorant d'autres types d'anticorps comme les IgA, les IgM ou le C3c est aussi une solution pour explorer les EDA négatifs chez les patients présentant une hémolyse inexpliquée (26). Cela permet également de mettre en évidence des auto-anticorps n'activant pas le complément comme certaines AF de spécificité anti-Pr où l'EDA peut être négatif (13,52,53). Un EDA positif, tout type confondu, était retrouvé dans 74,1% des recherches d'AF positives et 34.3% des recherches d'AF négatives. Il a été démontré qu'un EDA négatif en C3 possédait une valeur prédictive négative de 98% si on définissait un titre d'AF ayant un retentissement clinique comme devant être ≥ 64 (31). Dans notre étude, une association significative a été retrouvée entre le type d'EDA et le titre

de l'AF ainsi que son amplitude thermique. L'EDA était volontiers positif isolément en C3d en cas de titre élevé ≥ 64 et/ou de forte amplitude thermique. L'intensité réactionnelle de l'EDA était également impactée par le titre et l'amplitude thermique de l'AF avec des intensités fortes $> 2+$ en cas de titre ≥ 64 et de forte amplitude thermique. L'EDA apparait donc comme un test facile à réaliser et indispensable dans l'exploration des AHAI. Sa réalisation permet de rapidement orienter le clinicien sur le type d'AHAI (wAHAI ou cAHAI). Selon les régions, certains sites EFS recommandent, dans leurs procédures, l'annulation des recherches d'AF en cas d'EDA négatif en C3d. Néanmoins la présence de signes clinico-biologiques évocateurs d'une AHAI peut justifier de la réalisation d'une recherche d'AF malgré un EDA négatif en C3 (31). A l'inverse, un EDA positif peut être retrouvé chez des patients ne présentant aucune clinique évocatrice (4). En effet, environ 10% des lymphocytes B matures utilisent le segment VH4.34 impliqué dans la liaison aux antigènes érythrocytaires I et i. La présence de ces cellules peut expliquer la présence d'AF de faible titre retrouvées dans le sérum de sujets sains (54). Dans notre étude l'EDA n'était significativement associé ni à la présence d'hémolyse ou d'anémie, ni à la sévérité de cette dernière. En effet, il a déjà été mis en évidence que le lien entre positivité de l'EDA et hémolyse présentait des limites avec souvent une persistance de la positivité de l'EDA malgré la diminution de l'hémolyse chez des patients en rémission, ou la présence d'un EDA positif en l'absence de tout signe hémolytique retrouvée chez des donneurs de sang (55).

L'association de la RAI et du résultat de la recherche d'AF était corrélée avec une RAI majoritairement positive en cas de présence d'AF et inversement. Lors de la présence d'AF, la RAI a permis d'identifier la présence majoritaire d'auto-anticorps et parfois la présence plus anecdotique d'allo-anticorps, d'association d'allo- et d'auto-anticorps ou d'anticorps sans spécificité. La RAI était négative dans 37.5% des cas et elle était positive au dépistage mais négative à l'identification dans 5.4% des cas. Habituellement les anticorps froids ne sont pas actifs à 37°C et donc n'interfèrent pas avec la RAI où l'échantillon est préchauffé. Certains anticorps froids présentant une forte amplitude thermique peuvent réagir et interférer avec la RAI. Dans ces cas un préchauffage est insuffisant et des techniques d'auto- ou d'allo-adsorption peuvent être nécessaires (5). Dans notre étude, la présence d'AF de titre ≥ 64 ou de forte amplitude thermique était associée respectivement dans 59.3% et 69.9% des cas à une RAI positive mettant en évidence un auto-anticorps. Les résultats de l'EDA étaient corrélés avec ceux de la RAI avec un EDA positif en cas de présence d'auto-anticorps. Ceci témoigne de la capacité des AF à rester fixées aux hématies même à chaud en cas de forte amplitude thermique ce qui aboutit à un EDA positif. L'EDA peut également être positif du fait du stigmate de cette fixation en cas de positivité en C3d ce qui témoigne alors d'une AF de faible amplitude thermique qui se détache des hématies à chaud. Et ceci témoigne également de la capacité des AF de forte amplitude thermique à circuler dans le plasma et à se fixer aux hématies à chaud lors de la RAI.

Un titre d'AF ≥ 64 est nécessaire pour poser le diagnostic de CAD (12). Des AF peuvent être retrouvées chez des patients asymptomatiques ou présentant un CAS avec des titres d'AF généralement < 64 (26). Néanmoins, l'amplitude thermique a été décrite comme ayant plus d'impact que le titre des AF sur le retentissement clinique (11,30). Dans notre étude, 53.9% des patients présentaient une AF de titre ≥ 64 contre 46.1% qui présentaient un titre < 64 . Ce titre était associé à l'amplitude thermique avec une forte amplitude thermique retrouvée en cas de titre ≥ 64 et inversement. Cette amplitude thermique constitue un déterminant essentiel puisqu'une AF de forte amplitude thermique aura la capacité de fixer les hématies dans les zones acrales même à des températures plus élevées et d'entraîner l'activation du complément à l'origine d'une hémolyse (57).

19 patients ont bénéficié d'une recherche d'immunoglobuline par électrophorèse et immunofixation. Parmi ces recherches, 14 ont mis en évidence la présence d'IgM monoclonales d'isotype kappa (n=9), lambda (n=1) ou kappa/lambda (n=2), 1 a mis en évidence l'association d'IgM monoclonales kappa et d'IgG monoclonales lambda et 4 ont mis en évidence un profil oligoclonal sans anomalie. Ces résultats confirment les données décrites dans la littérature. En effet, une précédente étude a démontré que les AF étaient des IgM de monotypie kappa chez la grande majorité des patients et moins fréquemment de monotypie lambda. Néanmoins des cas d'IgG, d'IgA ou même d'AF mixtes IgG-IgM peuvent exister plus rarement (58–60). Les cas d'IgM de monotypie kappa étaient tous associés à une hémopathie maligne : CAD (n=1), MGUS à IgM (n=2), lymphome B à petites cellules (n=1), LPL (n=3) et LZM (n=2). Les 2 cas d'IgM kappa/lambda correspondaient à des patients présentant une cryoglobulinémie mixte de type II. Le cas d'IgM de monotypie lambda a été retrouvé chez un patient présentant un DLBCL associé à un adénocarcinome pulmonaire. Le cas d'association d'IgM de monotypie kappa et d'IgG de monotypie lambda présentait une LLC associée à un DICV et à une infection pulmonaire compliquée d'un sepsis. Cette répartition a déjà été observée avec des IgM kappa plutôt retrouvées dans les cas de CAD et de LPL, et des IgM lambda plutôt retrouvées dans d'autres lymphomes non-hodgkiniens (59).

90% des AF présentent une spécificité anti-I tandis qu'une minorité présente une spécificité anti-i (61). Les antigènes I et i sont composés d'un enchainement d'unités N-acétyl-lactosamine qui est linéaire dans la structure antigénique i et ramifié dans la structure antigénique I (54). Actuellement la spécificité des AF n'est pas une caractéristique rendue à l'EFS Occitanie. Néanmoins la procédure indique de réaliser le titrage des AF sur des hématies O adultes exprimant l'antigène I (OI) ou O « bébé » exprimant l'antigène i (Oi) en fonction de la réactivité maximale obtenue lors de la phase de dépistage des AF sur le plasma patient dilué au 1/5. Ainsi, parmi les patients du CHU de Montpellier, nous avons pu mettre en évidence 34 patients (85%) présentant une AF plus réactive sur les hématies OI contre 6 patients (15%) présentant une AF plus réactive sur les hématies Oi. Ces résultats

concordent donc avec la littérature. Cette réactivité n'a pas pu être évaluée sur l'ensemble des patients de l'EFS Occitanie en raison de l'absence de traçabilité informatique. Dans de rares cas les AF peuvent être dirigées contre d'autres antigènes érythrocytaires comme l'antigène Pr (14,62). Cette spécificité a été décrite notamment avec des AF de type IgA (62). D'autres spécificités sont également possibles, bien que très rares. En effet des cas d'AF avec des spécificités anti-B chez un patient A1B (63), anti-Ju (64) ou anti-Gd (65) ont déjà été décrites. Aucune spécificité anti-Pr ou différente des spécificités anti-I et anti-i n'ont pu être mises en évidence puisque non-recherchées à l'EFS Occitanie.

4.2. Aspects cliniques liés à la présence d'agglutinines froides

Lors de l'examen clinique associé à la recherche d'AF, les patients présentaient en majorité une anémie (n=33) traduite par une pâleur cutanéomuqueuse plus ou moins marquée. Certains présentaient une altération de l'état général (n=11). Plus rarement des signes cliniques d'hémolyse étaient retrouvés comme un ictère cutanéomuqueux (n=4), une splénomégalie (n=4) et une hématurie (n=2). L'ictère était toujours associé à la splénomégalie et dans 3 cas à une anémie hémolytique sévère. Dans le 4^{ème} cas, l'anémie était sévère également mais aucun test d'hémolyse n'avait été pratiqué. La splénomégalie peut être causée par une hémolyse mais peut également résulter d'un syndrome lymphoprolifératif sous-jacent (5,66). En effet parmi ces 4 patients, 3 présentaient un tel syndrome : un lymphome B à petites cellules, un lymphome T hépato-splénique et un MGUS à IgM. Les 2 cas d'hématurie étaient associés à une anémie hémolytique sévère. Une hépatomégalie a été retrouvée chez 2 patients dont un qui présentait une CAD depuis plusieurs années. Une dyspnée d'effort a été mise en évidence (n=11) chez des patients présentant une anémie sévère (n=5) mais plusieurs patients étaient atteints d'un adénocarcinome pulmonaire (n=7) pouvant être à l'origine d'un tel symptôme. Les AF peuvent entraîner des dommages cutanés pouvant être très sévères du fait de l'hémagglutination à froid dans les zones acrales à l'origine d'une mauvaise circulation sanguine. Parmi ces dommages, les AF peuvent causer une acrocyanose, un syndrome de Raynaud, un livedo réticulaire et dans de rares cas une nécrose cutanée pouvant conduire à une amputation (67,68). L'acrocyanose survient essentiellement en période froide et correspond à une atteinte cutanée des extrémités qui deviennent froides, insensibles, cyaniques et qui peuvent présenter une hyperhidrose. Les zones atteintes sont généralement les doigts et les orteils mais d'autres zones peuvent être affectées comme le menton, le nez, les oreilles et même la main jusqu'au poignet (69). Ce symptôme est décrit comme un signe très important d'hémagglutination lié au froid (24). Le syndrome de Raynaud correspond à une contraction excessive des muscles lisses vasculaires engendrée par le stress ou le froid. Cette contraction, liée aux récepteurs α_2 post-synaptiques, entraîne un changement de couleur cutanée triphasique des zones touchées passant par la pâleur, la cyanose et l'érythème correspondant respectivement à des mécanismes ischémique, de

