



**HAL**  
open science

# Les anémies hémolytiques à médiation immune félines : synthèse bibliographique et étude rétrospective des cas présentés au CHUVA entre 2012 et 2020

Marine Nathalie Hebert

## ► To cite this version:

Marine Nathalie Hebert. Les anémies hémolytiques à médiation immune félines : synthèse bibliographique et étude rétrospective des cas présentés au CHUVA entre 2012 et 2020. Médecine vétérinaire et santé animale. 2020. dumas-04806944

**HAL Id: dumas-04806944**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04806944v1>**

Submitted on 27 Nov 2024

**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.

Copyright

Année 2020

**LES ANÉMIES HÉMOLYTIQUES À MÉDIATION IMMUNE  
FÉLINES : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE ET ÉTUDE  
RÉTROSPECTIVE DES CAS PRÉSENTÉS AU CHUVA  
ENTRE 2012 ET 2020**

**THÈSE**

pour obtenir le diplôme d'État de

**DOCTEUR VÉTÉRINAIRE**

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 28 octobre 2020

par

**Marine Nathalie HEBERT**

sous la direction de

**Christelle MAUREY-GUENEC**

<b>Président du jury :</b>	<b>M. Philippe LANG</b>	Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL
<b>1<sup>er</sup> Assesseur :</b>	<b>Mme Christelle MAUREY-GUENEC</b>	Maître de Conférences à l'EnvA
<b>2<sup>nd</sup> Assesseur :</b>	<b>Mme Delphine LE ROUX</b>	Maître de Conférences à l'EnvA



## Liste des membres du corps enseignant



Directeur : Pr Christophe Degueurce

Directeur des formations : Pr Henry Chateau

Directrice de la scolarité et de la vie étudiante : Dr Catherine Colmin

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs C. Pilet, B. Toma, A.-L. Parodi, R. Moraillon, J.-P. Cotard, J.-P. Mialot & M. Gogny

### Département d'Élevage et de Pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - Adjoint : Pr Blot Stéphane

<p><b>Unité pédagogique d'anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Fernandez Parra Rocio, Maître de conférences associée</li> <li>- Pr Verwaerde Patrick*</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de clinique équine</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Audigé Fabrice</li> <li>- Dr Bertoni Léila, Maître de conférences</li> <li>- Dr Bourzac Céline, Chargée d'enseignement contractuelle</li> <li>- Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier</li> <li>- Pr Denoix Jean-Marie</li> <li>- Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Maspouhès-Rivière Céline, Praticien hospitalier*</li> <li>- Dr Moiroud Claire, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Tanquerel Ludovic, Chargé d'enseignement contractuel</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de médecine et imagerie médicale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Bencheikroun Ghita, Maître de conférences</li> <li>- Pr Blot Stéphane*</li> <li>- Dr Canonne-Guilbert Morgane, Maître de conférences</li> <li>- Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Maurey-Guénec Christelle, Maître de conférences</li> </ul>	<p><b>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Cabrera Gonzales Joaquin, Chargé d'enseignement contractuel</li> <li>- Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences</li> <li>- Pr Grandjean Dominique*</li> <li>- Dr Hoummady Sara, Chargée d'enseignement contractuelle</li> <li>- Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences</li> <li>- Dr Ribeiro dos Santos Natalia, Praticien hospitalier</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Decambon Adeline, Maître de conférences</li> <li>- Pr Fayolle Pascal</li> <li>- Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences</li> <li>- Pr Viataux-Duval Véronique*</li> </ul> <p><b>Discipline : cardiologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Chetboul Valérie</li> <li>- Dr Saponaro Vittorio, Praticien hospitalier</li> </ul> <p><b>Discipline : ophtalmologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Chahory Sabine, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Discipline : nouveaux animaux de compagnie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Pignon Charty, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Volait Laetitia, Praticien hospitalier</li> </ul>
--	--

### Département des Productions Animales et de Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - Adjoint : Pr Dufour Barbara

<p><b>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Bolnot François, Maître de conférences</li> <li>- Pr Cartier Vincent</li> <li>- Dr Gauthier Michel, Maître de conférences associé</li> <li>- Dr Mîmet Narjes, Chargée d'enseignement contractuelle</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de maladies réglementées, zoonoses et épidémiologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Crozet Guillaume, Chargé d'enseignement contractuel</li> <li>- Pr Dufour Barbara</li> <li>- Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia</li> <li>- Dr Rivière Julie, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Adjou Karim</li> <li>- Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences*</li> <li>- Dr Delsart Maxime, Maître de conférences associé</li> <li>- Pr Millemann Yves</li> <li>- Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Ravary-Plumioën Béragère, Maître de conférences</li> </ul>	<p><b>Unité pédagogique de reproduction animale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Constant Fabienne, Maître de conférences*</li> <li>- Dr Denis Marine, Chargée d'enseignement contractuelle</li> <li>- Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC)</li> <li>- Dr Mauffré Vincent, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Arné Pascal, Maître de conférences</li> <li>- Dr Barassin Isabelle, Maître de conférences</li> <li>- Pr Bossé Philippe*</li> <li>- Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences</li> <li>- Pr Grimard-Ballif Bénédicte</li> <li>- Pr Ponter Andrew</li> </ul> <p><b>Rattachée DPASP</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Wolgust Valérie, Praticien hospitalier</li> </ul>
---	---

### Département des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Desquilbet Loïc - Adjoint : Pr Pilot-Storck Fanny

<p><b>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Boissady Emilie, Chargée d'enseignement contractuelle</li> <li>- Pr Chateau Henry</li> <li>- Pr Crevier-Denoix Nathalie</li> <li>- Pr Robert Céline*</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Boulouis Henri-Jean</li> <li>- Pr Eloï Marc</li> <li>- Dr Lagrée Anne-Claire, Maître de conférences</li> <li>- Pr Le Poder Sophie</li> <li>- Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences*</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de biochimie, biologie clinique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Bellier Sylvain*</li> <li>- Dr Deshuillers Pierre, Maître de conférences</li> <li>- Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences</li> <li>- Pr Fontaine Jean-Jacques</li> <li>- Dr Laloy Eve, Maître de conférences</li> <li>- Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences*</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais)</li> <li>- Pr Desquilbet Loïc, (Biostatistique, Epidémiologie)</li> <li>- Dr Legrand Chantal, Maître de conférences associée</li> <li>- Dr Marnignac Geneviève, Maître de conférences*</li> <li>- Dr Rose Hélène, Maître de conférences associée</li> </ul>	<p><b>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP)</li> <li>- Dr Briand Amaury, Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel (rattaché au DEPEC)</li> <li>- Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattachée au DEPEC)</li> <li>- Pr Guillot Jacques*</li> <li>- Dr Polack Bruno, Maître de conférences</li> <li>- Dr Risco-Castillo Veronica, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Kohlhauer Matthias, Maître de conférences</li> <li>- Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences*</li> <li>- Pr Tissier Renaud</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique)</li> <li>- Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie)</li> <li>- Pr Gilbert Caroline (Ethologie)</li> <li>- Pr Pilot-Storck Fanny (Physiologie, Pharmacologie)</li> <li>- Pr Tiret Laurent (Physiologie, Pharmacologie)*</li> <li>- Dr Titeux Emmanuelle (Ethologie), Praticien hospitalier</li> </ul> <p><b>Discipline : éducation physique et sportive</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- M. Philips Pascal, Professeur certifié</li> </ul>
--	--

\* responsable d'unité pédagogique

Professeurs émérites : Pr Combrisson Hélène, Pr Enriquez Brigitte, Pr Panthier Jean-Jacques, Pr Paragon Bernard.



# Remerciements

**Au M. Philippe Lang, Professeur à la Faculté de Médecine de Créteil,**

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse. Hommage respectueux.

**A Mme Christelle Maurey-Guénec, Maitre de conférences à l'EnvA,**

Pour avoir accepté de m'encadrer aussi tardivement, pour m'avoir fait confiance en m'offrant un sujet de thèse si passionnant, pour toute la liberté qui m'a été accordée, pour vos précieux conseils et votre soutien. Toute ma reconnaissance.

**A Mme Delphine Le Roux, Maitre de conférences à l'EnvA,**

Pour avoir accepté d'être mon assesseur, pour sa relecture attentive et ses conseils avisés. Sincères remerciements.

**A ma famille, mes amis, mon quatuor de rêve de A5,** qui m'ont supportée (dans tous les sens du terme) et sans qui je n'aurais jamais été celle que je suis aujourd'hui.

**A Maxime,** qui est près de moi, sans jamais entacher ma liberté et qui m'aime telle que je suis, pour ce que je suis.









# Table des matières

---

<b>Liste des figures</b> .....	<b>3</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>7</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>9</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>11</b>
<b>Première partie : bibliographie</b> .....	<b>13</b>
1. Physiologie de l'érythropoïèse et de l'érythrolyse – Etiopathogénie des anémies hémolytiques à médiation immune.....	14
A. <i>Physiologie de l'érythropoïèse et de l'érythrolyse</i> .....	14
a. Structure et rôle des érythrocytes .....	14
b. Etapes et régulation de l'érythropoïèse la .....	16
c. Etapes et régulations de l'érythrolyse .....	19
B. <i>Rappels d'immunologie</i> .....	20
a. Immunité innée et adaptative .....	20
b. Les acteurs de la réponse immunitaire .....	20
c. Les étapes de la réponse immunitaire .....	23
C. <i>Mécanismes impliqués dans les AHMI</i> .....	24
a. Destruction des hématies circulantes.....	25
b. Destruction des précurseurs des hématies (PRCA et Anémie centrale).....	30
c. La maladie des agglutinines froides .....	31
D. <i>Causes d'AHMI</i> .....	32
a. Agents infectieux.....	32
b. Néoplasique .....	36
c. Iatrogène.....	37
d. Cas particulier des hémolyses allo-immunes .....	38
e. Inflammatoire .....	41
f. AHMI péri-gestationnelle.....	41
g. Maladie auto-immune systémique.....	41
h. AHMI primaire .....	41
E. <i>Complication des anémies hémolytiques à médiation immune</i> .....	42
a. Thrombo-embolie.....	42
b. Coagulation intravasculaire disséminée.....	43
2. Présentation clinique et démarche diagnostique .....	43
A. <i>Epidémiologie</i> .....	43
a. AHMI secondaire.....	43
b. AHMI primaire .....	44
B. <i>Démarche diagnostique</i> .....	45
a. Suspecter une anémie .....	45
b. Confirmation de l'anémie : diagnostic biologique .....	47
c. Recherche des signes de régénération médullaire .....	48
d. Mise en évidence du caractère hémolytique .....	51
e. Mise en évidence du caractère immun de l'anémie .....	53
f. Recherche d'une cause sous-jacente à l'AHMI.....	61
C. <i>Autres anomalies hématologiques et biochimiques</i> .....	68
3. Traitement et pronostic des AHMI .....	68
A. <i>Traitement</i> .....	68
a. Restauration de la fonction d'oxygénation .....	68
b. Contrôle de la réponse immunitaire .....	79
c. Prévention des complications .....	88
d. Suivi, diminution progressive des doses et gestion des rechutes .....	90
B. <i>Pronostic</i> .....	92

a. Durée de survie, taux de mortalité .....	92
b. Facteurs pronostiques.....	93
<b>Deuxième partie : étude rétrospective.....</b>	<b>95</b>
1. Objectif de l'étude .....	95
4. Matériels et méthodes .....	95
A. Source des données .....	95
B. Définition des cas.....	95
C. Données récoltées .....	96
a. Données épidémiologiques et commémoratifs .....	96
b. Données anamnestic-cliniques .....	96
c. Examens complémentaires : .....	96
d. Traitement médical.....	98
e. Analyse de survie.....	98
D. Analyse des données.....	98
5. Résultats .....	99
A. Caractérisation de l'AHMI .....	99
B. Données démographiques.....	100
a. Âge.....	100
b. Sexe.....	101
c. Race.....	103
C. Données cliniques.....	104
D. Données biologiques.....	106
E. Etudes des myélogrammes .....	110
F. Traitements reçus .....	112
G. Analyse de survie.....	113
H. Facteurs pronostiques.....	115
I. Influence du traitement sur la survie .....	117
6. Discussion.....	118
A. Epidémiologie.....	118
B. Présentation clinique.....	119
C. Caractérisation de l'AHMI .....	119
D. Prévalence des différentes causes d'AHMI .....	120
E. Anomalies biologiques .....	120
a. Lignée érythrocytaire.....	120
b. Atteinte des autres lignées.....	121
c. Biochimie .....	122
F. AHMI centrale .....	122
G. Traitement .....	123
H. Analyse de survie.....	124
I. Facteurs pronostics.....	125
J. Influence du traitement sur la survie .....	125
K. Limites et perspective de l'étude.....	126
<b>Conclusion.....</b>	<b>129</b>
<b>Liste des références bibliographiques .....</b>	<b>131</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>149</b>

# Liste des figures

---

Figure 1 - Schéma de la membrane érythrocytaire et des protéines structurales associées d'après Day (2010) .....	15
Figure 2 – Rôle des hématies dans le transport de l'oxygène et du dioxygène d'après Silverthorn (2019).....	16
Figure 3 - Organisation de la moelle osseuse hématopoïétique d'après Sharkey et Hill (2010).....	17
Figure 4 - Schéma de l'hématopoïèse d'après Harvey (2012b), modifié par Menard (2013).....	18
Figure 5 - Aspect des précurseurs érythroïdes après coloration de May Grünwald Giemsa d'après Harvey (2012) .....	18
Figure 6 - Structure d'un anticorps, d'après Silverthorn (2019).....	22
Figure 7 - Lymphocytes Th1, antigènes cryptiques exogènes cryptiques, un premier modèle d'explication des maladies auto-immunes, d'après Elson <i>et al.</i> (1995) .....	27
Figure 8 – Implication des lymphocytes Treg, Th1 et des antigènes cryptiques lors d'AHMI humaine, d'après Elson <i>et al.</i> (1995) et Barker <i>et al.</i> (2007).....	29
Figure 9 – Probables mécanismes sous - jacents aux AHMI, d'après Stokol (2010).....	30
Figure 10 - Survie des hématies transfusées en fonction du groupe sanguin du donneur et du receveur, d'après Giger et Bücheler, 1991 .....	40
Figure 11 - Frottis sanguin de chat présentant une anémie régénérative après coloration au MGG observé au microscope (x1000), d'après le site de l'Université de Cornell et Menard (2013) .....	50
Figure 12 - Réticulocytes agrégés (étoile) et ponctués (flèche) sur un frottis sanguin de chat après coloration au Nouveau Bleu de Méthylène observé au microscope (x1000) d'après (Harvey, 2012c) .....	50
Figure 13 – Anisocytose, polychromatophile, réticulocytes (flèche) et érythroblaste (étoile) sur un frottis sanguin de chat coloré au MGG observé au microscope optique (x1000), d'après Trumel <i>et al.</i> (2004).....	51
Figure 14 – Présence de cellules fantômes (cercle) contenant des corps de Heinz (flèches) sur un frottis sanguin de chat présentant une anémie hémolytique oxydative par intoxication aux oignons après coloration au MGG observé au microscope (x1000) d'après Weiss et Tvedten (2012) .....	52
Figure 15 – Acanthocytes (A), kératocytes (B) et schizocytes (C) et corps de Heinz (D) sur des frottis sanguins de chats et de chiens après coloration au MGG observés au microscope (x1000), d'après Harvey (2012) et Trumel <i>et al.</i> (2004).....	53
Figure 16 - Petits érythrocytes compatibles avec des sphérocytes (flèches) et cellules fantômes (tête de flèche) sur un frottis sanguin après coloration au MGG observé au microscope (X1000) d'un chat atteint d'AHMI, d'après le site eclinpath.com .....	54

Figure 17 – Courbe de fragilité osmotique chez un chat atteint d’AHMI (▲) et chez un chat témoin (■), d’après Kohn <i>et al.</i> (2006).....	55
Figure 18 – Rouleaux (A) et agglutination (B) des hématies de chats à la lecture de frottis sanguin après coloration au MGG observés au microscope (x1000) d’après Harvey (2012a) et Pouletty (2010).....	56
Figure 19 - Agglutination macroscopique sur lame, d’après Trumel <i>et al.</i> (2004).....	56
Figure 20 – Principe de réalisation du test de Coombs direct, d’après Day (2010).....	57
Figure 21 - Exemple de protocole de réalisation d’un test de Coombs direct sur tube (notice d’utilisation des laboratoires MP biomedicals, Solon, OH, USA) d’après Gerber (2007).....	58
Figure 22 – Phagocytose de précurseurs érythroïdes intacts par un macrophage sur un myélogramme de chat atteint d’AHMI coloré au MGG et observé au microscope optique (x1000), d’après Swann <i>et al.</i> (2016).....	61
Figure 23 – Identification de <i>Mycoplasma haemofelis</i> à la surface des hématies de chat colorés au MGG et observé au microscope optique (x1000), d’après Pouletty (2010).....	63
Figure 24 - Visualisation de <i>Cytauxzoon felis</i> au sein d’un macrophage et d’hématies (A) et au sein d’hématies agrandies (B) colorés au MGG, d’après Harvey (2012).....	64
Figure 25 – Détection du FCoV dans les macrophages d’un épanchement de chat atteint de PIF par immunofluorescence direct (coloration en vert des cellules infectées) (A) et immunocytochimie (coloration en marron des cellules infectées) (B), d’après Addie (2012) et Sykes (2013).....	66
Figure 26 - Groupage sanguin par agglutination sur plaque (groupe A à gauche et groupe B à droite), d’après Barfield et Adamantos (2011).....	71
Figure 27 – Groupage sanguin par immunochromatographie, (1) groupe A, (2) groupe B, (3) groupe AB, la lettre C correspondant au marqueur contrôle), d’après Nectoux <i>et al.</i> (2018).....	72
Figure 28 – Description générale du principe du cross-match, d’après Nectoux <i>et al.</i> (2018).....	73
Figure 29 – Courbe de survie de Kaplan-Meier comparant des chats atteints d’AHMI primaire (ligne continue) et des chats atteints d’AHMI secondaire (ligne discontinue), les marqueurs indiquant un cas censuré, d’après Swann <i>et al.</i> (2016).....	93
Figure 30 - Âge à l’apparition des symptômes (une étoile désignant une différence significative).....	101
Figure 31 - Répartition entre les sexes en fonction du type d’AHMI.....	102
Figure 32 - Proportion d’animaux stérilisés en fonction du type d’AHMI.....	102
Figure 33 - Répartition des sexes et proportion d’animaux stérilisés en fonction du type d’AHMI (une étoile désignant une différence significative).....	103
Figure 34 - Répartition des races en fonction du type d’AHMI.....	104
Figure 35 - répartition des symptômes en fonction du type d’AHMI.....	105
Figure 36 - Courbe de survie en fonction du type d’AHMI.....	114

Figure 37 - Courbes de survie en fonction du type d'AHMI sur 6 mois.....	114
Figure 38 - Courbes de survie sur 6 mois des différentes causes d'AHMI secondaire .....	115
Figure 39 - Courbes de survie en fonction de la régénération de l'anémie.....	115
Figure 40 - Courbes de survie en fonction de l'hématocrite mesuré un mois après l'initiation du traitement .....	116
Figure 41 - Courbes de survie sur 15 jours en fonction du traitement immunosuppresseur initial	118



# Liste des tableaux

---

Tableau 1 - Les différentes causes d'anémie en fonction de leur origine centrale ou périphérique d'après Trumel <i>et al.</i> (2004) .....	13
Tableau 2 Prévalence (%) des différentes espèces d'hémoplasmes de différentes populations de chats déterminée par analyse PCR (Willi <i>et al.</i> , 2006a ; Sykes, 2010 ; Barker et Tasker, 2013)....	35
Tableau 3 - Différentes causes d'AHMI chez le chat .....	42
Tableau 4 – Causes sous-jacentes associées à des AHMI et évolution de leur proportion entre 1984 et 2016, d'après Werner et Gorman (1984), Kohn <i>et al.</i> (2006) et Swann <i>et al.</i> (2016).....	44
Tableau 5 - Signes cliniques en fonction du mécanisme de l'anémie, d'après Trumel <i>et al.</i> (2004) .....	45
Tableau 6 - Pourcentage des différents symptômes et anomalies de l'examen clinique de chats atteints d'AHMI primaires, d'après Stokol et Blue (1999), Kohn <i>et al.</i> (2006) et Black <i>et al.</i> (2016)	46
Tableau 7 - Valeurs usuelles de la numération érythrocytaire, de l'hémoglobine et de l'hématocrite chez le chat, d'après Trumel <i>et al.</i> (2004).....	47
Tableau 8 – Sévérité de l'anémie en fonction de l'hématocrite, d'après Trumel <i>et al.</i> (2004).....	47
Tableau 9 - Valeurs usuelles du VGM et de la CCMH chez le chat d'après Trumel <i>et al.</i> (2004)....	48
Tableau 10 - Valeurs de l'hématocrite (Ht) en fonction de l'origine de l'AHMI secondaire.....	62
Tableau 11 - Caractère régénératif de l'anémie en fonction de l'affection sous-jacente.....	62
Tableau 12 – Pourcentage de chats transfusés et nombre de transfusion reçues dans différentes études sur les AHMI .....	69
Tableau 13 - Réactions transfusionnelles immunes aiguës, leurs signes cliniques et la conduite à tenir, d'après Haldane <i>et al.</i> (2004) .....	76
Tableau 14 – Réactions transfusionnelles non immunes, leurs symptômes et prise en charge, d'après Haldane <i>et al.</i> (2004) .....	77
Tableau 15 – Puissance immunosuppressive et durée d'action de différents glucocorticoïdes, d'après Garden (2010), Rieder et Mischke (2018) et Viviano (2013) .....	80
Tableau 16 – Dose initiales recommandées des différents anticoagulants utilisables chez le chat, d'après Goggs <i>et al.</i> (2019) .....	89
Tableau 17 – Doses préconisées en cas d'utilisation d'antiplaquettaire chez le chat, d'après Goggs <i>et al.</i> (2019).....	90
Tableau 18 – Surveillance des effets secondaires en fonction de la molécule immunosuppressive, d'après Swann <i>et al.</i> (2019).....	91



Tableau 19 - Critères ayant permis l'établissement d'un diagnostic d'AHMI .....	99
Tableau 20 - Proportion des différentes causes à l'origine d'AHMI chez les chats de l'étude .....	100
Tableau 21 - Répartition des symptômes en fonction de la cause sous-jacente impliquée .....	106
Tableau 22 - Bilan hématologique et biochimique en fonction du type d'AHMI .....	107
Tableau 23 - Bilan hématologique et biochimique en fonction du type d'AHMI .....	109
Tableau 24 - Proportion des anomalies majeures relevées au myélogramme en fonction du type d'AHMI .....	110
Tableau 25 - Proportion des anomalies détectées au myélogramme en fonction du type d'AHMI centrale .....	111
Tableau 26 - Traitements de première intention et immunosuppresseurs complémentaires .....	112
Tableau 27 - Doses moyennes, minimales et maximales initiales administrées pour chaque immunosuppresseur .....	113
Tableau 28 - Influence de différents paramètres biologiques sur la mortalité .....	117

# Liste des abréviations

---

- AHMI** Anémie hémolytique à médiation immune
- ANA** Anticorps antinucléaire
- BFU-E** Burst forming unit – erythrocyte
- CCMH** Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
- CFU-E** Colony forming unit – erythrocyte
- CFU-GEMM** Colony Forming unit – granulocyte erythrocyte monocyte megakaryocyte
- CFU-S** Colony forming unit in spleen
- CIVD** Coagulations intravasculaires disséminées
- CMH** Complexe majeur d'histocompatibilité
- CMhm** *Candidatus Mycoplasma haemominutum*
- CMt** *Candidatus Mycoplasma turicensis*
- CO<sub>2</sub>** Dioxyde de carbone
- CPA** Cellule présentatrice d'antigène
- ECG** Electrocardiogramme
- ELISA** Enzyme-linked immunoabsorbent assay
- EPO** Erythropoïétine
- EPOR** Récepteur à l'EPO
- FeIV** Virus leucémogène félin
- FCoV** Coronavirus félin
- FLVCR** Récepteur spécifique du FeLV-C
- GR** Globules rouges
- HIF-1** Facteur inductible par l'hypoxie 1
- Ht** Hématocrite
- IDR** Indice de distribution des rouges
- IFN- $\alpha$**  Interferon  $\alpha$
- IFN- $\beta$**  Interferon  $\beta$

**IFN- $\gamma$**  Interferon  $\gamma$   
**IL-2** Interleukine 2  
**IL-4** Interleukine 4  
**IL-10** Interleukine 10  
**IL-17** Interleukine 17  
**Ig** Immunoglobuline  
**Lymphocyte Th** Lymphocyte T helper  
**Lymphocyte Treg** Lymphocyte T régulateur  
**Lymphocytes nTreg** Lymphocyte T régulateur naturel  
**Lymphocytes iTreg** Lymphocyte T régulateur induit  
**Mhf** *Mycoplasma haemofelis*  
**MGG** May Grünewald Giemsa  
**MMF** Mycophénolate Mofétil  
**NK** Natural killer  
**PCR** Réaction en chaîne par polymérase  
**PIF** Péritonite infectieuse féline  
**PO** *Per os*  
**PRCA** Pure red cell aplasia  
**PTU** Propylthiouracile  
**RT-PCR** Retrotranscriptase-PCR  
**SC** Sous cutané  
**TGF- $\beta$**  Tumor growth factor  $\beta$   
**TNF- $\alpha$**  Tumor necrosis factor  $\alpha$   
**TRAIL** TNF-related apoptosis inducing ligand  
**VGM** Volume globulaire moyen

# Introduction

---

Les anémies hémolytiques à médiation immune (AHMI) sont des anémies par destruction accrue des érythrocytes en raison d'un dysfonctionnement du système immunitaire (McCullough, 2003).

Parmi les AHMI, on distingue les AHMI primaires, maladie auto-immune sans cause sous-jacente identifiable, des AHMI secondaires, dont une autre affection est à l'origine de la réponse inappropriée du système immunitaire (Stokol, 2010a). Lors d'AHMI félines, les signes cliniques, conséquents à l'anémie, sont peu spécifiques en dehors des muqueuses pâles (tachypnée, tachycardie, dysorexie, abattement, souffle cardiaque...) (Stokol, 2010a). En cas d'AHMI secondaire, à ces symptômes généraux, s'ajoutent des anomalies propres à la cause sous-jacente (McCullough, 2003). Le diagnostic de l'AHMI se fait, le plus souvent, via une hémagglutination persistante et/ou un test de Coombs positif dans un contexte d'anémie hémolytique (Garden *et al.*, 2019). Le traitement associe un soutien de la fonction d'oxygénation, un ou plusieurs immunosuppresseurs et une suppression de la maladie sous-jacente à l'anémie en cas d'AHMI secondaire (Stokol, 2010a). Les AHMI seraient les anémies de meilleurs pronostic (Korman *et al.*, 2013), mais un fort taux de rechute est noté (Stokol, 2010a).

Chez le chat, cette affection est peu documentée et était initialement considérée comme rare. Or, des études récentes recensent un nombre conséquent d'AHMI chez le chat : 8-20% des chats anémiés seraient atteints d'une AHMI (Kohn *et al.*, 2006 ; Korman *et al.*, 2013). Par ailleurs, bien que de nombreuses informations à propos des AHMI canines, plus documentées, soient applicables aux chats, il existe des particularités propres à l'espèce féline (Stokol, 2010a). Ainsi, il semble judicieux de poursuivre la récolte d'information au sujet de cette affection.

Cette étude a deux objectifs. Dans un premier temps, il s'agira de faire une synthèse bibliographique de l'état actuel des connaissances sur les AHMI félines primaires comme secondaires, concernant l'étiopathologie, le diagnostic, le traitement et le pronostic. Dans un second temps, nous nous intéresserons aux cas d'AHMI féline au sein du centre hospitalier universitaire vétérinaire d'Alfort de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort afin de corroborer les observations déjà recensées par la littérature ou de signaler de nouvelles données sur cette affection. En particulier nous tenterons d'évaluer l'existence d'éventuelles prédispositions liées à l'âge, à la race et au sexe tant pour les AHMI félines primaires que secondaires, mais aussi de déterminer si des signes cliniques et biologiques sont évocateurs d'un type d'AHMI, d'estimer la durée de survie associée à chaque affection, notamment en fonction du traitement reçu, et de déterminer d'éventuels facteurs pronostiques de mortalité dans une large cohorte de chats atteints.



# Première partie : bibliographie

Une anémie se caractérise par un taux circulant d'hémoglobine insuffisant ayant pour conséquence une hypoxie tissulaire (Trumel *et al.*, 2004 ; Bellier et Cordonnier, 2010).

Les anémies sont classifiées en deux grandes catégories : les anémies centrales et les anémies périphériques. Les anémies centrales induisent une production insuffisante d'érythrocytes et sont donc qualifiées d'arégénératives ou d'hyporégénératives. Les anémies périphériques sont généralement associées à une érythropoïèse accrue et sont donc qualifiées de régénératives (Trumel *et al.*, 2004).

Trois mécanismes, seuls ou associés, peuvent être à l'origine d'une anémie : une production insuffisante ou inefficace d'érythrocytes, des pertes sanguines ou une érythrolyse accrue (Trumel *et al.*, 2004). Le **tableau 1** résume les différents mécanismes impliqués en fonction de l'origine centrale ou périphérique de l'anémie.

**Tableau 1** - Les différentes causes d'anémie en fonction de leur origine centrale ou périphérique d'après Trumel *et al.* (2004)

Anémie arégénérative	Causes extramédullaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hémorragie ou hémolyse aiguë avant réticulocytose</li> <li>- Par carence en cuivre ou en fer</li> <li>- Par carence en érythropoïétine</li> <li>- Endocrinopathie</li> <li>- Maladie inflammatoire chronique</li> </ul>
	Aplasie ou hypoplasie érythrocytaire	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Toxique</li> <li>- Métabolique</li> <li>- Infectieuse</li> <li>- A médiation immune</li> </ul>
	Myélodysplasie	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Infectieuse</li> <li>- Syndrome pré-leucémique</li> <li>- Carence en vitamines B6, B9, B12</li> </ul>
	Myéloptisie	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Infiltration tumorale (hématopoïétique / Carcinome métastatique)</li> <li>- Myélofibrose</li> </ul>
	Ostéosclérose/pétrose	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Infectieuse</li> <li>- Paranéoplasique</li> </ul>
Anémie régénérative	Par pertes sanguines	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Coagulopathie</li> <li>- Traumatique</li> <li>- Chirurgicale</li> <li>- Parasitisme massif</li> <li>- Saignements chroniques</li> <li>- Tumoral</li> </ul>
	Par hémolyse	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Microangiopathies</li> <li>- A médiation immune primaire ou secondaire</li> <li>- Infectieuse</li> <li>- Instabilité membranaire (oxydative ou hypophosphatémie)</li> <li>- Déficit enzymatique</li> <li>- Syndrome hémophagocytaire</li> </ul>

Les anémies hémolytiques à médiation immunitaire (AHMI), c'est-à-dire les anémies par destruction accrue des érythrocytes en raison d'un dysfonctionnement du système immunitaire, peuvent ainsi être périphériques et/ou centrales (McCullough, 2003).

L'objectif de cette partie est de dresser une synthèse des publications parues jusqu'à ce jour sur les anémies hémolytiques à médiation immunes félines, en particulier leur étiopathogénie, leur diagnostic, leur traitement et leur pronostic.

## **1. Physiologie de l'érythropoïèse et de l'érythrolyse – Etiopathogénie des anémies hémolytiques à médiation immune**

Des rappels concernant l'érythropoïèse, l'érythrolyse et le fonctionnement du système immunitaire sont nécessaires à la compréhension de l'étiopathogénie des AHMI chez le chat.

### **A. Physiologie de l'érythropoïèse et de l'érythrolyse**

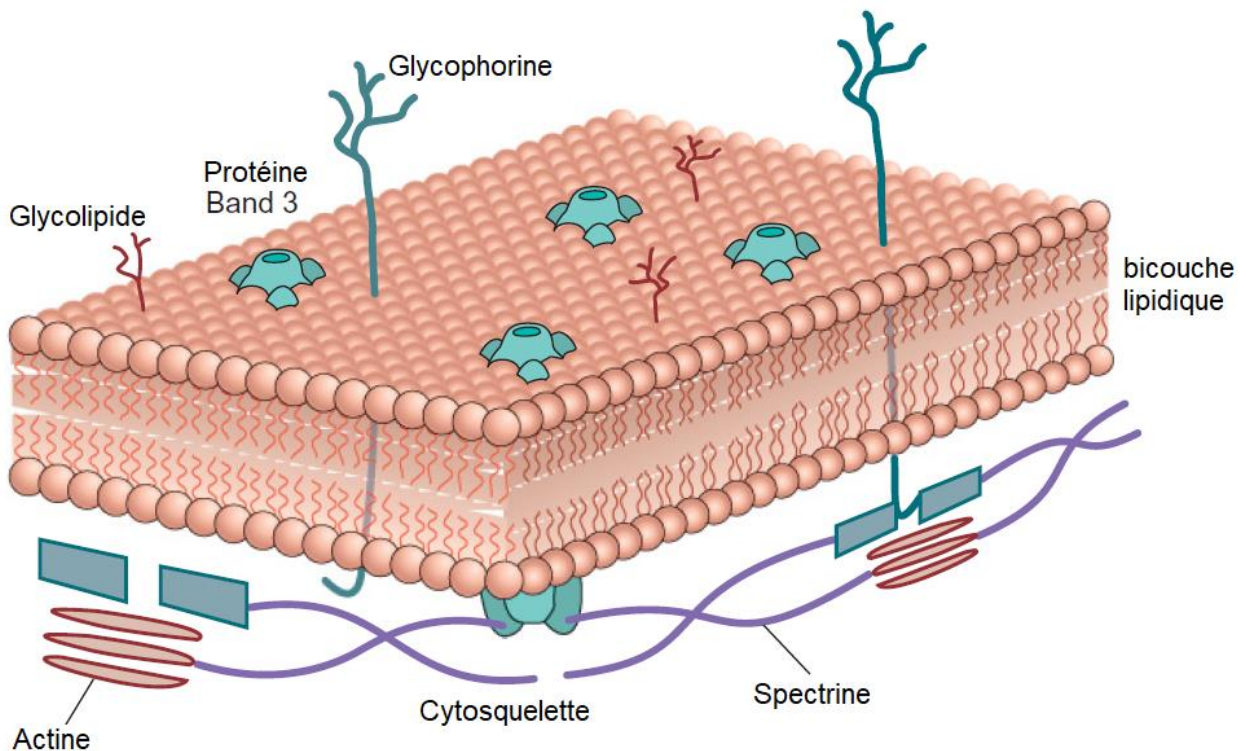
L'érythropoïèse désigne l'ensemble des processus à l'origine de la formation des érythrocytes tandis que l'érythrolyse désigne l'ensemble des processus à l'origine de la destruction des érythrocytes sénescents (Harvey, 2012a).

#### ***a. Structure et rôle des érythrocytes***

Les érythrocytes, aussi appelées hématies ou globules rouges (GR), sont des cellules sanguines de petite taille (5,5 à 6  $\mu\text{m}$  de diamètre chez le chat) en forme de disque biconcave. Cette morphologie leur confère un rapport surface/volume élevé et leur permet les déformations nécessaires à leur circulation dans les vaisseaux sanguins de faible diamètre (Harvey, 2012b).

Chez les Mammifères, les GR ne possèdent pas d'organites ni de noyau ; la synthèse de protéines est donc impossible à ce stade (Harvey, 2012a). La membrane plasmique des hématies est constituée de phospholipides, de cholestérol et de glycoprotéines associées à des glycolipides. Ces glycoprotéines assurent les fonctions de récepteurs et transporteurs mais portent aussi les antigènes érythrocytaires (Harvey, 2012a). Un réseau de protéines court sur la face interne de la membrane cytoplasmique (**Cf figure 1**), composé majoritairement de spectrines  $\alpha$  et  $\beta$ . Ce réseau est relié à la membrane cytoplasmique par des protéines transmembranaires dont la glycophorine et la protéine band 3 (Day, 2010 ; Harvey, 2012a).

**Figure 1** - Schéma de la membrane érythrocytaire et des protéines structurales associées d'après Day (2010)

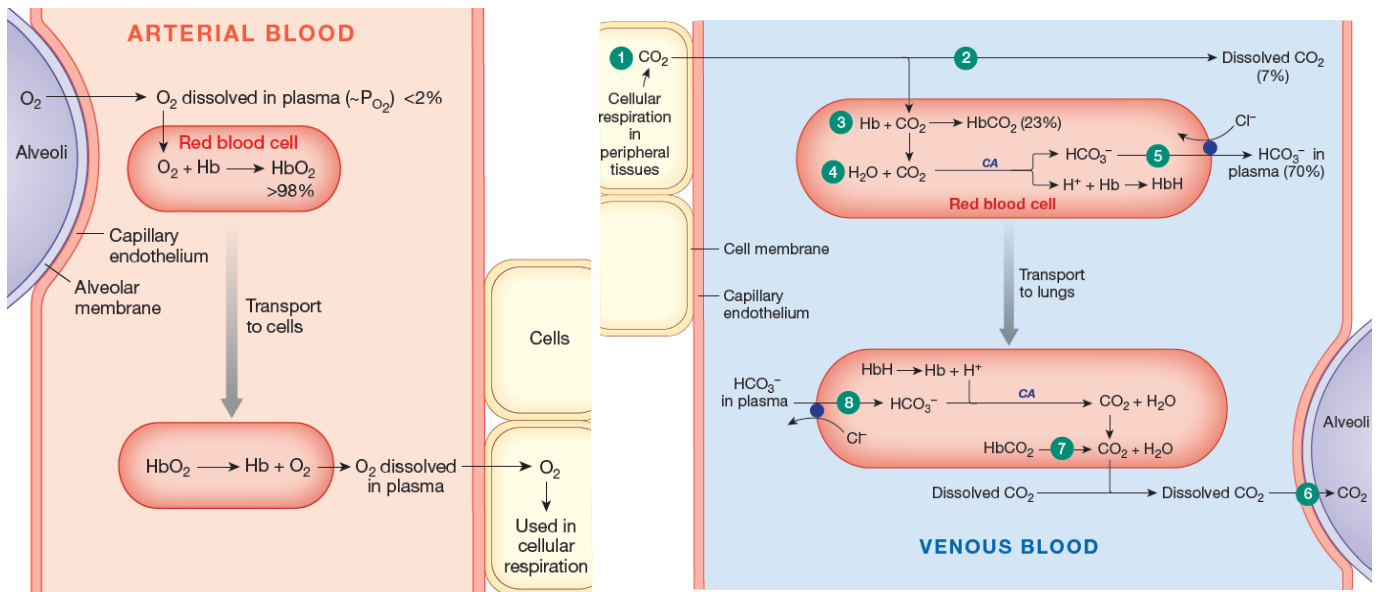


Près d'un tiers du volume plasmatique des érythrocytes est occupé par l'hémoglobine (Harvey, 2012a), pigment permettant de fixer, transporter et délivrer l'oxygène aux tissus (Silverthorn, 2019a). La synthèse de l'hémoglobine est réalisée dans les progéniteurs érythrocytaires et nécessite la présence de fer. Le rôle principal du GR est donc de transporter l'oxygène. En effet, moins de 2% de l'oxygène peut être transporté sous forme dissoute dans le plasma, 98% étant transporté lié à l'hémoglobine (Silverthorn, 2019a) (**Cf figure 2**).

Les hématies participent également au transport de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ). En effet, seulement 7% du  $\text{CO}_2$  circule dissout dans le sang. L'anhydrase carbonique, enzyme présente dans le cytoplasme des GR, catalyse la formation d'acide carbonique à partir de  $\text{CO}_2$  et d'eau. L'acide carbonique formé s'ionise alors spontanément pour former un ion bicarbonate et un proton  $\text{H}^+$ . L'ion bicarbonate sort du GR *via* un cotransporteur  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  pour être transporté sous cette forme dans le sang. Cette forme représente 70% du transport de  $\text{CO}_2$  dans le sang. Enfin 23% du  $\text{CO}_2$  est transportée fixée à l'hémoglobine (Silverthorn, 2019a) (**Cf figure 2**).



**Figure 2** – Rôle des hématies dans le transport de l’oxygène et du dioxygène d’après Silverthorn (2019)



CA = anhydrase carbonique Hb = hémoglobine

Les érythrocytes participent aussi à la régulation du pH sanguin, la nature protéique de l’hémoglobine lui conférant un pouvoir tampon (Harvey, 2012a).

Ainsi, au vu du rôle majeur des érythrocytes dans le transport de l’oxygène depuis les poumons vers les tissus périphériques, une anémie se traduit par une hypoxie tissulaire.

### ***b. Etapes et régulation de l’érythropoïèse la***

L’érythropoïèse, chez le chat adulte, a lieu dans moëlle osseuse hématopoïétique, tout comme la myélopoïèse (formant les granulocytes neutrophiliques, éosinophiles et basophiles, ainsi que les monocytes), la lymphopoïèse (formant les lymphocytes), et la thrombopoïèse (formant les thrombocytes) (Sharkey et Hill, 2010).

Les cellules hématopoïétiques s’organisent autour des sinus vasculaires dans la cavité médullaire. Chaque lignée occupe un emplacement spécifique : les granulocytes, les lymphocytes et les macrophages sont concentrés près de l’endoste et des artérioles, tandis que les mégacaryocytes (précurseurs des plaquettes) et les cellules érythroïdes sont situés près des sinus veineux. L’érythropoïèse s’organise en îlots érythroblastiques. Il s’agit d’un macrophage central entouré de cercles concentriques de précurseurs érythrocytaires, les cellules les plus matures étant à la périphérie (Sharkey et Hill, 2010 ; Harvey, 2012a) (cf figure 3).

**Figure 3** - Organisation de la moelle osseuse hématopoïétique d'après Sharkey et Hill (2010)



*Mega* = mégacaryocyte

Les cellules hématopoïétiques sont schématiquement réparties en trois compartiments fonctionnels : les cellules souches, les progéniteurs et les précurseurs (Harvey, 2012b) (**cf figure 4**). L'ensemble des cellules hématopoïétiques dérivent d'une même cellule souche appelée Colony forming unit in Spleen (CFU-S). Les CFU-S sont capables d'auto-renouvellement, c'est-à-dire de se diviser pour donner deux cellules filles identiques sans se différencier. Elles sont pluripotentes, c'est-à-dire qu'elles sont capables de se différencier en l'ensemble des lignées hématopoïétiques (Harvey, 2012b).

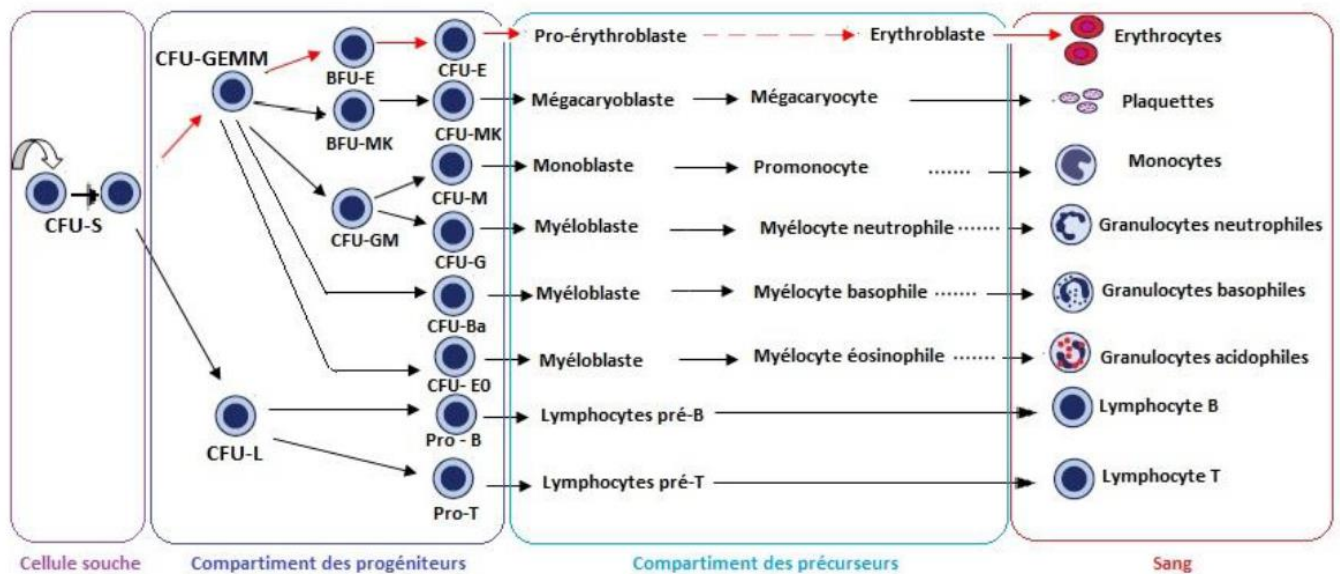
La différenciation correspond à la production de cellules matures et fonctionnelles à partir de cellules souches *via* deux étapes successives : la détermination – orientation progressive vers une lignée spécialisée avec perte de la pluripotence et acquisition de nouvelles fonctions – et la maturation – obtention d'une morphologie propre et de fonctions spécifiques (Harvey, 2012b).

La cellule souche pluripotente se différencie en progéniteurs lymphoïdes et myéloïdes qui à leur tour se différencient en progéniteurs plus engagés dans leur voie de différenciation. Ces progéniteurs donnent ensuite des précurseurs ayant perdu toute capacité d'auto-renouvellement. La maturation des précurseurs est à l'origine de cellules fonctionnelles (Harvey, 2012b).

Seule l'érythropoïèse sera détaillée. La CFU-S est à l'origine du progéniteur myéloïde, appelé CFU-GEMM pour Colony Forming Unit – granulocyte erythrocyte monocyte megakaryocyte. Ce premier progéniteur est à l'origine d'une succession de progéniteurs : BFU-E pour Burst Forming Unit –

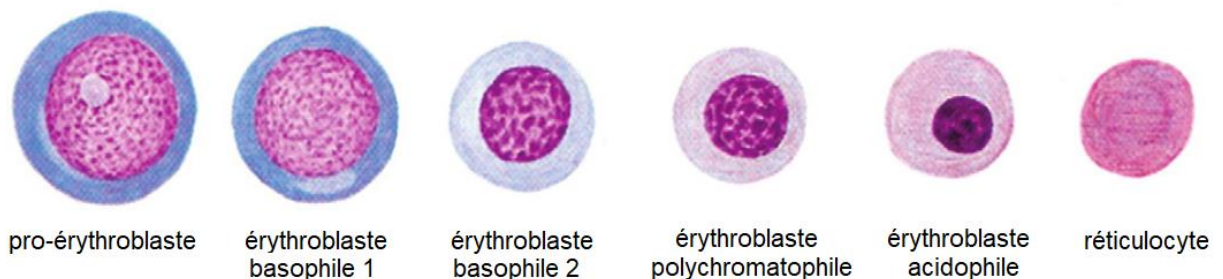
erythrocyte puis CFU-E pour Colony Forming Unit – erythrocyte. Ce dernier progéniteur est à son tour à l'origine des précurseurs érythroïdes (Harvey, 2012b).

**Figure 4** - Schéma de l'hématopoïèse d'après Harvey (2012b), modifié par Menard (2013)



Les précurseurs érythroïdes sont les premières cellules morphologiquement identifiables. Ils se différencient successivement en pro-érythroblaste, érythroblaste basophile, érythroblaste polychromatophile, érythroblaste acidophile et réticulocyte. Au cours de leur maturation, ces précurseurs diminuent de taille, leur chromatine se condense et leur cytoplasme se charge en hémoglobine, le rendant plus éosinophile. En revanche, le cytoplasme s'appauvrit peu à peu en ribosome, qui ne persistent qu'en périphérie du cytoplasme au stade érythroblaste polychromatophile. Au stade érythroblaste acidophile, le noyau est très condensé et s'excentre : il est pycnotique. Il est enfin expulsé pour donner le stade réticulocyte (Harvey, 2012b) (Cf figure 5). La maturation des réticulocytes débute dans la moelle osseuse et se poursuit dans le sang et la rate. Ils deviennent alors plus déformables et perdent leur capacité à adhérer à la matrice extracellulaire (Harvey, 2012b).

**Figure 5** - Aspect des précurseurs érythroïdes après coloration de May Grünwald Giemsa d'après Harvey (2012)



La régulation de l'érythropoïèse dépend de la présence de facteurs de croissance et de facteurs d'inhibition de l'érythropoïèse (Olver, 2010). L'érythropoïétine (EPO) est la principale hormone régulant l'érythropoïèse. Il s'agit d'une glycoprotéine produite en majorité par les fibroblastes de l'interstitium péri-tubulaire rénal. Une faible quantité d'EPO est produite par le foie en cas d'anémie

(Olver, 2010), mais aussi par les macrophages de la moelle osseuse (régulation paracrine) et les progéniteurs érythroïdes (régulation autocrine) (Harvey, 2012b). La production d'EPO dépend du facteur inductible par l'hypoxie (HIF-1). La concentration de l'HIF-1 augmente lorsque la quantité d'oxygène diminue. Or, sa présence stimule la transcription du gène de l'EPO. Ainsi en cas d'hypoxie, la production d'EPO est stimulée (Olver, 2010). L'EPO, lorsqu'elle se fixe sur son récepteur (EPOR) inhibe l'apoptose, stimule la prolifération et la différenciation (Harvey, 2012b). Les progéniteurs érythroïdes expriment l'EPOR à partir du stade BFU-E tardif, et la quantité maximale de récepteurs est atteinte au stade CFU-E. Les précurseurs érythroïdes expriment aussi l'EPOR mais en quantité plus modérée et décroissante au fil de la maturation cellulaire. En raison de la quantité élevée d'EPOR qu'ils expriment, les CFU-E répondent très fortement à l'EPO, ce qui aboutit à une libération de réticulocytes en quantité importante dans la circulation sanguine (Harvey, 2012b). D'autres hormones et cytokines stimulent l'érythropoïèse dans une moindre mesure (Olver, 2010).

Les facteurs d'inhibition de l'érythropoïèse sont des cytokines induisant l'apoptose des progéniteurs et précurseurs érythroïdes. Il s'agit principalement des cytokines TGF- $\beta$  (Tumor Growth Factor  $\beta$ ), TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ ), IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$  (Interferon  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ ), IL-1, IL-6 (Interleukine 1 et 6) et TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand) (Olver, 2010 ; McCown et Specht, 2011 ; Harvey, 2012b).

### ***c. Etapes et régulations de l'érythrolyse***

L'érythrolyse comprend l'ensemble des étapes de dégradation des érythrocytes. La durée de vie des hématies chez le chat est d'environ 73 jours (Christian, 2010).

Les dommages oxydatifs sont responsables du vieillissement des GR et de leur retrait de la circulation sanguine. En effet, l'oxydation est responsable de la fixation de l'hémoglobine oxydée à la spectrine, d'une modification de la répartition des phospholipides membranaires avec une exposition de la phosphatidylsérine (normalement située sur le feuillet interne de la bicouche lipidique) à la surface membranaires, d'un appauvrissement des glycoprotéines membranaires en acide sialique et d'une modification de certaines protéines membranaires (comme la protéine band-3) (Christian, 2010 ; Harvey, 2012a). Or ces altérations de la membrane cellulaire peuvent être reconnues par les macrophages, qui retirent alors les cellules concernées de la circulation sanguine par phagocytose (Christian, 2010 ; Harvey, 2012a).

Le dévoilement d'antigènes érythrocytaires chez les cellules sénescents semble être un signal fort de retrait de la circulation (Harvey, 2012a). En effet, il existe des anticorps dirigés contre la protéine band-3 modifiée, jouant le rôle d'antigène, circulant naturellement chez l'homme. De plus, une accumulation d'anticorps à la surface des GR sénescents a été rapportée chez le chien (Harvey, 2012a). L'opsonisation des GR par les anticorps favorise alors leur phagocytose par les macrophages, ce signal étant amplifié par la fixation du complément (Christian, 2010 ; Harvey, 2012a) (**Cf Première Partie.1.B.** pour les rappels d'immunologie).

En réponse à ces différents signaux de sénescence, les GR sont retirés de la circulation sanguine et phagocytés par les macrophage de la rate, du foie et de la moelle osseuse principalement (Harvey, 2012a). L'érythrolyse physiologique est donc essentiellement extravasculaire (Harvey, 2012a).

L'hémoglobine est alors dissociée en globine et hème. La globine est ensuite dégradée en acides aminés réutilisables par l'organisme tandis que l'hème est dégradé en fer et biliverdine. Le fer pourra

être réutilisé pour l'hématopoïèse. La biliverdine est transformée en bilirubine non conjuguée, transportée au foie qui la transforme en bilirubine conjuguée, plus hydrosoluble, et est excrétée dans la bile. Dans l'intestin, la bilirubine est dégradée en urobilinogène et en stercobilinogène. L'urobilinogène est réabsorbé dans le sang puis excrété dans l'urine sous forme d'urobiline tandis que le stercobilinogène est transformé en stercobiline et excrété dans les selles. Urobiline et stercobiline sont responsable respectivement de la coloration des urines et des selles (Christian, 2010).

## **B. Rappels d'immunologie**

### ***a. Immunité innée et adaptative***

L'immunité est composée de deux phases : une réponse innée rapide puis une réponse adaptative plus lente (Silverthorn, 2019b).

L'immunité innée, présente dès la naissance, est une réponse immédiate à une invasion. Elle n'est pas spécifique du pathogène, ce qui lui permet de s'initier sous quelques minutes à heures. L'inflammation est le signe classique d'une réponse immunitaire innée. Une réponse immunitaire innée à un pathogène n'est pas mémorisée par l'organisme et doit être renouvelée à chaque nouvelle exposition. Les cellules responsables de l'immunité innée sont des leucocytes circulants et intratissulaires génétiquement programmés pour répondre à une large gamme d'agents identifiés comme étrangers. Parmi ces leucocytes, les phagocytes identifient les agents étrangers, les phagocytent et les lysent. Les cellules présentatrices d'antigènes (CPA), sont des phagocytes qui, après avoir lysé les agents étrangers, en présente une partie à leur surface afin d'activer les cellules impliquées dans la réponse immunitaire adaptative (Silverthorn, 2019b).

La réponse immunitaire adaptative est dirigée contre les agents étrangers qui n'ont pas été éliminés par la réponse immunitaire innée, auxquelles elle adresse une réponse spécifique. Lors d'une première exposition, les étapes qui la constituent peuvent nécessiter plusieurs jours à semaine pour se mettre en place. Elle permet en revanche l'acquisition d'une mémoire de l'infection. Ainsi, lors de réexposition au même agent pathogène, les cellules mémoires seront mobilisées plus rapidement pour éliminer l'agent pathogène. L'immunité adaptative est composée de la réponse à médiation humorale et de la réponse à médiation cellulaire. La réponse à médiation cellulaire aboutit à la production de lymphocytes T cytotoxiques capables d'éliminer les cellules infectées, tandis que la réponse à médiation humorale aboutit à la production d'anticorps spécifiques par les lymphocytes B. Les anticorps se lient aux substances étrangères pour les désactiver ou les rendre plus visibles aux cellules du système immunitaire (Silverthorn, 2019b).

La réponse immunitaire innée mise en place très rapidement, est amplifiée par la réponse immunitaire adaptative. La communication et la coordination de tous les composants des deux réponses immunitaires est essentielle (Silverthorn, 2019b).

### ***b. Les acteurs de la réponse immunitaire***

- *Les cellules immunitaires*

Les cellules immunitaires sont produites et mûrissent dans les tissus lymphoïdes primaires (moelle osseuse hématopoïétique et thymus). Une fois mûres, les cellules immunitaires quittent les tissus lymphoïdes primaires pour rejoindre les tissus lymphoïdes secondaires (rate, nœud lymphatique et tissus lymphoïdes diffus) où elles exerceront leurs fonctions. Les leucocytes sont les cellules de

l'immunité. Elles sont divisées en granulocytes éosinophiles, granulocytes neutrophiles, granulocytes basophiles, mastocytes, monocytes, macrophages, cellules dendritiques, lymphocytes et plasmocytes. Les leucocytes comportent par ailleurs deux groupes fonctionnels de cellules : les phagocytes et les CPA. (Silverthorn, 2019b).

Les granulocytes basophiles et les mastocytes participent à l'inflammation et à la réponse immunitaire innée *via* la dégranulation de vésicules intracytoplasmiques. Les éosinophiles sont dirigés contre les parasites volumineux qu'ils détruisent *via* la dégranulation d'enzymes lytiques. Les neutrophiles sont des phagocytes responsables principalement de la destruction des bactéries, mais aussi de la sécrétion de molécules pro-inflammatoires. Les monocytes transitent quelques heures dans le sang avant de rejoindre leur position permanente dans les tissus. Ils se différencient alors en macrophages (Silverthorn, 2019b).