désoxygénation et de reperfusion (24,68). Chez nos patients, 4 présentaient un phénomène d'acrocyanose digitale et 3 présentaient un syndrome de Raynaud mais aucun ne présentait de nécrose cutanée. Ces symptômes liés au froid sont fréquemment mis en évidence dans d'autres études (25,43,58). Une anémie a été retrouvée chez les 4 patients atteints d'acrocyanose d'intensité mineure à sévère. Une hémolyse était associée dans 3 cas, le 4^{ème} n'ayant pas bénéficié d'un bilan d'hémolyse. 1 patient présentait à la fois une acrocyanose et un syndrome de Raynaud dans un contexte de carcinome prostatique associé à un LPL. Les 3 cas de syndrome de Raynaud étaient associés à une anémie d'intensité mineure à sévère dont 2 étaient hémolytiques. Aucun patient n'a été atteint de nécrose cutanée durant la période d'étude. Néanmoins 1 patient présentant des AF depuis 2001 avait dû subir une amputation d'un index en 2015 à la suite d'une nécrose cutanée dans le cadre d'un acrosyndrome. Cette amputation avait mené à la réalisation d'examen complémentaires qui avaient mis en évidence un LPL avec présence d'IgM kappa toujours retrouvées au moment de notre étude. En effet la nécrose cutanée est souvent associée à la présence d'hémopathies lymphoïdes comme les MGUS, le LPL, la LLC et les lymphomes non-hodgkiniens et nécessite donc la réalisation d'examen complémentaires à la recherche de ce type de pathologies (68). Parmi tous ces signes cliniques mis en évidence lors de la recherche d'AF, aucun n'était associé significativement ni au titre d'AF, ni à l'amplitude thermique des AF. Cette variabilité clinique a déjà été mise en évidence dans d'autres études (20,25).

33 patients étaient atteints d'anémie. Parmi les 48 recherches d'AF, 46 patients ont bénéficié d'une numération sanguine mettant en évidence un taux moyen d'hémoglobine de 9.8 g/dL. La répartition de la sévérité de ces anémies était équilibrée avec des anémies mineures (n=11), modérées (n=10) et sévères (n=12). Dans notre étude, il n'existait aucune association entre le titre d'AF ou l'amplitude thermique des AF et la présence d'une anémie ou la sévérité de cette dernière. Pour mettre en évidence la présence d'une hémolyse, un bilan biochimique avait été réalisé de façon concomitante à la recherche d'AF dans 35 cas. Ce bilan explorait le taux de LDH, de BNC et d'haptoglobine. Une numération sanguine était également réalisée permettant d'évaluer le taux d'hémoglobine définissant l'association à l'anémie. Ainsi 20 patients présentaient une hémolyse, dont 1 sans anémie associée. Les 19 autres cas d'hémolyse étaient associés à une anémie allant d'une sévérité mineure à modérée. Le taux moyen de LDH était de 529.5 UI/L, de BNC de 40.3 µmol/L et d'haptoglobine de 0.62 g/L. L'hémolyse n'était associée à un ictère cutanéomuqueux que dans 3 cas. Il n'existait aucune association significative entre le titre d'AF ou l'amplitude thermique d'AF et la présence d'une hémolyse. En effet les données de la littérature indiquent que la présence d'une hémolyse est multifactorielle et que le titre d'AF apparaît comme un élément important mais insuffisant pour déterminer de cette présence. En effet une hémolyse peut être retrouvée même avec des titres d'AF

faibles (72) surtout en cas d'amplitude thermique élevée (25). Nos résultats discordent avec la littérature concernant le lien entre amplitude thermique et présence d'hémolyse puisque nous retrouvons une association non significative entre les deux avec une valeur de p de 0.0680. Ce résultat peut s'expliquer par le faible nombre de patients présentant une hémolyse dans notre étude en comparaison à l'étude de Chandesris *et al.* (25) avec respectivement 41.7% et 70.7% des patients. A l'inverse certains des patients (n=7) présentaient une absence d'hémolyse malgré un titre d'AF élevé ≥ 64 et une forte amplitude thermique. Cette situation a déjà été précédemment décrite chez un patient présentant une AF de titre élevé et d'amplitude thermique élevé, suivi pendant plusieurs années et n'ayant jamais eu d'hémolyse (73). D'autres causes peuvent expliquer les discordances retrouvées dans notre étude entre l'hémolyse et le titre d'AF ou l'amplitude thermique. En effet, les paramètres dosés pour caractériser l'hémolyse peuvent être affectés par d'autres facteurs (5). La LDH est une enzyme cytoplasmique présente dans une grande partie des tissus mais surtout dans les cellules musculaires, hépatiques et rénales ainsi que dans les hématies. Son taux peut être normal en cas d'hémolyse légère ou d'hémolyse extravasculaire qui est prédominante dans les cAHA1 dues aux AF. A l'inverse il pourra augmenter en cas de septicémie, de lésion tissulaire, d'infarctus du myocarde, d'embolie, de cancer, d'hépatopathie ou de néphropathie (74). La bilirubine est issue de la dégradation de l'hème constituant l'hémoglobine lors de la dégradation des hématies. Elle est ensuite conjuguée dans les hépatocytes. Concernant la fraction non conjuguée de la bilirubine, son taux peut être augmenté dans les cas de dysérythropoïèse comme les thalassémies, les carences vitaminiques, les SMD, les déficits en enzymes érythrocytaires ou les infections bactériennes ou parasitaires. La bilirubine doit être conjuguée pour pouvoir être éliminée. Des défauts de conjugaison peuvent également entraîner l'augmentation du taux de BNC comme la maladie de Crigler-Najjar correspondant à un déficit partiel ou total de l'enzyme responsable de cette conjugaison (75). L'haptoglobine est une glycoprotéine sanguine synthétisée par les hépatocytes dont le rôle est de fixer l'hémoglobine extra-globulaire afin de favoriser son élimination par le système réticulo-endothélial (76). Son taux peut être abaissé en cas d'anémie mégalo-blastique, d'hépatopathie sévère, de déficit congénital ou dans certaines hémoglobinopathies comme la drépanocytose, l'hémoglobinose C ou les thalassémies. A l'inverse ce taux peut être augmenté en cas d'inflammation, de chirurgie, de brûlures, d'infections bactériennes ou parasitaires, de connectivites, ou de terrain malin (77). La majorité des patients de l'étude présentait diverses pathologies inflammatoires, infectieuses, auto-immunes ou malignes, ce qui pouvait donc entraîner des interférences dans le bilan d'hémolyse. Cela pourrait expliquer les cas d'hémolyse malgré un titre et une amplitude thermique d'AF faibles, et les cas d'absence d'hémolyse malgré un titre et/ou une amplitude thermique d'AF forts. De plus il a été mis en évidence que seuls les patients atteints d'hémopathies malignes présentaient significativement plus d'anémie et plus d'hémolyse avec des anémies plus volontiers d'intensité modérée à sévère. Ces

associations étaient non-significatives dans les autres catégories de pathologies. Ces résultats doivent être interprétés avec prudence puisque seulement moins de 10% des patients au sein de chaque catégorie ne présentaient qu'une pathologie. Tous les autres patients étaient donc atteints d'au moins 2 pathologies associées. De multiples facteurs autres que les AF pouvaient ainsi entrer en compte et initier ou majorer l'anémie et l'hémolyse comme la pathologie sous-jacente notamment les hémopathies ou les néoplasies connues pour être source d'anémie ou les traitements de chimiothérapie (78). A l'inverse, de nombreux patients avaient bénéficié d'un traitement de support pour la prise en charge de leur anémie, notamment des transfusions, ce qui peut minimiser les taux d'hémoglobine.

4.3. Etiologies

La CAD est une pathologie rare où la production d'AF est primaire (21). A l'inverse, des AF peuvent être produites de façon secondaire du fait d'une autre pathologie sous-jacente. Il s'agit alors d'un CAS (15). Dans notre étude, les patients ont été classés en CAD lorsqu'il n'existait aucune autre pathologie sous-jacente pouvant être à l'origine de la production d'AF. Les autres patients présentant au moins une pathologie associée connue pour être à l'origine de production d'AF étaient donc classés en CAS.

2 patients étaient atteints de CAD diagnostiquée en 2010 et 2022. Tous présentaient un EDA positif isolément en C3d, ce qui est cohérent avec la littérature (4). Le patient diagnostiqué en 2010 n'avait pas bénéficié de nouveaux examens complémentaires au moment de la recherche d'AF réalisée pendant cette étude. Il souffrait d'anémie sévère sans hémolyse malgré une AF de titre élevé à 256 et une forte amplitude thermique. Au moment de la recherche d'AF, ce patient présentait une infection pulmonaire associée pouvant éventuellement majorer sa production d'AF sans en être pour autant la cause initiale. Le patient diagnostiqué en 2022 présentait un myélogramme sans anomalie et sans infiltrat pathologique décelable. L'immunophénotypage médullaire associé mettait en évidence une absence de population lymphocytaire B monoclonale et un déséquilibre des populations lymphocytaires T en faveur de la sous-population T CD8. La biopsie ostéo-médullaire présentait une moelle ne renfermant pas d'infiltrat cellulaire atypique. La recherche génétique de mutation MYD88 L265P était négative. Ce patient ne présentait qu'une schizophrénie associée. Il souffrait d'anémie hémolytique de sévérité modérée associée à une hépato-splénomégalie. Son titre d'AF était de 64 avec une amplitude thermique faible. La CAD est désormais classée comme une entité à part entière parmi les syndromes lymphoprolifératifs B matures (22) dans la catégorie des tumeurs plasmocytaires et autres maladies présentant des paraprotéines (21). Elle est décrite comme une prolifération lymphoïde clonale B ne répondant pas aux critères d'un autre lymphome B. L'incidence rare, estimée entre 1 et 1.8 par million, explique le faible nombre de patients diagnostiqués avec un CAD dans notre

étude. De plus une prévalence jusqu'à quatre fois plus importante dans les pays froids a été décrite (20) ce qui peut également expliquer la faible représentation de cette pathologie au CHU de Montpellier. Nos patients ne présentaient pas d'infiltrat lymphoïde atypique dans la moelle osseuse. Néanmoins ce genre d'infiltrat a déjà été décrit dans la CAD avec un immunophénotypage révélant la présence de cellules lymphoïdes B exprimant CD19, CD20, CD22, CD79b, FMC7, CD27 et principalement des Ig kappa à chaînes légères. Le CD5 peut être exprimé dans presque la moitié des cas et, occasionnellement, il existe une expression de CD11c et CD25 (19).

Il est important de différencier la CAD des autres syndromes lymphoprolifératifs comme le LPL ou le LZM avec lesquels elle est souvent confondue. Des anomalies récurrentes ont été mises en évidence dans la CAD comme des trisomies des chromosomes 3, 12 et 18 et des mutations de KMT2D et CARD11 (79,80). Toutefois des trisomies des chromosomes 3 et 18 sont fréquemment retrouvées dans le LZM (21) et l'immunophénotypage est plutôt similaire à celui de la CAD avec quelques différences comme l'absence d'expression de CD5 dans le LZM qui peut être positif dans la moitié des cas de CAD. Dans le LPL, des IgM kappa monoclonales avec un infiltrat lymphoïde sont également fréquemment retrouvées. En immunophénotypage, les lymphocytes du LPL expriment CD20, CD27 et peuvent exprimer CD5. Des plasmocytes sont également retrouvés qui expriment CD20, CD38 et CD138 contrairement à la CAD où les plasmocytes n'expriment généralement pas CD20 (19). De plus, la mutation MYD88 L265P est décrite comme absente dans le cas des CAD (22) contrairement au LPL où cette mutation est retrouvée dans plus de 90% des cas (81,82). Cette mutation peut également être retrouvée dans presque 10 à 15% des cas de LZM (21,83). Dans notre étude, 3 patients étaient atteints de LPL, 2 de LZM et 2 de MGUS à IgM. Plusieurs patients ont pu bénéficier d'une recherche de cette mutation MYD88 L265P : 1 patient atteint de CAD dont le résultat était négatif, 2 patients atteints de LPL dont les résultats étaient positifs, 1 patient atteint de LZM dont le résultat était négatif. Aucun des patients atteints de MGUS à IgM n'a bénéficié de cette recherche de mutation. Ainsi des examens complémentaires sont indispensables pour différencier ces pathologies : réalisation d'un myélogramme et/ou d'une biopsie ostéo-médullaire, d'un immunophénotypage lymphocytaire et/ou plasmocytaire, d'une recherche de mutations ou d'anomalies génétiques.

Une recherche de cryoglobuline a été effectuée chez 17 patients dont 3 qui présentaient une cryoglobuline de type II IgM-IgG. Les cryoglobulines sont des immunoglobulines ayant la capacité de précipiter à faible température dans le sérum contrairement aux AF qui sont des anticorps anti-érythrocytaires à l'origine d'une hémagglutination à froid. Elles sont classées en 3 types selon les composants du cryoprécipité. Le type I correspond à des IgM ou IgG monoclonales isolées tandis que le type II et le type III sont appelées cryoglobulines mixtes puisque composées par des complexes immuns d'IgM respectivement monoclonales ou polyclonales ayant une activité de facteur rhumatoïde

et liant les immunoglobulines polyclonales généralement de type IgG (84,85). Il est important de ne pas confondre les AF avec les cryoglobulines. Les manifestations cliniques permettent notamment cette différenciation. En effet, en cas de cryoglobulinémie, un purpura vasculaire est classiquement retrouvé avec une apparition de pétéchies, d'un syndrome de Raynaud, d'urticaire au froid et de manifestations articulaires (85). Toutefois certains patients présentent, de façon exceptionnelle, une association d'une cryoglobuline et d'une AF (86,87). Parmi nos 3 patients présentant une AF et une cryoglobulinémie, 1 patient présentait un LAIT associé à une contexte infectieux multiple (infection VHB, infection urinaire et MNI à EBV), 1 patient présentait une LMMC associée à un syndrome de Gougerot-Sjögren, un syndrome d'Evans et un contexte infectieux multiple (infections digestive, pulmonaire et urinaire), et 1 patient présentait un adénocarcinome pulmonaire associé à une sarcoïdose. Ces différentes étiologies ont déjà été décrites comme pouvant être associées à une cryoglobulinémie. La CAD constitue également une de ces étiologies (84,88). La clinique liée à la présence de cryoglobuline diffère de celle liée à la présence d'AF avec notamment la présence d'arthralgies, d'une atteinte neurologique de type neuropathie périphérique sensitive ou sensitivo-motrice et/ou d'une atteinte rénale. Toutefois des signes cliniques similaires peuvent être retrouvés comme des atteintes cutanées de type acrosyndrome, livedo voire nécrose cutanée ou la présence d'une hématurie (31,88). Il est donc important de ne pas confondre ces deux entités bien différentes qui peuvent néanmoins co-exister dans de rares cas.

La majorité des patients de notre étude présentait une pathologie associée à la présence d'AF. Ainsi 15 patients étaient atteints d'une hémopathie maligne, 12 d'une néoplasie, 17 d'une maladie auto-immune, 19 d'une infection et 15 d'une autre pathologie n'appartenant pas aux catégories précédentes. Ces pathologies ont déjà été décrites comme responsables de CAS (12,25). Les AF associées pouvaient être de titre et d'amplitude thermique faibles comme élevés. En s'intéressant à chaque catégorie, il a été mis en évidence que les hémopathies malignes retrouvées étaient principalement des syndromes lymphoprolifératifs B (n=13) ou T (n=2) mais quelques autres cas ont été mis en évidence dont 1 cas de SMD, 1 cas de LMMC appartenant à la catégorie des formes frontières SMD/SMP (Syndromes myéloprolifératifs) et 1 cas de LAM à t(8;21). Les lymphomes sont décrits comme associés à la présence d'AF depuis longtemps (59). De rares cas de leucémies aiguës ont été mis en évidence mais ils concernaient plutôt des cas de leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) plutôt que des LAM (89,90). Les cas de SMD associés aux AF ont également déjà été décrits (91,92).

Parmi les 12 patients atteints de néoplasies, 5 adénocarcinomes pulmonaires ont été mis en évidence. Les patients présentaient également d'autres néoplasies. 1 patiente présentait des lésions vaginales positives à Papillomavirus (HPV) de bas grade correspondant à un état pré-cancéreux. Les cas de

néoplasies associées aux AF sont plutôt rares avec notamment des cas de carcinome hépatocellulaire (93) ou de sarcome utérin (94) non-retrouvés dans notre étude. Néanmoins, il est difficile de mettre en lien la présence de ces néoplasies avec la production d'AF puisque seulement 2 patients présentaient une néoplasie isolée sans autre pathologie associée.

17 patients présentaient une maladie auto-immune associée aux AF. L'association des maladies auto-immunes avec les AHAI est connue (95). S'agissant des cAHA et plus précisément celles dues aux AF, le LES est l'étiologie auto-immune la plus souvent décrite (96,97). Néanmoins, dans notre étude, il existait une grande variabilité d'étiologies auto-immunes dont certaines étaient déjà décrites en association aux AF dans de rares cas comme le SAPL (98) ou l'hypothyroïdie d'origine auto-immune (99).

19 patients présentaient un contexte infectieux au moment de la recherche d'AF. La majorité de ces infections étaient d'origine bactérienne avec seulement 3 cas d'infections virales. Beaucoup d'infections étaient polymicrobiennes et souvent non-documentées avec seulement 5 patients présentant une infection avec un agent pathogène documenté : pneumopathie à *C. pneumoniae* et *M. pneumoniae*, pneumopathie atypique à *M. pneumoniae*, tuberculose à *Mycobacterium tuberculosis*, infection au Sars-Cov-2 et mononucléose infectieuse à EBV associée à une infection à VHB. Habituellement les infections à *M. pneumoniae* entraînent la production d'AF de spécificité anti-I tandis que les AF produites lors d'infections à EBV sont plus volontiers de spécificité anti-i (24). Dans notre étude nous n'avions que 2 cas de pneumopathies atypiques à *M. pneumoniae* et 1 cas de mononucléose infectieuse à EBV et bien que la spécificité n'ait pas été rendue, ces cas correspondaient aux données de la littérature avec des titrages d'AF réalisés respectivement sur des hématies OI et Oi. Les infections à *C. pneumoniae* peuvent être associées aux AF (12) et dans notre cas le patient présentait une co-infection à *C. pneumoniae* et *M. pneumoniae* qui est un agent pathogène également connu pour s'accompagner très fréquemment de production d'AF (100,101). L'association du VHB avec les AF ne semble pas avoir été décrit. Néanmoins notre patient présentait une co-infection à VHB et EBV ainsi qu'une infection urinaire. L'infection à EBV pourrait donc expliquer plus volontiers la présence d'AF que l'infection à VHB. Des cas d'AF compliquant des infections au Sars-Cov-2 ont déjà été décrites et leur mise en évidence a été jugée capitale dans la prise en charge de ces patients présentant souvent des défaillances multi-organes nécessitant des prises en charge adaptées aux AF comme la mise en place de réchauffement de circuit de dialyse (102). Notre patient présentait un AVC de façon concomitante à son infection au Sars-Cov-2 et un cas similaire a été rapporté récemment avec un patient décédé à la suite d'un AVC et de caillots sanguins localisés dans les membres supérieurs lors d'une infection au Sars-Cov-2 avec présence d'AF (103). Un patient était atteint d'une tuberculose latente dans un contexte de cancer urothélial traité par chimiothérapie. D'autres cas similaires ont été

rapportés avec parfois des titres d'AF très importants jusqu'à 2048 contrairement à notre cas qui présentait un titre faible de seulement 4 mais de forte amplitude thermique (104,105). Parmi les autres patients présentant des infections polymicrobiennes et/ou non-documentées, seul 1 patient ne présentait aucune autre étiologie pouvant expliquer la présence d'AF. Ce patient était atteint d'une infection pulmonaire retrouvée à l'occasion d'un bilan pré-opératoire d'une chirurgie cardiothoracique programmée. Les AF sont souvent associées à des infections virales avec notamment les infections au VIH, parvovirus B19, cytomégalovirus (CMV), virus de la rubéole ou virus varicelle-zona (VZV). Certaines infections bactériennes peuvent également être associées aux AF comme *M. pneumoniae*, plusieurs espèces de *Chlamydia* (*C. pneumoniae*, *C. psittaci*), *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes* ou même *Escherichia coli* (12,24).