Les macrophages sont des phagocytes plus efficaces que les neutrophiles ; ils peuvent lyser des particules plus larges, telles que des érythrocytes et d'autres leucocytes. Suivant leur localisation, certains macrophages ont anciennement été dénommés histiocytes (dans la peau), cellules de Kupffer (dans le foie), ostéoclastes (dans les os), microglie (dans le cerveau) et cellules réticuloendothéliales (dans la rate). Aujourd'hui l'ensemble de ces macrophages tissulaires et les monocytes circulant est regroupé sous le terme « système des phagocytes mononucléaires ». Parmi ces cellules, les cellules dendritiques, disposant de longues prolongations cytoplasmiques d'aspect similaire à des dendrites de neurone, sont des CPA particulièrement efficaces. Elles sont présentes dans la peau (où elles sont dénommées cellules de Langerhans) et dans différents organes. En tant que CPA, elles jouent un rôle clef de communication entre immunité innée et adaptative en présentant à leur surface des antigènes (peptides antigéniques issus de la phagocytose de l'agent pathogène) (Silverthorn, 2019b).

Les lymphocytes sont les acteurs centraux de la réponse immunitaire adaptative. Ils regroupent les lymphocytes T, les lymphocytes B, ainsi que les cellules natural killer (NK). L'ensemble des lymphocytes sont produits dans la moelle osseuse, néanmoins seuls les lymphocytes B et NK y achèvent leur maturation : les lymphocyte T achèvent leur maturation dans le thymus. Les plasmocytes, lymphocytes B activés, sécrètent des anticorps aussi appelés immunoglobulines (Ig). Les lymphocytes T activés détruisent les cellules infectées (lymphocytes T cytotoxiques) et participent à la régulation de la réponse immunitaire (lymphocytes T régulateurs). Les cellules NK, appartenant à l'immunité innée, détruisent les cellules infectées en particulier par les virus. Les lymphocytes ciblent un antigène spécifique, chaque groupe de lymphocyte ciblant un même antigène étant appelé clone (Silverthorn, 2019b).

Le système immunitaire doit pouvoir distinguer ses propres cellules des agents étrangers. L'absence de réponse immunitaire face aux propres cellules d'un organisme est appelée tolérance du soi. Cette tolérance se développe durant la vie embryonnaire. Si des lymphocytes ciblant le soi sont malgré tout produits, différents mécanismes permettent de les inactiver, dont la délétion clonale. La délétion clonale correspond à la destruction des lymphocytes auto-réactifs dans les tissus lymphoïdes primaires. Elle se fait par sélection négative, c'est-à-dire que les lymphocytes détruits sont ceux capables de reconnaître les auto-antigènes (Silverthorn, 2019b).

A la naissance, chaque clone de lymphocyte est représenté par un faible nombre de cellules, appelés lymphocytes naïfs. La première exposition à un antigène active le clone approprié et stimule sa division. Ce processus, appelé expansion clonale, est à l'origine d'une population plus nombreuse

de cellules au sein du clone. Les lymphocytes nouvellement formés se différencient en cellules effectrices et en cellules mémoire. Les cellules effectrices traitent le phénomène immunitaire en cours puis meurent, tandis que les cellules mémoire ont une durée de vie élevée et continuent de se multiplier une fois la réponse immunitaire passée. Lors d'une seconde exposition à l'antigène, ces cellules mémoires s'activent et se multiplient de façon à répondre rapidement et fortement à l'antigène (Silverthorn, 2019b).

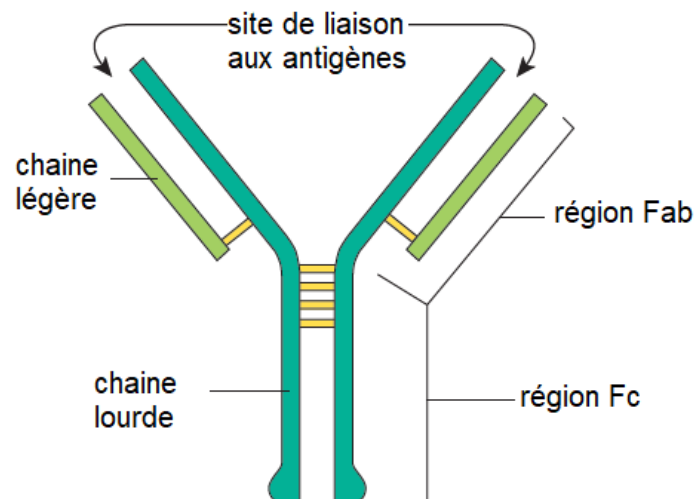
- *Le système du complément*

Le système du complément est constitué d'une trentaine de protéines plasmatiques. Inertes individuellement, elles peuvent interagir entre elles afin d'induire une réponse immunitaire innée puissante. L'activation du complément est séquentielle, on parle de cascade d'activation. L'activation du complément peut se faire suivant trois voies, dépendante ou non de la présence d'anticorps, et aboutissant à la formation d'une protéine appelée C3b. C3b en se liant aux pathogènes augmente leur reconnaissance par les phagocytes. De plus C3b participe à la formation du complexe d'attaque membranaire. Le complexe d'attaque membranaire est un groupe de protéines liposolubles, qui s'insère dans la membrane cellulaire des pathogènes et y forme des pores, responsables d'une lyse osmotique (Silverthorn, 2019b).

- *Les anticorps*

Les anticorps sont composés de 4 chaînes polypeptidiques, 2 lourdes et 2 légères, disposées en Y. La région Fab, partie variable, contient les sites de liaison aux antigènes, tandis que la région Fc, partie constante, détermine la classe à laquelle l'anticorps appartient (**Cf figure 6**). L'association des chaînes varie chez chaque clone de lymphocyte, ce qui leur confère leur spécificité (Silverthorn, 2019b).

**Figure 6** - Structure d'un anticorps, d'après Silverthorn (2019)



Il existe différentes classes d'anticorps, appelés aussi isotypes : les IgA, les IgD, les IgE, les IgG et les IgM. Les IgA sont localisés dans les muqueuses où elles se lient aux pathogènes pénétrant les barrières biologiques et les signalent aux phagocytes. Les IgD jouent un rôle de récepteur à la surface des lymphocytes B et participent à leur activation. Les IgE ciblent les parasites et sont

associés aux réponses allergiques : lorsque les mastocytes fixent des IgE liés à une antigène, ils dégranulent leurs vésicules intracytoplasmiques et libèrent ainsi des médiateurs chimiques tels que l'histamine. Les IgG sont les principaux anticorps circulants et sont des anticorps clefs dans la neutralisation des pathogènes. Certaines IgG sont capables d'activer le système du complément. Les IgM, premiers anticorps produits lors d'une première exposition, permettent une réponse rapide à un pathogène *via* l'activation massive du complément (Silverthorn, 2019b).

- *Les cytokines*

Les cytokines sont des glycoprotéines sécrétées par un grand nombre de cellules, en particulier les lymphocytes et macrophages. Leur rôle est de médier les signaux intercellulaires. Dans le cadre de la réponse immunitaire, elles coordonnent l'immunité innée et adaptative (Silverthorn, 2019b).

### **c. Les étapes de la réponse immunitaire**

Deux lignes de défenses se succèdent. Les barrières physico-chimiques, constituée par la peau et les muqueuses, assurent la première ligne de défense. Si cette ligne de défense est dépassée, la réponse immunitaire se met en place (Silverthorn, 2019b).

- *Une réponse immunitaire innée rapide*

Les leucocytes sont attirés sur le lieu de l'effraction *via* des signaux chimiques, on parle de chimiotaxisme. Ces signaux incluent des toxines bactériennes, des composants de la membrane cellulaire des pathogènes et des produits issus de dommages tissulaires. Une fois sur le site, les leucocytes activés sécrètent des cytokines afin d'attirer d'autres leucocytes sur le site d'infection. Les macrophages et neutrophiles reconnaissent les pathogènes, s'y lient et les phagocytent tandis que les cellules NK induisent par contact cellulaire l'apoptose des cellules infectées (Silverthorn, 2019b). La réponse immunitaire innée ne sera pas abordée plus en détails, car plus d'informations ne sont pas nécessaires à la compréhension de la pathogénie des anémies hémolytiques à médiation immune.

- *La présentation des antigènes*

L'initiation de l'immunité adaptative nécessite la présentation d'antigène aux lymphocytes. Le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) est responsable de la présentation des antigènes. Il s'agit d'une famille de protéines membranaires propres à chaque individu. Toutes les cellules d'un individu portent le CMH de classe I sur leur membrane. Le CMH de classe II est exprimé par les CPA. Les protéines du CMH se combinent avec les épitopes, fragments peptidiques des antigènes ayant été digérés par la cellule (Silverthorn, 2019b).

Les macrophages et les cellules dendritiques sont les principales CPA. Les cellules dendritiques après avoir phagocyté un pathogène et exprimé à leur surface un épitope, rejoignent les tissus lymphoïdes secondaires, tels que les nœuds lymphatiques, où elles présentent les antigènes aux lymphocytes pour les activer (Silverthorn, 2019b).

- *Une réponse spécifique aux pathogènes via la réponse immunitaire adaptative*

Les cytokines produites lors de la réponse innée, attirent les lymphocytes sur le lieu de l'infection. Les lymphocytes relarguent à leur tour des cytokines afin d'attirer un plus grand nombre de leucocytes (Silverthorn, 2019b).



Les lymphocytes B expriment de nombreux récepteurs à leur surface, de structure similaire aux anticorps. La liaison de ces récepteurs à un antigène concordant, active les lymphocytes. Une partie des lymphocytes se multiplie et une autre se différencie en plasmocytes. Les plasmocytes synthétisent et sécrètent les anticorps. Une fois l'épisode infectieux passé, la plupart des plasmocytes meurt. Quelques plasmocytes activés restent en vie et constituent des cellules mémoires (Silverthorn, 2019b).

Les anticorps ont plusieurs rôles (Silverthorn, 2019b) :

- La neutralisation des pathogènes : les anticorps se lient aux pathogènes et s'agglutinent les uns aux autres neutralisant ainsi l'organisme exogène ;
- L'inactivation des toxines bactériennes ;
- L'opsonisation des pathogènes : la formation d'immun-complexe (ensemble anticorps – antigène) permet de signaler plus efficacement l'antigène aux leucocytes ;
- Déclencher la dégranulation des cellules NK et des mastocytes : les anticorps liés aux récepteurs membranaires de ces cellules immunitaires permettent une reconnaissance des antigènes et activent la dégranulation des cellules
- Activer le complément.

Les lymphocytes T activés se développent en différents types cellulaires : les lymphocytes T cytotoxiques, les lymphocytes T helper (Th) et les lymphocytes T régulateur (Treg). Les lymphocytes T cytotoxiques détruisent les cellules infectées. Les lymphocytes Th n'attaquent pas directement les pathogènes ou cellules infectées. Ils se lient aux cellules immunitaires exprimant des antigènes sur leur CMH II. Cette liaison les active. Activés, ils produisent différents types de cytokines modulant l'activité des autres cellules immunitaires. Les lymphocytes Treg empêchent une réponse immunitaire excessive (Silverthorn, 2019b).

Les lymphocytes Treg n'utilisent pas un unique mécanisme de contrôle des lymphocytes T conventionnels, mais plutôt un arsenal de mécanismes de régulation qui peuvent être regroupés en quatre modes d'action : (1) la production de cytokines inhibitrices (Vignali *et al.*, 2008), (2) la cytolyse par contact cellulaire (Grossman *et al.*, 2004 ; Gondek *et al.*, 2005), (3) la perturbation du métabolisme des lymphocytes T entraînant leur apoptose (Pandiyan *et al.*, 2007), et enfin (4) l'inactivation des cellules dendritiques (Tadokoro *et al.*, 2006 ; Onishi *et al.*, 2008).

### **C. Mécanismes impliqués dans les AHMI**

Parmi les AHMI, on distingue AHMI primaire et secondaire. Lorsque la cause initiale de l'AHMI est inconnue, on parle d'AHMI primaire ou d'anémie hémolytique auto-immune. Lorsqu'une affection sous-jacente (infectieuse ou néoplasique par exemple) est à l'origine de l'AHMI, on parlera d'AHMI secondaire. Les hémolyses par incompatibilité de groupes sanguins (réactions transfusionnelles et isoérythrolyse néonatale) sont considérées comme des AHMI secondaires (Stokol, 2010a).

Les AHMI peuvent être périphériques et/ou centrales. En effet, les AHMI sont généralement causées par la liaison d'anticorps aux membranes des hématies circulantes, ce qui entraîne leur retrait prématuré de la circulation sanguine par des phagocytes. Néanmoins, dans certains cas, la réponse immunitaire est dirigée vers les précurseurs des hématies situés dans la moelle osseuse (Stokol, 2010a).

La partie suivante décrit plus en détails les mécanismes sous-jacents aux AHMI qu'elles soient périphériques ou centrales. Peu de données existent dans la littérature à propos des mécanismes responsable des AHMI félines, ainsi, les publications citées ci-dessous traitent principalement des AHMI canines et humaines.

#### **a. Destruction des hématies circulantes**

- *Mécanismes de destruction des hématies*

Une AHMI est caractérisée par la présence d'autoanticorps, généralement des IgG ou IgM, dirigés contre les GR. L'opsonisation des hématies réduit leur durée de vie en stimulant leur phagocytose par des macrophages et/ou leur lyse par le complément. La phagocytose dans la rate (principalement), mais aussi dans le foie et les os, est appelée hémolyse extravasculaire. La lyse par le complément dans la circulation sanguine est appelée hémolyse intravasculaire. Chez les chats, l'hémolyse est principalement extravasculaire (Day, 2010).

- *Les cibles érythrocytaires de la réponse immunitaire*

Les antigènes induisant une AHMI peuvent être intrinsèques aux GR (on parle d'autoantigènes) ou bien être des protéines exogènes (comme des médicaments ou des agents infectieux) qui se lient aux GR ou les modifient de telle sorte qu'ils expriment des antigènes (Stokol, 2010a). Les antigènes cibles de la réponse immunitaire lors d'AHMI n'ont, à ce jour, pas été identifiés chez le chat (Stokol, 2010a). Ces antigènes ont en revanche été identifiés chez l'homme, le chien et la souris. Les cibles les plus courantes chez l'homme (70% des cas d'AHMI primaires) sont les protéines Rh (Barker *et al.*, 1992) (Leddy *et al.*, 1993) qui participent à l'établissement des groupes sanguins. Des autoanticorps ciblant les glycophorines (protéines membranaires fortement glycosylées des GR) ou la protéine Band 3 des antiports anioniques des GR sont aussi retrouvés chez une minorité de patients (Barker *et al.*, 1992, Leddy *et al.*, 1993). Les antigènes identifiés dans l'espèce canine sont majoritairement les glycophorines et plus rarement la protéine Band 3 (Barker *et al.*, 1991). Chez la souris, la protéine Band 3 est la cible majoritaire en cas d'AHMI primaire (Barker *et al.*, 1993).

- *Les lymphocytes acteurs de l'hémolyse auto-immune*

Des études réalisées chez des humains atteints d'AHMI primaire et des souris NZB (souris génétiquement modifiées atteintes d'AHMI) ont identifié les lymphocytes Th comme étant à l'origine de la production par les lymphocytes B d'autoanticorps dirigés contre les antigènes cités précédemment (Hooper et Taylor, 1987 ; Oliveira *et al.*, 1994 ; Perry *et al.*, 1996 ; Barker *et al.*, 1997).

Deux populations de lymphocytes Th ont été établies en fonction du type de cytokines produites : les Th1 et les Th2, qui produisent respectivement de l'IFN- $\gamma$  et de l'IL-2 pour les uns, de l'IL-4 et 10 pour les autres (Mosmann et Coffman, 1987). L'étude des cytokines produites chez les patients atteints d'AHMI a permis d'identifier l'implication des lymphocytes Th1 dans la maladie (Hall *et al.*, 1999).

Suite à la découverte plus récente de lymphocytes Th17 caractérisés par la sécrétion de cytokine inflammatoire IL-17, le mécanisme sous-jacent à de nombreuses maladies auto-immunes a été réévalué, dont celui des AHMI (Harrington *et al.*, 2006). Les résultats sont les suivants. Les lymphocytes Th17 sont présents en quantité significativement plus élevée chez les patients atteints d'AHMI primaire et le degré de leur élévation plasmatique est corrélée positivement avec la sévérité

de la maladie (Xu *et al.*, 2012). Les résultats sont identiques en ce qui concerne la quantité d'IL-17 sanguine chez ces mêmes patients (Xu *et al.*, 2012). Enfin, le transfert de lymphocytes Th17 à un modèle murin d'AHAI a déclenché la maladie dans 80% des cas (Xu *et al.*, 2012). A l'inverse, la neutralisation de l'IL-17 a diminué l'incidence de la maladie et diminué sa sévérité (Xu *et al.*, 2012). Ainsi les lymphocytes Th17 semblent eux aussi essentiels au développement de l'AHAI humaine et murine.

Les lymphocytes Th1 et Th17 semblent donc impliqués dans le développement des AHMI humaines, canines (pas d'études concernant les Th17 dans cette espèce) et murines.

- *Délétion thymique et anergie périphérique*

La délétion thymique et l'anergie périphérique ont été les premières hypothèses de défaillance du système immunitaire dans un contexte d'AHMI. La délétion thymique a été présentée précédemment (**Cf première partie.1.B**). L'anergie périphérique correspond à l'inactivation périphérique des lymphocytes T lorsqu'ils reconnaissent un antigène en absence de costimulation simultanée par une cellule présentatrice d'antigène (Ramsdell *et al.*, 1989).

Néanmoins, des lymphocytes Th circulant possédant des récepteurs dirigés contre les GR endogènes ont été détectés chez des souris et humains sains, certains n'ayant pas été inactivés par anergie périphérique (Barker et Elson, 1994, Hooper et Taylor, 1987). Ainsi, l'échappement à la délétion thymique et l'anergie périphérique ne sont pas des mécanismes suffisants pour expliquer tous les cas d'AHMI (Hooper et Taylor, 1987, Barker et Elson, 1994).

- *La présentation inadaptée par les CPA d'épitopes cryptiques*

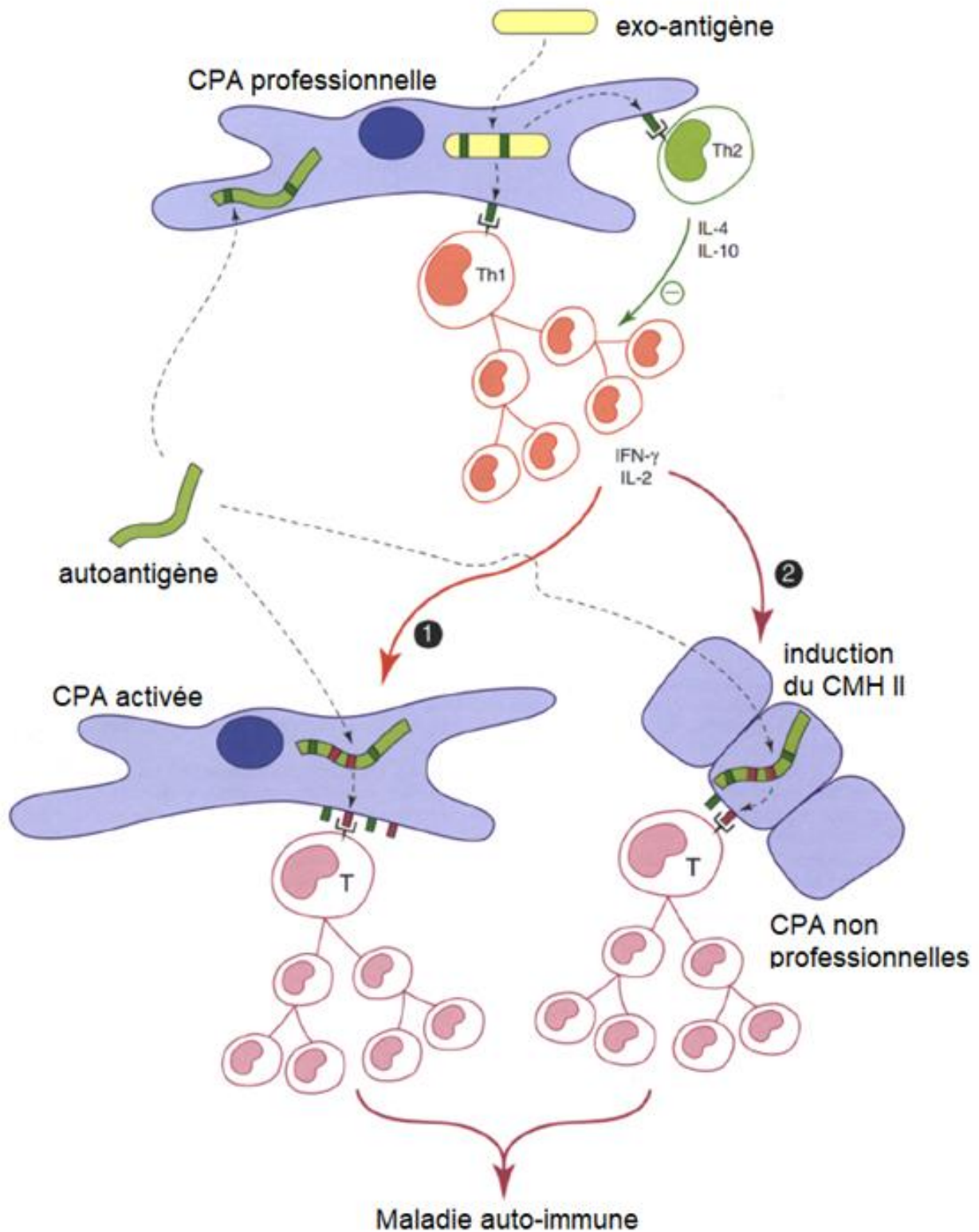
De nombreux auto-épitopes ne sont pas accessibles aux lymphocytes, soit parce qu'ils sont apprêtés et présentés de manière inefficace par les CPA à partir de l'antigène intact, soit parce qu'ils sont inaccessibles au sein du GR et ne se dévoilent qu'en cas de conditions particulières, on parle alors d'épitope « cryptique » (Barker et Elson, 1994, Hooper et Taylor, 1987, Lehmann *et al.*, 1993). L'apprêtement correspond à la fragmentation de l'antigène protéique et peptides antigéniques et en leur association à une molécule du CMH (Silverthorn, 2019b).

Or, les cytokines de lymphocytes Th1 sont capables d'induire une modification du pool enzymatique exprimé par les CPA : l'IFN- $\gamma$  est par exemple capable d'induire la production de protéases telles que les cathepsines (Rossman *et al.*, 1990) et de réguler l'activité des protéasomes (Yang *et al.*, 1992). De plus, l'apprêtement des antigènes est différents suivant le type de CPA (Vidard *et al.*, 1992). Ainsi, en cas de recrutement de CPA non professionnelles, de nouveaux épitopes peuvent être présentés (Elson *et al.*, 1995). Ainsi, lors de conditions particulières, il est possible que des auto-anticorps auparavant cryptiques soient dévoilés aux lymphocytes (Elson *et al.*, 1995).

Ce dévoilement d'antigènes cryptiques pourrait aussi être favorisé par une stimulation du système immunitaire par des exo-antigènes (Barker et Elson, 1994). Plusieurs études soutiennent cette hypothèse (Watts *et al.*, 2003). Par exemple, l'étude d'un modèle d'arthrite rhumatoïde murine a mis en évidence la nécessité d'un environnement non stérile pour déclencher la maladie auto-immune à réponse Th1 (Elson *et al.*, 1995). De plus, il a été mis en évidence que des agents pathogènes sont capables d'interférer avec l'apprêtement des antigènes (Watts *et al.*, 2003) : les mycobactéries perturbent la maturation normale des compartiments phagocytaires dans lesquels elles résident (Mèresse *et al.*, 1999) et le nématode *Brugia malayi* synthétise un homologue d'une protéase des cellules dendritiques capable d'influencer le traitement des antigènes (Manoury *et al.*, 2001).

Le mécanisme supposé impliquant lymphocyte Th1, antigènes cryptiques et exo-antigènes est résumé dans la **figure 7**.

**Figure 7** - Lymphocytes Th1, antigènes cryptiques exogènes cryptiques, un premier modèle d'explication des maladies auto-immunes, d'après Elson *et al.* (1995)



Néanmoins, en ce qui concerne l'AHMI, il n'existe pas encore de données venant confirmer ces hypothèses.

- *Une réponse immunitaire exacerbée en raison d'une régulation défailante*

Un échec des mécanismes de contrôle de l'activation des lymphocytes Th1 est suspecté (Barker et Elson, 1994).

Un déséquilibre entre les sous-types Th1 et Th2 est une première piste. En effet, il existe un antagonisme mutuel entre ces 2 sous types (Paul et Seder, 1994). De nombreuses maladies auto-immunes humaines (Hill *et al.*, 1999) et animales (Liblau *et al.*, 1995) sont notamment caractérisées par une dominance du groupe Th1 et par une amélioration clinique et biologique suite l'induction d'une réponse Th2. Une prédominance du sous-type Th1 est observé chez les humains atteints d'AHMI primaire (Hall *et al.*, 1999) et les souris NZB (Shen *et al.*, 1996). Une telle déviation vers le sous type Th1 est une caractéristique de la maladie : il n'est pas partagé par les donneurs sains lorsque leurs lymphocytes Th sont mis en contact avec des antigènes de GR étrangers. Par ailleurs, l'induction d'un virage Th2 chez les souris NZB a permis une amélioration de la maladie (Shen *et al.*, 2003) et un taux élevé d'IL-10 chez les patients atteints d'AHMI primaire est associé à une anémie moins sévère (Hall *et al.*, 2002). Il a donc été suggéré que les patients atteints d'AHMI primaire sont capables d'exprimer une réponse régulatrice Th2, mais que cette réponse est insuffisante pour contrôler de façon permanente l'autoréactivité des cellules Th1 pathogènes (Hall *et al.*, 2002).

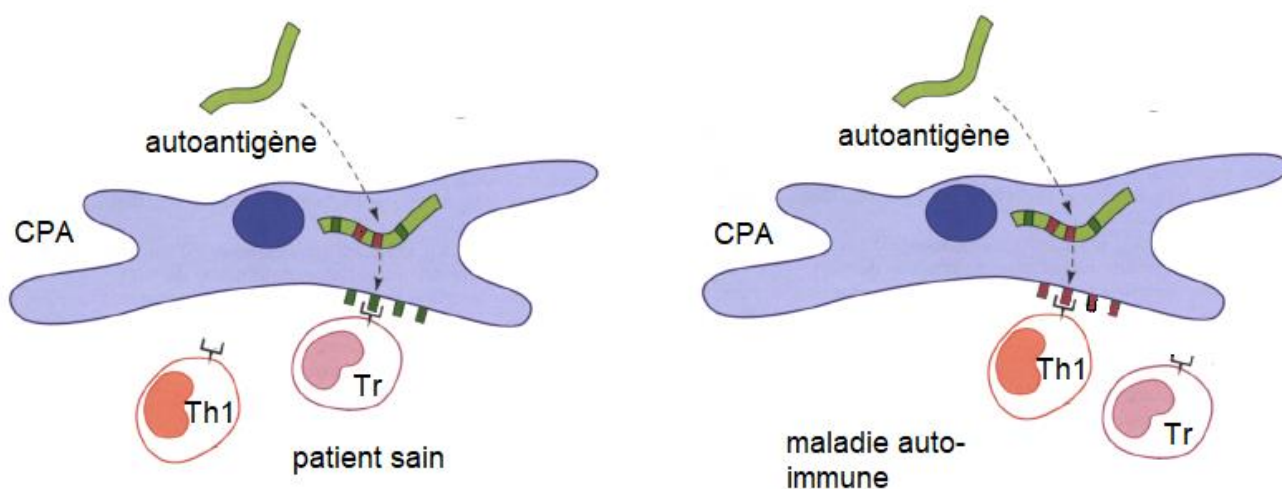
Des expériences de thymectomie et de transfert de différentes populations de lymphocytes, ont mis en évidence le rôle protecteur des lymphocytes Treg vis-à-vis des maladies auto-immunes (Sakaguchi *et al.*, 1995). Les lymphocytes Treg expriment spécifiquement le gène Foxp3, un facteur de transcription de la famille forkhead, dont l'expression est nécessaire à leur survie et à l'expression du phénotype régulateur (Hori *et al.*, 2003). Or, l'absence ou le dysfonctionnement de Foxp3 chez les souris et les humains est à l'origine d'un syndrome IPEX (syndrome de dérèglement immunitaire-polyendocrinopathie-entéropathie liée à l'X) se manifeste par un syndrome auto-immun généralisé, comprenant, entre autres anomalies dysimmunitaires, une AHMI primaire (Bennett *et al.*, 2001 ; Wildin et Freitas, 2005). Ceci appuie l'hypothèse selon laquelle un dysfonctionnement des lymphocytes Treg est impliqué dans l'apparition de maladies auto-immunes et possiblement d'AHMI (Workman *et al.*, 2009).

Il existe deux types de lymphocytes Treg : les lymphocytes T<sub>r</sub> naturels (nTreg) et les lymphocytes T<sub>r</sub> induits (iTreg). Les lymphocytes nTreg sont issus d'une lignée distincte dès leur développement thymique (Asano *et al.*, 1996), tandis que les lymphocytes iTreg sont issus de lymphocytes T conventionnels naïfs ayant acquis un phénotype de lymphocyte régulateurs en périphérie, dans certaines conditions antigéniques (Weiner, 1997 ; Roncarolo et Levings, 2000). La différenciation des lymphocytes T conventionnel en iTreg se produit en condition « sub-immunogène » c'est-à-dire lorsque la dose d'antigènes est faible (Kretschmer *et al.*, 2005) ou lorsque la liaison TCR-ligand est faible (Gottschalk *et al.*, 2010) et en cas de stimulation suboptimale par les CPA (Kretschmer *et al.*, 2005). Cette conversion est par ailleurs favorisée par un signal de prolifération faible (lorsqu'il y a peu d'IL-2) et un signal inhibiteur de prolifération fort (forte concentration de TGF- $\beta$ ) (Kretschmer *et al.*, 2005).

De nombreuses études ont confirmé l'implication des lymphocytes Treg dans le développement de maladies auto-immunes (Miyara *et al.*, 2011) et trois mécanismes de dysfonctionnement de la

régulation ont été relevés : un nombre inadéquate de lymphocytes Treg, des lymphocytes Treg non fonctionnels (Buckner, 2010) et enfin des lymphocytes T conventionnels réfractaires à la suppression induite par les lymphocytes Treg en présence de certaines cytokines (Mercadante et Lorenz, 2016). En ce qui concerne les AHMI primaires, des études réalisées chez des patients atteints d'AHMI primaire ont mis en évidence des lymphocytes Treg circulants spécifiques des autoantigènes Rh cibles (Hall *et al.*, 2002 ; Ahmad *et al.*, 2011). Ces lymphocytes Treg sont capables d'inhiber les lymphocytes autoréactifs Th1 *in vitro* (Hall *et al.*, 2002). L'activité des lymphocytes Treg *in vivo* est corrélée à des périodes de rémission, ce qui conforte l'idée que l'anémie est entretenue par un déséquilibre entre les réponses pathogènes et régulatrices (Barker *et al.*, 2007). Parallèlement, des expériences ont été réalisées chez la souris : l'inactivation des lymphocytes nTreg est responsable d'une augmentation de l'incidence (de 30 à 90%) de la maladie chez un modèle murin d'AHMI primaire, tandis que le transfert de lymphocytes nTreg est à l'origine d'une diminution de la production d'autoanticorps (Mqadmi *et al.*, 2005). Ainsi, les lymphocytes Treg semblent aussi impliqués dans l'AHMI murine. Par ailleurs, une cartographie des épitopes reconnus par ces lymphocytes Treg a montré que les lymphocytes Treg reconnaissent des épitopes dominants (non cryptiques), naturellement présentés par les CPA. (Hall *et al.*, 2002) Ainsi, un changement dans le traitement des antigènes dans l'AHMI humaine entraîne non seulement l'affichage d'épitopes Rh auparavant cryptiques et l'activation de cellules Th1 auto-agressives, mais diminue aussi la réponse régulatrice en empêchant une présentation efficace des épitopes ciblés par les lymphocytes Treg (Hall *et al.*, 2002) (**Cf figure 8**).

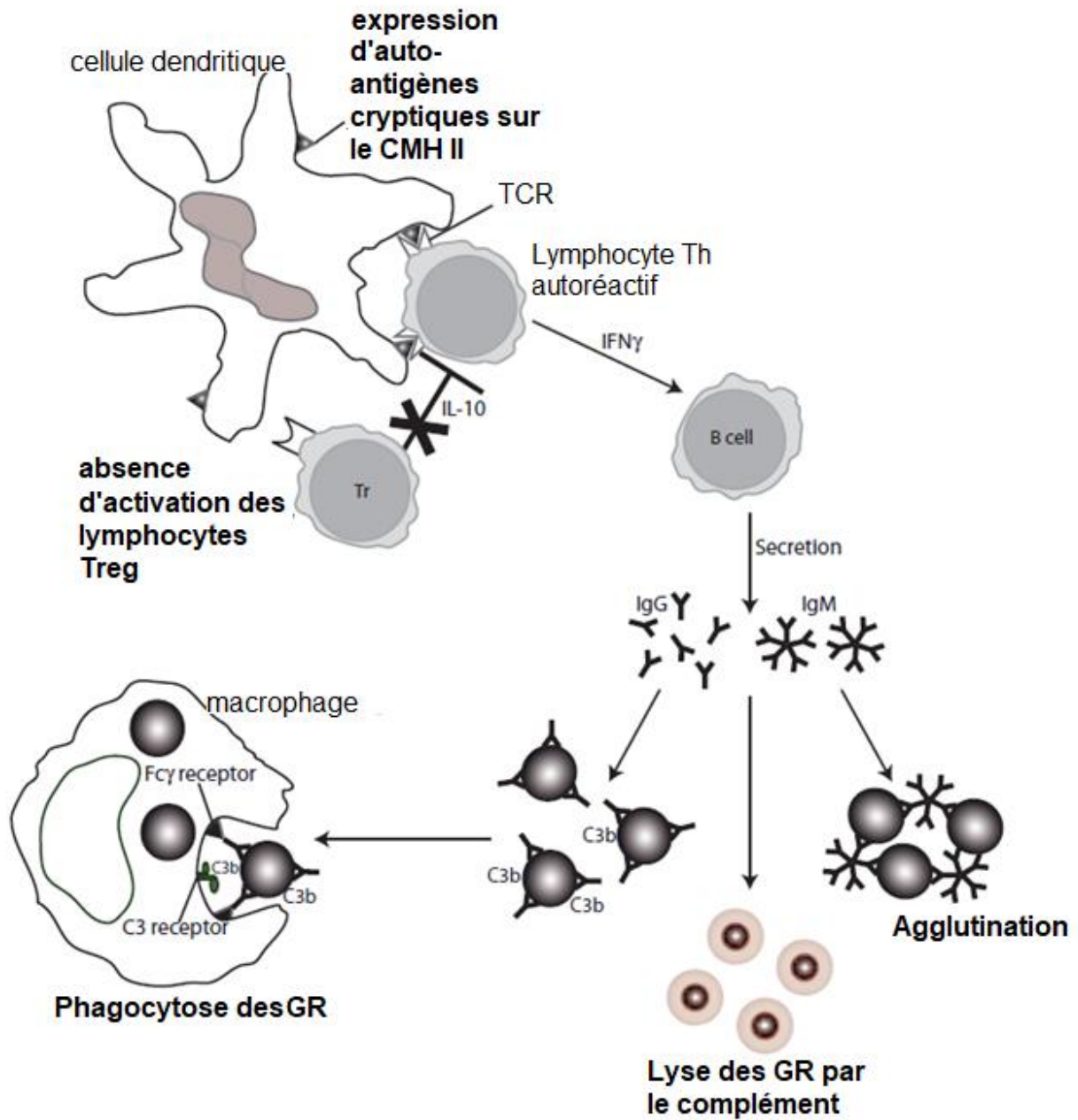
**Figure 8** – Implication des lymphocytes Treg, Th1 et des antigènes cryptiques lors d'AHMI humaine, d'après Elson *et al.* (1995) et Barker *et al.* (2007)



A ce jour, il n'existe pas d'étude concernant l'implication des lymphocytes Treg dans un contexte d'AHMI féline.

L'AHMI est donc multifactorielle et une rupture de la tolérance à plusieurs niveaux est susceptible d'être nécessaire avant que la pathologie ne se développe. La prolifération de lymphocytes Th1 auto-réactifs suite au démasquage d'antigènes cryptiques ou au traitement et à la présentation plus efficace d'antigènes par les cellules présentatrices d'antigènes, combiné à un dysfonctionnement des lymphocytes T régulateurs, capables chez les patients sains d'inhiber les lymphocytes Th1, serait à l'origine des AHAI (Barker *et al.*, 2007) (**Cf figure 9**)

**Figure 9** – Probables mécanismes sous-jacents aux AHMI, d'après Stokol (2010)



**b. Destruction des précurseurs des hématies (PRCA et Anémie centrale)**

Les AHMI sont souvent associées à une réponse érythroïde fortement régénératrice de la moelle osseuse. Néanmoins, un pourcentage élevé de chats atteints d'AHMI ne présentent pas de réticulocytose au moment du diagnostic (Kohn *et al.*, 2006). L'absence de réticulocytose peut s'expliquer par un diagnostic précoce puisque 3-4 jours sont nécessaires à l'apparition de réticulocytes dans la circulation sanguine après l'apparition d'une anémie (Weiss, 2008). Néanmoins, en cas d'anémie de plus de 5 jours, l'absence de réticulocytose s'explique par une atteinte des précurseurs érythroïdes (Weiss, 2008). Deux entités distinctes font parties de ces AHMI arégénératives : la Pure Red Cell Aplasia (PRCA) et l'érythropoïèse inefficace (Weiss, 2008). Dans

ces deux affections, la réponse immunitaire est dirigée contre les progéniteurs érythroïdes (Stokol, 2010a).

La PRCA se caractérise par une hypoplasie sévère voire une aplasie érythroïde dans la moelle osseuse, à l'origine d'une anémie arégénérative, sans atteinte des autres lignées sanguines (Stokol et Blue, 1999a ; Viviano et Webb, 2011). Elle peut être secondaire à une atteinte par le virus leucémogène félin C (FeLV-C) (même si cela semble peu probable sans inoculation expérimentale), être induite par une réponse à une injection d'EPO recombinant humain, ou être primaire, on parle alors de PRCA idiopathique (Viviano et Webb, 2011). Plusieurs mécanismes à médiation immune semblent impliqués (Fisch *et al.*, 2000). Une réponse à médiation humorale semble impliquée, comme le suggère la présence d'IgG dirigés contre les précurseurs érythroïdes chez des humains et des chiens atteints de PRCA (Fisch *et al.*, 2000 ; Weiss, 2008). Ces anticorps peuvent être responsable d'une lyse directe à médiation immune par le complément des précurseurs érythroïdes, former des immun-complexes avec l'EPO circulante ou interférer avec le récepteur à l'EPO des précurseurs érythroïdes (Fisch *et al.*, 2000). Une réponse à médiation cellulaire semble aussi impliquée : des lymphocytes T cytotoxiques et des cellules NK pouvant lyser directement les précurseurs des GR ou induire leur apoptose ont été mis en évidence chez les humains atteints de PRCA idiopathique (Fisch *et al.*, 2000).

L'érythropoïèse inefficace est caractérisée par deux types de mécanismes : une hyperplasie érythroïde et/ou un arrêt de la maturation érythroïde (Weiss, 2008). L'analyse des myélogrammes de chats atteints de cette affection met en évidence une lignée érythroïde généralement hyperplasique associée à une pyramide de maturation disharmonieuse avec un prépondérance de formes immatures. Par ailleurs différents stades d'arrêt de la maturation érythrocytaire sont observés ; ainsi, l'antigène cible des anticorps ne serait pas le même suivant les individus (Weiss, 2008). Ces antigènes n'ont pas encore été identifiés chez le chat. Les myélogramme de chats atteints d'hyperplasie érythroïde marquée sont caractérisés par diverses modifications pathologiques de la moelle osseuse (dysmyélopoïèse, myélonécrose, myélofibrose) ; plus d'une altération pathologique étaient souvent présentes dans la moelle osseuse de ces animaux (Weiss, 2008). Ces modifications pathologiques, probablement secondaires à la réaction immunitaire exacerbée, contribuent à la production insuffisante de GR et à l'incidence élevée de cytopénies concomitantes (neutropénie, thrombocytopénie) (Weiss, 2008 ; Menard, 2013). Enfin ce sous type d'AHMI est caractérisé par une diminution de la survie à 60 jours (Weiss, 2008).

Par ailleurs, érythropoïèse inefficace et PRCA, plutôt que d'être deux entités différentes, pourraient être une même maladie à deux stades différents et pourraient refléter une destruction de différents stades de la maturation érythroïde (Black *et al.*, 2016).

### **c. La maladie des agglutinines froides**

La maladie des agglutinines froides est une affection rare chez le chat, causée par des anticorps actifs en dessous de 37°C. Ces anticorps se lient aux GR lorsque la température est permissive, c'est-à-dire au niveau des extrémités (28-31°C) et y fixent le complément. Les anticorps sont généralement élués des GR lorsqu'ils atteignent des températures centrales plus élevées, néanmoins, ils peuvent rester fixés suffisamment longtemps pour permettre la fixation irréversible du complément. La fixation du complément est à son tour responsable d'une anémie hémolytique extravasculaire chronique (Powers et Silberstein, 2008). Dans certains cas, les anticorps sont à l'origine d'une agglutination des GR dans les extrémités, occasionnant une nécrose ischémique des



extrémités (Powers et Silberstein, 2008). Très peu de cas sont rapportés dans l'espèce féline; chez deux chat aucune cause sous-jacente à l'affection n'a été identifiée et chez un chat l'affection a été associée à une infection du tractus respiratoire supérieur par *Mycoplasma pneumoniae* (Godfrey et Anderson, 1994 ; Powers et Silberstein, 2008). Par ailleurs, des agglutinines froides ont été identifiées chez des chats infectés expérimentalement par *Mycoplasma haemofelis* (Zulty et Kociba, 1990). Chez l'homme et le chien, la maladie est plus fréquente et est généralement associée à une affection lymphoproliférative (Powers et Silberstein, 2008).

## D. Causes d'AHMI

Les AHMI secondaires sont d'origine variées, pouvant être initiées par une maladie sous-jacente ou par l'administration de substances immunogènes (Stokol, 2010a).

### a. Agents infectieux

- *Le virus leucémogène félin (FeLV)*

Une anémie apparaît chez les chats infectés expérimentalement par les sous-groupes A et B du FeLV (Mackey *et al.*, 1975). Par ailleurs, il a été montré *via* une étude rétrospective sur 3780 chats que les chats infectés par le FeLV ont un risque plus élevé de développer une anémie par rapport à un groupe témoin (Gleich et Hartmann, 2009).

La pathogénie des anémies liées à une infection par le FeLV est complexe ; elle peut être à la fois centrale et/ou périphérique (Hartmann, 2011 ; Menard, 2013).

Seulement 10% des anémies associées au FeLV sont régénératives et donc périphériques (Shelton et Linenberger, 1995). Elles sont dues à des pertes sanguines secondaires à une thrombocytopénie ou par destruction des érythrocytes circulants (Hartmann, 2011). L'intégration du virus et des protéines virales dans la membrane cytoplasmique des GR circulants est à l'origine d'une AHMI (Werner et Gorman, 1984)

La plupart des anémies directement causées par le FeLV sont centrales par infection des cellules souches hématopoïétiques, mais aussi par infection des fibroblastes du stroma de la moelle osseuse ayant pour rôle la production d'un environnement propice à l'hématopoïèse (Hartmann, 2011). Ces anémies centrales sont multifactorielles : elles peuvent être causées par une myéloptisie par des cellules tumorales (l'infection par le FeLV étant associée au développement de syndromes myélodysplasiques et de lymphomes chez le chat) (Weiss, 2006), une anémie des maladies inflammatoires chroniques (Hartmann, 2011), une PRCA (Mackey *et al.*, 1975) et une aplasie médullaire (Weiss, 2006 ; Hartmann, 2011). Nous traiterons ici le cas des PRCA induites par le FeLV.

Les chats infectés expérimentalement par le FeLV-C développent une PRCA (Mackey *et al.*, 1975). Les premières études concernant le lien entre PRCA et FeLV-C ont mis en évidence une disparition des CFU-E avec persistance des CFU-GEMM et BFU-E quelques semaines avant le développement de l'anémie (Abkowitz *et al.*, 1987a). De plus, les BFU-E sont capables *in vitro* de se différencier en CFU-E, ce qui semble en faveur d'un blocage *in vivo* de la différenciation des BFU-E en CFU-E (Abkowitz *et al.*, 1987a). Ceci semble en faveur d'une réaction du système immunitaire dirigée contre les BFU-E lors d'une infection par le FeLV-C. Cependant, d'autres études ont par la suite apporté des arguments en défaveur d'un processus immun. Tout d'abord, l'antigène gp70 (protéine de l'enveloppe virale) est détectée chez les BFU-E et les CFU-GM, ce qui signifie que le FeLV infecte aussi ces cellules (Abkowitz *et al.*, 1987b). De plus, la culture de cellules de moelle osseuse de

chats atteints de PRCA infectés par le FeLV-C avec le complément et du sérum ou des IgG autologues n'entraîne pas une diminution des CFU-E par rapport au groupe témoin (sans sérum ou IgG) (Abkowitz *et al.*, 1987b). Par ailleurs, un traitement immunosuppresseur ne permet pas une amélioration de l'anémie lors de PRCA induite par le FeLV-C (Abkowitz, 1991). Enfin, il a été montré que le virus se lie *via* sa protéine gp70 au « récepteur spécifique du FeLV-C » (FLVCR) exprimé par l'ensemble des cellules hématopoïétiques, ce récepteur permettant la sortie de l'hème des cellules (Quigley *et al.*, 2004). La liaison de la protéine gp70 au FLVCR l'inhibe, entraînant une accumulation d'hème à l'intérieur de la cellule (Quigley *et al.*, 2004). Or l'hème, hautement concentré, est cytotoxique (Keel *et al.*, 2008). Au stade CFU-E, la synthèse d'hème augmente, ainsi un dysfonctionnement du FLVCR à ce stade entraîne une apoptose de ces progéniteurs à l'origine de la PRCA notées chez les chats infectés par le FeLV-C (Keel *et al.*, 2008). Par ailleurs, des études parallèles ont noté que la plupart des cas de PRCA à médiation immune étaient rapportées chez des chats non infectés par le FeLV (Stokol et Blue, 1999b ; Zini *et al.*, 2007 ; Stokol, 2010a). Le FeLV semble donc n'être que très rarement impliqué dans les cas de PRCA féline à médiation immune (Stokol, 2010a).

Ainsi, même si le FeLV était auparavant considéré comme la 1<sup>re</sup> cause d'AHMI secondaires, les études récentes ne sont pas en faveur d'une forte implication de mécanismes immuns lors d'anémies chez les chats infectés par le FeLV (Stokol, 2010a).

- *Hémoplasmes*

Une AHMI peut se développer en cas d'infection (expérimentale et naturelle) par les hémoplasmes félines (Maede et Hata, 1975 ; Werner et Gorman, 1984). Les hémoplasmes, mycoplasmes hémotropes, sont un groupe de bactéries infectant les GR et pouvant être à l'origine d'une anémie chez les chats. Il existe différentes espèces d'hémoplasmes félines dont la prévalence et la pathogénicité est variable : *Mycoplasma haemofelis* (Mhf), *Candidatus Mycoplasma haemominutum* (CMhm) et *Candidatus Mycoplasma turicensis* (CMt), (Barker et Tasker, 2013). La prévalence des différentes espèces varie en fonction de la localisation géographique et de l'état de santé des chats (**Cf tableau 2**).

*Mhf* est détecté chez environ 0,5 à 20% des chats domestiques présentés en consultation (**Cf Tableau 2**). Les inoculations expérimentales de *Mhf*, hémoplasme félin le plus pathogène, sont responsables d'anémies hémolytiques modérées à sévères, même chez les animaux immunocompétents (Sykes, 2010). Les chats infectés expérimentalement présentent initialement une rapide augmentation du nombre de copies de *Mhf* avec atteinte d'un plateau après 2-4 semaines. Durant cette phase, l'hématocrite décline drastiquement. La destruction des GR peut se faire par les bactéries elles-mêmes ou par des processus à médiation immune, hypothèse soutenue par une auto-agglutination persistante et des tests de Coombs positifs (Tasker *et al.*, 2009a). Par la suite une fluctuation du nombre de copies au cours du temps, parfois durant plusieurs mois, est notée chez la plupart des chats (Barker et Tasker, 2013) Ces fluctuations ne sont pas encore expliquées, sachant qu'une séquestration de *Mhf* dans la rate ou le foie n'a pas été mise en évidence (Tasker *et al.*, 2009b). Les pics de ces fluctuations sont associés à des périodes de stress, des gestations ou des affections concomitantes et ont pour conséquence des épisodes d'anémie marquée (Sykes, 2010). Les jeunes chats sont plus susceptibles d'être infectés et de développer la maladie (Sykes *et al.*, 2008).

*CMhm* est détecté chez environ 5 à 50% des chats présentés en consultation (**Cf tableau 2**), la prévalence augmentant avec l'âge (Sykes, 2010). L'inoculation de *CMhm* induit une légère

diminution transitoire de l'hématocrite. Une infection par *CMhm* est le plus souvent chronique et asymptomatique (Sykes, 2010), la prévalence de *CMhm* étant identique voire plus faible chez les animaux anémiés que chez les animaux non anémiés (Willi *et al.*, 2006a ; Sykes *et al.*, 2007). Néanmoins, une infection concomitante avec le FeLV augmente le risque de développer une anémie clinique (Harrus *et al.*, 2002 ; George *et al.*, 2002). De plus, il existe désormais des preuves d'infection par *CMhm*, seul, responsable d'une anémie marquée (hématocrite de 8%) (Reynolds et Lappin, 2007).

*CMt* a une prévalence similaire à celle de *Mhf*, soit environ 0 à 20% des chats présentés en consultation (**Cf Tableau 2**). *CMt* est très fréquemment associé à des co-infections par *CMhm* (Sykes *et al.*, 2008). Le pouvoir pathogène de *CMt* semble plus faible que celui de *Mhf*, mais plus élevé que celui de *CMhm*. En effet, des inoculations expérimentales de *CMt* sont responsables d'une anémie sévère chez les chats immunodéprimés et d'une légère anémie chez les chats sains (Willi *et al.*, 2005), une co-infection ou une immunosuppression pouvant amplifier le risque de développer une anémie (Willi *et al.*, 2006b).

Une étude a identifié *Candidatus Mycoplasma haematoparvum*-like chez 2 sur 263 chats testés par PCR (Sykes *et al.*, 2007). Néanmoins, cette espèce semblable à un hémoplasme canin n'a pour le moment pas été identifiée comme responsable d'une anémie chez les chats infectés naturellement ou expérimentalement (Barker et Tasker, 2013).

Ainsi, le portage chronique des hémoplasmes est commun et les chats sont fréquemment infectés par plusieurs hémoplasmes (Barker et Tasker, 2013). Par ailleurs, les co-infections avec les rétrovirus félines (FIV et FeLV) sont communes : 40 à 50% des chats porteurs d'un hémoplasme sont porteurs du FeLV (Werner et Gorman, 1984).

**Tableau 2** Prévalence (%) des différentes espèces d'hémoplasmes de différentes populations de chats déterminée par analyse PCR (Willi et al., 2006a ; Sykes, 2010 ; Barker et Tasker, 2013)

Population	<i>Mycoplasma haemofelis</i>	<i>Candidatus Mycoplasma haemominutum</i>	<i>Candidatus Mycoplasma turicensis</i>
RU (1585 chats suspectés d'infection par les hémoplasmes)	2,8 %	11,2 %	1,7 %
RU (426 chats en consultation dont 306 malades)	1,6%	17,1%	2,3%
Suisse (86 chats sains et 627 chats malades)	2,3 % et 0,2 %	7.0 % et 8,7 %	0% et 1,1 %
Espagne (191 chats en consultation)	3,7%	9,9%	0,5%
Afrique du Sud (69 chats malades suspectés d'infection par les hémoplasmes)	14,5%	37,7%	26,1%
Australie (147 chats malades)	4,8%	23,8%	10,2%
Italie (307 chats en majorité malades)	5,9%	17%	1,3%
Japon (60 chats sains)	21,7%	46,7%	10%
Canada (742 chats sains)	0,6%	3,3%	0,1%
Canada (45 chats errants)	47%	13%	0%
Nouvelle-Zélande (200 chats sains)	7,5 %	24,5 %	4,5 %
USA (262 chats malades dont 130 anémiés)	0,4%	15,6%	0,4%
USA (310 chats anémiés et/ou suspectés d'infection par les hémoplasmes)	4,8%	23,2%	6,5%

- *Autres agents infectieux*

Les agents infectieux suivants peuvent être responsables d'AHMI mais sont très peu fréquemment rapportés comme cause de cette pathologie. Ils ne seront donc pas abordés en détails.

*Ehrlichia canis* est détectée chez le chat dans les zones endémiques (Ayllón *et al.*, 2012 ; Braga *et al.*, 2014 ; Persichetti *et al.*, 2016 ; Lappin, 2018). *E. canis* est responsable d'AHMI chez le chien (Harrus *et al.*, 2012) et pourrait être responsable d'AHMI chez le chat (Stokol, 2010a). Cette supposition s'appuie sur l'étude de Breitschwerdt *et al.* (2002), ayant mis en évidence une anémie arégénérative chez deux chats infectés par *E. canis*. L'un des deux chats présentait une hypoplasie érythroïde et mégacaryocytaire marquée au myélogramme associée à un test ELISA de recherche des anticorps antinucléaire (ANA) positif au titre 1/160. En raison d'une suspicion de processus à médiation immune secondaire à l'infection par *E. canis*, un traitement immunosuppresseur (prednisolone puis cyclosporine) a été mis en place en plus de l'antibiothérapie (doxycycline). Malgré ce traitement l'anémie a persisté, motivant l'augmentation des doses de cyclosporine, permettant

ainsi une régénération sous 1 semaine (Breitschwerdt *et al.*, 2002). La présence d'ANA et la réponse au traitement immunosuppresseur seraient en faveur d'une AHMI (Stokol, 2010a).

*Babesia felis* est elle aussi à l'origine d'AHMI chez le chat (Stokol, 2010a). En effet l'étude de Schoeman *et al.* (2001) rapporte des cas d'AHMI chez les chats infectés naturellement par *Babesia felis* en Afrique du Sud. Le caractère immun de l'hémolyse est diagnostiqué par une agglutination positive après dilution saline chez 16% des chats de l'étude. Sur les 9 chats (sur les 56 de l'étude) atteints d'AHMI, 6 étaient positifs pour le FeIV, sachant que le FeIV peut être responsable d'AHMI (Werner et Gorman, 1984), et seulement 3 n'avaient pas d'autres affections que l'infection par *Babesia felis* pour expliquer l'AHMI. Par ailleurs, l'ensemble des 9 chats a répondu au traitement babésicide sans nécessiter l'ajout d'immunosuppresseur (Schoeman *et al.*, 2001).

La cytauxzoonose féline est une maladie émergente avec une distribution géographique en expansion (Cohn et Birkenheuer, 2012). La prévalence des infections à *Cytauxzoon felis* est en augmentation, probablement en raison de l'expansion de l'aire de répartition de ses vecteurs – les tiques - consécutive au réchauffement climatique (Birkenheuer *et al.*, 2006 ; Alho *et al.*, 2016). En effet, même si seulement quelques cas sont rapportés en Europe occidentale, de nombreux cas sont notés aux USA, particulièrement dans les Etats du Sud-Est et du centre-sud, ainsi qu'en Amérique du Sud (Birkenheuer *et al.*, 2006 ; Criado-Fornelio *et al.*, 2009 ; Dantas-Torres et Otranto, 2014 ; Rizzi *et al.*, 2015 ; Alho *et al.*, 2016). Ces protozoaires se présentent sous deux formes chez son hôte : une forme libre (schizonte) et une forme intra-érythrocytaire (piroplasma) (Cohn et Birkenheuer, 2012). Les symptômes typiques d'une cytauxzoonose incluent un état fébrile associé à des muqueuses pâles voire ictériques (Birkenheuer *et al.*, 2006). 90% des chats infectés décèdent en moins d'une semaine (Birkenheuer *et al.*, 2006). Les parasites, en infectant les GR, sont responsables d'anémies hémolytiques marquées (Sherrill et Cohn, 2015). Plusieurs études sont en faveur d'un possible processus immun, la réponse immunitaire ayant été plus marquée chez les chats décédés que chez les chats survivants (Frontera-Acevedo *et al.*, 2013 ; Frontera-Acevedo et Sakamoto, 2015). De plus, une étude rapporte un cas de cytauxzoonose en Suisse chez un chat présentant une anémie sévère à l'admission ainsi qu'un test de Coombs positif (au titre de 1/128) (**Cf partie 1.2.B** pour le test de Coombs) et ayant nécessité la mise en place d'un traitement immunosuppresseur (Nentwig *et al.*, 2018).