7 patients présentaient un épisode thrombo-embolique veineux ou artériel. Ces incidents sont survenus de façon concomitante à la découverte d'une AF. Une étude a récemment démontré que le risque d'épisode thrombo-embolique était accru chez les patients atteints de CAD (106). Dans notre étude les patients présentant ce type d'incident étaient tous affectés par une autre pathologie et n'étaient donc pas atteints de CAD mais de CAS. La présence d'AF a donc pu jouer un rôle dans la survenue de ces épisodes. Néanmoins nous n'avons pas étudié la survenue de ces épisodes après la prescription de recherche d'AF ce qui ne nous permet pas de confirmer le risque thrombo-embolique accru chez les patients atteints de CAS. De plus les patients présentaient des pathologies sous-jacentes ou des thérapeutiques comme des chimiothérapies pouvant également être à l'origine de ce type d'incidents. La présence d'AF n'était donc pas le seul facteur de risque thrombo-embolique mais pouvait constituer un facteur de risque supplémentaire.

Un patient présentait une bêta-thalassémie mineure associée à une embolie pulmonaire (EP) et une thrombose veineuse profonde (TVP) dans un contexte de suspicion de vascularite en cours de diagnostic. La bêta-thalassémie est une hémoglobinopathie non-décrite comme favorisant la production d'AF. En revanche, des AF ont déjà été mises en évidence chez des patients souffrant de bêta-thalassémie et cela peut entraîner des perturbations importantes des paramètres érythrocytaires. Également certaines anomalies peuvent être difficiles à mettre en évidence du fait de la coexistence des deux pathologies comme la présence d'agglutinats érythrocytaires qui pourrait passer inaperçue lors de la numération sanguine sur automate du fait du faible VGM classiquement décrit dans les thalassémies (107). Une certaine prudence doit donc être de mise lors de l'interprétation biologique de cas de pathologies érythrocytaires associées à la présence d'AF. Si la bêta-thalassémie n'a pas été décrite comme pouvant entraîner la production d'AF, d'autres mécanismes pourraient classer cette pathologie comme un facteur de risque. En effet, des cas d'association de drépanocytose et d'AF ont déjà été décrits et cette hémoglobinopathie pourrait être

à l'origine d'une surexpression des antigènes érythrocytaires I/i, cible des AF produites à la suite d'une infection à *M. pneumoniae* par exemple (108). Un tel mécanisme pourrait être envisagé dans la bêta-thalassémie également.

Un patient était atteint de DICV associé à une LLC et une infection pulmonaire compliquée d'un sepsis. Bien que le DICV ne constitue pas la seule pathologie sous-jacente chez ce patient, il s'agit d'une pathologie connue pour être associée à une AHAI dans près de 5% des cas (109).

Un patient avait subi 3 transplantations rénales dans un contexte de maladie de Berger, une glomérulonéphrite aussi appelée néphropathie à IgA, associé à un cancer cutané et une infection articulaire compliquée d'un sepsis. D'autres cas d'AF ont été décrits chez des patients transplantés rénaux mais ceux-ci souffraient tous d'une réactivation d'un Herpès Simplex Virus (HSV) suite à la greffe (110). Les AF retrouvées chez notre patient semblent donc plus en lien avec son contexte complexe de cancer, de maladie auto-immune et d'infection qu'à ses transplantations rénales. En revanche la présence d'AF chez un transplanté rénal reste une question importante surtout en cas de nouvelle greffe puisqu'il a été mis en évidence des risques de complications nécessitant une dialyse, et pouvant aller jusqu'au rejet de greffe, chez ces patients en raison du temps d'ischémie froide (111,112).

Un patient présentait une maladie de Parkinson et 2 étaient atteints de schizophrénie. La maladie de Parkinson n'a pas été décrite jusqu'à maintenant comme associée aux AF et dans notre étude il est difficile de la mettre directement en lien avec les AF du fait de la coexistence d'un cancer urothélial traité par chimiothérapie, d'une neuropathie sensitive démyélinisantes des membres inférieurs, d'une tuberculose et d'un sepsis chez notre patient. Concernant la schizophrénie en revanche, son association avec les AF a déjà été mise en évidence et ne semblait pas due aux traitements pharmacologiques (113). Chez ces 2 patients schizophrènes, il n'existait aucune autre pathologie associée.

Un syndrome d'activation macrophagique (SAM) a été retrouvé chez 2 patients atteints de DLBCL, l'un de façon associée à un adénocarcinome pulmonaire et une infection pulmonaire, et l'autre de façon associée à un sepsis. Le SAM constitue une pathologie grave, souvent mortelle, pouvant être associée à la présence d'AF. Toutefois le SAM est le plus souvent une complication d'une autre pathologie comme l'activation ou la réactivation d'un virus (114,115). L'infection virale semble plutôt être la cause de la production d'AF et du SAM. Dans notre étude nos patients présentaient des contextes infectieux mais aucune infection virale. En revanche ils étaient atteints de DLBCL qui est connu pour pouvoir engendrer la production d'AF (116) mais également la survenue de SAM (117).

Une patiente ayant subi une interruption volontaire de grossesse (IVG) présentait des AF de faible titre et de faible amplitude thermique. Aucune publication ne semble décrire actuellement l'IVG ou les thérapeutiques utilisées dans le cadre d'un IVG médicamenteux comme potentiels facteurs de risques de développer des AF. De rares cas d'avortements prématurés spontanés ont été rapportés sans qu'aucun lien ne soit établi entre les deux (118).

Deux patients atteints de LES ont effectué un arrêt brutal de leur corticothérapie au moment de la recherche d'AF. Les corticoïdes ne sont pas recommandés dans la prise en charge de la cAHAI contrairement à celle de la wAHAI en raison de leur inefficacité (5). Ainsi cet arrêt brutal de leur corticothérapie a pu déséquilibrer leur LES et entraîner ou majorer la production secondaire d'AF. Mais cet arrêt n'a pas de lien direct avec la présence d'AF puisque les corticoïdes n'empêchent pas directement leur production.

Enfin un patient était atteint de cholangite immuno-induite au Nivolumab dans un contexte d'adénocarcinome pulmonaire associé à une hypothyroïdie auto-immune et une pneumopathie co-infectée à *C. pneumoniae* et *M. pneumoniae*. Si le contexte de ce patient suffit déjà à expliquer la présence d'AF, le Nivolumab apparaît comme une potentielle cause supplémentaire. En effet il s'agit d'un anticorps monoclonal utilisé notamment dans le traitement des carcinomes pulmonaire, urothélial, rénal ou du mélanome métastatique qui est déjà connu comme pouvant être à l'origine de cholangite immuno-induite et d'AF (119).

Toutes ces pathologies sous-jacentes, bien que parfois connues pour être associées aux AF, sont difficiles à mettre en lien direct. En effet, les titres d'AF et leurs amplitudes thermiques étaient très hétérogènes chez les patients contrairement aux données de la littérature qui mettent en évidence des AF polyclonales de faible titre et faible amplitude thermique dans les CAS et des AF monoclonales de titre élevé et de forte amplitude thermique dans les CAD (11,19). De plus, la majorité des patients présentaient au moins 2 pathologies associées, ce qui complexifie la mise en évidence d'un lien direct entre une pathologie précise et la présence d'AF. Dans chaque catégorie de pathologies étudiée ici, moins de 10% des patients présentaient une pathologie appartenant à la catégorie de façon isolée.

4.4. Prise en charge

Concernant la prise en charge des patients, elle dépendait de l'origine des AF. En effet quand une pathologie sous-jacente était la cause d'un CAS, le traitement reposait principalement sur la prise en charge de cette pathologie. Ainsi les corticoïdes, malgré le fait qu'ils ne soient pas recommandés dans la prise en charge des cAHAI (5), étaient souvent prescrits pour prendre en charge d'autres pathologies sous-jacentes. Les deux cas de CAD ont été pris en charge respectivement par la mise en place de Rituximab et l'abstention thérapeutique comme ce qui est recommandé (4). Dans ce dernier

cas, la mise en place de Rituximab plus ou moins associé à de la Bendamustine était conseillée en cas de majoration de l'AHAI.

Un grand nombre de patients ont bénéficié d'un traitement de support notamment des transfusions de CGR et une supplémentation en folates. Ces traitements sont souvent mis en place pour pallier à l'anémie (4,11). Du fait de la capacité d'hémagglutination à froid des AF, il est important de rester prudent lors des transfusions notamment lors de la réalisation du test ultime au lit du patient avant transfusion qui peut entraîner des faux positifs (120). Pour prévenir une hémolyse aiguë lors de la transfusion, il est également recommandé de réchauffer les poches transfusées (15,18). Une supplémentation en fer a été instaurée chez 2 patients. En effet, il peut exister une carence en fer du fait de l'hémolyse intravasculaire entraînant une perte rénale de fer (4) mais la supplémentation systématique n'est pas recommandée car, au contraire, l'hémolyse extravasculaire peut entraîner une hyperferritinémie. Une plasmaphérèse a été effectuée chez 2 patients et préconisée chez un patient en cas de majoration de l'anémie. Cette procédure a déjà montrée son efficacité en cas d'exacerbations aiguës et de titre d'AF élevé (121) ce qui était le cas de nos 2 patients qui présentaient un titre d'AF de 2048 associé dans un des cas à une acrocyanose.

4.5. Conclusions rendues lors de la recherche d'agglutinines froides à l'EFS

La procédure à l'EFS Occitanie indique 3 codes de rendus de résultats possibles : « - », « + » et « ++ » correspondant respectivement à l'absence d'AF, la présence d'AF non en faveur d'une AHAI du fait d'une faible amplitude thermique associé à un titre faible, et la présence d'AF en faveur d'une AHAI du fait d'une forte amplitude thermique associée à un titre élevé. Au regard de notre étude et des données de la littérature, il semble important de nuancer ces conclusions rendues. En effet, il peut arriver d'observer des discordances entre l'amplitude thermique et le titre d'AF et, dans ces cas-là, l'amplitude thermique apparaît comme un meilleur indicateur de la capacité hémolytique des AF que le titre (20,25). Dans notre étude nous avons mis en évidence une association significative entre ces deux paramètres mais nous observons toutefois quelques discordances. Nous avons également observé que ni l'amplitude thermique ni le titre d'AF n'étaient associés significativement à la présence d'une anémie, la sévérité de cette dernière ou la présence d'une hémolyse. Ces données sont toutefois à nuancer du fait du faible nombre de patients inclus au CHU de Montpellier. Le titre seuil de 64 est utilisé comme critère de diagnostic de la CAD (12). En Occitanie nous utilisons le seuil de 32 et ce seuil pourrait être modifié pour mieux correspondre aux données de la littérature.

Certaines régions annulent la recherche d'AF en cas d'EDA négatif en C3d. Néanmoins notre étude a mis en évidence la présence d'AF malgré des EDA positifs en IgG isolément ou même négatifs. Nous avons majoritairement des patients atteints de CAS donc il est difficile de nous comparer à des études

incluant uniquement des patients atteints de CAD ou présentant obligatoirement un EDA positif en C3d (20,25). Même si l'EDA apparaît comme un bon test, il est important de garder à l'esprit qu'il ne suffit pas à exclure la présence d'AF surtout en cas de symptômes cliniques d'AHAI associés.

De nombreux services prescrivent la recherche d'AF à l'EFS Occitanie et pourtant nous avons remarqué que certains services prescrivaient souvent cet acte biologique malgré des résultats majoritairement négatifs. Les services de dermatologie en font partie ce qui s'explique notamment par la nécessité de diagnostic différentiel lors d'atteintes cutanées pouvant évoquer des AF comme nous l'avons vu. Parmi les services les plus prescripteurs il y a les services d'hématologie et de médecine interne ce qui semble cohérent vis-à-vis des nombreux CAS engendrés par des pathologies malignes, auto-immunes ou infectieuses.

4.6. Limites et perspectives

Notre étude est rétrospective ce qui implique un certains nombres d'inconvénients. En effet les patients n'ont pas bénéficié des mêmes examens clinico-biologiques ce qui les rend plus difficilement comparables. De plus, notre étude est construite en partant des recherches d'AF réalisées à l'EFS Occitanie ce qui implique que certains patients étaient atteints de CAD ou de CAS depuis plusieurs années et parfois déjà traités. Dans ces cas-là certains examens avaient été réalisés avant 2019 lors du diagnostic et n'ont donc pas pu être pris en compte dans l'étude. Les retentissements cliniques pouvaient également être différents du fait de la prise en charge déjà effectuée chez les patients. Également, les dossiers cliniques n'ont été étudiés que pour les patients hospitalisés au CHU de Montpellier du fait du manque d'accès aux dossiers des autres centres. Une étude prospective permettrait d'harmoniser les éléments recherchés chez les patients lors de la découverte d'AF : questionnaire clinique, liste d'examens biologiques à réaliser ou à rajouter en cas d'anomalies, connaissance des antécédents médicaux et des traitements des patients.

Concernant nos critères d'inclusions, nous avons inclus tous les patients ayant bénéficié d'une recherche d'AF réalisée à l'EFS Occitanie sur la période d'étude et nous nous sommes intéressés à ceux dont la recherche était positive. Ainsi les patients pouvaient être atteints de CAD ou de CAS ou présenter un léger taux d'AF « physiologiques » sans retentissement clinique. Cela a permis d'avoir une vue d'ensemble des cas de présence d'AF. L'âge des patients n'a pas été un facteur d'exclusion de notre étude, ce qui a également permis de confirmer la présence d'AF principalement chez les sujets âgés, sans biais concernant la population pédiatrique. Les patients atteints d'autres AHAI ou au contraire ne présentant aucune AHAI n'ont pas été exclus de l'étude. Ainsi nous avons pu étudier les AF y compris chez les patients sans aucun signe d'AHAI.

Les effectifs de l'étude sont discutables notamment concernant l'étude clinico-biologique des patients du CHU de Montpellier limitée à 48 patients dont seulement 2 atteints de CAD. Nos statistiques nous amènent donc à des conclusions prudentes.

Depuis le 12 décembre 2019, le Registre CADENCE (122), une étude prospective, multi-centrique et internationale a lieu pour une durée prévisionnelle de 6 ans afin d'étudier les patients atteints de CAD et de CAS. Cette étude prévoit un recrutement de 400 patients ayant reçu un de ces diagnostics à l'exclusion des patients atteints d'AHAI mixte ou chaude.

5. Conclusion

Les AF sont des auto-anticorps érythrocytaires pouvant être retrouvés dans des cas très divers, le plus souvent chez des patients âgés. Leur impact clinique dépend de plusieurs facteurs notamment l'amplitude thermique témoignant d'une capacité hémolytique à température ambiante bien plus dangereuse que si elle se limitait à 4°C. Les manifestations cliniques sont très variées allant de l'anémie mineure voir l'absence d'anémie, à l'anémie sévère associée à une hémolyse. Les cas d'acrosyndromes sont plus rares mais peuvent mener à des tableaux catastrophiques évoluant jusqu'à la nécrose cutanée nécessitant une amputation. La probabilité d'aboutir à ce genre de tableau augmente lors du cumul de différents facteurs : titre d'AF élevé, forte amplitude thermique, exposition au froid ou encore absence de traitement des pathologies sous-jacentes à l'origine d'un CAS. Il reste donc difficile d'établir un titre d'AF seuil déterminant de la pathogénicité de ses dernières puisque les retentissements cliniques sont multifactoriels. Si les manifestations cliniques sont variées, il en est de même pour les étiologies à l'origine de cette présence d'AF. En effet la CAD est désormais une entité bien définie correspondant à un syndrome lymphoprolifératif B distinct des autres hémopathies productrices d'IgM monoclonales comme le LPL ou le MGUS à IgM. De nombreuses pathologies différentes peuvent entraîner la production d'AF et sont à l'origine de CAS. De ce fait il est indispensable de pratiquer des examens complémentaires approfondis lors de la mise en évidence d'AF chez un patient afin de rechercher la présence d'hémopathies malignes, d'infections, de maladies auto-immunes ou de néoplasies. D'autres cas plus anecdotiques peuvent également entraîner la production d'AF et il est donc nécessaire de s'assurer de l'absence de cause sous-jacente avant d'étiqueter une CAD. Les causes iatrogènes, bien que plus souvent associées à la production d'auto-anticorps chauds, peuvent parfois expliquer la production d'AF. La prise en charge des patients atteints d'AF est entièrement conditionnée par la bonne classification de la pathologie en CAD ou CAS. Ainsi la production d'AF dans le CAS sera dépendante du bon traitement de la pathologie causale ou de l'arrêt du traitement causal en cas d'iatrogénie. Tandis que la CAD sera prise en charge de façon graduelle avec prioritairement une abstention thérapeutique associée à une éducation thérapeutique du patient

vis-à-vis de la protection au froid. Avec toutes ses informations il est donc primordial de rester prudent lors de l'interprétation clinico-biologique de la présence d'AF et les discussions entre biologiste et clinicien sont indispensables afin de bien différencier la présence d'AF transitoires non-pathologiques de celle d'AF pathologiques produites par une hémopathie maligne désormais mieux définie. De multiples facteurs doivent être pris en considération, non pas individuellement mais de façon globale afin de pouvoir prédire au mieux de la pathogénicité des AF mises en évidence. Ainsi, il ressort que la présence d'AF est difficile à corréler aux manifestations cliniques qui sont extrêmement variables pour chaque patient. L'intérêt principal reste donc de prescrire la recherche d'AF en cas de signes cliniques évocateurs non-expliqués par d'autres pathologies, à la recherche d'une CAD qui reste une pathologie très rare.

6. Bibliographie

1. Dugdale M. Anemia. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1 juin 2001;28(2):363-82.
2. DeRossi SS, Raghavendra S. Anemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 1 févr 2003;95(2):131-41.
3. Turner J, Parsi M, Badireddy M. Anemia. In: *StatPearls [Internet].* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cité 18 août 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499994/>
4. Jäger U, Barcellini W, Broome CM, Gertz MA, Hill A, Hill QA, et al. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting. *Blood Rev.* 1 mai 2020;41:100648.
5. Allard S, Hill QA. Autoimmune haemolytic anaemia. *ISBT Sci Ser.* 2016;11(S1):85-92.
6. Berentsen S, Barcellini W. Autoimmune Hemolytic Anemias. *N Engl J Med.* 7 oct 2021;385(15):1407-19.
7. Barcellini W, Fattizzo B. How I treat warm autoimmune hemolytic anemia. *Blood.* 11 mars 2021;137(10):1283-94.
8. Berentsen S. New Insights in the Pathogenesis and Therapy of Cold Agglutinin-Mediated Autoimmune Hemolytic Anemia. *Front Immunol [Internet].* 2020 [cité 20 févr 2023];11. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.00590>
9. Radonjić Z, Andrić B, Šerbić O, Mičić D, Kuzmanović M, Jovanović-Srzentić S, et al. A rare case report of autoimmune haemolytic anemia in a female child due to a Donath-Landsteiner antibody. *Transfus Clin Biol.* 1 avr 2020;27(2):83-6.
10. Berentsen S, D'Sa S, Randen U, Małecka A, Vos JMI. Cold Agglutinin Disease: Improved Understanding of Pathogenesis Helps Define Targets for Therapy. *Hemato.* déc 2022;3(4):574-94.
11. Gabbard AP, Booth GS. Cold Agglutinin Disease. *Clin Hematol Int.* 17 juill 2020;2(3):95-100.
12. Berentsen S, Tjønnfjord GE. Diagnosis and treatment of cold agglutinin mediated autoimmune hemolytic anemia. *Blood Rev.* 1 mai 2012;26(3):107-15.
13. König AL, Schabel A, Sugg U, Brand U, Roelcke D. Autoimmune hemolytic anemia caused by IgG λ -monotypic cold agglutinins of anti-Pr specificity after rubella infection. *Transfusion (Paris).* 2001;41(4):488-92.
14. Roelcke D, Kreft H. Characterization of various anti-Pr cold agglutinins. *Transfusion (Paris).* 1984;24(3):210-3.
15. Gertz MA. Cold Hemolytic Syndrome. *Hematology.* 1 janv 2006;2006(1):19-23.
16. Jaffe C, Atkinson J, Frank M. The role of complement in the clearance of cold agglutinin sensitized erythrocytes in man. *J Clin Invest.* 1 nov 1976;58(4):942-9.
17. Garratty G. The James Blundell Award Lecture 2007: Do we really understand immune red cell destruction? *Transfus Med.* 2008;18(6):321-34.