Une étude rapporte un cas de pancytopenie chez un chat atteint de leishmaniose viscérale. Le chat présentait une anémie hémolytique avec agglutination persistante, ce qui pourrait être compatible avec une AHMI. Néanmoins, un test de Coombs ou un test d'agglutination après dilution saline n'ont pas été réalisés pour confirmer cette hypothèse. Par ailleurs, même si le chat était négatif pour les rétrovirus félines, d'autres causes de pancytopenie (comme une ehrlichiose) n'ont pas été exclues (Marcos *et al.*, 2009).

Enfin, une étude sur les anomalies clinico-biologiques chez 42 chats atteints de péritonite infectieuse féline (PIF) rapporte 2 cas d'AHMI. Néanmoins, le diagnostic de processus à médiation immune repose uniquement sur la visualisation d'images d'érythrophagocytose à l'intérieur du nœud lymphatique mésentérique de l'un des deux chats présentant une anémie hémolytique (Norris *et al.*, 2005).

### **b. Néoplasique**

En médecine humaine, les AHMI sont un syndrome paranéoplasique associé aux lymphomes et leucémies (Hauswirth *et al.*, 2007), mais aussi à des néoplasies non hématopoïétiques telles que

des carcinomes (Puthenparambil *et al.*, 2010). L'AHMI peut précéder le diagnostic clinique de la néoplasie de plusieurs années, être concomitante au diagnostic, être le premier signe d'une récurrence, mais aussi apparaître en rémission complète (Puthenparambil *et al.*, 2010 ; Lechner et Chen, 2010). Les carcinomes rénaux, ovariens, thymiques et les sarcomes de Kaposi sont les tumeurs solides non hématopoïétiques les plus fréquemment associées à des AHMI en médecine humaine, tandis que les tumeurs pancréatiques, mammaires et prostatiques sont très rarement associées à des AHMI (Puthenparambil *et al.*, 2010). Des PRCA à médiation immune sont notées lors de lymphome et de thymome (Fisch *et al.*, 2000). Dans le cas des lymphomes, l'AHMI pourrait être consécutive à une production d'anticorps dirigés contre les GR par les lymphocytes ou bien par un dysfonctionnement des lymphocytes T (Fisher *et al.*, 1980 ; Lechner et Chen, 2010). En ce qui concerne les tumeurs solides, une réaction croisée consécutive à un partage d'antigène entre GR et cellules tumorales ou bien une défaillance du système immunitaire pourrait être à l'origine de l'AHMI (Puthenparambil *et al.*, 2010).

Chez le chat, les lymphomes et leucémies sont les néoplasies le plus souvent à l'origine d'AHMI (Madewell et Feldman, 1980 ; Dunn *et al.*, 1984 ; Kohn *et al.*, 2006 ; Childress, 2012). Dans l'étude de Dunn *et al.* (1984), l'ensemble des chats souffrant d'une AHMI associée à un syndrome myéloprolifératif étaient aussi positifs au FeLV. Ainsi, sachant que le FeLV peut être directement responsable d'AHMI, la part d'AHMI d'origine purement néoplasique de cette étude n'est pas connue (Stokol, 2010a). Deux cas d'AHMI associée à une infiltration lymphoblastique multicentrique (probablement consécutive à une leucémie aiguë lymphoblastique) sont rapportés, l'un des chats étant positif pour le FeLV (Gunn-Moore *et al.*, 1999). Par ailleurs, des néoplasies non hématopoïétiques sont aussi à l'origine d'AHMI chez le chat : un cas d'AHMI associé à un adénocarcinome pancréatique (Dunn *et al.*, 1984) et deux cas secondaires à un lymphangiosarcome (Lenard *et al.*, 2007) sont rapportés. En revanche aucun cas de PRCA à médiation immune d'origine néoplasique n'est rapporté à ce jour chez le chat (Stokol, 2010a).

### **c. *iatrogène***

Trois mécanismes sont envisagés pour expliquer les AHMI médicamenteuses : (1) l'opsonisation de l'ensemble GR-médicament ; (2) la formation d'immun complexes se déposant sur les GR, (3) la formation d'autoanticorps antiérythrocytaires suite à une sensibilisation du système immunitaire *via* la formation de complexes immunogènes médicament-GR. Ces mécanismes ont été abordés dans le cadre des AHMI humaines. Le premier mécanisme concerne les molécules se fixant aux protéines de la membrane cytoplasmique érythrocytaire, comme les pénicillines. Le patient crée des anticorps contre la molécule, dont la liaison à l'ensemble GR-médicament, initie l'hémolyse. Le second mécanisme implique la formation d'immun complexes : le médicament ou son métabolite se lie à une protéine plasmatique formant un composé immunogène sur lequel se fixent des anticorps. L'ensemble anticorps – protéine plasmatique – médicament forme un complexe immun qui adhère aux GR (ainsi qu'aux glomérules rénaux), aboutissant, *via* l'activation du complément, à une hémolyse intravasculaire. Il s'agit du mécanisme impliqué dans la plupart des AHMI médicamenteuses humaines. Le troisième mécanisme implique une sensibilisation du système immunitaire aux autoantigènes érythrocytaires par la formation de complexes immunogènes médicament-GR. Dans ce cas, contrairement au mécanisme n°1, les anticorps ne seront pas dirigés seulement vers les GR liés au médicament, mais vers tous les GR (Powers et Silberstein, 2008 ; Packman, 2016).

Les AHMI médicamenteuses ont été identifiées chez les chats traités avec des antithyroïdiens, tels que le propylthiouracile (PTU) (Cowgill *et al.*, 1998) et le carbimazole (Mosca et Bresciani, 2016), ainsi qu'avec de l'érythropoïétine recombinant humain et félin (Randolph *et al.*, 2004). Le PTU est utilisé dans la prise en charge de l'hyperthyroïdie. Dans l'étude de Aucoin *et al.* (1985), 9 chats sur 17 chats sains ayant reçu 150 mg de PTU par jour pendant 3 à 8 semaines ont développé une AHMI en 4 à 8 semaines. Les signes cliniques de l'AHMI ont disparu dans les 2 semaines suivant l'arrêt de l'administration de PTU et le remplacement par 150 mg de propyluracile, un analogue non sulfureux du PTU. Par ailleurs, la durée avant l'apparition des symptômes a diminué par rapport à l'épisode initial lorsque le traitement était renouvelé (Aucoin *et al.*, 1985). Les résultats sont similaires lorsque le PTU est administré chez des chats atteints d'hyperthyroïdie (Peterson *et al.*, 1984). L'AHMI est fréquemment associée à une thrombocytopénie à médiation immune chez les chats traités au PTU (Peterson *et al.*, 1984). Par ailleurs, Mosca et Bresciani (2016) rapportent un cas d'AHMI probablement secondaire à l'administration de carbimazole. L'utilisation d'EPO recombinante humaine mais aussi féline est associée à des AHMI (Cowgill *et al.*, 1998 ; Randolph *et al.*, 2004). En outre, certains chats développent des PRCA à médiation immune lors d'administration d'EPO recombinante humaine comme féline (Randolph *et al.*, 2004). Ainsi, l'EPO recombinante, même spécifique de l'espèce féline, est suffisamment différente de l'EPO native féline pour être immunogène. Cette différence vient possiblement d'un degré de glycosylation différent des protéines (Randolph *et al.*, 2004).

Chez le chien, une vaccination peut déclencher une AHMI jusqu'à 1 mois après l'injection (Duval et Giger, 1996). Or, une étude rapporte 3 cas d'AHMI féline où une vaccination a eu lieu dans les 4 semaines précédant la déclaration de l'anémie (Kohn *et al.*, 2006). Ainsi, la vaccination est possiblement un facteur déclencheur d'AHMI chez le chat (Kohn *et al.*, 2006).

Par ailleurs, un cas d'AHMI secondaire à une transplantation de moelle osseuse a été rapporté chez un chat (Cain *et al.*, 1988)

Enfin, des AHMI sévères faisant suite à des transfusions sanguines sont rapportées dans l'espèce féline (**Cf première partie.1.D.d** ci-dessous).

#### ***d. Cas particulier des hémolyses allo-immunes***

Trois groupes sanguins ont été mis en évidence chez le chat - A, B et AB - définis par les allo-anticorps présents contre l'antigène érythrocytaire dont ils sont dépourvus (Auer et Bell, 1981). L'allèle A est dominant par rapport à l'allèle B, tandis que l'allèle AB est dominant par rapport à l'allèle B mais récessif par rapport à l'allèle A (Day et Mackin, 2011). Un nouvel antigène intervenant dans la détermination du groupe sanguin a été identifié plus récemment : l'antigène « Mik ». En effet, un certain nombre de chats de type A n'expriment pas l'antigène Mik et produisent des anticorps dirigés contre cet antigène (Weinstein *et al.*, 2007).

La production spontanée d'allo-anticorps est variable en fonction du groupe sanguin (Day et Mackin, 2011). En effet, d'après l'étude d'Auer et Bell (1981), la quasi-totalité (95%) des adultes du groupe B possèdent des allo-anticorps dirigés contre l'antigène A, avec forte activité d'hémolyse et d'hémagglutination, tandis que seulement 35% des chats du groupe A possèdent des allo-anticorps dirigés contre l'antigène B. Les chats du groupe AB ne possèdent pas d'allo-anticorps dirigés contre les antigènes A ou B (Auer et Bell, 1981). Enfin, les chats du groupe A possédant naturellement des allo-anticorps contre l'antigène Mik sont fréquents (Day et Mackin, 2011).

L'incidence des groupes sanguins varie en fonction de l'aire géographique et de la race (Day et Mackin, 2011). Le groupe A est le plus commun des groupes sanguins dans la majorité des aires géographiques (74-100%), tandis que les groupes B (0-26%) et AB (0-9,7%) sont moins communs (Day et Mackin, 2011). Le groupe B est plus fréquemment rapporté (incidence supérieure à 10%) en Australie, en Turquie, au Japon et en Europe (Abrams-Ogg et Blois, 2017). Le groupe B est plus fréquent chez les chats de race, tels que les British Shorthair, les Birmans, les Devon Rex et les Rex Cornish (20-59%) mais aussi chez les Abyssins, les Persans et les Somalis (11-20%) (Day et Mackin, 2011). A l'inverse, tous les Siamois, les Burmeses et les Tonkinois semblent être de groupe A (Day et Mackin, 2011). En France, 89,6% des chats sans pedigree sont de type A, 10% de type B et 0,4% de type AB (Barrot *et al.*, 2017).

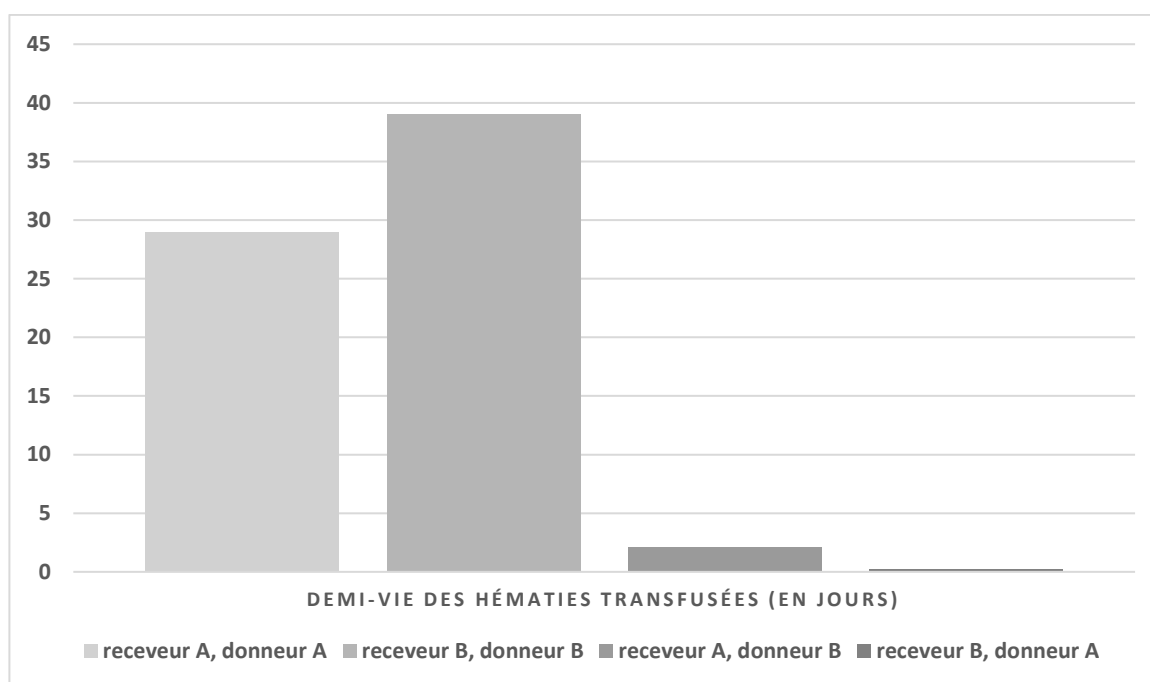
L'exposition des chats à un groupe sanguin incompatible, dans le cadre de transfusion sanguine ou lors de la lactation, peut être à l'origine d'une destruction immune des GR. De plus, les chats pouvant posséder naturellement des allo-anticorps, ces réactions hémolytiques ne nécessitent pas de sensibilisation antérieure (Day et Mackin, 2011).

- *Réactions transfusionnelles*

La transfusion de sang incompatible est à l'origine d'une hémolyse aigüe (dans les minutes suivant l'initiation de la transfusion) ou retardée (jusqu'à quelques jours après la transfusion). Cette hémolyse est principalement intravasculaire, par destruction des GR directement par le complément. Néanmoins une part de l'hémolyse est extravasculaire. La sévérité de la réaction transfusionnelle dépend du titre d'allo-anticorps présents chez le receveur et de son état clinique (Auer et Bell, 1983). En effet, l'hémolyse est majeure lors d'une transfusion de seulement 1 mL de sang de type A ou AB à des chats de groupe B possédant un fort titre d'anticorps anti-A et est associé à des manifestations cliniques marquées (Knottenbelt *et al.*, 1999). Chez les chats ayant un faible titre d'allo-anticorps recevant du sang incompatible, l'hémolyse peut ne pas être cliniquement apparente, néanmoins la destruction des érythrocytes sera tout de même prématurée (Knottenbelt *et al.*, 1999). De plus, la répétition de l'exposition à du sang incompatible, augmente la rapidité de la destruction des érythrocytes (Auer et Bell, 1983). Ainsi, afin d'optimiser le temps de survie des GR transfusés, la compatibilité des groupes sanguins est primordiale (**Cf figure 10**) (Giger et Bücheler, 1991).



**Figure 10** - Survie des hématies transfusées en fonction du groupe sanguin du donneur et du receveur, d'après Giger et Bücheler, 1991



L'antigène Mik peut également être responsable de réactions transfusionnelles hémolytiques aiguës (Weinstein *et al.*, 2007).

La transfusion de sang incompatible à des chats de groupe B, est, en plus de l'hémolyse décrite ci-dessus, associée dans 60% des cas à une hypotension, une bradycardie et un arrêt respiratoire dans les deux minutes suivant l'injection de sang possédant des antigènes A (Auer et Bell, 1983). Chez l'homme, ces symptômes sont expliqués par un relargage massif de molécules vasoactives (histamine, sérotonine, prostaglandines), par les mastocytes, leucocytes et plaquettes activés par les anaphylatoxines du complément. Chez le chat, ces mêmes molécules vasoactives sont impliquées, avec un rôle majeur de l'histamine (Auer et Bell, 1983). Puis, une deuxième phase est notée durant les 5 à 30 minutes suivantes, caractérisée par une hypertension artérielle marquée, des extrasystoles, une tachypnée et une hémococoncentration (Auer et Bell, 1983). Une leucopénie transitoire est aussi rapportée. La transfusion de sang B à des chats de groupe A n'a pas été associée à des réactions transfusionnelles sévères. En effet, seules des baisses modérées de la pression artérielle et du nombre de leucocytes ont été rapportées. Ceci s'explique par le faible titre d'anticorps anti-B chez les chats de groupe A. Néanmoins, transfuser du sang incompatible à un chat de type A, augmente le risque de sensibilisation et diminue grandement la durée de vie des érythrocytes (Auer et Bell, 1983).

La transfusion de sang sans groupage et cross-match préalable (**Cf partie 1.3.A**) est donc à proscrire chez le chat (Knottenbelt *et al.*, 1999).

- *Isoérythrolyse néonatale*

L'isoérythrolyse néonatale correspond à une hémolyse à médiation immune ayant lieu chez les chatons de type A ou AB consommant le colostrum de femelle de type B. En effet, les allo-anticorps anti-A contenus dans le colostrum de la mère sont à l'origine, une fois parvenus dans le sang du chaton, d'une destruction intravasculaire et extravasculaire de ses hématies porteuses d'antigènes

A (Bücheler et Giger, 1993). Les signes d'anémie hémolytique apparaissent dans les heures à jours suivants cette ingestion et la sévérité de l'anémie est liée à la quantité de colostrum consommée ainsi qu'à la quantité d'allo-anticorps qu'il contient (Day et Mackin, 2011). Les chatons peuvent ainsi présenter une AHMI subclinique ou bien présenter des signes plus marqués tels qu'un ictère, une hémoglobinurie, une léthargie, une dysorexie pouvant aller jusqu'à la mort dans les premiers jours de vie (Bücheler et Giger, 1993). Certains chatons avec une AHMI subclinique développent une nécrose de l'extrémité de la queue dans les 1-3 semaines *post-partum* (Jonsson *et al.*, 1990) (**Cf première partie.1.E.** ci-dessous). L'isoérythrolyse néonatale peut être prévenue en empêchant les accouplements incompatibles *via* la réalisation de typage sanguin et de cross-match entre les futurs parents ou bien en empêchant l'ingestion du colostrum dans les 24h suivant la mise-bas (Day et Mackin, 2011).

#### **e. Inflammatoire**

Il existe une association significative entre pancréatite et AHMI chez le chat (Zoia et Drigo, 2017). Deux mécanismes peuvent expliquer cette association : l'une des pathologies induit l'autre ou bien un trouble immunitaire sous-jacent cible simultanément le pancréas exocrine et les GR (Zoia et Drigo, 2017). En médecine vétérinaire, aucune étude n'a permis de démontrer l'induction d'une pancréatite par une AHMI. En revanche, la littérature médicale humaine recense de nombreux cas de pancréatite induite par une hémolyse aiguë, y compris en cas d'AHMI (Zoia et Drigo, 2017). L'activation des neutrophiles, la formation de radicaux libres, l'effet pro-inflammatoire direct et les perturbations microcirculatoires seraient en cause (Zoia et Drigo, 2017). Par ailleurs, même s'il n'existe pas de preuve significative d'AHMI induite par une pancréatite, la formation d'auto-anticorps dirigés contre les érythrocytes dans un contexte d'inflammation massive lors d'une pancréatite est plausible (Zoia et Drigo, 2017). Enfin, un dysfonctionnement du système immunitaire, ciblant à la fois les érythrocytes et le pancréas exocrine, même s'il n'est pas décrit chez le chat, est recensé chez l'homme et le chien (Zoia et Drigo, 2017).

Par ailleurs l'étude de Swann *et al.* (2016) rapporte la présence simultanée de cholangite et/ou de pancréatite chez 5,6% des chats présentant une AHMI et l'étude de Kohn *et al.* (2006) rapporte un cas d'AHMI chez un chat souffrant de cholangite.

#### **f. AHMI péri-gestationnelle**

Chez la femme gestante, les AHMI sont fréquentes, elles semblent 4 fois plus sujettes aux AHMI que le reste de la population (Kopke *et al.*, 2019). Un probable cas d'AHMI est rapporté chez une chatte à environ 50 jours de gestation (Kopke *et al.*, 2019).

#### **g. Maladie auto-immune systémique**

Une possible AHMI a été rapportée chez un chat atteint de lupus érythémateux systémique (Lusson *et al.*, 1999).

#### **h. AHMI primaire**

Si toutes les affections pouvant être à l'origine d'une AHMI sont exclues, l'AHMI est considérée comme primaire et une défaillance isolée du système immunitaire est à l'origine de l'anémie. C'est une situation relativement rare chez les chats et décrite dans seulement 3 études rétrospectives (Stokol et Blue, 1999 ; Kohn *et al.*, 2006 ; Weiss, 2008).

Les différentes causes d’AHMI sont résumées dans le **tableau 3**.

**Tableau 3** - Différentes causes d’AHMI chez le chat

AHMI secondaire	Maladies infectieuses	FelV Hémoplasmes PIF Ehrlichiose Babesiose Leishmaniose Cyttauzoonose
	Néoplasie	Lymphome Leucémie Carcinome
	Iatrogène	Propylthiouracile Erythropoïétine recombinant humain ou félin Accidents transfusionnels Vaccination Transplantation de moelle osseuse
	Inflammatoire	Cholangite
	Maladie auto-immune	Lupus érythémateux systémique
	Autre	Isoérythrolyse néonatale
	AHMI primaire	

### E. Complication des anémies hémolytiques à médiation immune

Chez le chien, les principales complications des AHMI sont les thrombo-embolies et les coagulations intravasculaires disséminées (CIVD) (McCullough, 2003). Ces deux affections ont pour origine un syndrome d’activation systémique de la coagulation. Cet état pro-thrombotique est favorisé par la combinaison de trois mécanismes appelée triade de Virchow : hypercoagulabilité plasmatique, lésions endothéliales et flux sanguin anormal (Hackner et Dallap Schaer, 2010).

#### a. Thrombo-embolie

Les thrombo-embolies, dans le contexte d’une AHMI, résultent d’un état d’hypercoagulabilité associé à des lésions endothéliales (McCullough, 2003 ; Goggs *et al.*, 2009 ; Fenty *et al.*, 2011). Différentes hypothèses ont été évoquées pour expliquer l’état d’hypercoagulabilité : une augmentation des facteurs de coagulation, une diminution des facteurs anticoagulant, une diminution de la fibrinolyse, l’augmentation de la réactivité plaquettaire (McCullough, 2003), la présence de particules procoagulantes (Kidd *et al.*, 2015) et d’anticorps dirigés contre les phospholipides (Miller *et al.*, 2012). Les lésions endothéliales ont quant à elles comme origine une sphérocytose et une hypoxie (Goggs *et al.*, 2009).

Les thrombo-embolies sont une complication fréquente des AHMI canines (Scott-Moncrieff *et al.*, 2001 ; Carr *et al.*, 2002) mais n’ont été que très rarement rapportées en cas d’AHMI féline (Norris *et al.*, 1999).

### ***b. Coagulation intravasculaire disséminée***

La CIVD est une atteinte de l'hémostase primaire et secondaire qui évolue en deux phases. La première phase correspond à un état d'hypercoagulabilité au cours de laquelle se forment de multiples *microthrombi*, au sein de la microcirculation, consommant une grande quantité de plaquettes et de facteurs de coagulation. La deuxième phase est caractérisée par un syndrome hémorragique en raison d'une quantité insuffisante de plaquettes et de facteurs de coagulation disponibles (Stokol, 2010b)

Dans le cas de l'AHMI, l'hypercoagulabilité plasmatique et les lésions vasculaires sont impliquées dans la mise en place d'une CIVD (McCullough, 2003).

La CIVD est complication fréquente en cas d'AHMI canine (Scott-Moncrieff *et al.*, 2001 ; Carr *et al.*, 2002), mais plus rare chez le chat : Kohn *et al.* (2006) rapportent 1 cas avéré de CIVD et 2 suspicions sur 19 chats. Par ailleurs aucun cas de CIVD n'a été décrit en cas d'AHMI centrale (Stokol *et al.*, 2000).

## **2. Présentation clinique et démarche diagnostique**

### **A. Epidémiologie**

Les études les plus anciennes suggéraient que l'AHMI féline est plus fréquemment secondaire à une maladie sous-jacente que primaire, avec une association marquée entre une infection par le FeIV et une AHMI (Werner et Gorman, 1984). Néanmoins, des études plus récentes révèlent une proportion bien plus élevée d'AHMI primaire, l'incidence de l'affection se rapprochant de celle rapportée chez les chiens (Kohn *et al.*, 2006 ; Piek *et al.*, 2008) (**Cf tableau 4**).

#### ***a. AHMI secondaire***

Une infection par le FeIV était auparavant la maladie sous-jacente la plus fréquemment associée aux AHMI secondaires (Werner et Gorman, 1984). Néanmoins, la proportion de chats atteints d'AHMI positif pour le FeIV est bien moins importante actuellement, probablement en raison de la diminution de l'incidence de cette infection suite à un dépistage et une vaccination plus courante qu'auparavant (Swann *et al.*, 2016). Actuellement, la plus grande part des AHMI secondaires semblent être induite par des néoplasies et particulièrement des lymphomes (Swann *et al.*, 2016) (**Cf tableau 4**).

**Tableau 4** – Causes sous-jacentes associées à des AHMI et évolution de leur proportion entre 1984 et 2016, d'après Werner et Gorman (1984), Kohn et al. (2006) et Swann et al. (2016)

Etude		Werner et Gorman (1984)	Kohn et al. (2006)	Swann et al. (2016)
Effectif		21	23	107
Cause sous-jacente	FelV	11 (52%)	2 (9%)	1 (1%)
	PIF			3 (3%)
	Hémoplasmes	3 (14%)		3 (3%)
	Cholangite et/ou pancréatite		1 (4%)	6 (6%)
	Infection du tractus urinaire avec suspicion de pyélonéphrite			1 (1%)
	Autre maladie inflammatoire ou infectieuse			7 (7%)
	Néoplasie (hématopoïétique et carcinome) et myélodysplasie	9 (43%)	1 (4%)	16 (15%)
AHMI primaire		4 (19%)	19 (82%)	72 (67%)

Aucune étude, à ce jour, n'a réalisé d'analyse statistique sur l'âge des chats atteints d'AHMI secondaire ; Swann et al. (2016) rapportent tout de même un âge médian d'environ 7 ans. L'âge d'apparition d'AHMI secondaire dépend de la cause sous-jacente. Par exemple, les chats de moins de 2 ans, en particulier les chatons, sont les plus à risque de développer une PIF avec un second pic d'incidence après 10 ans (Addie, 2012). Les chats affectés par le FelV et par des Mycoplasmes hémotropes sont aussi plus fréquemment des jeunes chats (Messik et Harvey, 2012)

En ce qui concerne un possible lien entre le sexe et l'incidence des AHMI secondaire, même s'il semble y avoir plus de cas rapportés chez les mâles (Swann et al., 2016), aucune étude statistique ne rapporte de corrélation significative. Les animaux atteints par un hémoplasme sont plus fréquemment des mâles ayant accès à l'extérieur (Messik et Harvey, 2012).

Les chats de race Européenne sont nettement représentés, néanmoins il s'agit de la race la plus commune et il ne semble pas y avoir d'association significative entre cette race et le développement d'une AHMI secondaire (Swann et al., 2016). Par ailleurs, Swann et al (2016), rapportent un taux élevé d'AHMI secondaire chez les Siamois (Swann et al., 2016).

#### ***b. AHMI primaire***

Les chats présentant une AHMI primaire sont significativement plus jeunes que les chats présentant une AHMI secondaire. De plus les chats ayant entre 2 et 6 ans sont 2 fois plus à risque de développer une AHMI primaire (Stokol et Blue, 1999a ; Kohn et al., 2006 ; Swann et al., 2016).

En revanche ni le sexe, ni la race ne semblent prédisposer à une AHMI primaire (Swann *et al.*, 2016). En effet, même si plusieurs études rapportent un nombre de cas plus élevé chez les mâles que chez les femelles (Werner et Gorman, 1984 ; Kohn *et al.*, 2006), une analyse statistique réalisée sur un échantillon suffisamment grand ne permet pas d'obtenir une différence significative (Swann *et al.*, 2016). En ce qui concerne l'influence de la race, un taux élevé d'AHMI primaire est noté chez les Siamois, mais ce résultat n'est pas significatif (Swann *et al.*, 2016).

## B. Démarche diagnostique

### a. Suspecter une anémie

- *Signes cliniques en cas d'anémie*

Une anémie est caractérisée par une pâleur des muqueuses. Une augmentation de la fréquence respiratoire (tachypnée) et de la fréquences cardiaques (tachycardie) est généralement présente afin de compenser l'hypoxie tissulaire consécutive à l'anémie. Une augmentation du choc précordial et un pouls frappé peuvent être notés. Par ailleurs, la diminution de viscosité rencontrée lors d'anémie peut se traduire par un souffle, dit « anémique », audible à l'auscultation cardiaque. Le myocarde tolère généralement bien cette suractivité cardiaque mais il arrive qu'une insuffisance cardiaque se mette en place au long terme s'exprimant par un œdème pulmonaire et en région déclive ainsi que de l'ascite (Trumel *et al.*, 2004).

L'hypoxie consécutive à l'anémie peut également induire une fatigabilité accrue, une intolérance à l'effort et des syncopes. Chez le chat, ces symptômes se manifestent généralement tardivement, lorsque l'anémie est sévère (Trumel *et al.*, 2004).

D'autres symptômes liés au processus pathologique sous-jacent peuvent s'ajouter (Trumel *et al.*, 2004) (**Cf tableau 5**).

**Tableau 5** - Signes cliniques en fonction du mécanisme de l'anémie, d'après Trumel *et al.* (2004)

Signes cliniques évocateurs d'une perte sanguine	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hématémèse</li> <li>• Epistaxis</li> <li>• Hémoptysie</li> <li>• Méléna</li> <li>• Pétéchies</li> <li>• Ecchymoses</li> <li>• Hématomes</li> <li>• Hémarthrose</li> <li>• Hémothorax, hémopéritoine</li> </ul>
Signes cliniques évocateurs d'une hémolyse	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ictère</li> <li>• Hémoglobinémie</li> <li>• Hémoglobinurie</li> <li>• Splénomégalie</li> <li>• Hépatomégalie</li> </ul>

Ainsi, en dehors d'une pâleur des muqueuses, les symptômes exprimés lors d'anémie sont assez peu spécifiques et des examens complémentaires sont nécessaires pour diagnostiquer l'anémie.

- *Signes cliniques en cas d'AHMI*

Lors d'AHMI, les signes cliniques sont liés principalement à l'anémie. On rencontre donc les signes cliniques cités précédemment : muqueuses pâles, tachypnée, tachycardie, souffle cardiaque. A ces symptômes s'ajoutent fréquemment un abattement, une anorexie, une perte de poids, une hyperthermie et une déshydratation. Plus occasionnellement, lorsque l'anémie est aiguë et sévère, on note des syncopes et des signes neurologiques. Par ailleurs, un pica et prurit sont rapportés par certains propriétaires. Enfin une adénomégalie ( focale ou multifocale), une splénomégalie et une hépatomégalie sont fréquemment rapportés à l'examen clinique (Werner et Gorman, 1984 ; Stokol et Blue, 1999b ; Kohn *et al.*, 2006 ; Black *et al.*, 2016).

Le **tableau 6** rapporte les symptômes et anomalies présentes à l'examen clinique des chats atteints d'AHMI primaire.

**Tableau 6** - Pourcentage des différents symptômes et anomalies de l'examen clinique de chats atteints d'AHMI primaires, d'après Stokol et Blue (1999), Kohn *et al.* (2006) et Black *et al.* (2016)

	Etude	Stokol et Blue (1999)	Kohn et al (2006)	Black et al (2016) <i>anémie centrale</i>
Symptômes	Léthargie	55,6 %	100%	100%
	Dysorexie	44,4 %	68%	80%
	Vomissements		10,5%	
	Hyperthermie		21%	
	Ictère		10,5%	
	Epistaxis		5%	
	Pica		26%	20%
	Prurit		5%	
	Polydipsie		5%	
Anomalies de l'examen clinique	Pâleur des muqueuses	78%	79%	100%
	Tachypnée			87%
	Souffle	44%	42%	60%
	Bruit de galop			60%
	Lymphadénopathie		16%	

En cas d'AHMI secondaire, à ces symptômes généraux, s'ajoutent des anomalies propres à la cause sous-jacente.

Concernant les réactions transfusionnelles, les symptômes d'une hémolyse et d'un choc anaphylactique peuvent apparaître dans les minutes suivant l'initiation de la transfusion. Une hypotension, une bradycardie et un arrêt respiratoire peuvent survenir dans les 2 minutes suivant

l'injection de sang incompatible (Auer et Bell, 1983), auxquels succèdent une hypertension artérielle marquée, des extrasystoles, une tachypnée et une hémococoncentration (Auer et Bell, 1983). A ces signes s'ajoutent un agitation, une hypersalivation, des vomissements et vocalises (Giger et Bücheler, 1991).

Lors d'isoérythrolyse néonatale, les symptômes apparaissent dans les heures à jours suivant l'ingestion de colostrum (Day et Mackin, 2011) et sont caractérisés par une réticence à téter, une léthargie, une dyspnée, une hémoglobinurie, un ictère et souvent une mort brutale (Bücheler et Giger, 1993). De plus, certains chatons avec une AHMI subclinique développent une nécrose de l'extrémité de la queue dans les 1-3 semaines post-partum (Jonsson *et al.*, 1990).

Le tableau clinique des AHMI provoquées par les auto-agglutinines froides est différent de celui des anticorps réagissant à chaud. En effet, les symptômes cutanés (cyanose, nécrose, gangrène, ulcération, croûtes, dépigmentation des extrémités) sont caractéristiques de cette affection. Ils concernent principalement les extrémités (zones froides) telles que les oreilles, le nez, les babines, les extrémités des membres (en particulier la zone d'implantation des griffes) et la queue (Schrader et Hurvitz, 1983 ; Gertz, 2006). Des signes d'anémie et d'hémolyse peuvent aussi être rencontrés, mais surviennent en général lorsque l'animal est fréquemment exposé à des températures froides (Schrader et Hurvitz, 1983).

#### ***b. Confirmation de l'anémie : diagnostic biologique***

Le diagnostic biologique de l'anémie se fait par la mesure de l'hématocrite (pourcentage relatif du volume des GR circulants par rapport au volume total de sang), de l'hémoglobinémie (concentration sanguine en hémoglobine) et de la numération érythrocytaire (nombre d'hématies par unité de volume). Le diagnostic d'une anémie est établi lorsque l'un de ces paramètres a une valeur inférieures aux normes usuelles présentées dans le **tableau 7** (Trumel *et al.*, 2004).

**Tableau 7** - Valeurs usuelles de la numération érythrocytaire, de l'hémoglobinémie et de l'hématocrite chez le chat, d'après Trumel *et al.* (2004)

Paramètre (unité)	Valeurs usuelles chez le chat
Numération érythrocytaire (10 <sup>6</sup> /μL)	5-10
Hémoglobinémie (g/dl)	8-15
Hématocrite (%)	24-45

La sévérité de l'anémie peut ensuite être gradée en fonction des valeurs de ces paramètres (**Cf tableau 8**) (Trumel *et al.*, 2004).

**Tableau 8** – Sévérité de l'anémie en fonction de l'hématocrite, d'après Trumel *et al.* (2004)

Grade de l'anémie	Valeur de l'hématocrite en %
Légère	20-24
Modérée	15-19
Sévère	10-14
Très sévère	<10



Par ailleurs, le diagnostic biologique d'une anémie nécessite que l'animal soit normo-hydraté afin que les paramètres cités ci-dessus ne soient pas surestimés. De plus, en cas d'hémorragie aigüe, la perte de plasma et d'hématies est proportionnelle. Ainsi, dans les premières heures suivant la perte sanguine, l'anémie ne pourra être évaluée par les paramètres biologiques cités ci-dessus. Après quelques heures (4 à 24h), le volume plasmatique sera reconstitué, alors qu'il faudra plusieurs jours pour restaurer le nombre d'hématies. L'anémie pourra alors être mise en évidence biologiquement (Trumel *et al.*, 2004).

### **c. Recherche des signes de régénération médullaire**

Face à un diagnostic d'anémie, la première étape est de déterminer si elle est régénérative ou non. Les paramètres de l'hémogramme et le frottis sanguin apportent une première réponse (Trumel *et al.*, 2004).

- *Hémogramme*

L'hémogramme permet d'évaluer le volume globulaire moyen (VGM), la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et l'indice de distribution des rouges (IDR). Le VGM permet d'apprécier la taille moyenne des hématies. On parle de microcytose lorsqu'il est diminué et de macrocytose lorsqu'il est augmenté. Néanmoins, il s'agit d'une moyenne calculée sur l'ensemble de la population des hématies. Il ne permet donc pas de mettre en évidence une variation de taille chez une faible portion des GR. Il doit donc être interprété en parallèle de l'IDR qui représente la variabilité de taille des hématies. L'IDR permet donc de mettre en évidence une anisocytose, c'est-à-dire des hématies de taille différente chez un même individu. La CCMH permet d'évaluer si la concentration en hémoglobine au sein des hématies est normale (normochrome) ou diminuée (hypochrome). En revanche l'hyperchromie n'existe pas. La CCMH peut tout de même être augmentée en cas de mauvais réglage de l'automate, si le prélèvement est hémolysé, le plasma lipémique, en présence de corps de Heinz ou lors de traitement avec de l'Oxyglobin® (Trumel *et al.*, 2004).

Les réticulocytes étant plus volumineux et moins colorés que les érythrocytes, les anémies régénératives sont généralement macrocytaires, hypochrome avec un IDR élevé (Trumel *et al.*, 2004).

Les valeurs usuelles du VGM et de la CCMH chez le chat sont fournis dans le **tableau 10**.

**Tableau 9** - Valeurs usuelles du VGM et de la CCMH chez le chat d'après Trumel et al (2004)

Index érythrocytaire (unité)	Valeurs usuelles
VGM (fl)	39 – 55
CCMH (g/dl)	31 - 35

L'hémogramme fournit par ailleurs la numération réticulocytaire, permettant d'estimer le taux de réticulocytes et le taux corrigé de réticulocytes. Ces paramètres sont essentiels puisqu'ils augmentent lors d'érythropoïèse exacerbée et donc permettent d'évaluer la capacité de la moelle à répondre à une anémie. La numération réticulocytaire correspond au nombre de réticulocytes circulants par unité de volume (Trumel *et al.*, 2004). Une anémie est considérée comme arégénérative lorsque le taux absolu de réticulocytes est inférieur à 42 000 réticulocytes / $\mu$ L (Cowgill

*et al.*, 2003). Elle permet de calculer le taux de réticulocytes qui correspond au pourcentage de réticulocytes parmi la population érythrocytaire suivant la formule suivante (Trumel *et al.*, 2004) :

$$\text{Taux de réticulocytes (\%)} = \frac{\text{numération réticulocytaire (cellules/\mu L)}}{\text{numération érythrocytaire (cellules/\mu L)}} \times 100$$

Enfin, il est nécessaire de calculer le taux de réticulocytes corrigé qui prend en compte la sévérité de l'anémie. En effet, la réponse de la moelle osseuse hématopoïétique doit être d'autant plus importante que l'anémie est sévère (Weiss et Tvedten, 2012). Ce paramètre est calculé *via* la formule suivante (Trumel *et al.*, 2004) :

$$\text{Taux de réticulocytes corrigé (\%)} = \text{taux de réticulocytes (\%)} \times \frac{\text{Hématocrite du patient (\%)}}{\text{Hématocrite animal sain (\%)}}$$

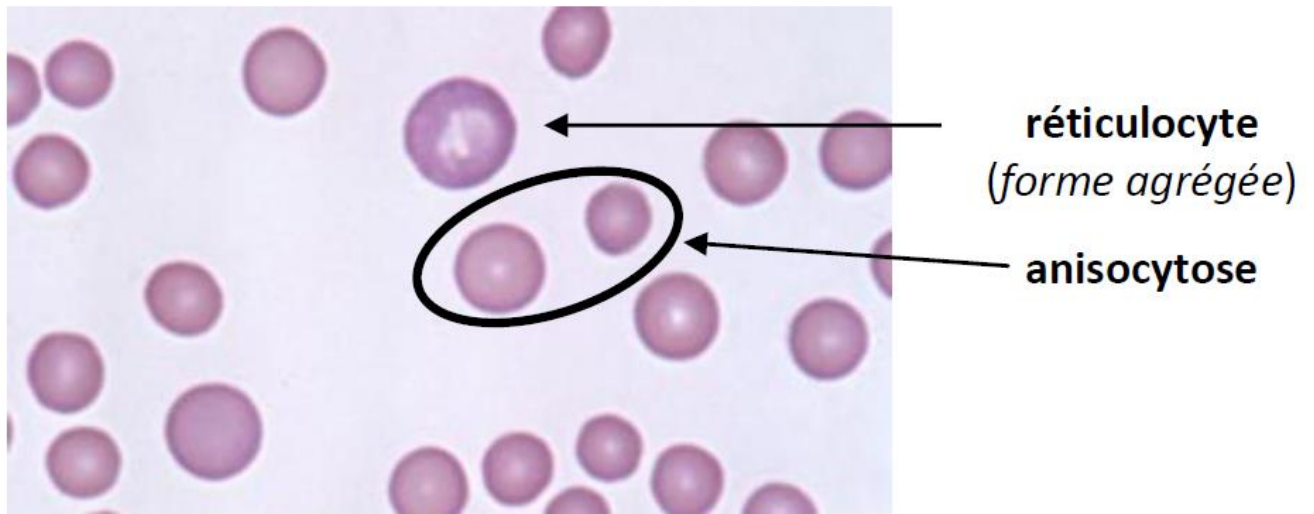
L'hématocrite d'un animal sain est estimé à 37% pour ce calcul. Le taux de réticulocytes corrigé doit être supérieur à 0,4% chez le chat pour que l'anémie soit qualifiée de régénérative (Trumel *et al.*, 2004).

- *Le frottis sanguin*

Le frottis sanguin est obtenu par étalement d'une goutte de sang sur une lame de verre. Il permet de détecter les anomalies cellulaires quantitatives et qualitatives (conformation cellulaire) ainsi que la présence de parasites. Il doit être systématiquement réalisé en complément d'un hémogramme (Trumel *et al.*, 2004).

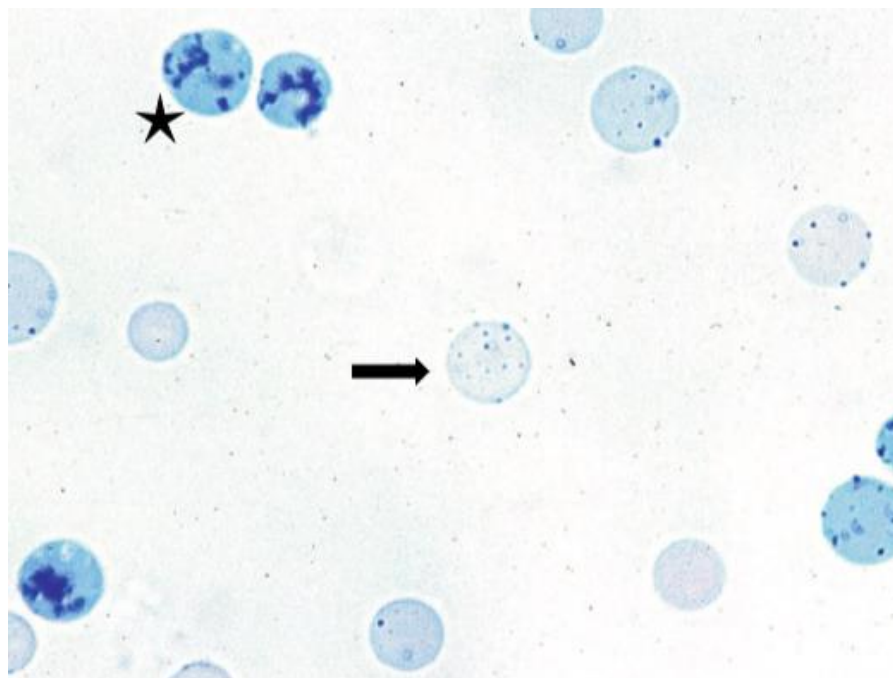
Il permet entre autres d'évaluer la présence de réticulocytes circulants. Les réticulocytes peuvent être observés *via* une coloration standard par le May Grünwald Giemsa (MGG) ou être colorés spécifiquement au Bleu de Crésyl brillant ou au Bleu de Méthylène (Weiss et Tvedten, 2012). Il existe deux types de réticulocytes : les formes agrégées (immatures) et les formes ponctuées (plus matures) (Trumel *et al.*, 2004). Au MGG, les réticulocytes agrégés apparaissent comme de volumineux érythrocytes bleutés, en revanche les formes ponctuées ne sont pas distinguables des érythrocytes (Trumel *et al.*, 2004) (**cf figure 11**). Les réticulocytes agrégés sont responsable d'une anisocytose et d'une polychromatophilie (Trumel *et al.*, 2004). Il est à noter que les automates ne sont capables de détecter que les réticulocytes agrégés (Trumel *et al.*, 2004).

**Figure 11** - Frottis sanguin de chat présentant une anémie régénérative après coloration au MGG observé au microscope (x1000), d'après le site de l'Université de Cornell et Menard (2013)



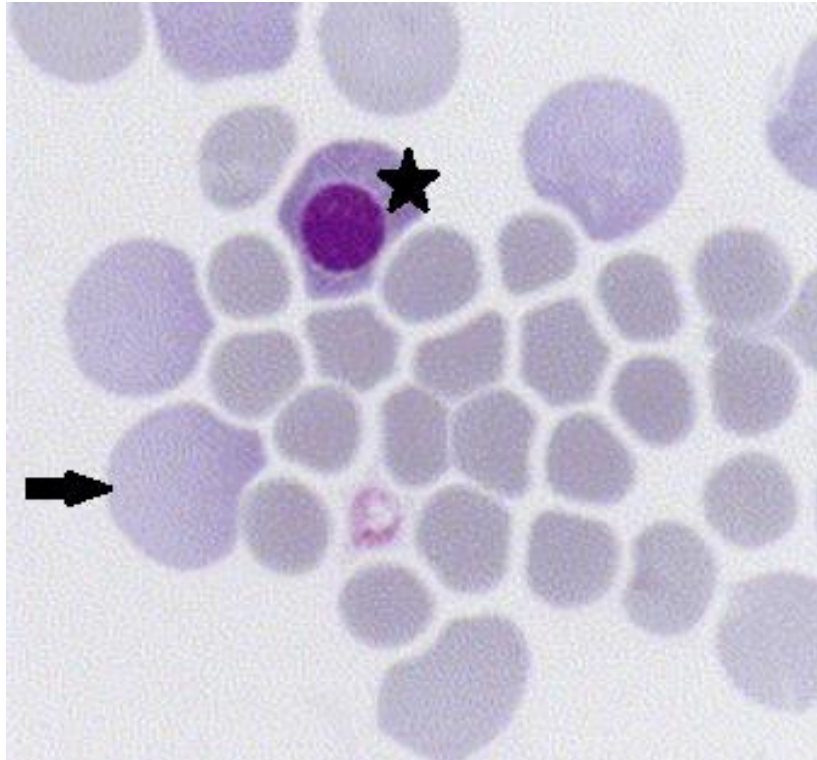
Le Bleu de crésyl brillant et le Nouveau Bleu de Méthylène permettent en revanche une mise en évidence évidente des formes agrégés mais aussi ponctuées des réticulocytes *via* la coloration de leur ARN (Trumel *et al.*, 2004) (**Cf figure 12**). Ainsi, sachant que le chat possède les deux formes de réticulocytes, en cas d'absence de réticulocytes sur un frottis coloré au MGG, il est nécessaire de s'assurer que des réticulocytes ponctués (indiscernables au MGG) ne peuvent être dévoilés *via* l'une des colorations spécifiques citées ci-dessus (Bellier et Cordonnier, 2010).

**Figure 12** - Réticulocytes agrégés (étoile) et ponctués (flèche) sur un frottis sanguin de chat après coloration au Nouveau Bleu de Méthylène observé au microscope (x1000) d'après (Harvey, 2012c)



Ainsi, au frottis sanguin, on notera, en cas d'anémie régénérative, une anisocytose, une polychromatophilie (des hématies de couleur variable) avec des réticulocytes et parfois des érythroblastes circulants (Trumel *et al.*, 2004) (**Cf figure 13**)

**Figure 13** – Anisocytose, polychromatophile, réticulocytes (flèche) et érythroblaste (étoile) sur un frottis sanguin de chat coloré au MGG observé au microscope optique (x1000), d'après Trumel *et al.* (2004)



La présence en quantité importante de réticulocytes est le signe d'une érythropoïèse exacerbée et montre donc une réponse médullaire à l'anémie. Néanmoins, les réticulocytes n'apparaissent qu'en 3 à 5 jours dans le compartiment sanguin lors d'anémie régénérative. L'absence de réticulocyte lors de la présentation lors d'anémie aiguë ne permet donc pas d'exclure une régénération et une nouvelle évaluation de la régénération sera à faire 5 jours plus tard (Trumel *et al.*, 2004).

#### **d. Mise en évidence du caractère hémolytique**

Les anémies hémolytiques (sans atteinte centrale) sont souvent très régénératives (Cowgill *et al.*, 2003). Néanmoins, en cas d'hémolyse chronique, l'anémie devient généralement de moins en moins régénératives du fait d'une myélofibrose et d'une myélonécrose (Trumel *et al.*, 2004).

Une hyperbilirubinémie sans signe d'insuffisance hépatique, de cholestase ou de sepsis, une hémoglobulinémie, une hémoglobulinurie et la présence de « cellules fantômes » sur le frottis sanguin sont des signes d'une hémolyse intravasculaire (Garden *et al.*, 2019).

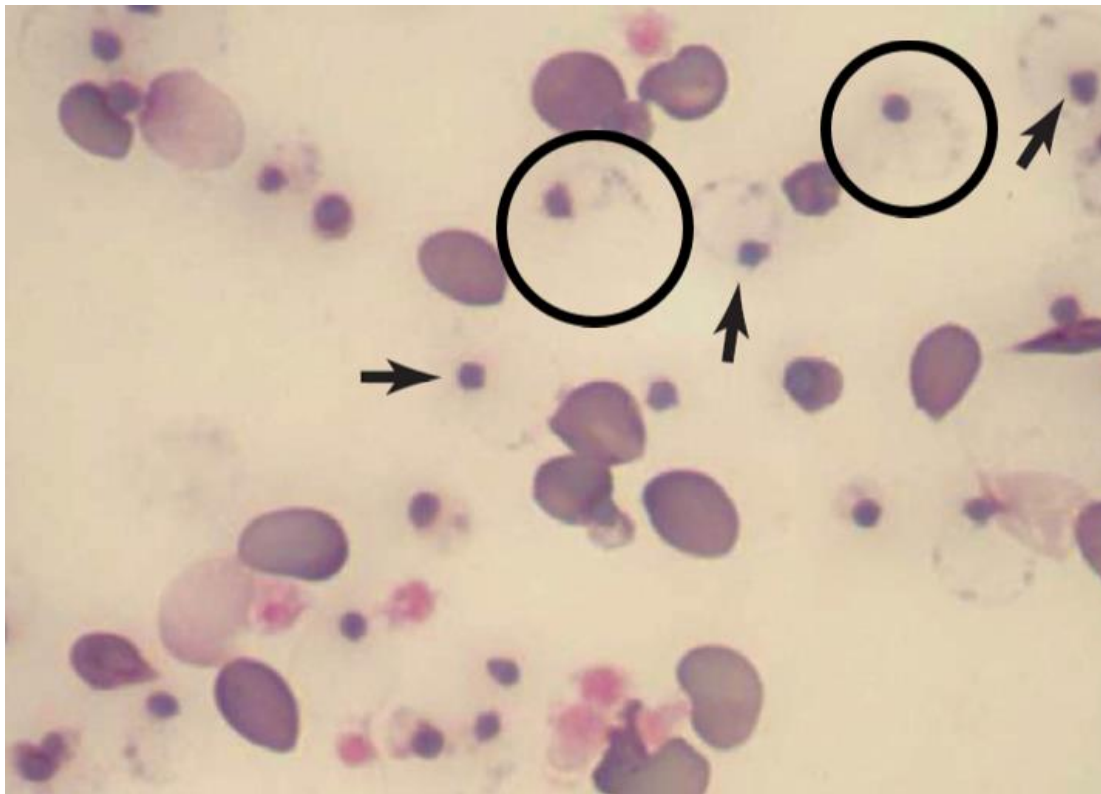
La présence d'un des signes suivants - ictère, augmentation de la bilirubine totale plasmatique ou bilirubinurie – est une preuve suffisante d'une hyperbilirubinémie (Garden *et al.*, 2019). La bilirubine totale peut être sous-estimé en cas de prélèvement hémolysé : l'oxyhémoglobine est en effet responsable d'une destruction rapide de la bilirubine (Shull *et al.*, 1980).

Une hémoglobinémie peut être estimée par inspection visuelle du plasma (Garden *et al.*, 2019). Sa présence ne peut être interprétée comme une preuve d'hémolyse pathologique qu'après élimination d'une possible hémolyse artéfactuelle (ponction traumatique, diamètre de l'aiguille, récolte *via* un cathéter intraveineux, congélation...) (Kennedy *et al.*, 1996 ; Grant, 2003 ; Garden *et al.*, 2019).

En absence de signes en faveur d'une myoglobinurie, la visualisation d'urines rouges, dont la coloration persiste après centrifugation est le signe d'une hémoglobinurie. De même, toujours en absence de signes de myoglobinurie, la détection d'hème par la bandelette urinaire sans visualisation de GR à l'examen du culot urinaire au microscope est une preuve d'hémoglobinurie (Garden *et al.*, 2019). Par ailleurs, le risque de lyse des GR dans l'urine, augmente en cas d'urine alcalines ou peu concentrées (Garden *et al.*, 2019).

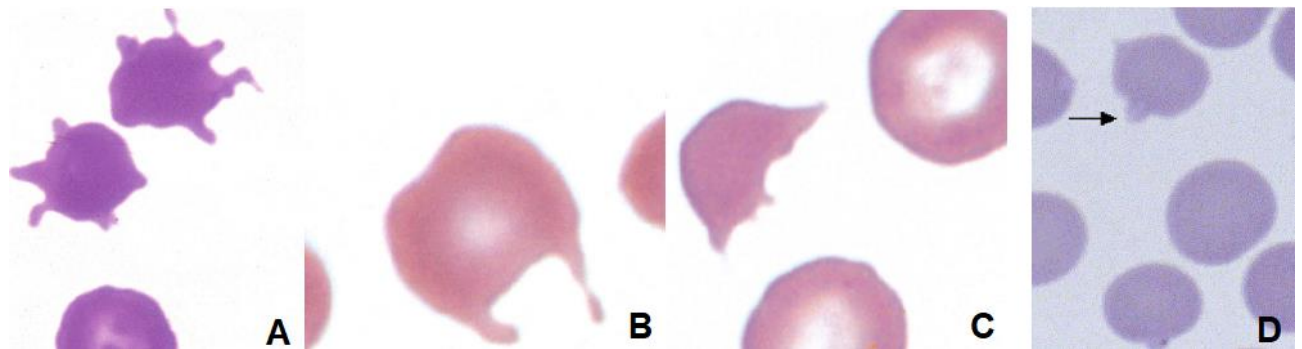
Les cellules fantômes sont des GR partiellement lysés dont le cytosquelette est intact et donc conservent leur forme (Swann *et al.*, 2016). Ils sont le signe d'une hémolyse (Swann *et al.*, 2016) (**Cf figure 14**).

**Figure 14** – Présence de cellules fantômes (cercle) contenant des corps de Heinz (flèches) sur un frottis sanguin de chat présentant une anémie hémolytique oxydative par intoxication aux oignons après coloration au MGG observé au microscope (x1000) d'après Weiss et Tvedten (2012)



D'autres anomalies conformationnelles des GR sont le signe d'une hémolyse, mais seront en faveur d'une hémolyse non immune. Lors d'hémolyse secondaire à une microangiopathie, les hématies peuvent subir des chocs mécaniques à l'origine d'une fragmentation et d'une modification de leur forme, aboutissant à des acanthocytes (hématies bourgeonnantes), des kératocytes (hématies cornues) et des schizocytes (fragments d'hématies) (**cf figure 15**). On notera ainsi une poïkilocytose, c'est-à-dire une variabilité de la forme des hématies (Trumel *et al.*, 2004).

**Figure 15** – Acanthocytes (A), kératocytes (B) et schizocytes (C) et corps de Heinz (D) sur des frottis sanguins de chats et de chiens après coloration au MGG observés au microscope (x1000), d'après Harvey (2012) et Trumel *et al.* (2004)



Les corps de Heinz, petite protubérance à la surface des hématies, (cf figures 14 et 15) sont quant à eux caractéristiques d'une hémolyse oxydative (Weiss, 2008).