18. Swiecicki PL, Hegerova LT, Gertz MA. Cold agglutinin disease. *Blood*. 15 août 2013;122(7):1114-21.
19. Randen U, Trøen G, Tierens A, Steen C, Warsame A, Beiske K, et al. Primary cold agglutinin-associated lymphoproliferative disease: a B-cell lymphoma of the bone marrow distinct from lymphoplasmacytic lymphoma. *Haematologica*. mars 2014;99(3):497-504.
20. Berentsen S, Barcellini W, D'Sa S, Randen U, Tvedt THA, Fattizzo B, et al. Cold agglutinin disease revisited: a multinational, observational study of 232 patients. *Blood*. 23 juill 2020;136(4):480-8.
21. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, Attygalle AD, Araujo IB de O, Berti E, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. juill 2022;36(7):1720-48.
22. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Anderson KC, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee | *Blood* | American Society of Hematology. *Blood Rev*. 15 sept 2022;1229-53.
23. Ulvestad E, Berentsen S, Bø K, Shammass FV. Clinical immunology of chronic cold agglutinin disease. *Eur J Haematol*. 1999;63(4):259-66.
24. McNicholl FP. Clinical syndromes associated with cold agglutinins. *Transfus Sci*. 1 févr 2000;22(1):125-33.
25. Chandesris MO, Schleinitz N, Ferrera V, Bernit E, Mazodier K, Gayet S, et al. Agglutinines froides, circonstances de découverte chez l'adulte et signification en pratique clinique : analyse rétrospective à propos de 58 patients. *Rev Médecine Interne*. 1 déc 2004;25(12):856-65.
26. Hill QA, Stamps R, Massey E, Grainger JD, Provan D, Hill A, et al. The diagnosis and management of primary autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol*. 2017;176(3):395-411.
27. Ercan Ş, Çalışkan M, Koptur E. 70-year old female patient with mismatch between hematocrit and hemoglobin values: the effects of cold agglutinin on complete blood count. *Biochem Medica*. 15 oct 2014;24(3):391-5.
28. Lamarque M, Michel M. La maladie des agglutinines froides : spectre clinicobiologique et données d'une étude rétrospective multicentrique française portant sur soixante-neuf patients. *Hématologie*. 1 nov 2017;23(6):366-78.
29. Petz LD. Cold antibody autoimmune hemolytic anemias. *Blood Rev*. 1 janv 2008;22(1):1-15.
30. Berentsen S. How I manage cold agglutinin disease. *Br J Haematol*. 2011;153(3):309-17.
31. Wilen CB, Booth GS, Grossman BJ, Lane WJ, Szklarski PC, Jackups Jr. R. Using direct antiglobulin test results to reduce unnecessary cold agglutinin testing. *Transfusion (Paris)*. 2017;57(6):1480-4.
32. Bendix BJ, Tauscher CD, Bryant SC, Stubbs JR, Jacob EK. Defining a reference range for cold agglutinin titers. *Transfusion (Paris)*. 2014;54(5):1294-7.
33. Gabbard AP, Booth GS. Cold Agglutinin Disease. *Clin Hematol Int*. 17 juill 2020;2(3):95-100.

34. Vaglio S, Arista MC, Perrone MP, Tomei G, Testi AM, Coluzzi S, et al. Autoimmune hemolytic anemia in childhood: serologic features in 100 cases. *Transfusion (Paris)*. 2007;47(1):50-4.
35. Dacie SJ, Haematology EP of. The immune haemolytic anaemias: a century of exciting progress in understanding. *Br J Haematol*. 2001;114(4):770-85.
36. Hill QA, Stamps R, Massey E, Grainger JD, Provan D, Hill A, et al. Guidelines on the management of drug-induced immune and secondary autoimmune, haemolytic anaemia. *Br J Haematol*. 2017;177(2):208-20.
37. Berentsen S. How I treat cold agglutinin disease. *Blood*. 11 mars 2021;137(10):1295-303.
38. Barbara D, Mauermann W, Neal J, Abel M, Schaff H, Winters J. Cold agglutinins in patients undergoing cardiac surgery requiring cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1 sept 2013;146(3):668-80.
39. Nikousefat Z, Javdani M, Hashemnia M, Haratyan A, Jalili A. Cold Agglutinin Disease; A Laboratory Challenge. *Iran Red Crescent Med J*. 17 oct 2015;17(10):e18954.
40. Ulvestad E, Berentsen S, Bø K, Shammass FV. Clinical immunology of chronic cold agglutinin disease. *Eur J Haematol*. 1999;63(4):259-66.
41. Genty I, Michel M, Hermine O, Schaeffer A, Godeau B, Rochant H. Caractéristiques des anémies hémolytiques auto-immunes de l'adulte : analyse rétrospective d'une série de 83 patients. *Rev Médecine Interne*. 1 nov 2002;23(11):901-9.
42. Hadnagy C. Age-wise distribution of idiopathic cold agglutinin disease. *Z Gerontol*. 1 mai 1993;26(3):199-201.
43. Berentsen S, Barcellini W, D'Sa S, Randen U, Tvedt THA, Fattizzo B, et al. Cold agglutinin disease revisited: a multinational, observational study of 232 patients. *Blood*. 23 juill 2020;136(4):480-8.
44. Bollotte A, Vial T, Bricca P, Bernard C, Broussolle C, Sève P. Les anémies hémolytiques immunologiques médicamenteuses : étude rétrospective de 10 observations. *Rev Médecine Interne*. 1 déc 2014;35(12):779-89.
45. Philippe P. Diagnostic et prise en charge de l'anémie hémolytique auto-immune. *Presse Médicale*. 1 déc 2007;36(12, Part 3):1959-69.
46. Zarandona JM, Yazer MH. The role of the Coombs test in evaluating hemolysis in adults. *CMAJ*. 31 janv 2006;174(3):305-7.
47. Garratty G, Arndt PA. Applications of flow cytometry to red blood cell immunology. *Cytometry*. 1999;38(6):259-67.
48. Barcellini W, Revelli N, Imperiali FG, Villa MA, Manera MC, Paccapelo C, et al. Comparison of traditional methods and mitogen-stimulated direct antiglobulin test for detection of anti-red blood cell autoimmunity. *Int J Hematol*. 1 juin 2010;91(5):762-9.
49. Barcellini W, Clerici G, Montesano R, Taioli E, Morelati F, Rebullà P, et al. In vitro quantification of anti-red blood cell antibody production in idiopathic autoimmune haemolytic anaemia: effect of mitogen and cytokine stimulation. *Br J Haematol*. 2000;111(2):452-60.

50. Dubarry M, Charron C, Habibi B, Bretagne Y, Lambin P. Quantitation of immunoglobulin classes and subclasses of autoantibodies bound to red cells in patients with and without hemolysis. *Transfusion (Paris)*. 1993;33(6):466-71.
51. Sachs UJH, Röder L, Santoso S, Bein G. Does a negative direct antiglobulin test exclude warm autoimmune haemolytic anaemia? A prospective study of 504 cases. *Br J Haematol*. 2006;132(5):655-6.
52. Curtis B r., Lamon J, Roelcke D, Chaplin Jr. H. Life-threatening, antiglobulin test-negative, acute autoimmune hemolytic anemia due to a non-complement-activating IgG1 kappa cold antibody with Pra specificity. *Transfusion (Paris)*. 1990;30(9):838-43.
53. Garratty G. A new mechanism for immune destruction of red blood cells? *Transfusion (Paris)*. 2010;50(2):274-7.
54. Potter KN, Hobby P, Klijn S, Stevenson FK, Sutton BJ. Evidence for Involvement of a Hydrophobic Patch in Framework Region 1 of Human V4-34-Encoded Igs in Recognition of the Red Blood Cell I Antigen1. *J Immunol*. 1 oct 2002;169(7):3777-82.
55. Segel GB, Lichtman MA. Direct antiglobulin ("Coombs") test-negative autoimmune hemolytic anemia: A review. *Blood Cells Mol Dis*. 1 avr 2014;52(4):152-60.
56. Petz LD. Cold antibody autoimmune hemolytic anemias. *Blood Rev*. 1 janv 2008;22(1):1-15.
57. Rosse WF, Adams JP. The Variability of Hemolysis in the Cold Agglutinin Syndrome. *Blood*. 1 sept 1980;56(3):409-16.
58. Berentsen S, Ulvestad E, Langholm R, Beiske K, Hjorth-Hansen H, Ghanima W, et al. Primary chronic cold agglutinin disease: A population based clinical study of 86 patients. *Haematologica*. 1 mai 2006;91:460-6.
59. Crisp D, Pruzanski W. B-Cell neoplasms with homogeneous cold-reacting antibodies (cold agglutinins). *Am J Med*. 1 juin 1982;72(6):915-22.
60. Roelcke D. Cold agglutination. Antibodies and antigens. *Clin Immunol Immunopathol*. 1 janv 1974;2(2):266-80.
61. Das SS, Bhattacharya S, Bhartia S. Clinical and serological characterization of cold agglutinin syndrome in a Tertiary Care Hospital in Eastern India. *Asian J Transfus Sci*. 2015;9(2):173-6.
62. Roelcke D. Specificity of IgA cold agglutinins: anti-Pr1. *Eur J Immunol*. 1973;3(4):206-12.
63. Lopez M, Banopoulos H, Liberge G, Salmon C. A Cold Auto-Agglutinin of Anti-B Specificity in an A1B Patient. *Vox Sang*. 1975;28(5):371-5.
64. Götttsche B, Salama A, Mueller-Eckhardt C. Autoimmune hemolytic anemia caused by a cold agglutinin with a new specificity (anti-Ju). *Transfusion (Paris)*. 1990;30(3):261-2.
65. Roelcke D, Riesen W, Geisen HP, Ebert W. Serological Identification of the New Cold Agglutinin Specificity Anti-Gd. *Vox Sang*. 1977;33(5):304-6.
66. Moshous D, Brassier A. Splénomégalie chez l'enfant. *Perfect En Pédiatrie*. 1 mai 2023;6(2, Supplement 1):S38-41.

67. Nakagawa H, Kato C, Miyata Y. Nécrose due à la maladie des agglutinines froides. *CMAJ*. 27 juin 2022;194(25):E889-90.
68. Klejtman T, Garel B, Senet P, Tribout L, Bachmeyer C, Barbaud A, et al. Nécroses digitales révélant une maladie des agglutinines froides : traitement par rituximab. *Ann Dermatol Vénéréologie*. 1 déc 2018;145(12):761-4.
69. Planchon B, Pistorius MA. Acrocyanose. *EMC - Cardiol-Angéiologie*. 1 août 2005;2(3):317-22.
70. McNicholl FP. Clinical syndromes associated with cold agglutinins. *Transfus Sci*. 1 févr 2000;22(1):125-33.
71. Valdovinos ST, Landry GJ. Raynaud Syndrome. *Tech Vasc Interv Radiol*. 1 déc 2014;17(4):241-6.
72. Gertz MA. Management of cold haemolytic syndrome. *Br J Haematol*. 2007;138(4):422-9.
73. Sniecinski I, Margolin K, Shulman I, Oien L, Meyer E, Branch DR. High-Titer, High-Thermal-Amplitude Cold Autoagglutinin Not Associated with Hemolytic Anemia. *Vox Sang*. 11 août 2017;55(1):26-9.
74. Farhana A, Lappin SL. Biochemistry, Lactate Dehydrogenase. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cité 17 juill 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557536/>
75. Fevery J. Bilirubin in clinical practice: a review. *Liver Int*. 2008;28(5):592-605.
76. Manceau H, Karim Z, Puy H, Peoc'h K. Haptoglobine. *EM-Consulte [Internet]*. 1 févr 2019 [cité 17 juill 2023]; Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/1273035/haptoglobine>
77. Dobryszcka W. Biological functions of haptoglobin--new pieces to an old puzzle. *Eur J Clin Chem Clin Biochem J Forum Eur Clin Chem Soc*. sept 1997;35(9):647-54.
78. Tas F, Eralp Y, Basaran M, Sakar B, Alici S, Argon A, et al. Anemia in Oncology Practice: Relation to Diseases and Their Therapies. *Am J Clin Oncol*. août 2002;25(4):371.
79. Matecka A, Trøen G, Tierens A, Østlie I, Macecki J, Randen U, et al. Frequent somatic mutations of KMT2D (MLL2) and CARD11 genes in primary cold agglutinin disease. *Br J Haematol*. déc 2018;183(5):838-42.
80. Macecka A, Delabie J, Østlie I, Tierens A, Randen U, Berentsen S, et al. Cold agglutinin-associated B-cell lymphoproliferative disease shows highly recurrent gains of chromosome 3 and 12 or 18. *Blood Adv*. 13 mars 2020;4(6):993-6.
81. Hunter ZR, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, et al. The genomic landscape of Waldenström macroglobulinemia is characterized by highly recurring MYD88 and WHIM-like CXCR4 mutations, and small somatic deletions associated with B-cell lymphomagenesis. *Blood*. 13 mars 2014;123(11):1637-46.
82. Treon SP, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, et al. MYD88 L265P Somatic Mutation in Waldenström's Macroglobulinemia. *N Engl J Med*. 30 août 2012;367(9):826-33.

83. Swerdlow SH, Kuzu I, Dogan A, Dirnhofer S, Chan JKC, Sander B, et al. The many faces of small B cell lymphomas with plasmacytic differentiation and the contribution of MYD88 testing. *Virchows Arch.* 1 mars 2016;468(3):259-75.
84. Tedeschi A, Baratè C, Minola E, Morra E. Cryoglobulinemia. *Blood Rev.* 1 juill 2007;21(4):183-200.
85. Desbois AC, Cacoub P, Saadoun D. Cryoglobulinemia: An update in 2019. *Joint Bone Spine.* 1 nov 2019;86(6):707-13.
86. Poldre P, Pruzanski W, Chiu HM, Dotten DA. Fulminant gangrene in transient cold agglutininemia associated with *Escherichia coli* infection. *Can Med Assoc J.* 1 févr 1985;132(3):261-3.
87. Bhattacharyya J, Mihara K, Takihara Y, Kimura A. Successful treatment of IgM-monoclonal gammopathy of undetermined significance associated with cryoglobulinemia and cold agglutinin disease with immunochemotherapy with rituximab, fludarabine, and cyclophosphamide. *Ann Hematol.* 1 mai 2012;91(5):797-9.
88. Cacoub P. Les cryoglobulinémies, apports du PDNS 2021. *JMV-J Médecine Vasc.* 1 mars 2022;47:S17-8.
89. Thakral B, Bueso-Ramos CE. Unexpected presentation of cold agglutinin syndrome with B-acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 30 juin 2022;139(26):3778.
90. Yegin ZA, Yağcı M, Haznedar R. Cold agglutinin disease with IgG monoclonal gammopathy in a case of chronic lymphocytic leukemia: An unusual presentation. *Transfus Apher Sci.* 1 juin 2009;40(3):219-20.
91. Amelirad A, Modaresi P, Soltani H. Neutrophilic erythrophagocytosis in myelodysplastic syndrome and cold agglutinin disease co-occurrence. *Clin Case Rep.* 2023;11(1):e6828.
92. Novaretti MCZ, Sopelete CR, Velloso ERP, Rosa MFC, Dorlhiac-Llacer PE, Chamone DAF. Immunohematological Findings in Myelodysplastic Syndrome. *Acta Haematol.* 27 avr 2001;105(1):1-6.
93. Al-Matham K, Alabed I, Zaidi SZA, Qushmaq KA. Cold agglutinin disease in fibrolamellar hepatocellular carcinoma: a rare association with a rare cancer variant. *Ann Saudi Med.* mars 2011;31(2):197-200.
94. Cao L, Kaiser P, Hoffman R, Gustin D, Feldman L. Cold Agglutinin Disease in a Patient with Uterine Sarcoma. *Am J Med Sci.* 1 nov 2000;320(5):352-4.
95. Anoun J, Achour B, Rezgui A, Regaieg H, Ben Youssef Y, Khelif A. Association anémie hémolytique auto-immune et maladies auto-immunes. *Rev Médecine Interne.* 1 juin 2014;35:A89-90.
96. Nagahata K, Suzuki C, Takahashi H. Spurious macrocytic anaemia in a patient with systemic lupus erythematosus: cold agglutinin disease. *Clin Rheumatol.* 1 mai 2023;42(5):1485-6.
97. Srinivasan N, Oswal A, Garg S, Gosmonova A, Nahar J, Nahar R. Cold Agglutinin Induced Hemolysis in a Newly Diagnosed Systemic Lupus Erythematosus. *Am J Med Sci.* 1 mars 2010;339(3):270-3.
98. Gelman R, Kharouf F, Ishay Y, Gural A. Cold Agglutinin-Mediated Autoimmune Hemolytic Anemia in Association with Antiphospholipid Syndrome. *Acta Haematol.* 2021;144(6):693-7.

99. Cikrikcioglu MA, Hursitoglu M, Erkal H, Karaca NG, Coraoglu S, Tukek T. Secondary cold agglutinin disease associated with Hashimoto disease. *Cent Eur J Med.* 1 déc 2009;4(4):444-9.
100. Lee SC, Youn YS, Rhim JW, Kang JH, Lee KY. Early Serologic Diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia: An Observational Study on Changes in Titers of Specific-IgM Antibodies and Cold Agglutinins. *Medicine (Baltimore).* 13 mai 2016;95(19):e3605.
101. Khan FY, Yassin MA. *Mycoplasma pneumoniae* associated with severe autoimmune hemolytic anemia: case report and literature review. *Braz J Infect Dis.* févr 2009;13:77-9.
102. Jensen CE, Wilson S, Thombare A, Weiss S, Ma A. Cold agglutinin syndrome as a complication of Covid-19 in two cases. *Clin Infect Pract.* 1 oct 2020;7-8:100041.
103. Maslov DV, Simenson V, Jain S, Badari A. COVID-19 and Cold Agglutinin Hemolytic Anemia. *TH Open.* juill 2020;04(3):e175-7.
104. Zulkeflee RH, Akbar NAN, Yusoff S, Hussin FA, Husin A, Zulkafli Z, et al. A case report of cold autoimmune haemolyticanaemia in pulmonary tuberculosis. *Bangladesh J Med Sci.* 21 mai 2022;21(3):754-7.
105. Shamshad GU, Salamat N, Umair M. Cold Agglutinin Disease in a Patient of Pulmonary Tuberculosis. *J Coll Physicians Surg - Pak.* 1 sept 2017;27(9):S92-4.
106. Broome CM, Cunningham JM, Mullins M, Jiang X, Bylsma LC, Fryzek JP, et al. Increased risk of thrombotic events in cold agglutinin disease: A 10-year retrospective analysis. *Res Pract Thromb Haemost.* 1 mai 2020;4(4):628-35.
107. Duffy C, Bain C, Cairo SA, Hogan C, Geldard P, Larobina M, et al. Cold Agglutinin Disease and Hemolytic Crisis After Hypothermic Circulatory Arrest in a Patient With Beta-Thalassemia Minor. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 1 nov 2020;34(11):3086-92.
108. Fertu E, Haaser E, Dieudonné Y, Bauer S, Levy D, Rondeau-Lutz M, et al. Drépanocytose à l'âge adulte, mycoplasme et agglutinines froides, à propos de 2 observations. *Rev Médecine Interne.* 1 déc 2016;37:A187.
109. Cunningham-Rundles C. Hematologic complications of primary immune deficiencies. *Blood Rev.* 1 mars 2002;16(1):61-4.
110. Pien FD, Smith TF, Anderson CF, Webel ML, Taswell HF. Herpesvirus in renal transplant patients. *Transplantation.* nov 1973;16(5):489.
111. Payne JE, Barbour BH, Berne TV. Red cell cold agglutinins in hemodialysis and renal transplantation. *Transplantation.* févr 1973;15(2):261.
112. Vilayur E, Trevillian P, Heer M. Successful renal transplantation in a patient with cold agglutinin disease. *J Clin Apheresis.* 2017;32(1):56-8.
113. Spivak B, Radwan M, Brandon J, Molcho A, Ohring R, Tyano S, et al. Cold agglutinin autoantibodies in psychiatric patients: their relation to diagnosis and pharmacological treatment. *Am J Psychiatry.* 1 févr 1991;148(2):244-7.
114. Jouini H, Chouaieb S, Boussetta K, Toumi NEH. Hemophagocytic lymphohistiocytosis associated with an IgG Cold agglutinin. *Transfus Clin Biol.* 1 nov 2019;26(4):324-8.

115. Sorà F, Chiusolo P, Laurenti L, Innocenti I, Autore F, Alma E, et al. SARS CoV 2 infection in chronic myelogenous leukemia: Severe hematological presentation. *Transfus Apher Sci* [Internet]. 1 déc 2020 [cité 24 juill 2023];59(6). Disponible sur: [https://www.trasci.com/article/S1473-0502\(20\)30186-5/fulltext](https://www.trasci.com/article/S1473-0502(20)30186-5/fulltext)
116. Sandhaus LM, Raska K Jr, Wu HV. Diffuse Large-Cell Lymphoma with Monoclonal IgMκ and Cold Agglutinin. *Am J Clin Pathol*. 1 juill 1986;86(1):120-3.
117. Malkan UY, Albayrak M, Yildiz A, Maral S, Afacan Ozturk HB, Comert P. A rare case of diffuse large B-cell lymphoma-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Oncol Pharm Pract*. 1 janv 2021;27(1):250-2.
118. Mygind K, Ahrons S. IgG Cold Agglutinins and First Trimester Abortion. *Vox Sang*. 11 août 2017;23(6):552-60.
119. Hasanov M, Konoplev SN, Rojas Hernandez CM. Nivolumab-induced cold agglutinin syndrome successfully treated with rituximab - PMC. *Blood Adv*. 2 août 2018;1865-8.
120. Noll E, Levy F, Waller C, Wiesel ML, Steib A. Fiabilité du contrôle ultime prétransfusionnel de compatibilité en présence d'agglutinines froides en chirurgie cardiaque avec circulation extracorporelle. *Ann Fr Anesth Réanimation*. 1 juill 2010;29(7):579-81.
121. Koike Y, Akiyama Y, Utani A. Cold agglutinin disease-associated digital gangrene treated with plasmapheresis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 1 nov 2014;80:575.
122. Clinical Sciences & Operations, Sanofi. Cold Agglutinin Disease Real World Evidence Registry [Internet]. clinicaltrials.gov; 2023 juin [cité 9 août 2023]. Report No.: NCT05791708. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05791708>