#### **e. Mise en évidence du caractère immun de l'anémie**

- *Frottis sanguin*

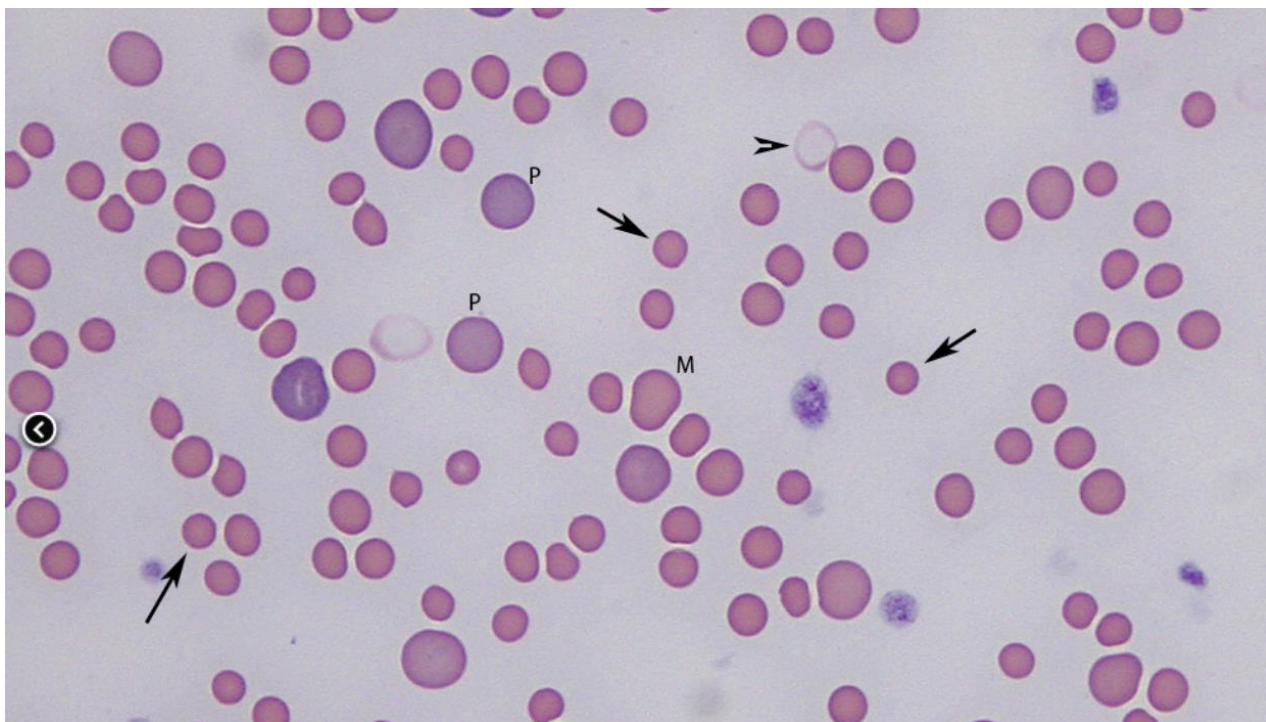
Chez le chien, la présence de sphérocytes (petits érythrocytes quasi sphériques dont le manque de concavité supprime la pâleur centrale habituelle des hématies saines) sur le frotti sanguin, est un élément en faveur d'une AHMI. En effet, la phagocytose de fragments de membrane de GR recouverts d'anticorps par les macrophages est à l'origine d'une perte de fonction des protéines du cytosquelette reliées à la membrane plasmique et cause ainsi une sphérification (Garden *et al.*, 2019). En revanche, du fait d'une quantité importante de sphérocytes dans les produits sanguins conservés, la présence de sphérocytes sur un frottis de chien après une transfusion doit être interprétée avec prudence (Garden *et al.*, 2019).

Néanmoins, les érythrocytes du chat étant naturellement moins concaves et donc avec un centre moins pâle, il sera difficile de différencier sphérocytes et hématies saines (Cf figure 16). Aucun sphérocyte n'a pu être identifié sur les frottis de 19 chats atteints d'AHMI primaire (Kohn *et al.*, 2006)

Toutefois, les sphérocytes sont plus fragiles et se lysent donc beaucoup plus facilement que les GR sains lors d'un test de fragilité osmotique dans une solution hypotonique (voir ci-dessous), ce qui permet de les détecter (Garden *et al.*, 2019).

Par ailleurs, la présence de cellules fantômes (Cf figure 16), en absence de signe de dommage oxydatif (tel que des corps de Heinz) est en faveur d'une hémolyse à médiation immune (Swann *et al.*, 2016).

**Figure 16** - Petits érythrocytes compatibles avec des sphérocytes (flèches) et cellules fantômes (tête de flèche) sur un frottis sanguin après coloration au MGG observé au microscope (X1000) d'un chat atteint d'AHMI, d'après le site eclinpath.com

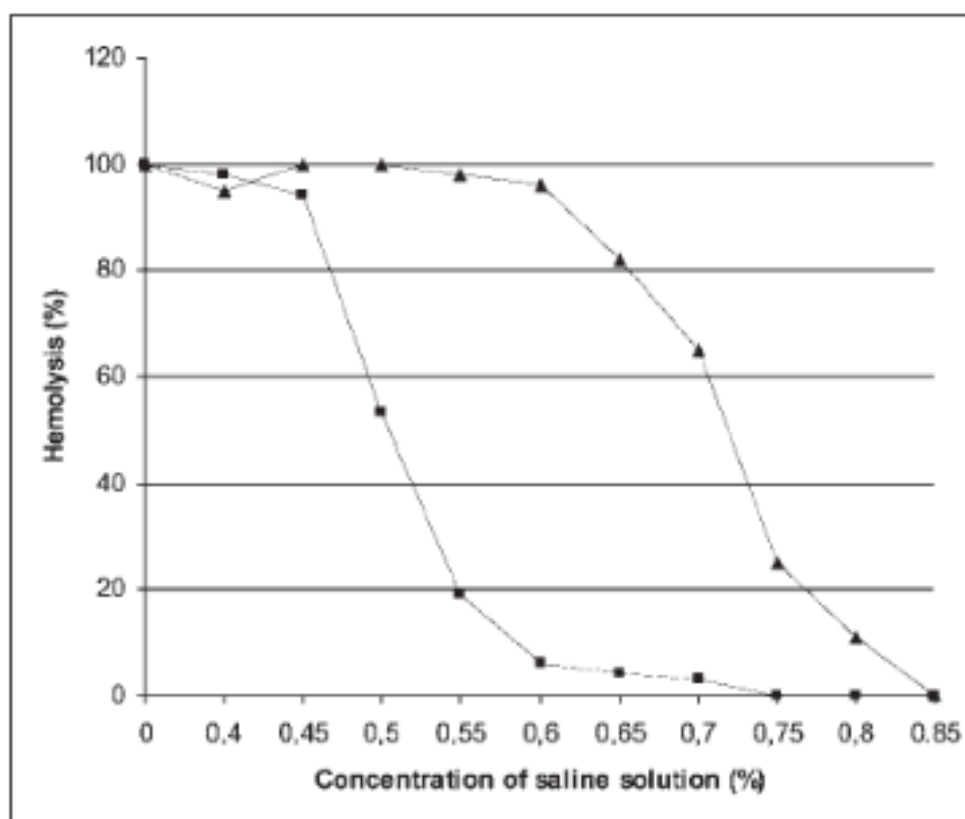


Dans l'étude de Swann et al (2016), plus de la moitié (58%) des chats atteints d'AHMI possédaient des cellules fantômes sur leur frottis sanguin. La présence de cette anomalie était par ailleurs le seul critère permettant de diagnostiquer un mécanisme immunitaire chez 5% des chats de l'étude (Swann et al., 2016).

- *Fragilité osmotique des hématies*

Le test de fragilité osmotique consiste à évaluer le pourcentage d'hémolyse en fonction de l'hypotonicité de la solution saline dans laquelle les hématies sont baignées. Un test de fragilité osmotique des érythrocytes positif peut suggérer une AHMI (Kohn et al., 2006). En effet, la fragilité osmotique des hématies est augmentée en cas d'AHMI, en raison d'une réduction du rapport entre surface et volume, diminuant leur capacité à devenir turgescentes dans un milieu hypotonique (Jain, 1973) (Cf figure 17). Néanmoins, la fragilité osmotique est difficilement observable sur les frottis sanguins de chats et n'est pas spécifique d'une atteinte à médiation immunitaire (Kohn et al., 2006). En effet, la fragilité osmotique peut être augmentée en cas de mycoplasmosse sanguine, de lymphome, d'hypophosphatémie, de leucose féline, d'insuffisance rénale ou de maladie inflammatoire (Kohn et al., 2006).

**Figure 17** – Courbe de fragilité osmotique chez un chat atteint d’AHMI (▲) et chez un chat témoin (■), d’après Kohn *et al.* (2006)



- *Agglutination et test de dilution saline*

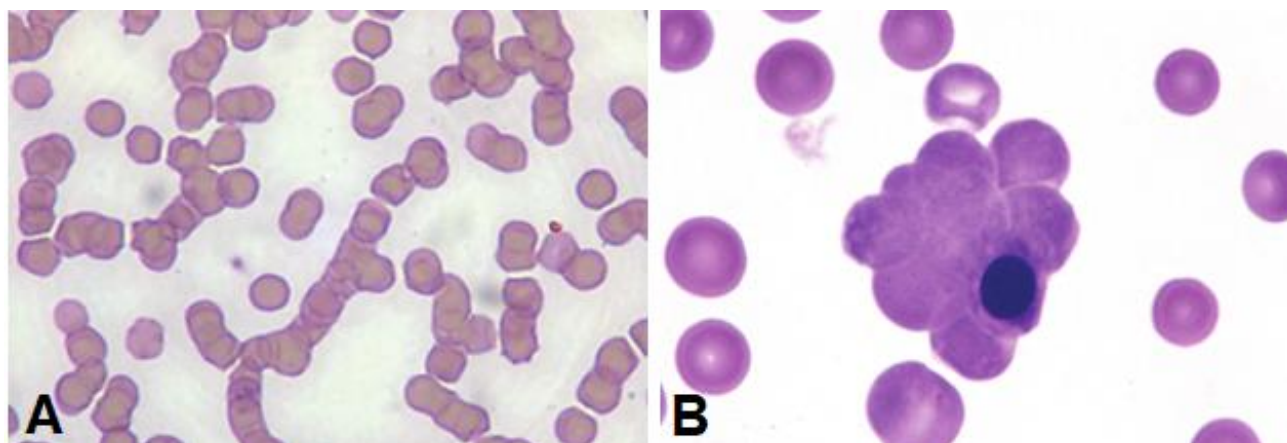
La présence d’anticorps à la surface des érythrocytes est à l’origine de leur auto-agglutination. Cette agglutination immune peut cependant être confondue avec la formation naturelle de rouleaux (**Cf figure 18**) chez le chat. Néanmoins, les rouleaux disparaissent à la dilution saline tandis que l’auto-agglutination persiste. La dilution d’une goutte de sang par 4 gouttes de sérum physiologique est recommandée chez le chat (Garden *et al.*, 2019).

L’évaluation de l’agglutination est faite macroscopiquement (sur lame ou sur tube) (**Cf figure 18**) puis microscopiquement (**cf figure 19**). En effet, une agglutination non observable macroscopiquement, peut l’être microscopiquement (Wardrop, 2005).

L’agglutination est persistante après dilution saline chez 65,4% des chats atteints d’AHMI dans l’étude de Swann *et al.* (2016).



**Figure 18** – Rouleaux (A) et agglutination (B) des hématies de chats à la lecture de frottis sanguin après coloration au MGG observés au microscope (x1000) d'après Harvey (2012a) et Pouletty (2010)



**Figure 19** - Agglutination macroscopique sur lame, d'après Trumel *et al.* (2004)



L'absence d'agglutination spontanée ne permet pas d'exclure une AHMI, du fait de l'implication d'anticorps incomplet dans cette affection. Les anticorps incomplets se fixent aux GR mais ne sont pas capables d'agglutination. Ainsi, en présence d'un tableau clinique évocateur et d'un test d'agglutination négatif, un test de Coombs direct est recommandé pour poursuivre les investigations (Wardrop, 2005).

- *Test de Coombs direct*

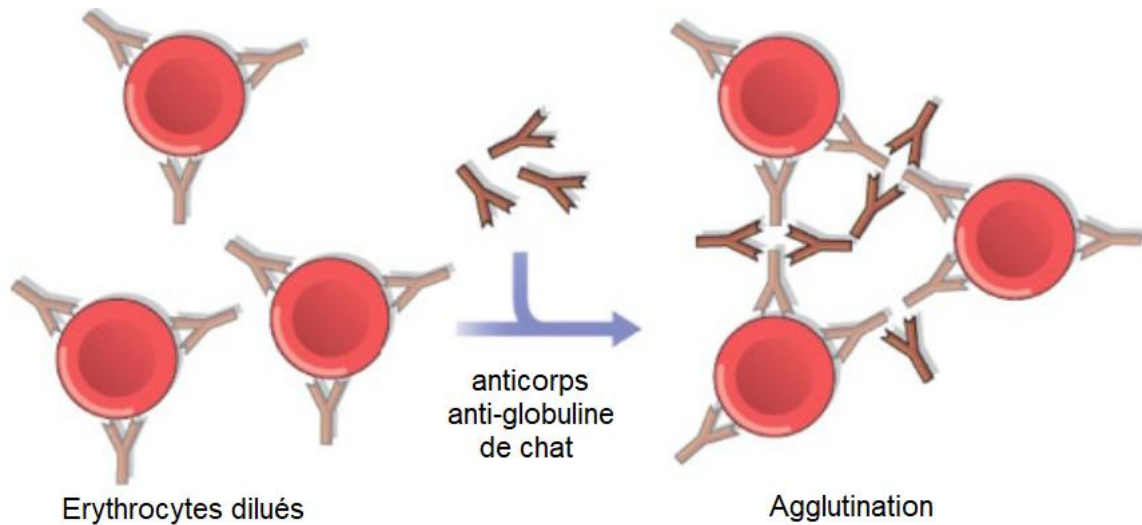
Un test de Coombs direct est indiqué lorsqu'un processus immunitaire est suspecté dans un contexte d'anémie, notamment lors d'anomalies typiques au frottis sanguin (hémagglutination, cellules fantômes, érythrophagocytose, sphérocytose), mais aussi lors du suivi des AHMI (Wardrop, 2005)

Le test de Coombs direct met en évidence les anticorps ou le complément fixés à la surface des hématies, sans permettre la différenciation entre auto-antigènes et xénoantigènes. Il ne permettra donc pas de différencier AHMI primaire et secondaire (Kohn *et al.*, 2006).

Le test se décompose en deux phases : la fixation spécifique des anticorps dirigés contre les globulines de chat (appelés réactifs de Coombs) sur les anticorps fixés aux hématies puis la formation d'agglutinats si les conditions expérimentales le permettent (Wardrop, 2005). (cf **figure**

20) Le test est considéré comme positif lorsque cette agglutination est observée (Trumel *et al.*, 2004).

**Figure 20** – Principe de réalisation du test de Coombs direct, d'après Day (2010)



Les anticorps antiglobuline ne peuvent se fixer que sur des anticorps non agglutinés ; ce qui explique qu'en cas d'agglutination persistante même après dilution saline, un test de Coombs ne pourra être réalisé (Wardrop, 2005).

La phase d'agglutination dépend de nombreux paramètres : du lavage, de la température d'exécution, de la quantité d'antiglobulines ajoutée (Wardrop, 2005).

Le mélange d'antiglobuline peut être « polyvalent », et cibler à la fois les IgG, les IgM et le complément (C3), ou « monovalent », et ne cibler qu'une seule immunoglobuline ou seulement le complément (Wardrop, 2012).

Le prélèvement est à réaliser sur tube contenant un agent chélateur de calcium (tube EDTA ou citraté). En effet, le calcium est à l'origine d'une fixation non spécifique du complément sur les hématies, à l'origine de faux positifs (Wardrop, 2005). Les tubes héparinés sont donc à proscrire (Gerber, 2007). Par ailleurs, l'EDTA peut induire une modification morphologique des hématies s'il est présent en excès, ce qui pourrait avoir un impact sur la fixation des anticorps, induisant des faux négatifs (Wardrop, 2005). Les tubes citratés seraient donc plus indiqués pour réaliser les prélèvements (Wardrop, 2005). Enfin, même si les fournisseurs de réactifs autorisent l'utilisation de tubes secs, seuls les résultats négatifs doivent être considérés comme valides, en raison d'un nombre trop élevé de faux positifs lors de prélèvement sur tube sec. En effet, des tests *in vitro* ont mis en évidence une fixation du complément sur les GR chez des animaux sains lorsque le prélèvement est fait sur tube sec (Wardrop, 2005).

Le délai entre le prélèvement et la réalisation du test doit être le plus réduit possible et ne pas excéder 48 heures (Wardrop, 2005).

Il existe de nombreux protocoles de réalisation du test suivant le laboratoire fournissant le réactif. La **figure 21** présente un exemple de protocole sur tube.

**Figure 21** - Exemple de protocole de réalisation d'un test de Coombs direct sur tube (notice d'utilisation des laboratoires MP biomedical, Solon, OH, USA) d'après Gerber (2007)

Prélèvement et préparation des échantillons de sang.
Prélever environ 4 mL de sang dans un tube sec ou un tube EDTA. Pour les échantillons devant être transportés vers un laboratoire, il est recommandé d'utiliser de préférence un tube sec.
Pour les échantillons prélevés sur tube EDTA, centrifuger et séparer les hématies du plasma.
Pour les échantillons réalisés sur tubes secs, ôter le sérum et casser doucement les caillots sanguins afin de remettre en suspension les globules rouges. Centrifuger et laisser décanter.
Réaliser 3 lavages successifs : ajouter du PBS à l'échantillon, centrifuger durant 10 minutes et à 37°C. Retirer le sérum puis recommencer l'opération deux fois.
Prélever 0,1 mL de l'échantillon préparé et le placer dans le tube de 10 ou 12*75mm. Mettre en suspension dans 4,9 mL de solution saline classique (NaCl) ou dans une solution de type PBS (Phosphate-Buffered-Saline). Ceci permet d'obtenir 5 mL d'une suspension érythrocytaire à 2%. Afin d'éviter une dilution ou une neutralisation du réactif (antiglobuline) ; laisser complètement décanter le dernier lavage.
Contrôle négatif : prélever un animal sain non anémié et réaliser le test.
Procédure du test
Dilution du réactif de Coombs
Etiqueter trois tubes : 1/2, 1/4 et 1/8, et dans chaque tube ajouter 0,5 ml de solution saline classique.
Pipetter 0,5 ml de réactif et le placer dans le tube 1/2.
Bien mélanger et transférer 0,5 mL du tube 1/2 dans le tube 1/4.
Transférer 0,5 mL du tube 1/4 dans le tube 1/8.
Ces étapes permettent d'obtenir un réactif aux dilutions de 1/2, 1/4 et 1/8.
Réalisation du test de Coombs
Etiqueter 8 tubes : CS, C1/2, C1/4, C1/8, PS, P1/2, P1/4, P1/8. Ajouter 4 tubes pour chaque patient supplémentaire à tester.
Placer 0,1 mL de la solution érythrocytaire lavée du témoin négatif, dans chaque tube de la série C.
Placer 0,1 mL de la solution érythrocytaire lavée du patient, dans chaque tube de la série P.
Prélever 0,1 mL de solution saline classique ou de PBS à placer dans les tubes CS et PS.
Prélever 0,1 mL du sérum de Coombs dilué au 1/2, 1/4 et 1/8, et les placer respectivement dans les tubes notés C1/2, C1/4, C1/8 et P1/2, P1/4, P1/8.
Mélanger doucement et laisser incuber 30 minutes à 37°C.
Observer l'apparition d'agglutination dans les tubes. Si aucune agglutination n'est visible à l'œil nu, utiliser un microscope.
Le test de Coombs peut également être réalisé sur plaque. Dans ce cas la préparation de la suspension érythrocytaire ainsi que les dilutions du réactif sont les mêmes. Par contre les volumes de solution saline, de suspension érythrocytaire et de réactif de Coombs sont de 0,025 mL au lieu de 0,1 mL.
Interprétation
Un titre important d'agglutination (comparé au témoin négatif) pour l'échantillon d'un patient indique que les hématies de ce patient sont recouvertes par des anticorps ou des protéines du complément. Le test n'est considéré positif que si le témoin négatif ne présente pas d'agglutination ou si elle est moins importante que celle observée pour l'échantillon du patient.

Un résultat positif est donné avec un titre, correspondant à la dernière dilution avec un résultat positif. En effet, les hématies sont mises en contact avec le réactif selon des dilutions croissantes (1/2, 1/4, 1/16, 1/32, etc.) Plus le titre est élevé, plus le résultat est significatif (Wardrop, 2005).

Le test peut aussi être réalisé sur plaque, cette technique permettant de réaliser un plus grand nombre de dilutions (Wardrop, 2005). Cette technique est particulièrement intéressante en raison

d'un effet prozone : lorsque la concentration en antigène (c'est-à-dire en anticorps ou complexe lié aux hématies) est trop importante par rapport aux anticorps antiglobuline apportés, l'agglutination ne peut avoir lieu et le résultat sera négatif (Wardrop, 2012). Ainsi la réalisation d'une série de dilutions importantes permettra de détecter des cas qui se seraient révélés négatifs lors de l'utilisation d'une gamme de dilution plus classique (Overmann *et al.*, 2007).

La sensibilité du test de Coombs pour la détection des AHMI est très variable suivant les études (48 à 82%) (Jones *et al.*, 1990 ; Overmann *et al.*, 2007 ; Tasker *et al.*, 2010). Des faux négatifs peuvent apparaître si les anticorps sont élués (délais d'acheminement trop long, lavage trop agressif), en présence de résidus plasmatiques neutralisant le réactif (lavage incomplet), en raison d'un effet prozone, mais aussi si la quantité d'anticorps fixés aux hématies est insuffisante (Wardrop, 2012). La réalisation du test à froid (4°C) en plus des conditions traditionnelles (37°C) est controversée (Wardrop, 2012). En effet, des études rapportent des faux positifs (de faible titre) lors de la réalisation du test à froid (Dunn *et al.*, 1984), néanmoins la réalisation du test à froid a permis de détecter des cas d'AHMI canine dont le test à 37°C était négatif (Warman *et al.*, 2008). L'utilisation de plusieurs réactifs monovalents plutôt qu'un seul réactif polyvalent est elle aussi controversée : l'utilisation de réactifs monovalent à 37°C n'a pas permis d'augmenter la sensibilité du test dans l'étude d'Overmann *et al.* (2007), tandis qu'elle a permis de détecter 5 cas de plus à 4°C dans l'étude de Warman *et al.* (2008). Ainsi, afin d'optimiser la sensibilité, il est nécessaire de suivre scrupuleusement le protocole du fournisseur de réactif, de réaliser le test sur plaque afin de supprimer l'effet prozone *via* une gamme de dilution plus importante (sensibilité sur tube : 61%, sur plaque avec plus large gamme de dilution : 82%) (Overmann *et al.*, 2007), mais aussi à 37°C et 4°C, avec des réactifs polyvalents et monovalents (Wardrop, 2012).

Dans l'étude de Swann *et al.* (2016), le test de Coombs direct n'était positif seulement chez 10% des chats atteints d'AHMI. De plus le titre ne dépassait le seuil de positivité significative, fixé à 1/16 par les auteurs, que chez 3% des chats (Swann *et al.*, 2016). Par ailleurs, la positivité du test a été le seul critère diagnostique d'AHMI que chez 1 chat sur 107 (contre respectivement 10 et 5 pour le test d'agglutination persistant et la présence de cellules fantômes) (Swann *et al.*, 2016).

Enfin, le résultat peut être négatif en cas d'AHMI arégénérative, lorsque les anticorps ne reconnaissent que les antigènes exprimés par les précurseurs des GR (Wardrop, 2012) ; l'étude de Stokol et Blue (1999) rapporte ainsi 50% de tests de Coombs négatifs chez les chats atteints de PRCA.

La spécificité du test est évaluée entre 95 et 100% suivant les études (Garden *et al.*, 2019). Il peut être faussement positif en cas d'infection (FeLV), de maladies inflammatoires (pancréatite, cholangite), de syndrome myélodysplasique, de néoplasie (lymphoproliférative ou myéloproliférative) ou de pyothorax (Dunn *et al.*, 1984 ; Ottenjann *et al.*, 2006 ; Tasker *et al.*, 2010 ; Stokol, 2010a). Par ailleurs, la méthode de réalisation du test peut être elle aussi à l'origine de faux positifs, comme en cas de centrifugation trop intense, de lecture tardive et d'utilisation de tubes secs ou héparinés (Wardrop, 2005). En raison d'auto-anticorps réactifs à froid naturellement présents chez certains animaux sains, un stockage des échantillons de sang à 4°C et la réalisation du test à froid peut aussi être à l'origine d'une fausse positivité (Dunn *et al.*, 1984). Enfin, des allo-anticorps post-transfusionnels peuvent rendre un test positif 2 à 30 jours après une transfusion (Gerber, 2007).

Ainsi le résultat d'un test de Coombs (négatif ou positif, en particulier à faible titre) doit donc être interprété avec prudence et être confronté à l'ensemble de l'examen clinique et biologique de l'animal (Dunn *et al.*, 1984). Un test de Coombs positif chez un chat présentant une anémie hémolytique est fortement évocateur d'une AHMI (Kohn *et al.*, 2006)

Si le test de Coombs ne peut être réalisé en raison d'une agglutination persistante malgré les dilutions salines, la combinaison d'une anémie et d'une hémolyse associée à cette agglutination persistante est suffisante pour le diagnostic d'une AHMI (Garden *et al.*, 2019).

Dans l'étude de Swann *et al.* (2016), le diagnostic d'AHMI a été le plus fréquemment réalisé *via* une agglutination persistante ou la présence de cellules fantômes sans corps de Heinz sur le frottis sanguin. Ainsi, un test de Coombs direct ne serait requis que dans le diagnostic d'une minorité de cas (Swann *et al.*, 2016).

- *Cytométrie de flux*

La cytométrie de flux permet de détecter la présence d'anticorps liés aux hématies. Pour cela, les auto-anticorps sont ciblés par des anticorps antiglobulines de chat marqués par un fluorochrome. La cytométrie de flux permet, dans un second temps, de révéler les fluorochromes à la surface des GR (Tarrant, 2005).

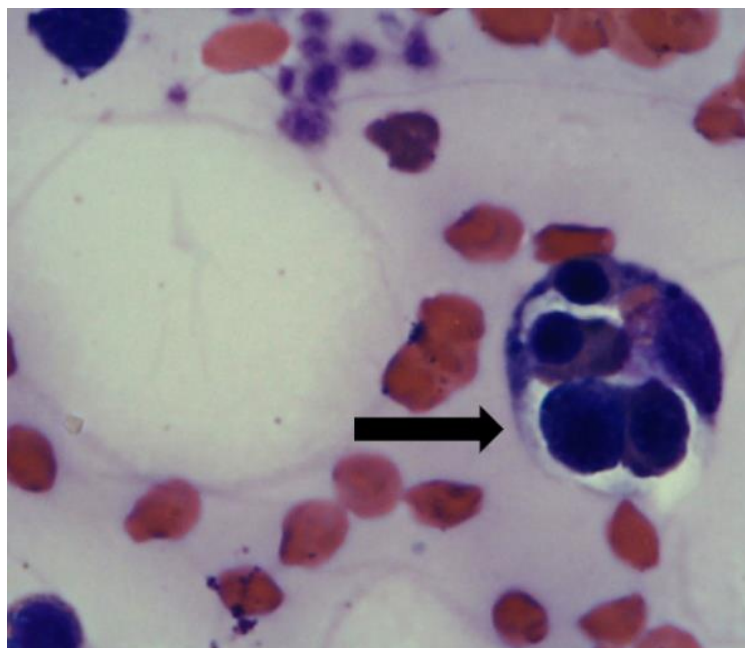
Chez le chien, ce test est plus sensible (92 à 100%) qu'un test de Coombs direct et de spécificité comparable (87,5 à 100%) (Tarrant, 2005). Néanmoins aucune évaluation de la qualité de ce test n'a été réalisée chez le chat.

Par ailleurs, ce test est peu disponible et plus coûteux ce qui limite son utilisation (Tarrant, 2005).

- *Erythrophagocytose sur le myélogramme*

En cas d'absence de régénération 5 jours après l'évaluation initiale, un myélogramme est préconisé afin d'investiguer la cause de cette absence de régénération (Trumel *et al.*, 2004) (**cf première partie.2.B.f**). La mise en évidence d'une érythrophagocytose, c'est-à-dire d'une phagocytose des érythrocytes et de leurs précurseurs par les macrophages, sur le myélogramme est en faveur d'un processus immun (Swann *et al.*, 2016) (**Cf figure 22**).

**Figure 22** – Phagocytose de précurseurs érythroïdes intacts par un macrophage sur un myélogramme de chat atteint d’AHMI coloré au MGG et observé au microscope optique (x1000), d’après Swann *et al.* (2016)



Dans l'étude de Swann *et al.* (2016), de telles images étaient présentes chez 34% et 56% des chats atteints respectivement d'AHMI primaire et secondaire (sans différence significative) et étaient l'unique critère en faveur d'une hémolyse d'origine immune chez 7 chats sur 107.

#### ***f. Recherche d'une cause sous-jacente à l'AHMI***

Différencier AHMI primaire et secondaire est essentiel, car traiter une cause sous-jacente d'AHMI, quand elle est présente, est une composante cruciale du traitement (Garden *et al.*, 2019).

- *Recueil des commémoratifs*

Le recueil complet des commémoratifs est une étape essentielle. En effet, il permettra de diagnostiquer une AHMI iatrogène (traitement antithyroïdien, injection d'EPO recombinante, transfusion récente, vaccination récente) (McCullough, 2003 ; Kohn *et al.*, 2006).

- *Suspecter une AHMI secondaire*

- Valeur de l'hématocrite en cas d'AHMI primaire ou secondaire

Une anémie sévère est rapportée dans la majorité des cas d'AHMI primaire, avec un pourcentage en hématocrite moyen de 11,5 - 12% (Kohn *et al.*, 2006 ; Swann *et al.*, 2016). En effet, les signes majeurs de la maladie, telle que la léthargie ou la dysorexie, étant non spécifiques, la présentation en clinique est souvent tardive (Kohn *et al.*, 2006). De plus, les chats semblent mieux tolérer des valeurs basses d'hématocrites que les chiens (Kohn *et al.*, 2006).

Lors d'AHMI primaire centrale, l'anémie est sévère à très sévère, avec un hématocrite médian d'environ 8% ; 86% des chats ayant un hématocrite inférieure à 15% (Black *et al.*, 2016).

En cas d'AHMI secondaire, Swann *et al.* (2016) rapporte un hématocrite moyen initial de 13%. En particulier lors d'AHMI secondaire à une infection par *Mycoplasma haemofelis*, l'hématocrite moyen

est de 12,5 % (4 – 21,5%) (Maede et Hata, 1975). En cas de co-infection par le FeIV et *Mycoplasma haemofelis*, l'anémie est généralement plus marquée (Bobade *et al.*, 1988). Les valeurs d'hématocrite suivant le type d'affection sous-jacente à l'AHMI sont rapportées dans le **tableau 9**.

**Tableau 10** - Valeurs de l'hématocrite (Ht) en fonction de l'origine de l'AHMI secondaire

Etude	Marcos <i>et al.</i> (2009)	Breitschwerdt <i>et al.</i> (2002)	Schoeman <i>et al.</i> (2001)	Lusson (1999)	Gunn-Moore <i>et al.</i> (1999)	Lenard <i>et al.</i> (2007)	Peterson <i>et al.</i> (1984)
Cause de l'AHMI	Leishmaniose	Ehrlichiose	Babésiose	Lupus	Infiltration lymphoblastique	Lymphangiosarcome	PTU
Nombre de cas	1	2	56	1	2	1	9
Ht	6,5%	6 et 17%	18,7% en moyenne	24%	11 et 21%	12%	12,7% en moyenne

□ Caractère régénératif en cas d'AHMI primaire ou secondaire

Le caractère régénératif ou non des AHMI secondaires dépend de la cause sous-jacente de l'anémie. Lors d'infection par *Mycoplasma haemofelis*, l'anémie est le plus souvent régénérative : la totalité des anémies étaient régénératives dans l'étude de George *et al.* (2002). Le **tableau 11** recense le caractère régénératif ou non de l'anémie suivant le type d'affection sous-jacente.

**Tableau 11** - Caractère régénératif de l'anémie en fonction de l'affection sous-jacente

Etude	Marcos <i>et al.</i> (2009)	Breitschwerdt <i>et al.</i> (2002)	Schoeman <i>et al.</i> (2001)	Lusson (1999)	Gunn-Moore <i>et al.</i> (1999)	Lenard <i>et al.</i> (2007)	Peterson <i>et al.</i> (1984)
Cause de l'AHMI	Leishmaniose	Ehrlichiose	Babésiose	Lupus	Infiltration lymphoblastique	Lymphangiosarcome	PTU
Nombre de cas	1	2	56	1	2	1	9
Régénération	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Non pour 60% des cas

Concernant les AHMI primaires, elles sont le plus souvent arégénératives lors de la présentation initiale : 58% des chats présentaient une anémie arégénérative lors de leur évaluation initiale (Kohn *et al.*, 2006).

Swann *et al.* (2006) ont comparé le pourcentage de réticulocytes 5 jours après la déclaration de l'AHMI entre AHMI primaire (25,4%) et secondaire (29,6%) et il ne semble pas y avoir de différence significative quant au caractère régénératif de l'anémie (Swann *et al.*, 2016). Ainsi, la présence ou

non d'une régénération 5 jours après la déclaration de l'anémie ne permet pas d'orienter le diagnostic vers une AHMI primaire ou secondaire.

□ Hémolyse en cas d'AHMI primaire ou secondaire

Dans l'étude de Kohn *et al.* (2006), une hyperbilirubinémie modérée est rapportée chez 68% des chats atteints d'AHMI primaire, mais seulement 10% présentaient un ictère clinique.

Concernant les AHMI allo-immunes, les signes d'hémolyse sont marqués tant pour les réactions transfusionnelles (Giger et Bücheler, 1991) que pour l'isoérythrolyse néonatale (Bücheler et Giger, 1993).

□ Hémagglutination en cas d'AHMI primaire ou secondaire

L'agglutination est persistante après dilution saline chez 21 à 57% des chats d'une AHMI primaire (Werner et Gorman, 1984 ; Kohn *et al.*, 2006).

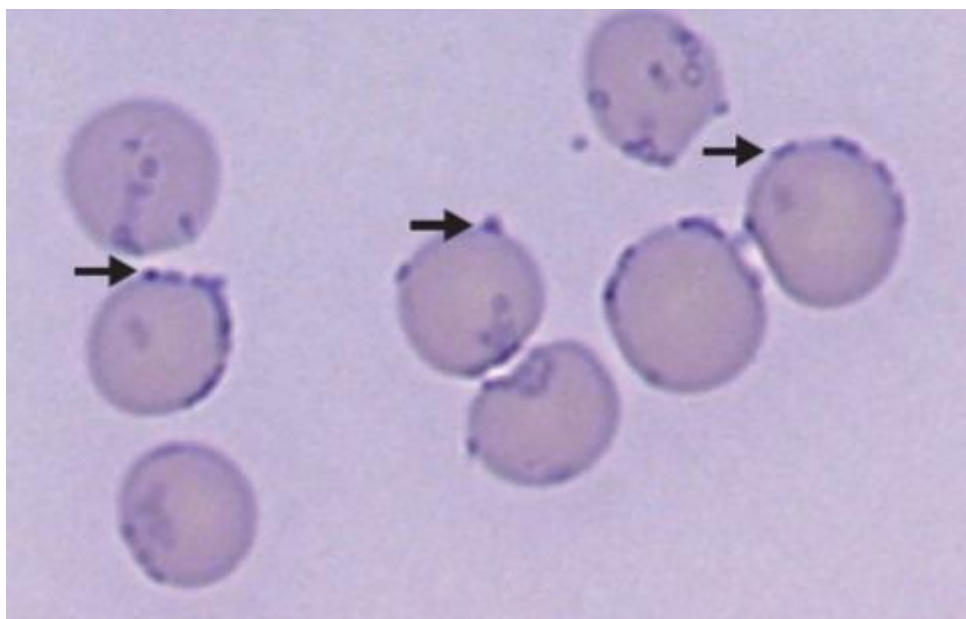
Concernant les AHMI secondaires, une hémagglutination est fréquemment rapportée en cas d'infection par des hémoplasmes félines (Sykes, 2010) et est notée dans 16% des infections naturelles par *Babesia felis* (Schoeman *et al.*, 2001).

Les résultats des analyses réalisées lors du diagnostic de l'AHMI sont donc peu contributifs quant à la distinction entre AHMI primaire et secondaire. L'étape suivante est d'exclure toute infection pouvant être à l'origine d'une AHMI.

• *Recherche de parasites sur le frottis sanguin*

Les mycoplasmes hémotropes félines peuvent être recherchés sur le frottis sanguin, sous la forme de petits coques à la surface des hématies (Pouletty, 2010) (**Cf figure 23**).

**Figure 23** – Identification de *Mycoplasma haemofelis* à la surface des hématies de chat colorés au MGG et observé au microscope optique (x1000), d'après Pouletty (2010)



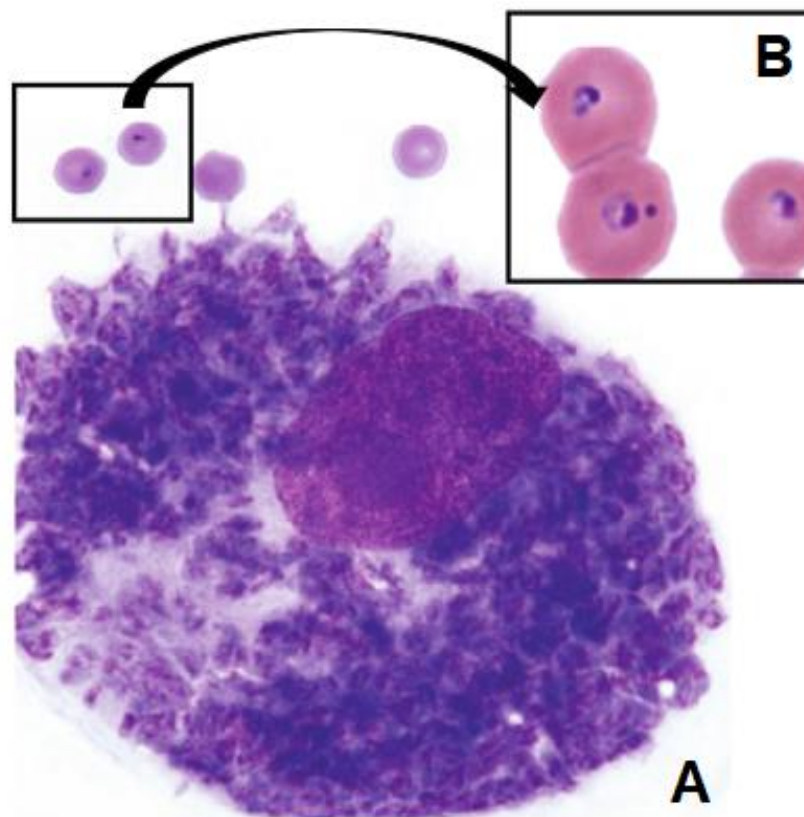
Néanmoins ces bactéries sont difficilement identifiables du fait de leur taille, peuvent être détachées des hématies par l'EDTA et leur présence à la surface des hématies est fluctuante au cours du



temps. La sensibilité de la recherche d'hémoplasmes sur frottis sanguins est estimée entre 0 et 37,5% suivant les études (Barker et Tasker, 2013). Ainsi leur absence au frottis sanguin ne permet pas d'exclure une AHMI secondaire à une mycoplasmosse féline (Barker et Tasker, 2013). Par ailleurs, ils peuvent être confondus avec des artefacts de coloration et des corps de Howell Jolly (sensibilité estimée entre 84 et 98% suivant les études) (Barker et Tasker, 2013).

*Cytauxzoon felis* peut aussi être visualisé sur les frottis sanguins, sous forme de piroplasmes (petits anneaux) à l'intérieur des érythrocytes ou de schizontes à l'intérieur des macrophages (Cohn et Birkenheuer, 2012) (**Cf figure 24**) La visualisation de ces parasites n'est cependant pas aisée et ils peuvent être confondus avec des corps de Howell-Jolly (Cohn et Birkenheuer, 2012).

**Figure 24** - Visualisation de *Cytauxzoon felis* au sein d'un macrophage et d'hématies (A) et au sein d'hématies agrandies (B) colorés au MGG, d'après Harvey (2012)



La recherche des mycoplasmes félines et de *Cytauxzoon felis* au frottis sanguin n'étant ni sensible ni spécifique, il est recommandé d'utiliser d'autres examens complémentaires tels qu'une PCR ou une sérologie (Cohn et Birkenheuer, 2012 ; Barker et Tasker, 2013).

- Recherche d'agents infectieux par immunofluorescence, immunohistochimie, sérologie ou PCR

La recherche bactériologique par culture des Mycoplasmes hémotropes félines est impossible (Barker et Tasker, 2013). Leur recherche se fait par PCR, test plus sensible et spécifique que l'analyse cytologique, permettant d'identifier l'espèce impliquée. Néanmoins, en raison d'une bactériémie fluctuante, l'hypothèse d'une infection par les hémoplasmes félines ne pourra être totalement exclue en cas de PCR négative (Barker et Tasker, 2013). Par ailleurs, une étude a montré la détection par

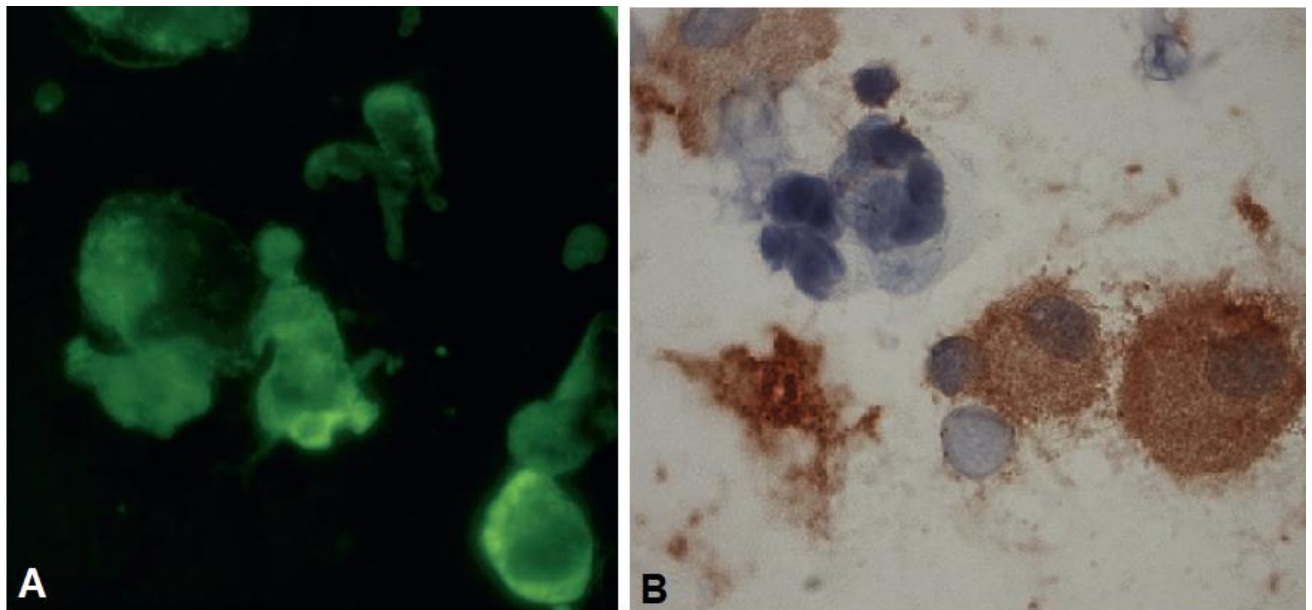
un test ELISA d'une séroconversion chez la totalité des chats infectés expérimentalement par *Mhf*, *CMhm* et *CMt*. De plus, sachant que le pic d'anticorps est atteint 2 à 4 semaines après une infection expérimentale par *Mhf* (Barker *et al.*, 2010), la réalisation de tests sérologiques quantitatifs permettraient de différencier infection aiguë et portage chronique (Barker et Tasker, 2013).

La présence de *Cytauxzoon felis* peut être confirmée par une analyse PCR. Néanmoins, le délai pour obtenir les résultats est trop long proportionnellement à l'évolution rapide souvent fatale de la maladie (Cohn et Birkenheuer, 2012). De même, la recherche sérologique n'est pas réalisée car les animaux meurent souvent avant de développer des anticorps (Cohn et Birkenheuer, 2012).

La recherche du FeLV se fait principalement par un test rapide de détection de l'antigène p27 (protéine de la capsid du virus) *via* une technique ELISA sur prélèvement sanguin. Néanmoins, ce test n'est pas sensible à 100% du fait de l'existence de forme latente avec antigénémie sans virémie. En effet, le FeLV est un rétrovirus qui lors de sa réplication chez l'hôte converti son ARN en ADN. Or il arrive que cet ADN soit intégré à l'ADN des cellules hôtes ; on parle alors de provirus. Lorsque le virus est sous forme latente, il n'existe plus que sous cette forme de provirus. La protéine p27 n'est donc plus produite et n'est ainsi pas détectable par les tests ELISA traditionnels. D'autres tests existent (immunochromatographie, immunofluorescence, isolation du virus, détection de l'ARN par PCR), mais seule une détection de l'ADN du provirus par PCR permet de détecter les formes latentes. Sachant que 10% des chats positifs *via* une recherche du provirus par PCR seront négatifs *via* un test rapide ELISA, il est recommandé de rechercher le provirus par PCR lors de suspicion clinique. La recherche de l'ADN proviral par PCR peut être réalisée sur sang total ou prélèvement de moelle osseuse et de tissu lymphatique (Lutz *et al.*, 2009).

Concernant le diagnostic d'une PIF, le test sérologique ne permet de mettre en évidence qu'une exposition au coronavirus félin (FCoV). Or le FCoV est peu à modérément virulent, les animaux infectés pouvant ne présenter aucun signe clinique ou seulement une gastro-entérite bénigne. En cas de charge virale importante (surpopulation) ou lors de stress, une mutation du virus peut survenir, lui conférant la capacité de se répliquer dans les monocytes et macrophages. L'atteinte des monocytes et macrophages est à l'origine d'une vascularite pyogranulomateuse pouvant aboutir lorsque les lésions deviennent trop importantes à des épanchements (PIF humide) (Addie, 2012). Ainsi, le résultat du test sérologique est à interpréter en fonction de la force de la suspicion clinique : en cas de résultat négatif et de faible suspicion, une PIF est peu probable ; en cas de résultat négatif et de forte suspicion, d'autres examens sont à réaliser (la sensibilité étant de 90%) ; en cas de résultat positif, tout dépend de la suspicion (Addie, 2012). La recherche de l'ARN du FCoV peut se faire par RT-PCR. La PCR ne permet pas de différencier la forme mutée de la forme native (Sykes, 2010). Néanmoins, la quantification de la charge virale permet, en tenant compte de la suspicion clinique et des autres examens complémentaires, d'orienter le diagnostic. En effet, lors de PIF, la charge virale est généralement bien plus importante. L'analyse se fait sur épanchement, liquide cérébro-spinal, humeur aqueuse ou biopsie de nœud lymphatique, de foie ou de rein. Par ailleurs, la sensibilité n'est pas parfaite, avec un risque de faux négatif en cas de faible portage viral ou de dégradation de l'ARN viral lors de la manipulation (Addie, 2012). Le diagnostic définitif d'une PIF se fait par détection du coronavirus félin au sein des macrophages par immunofluorescence directe ou immunocytochimie sur épanchement et par immunohistochimie sur biopsie de granulome (Addie, 2012) (**Cf figure 25**). La spécificité de ces tests est parfaite mais pas leur sensibilité, ainsi on ne pourra exclure une PIF *via* ces méthodes (Addie, 2012).

**Figure 25** – Détection du FCoV dans les macrophages d'un épanchement de chat atteint de PIF par immunofluorescence direct (coloration en vert des cellules infectées) (A) et immunocytochimie (coloration en marron des cellules infectées) (B), d'après Addie (2012) et Sykes (2013)



- *Examens d'imagerie : recherche de maladie inflammatoire ou de néoplasie*

En parallèle des examens cités ci-dessus, des examens d'imagerie - radiographies thoraciques et abdominales ainsi qu'échographie abdominale - sont réalisés afin d'investiguer une possible cause inflammatoire (pancréatite, cholangite, pyélonéphrite), infectieuse (PIF) ou néoplasique (lymphome) (McCullough, 2003 ; Kohn *et al.*, 2006 ; Swann *et al.*, 2016).

Une splénomégalie, avec parenchyme homogène, est rapportée chez 42% des chats atteints d'AHMI primaire de l'étude de Kohn *et al.* (2006). Dans le contexte d'une AHMI, une splénomégalie diffuse peut être consécutive à l'hémolyse extravasculaire dont elle est le siège, à une hémato-poïèse extramédullaire, un processus inflammatoire ou infectieux (PIF, hémoplasmes félines, toxoplasmose), une infiltration tumorale et enfin une congestion (Kohn *et al.*, 2006). Une splénomégalie diffuse est également fréquente dans d'autres types d'anémies hémolytiques, telles que l'augmentation de la fragilité osmolaire ou une déficience en pyruvate kinase (Kohn *et al.*, 2006).

Une hépatomégalie est assez courante (Kohn *et al.*, 2006). Elle peut être le signe d'un processus inflammatoire, infectieux ou d'une infiltration tumorale (Kohn *et al.*, 2006).

Enfin, une évaluation échographique permet la réalisation de ponctions échoguidées (nœuds lymphatiques, rate, foie, rein, épanchement) parfois nécessaires au diagnostic (McCullough, 2003 ; Kohn *et al.*, 2006).

- *Myélogramme*

En cas d'absence de signe de régénération 5 jours après la mise en évidence de l'anémie, un myélogramme est préconisé (Trumel *et al.*, 2004). Il s'agit de l'ensemble des éléments fournis par l'examen microscopique d'un frottis de moelle osseuse hématopoïétique recueilli par ponction-aspiration (Abella-Bourgès *et al.*, 2005). Il comprend l'appréciation des paramètres suivants (Trumel *et al.*, 2004 ; Abella-Bourgès *et al.*, 2005) :

- La richesse du prélèvement en cellules nucléées (lignée mégacaryocytaire comprise) ;
- Le pourcentage de chacune des catégories de cellules et l'évaluation de leur morphologie ;
- Le rapport M/E qui correspond au rapport entre le nombre total de cellules de la lignée myéloïde et le nombre total de cellules nucléées de la lignée érythroïde, compris généralement entre 0,75 et 2 chez le chat ;
- Les index de maturations érythroïdes (IME) et myéloïdes (IMM) correspondant pour chaque lignée à la proportion de cellules en prolifération par rapport aux cellules en maturation.

Il permet également la mise en évidence de parasites, d'agents infectieux et de cellules tumorales d'origine médullaire ou de métastases (Abella-Bourgès *et al.*, 2005).

□ Résultat du myélogramme en cas d'AHMI primaire

Lors de PRCA, une hypoplasie ou une aplasie sélective de la lignée érythroïde est présente au myélogramme. Le rapport M/E sera particulièrement élevé (Trumel *et al.*, 2004).

Lors d'érythropoïèse inefficace, le myélogramme met en évidence une pyramide de maturation bloquée avec une moelle hypocellulaire ou hypercellulaire suivant le stade d'arrêt de la maturation (Trumel *et al.*, 2004).

Par ailleurs, une lymphocytose médullaire est fréquente (Weiss, 2008 ; Black *et al.*, 2016). Weiss (2008) rapporte cette lymphocytose chez 78% des chats atteints d'érythropoïèse inefficace et chez 93% des chats atteints de PRCA.

Par ailleurs, l'érythropoïèse inefficace hyperplasique est plus fréquemment associée à des modifications de la moelle osseuse (dysmyélopoïèse, myélonécrose, myélofibrose) et à des cytopénies (Weiss, 2008 ; Black *et al.*, 2016).

□ Résultat du myélogramme en cas d'AHMI secondaire

Suivant le type d'affection sous-jacente à l'AHMI, différentes anomalies sont notées (Trumel *et al.*, 2004).

En cas de processus néoplasique, une myélophthisie par envahissement tumoral est rapportée (Trumel *et al.*, 2004).

Lors d'affection par le FeLV, la moelle est souvent très riche en lignée érythroïde, mais les cellules sont anormales (grande taille, plurinucléées, corps de Howell-Jolly atypiques). Il est par ailleurs difficile d'identifier clairement les différents stades de maturation classique de l'érythropoïèse (Trumel *et al.*, 2004).

Lors d'infection par *Mycoplasma haemofelis*, une hyperplasie érythroïde est fréquemment décrite, avec une augmentation des stades immatures (Tasker *et al.*, 2009a).

Sur 18 chats atteints d'AHMI secondaire, l'étude de Swann *et al.* (2016) rapporte 15 cas d'hyperplasie érythroïde, 9 cas d'hyperplasie myéloïde et 3 cas d'infiltration néoplasique.

• *Recherche d'une maladie auto-immune systémique*

Certains cas de lupus érythémateux systémiques sont associés à des AHMI. Des signes évocateurs de lupus sont donc à rechercher. Néanmoins ces signes sont variés et peu spécifiques : fièvre,

polyarthrite, glomérulonéphrite, lésions cutanées, adénomégalie, splénomégalie. En cas de suspicion, une recherche des anticorps anti-nucléaires est à réaliser (McCullough, 2003).

### **C. Autres anomalies hématologiques et biochimiques**

Une atteinte concomitante des autres lignées sanguines est fréquemment rapportée : 76% des chats atteints d'AHMI primaire présentent au moins une autre cytopénie dans l'étude de Swann et al (2016). En particulier, 61% présentaient une thrombopénie (Swann *et al.*, 2016). Cette cytopénie s'explique à la fois par une CIVD, un cas ayant été rapporté par Kohn et al (2006), mais aussi par une destruction immune des plaquettes, un cas ayant été rapporté par Kohn et al (2006). L'association AHMI – thrombopénie à médiation immune est appelée syndrome d'Evans (Kohn *et al.*, 2006). Les chats atteints d'AHMI primaire ont un taux de lymphocyte significativement plus élevé que ceux atteints d'AHMI secondaire (Swann *et al.*, 2016), avec une lymphocytose observée dans 15 à 32% des cas (Kohn *et al.*, 2006 ; Swann *et al.*, 2016). Une hyperplasie lymphoïde est par ailleurs observée sur les myélogrammes d'une large proportion de chats atteints d'AHMI primaire (Swann *et al.*, 2016). La lymphocytose peut s'expliquer par une stimulation antigénique chronique (Kohn *et al.*, 2006). Une lymphocytose est par ailleurs décrite dans d'autres causes d'anémie hémolytiques félines, telles qu'une déficience en pyruvate kinase (Stokol, 2010a). Une neutropénie est par ailleurs elle aussi fréquemment rapportée (Kohn *et al.*, 2006 ; Swann *et al.*, 2016).

La majorité des chat atteints d'AHMI primaire présentent une hyperglobulinémie, témoin d'une stimulation chronique du système immunitaire (Kohn *et al.*, 2006). L'albuminémie est par ailleurs significativement plus élevée chez les chats atteints d'AHMI primaire que chez les chats atteints d'AHMI secondaire (Swann *et al.*, 2016).

Une augmentation des paramètres de cytolyse hépatique est rapportée chez 50% des chats atteints d'AHMI primaire dans l'étude de Kohn et al (2006), probablement suite à des dommages hypoxiques conséquent à l'anémie (Kohn *et al.*, 2006).

Une azotémie peut être notée, conséquente à l'hypoxie ou à une déshydratation (McCullough, 2003).

Par ailleurs, des cas de CIVD ou de thromboembolies sont peu rapportés chez le chat. L'étude de Kohn et al. (2006) recense, sur 10 chats, une CIVD avérée et deux suspicions cliniques. A ce jour, seule l'étude de Norris *et al.* (1999) rapporte un cas de thromboembolie chez un chat atteint d'AHMI.

## **3. Traitement et pronostic des AHMI**

### **A. Traitement**

Le traitement des AHMI est constitué de 4 pans essentiels: la restauration de la fonction d'oxygénation, la suppression de la réponse immunitaire exacerbée mais aussi des possibles agents responsables de l'anémie, sans oublier la prévention et le traitement d'éventuelles complications (McCullough, 2003).