7. Liste des abréviations

ADCC : Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps

ADN : Acide désoxyribonucléique

AF : Agglutinines Froides

AHAI : Anémie Hémolytique Auto-Immune

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

BNC : Bilirubine Non-Conjuguée

CAD : Maladie des agglutinines froides

cAHAI : Anémie Hémolytique Auto-immune à anticorps froids

CAS : Syndrome des agglutinines froides

CCMH : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

CD : Cluster de Différenciation

CGR : Concentré de Globules Rouges

CHG : Centre Hospitalier Général

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMV : Cytomégalovirus

DICV : Déficit Immunitaire Commun Variable

DLBCL : Lymphome B Diffus à Grandes Cellules

EBV : Epstein-Barr Virus

EDA : Examen Direct à l'Antiglobuline

EFS : Etablissement Français du Sang

EP : Embolie Pulmonaire

G6PD : Glucose-6-Phosphate-Déshydrogénase

Hb : Hémoglobine

HPN : Hémoglobinurie Paroxystique Nocturne

HPV : Papillomavirus humain

HSV : Herpès Simplex Virus

Ig : Immunoglobuline

IVG : Interruption Volontaire de Grossesse

LAIT : Lymphome T Angio-Immunoblastique

LAL : Leucémie Aiguë Lymphoblastique

LAM : Leucémie Aiguë Myéloïde
LDH : Lactate déshydrogénase
LES : Lupus Erythémateux Systémique
LLC : Leucémie Lymphoïde Chronique
LMC : Leucémie Myéloïde Chronique
LMMC : Leucémie Myélo-Monocytaire Chronique
LPL : Lymphome Lympho-Plasmocytaire
LZM : Lymphome de la Zone Marginale
MAT : Microangiopathie Thrombotique
MGUS : Gammopathie Monoclonale de Signification Indéterminée
Min : Minute
MNI : Mononucléose infectieuse
NK : Natural Killer
NR : Non Réalisé
PCR : Polymerase Chain Reaction
PR : Polyarthrite Rhumatoïde
RAA : Rhumatisme Articulaire Aigu
RAI : Recherche d'Anticorps anti-Erythrocytaires
SAM : Syndrome d'Activation Macrophagique
SAPL : Syndrome des Anti-Phospholipides
SLPB : Syndrome lymphoprolifératif B
SLPT : Syndrome lymphoprolifératif T
SMD : Syndrome myélodysplasique
TDM : Tomodensitométrie
TVP : Thrombose Veineuse Profonde
VGM : Volume Globulaire Moyen
VHB : Virus de l'Hépatite B
VHC : Virus de l'Hépatite C
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
wAHAI : Anémie Hémolytique Auto-immune à anticorps chauds

8. Table des figures

Figure 1 Mécanismes à l'origine de l'hémolyse induite par les agglutinines froides	6
Figure 2 Titrage d'agglutinines froides en tube : (a) absence d'hémagglutination ; (b) hémagglutination ; (c) hémagglutination forte.....	8
Figure 3 Hémagglutination due aux agglutinines froides sur un frottis sanguin	9
Figure 4 Arbre décisionnel lors du diagnostic d'anémie hémolytique auto-immune à auto-anticorps froids.....	10
Figure 5 Pré-traitement des échantillons sanguins en cas de recherche d'agglutinines froides à l'EFS Occitanie.....	16
Figure 6 Etapes de dépistage et de titrage des agglutinines froides à l'EFS Occitanie	17
Figure 7 Résultat de la recherche d'agglutinines froides en fonction du groupe sanguin.....	19
Figure 8 Répartition des titres d'agglutinines froides parmi les recherches positives	24
Figure 9 Répartition du type d'EDA en fonction du titre d'agglutinines froides.....	24
Figure 10 Répartition des titres d'agglutinines froides selon l'amplitude thermique	25
Figure 11 Conclusions rendues lors de la recherche d'agglutinines froides et causes de conclusion non-rendue	28
Figure 12 Code de conclusion rendu en fonction du titre d'agglutinines froides.....	29
Figure 13 Code de conclusion rendu en fonction de l'amplitude thermique	29
Figure 14 Code de conclusion rendu en fonction du type d'EDA.....	30
Figure 15 Présence ou absence d'anémie en fonction du titre d'agglutinines froides et de l'amplitude thermique.....	34
Figure 16 Sévérité de l'anémie en fonction du titre d'agglutinines froides et de l'amplitude thermique	34
Figure 17 Présence ou absence d'hémolyse en fonction du titre d'agglutinines froides et de l'amplitude thermique.....	35
Figure 18 Nombre de pathologies chez les patients présentant une recherche d'agglutinines froides positive	46
Figure 19 Association des différentes catégories de pathologies étudiées chez les patients présentant une recherche d'agglutinines froides positives.....	46

9. Table des tableaux

Tableau 1 Tests biologiques et paracliniques à effectuer pour explorer la présence d'agglutinines froides.....	Erreur ! Signet non défini.
Tableau 2 Nombre de prescriptions effectuées par patient	18
Tableau 3 Répartition de la population en fonction du sexe et de l'âge	18
Tableau 4 Résultats des recherches d'agglutinines froides selon le sexe	18
Tableau 5 Répartition de la population en fonction du groupe sanguin	19
Tableau 6 Répartition des résultats de recherche d'agglutinines froides selon les années	19
Tableau 7 Répartition des prescriptions de recherches d'agglutinines froides par type d'établissement prescripteur	20
Tableau 8 Répartition des prescriptions de recherches d'agglutinines froides par type de service prescripteur	21
Tableau 9 Répartition du type d'EDA selon le résultat de la recherche d'agglutinines froides	22
Tableau 10 Résultats de la mesure de l'amplitude thermique	22
Tableau 11 Amplitude thermique selon le type d'EDA	23
Tableau 12 Intensité réactionnelle de l'EDA selon l'amplitude thermique	23
Tableau 13 Répartition des titres d'agglutinines froides selon la tranche d'âge	24
Tableau 14 Intensité réactionnelle de l'EDA selon le titre d'agglutinines froides	25
Tableau 15 Résultats de la RAI selon le résultat de la recherche d'agglutinines froides	26
Tableau 16 Résultats de la RAI selon le titre d'agglutinines froides	26
Tableau 17 Résultats de la RAI selon l'amplitude thermique des agglutinines froides	27
Tableau 18 Résultats de la RAI en fonction du type d'EDA	27
Tableau 19 Procédure de validation de la recherche d'agglutinines froides à l'EFS Occitanie	28
Tableau 20 Répartition de la population en fonction du sexe et de l'âge	30
Tableau 21 Présence d'une hémolyse, d'une anémie et sévérité de l'anémie en fonction du type d'EDA	31
Tableau 22 Répartition des titres d'agglutinines froides selon le sexe et l'âge	31
Tableau 23 Répartition des signes cliniques lors de la recherche d'agglutinines froides selon l'amplitude thermique.....	32
Tableau 24 Répartition des signes cliniques lors de la recherche d'agglutinines froides selon le titre d'agglutinines froides	33
Tableau 25 Examens complémentaires réalisés de façon concomitante aux prescriptions de recherche d'agglutinines froides	36
Tableau 26 Caractéristiques immuno-hématologiques des patients atteints de maladie idiopathique des agglutinines froides.....	36
Tableau 27 Caractéristiques immuno-hématologiques des patients atteints d'hémopathies malignes	38
Tableau 28 Caractéristiques immuno-hématologiques des patients atteints de néoplasies ou de cancer d'organe solide	39
Tableau 29 Caractéristiques immuno-hématologiques des patients atteints de maladies auto-immunes	41
Tableau 30 Caractéristiques immuno-hématologiques des patients atteints d'infections	43
Tableau 31 Caractéristiques immuno-hématologiques des patients atteints d'autres pathologies concomitantes à la présence d'agglutinines froides	45
Tableau 32 Association des pathologies pour chaque patient au moment de la recherche d'agglutinines froides.....	47

L'Université n'entend donner aucune approbation ou improbation aux opinions émises dans les thèses.

Les opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.

Vu et permis d'imprimer

Montpellier, le 31 août 2023

P/Le Président de l'Université de Montpellier et par délégation

Le Directeur de l'U.F.R
Des sciences pharmaceutiques et biologiques

Vincent LISOWSKI

Recherche des Agglutinines Froides : étude rétrospective des prescriptions à l'EFS Occitanie entre 2019 et 2022 et signification clinique

Cold agglutinin testing: retrospective study of prescriptions at EFS Occitanie between 2019 and 2022 and clinical significance

Introduction La recherche d'agglutinines froides (AF) est prescrite en cas d'exploration d'une anémie avec suspicion d'une maladie ou de syndrome des AF. Les objectifs de cette étude sont d'analyser les résultats immuno-hématologiques des patients dont la recherche est positive et de décrire leurs caractéristiques clinico-biologiques.

Méthodes Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive et multicentrique, de 2019 à 2022, portant sur l'analyse de 1092 demandes d'AF à l'EFS Occitanie dont 220 provenant du CHU de Montpellier.

Résultats Parmi les 552 femmes et 401 hommes inclus (âge moyen de 57.9 ans), 287 recherches sont positives dont 53.9% avec un titre ≥ 64 . L'Examen Direct à l'Antiglobuline (EDA) est positif de type complément (42.6%), mixte (23%) ou IgG (8.5%) et négatif dans 25.9% des cas. La RAI retrouve un auto-anticorps (52.9%). Elle est négative dans 37.5% des cas. L'amplitude thermique est forte pour un titre ≥ 64 (60.5%) et faible pour un titre < 64 (67.7%).

Parmi les 40 patients du CHU avec une AF, 74.1% présentent une anémie de sévérité variable avec des signes biologiques d'une hémolyse dans 42.6% des cas. Les pathologies associées sont une hémopathie maligne (n=15), une infection (n=19), une maladie auto-immune (n=17) et une tumeur solide (n=12). Deux patients ont une maladie des AF idiopathique.

Conclusion La mise en évidence d'une AF n'est pas toujours corrélée à un retentissement clinique et les pathologies associées sont variables. Cette étude montre la nécessité de réaliser des examens complémentaires pour affiner le diagnostic et adapter la prise en charge.

Mots clés Agglutinines froides, acrosyndrome, hémagglutination à froid, anémie hémolytique auto-immune à anticorps froids, maladie des agglutinines froides, syndrome des agglutinines froides