#### ***a. Restauration de la fonction d'oxygénation***

Les hématies assurent la fonction d'oxygénation. Leur destruction ou celle de leurs précurseurs lors d'AHMI est donc rapidement à l'origine d'une hypoxie pouvant être à l'origine de la défaillance de

nombreux organes. Il est donc nécessaire de rétablir rapidement la fonction d'oxygénation en reconstituant le stock d'hématies et en limitant leur destruction (Stokol, 2010a).

- *Oxygénothérapie*

L'utilisation de l'oxygénothérapie, bien qu'indiquée dans la prise en charge de nombreux états d'hypoxie, est peu bénéfique en cas d'AHMI. En effet, lors d'anémie, des mécanismes compensateurs se mettent en place (tachypnée notamment) et l'hémoglobine est déjà saturée en oxygène et la quantité d'oxygène dissoute dans le plasma ne peut augmenter que de façon mineure (Manning, 2002).

En revanche, l'utilisation de transfusion de produits sanguins permet d'augmenter la capacité de fixation en oxygène du sang. Il s'agit d'un traitement symptomatique de l'anémie (McCullough, 2003).

- *Transfusion sanguine*

Le recours à la transfusion sanguine n'est pas rare (**Cf tableau 12**).

**Tableau 12** – Pourcentage de chats transfusés et nombre de transfusion reçues dans différentes études sur les AHMI

Etude	Effectif	Pourcentage de chats transfusés	1 seule transfusion	Plusieurs transfusion
Kohn et al (2006)	19	53%	50%	50%
Stokol et Blue (1999)	9	56%	66%	33%
Black (2015)	15	93%	78%	22%

- Indications

La transfusion de produits sanguins est indiquée en cas d'hémorragie, d'hémolyse ou d'érythropoïèse inefficace (Callan, 2010).

L'utilisation de valeurs cibles (numération érythrocytaire, hématocrite, hémoglobine), à partir desquelles la transfusion est indiquée, est largement controversée. En effet, il était communément admis de transfuser un chat atteint d'AHMI lorsque son hématocrite était compris entre 10 et 15%. Cette plage de valeurs est plus faible qu'en cas d'hémorragie (15-20% chez le chat), car, en cas d'AHMI, les animaux sont normovolémiques et qu'une aggravation de la réponse immune est crainte. Lorsqu'il s'agit d'une AHMI non régénérative chronique, les valeurs cibles tombent à 8-12% chez le chat, car la chronicité de la maladie permet une bonne tolérance de valeurs d'hématocrites plus basses (Abrams-Ogg et Blois, 2017).

Néanmoins, une étude, en médecine humaine, a constaté une diminution de la mortalité hospitalière chez les patients anémiés ayant participé à un protocole de transfusion restreint (c'est-à-dire en ayant comme objectif la maintenance d'une concentration d'hémoglobine à 7-9 g/dl) par rapport au groupe de patients anémiés ayant participé à un protocole de transfusion libérale (ayant pour objectif une concentration d'hémoglobine maintenue au-dessus de 10 g/dl). L'incidence des œdèmes

pulmonaires cardiogéniques et des syndromes de détresse respiratoire aiguë durant l'hospitalisation a également été considérablement réduite dans le groupe à stratégie restreinte (Hébert *et al.*, 1999). En plus de diminuer certaines des complications respiratoires de la transfusion, des taux de transfusion inférieurs diminuent l'exposition des patients aux maladies infectieuses transmises par transfusion et le risque de réactions transfusionnelles hémolytiques et allergiques potentiellement mortelles (Prittie, 2003).

Ainsi, la décision de réaliser une transfusion doit s'appuyer sur l'état clinique de l'animal plutôt que sur une valeur seuil des paramètres sanguins (Tocci, 2010). Une transfusion sera réalisée lorsque l'anémie met en jeu le pronostic vital de l'animal (Tocci, 2010), c'est-à-dire en présence d'un abattement, d'une tachycardie, d'une tachypnée, et de pouls fémoraux filants (Prittie, 2003). Par ailleurs, une augmentation de la lactatémie, une acidose métabolique ou une insuffisance rénale, signes compatibles avec une hypoxie tissulaire marquée, sont en faveur d'une transfusion (Prittie, 2003). Une diminution rapide des paramètres érythrocytaires peut également laisser envisager la nécessité d'une transfusion (Prittie, 2003).

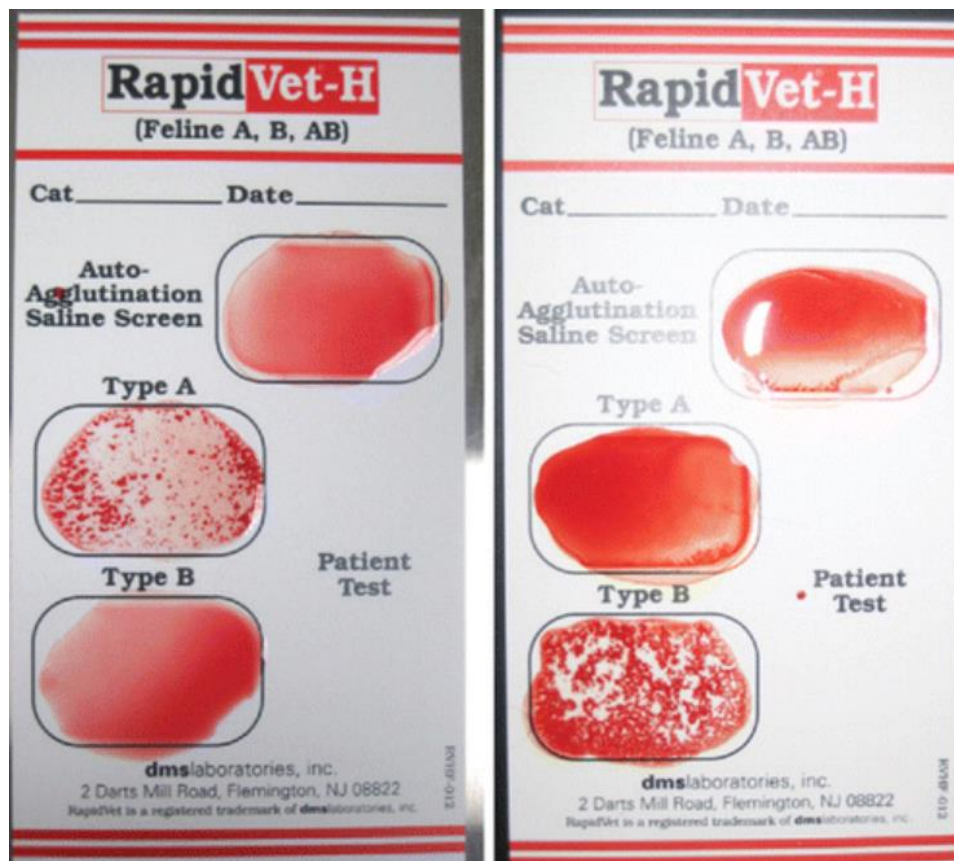
□ Le choix du donneur

Le donneur doit tout d'abord répondre aux critères suivants (Haldane *et al.*, 2004 ; Barfield et Adamantos, 2011) :

- Adulte de 1 à 8 ans, en bonne santé, de plus de 5 kg ;
- Vivant préférentiellement à l'intérieur ;
- Correctement vacciné (dernier rappel datant de plus de 1 mois) ;
- N'ayant reçu aucun traitement médical ni subi de chirurgie dans le mois précédent ;
- Être FIV / FeLV négatif ;
- Être négatif pour les autres maladies infectieuses transmissibles par transfusion (Mycoplasmoses hémotropes et toxoplasmose quel que soit le lieu de vie, cytauxzoonose, ehrlichiose, anaplasmose, rickettsiose en fonction de lieu de vie) ;
- Dont l'hématocrite est supérieur à 30-35% ;
- Ne pas avoir donné son sang depuis au moins 2 mois.

Le donneur doit ensuite être compatible avec le receveur (par groupage sanguin et cross-match) afin de limiter le risque de réaction transfusionnelle (Tocci, 2010). Le groupage sanguin peut se faire en laboratoire (*via* du sang prélevé sur un tube EDTA). Néanmoins, dans un contexte d'urgence, les tests rapides sont privilégiés. Deux méthodes existent. La première utilise le principe de l'agglutination sur plaque, le chat étant du groupe sanguin dont l'agglutination est positive (Barfield et Adamantos, 2011) (**Cf figure 26**).

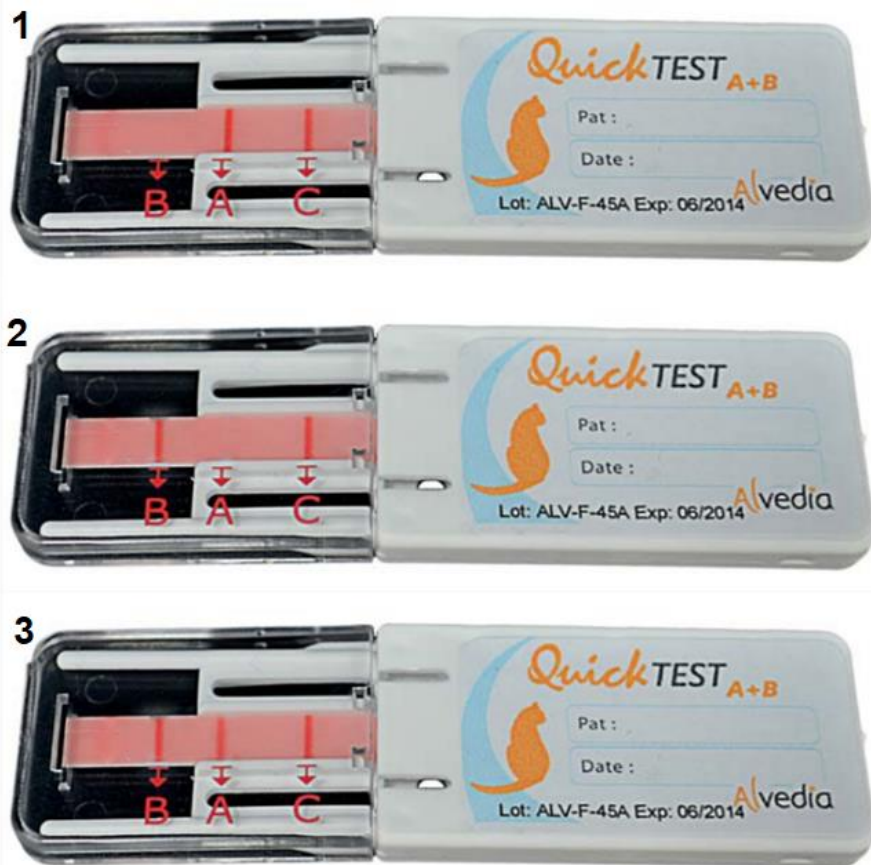
**Figure 26** - Groupage sanguin par agglutination sur plaque (groupe A à gauche et groupe B à droite), d'après Barfield et Adamantos (2011)



La seconde méthode repose sur l'immunochromatographie pour différencier les groupes sanguins et présente l'avantage de pouvoir identifier le groupe sanguin AB de façon plus sensible que la méthode par agglutination (Barfield et Adamantos, 2011) (Cf figure 27).



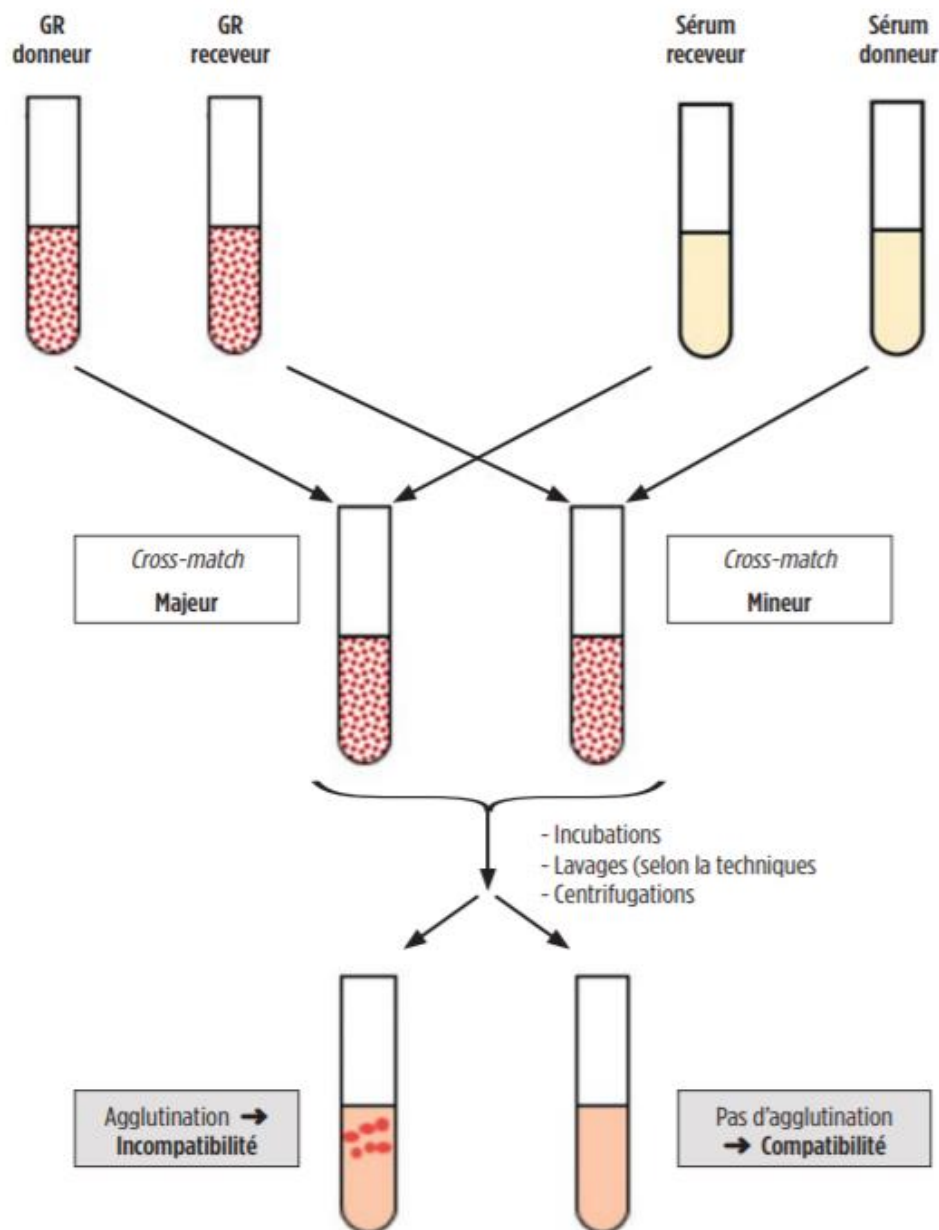
**Figure 27** – Groupage sanguin par immunochromatographie, (1) groupe A, (2) groupe B, (3) groupe AB, la lettre C correspondant au marqueur contrôle), d'après Nectoux *et al.* (2018)



Il n'existe à ce jour pas de méthode pour grouper suivant le système Mik en clinique et en laboratoire, le groupage n'étant actuellement réalisé que dans un contexte expérimental (Nectoux *et al.*, 2018).

Plusieurs tests de compatibilité sanguine, appelés cross-match, existent en médecine vétérinaire. Ces tests permettent d'identifier la présence d'anticorps contre les antigènes des GR du donneur dans le sérum du receveur (cross-match majeur) ou la présence d'anticorps contre les antigènes des GR du receveur dans le sérum du donneur (cross-match mineur). Auparavant réalisé sur carte ou en tube, méthodes fastidieuses et d'interprétation peu fiable (formation de rouleaux, lecture opérateur-dépendant, manque de standardisation), des cross-match sur gel sont maintenant disponibles en médecine vétérinaire. Cette méthode est moins chronophage, standardisée et ne nécessite pas une lecture par un technicien de laboratoire (Tocci et Ewing, 2009). Le principe des cross-match mineur et majeur est présenté dans la **figure 28**.

**Figure 28** – Description générale du principe du cross-match, d'après Nectoux *et al.* (2018)



Par ailleurs, des cross-match mineur et majeur compatibles ne permettent pas de garantir à 100% l'absence de réaction transfusionnelle aiguë et ne renseignent pas sur la possibilité de réactions transfusionnelles retardées (Tocci, 2010).

□ Le choix du produit sanguin à transfuser

Lors d'anémie, plusieurs produits sanguins sont administrables : le sang total frais ou conservé à 4°C ou les concentrés d'érythrocytes (obtenus par séparation des érythrocytes du plasma et des autres cellules sanguines par un extracteur après centrifugation) (Haldane *et al.*, 2004).

Une étude a comparé la consommation systémique d'oxygène chez des rats ayant reçu du sang frais stocké dans du citrate-phosphate-dextrose-adénine-1 (CPDA-1) (stockage 3 jours) ou du sang conservé dans la même solution depuis 28 jours. La transfusion des anciens GR n'a pas entraîné d'amélioration de l'oxygénation des tissus (Fitzgerald *et al.*, 1997). Étant donné que le but ultime

d'une transfusion de sang total chez des animaux anémiés est d'améliorer l'oxygénation des tissus, il convient de ne pas utiliser de sang stocké depuis plusieurs semaines dans un contexte d'anémie (Haldane *et al.*, 2004).

Le concentré d'érythrocyte a comme avantage de diminuer le risque de réaction transfusionnelle, puisque les leucocytes, les plaquettes et les protéines du plasma, immunogènes, ont été supprimés. De plus, l'administration d'un volume réduit contenant une même concentration d'hémoglobine (hématocrite compris entre 45 à 65% dans ces préparations), est préférable chez les patients normovolémiques (Haldane *et al.*, 2004). Ainsi le volume moyen transfusé *via* un concentré d'érythrocyte est réduit à 9,3 ml/kg contre 172 ml/kg pour du sang total (Klaser *et al.*, 2005). Ainsi, d'après la méta-analyse de Swann *et al.* (2019), le concentré érythrocytaire serait à privilégier au sang total lors d'AHMI chez le chien. Par ailleurs, une corrélation entre âge des érythrocytes, complications transfusionnelles et décès a été noté chez le chien, ainsi il est recommandé d'utiliser un concentré érythrocytaire frais ou réalisé au plus 7-10 jours plus tôt (Swann *et al.*, 2019).

#### □ Protocole de transfusion

Le prélèvement nécessite la plupart du temps une sédation profonde voire une anesthésie générale du donneur. Ainsi un examen clinique complet devra être réalisé au préalable (Barfield et Adamantos, 2011). Le sang est prélevé à la jugulaire de manière aseptique. Il est recueilli sur anticoagulant (CPDA-1 et citrate dextrose) dans un système fermé (poche d'anticoagulant) ou ouvert (seringue avec anticoagulant). Un système fermé a pour avantage de limiter les contaminations, de permettre la séparation des différents constituants du sang et leur stockage. Néanmoins, dans la majorité des cas, le prélèvement se fait sur système ouvert, car les poches anticoagulées ne sont pas adaptées au volume de prélèvement du chat. Des poches de volume adapté existent mais elles ne sont pas préremplies d'anticoagulant. Il faudra donc les remplir avec un anticoagulant, ce qui augmente le risque de contamination. Les prélèvements par système ouvert sont ensuite transférés dans une poche dédiée. Le risque important de contamination lors de prélèvement par système ouvert implique que ces prélèvements ne doivent pas être conservés plus de 24h (Barfield et Adamantos, 2011).

Le volume à transfuser et donc à prélever dépend de l'hématocrite du receveur et d'une valeur d'hématocrite à atteindre. La valeur idéale de cet hématocrite cible est de 20%. Néanmoins, cette valeur est à moduler en fonction de l'hématocrite initiale. De plus, en cas d'anémie très sévère, une amélioration clinique est un objectif plus raisonnable (Barfield et Adamantos, 2011). D'après l'étude de Klaser *et al.* (2005), une transfusion sanguine permet, en moyenne, une élévation de l'hématocrite de 6%. Une fois l'hématocrite cible fixée, le volume à prélever peut être calculé selon la formule suivante :

$$\text{volume à transfuser (mL)} = K \times \frac{\text{Ht à atteindre} - \text{Ht du receveur}}{\text{Ht du donneur}}$$

K correspond au volume total de sang du receveur, soit 70 ml/kg chez le chat (Haldane *et al.*, 2004).

Par ailleurs, une estimation rapide du volume à transfuser peut se faire selon la relation suivante : 2ml/kg de sang transfusé augmente l'hématocrite d'1% , sachant qu'il n'est pas recommandé de transfuser plus de 10 à 12 ml/kg en une seule fois (Haldane *et al.*, 2004 ; Barfield et Adamantos, 2011).

Il n'est pas nécessaire de réchauffer le sang réfrigéré hormis en cas de transfusion à un chaton. Le cas échéant, les produits sanguins ne doivent pas être réchauffés à plus de 37°C, en effet des températures plus élevées sont à l'origine, en autres, d'une hémolyse et d'une précipitation du fibrinogène (Haldane *et al.*, 2004).

L'administration se fait ensuite par voie intraveineuse *via* un cathéter, en interposant un filtre au sein de la tubulure, permettant d'éviter le passage de caillot sanguin. La voie intra-osseuse peut être envisagée, en particulier chez les jeunes animaux hypotendus, même si un risque d'ostéomyélite est rapporté. Enfin, le sang total peut aussi être administré en intrapéritonéal, même si cette voie n'est pas recommandée du fait de la faible absorption du sang qu'elle permet (40% en 24h) (Barfield et Adamantos, 2011).

Une administration conjointe de chlorure de sodium à 0,9% peut être réalisée en fonction de l'état d'hydratation de l'animal. En revanche, tout soluté contenant du calcium, tel que le Ringer Lactate, est à proscrire. En effet, le citrate tient son pouvoir anticoagulant de sa capacité à chélater le calcium. Ainsi un ajout de calcium exogène vient saturer le citrate qui ne peut plus chélater le calcium endogène et donc assurer son pouvoir anticoagulant. De même, l'administration de fluides hypotoniques ou de dextrose est à proscrire en raison du risque d'hémolyse des cellules transfusées (Haldane *et al.*, 2004).

Le débit initial est de 0,25 ml/kg/h et peut être augmenté si aucun effet secondaire n'est noté durant les 30 à 60 minutes suivant le début de la transfusion. Le débit d'administration dépend de l'état de l'animal et de l'existence de maladies intercurrentes telles qu'une maladie cardiaque. Quoi qu'il en soit, le débit ne doit pas excéder 20 ml/kg/h. En revanche, la transfusion doit être achevée sous les 4 à 6h suivant la mise à température ambiante du prélèvement afin d'éviter un risque de contamination et une prolifération bactérienne (Barfield et Adamantos, 2011).

Le patient doit être surveillé durant la totalité de la transfusion avec un monitoring de la fréquence cardiaque, de la fréquence respiratoire, de la couleur des muqueuses, du temps de remplissage capillaire, du pouls, de la température, de l'état de réplétion jugulaire et une auscultation cardio-respiratoire, *a minima* toutes les 15 minutes la première heure puis toutes les heures par la suite. Les chats normovolémiques avant la transfusion sont particulièrement à risque de surcharge volémique et doivent être surveillés encore plus étroitement (Barfield et Adamantos, 2011).

#### □ Réactions transfusionnelles

Les réactions transfusionnelles peuvent être à médiation immune ou non. Les réactions immunes aiguës se produisent généralement dans les 1-2h suivant l'initiation de la transfusion et jusqu'à 48h. Les différents types de réactions immunes aiguës, leurs signes cliniques et la conduite à tenir le cas échéant est résumé dans le **tableau 13**.

**Tableau 13** - Réactions transfusionnelles immunes aiguës, leurs signes cliniques et la conduite à tenir, d'après Haldane et al (2004)

Mécanismes réactionnels	Signes cliniques	Conduite à tenir
Choc anaphylactique	Collapsus, arrêt cardiorespiratoire	Stopper immédiatement la transfusion, gestion de l'état de choc et de l'arrêt cardiorespiratoire le cas échéant
Hypersensibilité de type 1	Tachypnée, fièvre, arythmie, vomissement, urticaire, prurit, érythème	Stopper immédiatement la transfusion et administrer des corticoïdes et possiblement des antihistaminiques.
Hémolyse aiguë	Agitation, vocalisation, tachypnée, bradycardie/tachycardie, hypotension/hypertension, fièvre, état de choc, abattement, ptyalisme	Stopper la transfusion et administrer des corticostéroïdes

Les réactions immunologiques différées sont généralement hémolytiques et impliquent une diminution de la durée de vie des GR transfusés de 21-48 jours à 2-5 jours (Haldane *et al.*, 2004).

Les réactions non immunologiques sont dues à des troubles électrolytiques, une surcharge volémique et des contaminations bactériennes. Un surdosage en citrate peut être à l'origine d'une hypocalcémie ou d'une hypomagnésémie (Haldane *et al.*, 2004) (**Cf tableau 14**). Il est par ailleurs à noter qu'une contamination bactérienne est la première cause de mortalité et de morbidité lors de transfusion sanguine chez l'homme (Tocci, 2010).

**Tableau 14** – Réactions transfusionnelles non immunes, leurs symptômes et prise en charge, d'après Haldane et al. (2004)

Mécanisme impliqué	Symptômes	Prise en charge
Infection bactérienne	Tachypnée, tachycardie, fièvre, vomissements, état de choc, collapsus	Stopper l'administration, retirer toutes les tubulures possiblement contaminées, administrer une antibiotique et gestion de l'état de choc si nécessaire
Surdose en citrate	- Signes d'hypocalcémie (trémulations, fièvre, arythmie, vomissements, convulsions) - Signes d'hypomagnésémie (arythmie, faiblesse musculaire)	- Administrer du gluconate de calcium (1 ml/kg en intraveineuse lente) avec monitoring ECG  - compléter la fluidothérapie en sulfate de magnésium (0,75 – 1 mEq/kg/jour).
Surcharge volémique	Tachypnée, œdème pulmonaire, veines turgescents.	Stopper la transfusion et administrer un diurétique. Poursuivre avec un débit plus faible ou utiliser un concentré érythrocytaire.
Hyperkaliémie	Bradycardie, arythmie, modifications de l'ECG	Stopper la transfusion, administrer du gluconate de calcium à 1 ml/kg en IV lente et utiliser un traitement hypokaliémiant si nécessaire.

ECG = électrocardiogramme

Enfin, la fièvre est une réaction transfusionnelle commune, qui est souvent transitoire et ne nécessite pas de traitement. Néanmoins, comme présenté ci-dessus, elle peut être le signe d'une hémolyse aiguë ou d'une contamination bactérienne, ces deux affections nécessitant un arrêt immédiat de la transfusion. Ainsi, en cas d'hyperthermie marquée, il est préférable de diminuer la débit de perfusion voire de l'arrêter et de rechercher des symptômes d'hémolyse ou d'infection bactérienne (Haldane *et al.*, 2004 ; Tocci, 2010).

Dans l'étude de Klaser *et al.* (2005), 66% des chats ayant été transfusés ont survécu jusqu'à la sortie d'hospitalisation. Ce pourcentage est plus faible que chez les animaux non transfusés, mais cela semble dû à une proportion plus importante de chat dans un état critique à l'admission dans le groupe transfusé que dans le groupe non transfusé. En effet seulement 9% des chats transfusés ont présenté une réaction transfusionnelle aiguë (Klaser *et al.*, 2005). De plus, l'étude de Weingart *et al.* (2004), ne rapporte aucun décès en raison d'une réaction transfusionnelle sur les 91 chats ayant reçu une transfusion.

Des méthodes alternatives à la transfusion sanguine, permettant de rétablir une oxygénation du sang, dont l'utilisation d'Oxyglobin®.

- *Utilisation de l'hémoglobine bovine polymérisée – l'Oxyglobin®*

L'Oxyglobin® est une solution transporteuse d'oxygène. Elle est constituée d'hémoglobine bovine polymérisée et ultrapurifiée contenue dans du Ringer Lactate® à la concentration de 13 g/dl. Un gramme d'Oxyglobin® permet de transporter autant d'oxygène que 3 à 4g d'hémoglobine érythrocytaire. Il s'agit par ailleurs d'une solution à pouvoir oncotique marqué (Callan et Rentko, 2003).

Comparée à la transfusion sanguine, où il est parfois difficile de trouver un donneur compatible et où les tests préalables à l'administration sont chronophages, l'Oxyglobin® a comme avantage d'être immédiatement disponible (Callan et Rentko, 2003). Il s'agit d'ailleurs de la cause principale de son emploi (Callan et Rentko, 2003 ; Weingart et Kohn, 2008). Enfin, elle peut être conservée pendant plusieurs années à température ambiante (toute poche entamée devant tout de même être utilisée sous 24h en raison de l'oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine) (Weingart et Kohn, 2008).

L'Oxyglobin® ne possède pas d'AMM chez le chat, néanmoins son utilisation est rapportée chez cette espèce dans plusieurs études (Gibson *et al.*, 2002 ; Weingart et Kohn, 2008). L'Oxyglobin® semble efficace dans le traitement de l'anémie chez le chat : avec une amélioration des paramètres évalués (concentration en hémoglobine, température corporelle, fréquence cardiaque et respiratoire, pression sanguine, appétit et activité dans l'étude de Gibson *et al.* (2002) ; concentration en hémoglobine dans l'étude de Weingart et Kohn (2008)) chez 86% (Gibson *et al.*, 2002) et 83% (Weingart et Kohn, 2008) des chats.

En revanche, sa durée d'action est bien plus courte que celle des érythrocytes transfusés. En effet, sa demi-vie est dose dépendante, plus la dose injectée est importante, plus sa demi-vie est élevée, mais même avec une dose à la limite supérieure recommandée (30 ml/kg), son élimination est quasi-totale en 5 à 9 jours chez le chien (Callan et Rentko, 2003). Ainsi, l'utilisation d'Oxyglobin® dans le traitement des anémies chroniques ne semble pas judicieux, hormis si le pronostic vital est en jeu, en l'attente de sang compatible disponible (Weingart et Kohn, 2008).

En ce qui concerne les effets secondaires, même si aucune toxicité tissulaire (en particulier rénale ou hépatique) n'est rapportée à l'autopsie (Gibson *et al.*, 2002), son pouvoir oncotique important, intéressant en cas d'hypovolémie, peut être à l'origine chez les chats normovolémiques de surcharge volémique marquée (Callan et Rentko, 2003). En effet, les études de Gibson *et al.* (2002) et Weingart et Kohn (2008) rapportent un œdème pulmonaire, un épanchement pleural et des épisodes de détresse respiratoire sont rapportés chez respectivement 55 et 14 % des cas, en particulier chez les animaux présentant initialement une pathologie cardiaque ou rénale. Par ailleurs des épisodes de vomissements et des troubles neurologiques sont rapportés (Weingart et Kohn, 2008). Il est à noter qu'une surcharge volémique est plus fréquemment rapportée dans l'étude de Gibson *et al.* (2002) où les volumes moyens administrés et les débits moyens étaient plus élevés. De plus, l'Oxyglobin® du fait de son action sur le monoxyde d'azote induit une vasoconstriction responsable d'hypertensions marquées (Pawson et Dowell, 2014).

Les doses recommandées varient entre 10 et 40 ml/kg chez le chat suivant les auteurs (Callan et Rentko, 2003 ; Adamantos *et al.*, 2005), sachant qu'une posologie de 10 ml/kg/24h permet une augmentation d'environ 1 à 2 g/dl du taux d'hémoglobine du patient (Callan et Rentko, 2003). Un

débit de perfusion de 5 ml/kg/h est préférable à des débits plus élevés afin de minimiser le risque de surcharge volémique. Ce volume et ce débit doivent être adaptés en fonction de l'état clinique du chat, notamment s'il présente une insuffisance cardiaque ou une oligoanurie, où un débit de 2 à 3 ml/kg/h est recommandé (Callan et Rentko, 2003 ; Weingart et Kohn, 2008) Quoi qu'il en soit, le monitoring durant l'administration d'Oxyglobin® est essentiel pour détecter toute surcharge volémique débutante (Weingart et Kohn, 2008).

Enfin, l'Oxyglobin® étant à l'origine d'une coloration plasmatique et d'une pigmenturie, il est conseillé de réaliser un bilan biochimique, hématologique et urinaire avant l'initiation de l'administration du soluté, car il pourrait fausser le résultat de certaines analyses (Callan et Rentko, 2003)..

### ***b. Contrôle de la réponse immunitaire***

Le contrôle de la réponse immunitaire nécessite un traitement immunosuppresseur ainsi que la suppression des causes entretenant la réponse immunitaire exacerbée (McCullough, 2003)

- *Immunosuppresseurs*

Plusieurs immunosuppresseurs peuvent être utilisés chez le chat, les plus employés étant les glucocorticoïdes à dose immunosuppressive (Stokol, 2010a).

- Glucocorticoïdes

Les glucocorticoïdes sont les immunosuppresseurs de première intention en cas d'AHMI (McCullough, 2003).

Les glucocorticoïdes affectent la quasi-totalité des cellules *via* leur liaison à leur récepteur intracellulaire, qui une fois transloqué dans le noyau influence la transcription de l'ADN. Les glucocorticoïdes ont des effets doses dépendants. A dose anti-inflammatoire, ils inhibent la phospholipase A2 catalysant la production de cytokines pro-inflammatoires. A dose immunosuppressive, ils altèrent le fonctionnement des macrophages. En effet, ils diminuent l'expression de leur récepteur Fc (récepteur reconnaissant la partie Fc des Ig) et ainsi leur capacité à détecter les cellules opsonisées par des anticorps. De plus, ils diminuent la vitesse de traitement des antigènes par les macrophages. Enfin, ils inactivent les lymphocytes T, induisent leur apoptose et diminuent la production d'anticorps par les lymphocytes B (Viviano, 2013).

Différentes molécules peuvent être utilisées (prednisone, prednisolone, dexaméthasone et méthylprednisolone) (McCullough, 2003). Les chats ne métabolisent pas efficacement la prednisone en prednisolone (forme active) dans le foie, ainsi, l'utilisation directe de prednisolone sera privilégiée chez cette espèce. Les glucocorticoïdes diffèrent en terme de puissance et de durée d'action, la dexaméthasone étant environ 4 à 10 fois plus puissante que la prednisolone et sa durée d'action plus longue (Viviano, 2013) (**cf tableau 15**).



**Tableau 15** – Puissance immunosuppressive et durée d'action de différents glucocorticoïdes, d'après Garden (2010), Rieder et Mischke (2018) et Viviano (2013)

Molécule	Puissance immunosuppressive (par rapport à la prednisolone)	Dose immunosuppressive (mg/kg/j)	Durée d'action (h)
Prednisolone	1	2-4	12-36
Méthylprednisolone	1,25	2-4	12-36
Dexaméthasone	4 -10	0,2-0,5	>48h

A partir de 2 mg/kg par jour, la prednisolone est considérée comme immunosuppressive (Rieder et Mischke, 2018). La dose initiale recommandée de prednisolone est de 2-3 mg/jour en une ou deux prises quotidiennes (Swann *et al.*, 2019). Habituellement le traitement se fait par une administration de 2 mg/kg de prednisolone 2 fois par jour *per os* pendant 2 semaines ou jusqu'à stabilisation ou augmentation de l'hématocrite. Une stabilisation de l'hématocrite nécessite généralement 3 à 14 jours. Dans l'étude de Kohn *et al* (2006), un hématocrite supérieur à 25 % a été atteint chez 88% des chats, 8 à 42 jours après l'initiation du traitement à base de prednisolone à dose immunosuppressive. Après stabilisation, les doses de prednisolone peuvent être diminuées approximativement de 25% toutes les 2 à 4 semaines. La diminution de dose doit être progressive afin d'éviter des rechutes. Il est conseillé de vérifier l'hématocrite deux fois par semaine jusqu'à stabilisation puis toutes les semaines pendant toute la durée du traitement (McCullough, 2003). Les rechutes sont fréquentes même en cas de diminution progressive des doses (McCullough, 2003). Ainsi sur 16 chats atteints d'AHMI primaire suivis plus de 1 mois, dans l'étude de Kohn *et al* (2006), 31% ont présenté une rechute après la diminution des doses ou l'arrêt du traitement. Certains auteurs préconisent d'ailleurs, de poursuivre le traitement à vie lors d'AHMI primaire à la dose de 0,5 à 1 mg/kg un jour sur deux (McCullough, 2003).

L'utilisation de dexaméthasone est fréquente en hospitalisation, du fait de l'existence d'une forme injectable (McCullough, 2003). Cette molécule possède une activité minéralocorticoïde minime, permettant ainsi une rétention hydrosodée plus faible que les autres glucocorticoïdes, ce qui peut avoir toute son importance dans le traitement de patients avec une maladie cardiovasculaire concomitante (Viviano, 2013). Les doses de dexaméthasone recommandées sont de 0,2 à 0,5 mg/kg/j (Garden, 2010) ou de 0,5 à 1 mg/kg/j (McCullough, 2003) en une seule administration. La dexaméthasone étant rapportée comme plus efficace par de nombreux cliniciens, son usage est souvent préféré à celui de la prednisolone (Archer, 2017). En revanche, aucune étude n'a actuellement mis en évidence une efficacité plus grande de la dexaméthasone dans le traitement des AHMI (McCullough, 2003).

La large distribution cellulaire et tissulaire du récepteur aux glucocorticoïdes est responsable de nombreux effets secondaires : hyperadrénocorticisme associé à une atrophie des glandes surrénales, ulcères gastro-intestinaux, résistance à l'insuline et en conséquence un diabète sucré, catabolisme musculaire, retard de cicatrisation, changement comportemental, auxquels s'ajoutent des infections opportunistes en raison de l'immunosuppression induite (Viviano, 2013). Ces effets secondaires semblent tout de même moins présents chez le chat que chez le chien (McCullough, 2003).

Chez les individus ne répondant pas à la simple utilisation des glucocorticoïdes, ne tolérant pas de fortes doses ou bien nécessitant un traitement à long terme, l'ajout d'autres molécules à action immunosuppressive peut être envisagé (McCullough, 2003).

□ Cyclosporine

La cyclosporine en se liant à son récepteur dans le cytoplasme des lymphocytes T-helper, inhibe le complexe calcineurine-calmoduline et inhibe ainsi la production d'interleukine et en particulier de l'IL-2. La diminution du taux circulant d'IL-2 limite l'activation des macrophages, des lymphocytes T cytotoxiques et des lymphocytes B. Les réponses immunitaires à médiation cellulaire et humorale sont ainsi inhibées (Rieder et Mischke, 2018).

La cyclosporine par voie orale existe sous forme de solution et de gélule. Les deux formulations semblent avoir des biodisponibilités similaires chez le chien (Rieder et Mischke, 2018). La demi-vie de la cyclosporine est estimée à environ 7-10 heures avec une variabilité interindividuelle importante (Rieder et Mischke, 2018)

La dose quotidienne de cyclosporine recommandée est de 7 mg/kg par voie orale à répartir en deux prises quotidiennes, avec des dosages variant entre 2 et 10 mg/kg/j par voie orale suivant les études (Rieder et Mischke, 2018).

La cyclosporine étant métabolisée dans le foie par le cytochrome P450, il existe de nombreuses interactions avec d'autres substances, fait à prendre en compte lors de l'établissement des protocoles de traitement. En particulier, les antimycotiques azolés (dont le kétoconazole) et les antibiotiques macrolides (telles que l'érythromycine) augmentent la concentration plasmatique en cyclosporine, tandis que certains anticonvulsivants et antibiotiques (dont le triméthoprime-sulfadimidine) diminuent sa concentration plasmatique (Rieder et Mischke, 2018). Une diminution de la dose de 60% est préconisée en cas d'utilisation concomitante de molécule activant le cytochrome P450 (Garden, 2010).

Certains auteurs recommandent un dosage de la concentration plasmatique en cyclosporine toutes les 2 semaines (avec un premier contrôle 8-10 jours après l'initiation du traitement), puis tous les 1 à 3 mois afin d'ajuster le traitement. La dose optimale n'a pas été clairement définie, néanmoins, en se basant sur des études réalisées en médecine humaine, une concentration plasmatique comprise entre 400 et 600 ng/ml est recommandée (McCullough, 2003 ; Viviano, 2013). Par ailleurs, une telle mesure chez le chat est remise en cause par certains auteurs, la concentration plasmatique ne permettant pas de prédire la réponse clinique (Rieder et Mischke, 2018).

La cyclosporine n'est pas cytotoxique et agit spécifiquement sur les lymphocytes, ainsi elle semble le plus souvent bien tolérée (Rieder et Mischke, 2018). Les effets secondaires les plus fréquemment rapportés chez le chat sont des troubles digestifs : vomissements, diarrhée et anorexie (McCullough, 2003). Des troubles de la pilosité (alopécie ou hirsutisme) sont aussi notés lors d'administration de doses élevées (Rieder et Mischke, 2018). Ces effets secondaires disparaissent en principe spontanément ou avec une diminution de la dose ou de la fréquence d'administration (Viviano, 2013). Néanmoins, les effets secondaires peuvent être plus sévères. Une hépatotoxicité est rapportée en cas de surdosage (Viviano et Webb, 2011). De plus, en tant que molécule immunosuppressive, la cyclosporine favorise les infections opportunistes, des cas de toxoplasmose disséminés étant rapportés chez le chat (Rieder et Mischke, 2018). Par ailleurs, une utilisation au long terme de cyclosporine semble associée au développement de néoplasies, en particulier de lymphomes chez le chat, tout particulièrement en cas d'association avec des glucocorticoïdes

(Schmiedt *et al.*, 2009 ; Garden, 2010). En outre, un cas de réaction anaphylactique a été rapporté lors d'administration intraveineuse chez le chat (Viviano et Webb, 2011). Enfin, des études réalisées chez le chien et l'homme ont montré que la cyclosporine, en stimulant la synthèse de thromboxane, augmente le risque de thromboembolies déjà élevé chez les patients atteints d'AHMI (Sahin *et al.*, 2009 ; Thomason *et al.*, 2016).

En raison des propriétés lipophiles de la molécule, elle peut s'accumuler dans le tissu adipeux des patients en surpoids et faire courir un risque accru d'effets indésirables. Ainsi, une adaptation de la dose au poids idéal est recommandée (Palmeiro, 2013).

Chez l'Homme le traitement de la PRCA se fait principalement par l'utilisation de glucocorticoïdes et de cyclosporine. Or, l'utilisation de cyclosporine seule, ou associée aux glucocorticoïdes est associée au plus fort taux de rémission (87%, le plus souvent dès 2 semaines après l'introduction de la cyclosporine), à un intervalle de rechute plus long (103 mois pour la cyclosporine contre 33 mois pour les glucocorticoïdes seuls) et à des effets secondaires moins fréquents (Viviano et Webb, 2011). Chez le chat atteint de PRCA traité par l'administration de cyclosporine, les rechutes sont fréquentes, en particulier à l'arrêt du traitement, avec un taux de rechute de 4 chats sur 6 après une durée de rémission médiane de 413 jours (Viviano et Webb, 2011).

#### □ Cyclophosphamide

Le cyclophosphamide est un agent cytotoxique qui inhibe principalement la réponse immunitaire humorale mais aussi la réponse immunitaire cellulaire, en se liant à l'ADN des lymphocytes B et T (McCullough, 2003).

Le cyclophosphamide est à l'origine d'anorexie, de troubles digestifs, d'une myélosuppression et de cystites aseptiques hémorragiques. Ainsi cette molécule n'est pas utilisée au long terme. En revanche, il peut être utilisé dans le cadre d'un traitement rapide et agressif des AHMI réfractaires. Deux protocoles sont suggérés : une dose unique de 200 mg/m<sup>2</sup> ou 50 mg/m<sup>2</sup> (soit 2,2 mg/kg) en une prise quotidienne quatre jours consécutifs chaque semaine jusqu'à amélioration de l'hématocrite et au maximum pendant 4-6 semaines (McCullough, 2003).

Néanmoins, une étude prospective randomisée comparant l'efficacité de la prednisolone et du cyclophosphamide chez 18 chiens atteints d'AHMI, a montré que l'ajout de cyclophosphamide aux glucocorticoïdes était sans bénéfice et au contraire était associé à une mortalité plus forte (Mason *et al.*, 2003). L'utilisation du cyclophosphamide dans le cadre des AHMI n'est donc pas recommandée chez le chien (Swann *et al.*, 2019).

Peu de données existent chez le chat. L'étude de Stokol et Blue (1999) rapporte tout de même une amélioration chez 6 chats après l'ajout de cyclophosphamide aux glucocorticoïdes.

#### □ Azathioprine

L'azathioprine, molécule cytotoxique, est un analogue de la purine qui interfère avec la synthèse de l'ADN et l'ARN et empêche ainsi la réplication cellulaire. L'azathioprine impacte particulièrement les lymphocytes car ils ne sont pas capables de recycler les purines préexistantes (Viviano, 2013).

L'utilisation d'azathioprine dans le cadre de l'AHMI canine est associée à une durée de survie plus élevée (Swann *et al.*, 2019).

La dose préconisée chez le chat est de 0,3 mg/kg/jour toutes les 48 heures (McCullough, 2003). Néanmoins, son utilisation chez le chat est fréquemment associée à une toxicité médullaire et

hépatique (Beale *et al.*, 1992). Ainsi, **l'azathioprine est contre-indiquée chez le chat** (McCullough, 2003).

□ Mycophénolate Mofétil

Le Mycophénolate Mofétil (MMF) est un inhibiteur de l'enzyme déshydrogénase iosine monophosphate, impliquée dans la synthèse *de novo* de purine, et plus spécifiquement de l'isoforme 2 de l'enzyme. L'isoforme 2 est plus abondante dans les lymphocytes activés et 5 fois plus sensible au MMF que l'isoforme 1 (présente chez un large type de cellules). Le MMF est ainsi responsable d'une inhibition de la prolifération les lymphocytes B et T et diminue de ce fait la production d'anticorps (Viviano, 2013).

C'est un cytostatique utilisé en médecine humaine comme alternative de l'azathioprine en tant qu'immunosuppresseur dans un contexte de transplantation mais aussi lors de maladies à médiation immune (Viviano, 2013).

Son avantage par rapport à la cyclosporine et à l'azathioprine est l'existence d'une formulation parentérale, mais aussi une action sur la deshydrogénase iosine monophosphate et donc un effet immunosuppresseur particulièrement rapide (dès 2-4h post administration) (Whitley et Day, 2011). De plus, il présente une faible toxicité se limitant à des signes gastro-intestinaux, même si l'existence de réactions allergiques lors d'injection intraveineuse est suspectée (Whitley et Day, 2011).

Dans la plupart des études chez le chien, le MMF est utilisé conjointement aux corticoïdes (Wang *et al.*, 2013 ; Rieder et Mischke, 2018). Une étude a néanmoins montré son efficacité en monothérapie dans le traitement des thrombopénies à médiation immune chez le chien, avec une rémission complète chez la totalité des chiens (Yau et Bianco, 2014). Chez le chien, il fait partie des 3 molécules (avec l'azathioprine et la cyclosporine) recommandées en association avec les glucocorticoïdes dans le traitement des AHMI (Swann *et al.*, 2019)

Chez le chat, il a été utilisé avec succès dans le traitement de trois cas d'AHMI à la dose de 10 mg/kg deux fois par jour (Bacek et Macintire, 2011 ; Kopke et Galloway, 2020). Son administration était conjointe à celle de prednisolone, l'amélioration de l'anémie ne peut donc être imputée uniquement au MMF (Bacek et Macintire, 2011).

En médecine humaine, il est utilisé en alternative à l'azathioprine en raison d'une toxicité plus faible. Des signes gastro-intestinaux, une hépatotoxicité modérée et une myélotoxicité sont tout de même rapportés. Chez le chien les principaux effets secondaires notés sont des troubles gastro-intestinaux pouvant être sévères à forte dose. Il est donc recommandé lors de son utilisation chez le chien de monitorer de possibles troubles gastro-intestinaux et de réaliser un bilan hématologique toutes les 2 semaines lors du premier mois de traitement, puis toutes les 2-3 mois jusqu'à l'arrêt du traitement (Swann *et al.*, 2019).

Dans le cadre de l'AHMI féline, Bacek et Macintire (2011) ne rapportent pas d'effet secondaire imputable à l'utilisation de MMF chez les deux chats suivis. Néanmoins, Kopke et Galloxy (2020), rapportent une cholangite et une pancréatite survenues 2 mois après l'initiation de la bithérapie glucocorticoïde/MMF ayant rétrogradé à un arrêt du MMF et à l'ajout d'un cholérétique.

#### □ Chlorambucil

Le chlorambucil appartient également au groupe des agents alkylants et agit principalement sur les lymphocytes B. Son action n'est effective qu'après 2 semaines d'administration (Rieder et Mischke, 2018).

Son utilisation chez le chat dans le cadre des AHMI est décrite dans deux études (Swann *et al.*, 2016 ; Black *et al.*, 2016). Dans l'étude de Black *et al.* (2016), l'association glucocorticoïdes - chlorambucil (à la dose de 2 mg par voie orale un jour sur deux) a été associée à une rémission chez 50 % des chats atteints d'AHMI non régénérative, mais surtout à une absence de rechute. Actuellement, aucune étude ne compare son efficacité par rapport aux autres molécules disponibles.

Le chlorambucil est par ailleurs associé à une myélosuppression, une hépatotoxicité, un syndrome de Fanconi et à des myoclonies (Benitah *et al.*, 2003 ; Viviano, 2013 ; Reinert et Feldman, 2016 ; Olson et Hohenhaus, 2019).

#### □ Léflunomide

Le léflunomide est immunomodulateur qui inhibe la synthèse de pyrimidine et ainsi impacte la prolifération des lymphocytes T et B, la production d'anticorps et l'adhérence intercellulaire (McCullough, 2003).

L'utilisation du léflunomide dans le cadre des AHMI n'a été étudiée que dans l'espèce canine. Dans l'étude de Gregory *et al.* (1998), portant sur l'efficacité du léflunomide dans le cadre des AHMI canine et du syndrome d'Evans, l'utilisation de léflunomide a permis une amélioration de l'hématocrite chez 5 chiens sur 6 n'ayant pas répondu aux traitements immunosuppresseurs traditionnels. L'unique chien n'ayant pas répondu au léflunomide présentait une myélofibrose marquée (Gregory *et al.*, 1998).

Chez le chien, peu d'effets secondaires sont rapportés. Les plus communs sont une dysorexie, une léthargie, des vomissements et de la diarrhée (Swann *et al.*, 2019). Néanmoins, une étude sur le traitement du polype colorectal chez le chien, rapporte une augmentation des paramètres de cytolysé hépatique chez environ 50% des chiens (sans pouvoir attribuer cette anomalie à l'utilisation du léflunomide ou des glucocorticoïdes administrés en parallèle) ainsi qu'une myélosuppression modérée (thrombocytopenie et leucopénie), ces effets secondaires rétrocedant à une diminution des doses ou à un arrêt du traitement (Fukushima *et al.*, 2016). La myélosuppression semble par ailleurs être dose-dépendante (McChesney *et al.*, 1994). Ainsi il est recommandé de réaliser un bilan hématologique et de contrôler les marqueurs de cytolysé hépatique toutes les 2 semaines lors des 2 premiers mois de traitement, puis tous les 1-2 mois jusqu'à l'arrêt du traitement (Swann *et al.*, 2019). De plus, une diminution de la dose initiale est recommandée par rapport aux doses préconisées auparavant : une dose de 2 mg/kg/jour per os est recommandée (plutôt que les 3-4mg/kg/jour préconisées par des études plus anciennes). Le dosage doit ensuite être diminué de 25% toutes les 4 semaines pendant les 4 premiers mois, puis toutes les 8 semaines jusqu'à l'arrêt total du traitement (Garden, 2010 ; Sato *et al.*, 2017).

Chez le chat, il a été prouvé que le léflunomide inhibe la prolifération des lymphocytes *in vitro* (Kyles *et al.*, 2000). De plus, chez 12 chats présentant une arthrite rhumatoïde ne répondant pas au traitement classique, une utilisation conjuguée de léflunomide à la dose de 10 mg/jour *per os* et de méthotrexate (à la dose de 1 mg/jour *per os*) a permis une amélioration marquée des symptômes chez 58% des chats, sous 4 semaines environ. Une fois l'amélioration maximale estimée comme

atteinte, la dose de léflunomide a été diminuée à 10 mg per os deux fois par semaine. Aucune toxicité majeure n'a été rapportée (Hanna, 2005).

Dans le traitement de l'AHMI canine, le léflunomide est la molécule recommandée si l'anémie est réfractaire à la bithérapie glucocorticoïde – Azathioprine/cyclosporine/MMF ou si l'association de ces molécules est à l'origine de trop d'effets secondaires (Swann *et al.*, 2019), ainsi, il serait intéressant d'évaluer son efficacité dans le cadre des AHMI félines.

#### □ Clodrosome®

Le Clodrosome® est une suspension de liposomes contenant du clodronate. Le clodronate est un biphosphonate utilisé dans la gestion de l'hypercalcémie associée à des intoxications à la vitamine D chez le chien. Le clodronate encapsulé dans des liposomes est phagocyté préférentiellement par les macrophages et les cellules dendritiques, entraînant alors leur apoptose. L'administration de Clodrosome® permet une amélioration de nombreuses maladies auto-immunes murines (Whitley et Day, 2011).

Une étude a par ailleurs que le Clodrosome® induit l'apoptose des macrophages spléniques et des cellules dendritiques canines (Mathes *et al.*, 2006). De plus, une diminution de la clairance des GR opsonisés a été mise en évidence lors d'administration de Clodrosome® chez des chiens sains : une diminution d'environ 40% était notée à la dose de 0,1 mL/kg, de 60% à la dose de 0,3 mL/kg et de 80% à la dose de 0,5 mL/kg (Mathes *et al.*, 2006). Par la suite, cette même étude a mis en évidence une diminution de la clairance des GR lors d'administration de Clodrosome® à la dose de 0,5 mL/kg en unique perfusion sur 90 minutes chez 2 chiens sur 7 atteints d'une AHMI primaire périphérique (recevant de la prednisolone et de l'azathioprine) (Mathes *et al.*, 2006). Par ailleurs, l'augmentation moyenne de l'hématocrite de ces chiens semble plus élevée que celle de chiens recevant un traitement immunosuppresseur classique et leur taux de mortalité sous une semaine semble plus faible (Mathes *et al.*, 2006). Ces résultats encourageant ont motivé la réalisation d'une étude prospective randomisée évaluant l'efficacité du Clodrosome® par rapport à un placebo chez des chiens atteints d'AHMI ; les résultats ne sont à ce jour pas encore publiés (Whitley et Day, 2011).

Le Clodrosome® semble peu toxique, l'étude de Mathes *et al.* (2006) rapportant des épisodes de diarrhée et une augmentation des paramètres hépatique à la dose de 0,1 mL/kg.

#### • *Protocole thérapeutique*

Le protocole suivant est proposé (McCullough, 2003 ; Ramsey, 2017) :

- Prednisolone (4 mg/kg/j per os en 2 prises quotidiennes) ou dexaméthasone (0,2-0,5 mg/kg/j)
- Avec ajout de l'une des molécules suivantes en cas de réponse à la corticothérapie insuffisante ou d'effets secondaires trop sévères :
  - Cyclosporine : 7 mg/kg/j per os en deux prises quotidiennes
  - Mycophénolate Mofétil : 20 mg/kg/j per os en deux prises quotidiennes
  - Chlorambucil : 2 mg per os tous les 2 jours pour un chat de plus de 4 kg et tous les 3 jours pour un chat de moins de 4 kg.

- *Traitement de la cause sous-jacente*

Lors d'AHMI secondaire, le traitement de la cause sous-jacente est indispensable pour contrôler l'hémolyse (McCullough, 2003).

Chez les chats présentant un risque d'infection par les mycoplasmes hémotropes, un traitement antibiotique doit être mis en place dès le diagnostic de l'anémie. La prolongation du traitement sera décidée en fonction des résultats de la recherche de mycoplasmes (frottis, PCR) (McCullough, 2003 ; Swann *et al.*, 2019). La doxycycline à la dose de 10 mg/kg/j en une ou deux prises quotidiennes pendant minimum deux semaines est le traitement de choix. A cause du risque d'œsophagite à l'origine de sténose œsophagienne, l'administration de doxycycline doit être suivie d'une prise d'eau et idéalement, la suspension doit être privilégiée aux comprimés (cette formulation n'est pas disponible en France actuellement) (Sykes, 2010). L'enrofloxacin, à la dose de 5 mg/kg/j per os, est une alternative à la doxycycline. En effet, il ne semble pas y avoir de différence significative entre le traitement à la doxycycline et celui à l'enrofloxacin (Tasker *et al.*, 2004). Néanmoins, l'enrofloxacin fait partie des antibiotiques critiques. De plus, l'enrofloxacin est associée à une dégénérescence rétinienne aiguë chez le chat (Gelatt *et al.*, 2001). La doxycycline est donc à privilégier (Sykes *et al.*, 2007). En revanche, l'azithromycine (à la dose de 15 mg/kg deux fois par jour per os pendant 7 jours) ne semble pas efficace (Westfall *et al.*, 2001).

En cas d'AHMI secondaire à l'administration d'EPO ou de propylthiouracile, le traitement doit être immédiatement arrêté (McCullough, 2003).

Si l'AHMI est survenue après une vaccination récente, une rationalisation voire une suppression des futures vaccinations doivent être envisagées (McCullough, 2003).

En ce qui concerne les AHMI induites par un carcinome, une étude réalisée en médecine humaine a montré que la résection curative précoce de la tumeur est associée à une rémission complète et probablement persistante de l'anémie. Il est à noter que les patients ayant répondu à une résection tumorale étaient souvent réfractaires à la corticothérapie avant la chirurgie. En cas de tumeur métastasée, une réponse aux corticoïdes est plus fréquente, néanmoins la résection chirurgicale de la tumeur permet une amélioration de l'anémie (Puthenparambil *et al.*, 2010).

- *Plasmaphérèse*

La plasmaphérèse est un processus de séparation des hématies du plasma ; les érythrocytes sont restitués au patient, tandis que le plasma est filtré afin d'en retirer l'excès d'anticorps et de complexes immuns. La plasmaphérèse semble être plus efficace pour éliminer les IgM, particulièrement volumineux (McCullough, 2003).

La plasmaphérèse a été utilisée chez deux chiens souffrant d'AHMI, conjointement au traitement médical immunosuppresseur (prednisone et cyclophosphamide). D'après les auteurs, la plasmaphérèse aurait permis une amélioration transitoire des deux chiens. Néanmoins, l'un des chiens n'a pas survécu suite à ce protocole et l'implication de la plasmaphérèse ne peut être exclue. En effet, la plasmaphérèse en interférant avec les facteurs de coagulation et l'antithrombine III est responsable d'un état d'hypercoagulabilité. De plus, la diminution drastique du taux d'anticorps circulants favorise les infections opportunistes (Matus *et al.*, 1985).

Aucune étude ne rapporte l'utilisation de la plasmaphérèse dans le cadre de l'AHMI féline. En revanche, l'utilisation de ce processus est rapportée chez 3 chats souffrant d'insuffisance cardiaque congestive secondaire à une hyperviscosité sanguine d'origine néoplasique. La plasmaphérèse a

permis une amélioration clinique chez les 3 chats et n'a pas été associée à des effets secondaires (Boyle *et al.*, 2011).

- *Immunoglobulines intraveineuses humaines*

Les immunoglobulines intraveineuses humaines sont une préparation d'immunoglobulines hautement purifiées contenant plus de 90% d'IgG, des traces d'IgA, IgM et d'antigènes leucocytaires humains (Spurlock et Prittie, 2011). Cette préparation est utilisée en médecine humaine pour conférer une immunité passive aux patients immunodéprimés, mais aussi pour ses propriétés immunomodulatrices dans un contexte de maladie à médiation immune. Du fait de son hétérogénéité, il est difficile d'établir son mécanisme d'action exacte (Spurlock et Prittie, 2011). Néanmoins, son pouvoir immunomodulateur semble provenir de sa capacité à saturer les récepteurs Fc et ainsi les inactiver, à éliminer les auto-anticorps pathogéniques, à moduler la synthèse de cytokines, à inhiber le complément et à interférer avec le ligand Fas des lymphocytes T cytotoxiques responsable de l'apoptose des cellules cibles (Spurlock et Prittie, 2011).

Les résultats probants en médecine humaine dans un contexte de maladie à médiation immune sont à l'origine de l'utilisation des Ig intraveineuses humaines en médecine vétérinaire. Plusieurs cas cliniques ou études prospectives de faible effectif notent une amélioration rapide de l'anémie après une injection d'Ig humaines ; une augmentation de l'hématocrite d'au moins 4% en 3-4 jours chez 10 chiens sur 13 est rapportée par Kellerman et Bruyette (1997). Cette rapidité d'action est intéressante dans le contexte des AHMI puisque la majorité des agents immunosuppresseurs classiques nécessitent des jours voire des semaines pour être effectifs (Spurlock et Prittie, 2011). Ainsi, il est admis que les Ig humaines peuvent être utiles afin de stabiliser transitoirement les animaux, laissant ainsi le temps aux traitements immunosuppresseurs classiques de faire effet (Scott-Moncrieff *et al.*, 1997).

Chez le chat, deux publications rapportent l'utilisation d'Ig humaines (Byrne et Giger, 2002 ; Zini *et al.*, 2007). Byrne et Giger (2002) notent une rapide amélioration, sans effet secondaire notable, de lésions cutanées ulcératives sévères faisant suite à une réaction médicamenteuse. Zini *et al.* (2007), rapportent l'administration de 1,21g/kg sur 6 heures d'Ig humaines chez un chat présentant une aplasie érythrocytaire et mégacaryocytaire à médiation immune réfractaire à la glucocorticothérapie. Aucun effet secondaire n'a été signalé et une augmentation de la numération réticulocytaire a été notée 3 jours plus tard.

Néanmoins, aucun consensus n'a été dressé concernant les indications, les dosages recommandés, ou la sécurité de ce composé en médecine vétérinaire (Spurlock et Prittie, 2011). De plus, les études prospectives évaluant l'efficacité des Ig humaines dans le traitement de l'AHMI et aucune n'a mis en évidence une différence significative (études réalisées sur de faibles effectifs induisant par ailleurs un manque de puissance) (Gerber *et al.*, 2007 ; Whelan *et al.*, 2009). En outre, les Ig humaines favorisent un état d'hypercoagulabilité qui peut s'avérer fatal chez des animaux présentant déjà des troubles de la coagulation liées à leur affection (Whelan *et al.*, 2009). Gerber *et al.* (2007) soulignent d'ailleurs un taux accru de complications dans le groupe ayant reçu des Ig humaines. De plus, une utilisation plus fréquente des Ig humaines en médecine vétérinaire diminuerait la disponibilité de cette thérapie en médecine humaine. Leur utilisation dans le cadre des AHMI ne semble donc pas justifiée (Whitley et Day, 2011). Leur utilisation en médecine vétérinaire est d'ailleurs interdite en France.



- *Splénectomie*

En cas d'AHMI réfractaire au traitement immunomodulateur, une splénectomie peut être envisagée en dernière alternative. En effet, même si une chirurgie n'est pas recommandée chez des animaux anémiés et instables, une splénectomie a été rapportée comme bénéfique dans plusieurs cas (Feldman *et al.*, 1985). En effet, la rate a un rôle central dans la pathogénèse des AHMI en étant notamment le majeur site de phagocytose des GR opsonisés. Une étude prospective chez un faible effectif de chiens atteints d'AHMI, a montré que les chiens ayant subi une splénectomie dans les 48h suivant la présentation initiale et recevant une bithérapie glucocorticoïdes/azathioprine récupéraient plus rapidement et avaient un taux de survie plus élevé que les chiens recevant le traitement médical immunosuppresseur seul (Balch et Mackin, 2007).

### **c. Prévention des complications**

- *Prise en charge de la myélosuppression induite par le traitement immunosuppresseur*

Les données suivantes sont issues d'une méta-analyse sur le traitement des AHMI canines (Swann *et al.*, 2019) et sont ici appliquées aux chats.

Plusieurs molécules utilisables dans le traitement des AHMI félines peuvent entraîner une myélosuppression (Mycophénolate Mofétil, léflunomide, azathioprine, cyclophosphamide (les 2 dernières n'étant pas recommandées chez le chat)). Une myélosuppression semble rare et est reconnue lorsque le comptage neutrophilique tombe en dessous de 2500 cellules /  $\mu$ L (Bellier et Cordonnier, 2010 ; Swann *et al.*, 2019). Elle peut être accompagnée d'une anémie non régénérative et d'une thrombocytopénie, néanmoins ces deux cytopénies sont moins facilement reliées à une myélosuppression sachant qu'elles peuvent être induites par une AHMI non régénérative et une thrombocytopénie immune concurrente (Swann *et al.*, 2019).

Il est recommandé de stopper l'administration de la molécule en cause aussi longtemps que la myélosuppression est identifiée. En effet, ces molécules sont généralement administrées quotidiennement aux patients atteints d'AHMI et leur action immunosuppressive est à action retardée. Ainsi le nadir du comptage neutrophilique peut n'être atteint que plusieurs jours après l'arrêt de la molécule (Swann *et al.*, 2019).

Entre 1000 et 2500 cellules /  $\mu$ L, un traitement antibiotique n'est recommandé qu'en cas d'existence de facteurs de risque (implant chirurgical, dermatose, maladie parodontale, maladie respiratoire ou cardiaque) ou si des signes cliniques laissent entendre une possible infection. En revanche, en dessous de 1000 cellules /  $\mu$ L, un traitement antibiotique prophylactique est recommandé et un suivi rapproché de l'animal est à réaliser (Swann *et al.*, 2019).

Une fois la myélosuppression résolue et si un traitement immunosuppresseur est toujours nécessaire, la molécule en cause peut être réintroduite, à condition de diminuer la dose (jusqu'à 50 % de la dose initiale) et uniquement si la myélosuppression était légère ou de courte durée. Sinon l'introduction d'une molécule différente doit être envisagée (Swann *et al.*, 2019).

- *Conduite à tenir en cas d'infection induite par le traitement immunosuppresseur*

Les données suivantes sont issues d'une méta-analyse sur le traitement des AHMI canines (Swann *et al.*, 2019) et sont ici appliquées aux chats.

En cas d'infection, le traitement immunosuppresseur peut être modifié. Cette décision doit prendre en compte la gravité de l'AHMI, la sévérité de l'infection et son impact sur le pronostic vital. Par ailleurs, certaines infections peuvent exacerber l'AHMI ; dans ce cas, une diminution de la dose d'immunosuppresseur est tout de même recommandée afin que le traitement antibiotique soit plus efficace. En outre, si une myélosuppression concomitante est notée, il est recommandé de diminuer voire de stopper pour un temps le traitement immunosuppresseur (Swann *et al.*, 2019).

- *Thromboprophylaxie*

La thromboprophylaxie regroupe l'utilisation à la fois d'anti-agrégants plaquettaires (hémostase primaire) et d'anticoagulants inhibant les facteurs de coagulation (hémostase secondaire) (Swann *et al.*, 2019).

Du fait d'un faible nombre de cas rapporté de CIVD et de thromboembolie chez le chat en cas d'AHMI, les chats souffrant de cette affection ne sont pas considérés comme des patients à risque d'accident thrombotique (Goggs *et al.*, 2009). Il n'existe actuellement pas de consensus quant à l'utilisation d'antithrombotiques dans un contexte d'AHMI chez le chat.

En raison de la physiopathologie des thromboembolies dans un contexte d'AHMI (**Cf première partie.1.F.**), un traitement anticoagulant semble préférable à un traitement antiagrégant. Le traitement anticoagulant peut être utilisé seul ou combiné à un antiagrégant plaquettaire (Swann *et al.*, 2019).

En raison de leur fenêtre thérapeutique plus large, les héparines de bas poids moléculaires ainsi que les inhibiteurs directs du facteur Xa sont à préférer aux héparines non fractionnées (Goggs *et al.*, 2019). Il n'existe pas de preuves en faveur de l'utilisation de l'héparine de bas poids moléculaires plutôt que celle des inhibiteurs directs du facteurs Xa, tels que le rivaroxaban. En revanche, l'utilisation de warfarine est déconseillée chez le chat en raison d'un trop grand risque de complication du fait d'une fenêtre thérapeutique étroite et d'une grande variabilité interindividuelle (Goggs *et al.*, 2019).

Les doses initiales recommandées sont recensées dans le **tableau 16**.

**Tableau 16** – Dose initiales recommandées des différents anticoagulants utilisables chez le chat, d'après Goggs et al. (2019)

Famille	Molécules (voie)	Dosage initial recommandé
Héparine non fractionnée (SC)		250 UI/kg toutes les 6h
Héparine de bas poids moléculaire	Daltéparine (SC)	75 UI/kg toutes les 6h
	Enoxaparine (SC)	0,75 – 1 mg/kg toutes les 6h
Inhibiteur direct du facteur Xa	Rivaroxaban (PO)	0,5 – 1 mg/kg/j

En cas d'administration d'antiplaquettaire, le clopidogrel est à préférer à l'aspirine. Le **tableau 17** résume les doses préconisées en cas d'utilisation d'antiplaquettaire chez le chat.

**Tableau 17** – Doses préconisées en cas d'utilisation d'antiplaquettaire chez le chat, d'après Goggs *et al.* (2019)

Molécule (voie)	Dose recommandée
Clopidogrel (PO)	Dose de charge : 37,5 mg par chat en dose unique
	Maintenance : 18,75 mg par chat par jour
Aspirine (PO)	5 mg par chat toutes les 72h

- *Protecteur gastrique*

L'hypoxie tissulaire induite par l'anémie associée à l'utilisation de glucocorticoïdes favorise la formation d'ulcères (McCullough, 2003). L'utilisation d'antiacides (inhibiteurs de la pompe à proton et antihistaminiques) et de pansement digestif est donc à envisager (McCullough, 2003).

Swann *et al.* (2019) ne recommandent leur utilisation (chez le chien) qu'en cas de signes évidents d'ulcération gastro-intestinale, tels que la présence de méléna, ou lorsque que les patients sont à risque de développer des ulcères gastro-intestinaux (utilisation d'anti-inflammatoires non stéroïdiens, pancréatite, maladie inflammatoire de l'intestin, coagulopathie, hospitalisation, hypoalbuminémie, néoplasie gastro-intestinale) et non de façon systématique. Par ailleurs, ils préconisent, le cas échéant, une administration ponctuelle à stopper dès disparition des signes cliniques ou des facteurs de risque (Swann *et al.*, 2019).

En outre, une augmentation du pH gastrique est responsable d'une diminution de l'absorption du Mycophénolate Mofétil chez l'homme (Swann *et al.*, 2019).

#### ***d. Suivi, diminution progressive des doses et gestion des rechutes***

Il est recommandé d'évaluer l'hématocrites toutes les 1-3 semaines durant le traitement et *a minima* avant chaque diminution de dose (Swann *et al.*, 2019).

- *Surveillance des effets secondaires associé à chaque traitement immunosuppresseur*

En raison de possibles effets secondaires, différentes analyses doivent être réalisées en fonction du traitement administré (Swann *et al.*, 2019) (**cf tableau 18**).

**Tableau 18** – Surveillance des effets secondaires en fonction de la molécule immunosuppressive, d'après Swann *et al.* (2019)

Molécule	Paramètre à contrôler
Glucocorticoïdes	Bilan biochimique et hématologique Analyse urinaire +/- recherche de germes urinaires Présence d'une polyuro-polydipsie ?
Cyclosporine	Présence de troubles gastro-intestinaux ? Bilan hépatique tous les 2-3 mois
Mycophénolate Mofétil	Présence de troubles gastro-intestinaux ? Bilan hématologique toutes les 2 semaines durant le premier mois de traitement puis tous les 2-3 mois
Léflunomide	Bilan hématologique et biochimique toutes les 2 semaines durant les 2 premiers mois, puis tous les 1-2 mois

- *Diminution progressive des doses*

Après stabilisation, les doses de prednisolone peuvent être diminuées progressivement de 25% toutes les 3 semaines (Swann *et al.*, 2019).

Si une seconde molécule a été introduite dans le but de diminuer les effets secondaires de la prednisolone, la dose de prednisolone sera diminuée plus fortement (25 à 33 %) ou selon un intervalle plus court (2 semaines) tandis que le dosage de la seconde molécule sera maintenu (Swann *et al.*, 2019).

Une fois la corticothérapie stoppée, la seconde molécule immunosuppressive sera maintenue au même dosage pendant 4-8 semaines puis stoppée sans diminution progressive ou bien la dose sera diminuée toutes les 3 semaines de 25% (Swann *et al.*, 2019).

Une évaluation de l'hématocrite est recommandée avant chaque diminution de dose afin de garantir une réponse toujours suffisante au traitement (Swann *et al.*, 2019).

- *Suivi des animaux en rémission*

Il est suggéré de réaliser un contrôle 1 mois après l'arrêt de total du traitement immunosuppresseur afin de confirmer la rémission. Par la suite, des contrôles réguliers des paramètres hématologiques ne semblent pas nécessaires. En revanche, les propriétaires doivent être encouragés à surveiller les signes cliniques associés à une rechute et à contacter un vétérinaire le cas échéant (Swann *et al.*, 2019).

- *Gestion des rechutes*

Les données suivantes sont issues d'une méta-analyse sur le traitement des AHMI canine (Swann *et al.*, 2019) et sont ici appliquées aux chats.

Avant tout, la rechute doit être confirmée en utilisant de nouveau les critères standard de diagnostic d'une AHMI (**Cf première partie.2.**), afin d'exclure une cause alternative d'anémie (Swann *et al.*, 2019).

La première étape est de vérifier qu'aucune cause sous-jacente, telle qu'une vaccination, une maladie inflammatoire ou infectieuse, une néoplasie, ne peut exacerber l'AHMI. Un phénomène infectieux est à rechercher en priorité, en particulier si la rechute survient alors que l'animal est toujours sous traitement immunomodulateur (Swann *et al.*, 2019).

Si la rechute survient alors qu'aucune diminution de dose de corticoïde n'a été tentée, il est suggéré d'introduire une molécule immunosuppressive supplémentaire (Swann *et al.*, 2019). Si le chat reçoit déjà une bithérapie, un suivi du traitement (c'est-à-dire une adaptation de la posologie afin de maintenir des concentrations plasmatiques conformément aux valeurs de références) est à envisager (Swann *et al.*, 2019).

Si la rechute survient au cours d'une diminution progressive de dose, le dosage devra être réaugmenté. Si la rechute est modérée, la dernière dose administrée avant la diminution sera suffisante. En revanche, si la rechute est fulgurante, le protocole complet doit être recommencé (Swann *et al.*, 2019).

Une fois, le chat de nouveau en rémission, une diminution progressive des doses pourra de nouveau être envisagée, avec un pourcentage de diminution plus faible que précédemment. Il est suggéré d'attendre une période de rémission deux fois plus long que précédemment avant d'envisager cette nouvelle diminution de dose et de prévoir un intervalle entre chaque nouveaux paliers deux fois plus long que lors de la première tentative (Swann *et al.*, 2019).

Si malgré le respect de ces étapes, les rechutes sont récurrentes, un traitement immunosuppresseur à vie, à la dose minimale permettant un maintien en rémission, sera à envisager. Une splénectomie peut être envisager dans ce contexte, malgré un manque de documentation à ce propos (Swann *et al.*, 2019).

## **B. Pronostic**

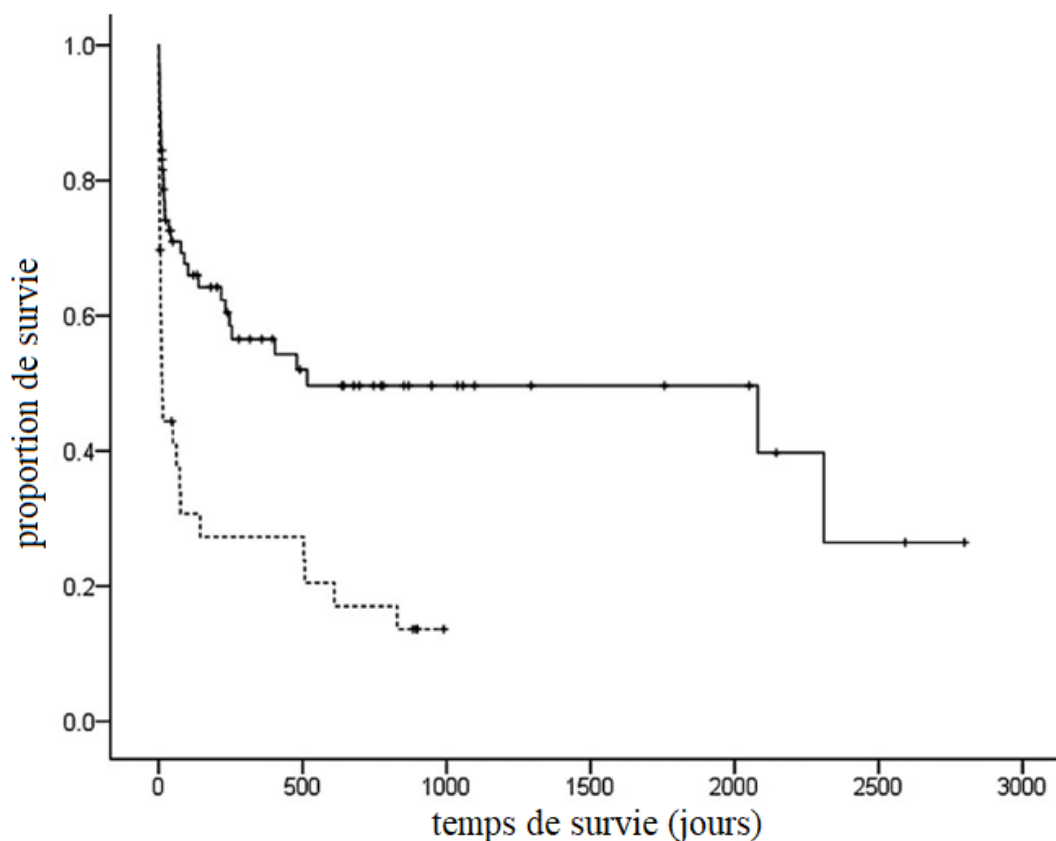
### **a. Durée de survie, taux de mortalité**

Les AHMI primaires chez le chat sont associées à un taux de mortalité de 23,5% (Kohn *et al.*, 2006). Ainsi cette affection semble de meilleur pronostic chez le chat que chez le chien dont le taux de mortalité est estimé à 50-70% suivant les études (Piek, 2011). Dans l'étude de Korman *et al.* (2013), les AHMI sont les anémies de meilleur pronostic.

35% des chats atteint d'AHMI primaire ayant survécu 5 jours après leur première présentation, retrouvent un hématicrite dans les valeurs usuelles après 1 mois de traitement (Swann *et al.*, 2016). En revanche, le pourcentage de rechute est élevé (environ 30% des chats) (Kohn *et al.*, 2006).

Le temps de survie moyen chez le chat atteint d'AHMI est de 239 jours. Par ailleurs, il existe une différence significative de durée de survie entre AHMI primaire (516 jours) et AHMI secondaire (14 jours) mais aussi en terme de pourcentage de chat encore en vie 6 mois après le diagnostic (Swann *et al.*, 2016) (**Cf figure 29**)

**Figure 29** – Courbe de survie de Kaplan-Meier comparant des chats atteints d’AHMI primaire (ligne continue) et des chats atteints d’AHMI secondaire (ligne discontinue), les marqueurs indiquant un cas censuré, d’après Swann *et al.* (2016)



Le pronostic d’une AHMI secondaire dépend de la cause sous-jacente à l’anémie. Le pronostic en cas d’anémie infectieuse est souvent sombre : sans traitement, environ 1/3 des chats souffrant d’une anémie causée par *M. haemofelis* décèdent (Messik et Harvey, 2012) et 90% des chats atteints d’une cytauxzoonose décèdent en moins d’une semaine (Birkenheuer *et al.*, 2006). Par ailleurs, une anémie associée à une néoplasie est de mauvais pronostic (Korman *et al.*, 2013).

Enfin, la PRCA est associée à une proportion de survie sur deux mois statistiquement plus élevée que l’érythroïèse inefficace par hyperplasie érythroïde (Weiss, 2008).

### **b. Facteurs pronostiques**

L’étude de Swann *et al.* (2016) a évalué la valeur pronostique de différents paramètres tels que l’âge lors de la présentation, la fréquence cardiaque à l’admission, la quantité de lymphocytes et de neutrophiles sanguins, la globulinémie, la bilirubinémie, la concentration sanguine en enzyme hépatiques. Or, aucun de ces paramètres ne semble avoir un impact sur le pronostic (Swann *et al.*, 2016).

En revanche, une non normalisation de l’hématocrite un mois après l’initiation du traitement est un facteur pronostic négatif (Swann *et al.*, 2016).

L’étude de Korman *et al.* (2013) a néanmoins mis en évidence qu’une neutropénie et une monocytose étaient de mauvais pronostic en cas d’anémie (toutes causes confondues). Dans cette même étude, il est rapporté que la sévérité de l’anémie lors de la présentation initiale n’a pas de

valeur pronostique quant à la survie jusqu'à la sortie d'hospitalisation. Ainsi la décision de traiter une anémie ne doit pas se baser uniquement sur la sévérité de l'anémie (Korman *et al.*, 2013).

# Deuxième partie : étude rétrospective

---

## 1. Objectif de l'étude

Les données de la littérature sur l'AHMI féline suggéraient jusqu'ici une faible prévalence de la maladie chez les chats. Or, des études récentes recensent un nombre conséquent d'AHMI chez le chat : 8-20% des chats anémiés seraient atteints d'une AHMI (Kohn *et al.*, 2006 ; Korman *et al.*, 2013). De plus, bien que de nombreuses informations à propos des AHMI canines, plus documentées, soient applicables aux AHMI félines, il existe des différences entre ces deux affections concernant l'épidémiologie, la présentation clinique, le diagnostic, le traitement ainsi que le pronostic associé. Il est donc nécessaire de poursuivre le recueil de données sur les AHMI félines.

Dans ce but, cette étude recense l'ensemble des cas d'AHMI féline diagnostiqués entre le 1<sup>er</sup> janvier 2012 et le 1<sup>er</sup> août 2020 dans le Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort afin d'évaluer l'existence d'éventuelles prédispositions liées à l'âge, à la race et au sexe tant pour les AHMI félines primaires que secondaires, mais aussi de déterminer si des signes cliniques sont évocateurs d'un type d'AHMI, d'estimer la durée de survie associée à chaque affection, notamment en fonction du traitement reçu, et de déterminer d'éventuels facteurs pronostiques de mortalité dans une large cohorte de chats atteints. Ces résultats seront ensuite comparés aux informations fournies par la littérature afin de corroborer les observations déjà recensées ou de signaler de nouvelles données sur une affection encore peu décrite chez le chat.

## 4. Matériels et méthodes

### A. Source des données

L'étude rétrospective présentée porte sur les cas d'AHMI primaires et secondaires diagnostiqués au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort (ChuvA) situé au sein de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA), Val de Marne durant la période du 1<sup>er</sup> janvier 2012 au 1<sup>er</sup> août 2020 soit 8 ans et 7 mois.

Les données épidémiologiques (âge, race, sexe, stérilisation), les commémoratifs (date de la dernière vaccination, accès à l'extérieur, antécédents médico-chirurgicaux), l'anamnèse, l'examen clinique d'admission, le résultat des différents examens complémentaires réalisés (hémogramme et frottis, analyses biochimique et urinaire, électrophorèse des protéines sériques et urinaires, recherche d'agent infectieux, examens d'imagerie, examens cytologiques et histologiques, myélogramme) et les traitements reçus ont été obtenus *via* le logiciel informatique de traitement de données hospitalières de l'ENVA (Clovis).

### B. Définition des cas

Les dossiers des chats ont été sélectionnés en soumettant le mot clef « anémie hémolytique » à la base de données Clovis pour toutes les consultations réalisées entre le 1<sup>er</sup> janvier 2012 et le 1<sup>er</sup> août 2020. A ces dossiers ont été ajoutés ceux où un test de Coombs direct ou un myélogramme ont été réalisés. Les dossiers ont ensuite été examinés et seuls les animaux remplissant les critères suivants ont été retenus :



- Présenter un hématicrite inférieur à 24% ;
- Montrer au moins l'un des signes de destruction immune des érythrocytes suivant :
  - Cellules fantômes sur un frottis sanguin frais, sans corps de Heinz visible ;
  - Auto-agglutination macroscopique ou microscopique persistante malgré dilution saline ;
  - Test de Coombs direct positif à un titre d'au moins 1/16 à 37°C ;
  - Phagocytose des précurseurs érythroïdes sur les échantillons de moelle osseuse ;
- Ne pas présenter de preuves historiques ou cliniques d'hémorragie ou de toxines oxydatives pouvant être à l'origine de l'anémie ;
- Avoir reçu un traitement immunosuppresseur.

Les chats ont été considérés comme atteints d'AHMI primaire si aucune cause sous-jacente n'a pu être identifiée *via* une radiographie du thorax, une échographie de l'abdomen (associée si nécessaire à des ponctions diagnostiques), un hémogramme avec frottis sanguin, un bilan biochimique, un test sérologique pour le FeLV et le FIV, ainsi qu'une PCR pour *Mycoplasma spp.*

Durant la même période, la race et le sexe ont été enregistrés pour tous les autres chats non atteints d'AHMI présentés en consultation afin de constituer un échantillon de la population des chats présentés en consultation au CHUVA. Ces chats seront désignés comme « chats témoins » dans la suite de cette étude. L'âge à la présentation a également été relevé pour un échantillon aléatoire de 89 chats.

## **C. Données récoltées**

### ***a. Données épidémiologiques et commémoratifs***

Pour chaque chat inclus au sein de l'étude, la race, le sexe, le statut reproducteur et l'âge ont été relevés dans la base de données du CHUVA. Concernant l'âge, quatre catégories ont été établies : < 2 ans, de 2 à 6 ans, de 6 à 13 ans et supérieur à 13 ans. Le temps écoulé depuis la dernière vaccination, l'accès ou non à l'extérieur, l'existence d'un traitement en cours ou précédent la consultation ainsi que les antécédents médico-chirurgicaux ont également été notés.

### ***b. Données anamnestic-cliniques***

L'ensemble des symptômes présents lors de l'admission au CHUVA, ainsi que la durée d'évolution des signes cliniques ont été relevés. L'intérêt s'est porté sur les signes cliniques fréquemment rencontrés en cas d'AHMI (muqueuses pâles, souffle, tachypnée, tachycardie, fatigabilité accrue, abattement, anorexie, hyperthermie, déshydratation, ictère, pica, prurit, adénomégalie, distension abdominale). D'autres signes cliniques, moins fréquemment rapportés par la littérature, ont également été relevés (vomissement, diarrhée, polydipsie, dermatose, œdème, épanchement).

### ***c. Examens complémentaires :***

- *Hémogramme*

Concernant l'hémogramme, les prélèvements ont été réalisés sur tube EDTA puis les échantillons ont été directement analysés par le service des urgences du CHUVA *via* l'analyseur ProCyte Dx ou

conservé à 4°C jusqu'à être analysés par le Biopôle (laboratoire du CHUVA) via l'analyseur SYSMEX XT-2000i. Ces valeurs ont ensuite été vérifiées via une observation au microscope optique des frottis sanguins associés, colorés au May-Grünwald Giemsa, par l'un des deux vétérinaires diplômés du Certificat d'Etudes Supérieures en Hématologie et Biochimie clinique animale du Biopôle. Une analyse qualitative des prélèvements a été réalisée par la même occasion.

- *Examens biochimiques*

Les analyses biochimiques ont été réalisées directement au service des urgences via l'analyseur Catalyst One après prélèvement sur tube hépariné ou bien au Biopôle via l'analyseur Selectra Pro XL après prélèvement sur tube sec gélosé et conservation à 4°C. L'électrophorèse des protéines sériques et urinaires a été réalisée au Biopôle via l'analyseur HYDRASYS 2. L'analyse des temps de coagulation a été réalisée au service des urgences via l'analyseur Coag Dx après prélèvement sur tube citraté.

Seules les analyses hématologiques et biochimiques réalisées lors du diagnostic de l'AHMI ont été recensées. A ces données ont été ajouté le taux de réticulocyte corrigé cinq jours après la mise en évidence de l'anémie, ainsi que l'hématocrite un mois après la mise en place du traitement immunosuppresseur.

- *Myélogramme*

Les prélèvements ont été réalisés, au choix du clinicien, sur la crête iliaque, la tête humérale ou la tête fémorale. Après rinçage préalable avec une solution anticoagulante, le matériel d'aspiration a été étalé sur une lame puis coloré au May-Grünwald Giemsa. Les lames ont ensuite été examinées au Biopôle ou par le laboratoire Vebio.

- *Recherche d'agent pathogène*

La recherche des rétrovirus félines a été réalisée via un test rapide (Test IDEXX SNAP FIV/FeLV Combo). Une recherche du FeLV par PCR sur moelle osseuse a aussi été réalisée en cas de suspicion d'infection par le FeLV à condition qu'un prélèvement de moelle osseuse soit disponible. La recherche de Mycoplasmes hémotropes a été réalisée par PCR par les laboratoires Scanelis ou IDEXX. La recherche du coronavirus félin a été effectuée par sérologie (Biopôle ou Vebio) ou par PCR (Biopôle ou Scanelis).

- *Examen d'imagerie*

Les échographies ont été réalisées par le service d'imagerie du CHUVA à l'aide des échographes UI22 de Philips puis, à partir de 2017, Affiniti 50G de Philips. Dans le cadre de cette étude, la récolte de données a été restreinte aux signes de cholangite, de cholécystite, de pancréatite, de pyélonéphrite, de cystite, de néoplasie, ainsi qu'à la présence d'ascite et d'adénomégalie ou organomégalie.

- *Analyse cytologique ou histologique*

Des analyses cytologiques et histologiques ont été réalisées sur des prélèvements de rate, foie, nœud lymphatique et masse. Des analyses cytologiques d'épanchements abdominaux ont également été effectuées. Les analyses cytologiques ont été réalisées par le Biopôle après cytoponction échoguidée. Les biopsies ont été effectuées, après exploration préalable de

l'hémostase, par prélèvement échoguidé, laparoscopie ou laparotomie puis analysées par le Biopôle.

#### ***d. Traitement médical***

Seule l'utilisation d'immunosuppresseurs, d'antibiotiques, d'antithrombotiques, d'antiacides et de pansements digestifs, ainsi que la réalisation d'une transfusion sanguine ont été recensées. Concernant le traitement immunosuppresseur, la molécule utilisée, la dose administrée et le type de thérapie (mono, bi ou trithérapie) ont été relevés. Pour les antibiotiques et les antithrombotiques, seules les molécules utilisées ont été recensées. Enfin, pour les antiacides, les pansements digestifs et les transfusions sanguines, seule leur utilisation a été notée.

#### ***e. Analyse de survie***

J0 a été fixé au diagnostic de l'AHMI, c'est-à-dire à la date du prélèvement sanguin ayant permis la détection d'un hémocrite inférieur à 24% associé à une agglutination persistante, un test de Coombs positif avec un titre de minimum 1/16, des cellules fantômes sur le frottis sanguin sans corps de Heinz ou des images d'érythrophagocytose sur le myélogramme. Lorsque la date de décès de l'animal n'était pas renseignée dans la base de données du CHUVA, les propriétaires ont été contactés par mail. Lorsque le chat était encore en vie, la date de censure a été fixée au jour d'envoi du mail, soit le 02/09/20. Lorsque la date exacte du décès n'était connue par le propriétaire, la date a été fixée au 15 du mois. Lorsque de telles informations n'ont pu être récoltées, les chats dont le suivi était inférieur à 180 jours ont été retirés de l'analyse de survie et pour ceux dont le suivi était d'au moins 180 jours, la date de censure a été fixée à la dernière date de suivi disponible sur CLOVIS.

### **D. Analyse des données**

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide des logiciels Excel, XLSTAT, R studio et du site BiostaTGV. La normalité des variables a été estimée *via* la méthode de la droite de Henry par évaluation visuelle et calcul du coefficient de détermination ( $R^2$ ). Les variables quantitatives ont été comparées en utilisant le test de Student si la distribution était normale et *via* le test de Mann-Whitney en absence de normalité. Les variables qualitatives ont été comparées à l'aide du test du  $\chi^2$  ou du test de Fischer pour des sous effectifs réduits (inférieur à 5).

Une prédisposition liée à la race, à l'âge ou au sexe a été évaluée *via* le calcul du risque relatif, en comparant la proportion de chat avec AHMI (primaire ou secondaire) de signalement choisi avec la proportion de chats témoins possédant le même signalement.

La durée de survie a été estimée *via* des courbes de Kaplan-Meier et la comparaison entre les groupes a été évaluée *via* un test du logrank. L'existence de facteurs de risques de mortalité a été évaluée *via* une régression de Cox (modèle univarié).

S'agissant d'une étude exploratoire, aucune méthode de correction du risque d'erreur de 1<sup>re</sup> espèce, nécessaire lors de tests statistiques multiples, n'est satisfaisante. De ce fait, de telles corrections n'ont pas été réalisées.

## 5. Résultats

### A. Caractérisation de l'AHMI

Trente-neuf mille sept cents soixante-deux chats ont été présentés en consultation au ChuvA entre le 1<sup>er</sup> janvier 2012 et le 1<sup>er</sup> août 2020. La recherche dans la base de données Clovis a permis de présélectionner 184 chats parmi lesquels 72 répondaient aux critères d'inclusion de l'étude. Les critères ayant permis de diagnostiquer une AHMI sont présentés dans le **tableau 19**.

Tableau 19 – Critères ayant permis l'établissement d'un diagnostic d'AHMI

**Tableau 19** - Critères ayant permis l'établissement d'un diagnostic d'AHMI

Critère diagnostique	Nombre de chat Sur 72	Pourcentage	Nombre de chats pour qui seul ce critère a permis le diagnostic
Agglutination persistante après dilution saline	70	97 %	54
Test de Coombs direct positif avec un titre ≥ 1/16	9	13%	2
Images d'érythrophagocytose sur le prélèvement de moelle osseuse	5	6,9%	0
Cellules fantômes sans corps de Heinz sur le frottis sanguin	0	0%	0

Sur les dossiers des 72 chats atteints d'AHMI, 6 n'étaient pas assez complets pour éliminer toute affection pouvant être à l'origine d'une AHMI. Sur les 66 chats au dossier complet, 44 (66%) présentaient une maladie sous-jacente pouvant être à l'origine d'une AHMI. Ces maladies et leur proportion chez les chats de l'étude sont recensées dans le **tableau 20**.

**Tableau 20** - Proportion des différentes causes à l'origine d'AHMI chez les chats de l'étude

Type d'affection (pourcentage)	Affection pouvant être à l'origine de l'AHMI	Nombre de chats concernés et pourcentage
Inflammatoire 39%	Cholangite et / ou pancréatite	15 (34%)
	Pyélonéphrite	1 (2,3%)
	Cystite sévère	1 (2,3%)
Maladies infectieuses 32%	Hémoplasmes	6 (14%)
	PIF	3 (6,8%)
	FelV	2 (4,5%)
	FIV	2 (4,5%)
	Toxoplasmose	1 (2,3%)
Néoplasie 25%	Leucémie	3 (6,8%)
	Lymphome	3 (6,8%)
	Myélome multiple	3 (6,8%)
	Mastocytome digestif	2 (4,5%)
Maladie auto-immune 2,3%	Lupus érythémateux systémique	1 (2,3%)
Iatrogène 2,3%	Vaccination	1 (2,3%)

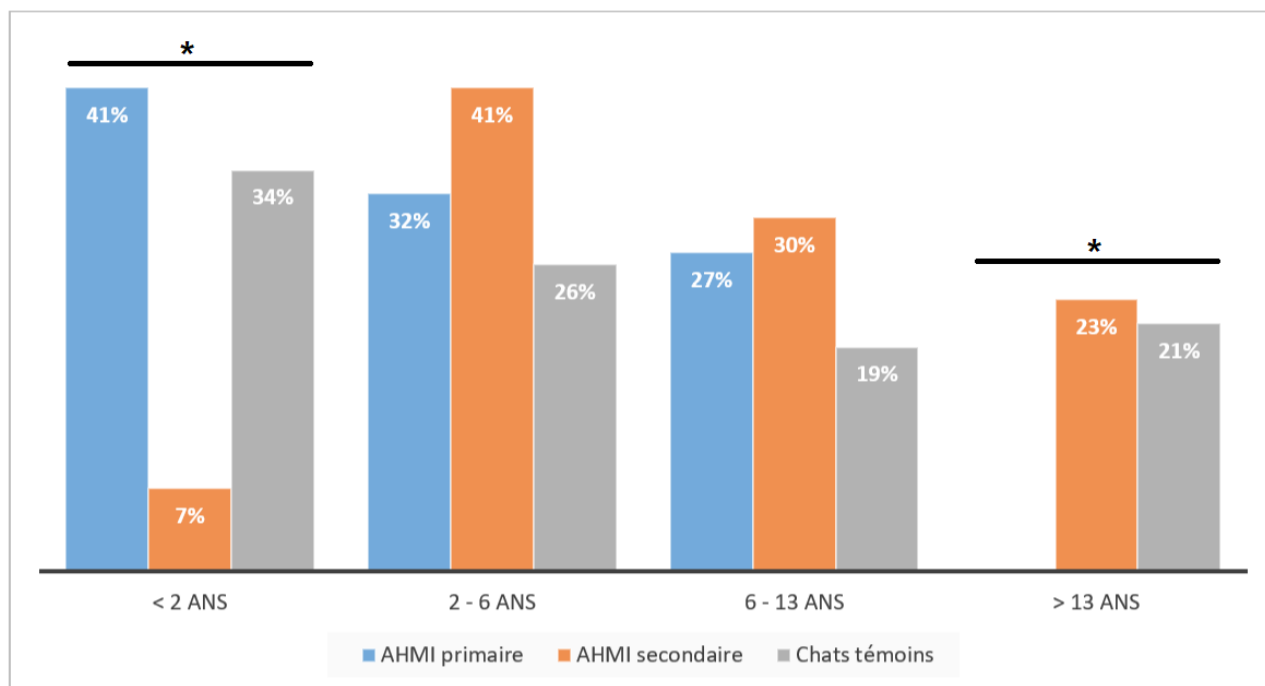
## B. Données démographiques

Les données démographiques (âge, sexe, race) en fonction du diagnostic d'AHMI primaire ou secondaire mais aussi dans le groupe témoin, ainsi que les valeurs de  $p$ , de risque relatif et d'intervalles de confiance à 95% associés sont recensées en **annexe 1**.

### a. Âge

La répartition de l'âge à l'apparition des symptômes est présentée dans la **figure 30**.

**Figure 30** - Âge à l'apparition des symptômes (une étoile désignant une différence significative)



- *Comparaison entre chats atteints d'AHMI primaire et chats témoins*

Les chats âgés (>13 ans) sont significativement moins nombreux parmi les chats atteints d'AHMI primaire ( $p = 0,01$ ). En revanche, le fait d'avoir moins de 2 ans, d'avoir entre 2 et 6 ans ou entre 6 et 13 ans ne semble pas prédisposer aux AHMI primaires (respectivement :  $p = 0,53$  ;  $p = 0,57$  ;  $p = 0,39$ ).

- *Comparaison entre chats atteints d'AHMI secondaire et chats témoins*

Les chats de moins de 2 ans sont significativement moins nombreux parmi les chats atteints d'AHMI secondaire ( $p = 0,00073$ ), les chats de moins de 2 ans étant 1,6 ([1,3 ; 1,9]<sub>95%</sub>) fois moins à risque de développer une AHMI secondaire.

- *Comparaison entre chats atteints d'AHMI primaire et secondaire*

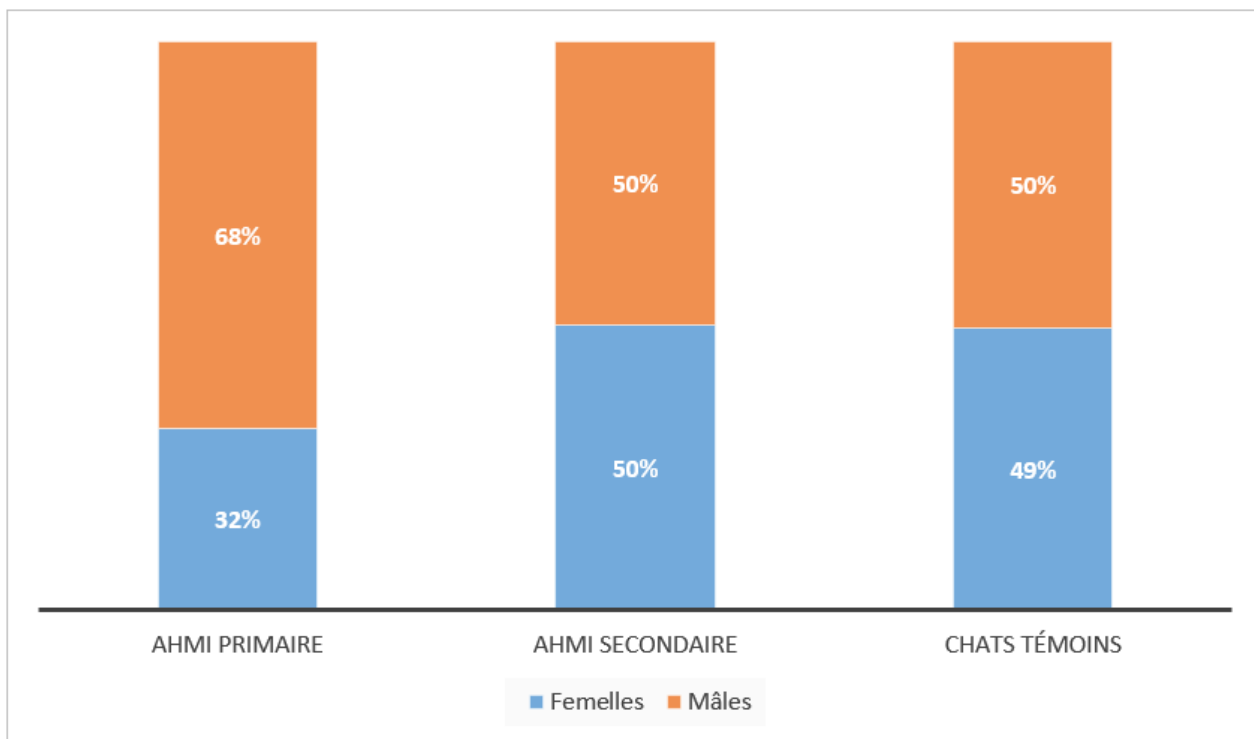
L'âge médian des chats atteints d'AHMI primaire est significativement inférieur à celui des chats atteints d'AHMI secondaire ( $p = 0,0021$ ). Les chats de moins de 2 ans sont significativement plus nombreux parmi les chats atteints d'AHMI primaire ( $p = 0,0015$ ), les chats de moins de 2 ans étant 3,1 ([1,8 ; 5,5]<sub>95%</sub>) fois plus à risque de développer une AHMI primaire qu'une AHMI secondaire. A l'inverse, les chats de plus de 13 ans sont significativement plus nombreux parmi les chats atteints d'AHMI secondaire ( $p = 0,024$ ), les chats de plus de 13 ans étant 1,6 ([1,3 ; 2,0]<sub>95%</sub>) fois plus à risque de développer une AHMI secondaire qu'une AHMI primaire.

### **b. Sexe**

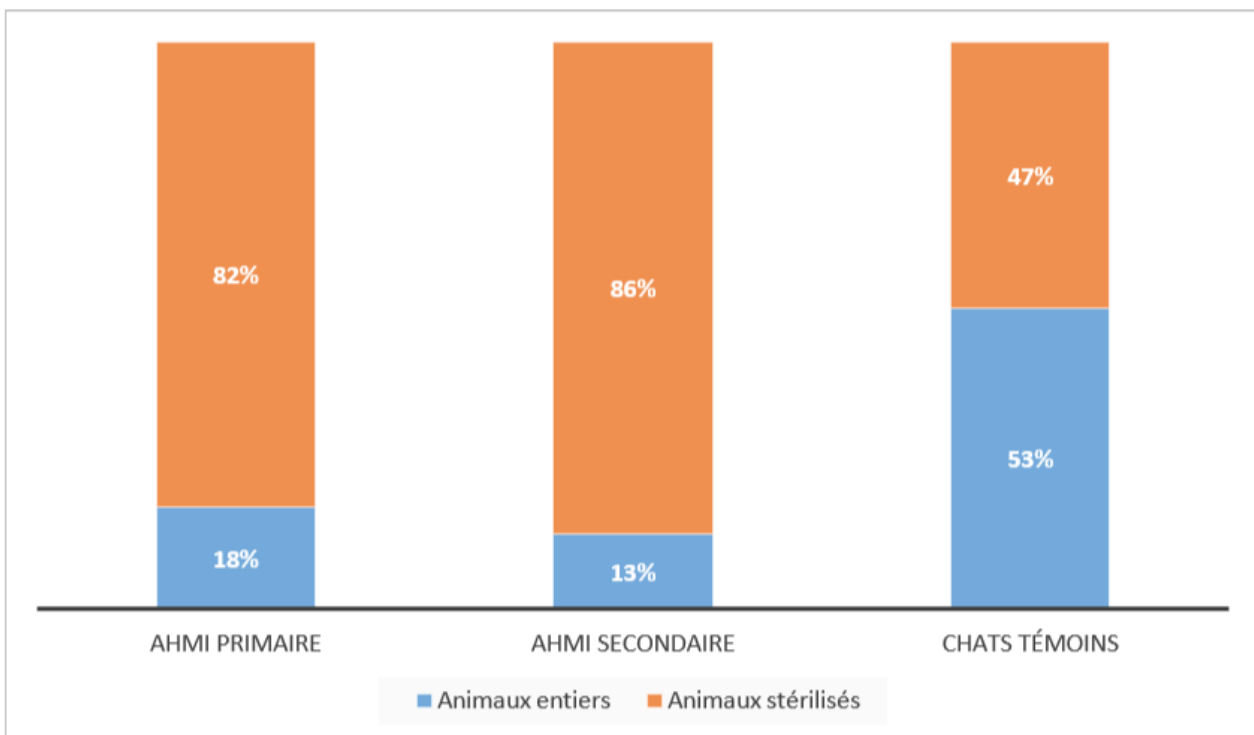
La proportion de femelles et de mâles, chez les chats atteints d'AHMI primaire, secondaire et dans la population témoin, est présenté dans la **figure 31**. La proportion d'animaux stérilisés est présentée

dans la **figure 32**. Enfin la répartition des sexes et du statut stérilisé ou non est présentée dans la **figure 33**.

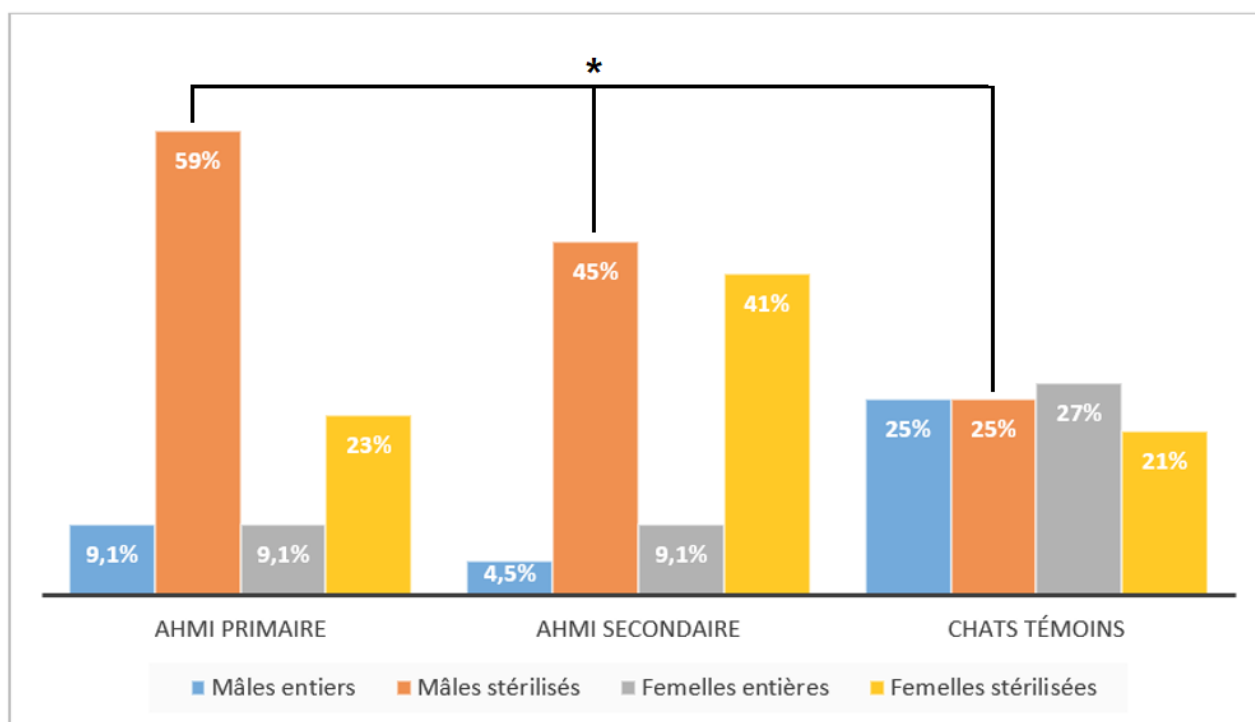
**Figure 31** - Répartition entre les sexes en fonction du type d'AHMI



**Figure 32** - Proportion d'animaux stérilisés en fonction du type d'AHMI



**Figure 33** - Répartition des sexes et proportion d'animaux stérilisés en fonction du type d'AHMI (une étoile désignant une différence significative)



- *Comparaison entre chats atteints d'AHMI primaire et chats témoins*

Il n'existe pas de différence significative liée au sexe seul entre les chats atteints d'AHMI primaire et les chats témoins. En revanche, la proportion d'animaux stérilisés est significativement plus élevée parmi les chats atteints d'AHMI primaire ( $p = 0,00081$ ), les animaux stérilisés étant 5,2 fois ([1,8 ; 15]<sub>95%</sub>) plus à risque de développer une AHMI primaire. En particulier, la proportion de mâles stérilisés est significativement plus élevée parmi les chats atteints d'AHMI primaire ( $p = 0,00021$ ), les mâles stérilisés étant 4,4 fois ([0,068 ; 0,59]<sub>95%</sub>) plus à risque de développer une AHMI primaire.

- *Comparaison entre chats atteints d'AHMI secondaire et chats témoins*

Il n'existe pas de différence significative liée au sexe seul entre les chats atteints d'AHMI secondaire et les chats témoins. En revanche, la proportion d'animaux stérilisés est significativement plus élevée parmi les chats atteints d'AHMI secondaire ( $p = 9,5E-8$ ), les animaux stérilisés étant 7,4 fois ([3,1 ; 17]<sub>95%</sub>) plus à risque de développer une AHMI secondaire.

- *Comparaison entre chats atteints d'AHMI primaire et secondaire*

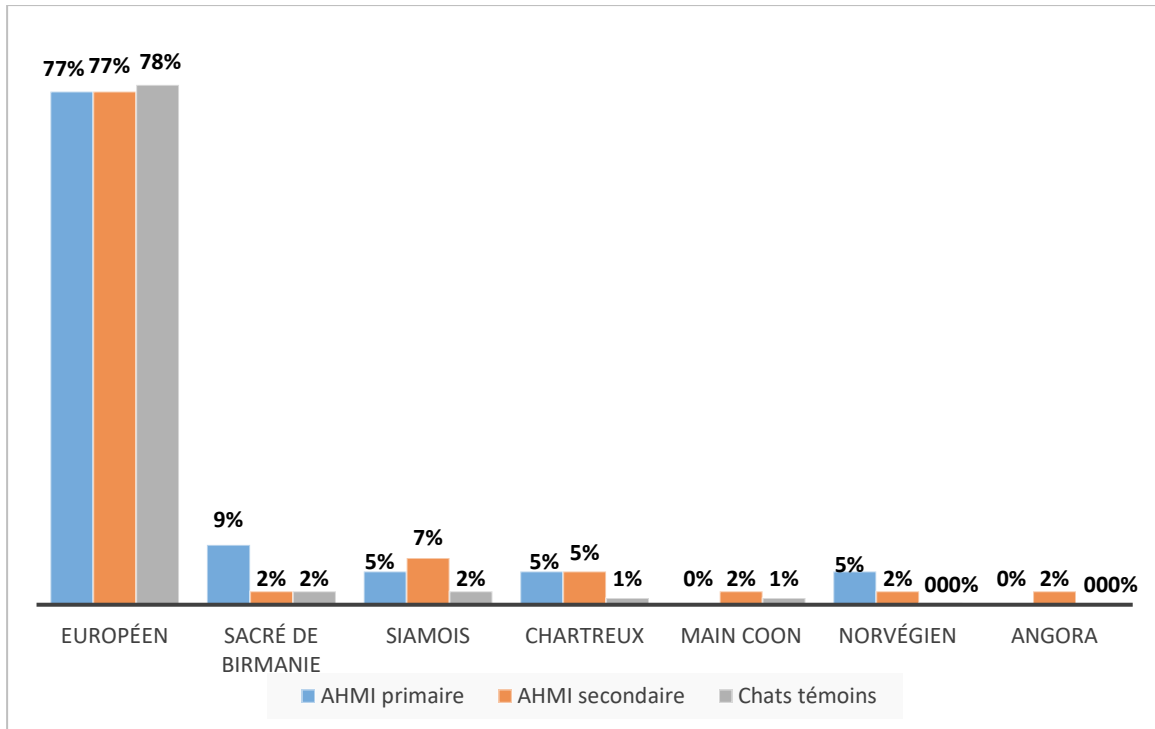
Il n'existe aucune différence significative liée au sexe ou à la stérilisation entre les chats atteints d'AHMI primaire et secondaire.

### c. Race

La proportion d'AHMI primaire et secondaire suivant la race est présentée dans la **figure 34**.



**Figure 34** - Répartition des races en fonction du type d'AHMI



Les Siamois sont significativement plus nombreux parmi les chats atteints d'AHMI secondaire par rapport à l'échantillon de chats témoins ( $p = 0,037$ ), les Siamois étant 4,3 ([1,3 : 14]<sub>95%</sub>) fois plus à risque de développer une AHMI secondaire. De même les Angora sont significativement plus nombreux parmi les chats atteints d'AHMI secondaire par rapport à l'échantillon de chats témoins ( $p = 0,033$ ), les Angora étant 30 ([4,2 : 210]<sub>95%</sub>) fois plus à risque de développer une AHMI secondaire.

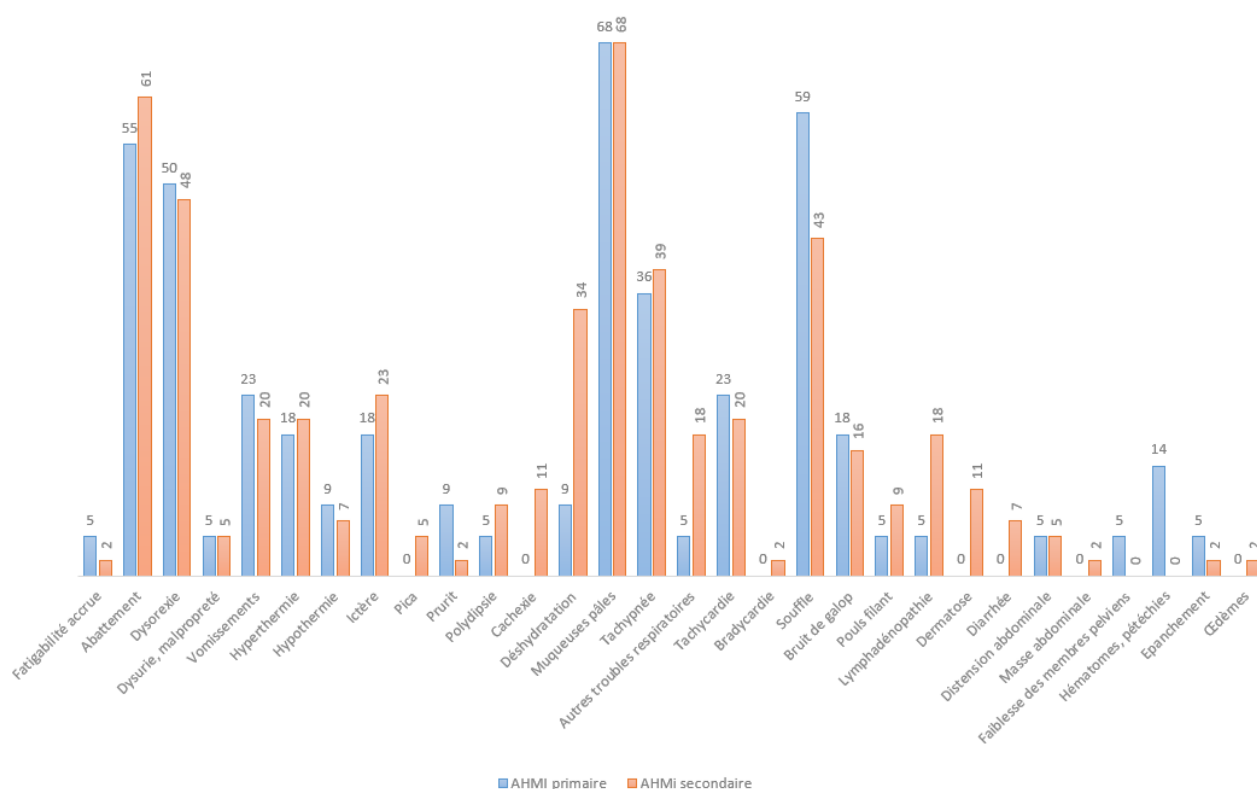
En revanche il n'existe pas de différence significative concernant la race entre AHMI primaire et chats témoins (en particulier,  $p = 0,070$  pour la race Sacré de Birmanie), et entre AHMI primaire et secondaire (en particulier  $p = 0,27$  pour la race Sacré de Birmanie).

### C. Données cliniques

La répartition des symptômes (nombre et pourcentage) chez les chats atteints d'AHMI primaire, d'AHMI secondaire toute cause sous-jacente confondue et suivant la cause sous-jacente impliquée est présentée dans l'**annexe 2**.

La **figure 35** représente la répartition des différents symptômes (en pourcentage) chez les chats atteints d'AHMI primaire et d'AHMI secondaire toute cause confondue.

**Figure 35** - répartition des symptômes en fonction du type d'AHMI



Une déshydratation est significativement plus présente chez les chats atteints d'AHMI secondaire ( $p = 0,037$ ), les chats atteints d'AHMI secondaire étant 1,5 ([1,1 ; 2,0]<sub>95%</sub>) fois plus sujets à la déshydratation. En revanche, les troubles de la coagulation (tels que les hématomes et pétéchies) sont significativement plus présents parmi les chats atteints d'AHMI primaire ( $p = 0,034$ ), les chats atteints d'AHMI primaire étant 3,3 ([2,3 ; 4,8]<sub>95%</sub>) fois plus sujets aux troubles de la coagulation.

La répartition des symptômes suivant la cause sous-jacente de l'AHMI secondaire est présentée dans le **tableau 21**.

**Tableau 21** - Répartition des symptômes en fonction de la cause sous-jacente impliquée

Symptômes	Tout chat atteint d'AHMI (N=66)	Mycoplasmosse (N=6)	PIF (N=3)	Néoplasie (N=11)	Maladie inflammatoire (pancréatite, cholangite, pyélonéphrite, cystite sévère) (N=17)
Fatigabilité accrue	3%	0%	33%	0%	0%
Abattement	59%	100%	33%	64%	53%
Dysorexie	48%	50%	67%	45%	41%
Dysurie malpropreté	5%	0%	0%	9%	6%
Vomissement	21%	17%	33%	18%	29%
Hyperthermie	20%	0%	33%	27%	18%
Hypothermie	8%	0%	0%	0%	18%
Ictère	21%	17%	67%	27%	24%
Pica	3%	0%	0%	9%	6%
Prurit	5%	0%	0%	0%	0%
Polydipsie	8%	17%	33%	0%	12%
Cachexie	8%	0%	33%	0%	18%
Déshydratation	26%	50%	67%	27%	29%
Muqueuses pâles	68%	83%	67%	73%	59%
Tachypnée	38%	50%	0%	36%	41%
Autres troubles respiratoires	14%	33%	33%	27%	6%
Tachycardie	21%	17%	0%	36%	12%
Bradycardie	2%	0%	0%	0%	6%
<b>Souffle</b>	<b>48%</b>	33%	100%	<b>9%</b>	53%
Bruit de galop	17%	17%	0%	27%	0%
Pouls filant	8%	0%	0%	18%	12%
Lymphadénopathie	14%	50%	33%	0%	12%
Dermatose	8%	17%	0%	9%	12%
<b>Diarrhée</b>	<b>5%</b>	0%	<b>67%</b>	0%	0%
Distension abdominale	5%	0%	33%	9%	0%
Masse abdominale	2%	0%	33%	0%	0%

La présence d'un souffle est un symptôme significativement moins présent parmi les chats souffrant d'une AHMI secondaire à une néoplasie ( $p = 0,020$ ).

La diarrhée est un symptôme significativement plus présent parmi les chats souffrant d'une AHMI secondaire à une PIF ( $p = 0,012$ ), les chats souffrant d'une AHMI consécutive à une PIF étant 25 ([2,8 ; 236]<sub>95%</sub>) fois plus sujets à une diarrhée.

#### D. Données biologiques

Durant cette étude, l'AHMI était considérée comme arégénérative si le taux de réticulocytes corrigé restait inférieur à un, cinq jours après l'admission.

Les résultats des analyses hématologiques et biochimiques chez les chats présentant une AHMI primaire ou secondaire toute cause confondue sont recensés dans le **tableau 22**. Les valeurs sont présentées sous forme d'une médiane associée à son écart interquartile. Seule la proportion de

chats présentant une anémie régénérative à l'admission puis 5 jours plus tard est présentée sous forme de pourcentage et non de médiane.

**Tableau 22** - Bilan hématologique et biochimique en fonction du type d'AHMI

Paramètres	Chats atteints d'AHMI primaire (N=22)	Chats atteints d'AHMI secondaire (N=44)
Numération érythrocytaire (Million/mm <sup>3</sup> )	2,4 [1,8 ; 3,6]	4,1 [2,8 ; 4,9]
Hématocrite (%)	13 [9,3 - 16]	19 [14 ; 22]
Hémoglobine (g/dl)	4,7 [3,1 ; 5,6]	6,0 [4,0 ; 7,1]
VGM (fl)	50 [44 ; 55]	47 [42 ; 54]
CCMH (g/dl)	32 [29 ; 34]	32 [31 ; 34]
Numération réticulocytaire (mille/mm <sup>3</sup> )	22 [13 ; 74]	92 [26 ; 152]
Proportion de chats avec un taux de réticulocytes corrigé > 1 à l'admission (%)	41%	43%
Proportion de chats avec un taux de réticulocytes corrigé > 1, 5 jours après l'admission (%)	50%	61%
Numération leucocytaire (/mm <sup>3</sup> )	11 040 [4840 ; 13150]	13 850 [9770 ; 26 630]
<b>Concentration en neutrophiles (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>4 855 [1560 ; 8390]</b>	<b>8 696 [5601 ; 14910]</b>
Concentration en lymphocytes (/mm <sup>3</sup> )	2590 [1225 ; 5205]	1855 [1097 ; 3080]
<b>Concentration en monocytes (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>490 [197 ; 765]</b>	<b>895 [526 ; 1373]</b>
Concentration en éosinophiles (/mm <sup>3</sup> )	35 [0 ; 157]	100 [0 ; 427]
Comptage plaquettaire (mille/mm <sup>3</sup> )	84 [28 ; 177]	152 [84 ; 227]
Concentration en protéines sériques totale (g/L)	80 [65 ; 86]	81 [65 ; 89]
Concentration en albumine sérique (g/L)	30 [25 ; 31]	27 [23 ; 31]
Concentration en globulines sériques (g/L)	52 [36 ; 57]	52 [38 ; 64]
Rapport A/G	0,60 [0,53 ; 0,78]	0,58 [0,40 ; 0,68]
Bilirubinémie (g/L)	5,9 [4,0 ; 13]	20 [10 ; 47]
Urémie (g/L)	0,55 [0,38 ; 0,80]	0,55 [0,42 ; 0,83]
Créatininémie (mg/L)	12 [10 ; 15]	10 [8,2 ; 12]
ALAT sérique (UI/L)	111 [62 ; 166]	77 [60 ; 188]
PAL sérique (UI/L)	39 [23 ; 56]	32 [17 ; 46]
Glycémie (g/L)	1,5 [1,1 ; 1,8]	1,4 [1,7 ; 1,9]
Kaliémie (mmol/L)	3,9 [3,3 ; 4,9]	3,7 [3,3 ; 4,1]

La concentration en neutrophiles et monocytes est significativement plus élevée parmi les chats atteints d'AHMI secondaire que parmi les chats atteints d'AHMI primaire (respectivement  $p = 0,029$  et  $p = 0,023$ ).

La numération réticulocytaire médiane à l'admission ne diffère pas entre les chats atteints d'AHMI primaire et ceux atteints d'AHMI secondaire ( $p = 0,09$ ). De même, la proportion de chats présentant une anémie régénérative à l'admission puis 5 jours plus tard ne diffère pas entre AHMI primaire et AHMI secondaire (respectivement  $p = 0,86$  et  $p = 0,38$ ).

Parmi les 22 chats avec une AHMI primaire, 14 avaient une numération anormale dans une autre lignée cellulaire, incluant 5 chats avec une thrombopénie ( $< 200\ 000/\text{mm}^3$ ), 7 avec une neutropénie ( $< 2\ 500/\text{mm}^3$ ) et 7 avec une lymphopénie ( $< 1\ 500/\text{mm}^3$ ).

Parmi les 44 chats avec une AHMI secondaire, 29 avaient une numération anormale dans une autre lignée cellulaire, incluant 14 chats avec une thrombopénie, 6 avec une neutropénie et 22 avec une lymphopénie.

Les résultats des analyses hématologiques et biochimiques suivant la cause de l'AHMI secondaire sont recensés dans le **tableau 23**. Les valeurs sont présentées sous forme de médiane associée à son écart interquartile. Seule la proportion de chats présentant une anémie régénérative à l'admission puis 5 jours plus tard est présentée sous forme de pourcentage et non de médiane.

**Tableau 23** - Bilan hématologique et biochimique en fonction du type d'AHMI

Paramètres	Chats atteints d'AHMI (N=66)	Mycoplasmosse (N=6)	PIF (N=3)	Néoplasie (N=11)	Maladie inflammatoire (N=17)
Numération érythrocytaire (Million/mm <sup>3</sup> )	2,8 [2,0 ; 4,3]	2,1 [1,3 ; 2,6]	3,4 [2,4 ; 3,9]	2,9 [2,4 ; 4,2]	4,0 [2,8 ; 5,0]
Hématocrite (%)	15 [10 ; 19]	11 [9,2 ; 14]	8 [4,1 ; 13]	15 [11 ; 20]	18 [14 ; 21]
Hémoglobine (g/dl)	4,9 [3,2 ; 6,2]	4,2 [2,7 ; 5,1]	3,1 [3,0 ; 4,7]	3,9 [3,2 ; 6,6]	5,9 [4,2 ; 7,2]
Numération réticulocytaire (Mille/mm <sup>3</sup> )	51 [17 ; 131]	56 [22 ; 102]	40 [26 ; 109]	51 [31 ; 69]	112 [37 ; 191]
Taux de réticulocytes corrigé > 1 à l'admission	0,42	0,33	0,33	0,27	0,65
Taux de réticulocytes corrigé > 1, 5 jours après l'admission	0,57	0,5	0,33	0,36	0,76
<b>Numération leucocytaire (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>11040 [7810 ; 17190]</b>	12 630 [8260 ; 16460]	11 430 [10100 ; 19215]	9510 [3900 ; 11480]	<b>16150 [10510 ; 31490]</b>
<b>Concentration en neutrophiles (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>6890 [2740 ; 11220]</b>	9500 [4301 ; 13700]	10900 [8037 ; 12505]	5800 [2795 ; 8255]	<b>11220 [6475 ; 25985]</b>
<b>Concentration en lymphocytes (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>1825 [985 ; 4014]</b>	1488 [1254 ; 2145]	2631 [1426 ; 8362]	<b>1050 [305 ; 1320]</b>	1860 [1092 ; 3280]
Concentration en monocytes (/mm <sup>3</sup> )	589 [320 ; 1020]	1085 [686 ; 1465]	439 [380 ; 1365]	340 [225 ; 870]	950 [520 ; 1410]
Concentration en éosinophiles (/mm <sup>3</sup> )	50 [0 ; 210]	50 [13 ; 56]	265 [177 ; 352]	20 [0 ; 140]	105 [0 ; 435]
Comptage plaquettaire (mille/mm <sup>3</sup> )	107 [49 ; 176]	126 [84 ; 136]	48 [34 ; 94]	59 [46 ; 199]	147 [88 ; 299]
Concentration en protéines sériques totale (g/L)	80 [61 ; 88]	80 [73 ; 85]	94 [89 ; 98]	85 [70 ; 88]	81 [64 ; 88]
Concentration en albumine sérique (g/L)	27 [20 ; 30]	25 [24 ; 27]	22 [21 ; 27]	28 [24 ; 31]	27 [26 ; 29]
Concentration en globulines sériques (g/L)	53 [37 ; 60]	61 [53 ; 63]	72 [63 ; 77]	55 [47 ; 68]	50 [37 ; 65]
Rapport A/G	0,56 [0,40 ; 0,69]	0,4 [0,40 ; 0,51]	0,3 [0,27 ; 0,44]	0,59 [0,37 ; 0,73]	0,6 [0,42 ; 0,68]
Bilirubinémie (g/L)	14 [5,7 ; 26]	17 [16 ; 17]	17 [16 ; 33]	6,4 [5,7 ; 9,6]	42 [17 ; 52]
Urémie (g/L)	0,53 [0,39 ; 0,82]	0,45 [0,42 ; 0,91]	0,42 [0,41 ; 0,46]	0,69 [0,55 ; 0,84]	0,68 [0,44 ; 0,83]
Créatininémie (mg/L)	11 [8 ; 14]	11 [8 ; 12]	9 [7,5 ; 10]	12 [11 ; 20]	10 [8,2 ; 12]
ALAT sérique (UI/L)	75 [42 ; 124]	52 [40 ; 74]	21 [15 ; 82]	51 [28 ; 77]	88 [60 ; 260]
PAL sérique (UI/L)	32 [17 ; 53]	18 [11 ; 67]	23 [22 ; 50]	34 [20 ; 67]	39 [31 ; 48]
Glycémie (g/L)	1,4 [1,2 ; 1,8]	1,8 [1,4 ; 2,2]	1,2 [1,2 ; 1,2]	1,2 [1,1 ; 1,5]	1,6 [1,2 ; 1,9]
Kaliémie (mmol/L)	3,9 [3,5 ; 4,3]	3,5 [3 ; 3,9]	3,9 [3,9 ; 4,1]	4 [4,0 ; 4,0]	3,5 [3,2 ; 4,3]

Les chats souffrant d'une AHMI secondaire à une maladie inflammatoire (cholangite, pancréatite, pyélonéphrite, cystite sévère) présentent une numération leucocytaire et une concentration en neutrophiles significativement plus élevées que les autres chats souffrant d'AHMI (toute cause confondue) (respectivement  $p = 0,042$  et  $p = 0,046$ ).

Les chats souffrant d'une AHMI secondaire à une néoplasie présentent quant à eux une concentration en lymphocytes significativement plus faible que les autres chats atteints d'AHMI ( $p = 0,019$ ).

La numération réticulocytaire médiane à l'admission ne diffère pas suivant les différentes causes d'AHMI secondaire. De même, la proportion de chats présentant une anémie régénérative à l'admission puis 5 jours plus tard ne diffère pas entre les différentes causes d'AHMI secondaire.

## E. Etudes des myélogrammes

Des myélogrammes réalisés par cytoaspiration ont été effectués chez 12 chats atteints d'AHMI primaire (sur 22) et chez 9 chats atteints d'AHMI secondaire (sur 44). Les anomalies majeures relevées sur les myélogrammes sont recensées dans le **tableau 24**.

**Tableau 24** - Proportion des anomalies majeures relevées au myélogramme en fonction du type d'AHMI

Paramètres	Chats atteints d'AHMI secondaire (N=9)	Chats atteints d'AHMI primaire (N=12)
Moelle hypocellulaire	2 (22%)	1 (8%)
Moelle hypercellulaire	2 (22%)	2 (17%)
Erythrophagocytose	1 (11%)	4 (33%)
Pigments d'hémossidérine	0 (0%)	2 (17%)
Hyperplasie érythroïde	2 (22%)	2 (17%)
Hypo/aplasie érythroïde	2 (22%)	4 (33%)
Dysérythropoïèse	6 (67%)	10 (83%)
Hyperplasie mégacaryocytaire	1 (11%)	1 (8%)
Hypoplasie mégacaryocytaire	1 (11%)	1 (8%)
Hyperplasie myéloïde	2 (22%)	3 (25%)
Hypoplasie myéloïde	3 (33%)	2 (17%)
Dysmyélopoïèse	3 (33%)	3 (25%)
Lymphocytose	4 (44%)	6 (50%)
Infiltration néoplasique	3 (33%)	0 (0%)

Les myélogrammes ont permis de diagnostiquer 2 cas d'AHMI secondaire centrale, dont une PRCA causée par une néoplasie (leucémie myéloïde aiguë) et un cas d'érythropoïèse inefficace hyperplasique dont l'origine serait une infection par le FeLV, ainsi que 7 cas d'AHMI primaire centrale, dont une PRCA et 6 cas d'érythropoïèse inefficace (2 hyperplasiques, 4 hypoplasiques).

Concernant les anomalies recensées par les myélogrammes, il n'existe pas de différence significative entre AHMI primaire et secondaire. De même, PRCA et érythropoïèse inefficace ne semblent pas associées préférentiellement aux AHMI centrales primaires ou secondaires.

Le **tableau 25** recense les anomalies détectées *via* les myélogrammes en fonction du type d'AHMI centrale.

**Tableau 25** - Proportion des anomalies détectées au myélogramme en fonction du type d'AHMI centrale

Paramètres	Chats présentant une PRCA (N=2)	Chats présentant une érythropoïèse inefficace	
		Hyperplasie érythroïde (N=3)	Hypoplasie érythroïde (N=4)
Moelle hypocellulaire	0 (0%)	1 (33%)	0 (0%)
Moelle hypercellulaire	0 (0%)	1 (33%)	1 (25%)
Erythrophagocytose	1 (50%)	1 (33%)	2 (50%)
Pigments d'hémosidérine	1 (50%)	1 (33%)	0 (0%)
Dysérythropoïèse	1 (50%)	3 (100%)	3 (75%)
Hyperplasie mégacaryocytaire	0 (0%)	0 (0%)	1 (25%)
Hypoplasie mégacaryocytaire	1 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
Hyperplasie myéloïde	1 (50%)	0 (0%)	2 (50%)
Hypoplasie myéloïde	0 (0%)	1 (33%)	0 (0%)
Dysmyélopoïèse	0 (0%)	0 (0%)	2 (50%)
Lymphocytose	2 (100%)	2 (67%)	3 (75%)
Infiltration néoplasique	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)



## F. Traitements reçus

Le **tableau 26** recense la proportion des différents traitements administrés lors de la première prise en charge chez tous les chats ayant été diagnostiqués comme ayant une AHMI, ainsi que les molécules immunosuppressives ajoutées aux glucocorticoïdes durant l'hospitalisation ou les suivis.

**Tableau 26** - Traitements de première intention et immunosuppresseurs complémentaires

Molécule		Chats concernés (N=72)	
Immunosuppresseurs (N=72 chats)	Glucocorticoïdes	prednisolone	35 (49%)
		méthylprednisolone	5 (7%)
		dexaméthasone	34 (47%)
	Autres molécules	cyclosporine	7 (10%)
		azathioprine	1 (1%)
		mycophénolate mofétil	2 (3%)
monothérapie		64 (89%)	
bithérapie		7 (10%)	
trithérapie		1 (1%)	
Transfusion		sang frais total	23 (32%)
Antibiotiques (N=64 chats)	doxycycline		54 (75%)
	amoxicilline acide clavulanique		15 (21%)
	métronidazole		3 (4%)
	marbofloxacin, enrofloxacin		7 (10%)
	clindamycine		1 (1%)
	Antithrombotiques (N=24 chats)	clopidogrel	
enoxaparine		10 (14%)	
clopidogrel + enoxaparine		6 (8%)	
acide salicylique		2 (3%)	
Antiacides	ésoméprazole, pantoprazole, oméprazole, ranitidine, cimétidine		32 (44%)
Pansements digestifs	sucralfate, diosmectite		18 (25%)

49 % des chats ont reçu de la prednisolone en première intention, 7% de la méthylprednisolone et 47% de la dexaméthasone.

11% des chats ont nécessité l'ajout d'un second voire d'un troisième immunosuppresseur car la monothérapie n'était pas suffisante pour résoudre l'anémie.

Les doses moyennes, minimales et maximales administrées pour chaque immunosuppresseur sont recensées dans le **tableau 27**.

**Tableau 27** - Doses moyennes, minimales et maximales initiales administrées pour chaque immunosuppresseur

Molécule	Dose moyenne	Dose minimale	Dose maximale
Prednisolone	2 mg/kg/j	0,5 mg/kg/j	4 mg/kg/j
Méthylprednisolone	2,5 mg/kg/j	2 mg/kg/j	4 mg/kg/j
Dexaméthasone	0,27 mg/kg/j	0,1 mg/kg/j	0,6 mg/kg/j
Cyclosporine	7 mg/kg/j	5 mg/kg/j	10 mg/kg/j
Mycophénolate Mofétil	10 mg/kg/j	/	/

Les chats ayant reçu un autre antibiotique que de la doxycycline étaient atteints de cholangite, pyélonéphrite, gingivite sévère dans un contexte d'infection par le FIV ou de toxoplasmose (administration dans ce cas de clindamycine).

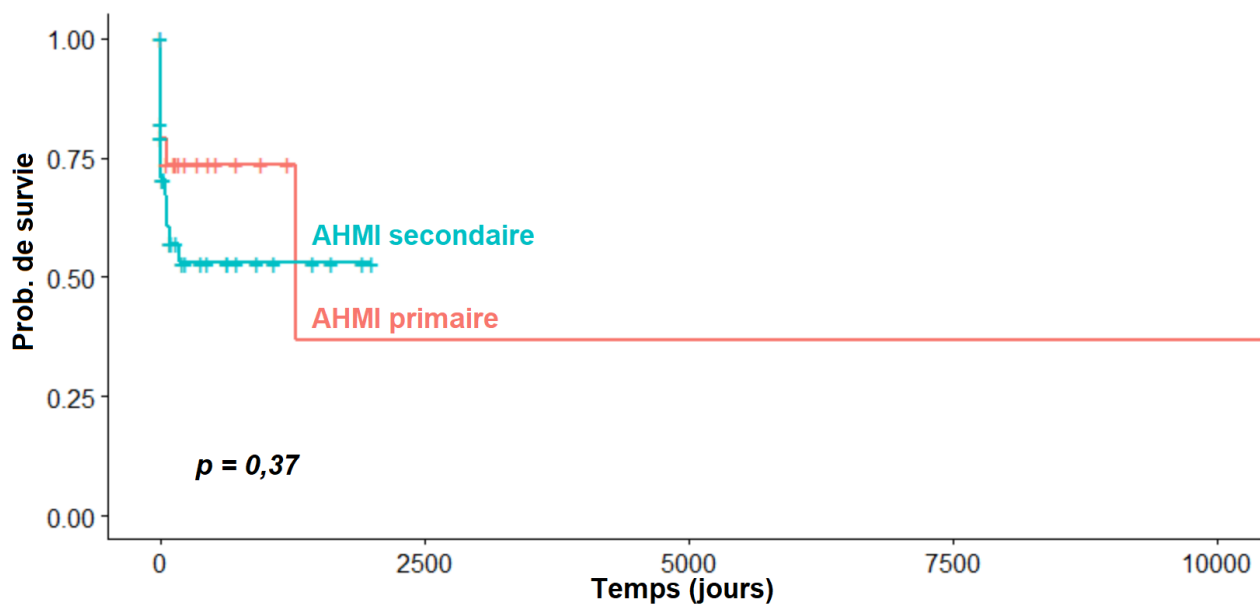
23 chats, soit 32% des chats atteints d'AHMI ont reçu une transfusion de sang total frais. L'hématocrite moyen avant transfusion était de 10 % (4,9% - 23,3%).

### G. Analyse de survie

En excluant les chats décédés durant leur première hospitalisation, le temps de suivi médian est de 300 jours (écart interquartile = [79 ; 675]) pour les chats atteints d'AHMI primaire et de 90 jours (écart interquartile = [8,5 ; 592]) pour les chats atteints d'AHMI secondaire. Sur les 22 chats atteints d'AHMI primaire, 6 (soit 27%) sont décédés de leur AHMI, 4 (soit 18%) étaient encore en vie à l'issue de l'étude et 12 (soit 55%) ont été perdus de vue dont 6 (soit 27%) dans les 6 mois suivant le diagnostic de l'AHMI. Sur les 44 chats atteints d'AHMI secondaire, 15 (soit 34%) sont décédés de leur AHMI, 4 (soit 9,1%) étaient encore en vie à l'issue de l'étude et 25 (soit 57%) ont été perdus de vue dont 15 (soit 34%) dans les 6 mois suivant le diagnostic de l'AHMI.

Le temps de survie moyen des chats atteint d'AHMI dans notre étude est d'au moins 446 jours. En particulier, le temps de survie moyen est d'au moins 794 jours chez les chats atteints d'AHMI primaire et d'au moins 307 jours chez les chats atteints d'AHMI secondaire. Les courbes de survie en fonction du type d'AHMI ont été comparées et sont présentées dans la **figure 36**.

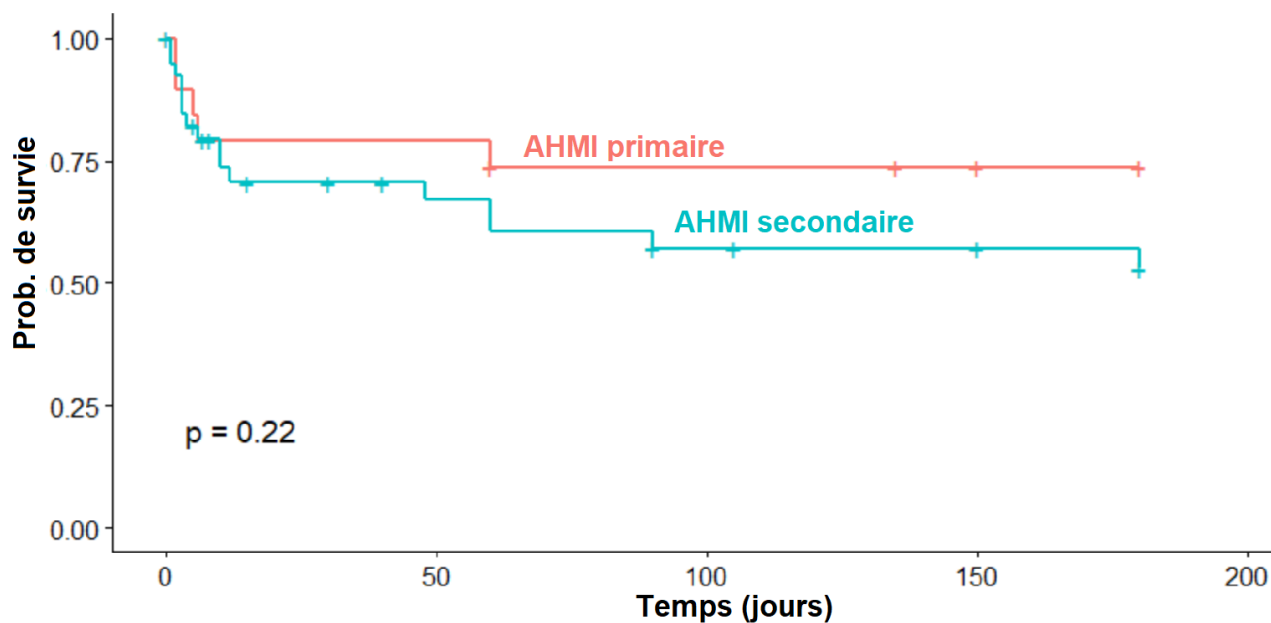
**Figure 36** - Courbe de survie en fonction du type d'AHMI



La durée de survie ne diffère pas entre AHMI primaire et AHMI secondaire ( $p = 0,37$ ).

La **figure 37** présente (pour plus de visibilité) les courbes de survie des chats atteints d'AHMI primaire et secondaire restreintes aux six mois suivant le diagnostic de l'affection.

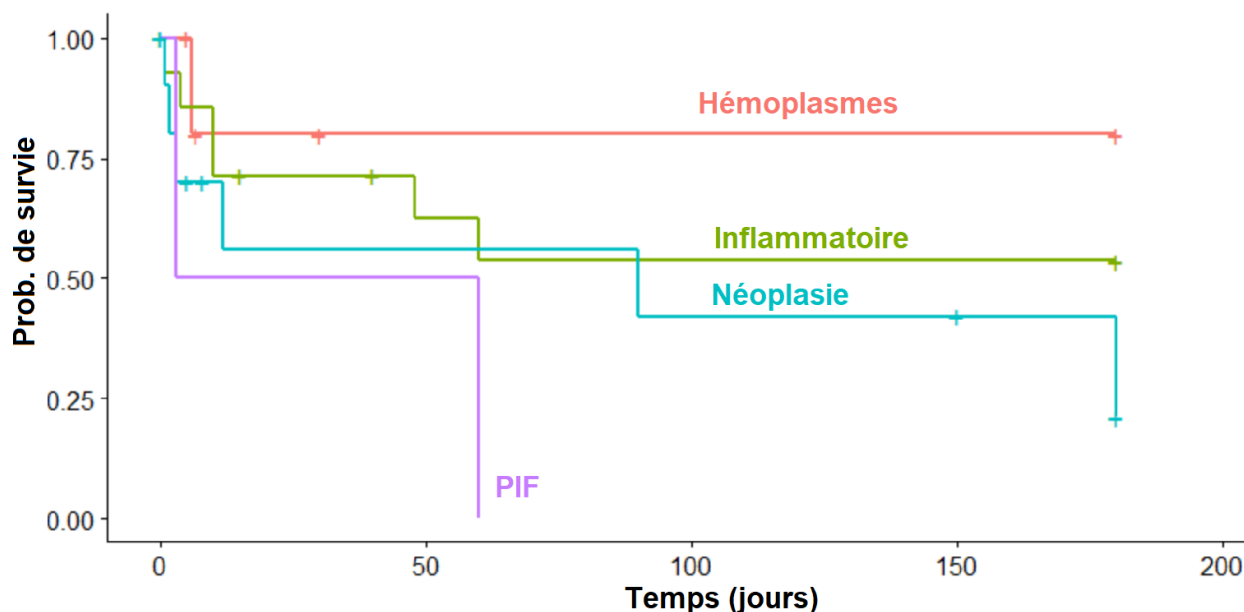
**Figure 37** - Courbes de survie en fonction du type d'AHMI sur 6 mois



La proportion de chats décédés six mois après le diagnostic de leur anémie ne diffère pas entre AHMI primaire et secondaire (respectivement 23 et 34%) ( $p = 0,34$ ).

La **figure 38** présente les courbes de survie sous 6 mois post diagnostic en fonction des différentes cause d'AHMI secondaire.

**Figure 38** - Courbes de survie sur 6 mois des différentes causes d'AHMI secondaire

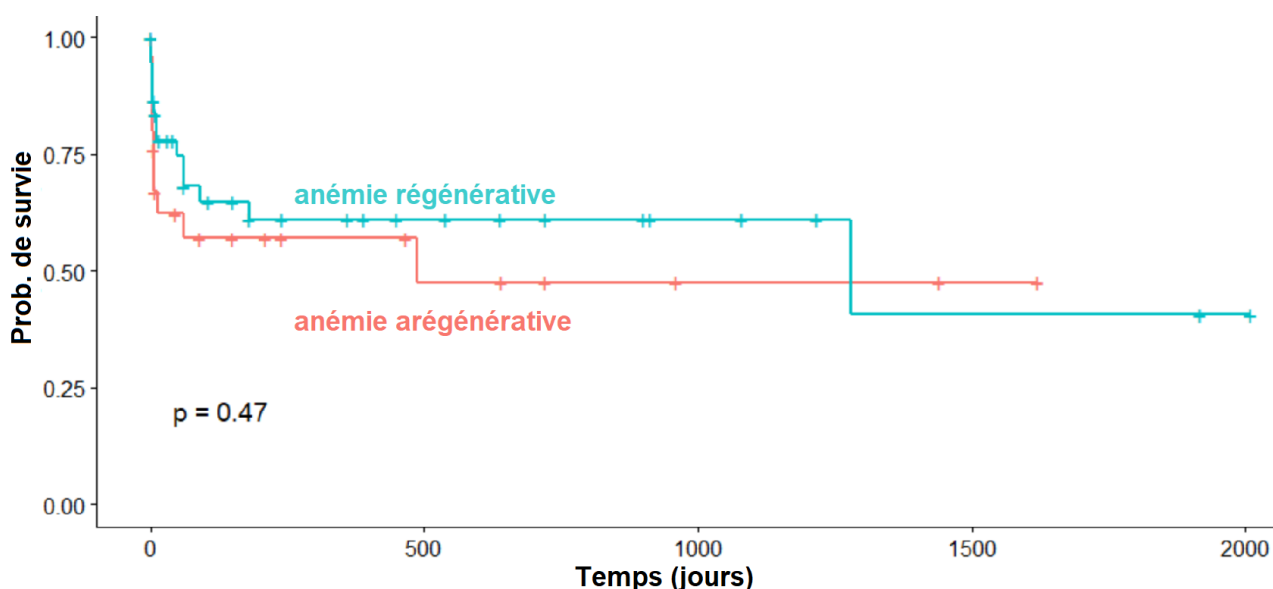


La durée de survie ne diffère pas suivant la cause de l'AHMI secondaire.

#### H. Facteurs pronostiques

Sur 67 chats atteints d'AHMI et dont une numération réticulocytaire est disponible à l'admission, 37 (soit 55%) présentaient un taux de réticulocytes corrigé inférieur à 1 à l'admission. Ce groupe de chats n'a pas présenté une durée de survie significativement différente de celle des autres chats ( $p = 0,76$ ). De même, la persistance du caractère arégénératif 5 jours après l'admission n'a pas influencé la durée de survie ( $p = 0,47$ ) (Cf **figure 39**).

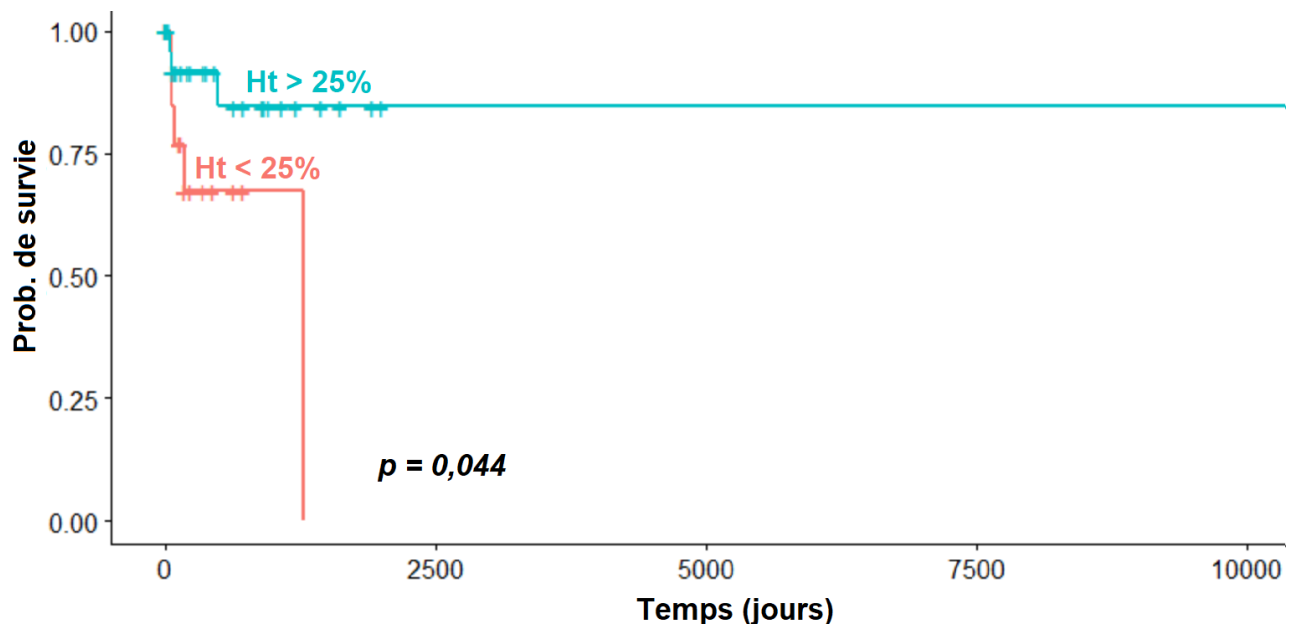
**Figure 39** - Courbes de survie en fonction de la régénération de l'anémie



Parmi les 49 chats atteints d'AHMI ayant survécu au moins un mois, l'hématocrite de 15 chats (soit 31%) est resté inférieur à 25% un mois après l'initiation du traitement immunosuppresseur. La **figure**

**40** compare la durée de survie des chats atteints d'AHMI en fonction de la valeur de leur hématoците (supérieur ou inférieur à 25%) un mois après l'initiation du traitement immunosuppresseur.

**Figure 40** - Courbes de survie en fonction de l'hématoците mesuré un mois après l'initiation du traitement



Les chats dont l'hématoците n'atteint pas 25% un mois après l'initiation du traitement immunosuppresseur ont une durée de survie significativement plus courte que les autres chats atteints d'AHMI ( $p = 0,044$ ). En revanche, la valeur de l'hématoците à l'admission n'influe pas la durée de survie ( $p = 0,23$ ).

Dix-neuf variables (hématoците à l'admission, comptage plaquettaire, leucocytaire (neutrophiles, éosinophiles, lymphocytes et monocytes), concentration sérique en protéines, en albumine, en globuline, en bilirubine totale, activité des enzymes hépatiques, glycémie, urémie, créatininémie, kaliémie) ont été évaluées comme possibles facteurs pronostics de mortalité chez les chats atteints d'AHMI via un modèle de Cox univarié, dont les résultats sont présentés dans le **tableau 28**.

**Tableau 28** - Influence de différents paramètres biologiques sur la mortalité

Variable	Risque relatif	Intervalle de confiance à 95%	Valeur de <i>p</i>
Âge	1	[0,96 ;1,0]	0,18
Hématocrite	0,96	[0,88 ;1,1]	0,23
Taux de réticulocyte corrigé	1,2	[1,1 ;1,3]	0,32
Numération leucocytaire	1	[0,99 ;1,0]	0,53
Concentration en neutrophiles	1	[0,99 ;1,0]	0,5
Concentration en éosinophiles	1	[0,99 ;1,0]	0,43
Concentration en lymphocytes	1	[0,99 ;1,0]	0,43
Concentration en monocytes	1	[0,99 ;1,0]	0,64
Comptage plaquettaire	1	[0,99 ;1,0]	0,18
Concentration en protéines sériques totale	0,99	[0,98 ;1,0]	0,49
Concentration en albumine sérique	0,96	[0,91 ;1,0]	0,34
Concentration en globulines sériques	1	[0,98 ;1,0]	0,93
Bilirubinémie	1	[0,99 ;1,0]	0,49
ALAT sérique	1	[0,99 ;1,0]	0,49
PAL sérique	1	[0,99 ;1,0]	0,97
Glycémie	1,4	[0,91 ;1,89]	0,54
Urémie	1,1	[0,89 ;1,3]	0,81
Créatininémie	1	[0,99 ;1,0]	0,46
Kaliémie	0,63	[0,33 ;0,93]	0,12

Aucune de ces variables n'est un facteur pronostic de mortalité en cas d'AHMI féline.

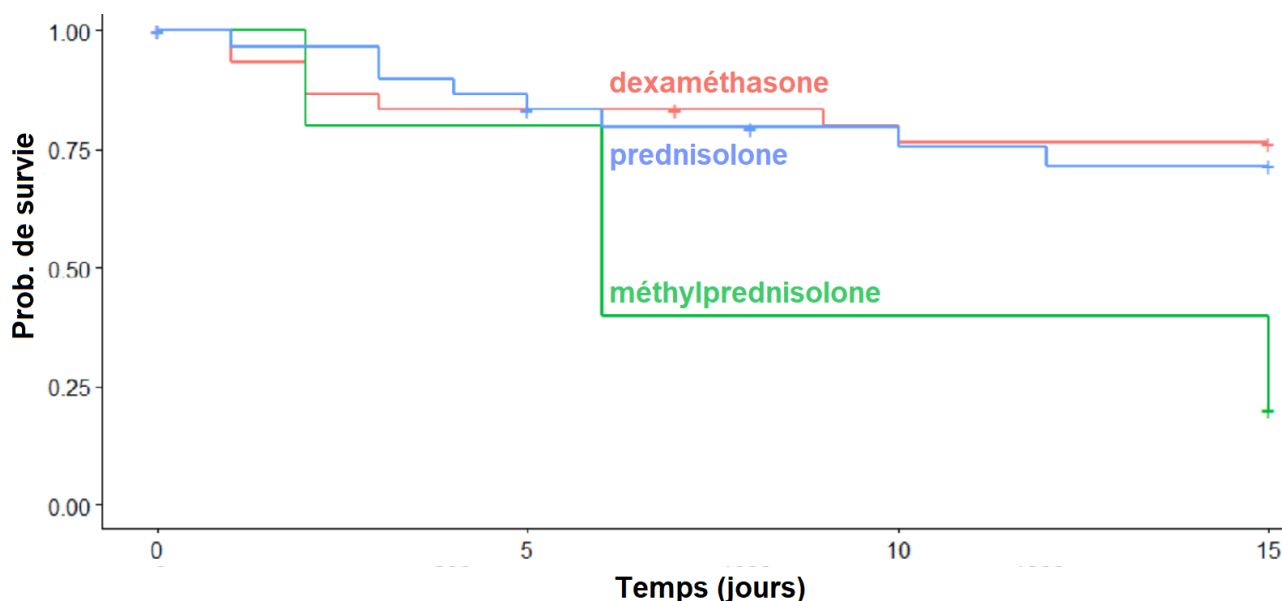
En revanche, le type d'AHMI centrale semble influencer la survie. En effet, le taux de mortalité s'élève à 100% en cas de PRCA, 75% en cas d'érythropoïèse inefficace hypoplasique et 0% en cas d'érythropoïèse inefficace hyperplasique. En particulier, les chats atteints de PRCA ont une durée de survie significativement plus faible que ceux atteints d'érythropoïèse inefficace hyperplasique ( $p = 0,039$ )

### I. Influence du traitement sur la survie

L'étude de l'influence du traitement sur la survie s'est portée uniquement sur le traitement immunosuppresseur, la thromboprophylaxie et la réalisation d'une transfusion.

La **figure 41** présente les courbes de survies des chats atteints d'AHMI en fonction du glucocorticoïde reçu en première intention.

**Figure 41** - Courbes de survie sur 15 jours en fonction du traitement immunosuppresseur initial



Les chats ayant reçu de la méthylprednisolone ont survécu significativement moins longtemps que les chats ayant reçu de la dexaméthasone ou de la prednisolone ( $p = 0,04$ ). En revanche, il n'existe pas de différence de survie entre dexaméthasone et prednisolone ( $p = 0,77$ ).

Il n'existe pas de différence significative de survie entre les chats ayant reçu ou non un traitement antithrombotique ( $p = 0,73$ ), ni suivant le type d'antithrombotique reçu ( $p = 0,073$ ).

De même, il n'existe pas de différence significative de survie entre les chats ayant reçu ou non une transfusion ( $p = 0,51$ ).

## 6. Discussion

### A. Épidémiologie

Dans notre étude, les chats atteints d'AHMI primaire sont significativement plus jeunes que les chats atteints d'AHMI secondaire. La plupart des cas d'AHMI primaire sont rapportés chez de jeunes chats avec 41% des cas d'AHMI primaire chez des chats de moins de 2 ans. En revanche, les AHMI secondaires semblent être des maladies du chat adulte avec 41% des cas ayant entre 2 et 6 ans. Il est à noter qu'une AHMI chez un chat âgé (supérieur à 13 ans) est en faveur d'une AHMI secondaire. Le sexe ne semble pas prédisposer au développement d'une AHMI. En revanche, notre étude rapporte une prévalence significativement plus élevée de la maladie parmi les animaux stérilisés tant en cas d'AHMI primaire (82%) que secondaire (86%). Aucune race ne semble prédisposée à une AHMI primaire, en revanche, les Siamois et les Angoras semblent prédisposés aux AHMI secondaires.

Dans la littérature, la plupart des cas d'AHMI primaire ont été rapportés chez de jeunes chats avec une médiane d'âge de 2 à 4 ans lors de l'apparition des premiers symptômes suivant les études (Kohn *et al.*, 2006 ; Tasker *et al.*, 2010 ; Swann *et al.*, 2016). Notre étude vient renforcer ces données : les chats ayant développé une AHMI primaire étaient préférentiellement de jeunes chats (de moins de 2 ans). En revanche, les chats âgés (de plus de 13 ans) ont développé préférentiellement des AHMI secondaires, ce qui est en accord avec l'étude de Swann *et al.* (2016).

La majorité des rapports sur les AHMI félines recensent une proportion plus élevée de mâles que de femelles (Kohn *et al.*, 2006 ; Tasker *et al.*, 2010). Dans l'étude de Swann *et al.* (2016), la seule à avoir jusqu'ici comparé la répartition des sexes chez les chats atteints d'AHMI à celle chez les autres chats présentés en consultation, les mâles n'étaient pas plus enclins à développer une AHMI. Dans notre étude, la répartition des sexes chez les chats souffrant d'AHMI est également comparée à celle des chats présentés en consultation dans le centre hospitalier durant plusieurs années. Bien que les cas d'AHMI primaire chez les mâles aient été plus nombreux que chez les femelles, cette différence n'est pas significative. Le sexe ne semble pas influencer le développement d'une AHMI. En revanche, notre étude rapporte un nombre significativement plus élevé de cas d'AHMI primaire et secondaire chez les animaux stérilisés, en particulier, les mâles stérilisés sont significativement plus nombreux parmi les chats atteints d'AHMI primaire, ce qui jusqu'ici n'a pas été rapporté à notre connaissance. En accord avec les études réalisées jusqu'ici (Kohn *et al.*, 2006 ; Tasker *et al.*, 2010 ; Swann *et al.*, 2016), aucune race de chat ne semble prédisposée aux AHMI primaire. En revanche, notre étude met en évidence une sur-représentation des Siamois et des Angora parmi les chats atteints d'AHMI secondaire, sans association avec une maladie sous-jacente en particulier.

## **B. Présentation clinique**

Dans notre étude, les signes cliniques les plus fréquents sont des muqueuses pâles, une tachypnée, une tachycardie, un souffle cardiaque, un bruit de galop, un ictère, un abattement, une anorexie, une perte de poids et une déshydratation. Moins fréquemment, on note une hypothermie ou une hyperthermie, une polydipsie, du pica, un prurit, une adénomégalie, de la diarrhée, une faiblesse des membres pelviens, un épanchement, des œdèmes déclives, des hématomes et des pétéchies. Parmi ces signes cliniques, seule la présence de troubles de la coagulation et d'une diarrhée sont significativement plus fréquents parmi les chats atteints, respectivement, d'AHMI primaire et d'AHMI secondaire à une PIF.

Dans la littérature, les symptômes rapportés chez les chats atteints d'AHMI et leur proportion sont sensiblement les mêmes que dans de notre étude (Stokol et Blue, 1999b ; Kohn *et al.*, 2006 ; Black *et al.*, 2016). Notre étude rapporte tout de même des symptômes peu recensés (dermatose, diarrhée, faiblesse des membres pelviens, épanchement, œdèmes déclives, hématomes et pétéchies). En outre, notre étude rapporte des troubles de la coagulation chez 3 chats (sur 22) souffrant d'AHMI primaire. Dans un contexte d'AHMI, ces troubles de la coagulation pourraient être compatibles avec une CIVD. Jusqu'alors, seulement quelques cas de CIVD (dont un cas avéré et deux suspicions) sont rapportés par la littérature chez les chats atteints d'AHMI ((Kohn *et al.*, 2006). Ainsi, notre étude, *via* ces 3 suspicions, renforce l'idée qu'une CIVD peut être consécutive à une AHMI chez le chat.

## **C. Caractérisation de l'AHMI**

Dans notre étude, une agglutination persistante a été le seul critère diagnostique de 75% des cas d'AHMI, alors qu'un test de Coombs direct n'a été nécessaire que pour 3% des cas. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude de Swann *et al.* (2016) dans laquelle un test de Coombs direct a été l'unique critère diagnostique d'AHMI seulement chez 1 chat sur 107. Ceci s'expliquait notamment par un emploi peu fréquent de ce test (réalisé chez seulement 10% des chats de l'étude) considéré comme inutile en cas d'auto-agglutination persistante ou de cellules fantômes sur le frottis sanguin (Swann *et al.*, 2016). Néanmoins, dans notre étude, cette explication n'est pas valable car un test de Coombs direct a été réalisé chez 72% des chats.



En outre, la question d'un défaut de sensibilité du test de Coombs direct est de nouveau soulevée. En effet, ce test a été positif seulement chez 31% des chats atteints d'AHMI, avec un titre supérieur ou égal à 1/16<sup>e</sup> chez seulement 13% des chats. Il est tout de même nécessaire de signaler que 10% des tests étaient ininterprétables du fait d'une auto-agglutination majeure et que 3 chats dont le test était négatif recevaient déjà un traitement immunosuppresseur lorsque les prélèvements ont été réalisés. Ainsi, comme le signalaient les études antérieures (Dunn *et al.*, 1984 ; Wardrop, 2012) un test de Coombs négatif doit être interprété avec prudence et être confronté à l'ensemble de l'examen clinique et biologique de l'animal.

#### **D. Prévalence des différentes causes d'AHMI**

Dans notre étude, les AHMI secondaires sont majoritaires (61% d'origine secondaire contre 33% d'origine primaire). Les maladies inflammatoires y sont la première cause d'AHMI secondaire (un quart des cas d'AHMI toute cause confondue). En particulier, 34% des AHMI secondaires sont conséquentes à une pancréatite et/ou une cholangite. Parmi les autres causes d'AHMI secondaire, on trouve notamment des néoplasies, des infections par les hémoplasmes félines, par les rétrovirus félines, des cas de PIF, une toxoplasmose, un cas de lupus et une réaction vaccinale. Les néoplasies et les infections par les hémoplasmes sont les deux autres causes les plus fréquentes d'AHMI avec respectivement 25% et 8% des cas d'AHMI secondaire.

Dans la littérature, la prévalence des différents types d'AHMI varie grandement en fonction des études : les premières étaient en faveur d'une prédominance des AHMI secondaires (81%) et soulignaient l'association entre AHMI et infection par le FeLV (Werner et Gorman, 1984), tandis que les plus récentes recensaient une proportion bien plus élevée d'AHMI primaires (67 à 82%) (Kohn *et al.*, 2006 ; Tasker *et al.*, 2010 ; Swann *et al.*, 2016). Notre étude ne corrobore aucune de ces données, avec, certes une prévalence des AHMI secondaires, mais avec une prédominance des AHMI secondaires à une maladie inflammatoire, alors qu'elles étaient jusqu'ici peu recensées (7% des cas d'AHMI selon Swann *et al.* (2016)). Notre étude révèle aussi une incidence plus élevée des AHMI secondaires à une hémoplasmosse par rapport aux dernières publications à ce sujet (Kohn *et al.*, 2006 ; Swann *et al.*, 2016). Néanmoins, dans l'étude de Kohn *et al.* (2006), seul *Mycoplasma haemofelis* était recherché *via* une PCR. Or *CMhm* et *CMt* peuvent être à l'origine d'AHMI, en particulier chez des animaux immunodéprimés (Harrus *et al.*, 2002 ; Reynolds et Lappin, 2007). *CMhm* a notamment été détecté chez 2 chats de notre étude atteints d'AHMI. En revanche, concernant les autres affections pouvant être à l'origine d'une AHMI, leur proportion est sensiblement la même que dans l'étude de Swann *et al.* (2016).

#### **E. Anomalies biologiques**

##### **a. Lignée érythrocytaire**

Dans notre étude, une anémie sévère (inférieure à 15%) est recensée chez 53% des chats, avec un hématokrite médian de 14%. En revanche, la sévérité de l'anémie ou son caractère régénératif ne sont pas des critères permettant d'orienter le diagnostic entre AHMI primaire ou secondaire (pour lesquelles respectivement 53% et 55% des chats ont un hématokrite inférieur à 15%). De même, le caractère régénératif ou non de l'anémie (à l'admission et 5 jours plus tard) n'était pas associé à un type d'AHMI particulier.

La littérature rapporte des données similaires avec notamment un hématokrite médian de 11,5 à 12% en cas d'AHMI primaire et une absence de corrélation entre sévérité de l'anémie et

régénération à l'admission avec la mortalité (Kohn *et al.*, 2006 ; Swann *et al.*, 2016). La sévérité de l'anémie à l'admission peut s'expliquer par une présentation tardive en consultation vétérinaire en raison de symptômes frustrés, ainsi que par une bonne résistance des chats à de faibles valeurs d'hématocrite.

### **b. Atteinte des autres lignées**

Notre étude rapporte une atteinte concomitante des autres lignées sanguines chez respectivement 64% et 66% des chats atteints d'AHMI primaire et secondaire. En particulier, 23% des chats souffrant d'AHMI primaire et 32% des chats souffrant d'AHMI secondaire présentent une thrombopénie. Une lymphocytose est notée chez respectivement 10 % et 11% des chats atteints d'AHMI primaire et secondaire ; une lymphocytose est rapportée chez 1 chat (sur 2) infecté par le FeIV, 1 chat (sur 2) souffrant d'une PIF, 2 chats (sur 17) atteints d'une maladie inflammatoire, telle qu'une pancréatite, une cholangite, une pyélonéphrite ou une cystite sévère, et 1 chat (sur 11) souffrant d'une néoplasie. Une hyperplasie lymphoïde est par ailleurs observée sur les myélogrammes des chats de notre étude (4 sur 9 chats atteints d'AHMI primaire et 6 sur 12 chats atteints d'AHMI secondaire). Une neutropénie est notée chez 32% des chats de l'étude atteints d'AHMI primaire contre seulement 14% des chats atteints d'AHMI secondaire (sans différence significative). En revanche, une neutrophilie est plus fréquente chez les chats atteints d'AHMI secondaire (28%) que chez les chats atteints d'AHMI primaire (5%).

Ces données sont en accord avec celles rapportées par l'étude de Swann *et al.* (2016) dans laquelle 76% des chats atteints d'AHMI primaire présentaient au moins une autre cytopénie. En revanche, cette même étude rapporte 3 fois plus de chats atteints de thrombopénie que notre étude. Dans un contexte d'AHMI, une thrombopénie peut s'expliquer à la fois par une destruction immune des plaquettes, mais aussi par une CIVD (Kohn *et al.*, 2006). La mise en place d'un traitement antithrombotique permet de prévenir une CIVD (Goggs *et al.*, 2019). Or, l'étude de Swann *et al.* (2016) ne rapporte pas l'utilisation d'antithrombotique, tandis qu'une thromboprophylaxie a été mise en place chez 33% des chats de notre étude. Ainsi nous pourrions faire l'hypothèse, que l'utilisation d'un traitement antithrombotique a permis de diminuer significativement les cas de thrombopénie dans notre étude. Cependant, la numération plaquettaire des chats de notre étude ayant reçu un traitement antithrombotique n'est pas plus élevée que celle des autres chats de l'étude ( $p = 0,25$ ).

Les études antérieures rapportent elles aussi une lymphocytose (chez 15 à 32 % des cas d'AHMI primaire) (Kohn *et al.*, 2006 ; Swann *et al.*, 2016). Cette lymphocytose peut s'expliquer à la fois par une stimulation antigénique chronique infectieuse (infection par les rétrovirus félin, toxoplasmose, ehrlichiose) ou non (cholangite) mais aussi par une néoplasie telle qu'une leucémie d'origine lymphoïde ou un lymphome (Declue et Spann, 2017). Aucune corrélation entre le taux de lymphocytes et l'origine primaire ou secondaire de l'AHMI n'a été mise en évidence dans notre étude. Ceci est en contradiction avec les résultats de l'étude de Swann *et al.* (2016) qui rapportent un taux de lymphocytes significativement plus élevé parmi les chats atteints d'AHMI primaire. En revanche, les chats de notre étude souffrant d'une AHMI secondaire à une néoplasie (lymphome, myélome multiple, leucémie érythroïde et lymphoïde, mastocytome digestif) présentaient une concentration en lymphocytes significativement plus faible que les autres chats atteints d'AHMI, avec une lymphopénie chez 73% d'entre eux. Cette information n'a jusqu'ici pas été rapportées par la littérature.

La littérature rapportait déjà fréquemment une neutropénie dans un contexte d'AHMI primaire (Kohn *et al.*, 2006 ; Swann *et al.*, 2016). Néanmoins, cette cytopénie semble moins présente chez les chats de notre étude atteints d'AHMI secondaire (seulement 14% des chats), sans différence significative. Une neutrophilie est peu rapportée par les études précédentes. Or, dans notre étude, les chats atteints d'AHMI secondaire sont significativement plus concernés par une neutrophilie, en particulier, les chats souffrant d'une maladie inflammatoire (cholangite, pancréatite, cystite sévère) présentent un taux de neutrophiles significativement plus élevés que tous les autres chats souffrant d'AHMI.

### **c. Biochimie**

Dans notre étude, une hyperglobulinémie est rapportée chez les chats souffrant d'AHMI primaire et secondaire dans des proportions similaires (respectivement 56 et 58%). En particulier, on recense une hyperglobulinémie chez 100% des cas de d'AHMI secondaire à une PIF, 66% des cas d'AHMI secondaires à une infection par *Mycoplasma spp*, 63 % des cas d'AHMI secondaires à une néoplasie et 50 % des cas d'AHMI secondaires au FeLV. Enfin, une augmentation des paramètres de cytolyse hépatique est rapportée chez 57% des chats atteints d'AHMI primaire.

Dans l'étude de Kohn *et al.* (2006), la majorité des chat atteints d'AHMI primaire présentaient une hyperglobulinémie, témoin d'une stimulation chronique du système immunitaire. Notre étude corrobore cette information et note l'existence d'une hyperglobulinémie avec une fréquence similaire en cas d'AHMI secondaire. Dans ce cas, une PIF, une néoplasie, une infection par le FeLV ou par des hémoplasmes félines peuvent également être à l'origine de l'hyperglobulinémie (Kohn *et al.*, 2006). On retrouve effectivement, dans notre étude, une hyperglobulinémie chez 100% des cas de d'AHMI secondaires à une PIF, 66% des cas d'AHMI secondaires à une infection par *Mycoplasma spp*, 63 % des cas d'AHMI secondaires à une néoplasie et 50 % des cas d'AHMI secondaires au FeLV. L'étude de Swann *et al.* (20016) souligne en parallèle une albuminémie plus élevée parmi les chats atteints d'AHMI primaire. Cette information n'est pas relevée par notre étude. Une augmentation des paramètres de cytolyse hépatique est rapportée chez 50% des chats atteints d'AHMI primaire dans l'étude de Kohn et al (2006), ce qui correspond aux valeurs relevées dans notre étude (57%). Des dommages hypoxiques conséquents à l'anémie sont probablement en cause (Kohn *et al.*, 2006).

### **F. AHMI centrale**

Notre étude recense seulement 9 cas d'AHMI centrale (dont 7 AHMI primaires et 2 AHMI secondaires) en 8 ans et 7 mois. En particulier, les myélogrammes réalisés ont permis de diagnostiquer 2 cas d'AHMI secondaire centrale, dont une PRCA causée par une néoplasie (leucémie myéloïde aiguë) et un cas d'érythropoïèse inefficace hyperplasique dont l'origine serait une infection par le FeLV, ainsi que 7 cas d'AHMI primaire centrale, dont une PRCA et 6 cas d'érythropoïèse inefficace (2 hyperplasiques, 4 hypoplasiques). Les anomalies du myélogramme sont rapportées dans des proportions similaires entre AHMI primaire et secondaire, avec notamment une lymphocytose médullaire chez 50% des cas d'AHMI primaire et 44% des cas d'AHMI secondaire.

La littérature soulignait la rareté des AHMI centrales (Black *et al.*, 2016), ce que confirme notre étude. Dans notre étude, PRCA et érythropoïèse inefficace ne semblent pas associées préférentiellement aux AHMI centrales primaires ou secondaires, comme le signalait l'étude de Swann *et al.* (2016). Concernant les anomalies recensées par les myélogrammes, il n'existe pas de

différence significative entre AHMI centrale primaire et secondaire, ce qui semble concorder avec les données de l'étude de Swann *et al.* (2016). Notre étude confirme aussi la présence fréquente d'une lymphocyte médullaire à la fois chez les chats atteints d'AHMI centrale primaire et chez les chats atteints d'AHMI centrale secondaire, comme le suggéraient les études précédentes (Weiss, 2008 ; Visco *et al.*, 2014 ; Swann *et al.*, 2016 ; Black *et al.*, 2016). En revanche notre étude n'a pas mis en évidence une différence significative concernant les myélogrammes des chats atteints d'érythroïèse inefficace hyperplasique par rapport aux myélogrammes des autres chats atteints d'AHMI centrale, alors que les études précédentes notaient une prévalence plus élevée des anomalies de la moelle osseuse (dysmyélopoïèse, myélonécrose, myélofibrose) et des cytopénies chez les chats atteints d'érythroïèse inefficace hyperplasique (Weiss, 2008 ; Black *et al.*, 2016). Concernant les AHMI centrales secondaires, notre étude note la présence d'un cas de PRCA secondaire à une leucémie myéloïde aiguë. Il s'agit à ce jour, à notre connaissance, du seul cas de PRCA associée à une néoplasie chez le chat (Stokol, 2010a). Le second cas d'AHMI centrale secondaire de notre étude est une érythroïèse inefficace hyperplasique dans un contexte d'infection par le FeIV. Or, jusqu'ici la littérature était plutôt en faveur de processus non immuns en cas d'anémie centrale lors d'infection par le FeIV (Weiss, 2006 ; Stokol, 2010a ; Hartmann, 2011) et l'implication du FeIV dans le développement d'une érythroïèse inefficace hyperplasique n'avait jamais été rapporté.

## G. Traitement

Parmi les 72 chats de notre étude, seulement 10 % des chats ont reçu une bithérapie immunosuppressive, tandis que 51% des chats de l'étude de Swann *et al.* (2016) ont reçu une association d'au moins deux immunosuppresseurs. En revanche, alors que dans l'étude de Swann *et al.* (2016) seulement 3% des chats ont reçu de la dexaméthasone en première intention, 47% des chats de notre études en ont reçu. Enfin, les doses moyennes administrées de ces immunosuppresseurs varient entre les 2 études. En effet, la dose moyenne de prednisolone de notre étude est de 2 mg/kg/j contre 3,73 mg/kg/j dans l'étude de Swann *et al.* (2016) et la dose moyenne de cyclosporine est de 7 mg/kg/j dans notre étude, pour 9,57 mg/kg/j dans l'étude de Swann *et al.* (2016). Ces disparités entre les deux études soulignent à la fois un manque d'homogénéisation quant à la prise en charge médicale des AHMI entre les différents cliniciens, mais aussi la grande variabilité de réponse aux immunosuppresseurs chez les chats atteints d'AHMI.

Concernant le traitement antibiotique, 75% des chats de notre étude ont reçu de la doxycycline, tandis que seulement 42% des chats de l'étude de Swann *et al.* (2016) ont reçu cet antibiotique. En outre, un prélèvement, pour une recherche par PCR d'hémoplasmes félines, était systématique avant la mise sous doxycycline dans cette même étude, tandis que 13% des chats de notre étude ayant reçu de la doxycycline n'ont pas été prélevés avant l'initiation de l'antibiothérapie en vue d'un examen PCR.

Dans notre étude, l'hématocrite moyen avant transfusion était de 10%, cette valeur étant similaire à celle de l'étude de Kohn *et al.* (2006) (11%). Néanmoins, la valeur de l'hématocrite pré-transfusion varie grandement entre les chats ayant été transfusés : 4,9 à 23,3%. Ainsi, il semblerait que l'hématocrite à l'admission n'ait pas été le seul critère sur lequel reposait la décision de réaliser ou non une transfusion, tout comme dans l'étude de Kohn *et al.* (2006), où l'état général de l'animal était aussi à prendre en compte.

## H. Analyse de survie

Nous relevons un taux de mortalité en cas d'AHMI primaire de 27% contre 34% en cas d'AHMI secondaire (différence non significative) et en particulier, 100 % pour une AHMI secondaire à une PIF, 65% pour une AHMI secondaire à une néoplasie, 17% pour une AHMI secondaire à une hémoplasme féline (différences non significatives, pourcentages établis sur des sous-échantillons de très faible effectifs). Concernant les AHMI centrales, l'érythroïdèse inefficace hyperplasique semble être de meilleur pronostic que l'érythroïdèse inefficace hypoplasique et que la PRCA, dont les taux de mortalité respectifs sont de 0%, 75% et 100%. Malgré des sous-échantillons de faibles effectifs, il semblerait que ces différences de survie soient significatives. Le temps de survie moyen toute cause d'AHMI comprise est d'au moins 446 jours et en particulier d'au moins 794 jours en cas d'AHMI primaire et de 307 jours en cas d'AHMI secondaire. Néanmoins, en raison du fort taux de censure (38 chats perdus de vue dont 22 dans les six mois suivant le diagnostic de l'AHMI et 11 chats toujours en vie à l'issue de l'étude soit le 02/09/20), la valeur des durées de survie moyennes suivant le type d'AHMI est à considérer avec précaution et une comparaison entre AHMI primaire et secondaire ne semble pas judicieuse. Par ailleurs, même si une grande proportion des chats atteints d'AHMI ont répondu au traitement immunosuppresseur, 69% d'entre eux retrouvant un hématokrite dans les normes usuelles dès un mois après l'initiation du traitement, au moins un cinquième d'entre eux ont présenté un ou plusieurs épisodes de rechute.

L'étude de Kohn *et al.* (2006) rapporte un taux de mortalité (23,5%) similaire à celui noté chez les chats de notre étude. Par ailleurs, notre étude, tout comme les études précédentes, est en faveur d'un meilleur pronostic en cas d'AHMI chez le chat que chez le chien (taux de mortalité estimé à 50-70% suivant les études (Piek, 2011)), et cela même en cas d'AHMI secondaire. Notre étude rapporte une meilleure réponse au traitement que dans l'étude de Swann *et al.* (2016) (respectivement 69 et 35% de chats dont l'hématocrite est supérieur à 25% un mois après l'initiation du traitement). De plus, les durées de survie recensées dans notre étude sont supérieures à celles relevées dans l'étude de Swann *et al.* (2016) (239 jours pour les chats atteints d'AHMI toute cause confondue, 516 jours en cas d'AHMI primaire et 14 jours en cas d'AHMI secondaire). Ainsi, il serait intéressant de déterminer s'il existe une différence significative de survie entre ces deux études et le cas échant, de déterminer si les différents protocoles de prise en charge reportés dans ces deux études sont à l'origine de cette différence de durée de survie ou si d'autres facteurs ont influencé la réponse au traitement et la durée de survie.

Par ailleurs, l'étude de Swann *et al.* (2016) mettait en évidence une durée de survie significativement plus courte en cas d'AHMI secondaire. Or notre étude n'a pu corroborer cette association. La durée de survie semblerait même ne pas être significativement différente quelle que soit la cause de l'AHMI. Néanmoins, malgré des différences non significatives, et même si les données proviennent de sous-échantillons de faible effectif, il semble nécessaire de souligner certains taux de mortalité relevés dans notre étude suivant le type d'AHMI : 100 % pour une AHMI secondaire à une PIF, 65% pour une AHMI secondaire à une néoplasie et 17% pour une AHMI secondaire à une hémoplasme féline. Dans l'étude de Messik et Harvey (2012), 1/3 des chats souffrant d'une AHMI secondaire à une mycoplasme féline décédaient, néanmoins, dans cette étude, seule la souche *M. haemofelis* (souche la plus virulente) avait été identifiée, alors que dans notre étude, *Candidatus M. haemominutum* et *Candidatus M. turicensis* ont aussi été identifiés. En outre, notre étude confirme le mauvais pronostic annoncé par l'étude de Korman *et al.* (2013) en cas d'anémie associée à une néoplasie.

Enfin, dans l'étude de Weiss *et al.* (2008), l'érythropoïèse inefficace hyperplasique semblait être le type d'AHMI centrale de plus mauvais pronostic. Or notre étude ne corrobore pas cette association. A l'inverse, les chats de notre étude atteints d'érythropoïèse inefficace hyperplasique étaient les chats avec le pourcentage de survie le plus élevé et ceux atteints d'une PRCA avec le pourcentage de survie le plus faible.

## **I. Facteurs pronostics**

Dans notre étude, parmi l'ensemble des variables ayant été évaluées comme possible facteur de mortalité, seule l'absence de normalisation de l'hématocrite un mois après l'initiation du traitement a été associée à une diminution de la survie.

Comme rapporté par les études précédentes (Werner et Gorman, 1984 ; Kohn *et al.*, 2006 ; Swann *et al.*, 2016), une large proportion de chats atteints d'AHMI présentaient une anémie arégénérative à l'admission. Néanmoins, l'absence de régénération à l'admission ne doit pas être retenue comme un facteur pronostique de mortalité. En effet, nombreux d'entre eux présentaient une anémie régénérative lors du contrôle réalisé 5 jours après l'admission et l'absence de régénération à l'admission n'a pas influencé la survie dans notre étude, tout comme le soulignait l'étude de Swann *et al.* (2016). En outre, la persistance du caractère arégénératif 5 jours après l'admission n'a pas influencé la durée de survie.

En revanche, comme le soutenait l'étude de Swann *et al.* (2016), alors que la valeur d'hématocrite à l'admission n'influence pas la durée de survie, l'incapacité à atteindre un hématocrite supérieur à 25% un mois après l'initiation du traitement est de mauvais pronostic. Néanmoins, ce résultat est à considérer avec précaution, car la valeur de l'hématocrite 1 mois après l'initiation du traitement n'était pas disponible pour une part non négligeable de chats. De plus, l'absence de protocole systématique de suivi mesurant l'hématocrite un mois après l'initiation du traitement pourrait avoir faussé les résultats.

L'étude de Swann *et al.* (2016) avait elle aussi évalué l'existence de facteurs pronostiques et avait identifié une concentration élevée en bilirubine sérique ainsi qu'un âge avancé comme des facteurs pronostics négatifs et une concentration élevée en lymphocyte ainsi qu'une concentration élevée en globulines sériques comme des facteurs pronostics positifs chez les chats atteints d'AHMI primaire. Dans notre étude, aucune de ces variables n'a semblé avoir d'influence significative sur le pronostic vital.

## **J. Influence du traitement sur la survie**

L'étude de l'influence du traitement sur la survie s'est portée uniquement sur le traitement immunosuppresseur, la thromboprophylaxie et la réalisation d'une transfusion. Les chats ayant reçu de la méthylprednisolone ont survécu significativement moins longtemps que les chats ayant reçu un autre glucocorticoïde. Néanmoins sur 5 chats ayant reçu de la méthylprednisolone, 3 ont été diagnostiqués comme atteints d'AHMI en 2012 et 2013, ainsi sachant que la prise en charge des AHMI a pu changer depuis cette époque, il est possible qu'un autre facteur que l'utilisation de la méthylprednisolone ait influencé la durée de survie. De plus, parmi les chats ayant reçu de la méthylprednisolone, un chat souffrait d'une AHMI secondaire à une néoplasie et un autre d'une AHMI secondaire à une PIF. Or nous avons noté précédemment que ces deux affections étaient associées à des taux de survie faibles. En revanche, l'utilisation de dexaméthasone en première

intention ne semble pas permettre un taux de survie significativement plus élevé qu'en cas d'utilisation de prednisolone.

Notre étude n'a pas permis de mettre en évidence une différence significative de survie entre les chats ayant reçu ou non un traitement antithrombotique, ni suivant le type d'antithrombotique reçu. Ce résultat semble concorder avec l'étude de Goggs *et al.* (2009), selon laquelle les chats souffrant d'une AHMI ne sont pas considérés comme des patients à risque d'accident thrombotique.

De même, aucune différence significative de survie entre les chats ayant reçu ou non une transfusion n'a été mise en évidence par notre étude. Néanmoins, au moins 3 chats sur 23 ayant reçu une transfusion ont présenté des signes parfois marqués de surcharge volémique suite à la transfusion, dont un œdème aigu du poumon chez l'un des chats. Ainsi, il semble vraiment nécessaire de confronter la valeur de l'hématocrite à la clinique de l'animal afin de savoir si réaliser une transfusion serait judicieux ou non.

### **K. Limites et perspective de l'étude**

Cette étude comporte plusieurs limites, la principale étant liée à son caractère rétrospectif qui est à l'origine d'un manque d'uniformisation des données recensées pour chaque patient. En effet, de nombreux comptes rendus étaient incomplets. Ainsi certaines données à propos de l'anamnèse, des examens cliniques, des examens complémentaires et des suivis *a posteriori* n'ont pu être recensées car elles n'étaient pas renseignées dans Clovis. Ceci a limité le diagnostic complet de l'AHMI (confirmation de l'affection et/ou identification d'une cause sous-jacente). Les chats dont le diagnostic était incertain ont été retirés de l'étude, ce qui peut être à l'origine d'un biais de sélection. De plus, les cas de l'étude proviennent d'un centre de référés, ce qui vient renforcer le risque de biais de sélection.

L'examen clinique et certains examens complémentaires (tels que les examens d'imagerie et la lecture des frottis sanguins) sont opérateurs dépendants et les examens complémentaires réalisés (imagerie, recherche de maladies infectieuses) ont variés d'un chat à l'autre. Ainsi, il est difficile de s'assurer que tous les cas étaient équivalents et classés dans les bons groupes. De ce fait, des biais de classifications ne peuvent être exclus.

Du fait d'un faible nombre de cas recensés pour certaines affections à l'origine d'une AHMI (telles qu'une infection par les rétrovirus félines, une toxoplasmose, un loupus), des analyses statistiques n'ont pu inclure ces types d'AHMI secondaires. Nous n'avons donc pu fournir des facteurs de prédisposition concernant ces affections.

Concernant la comparaison des différents traitements (notamment les différents immunosuppresseurs, la thromboprophylaxie et la transfusion), les cas provenant d'un centre de référés, une part non négligeable d'entre eux a reçu un traitement préalable chez leur vétérinaire traitant, ce qui peut avoir affecté les résultats de l'étude et donc les conclusions qui en sont issues. Des groupes parfaitement comparables, dont les chats n'auraient pas reçu un traitement préalable, randomisés auraient été préférables. Néanmoins, l'attribution d'un traitement (et notamment d'une absence de traitement en ce qui concerne la thromboprophylaxie et la transfusion) au hasard est éthiquement discutable.

Concernant l'identification de facteurs pronostics, l'utilisation d'un modèle de régression multivarié prenant en compte plusieurs variables d'intérêt à la fois aurait permis de tenir compte de potentiels facteurs de confusion et donc aurait été préférable à l'analyse univariée de notre étude. Par ailleurs,

le délai entre la présentation des premiers symptômes et la mise en place du traitement n'a pu être mesuré chez un grand nombre de cas. La variable « délai avant la mise en place du traitement » n'a donc pu être évaluée comme possible facteur pronostic.

De plus, il est nécessaire de souligner que de nombreux animaux étaient encore vivants ou avaient été perdus de vue lorsque les temps de survie ont été estimés. Ainsi, les tests statistiques reposent sur des données censurées.

Enfin, s'agissant d'une situation de test statistiques multiples dans un contexte d'étude exploratoire s'appuyant sur des données brutes sans prise en compte de possibles biais de confusion et au vu des possibles biais de sélection et de classification cités ci-dessus, il est nécessaire d'interpréter avec prudence les associations statistiques établies dans cette étude.

Cette étude souligne la difficulté de l'établissement du diagnostic d'AHMI et de l'identification d'une cause sous-jacente. La réalisation systématique de l'ensemble des examens complémentaires permettant la confirmation de l'AHMI et l'identification d'une cause sous-jacente dès la suspicion de cette affection permettrait la mise en place d'un traitement plus précoce. Néanmoins, ceci n'est pas toujours réalisable : il s'agit parfois d'animaux critiques dont l'état ne permet pas la réalisation de certains examens et la question financière se pose, notamment dans un pays où de nombreux animaux ne sont pas assurés. Néanmoins, un meilleur dépistage des AHMI permettrait d'acquérir plus de données, notamment sur l'efficacité des différents traitements médicaux et sur les facteurs pronostics et ainsi d'améliorer la prise en charge des patients. De plus, la comparaison des données fournies par la littérature et par notre étude, souligne le manque de standardisation du traitement initial (l'évolution du traitement étant patient dépendant) et des suivis.





# Conclusion

---

Les AHMI sont des anémies par destruction accrue des érythrocytes en raison d'un dysfonctionnement du système immunitaire (McCullough, 2003). Il s'agit d'une défaillance multifactorielle du système immunitaire avec une rupture de la tolérance du soi parfois à plusieurs niveaux avant que la pathologie ne s'exprime. La prolifération de lymphocytes Th1 autoréactifs suite au démasquage d'antigènes cryptiques ou au traitement et à la présentation plus efficace d'antigènes par les cellules présentatrices d'antigènes, combinée à un dysfonctionnement des lymphocytes T régulateurs, capables chez les patients sains d'inhiber les lymphocytes Th1, serait à l'origine des AHMI primaires (Barker *et al.*, 2007).

Les AHMI secondaires sont d'origine variées, pouvant être initiées par une maladie sous-jacente (cholangite, pancréatite, pyélonéphrite, cystite, hémoplasiose, infection par les rétrovirus félines, PIF, toxoplasmose, néoplasie, lupus) ou par l'administration de substances immunogènes (hypothyroïdiens, EPO, vaccination) (Stokol, 2010a). Dans notre étude, les AHMI secondaires sont majoritaires avec une prédominance des maladies inflammatoires et en particulier des pancréatites et cholangites. Les néoplasies et les infections par les hémoplasmes félines sont les autres causes les plus fréquentes d'AHMI.

Les chats atteints d'AHMI primaire sont significativement plus jeunes que les chats atteints d'AHMI secondaire. La plupart des cas d'AHMI primaire sont rapportés chez de jeunes chats (de moins de 2 ans) tandis que les AHMI secondaires semblent être des maladies du chat adulte (entre 2 et 6 ans). Il est à noter qu'une AHMI chez un chat âgé (supérieur à 13 ans) est en faveur d'une AHMI secondaire. Le sexe ne semble pas prédisposer au développement d'une AHMI. En revanche, notre étude rapporte une prévalence significativement plus élevée de la maladie parmi les animaux stérilisés. Aucune race ne semble prédisposer à une AHMI primaire, en revanche, les Siamois et les Angoras semblent prédisposés aux AHMI secondaires.

Le diagnostic d'une AHMI n'est pas aisé. Les tests d'agglutination persistante et de Coombs direct ne sont pas spécifiques à 100% et le test de Coombs est peu sensible. De plus, ni la présentation clinique, ni les premières explorations biologiques ne permettent d'orienter le diagnostic entre AHMI primaire et secondaire.

Le traitement repose sur un soutien de la fonction d'oxygénation, une immunomodulation, une suppression de la cause sous-jacente à l'AHMI, une thromboprophylaxie ainsi que sur la réalisation, si nécessaire, d'une transfusion. Concernant le traitement immunosuppresseur, seule l'utilisation de méthylprednisolone semble associée à une survie réduite. Par ailleurs ni la thromboprophylaxie, ni la réalisation de transfusion semblent augmenter la durée de survie.

Une grande proportion de chats répond au traitement immunosuppresseur. Il s'agit, d'ailleurs, du type d'anémie de meilleur pronostic (Korman *et al.*, 2013), avec un taux de mortalité d'environ un tiers des animaux (variant suivant la cause de l'AHMI). Le temps de survie moyen est d'au moins un an, mais varie suivant le type d'AHMI. En revanche, le taux de rechute est important, ce qui motive un suivi au long cours. Seule l'incapacité à atteindre un hématokrite dans les valeurs usuelles un mois après l'initiation du traitement serait de mauvais pronostic.

Au vu des limites de cette étude rétrospective, il serait intéressant de réaliser une étude prospective sur l'efficacité des différents traitements incluant des chats n'ayant reçu aucun traitement préalable, avec des groupes parfaitement comparables et randomisés, même si un tel protocole peut être éthiquement discutable. Enfin, l'identification de facteurs pronostics *via* l'utilisation d'un modèle de régression multivarié est à envisager.

# Liste des références bibliographiques

---

- ABELLA-BOURGÈS N., TRUMEL C., CHABANNE L., DIQUÉLOU A. (2005) Myélogramme et biopsie de moelle osseuse. *EMC - Vétérinaire* 2(2), 74-95
- ABKOWITZ J. L., HOLLY R.D., GRANT C.K. (1987) Retrovirus-induced feline pure red cell aplasia. Hematopoietic progenitors are infected with feline leukemia virus and erythroid burst-forming cells are uniquely sensitive to heterologous complement. *J. Clin. Invest.* 80(4), 1056-1063
- ABKOWITZ Janis L., OTT R.L., HOLLY R.D., ADAMSON J.W. (1987) Lymphocytes and Antibody in Retrovirus-Induced Feline Pure Red Cell Aplasia. *J. Natl. Cancer Inst.* 78(1), 135-139
- ABKOWITZ J.L. (1991) Retrovirus-induced feline pure red blood cell aplasia: pathogenesis and response to suramin. *Blood* 77(7), 1442-1451
- ABRAMS-OGG A.C.G., BLOIS S.L. (2017) Blood transfusion, component therapy, and oxygen-carrying solutions. In *Textbook of veterinary internal medicine*, Eds Ettinger S.J., Feldman E.C., Côté E., 8<sup>e</sup> ed. Saint Louis, Elsevier, pp 1460-1480
- ADAMANTOS S., BOAG A., HUGHES D. (2005) Clinical use of a haemoglobin-based oxygen-carrying solution in dogs and cats. *In Practice* 27(8), 399-405
- ADDIE D.D. (2012) Feline coronavirus infections. In *Infectious diseases of the dog and cat*, Eds Greene C.E., 4<sup>e</sup> ed. Saint Louis, Elsevier, pp 92-108
- AHMAD E., ELGOHARY T., IBRAHIM H. (2011) Naturally occurring regulatory T cells and interleukins 10 and 12 in the pathogenesis of idiopathic warm autoimmune hemolytic anemia. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 21(4), 297-304
- ALHO A.M., SILVA J., FONSECA M.J., *et al.* (2016) First report of *Cytauxzoon* sp. infection in a domestic cat from Portugal. *Parasite. Vector.* 9(1), 220
- ANDERTON S., BURKHART C., METZLER B., WRAITH D. (1999) Mechanisms of central and peripheral T-cell tolerance: lessons from experimental models of multiple sclerosis. *Immunol. Rev.* 169(1), 123-137
- ARCHER T.M. (2017) Immunosuppressive Therapy. In *Textbook of veterinary internal medicine*, Eds Ettinger S.J., Feldman E.C., Côté E., 8<sup>e</sup> ed. Saint Louis, Elsevier, pp 1794-1801
- ARNOLD B., SCHÖNRICH G., HÄMMERLING G.J. (1993) Multiple levels of peripheral tolerance. *Immunol. Today* 14(1), 12-14
- ASANO M., TODA M., SAKAGUCHI N., SAKAGUCHI S. (1996) Autoimmune disease as a consequence of developmental abnormality of a T cell subpopulation. *J. Exp. Med.* 184(2), 387-396
- AUCOIN D.P., PETERSON M.E., HURVITZ A.I., *et al.* (1985) Propylthiouracil-induced immune-mediated disease in the cat. *J. Pharmacol. Exp. Ther* 234(1), 13-18
- AUER L., BELL K. (1981) The AB blood group system of cats. *Anim. Blood. Groups Biochem. Genet.* 12(4), 287-297

- AUER L., BELL K. (1983) Transfusion reactions in cats due to AB blood group incompatibility. *Res. Vet. Sci.* 35(2), 145-152
- AYLLÓN T., DINIZ P.P.V.P., BREITSCHWERDT E.B., *et al.* (2012) Vector-borne diseases in client-owned and stray cats from Madrid, Spain. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 12(2), 143-150
- BACEK L.M., MACINTIRE D.K. (2011) Treatment of primary immune-mediated hemolytic anemia with mycophenolate mofetil in two cats. *J. Vet. Emerg. Crit. Care (San Antonio)* 21(1), 45-49
- BALCH A., MACKIN A. (2007) Canine immune-mediated hemolytic anemia: treatment and prognosis. *Compendium (Yardley, PA)* 29(4), 230-238
- BARFIELD D., ADAMANTOS S. (2011) Feline blood transfusions. *J. Feline. Med. Surg.* 13(1), 11-23
- BARKER R.N., GRUFFYDD-JONES T.J., STOKES C.R., ELSON C.J. (1991) Identification of autoantigens in canine autoimmune haemolytic anaemia. *Clin. Exp. Immunol.* 85(1), 33-40
- BARKER R.N., CASSWELL K.M., REID M.E., SOKOL R.J., ELSON C.J. (1992) Identification of autoantigens in autoimmune haemolytic anaemia by a non-radioisotope immunoprecipitation method. *Brit. J. Haematol.* 82(1), 126-132
- BARKER R.N., OLIVEIRA G.G.S.D., ELSON C.J., LYDYARD P.M. (1993) Pathogenic autoantibodies in the NZB mouse are specific for erythrocyte Band 3 protein. *Eur. J. Immunol.* 23(7), 1723-1726
- BARKER R.N., HALL A.M., STANDEN G.R., JONES J., ELSON C.J. (1997) Identification of T-cell epitopes on the Rhesus polypeptides in autoimmune hemolytic anemia. *Blood* 90(7), 2701-2715
- BARKER R.N., VICKERS M.A., WARD F.J. (2007) Controlling autoimmunity—Lessons from the study of red blood cells as model antigens. *Immunol. Lett.* 108(1), 20-26
- BARKER E.N., HELPS C.R., HEESOM K.J., *et al.* (2010) Detection of humoral response using a recombinant heat shock protein 70, DnaK, of *Mycoplasma haemofelis* in experimentally and naturally hemoplasma-infected cats. *Clin. Vaccine Immunol.* 17(12), 1926-1932
- BARKER R.N., ELSON C.J. (1994) Multiple self epitopes on the Rhesus polypeptides stimulate immunologically ignorant human T cells in vitro. *Eur. J. Immunol.* 24(7), 1578-1582
- BARKER E., TASKER S. (2013) Haemoplasmas: lessons learnt from cats. *N. Z. Vet. J.* 61(4), 184-192
- BARROT A.C., BUTTIN R., LINSART A., *et al.* (2017) Frequency of feline blood types in non-pedigree cats in France. *Revue Méd. Vét.*, 168(10-12), 235-240
- BEALE K.M., ALTMAN D., CLEMMONS R.R., BOLON B. (1992) Systemic toxicosis associated with azathioprine administration in domestic cats. *Am. J. Vet. Res.* 53(7), 1236-1240
- BELLIER S., CORDONNIER N. (2010) Les valeurs usuelles en hématologie vétérinaire. *Rev. Francoph. Lab.* 2010(420), 27-42
- BENITAH N., DE LORIMIER L.-P., GASPAR M., KITCHELL B.E. (2003) Chlorambucil-induced myoclonus in a cat with lymphoma. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 39(3), 283-287

- BENNETT C.L., CHRISTIE J., RAMSDELL F., *et al.* (2001) The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat. Genet.* 27(1), 20-21
- BIRKENHEUER A.J., LE J.A., VALENZISI A.M., *et al.* (2006) Cytotoxic felis infection in cats in the mid-Atlantic states: 34 cases (1998–2004). *J. Am. Vet. Med. A* 228(4), 568-571
- BLACK V., ADAMANTOS S., BARFIELD D., TASKER S. (2016) Feline non-regenerative immune-mediated anaemia: features and outcome in 15 cases. *J. Feline. Med. Surg.* 18(8), 597-602
- BOBADE P.A., NASH A.S., ROGERSON P. (1988) Feline haemobartonellosis: clinical, haematological and pathological studies in natural infections and the relationship to infection with feline leukaemia virus. *Vet. Rec.* 122(2), 32-36
- BOOTHE D.M. (1998) Drugs acting on blood and/or blood forming organs. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 28(2), 329-360
- BOYLE T.E., HOLOWAYCHUK M.K., ADAMS A.K., MARKS S.L. (2011) Treatment of three cats with hyperviscosity syndrome and congestive heart failure using plasmapheresis. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 47(1), 50-55
- BRAGA Í.A., SANTOS L.G.F. dos, RAMOS D.G. de S., *et al.* (2014) Detection of Ehrlichia canis in domestic cats in the central-western region of Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 45(2), 641-645
- BRAND S. (2009) Crohn's disease: Th1, Th17 or both? The change of a paradigm: new immunological and genetic insights implicate Th17 cells in the pathogenesis of Crohn's disease. *Gut* 58(8), 1152-1167
- BREITSCHWERDT E.B., ABRAMS-OGG A.C.G., LAPPIN M.R., *et al.* (2002) Molecular Evidence Supporting Ehrlichia canis-Like Infection in Cats. *J. Vet. Intern. Med.* 16(6), 642-649
- BÜCHELER J., GIGER U. (1993) Alloantibodies against A and B blood types in cats. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 38(3), 283-295
- BUCKNER J.H. (2010) Mechanisms of impaired regulation by CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Nat. Rev. Immunol.* 10(12), 849-859
- BUER J., LANOUE A., FRANZKE A., *et al.* (1998) Interleukin 10 Secretion and Impaired Effector Function of Major Histocompatibility Complex Class II-restricted T Cells Anergized In Vivo. *J. Exp. Med.* 187(2), 177-183
- BURKHART C., LIU G.Y., ANDERTON S.M., METZLER B., WRAITH D.C. (1999) Peptide-induced T cell regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis: a role for IL-10. *Int. Immunol.* 11(10), 1625-1634
- BYRNE K.P., GIGER U. (2002) Use of human immunoglobulin for treatment of severe erythema multiforme in a cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220(2), 197-201, 183-184
- CAIN G.R., CAIN J.L., TURREL J.M., THEILEN G., JAIN N.C. (1988) Immune-mediated Hemolytic Anemia and Thrombocytopenia in a Cat after Bone Marrow Transplantation. *Vet. Pathol.* 25(2), 161-162

- CALLAN M.B. (2010) Red blood cell transfusion in the dog and cat. *In Schalm's veterinary hematology*, Eds Weiss D.J., Wardrop K.J., 6<sup>e</sup> ed. Ames, Blackwell Publishing, pp 739-744
- CALLAN M.B., RENTKO V.T. (2003) Clinical application of a hemoglobin-based oxygen-carrying solution. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract., Hematology* 33(6), 1277-1293
- CARR A.P., PANCIERA D.L., KIDD L. (2002) Prognostic factors for mortality and thromboembolism in canine immune-mediated hemolytic anemia: a retrospective study of 72 dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 16(5), 504-509
- CHALHOUB S., LANGSTON C., EATROFF A. (2011) Anemia of Renal Disease: What it is, what to do and what's new. *J. Feline. Med. Surg.* 13(9), 629-640
- CHILDRESS M.O. (2012) Hematologic abnormalities in the small animal cancer patient. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 42(1), 123-155
- CHRISTIAN J.A. (2010) Erythrokinetics and erythrocyte destruction. *In Schalm's veterinary hematology*, Eds Weiss D.J., Wardrop J.K., 6<sup>e</sup> ed. Ames, Blackwell Publishing, pp 136-143
- COHN L.A., BIRKENHEUER A.J. (2012) Cytauxzoonosis. *In Infectious diseases of the dog and cat*, Eds Greene C.E., 4<sup>e</sup> ed. Saint Louis, Elsevier, pp 716-722
- COWGILL L.D., JAMES K.M., LEVY J.K., *et al.* (1998) Use of recombinant human erythropoietin for management of anemia in dogs and cats with renal failure. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 212(4), 521-528
- COWGILL E.S., NEEL J.A., GRINDEM C.B. (2003) Clinical application of reticulocyte counts in dogs and cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 33(6), 1223-1244, v
- CRIADO-FORNELIO A., BULING A., PINGRET J.L., *et al.* (2009) Hemoprotozoa of domestic animals in France: Prevalence and molecular characterization. *Vet. Parasitol.* 159(1), 73-76
- CUA D.J., GROUX H., HINTON D.R., STOHLMAN S.A., COFFMAN R.L. (1999) Transgenic Interleukin 10 Prevents Induction of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J. Exp. Med.* 189(6), 1005-1010
- DANTAS-TORRES F., OTRANTO D. (2014) Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: opening the black box. *Parasite. Vector.* 7, 22
- DAY M.J. (2010a) Biology of lymphocytes and plasma cells. *In Schalm's veterinary hematology*, Eds Weiss D.J., Wardrop J.K., 6<sup>e</sup> ed. Ames, Blackwell Publishing, pp 358-366
- DAY M.J. (2010b) Immune-mediated anemias in the dog. *In Schalm's veterinary hematology*, Eds Weiss D.J., Wardrop K.J., 6<sup>e</sup> ed. Ames, Blackwell Publishing, pp 216-225
- DAY M.J., MACKIN A.J. (2011) Immune-mediated haematological disease. *In Clinical immunology of the dog and cat*, Eds Day M.J., 2<sup>e</sup> ed. London, Manson Publishing, pp 94-121
- DUNN J.K., SEARCY G.P., HIRSCH V.M. (1984) The diagnostic significance of a positive direct antiglobulin test in anemic cats. *Can. J. Comp. Med.* 48(4), 349-353
- DUVAL D., GIGER U. (1996) Vaccine-Associated Immune-Mediated Hemolytic Anemia in the Dog. *J. Vet. Intern. Med.* 10(5), 290-295

- ELSON C.J., BARKER R.N., THOMPSON S.J., WILLIAMS N.A. (1995) Immunologically ignorant autoreactive T cells, epitope spreading and repertoire limitation. *Immunol. Today* 16(2), 71-76
- ELSON C.J., BARKER R.N. (2000) Helper T cells in antibody-mediated, organ-specific autoimmunity. *Curr. Opin. Immunol.* 12(6), 664-669
- FELDMAN B.F., HANDAGAMA P., LUBBERINK A.A. (1985) Splenectomy as adjunctive therapy for immune-mediated thrombocytopenia and hemolytic anemia in the dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 187(6), 617-619
- FENTY R.K., DELAFORCADE A.M., SHAW S.E., O'TOOLE T.E. (2011) Identification of hypercoagulability in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia by means of thromboelastography. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 238(4), 463-467
- FISCH P., HANDGRETINGER R., SCHAEFER H.-E. (2000) Pure red cell aplasia. *Brit J Haematol* 111(4), 1010-1022
- FISHER R.I., DEVITA V.T., BOSTICK F., *et al.* (1980) Persistent immunologic abnormalities in long-term survivors of advanced Hodgkin's disease. *Ann. Intern. Med.* 92(5), 595-599
- FITZGERALD R.D., MARTIN C.M., DIETZ G.E., *et al.* (1997) Transfusing red blood cells stored in citrate phosphate dextrose adenine-1 for 28 days fails to improve tissue oxygenation in rats. *Crit. Care Med.* 25(5), 726-732
- FRONTERA-ACEVEDO K., BALSONE N.M., DUGAN M.A., *et al.* (2013) Systemic immune responses in *Cytauxzoon felis*-infected domestic cats. *Am. J. Vet. Res.* 74(6), 901-909
- FRONTERA-ACEVEDO K., SAKAMOTO K. (2015) Local pulmonary immune responses in domestic cats naturally infected with *Cytauxzoon felis*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 163(1), 1-7
- FUKUSHIMA K., EGUCHI N., OHNO K., *et al.* (2016) Efficacy of leflunomide for treatment of refractory inflammatory colorectal polyps in 15 Miniature Dachshunds. *J. Vet. Med. Sci.* 78(2), 265-269
- GARDEN O.A. (2010) Immune-mediated diseases and therapies. In *Textbook of veterinary internal medicine*, Eds Ettinger S.J., Feldman E.C., 7<sup>e</sup> ed. Saint Louis, Elsevier, pp 728-743
- GARDEN O.A., KIDD L., MEXAS A.M., *et al.* (2019) ACVIM consensus statement on the diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs and cats. *J. Vet. Intern. Med.* 33(2), 313-334
- GELATT K.N., VAN DER WOERDT A., KETRING K.L., *et al.* (2001) Enrofloxacin-associated retinal degeneration in cats. *Vet. Ophthalmol.* 4(2), 99-106
- GEORGE J.W., RIDEOUT B.A., GRIFFEY S.M., PEDERSEN N.C. (2002) Effect of preexisting FeLV infection or FeLV and feline immunodeficiency virus coinfection on pathogenicity of the small variant of *Haemobartonella felis* in cats. *Am. J. Vet. Res.* 63(8), 1172-1178
- GERBER B., STEGER A., HÄSSIG M., GLAUS T.M. (2002) Anwendung von humanem Immunglobulin bei Hunden mit primärer immunbedingter hämolytischer Anämie. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 144(4), 180-185
- GERBER E. (2007) Application du test de coombs en médecine vétérinaire canine, Thèse Méd. Vét. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon



- GERSHON R.K., KONDO K. (1970) Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. *Immunology* 18(5), 723-737
- ECLINPATH.COM, CORNELL UNIVERSITY, Ghost cells Archives, In *EClinpath*. [http://eclinpath.com/ngg\\_tag/ghost-cells/](http://eclinpath.com/ngg_tag/ghost-cells/) (consulté le 02/05/2020).
- GIBSON G.R., CALLAN M.B., HOFFMAN V., GIGER U. (2002) Use of a hemoglobin-based oxygen-carrying solution in cats: 72 cases (1998–2000). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 221(1), 96-102
- GIGER U., BÜCHELER J. (1991) Transfusion of type-A and type-B blood to cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 198(3), 411-418
- GLEICH S., HARTMANN K. (2009) Hematology and Serum Biochemistry of Feline Immunodeficiency Virus-Infected and Feline Leukemia Virus-Infected Cats. *J. Vet. Intern. Med.* 23(3), 552-558
- GODFREY D.R., ANDERSON R.M. (1994) Cold agglutinin disease in a cat. *J. Small. Anim. Pract.* 35(5), 267-270
- GOGGS R., BENIGNI L., FUENTES V.L., CHAN D.L. (2009) Pulmonary thromboembolism. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 19(1), 30-52
- GOGGS R., BLAIS M.-C., BRAINARD B.M., *et al.* (2019) American College of Veterinary Emergency and Critical Care (ACVECC) Consensus on the Rational Use of Antithrombotics in Veterinary Critical Care (CURATIVE) guidelines: Small animal. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 29(1), 12-36
- GONDEK D.C., LU L.-F., QUEZADA S.A., SAKAGUCHI S., NOELLE R.J. (2005) Cutting Edge: Contact-Mediated Suppression by CD4+CD25+ Regulatory Cells Involves a Granzyme B-Dependent, Perforin-Independent Mechanism. *J. Immunol.* 174(4), 1783-1786
- GORELIK L., FLAVELL R.A. (2000) Abrogation of TGF $\beta$  Signaling in T Cells Leads to Spontaneous T Cell Differentiation and Autoimmune Disease. *Immunity* 12(2), 171-181
- GOTTSCHALK R.A., CORSE E., ALLISON J.P. (2010) TCR ligand density and affinity determine peripheral induction of Foxp3 in vivo. *J. Exp. Med.* 207(8), 1701-1711
- GRANT M.S. (2003) The effect of blood drawing techniques and equipment on the hemolysis of ED laboratory blood samples. *J. Emerg. Nurs.* 29(2), 116-121
- GREGORY C.R., STEWART A., STURGES B., *et al.* (1998) Leflunomide effectively treats naturally occurring immune-mediated and inflammatory diseases of dogs that are unresponsive to conventional therapy. *Transplant. Proc.* 30(8), 4143-4148
- GROSSMAN W.J., VERBSKY J.W., BARCHET W., *et al.* (2004) Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death. *Immunity* 21(4), 589-601
- GROUX H., O'GARRA A., BIGLER M., *et al.* (1997) A CD4 + T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 389(6652), 737-742
- GRUNDY S.A., BARTON C. (2001) Influence of drug treatment on survival of dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 88 cases (1989-1999). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218(4), 543-546

- GUNN-MOORE D.A., DAY M.J., GRAHAM M.E.A., CUE S.M., HARBOUR D.A. (1999) Anémie hémolytique à médiation immunitaire chez deux chats frères associés à une infiltration lymphoblastique multicentrique. *J. Feline Med. Surg.* 1(4), 209-214
- HACKNER S.G., DALLAP SCHAER B. (2010) Thrombotic disorders. *In Schalm's veterinary hematology*, 6<sup>e</sup> ed. Ames, Blackwell Publishing, pp 668-678
- HALDANE S., ROBERTS J., MARKS S.L., RAFFE M.R. (2004) Transfusion Medicine. *Comp. Cont. Educ. Pract.* n°26, 502-518
- HALL A.M., VICKERS M.A., BARKER R.N. (1999) Identification of regulatory epitopes on a human autoantigen. *Immunology* 98, 34
- HALL A.M., WARD F.J., VICKERS M.A., *et al.* (2002) Interleukin-10-mediated regulatory T-cell responses to epitopes on a human red blood cell autoantigen. *Blood* 100(13), 4529-4536
- HANNA F.Y. (2005) Disease modifying treatment for feline rheumatoid arthritis. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 18(2), 94-99
- HARRINGTON L.E., MANGAN P.R., WEAVER C.T. (2006) Expanding the effector CD4 T-cell repertoire: the Th17 lineage. *Curr. Opin. Immunol.* 18(3), 349-356
- HARRUS S., KLEMENT E., AROCH I., *et al.* (2002) Retrospective study of 46 cases of feline haemobartonellosis in Israel and their relationships with FeLV and FIV infections. *Vet. Rec.* 151(3), 82-85
- HARRUS S., WANER T., NEER M.T. (2012) Ehrlichia canis infection. *In Infectious diseases of the dog and cat*, Eds Greene C.E. Saint Louis, Elsevier, pp 227-259
- HARTMANN K. (2011) Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 143(3), 190-201
- HARVEY J.W. (2012a) Evaluation of Erythrocytes. *In Veterinary Hematology*. Saint Louis, W.B. Saunders, pp 49-121
- HARVEY J.W. (2012b) Hematology procedures. *In Veterinary Hematology*. Saint Louis, W.B. Saunders, pp 11-32
- HARVEY J.W. (2012c) Hematopoiesis. *In Veterinary Hematology*. Saint Louis, W.B. Saunders, pp 33-48
- HAUSWIRTH A.W., SKRABS C., SCHÜTZINGER C., *et al.* (2007) Autoimmune hemolytic anemias, Evans' syndromes, and pure red cell aplasia in non-Hodgkin lymphomas. *Leuk. Lymphoma* 48(6), 1139-1149
- HÉBERT P.C., WELLS G., BLAJCHMAN M.A., *et al.* (1999) A Multicenter, Randomized, Controlled Clinical Trial of Transfusion Requirements in Critical Care. *New Engl. J. Med.* 340(6), 409-417
- HENRIQUES A., INÉS L., COUTO M., *et al.* (2010) Frequency and functional activity of Th17, Tc17 and other T-cell subsets in Systemic Lupus Erythematosus. *Cell. Immunol.* 264(1), 97-103
- HILL M., BEESON D., MOSS P., *et al.* (1999) Early-onset myasthenia gravis: A recurring T-cell epitope in the adult-specific acetylcholine receptor  $\epsilon$  subunit presented by the susceptibility allele HLA-DR52a. *Ann. Neurol.* 45(2), 224-231

- HOOPER D.C., TAYLOR R.B. (1987) Specific helper T cell reactivity against autologous erythrocytes implies that self tolerance need not depend on clonal deletion. *Eur. J. Immunol.* 17(6), 797-802
- HORI S., NOMURA T., SAKAGUCHI S. (2003) Control of Regulatory T Cell Development by the Transcription Factor Foxp3. *Science* 299(3), 1057-1061
- JAIN N.C. (1973) Osmotic fragility of erythrocytes of dogs and cats in health and in certain hematologic disorders. *Cornell Vet.* 63(3), 411-423
- JONES D.R.E., GRUFFYDD-JONES T.J., STOKES C.R., BOURNE F.J. (1990) Investigation into factors influencing performance of the canine antiglobulin test. *Res. Vet. Sci.* 48(1), 53-58
- JONSSON N., PULLEN C., WATSON A. (1990) Neonatal isoerythrolysis in Himalayan kittens. *Aust. Vet. J.* 67(11), 416-417
- KEEL S.B., DOTY R.T., YANG Z., *et al.* (2008) A heme export protein is required for red blood cell differentiation and iron homeostasis. *Science* 319(5864), 825-828
- KELLERMAN D.L., BRUYETTE D.S. (1997) Intravenous Human Immunoglobulin for the Treatment of Immune-Mediated Hemolytic Anemia in 13 Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 11(6), 327-332
- KENNEDY C., ANGERMULLER S., KING R., *et al.* (1996) A comparison of hemolysis rates using intravenous catheters versus venipuncture tubes for obtaining blood samples. *J. Emerg. Nurs.* 22(6), 566-569
- KIDD L., GEDDINGS J., HISADA Y., *et al.* (2015) Procoagulant microparticles in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *J. Vet. Intern. Med.* 29(3), 908-916
- KING C., DAVIES J., MUELLER R., *et al.* (1998) TGF- $\beta$ 1 Alters APC Preference, Polarizing Islet Antigen Responses toward a Th2 Phenotype. *Immunity* 8(5), 601-613
- KLASER D.A., REINE N.J., HOHENHAUS A.E. (2005) Red blood cell transfusions in cats: 126 cases (1999). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 226(6), 920-923
- KNOTTENBELT C.M., DAY M.J., CRIPPS P.J., MACKIN A.J. (1999) Measurement of titres of naturally occurring alloantibodies against feline blood group antigens in the UK. *J. Small. An. Pract.* 40(8), 365-370
- KOHN B., GOLDSCHMIDT M.H., HOHENHAUS A.E., GIGER U. (2000) Anemia, splenomegaly, and increased osmotic fragility of erythrocytes in Abyssinian and Somali cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 217(10), 1483-1491
- KOHN B., WEINGART C., ECKMANN V., OTTENJANN M., LEIBOLD W. (2006) Primary Immune-Mediated Hemolytic Anemia in 19 Cats: Diagnosis, Therapy, and Outcome (1998–2004). *J. Vet. Intern. Med.* 20(1), 159-166
- KOPKE M.A., PEMBERTON S., RUAUX C.G. (2019) Presumed immune-mediated haemolytic anaemia associated with pregnancy in a cat. *JFMS Open Rep.* 5(1)
- KOPKE M.A., GALLOWAY P.E.J. (2020) Suspected hepatopathy and pancreatitis associated with mycophenolate mofetil use in a cat with immune-mediated haemolytic anaemia. *JFMS Open Rep.* 6(1)

- KORMAN R.M., HETZEL N., KNOWLES T.G., HARVEY A.M., TASKER S. (2013) A retrospective study of 180 anaemic cats: features, aetiologies and survival data. *J. Feline Med. Surg.* 15(2), 81-90
- KRETSCHMER K., APOSTOLOU I., HAWIGER D., *et al.* (2005) Inducing and expanding regulatory T cell populations by foreign antigen. *Nat. Immunol.* 6(12), 1219-1227
- KYLES A.E., GREGORY C.R., CRAIGMILL A.L. (2000) Comparison of the in vitro antiproliferative effects of five immunosuppressive drugs on lymphocytes in whole blood from cats. *Am. J. Vet. Res.* 61(8), 906-909
- LANGSTON C.E., REINE N.J., KITTRELL D. (2003) The use of erythropoietin. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 33(6), 1245-1260
- LAPPIN M.R. (2018) Update on flea and tick associated diseases of cats. *Vet. Parasitol.* 254, 26-29
- LECHNER K., CHEN Y.-A. (2010) Paraneoplastic autoimmune cytopenias in Hodgkin lymphoma. *Leuk. Lymphoma* 51(3), 469-474
- LEDDY J.P., FALANY J.L., KISSEL G.E., PASSADOR S.T., ROSENFELD S.I. (1993) Erythrocyte membrane proteins reactive with human (warm-reacting) anti-red cell autoantibodies. *J. Clin. Invest.* 91(4), 1672-1680
- LEHMANN P.V., SERCARZ E.E., FORSTHUBER T., DAYAN C.M., GAMMON G. (1993) Determinant spreading and the dynamics of the autoimmune T-cell repertoire. *Immunol. Today* 14(5), 203-208
- LENARD Z.M., FOSTER S.F., TEBB A.J., *et al.* (2007) Lymphangiosarcoma in two cats. *J. Feline Med. Surg.* 9(2), 161-167
- LIBLAU R.S., SINGER S.M., MCDEVITT H.O. (1995) Th1 and Th2 CD4+ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunol. Today* 16(1), 34-38
- LUSSON D., BILLIEMAZ B., CHABANNE J.L. (1999) Circulating Lupus Anticoagulant and Probable Systemic Lupus Erythematosus in a Cat. *J. Feline Med. Surg.* 1(3), 193-196
- LUTZ H., ADDIE D., BELÁK S., *et al.* (2009) Feline leukaemia. ABCD guidelines on prevention and management. *J. Feline Med. Surg.* 11(7), 565-574
- MACKEY L., JARRETT W., JARRETT O., LAIRD H. (1975) Anemia Associated With Feline Leukemia Virus Infection in Cats. *J. Natl. Cancer Inst.* 54(1), 209-217
- MADEWELL B.R., FELDMAN B.F. (1980) Characterization of anemias associated with neoplasia in small animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 176(5), 419-425
- MAEDE Y., HATA R. (1975) Studies on feline haemobartonellosis. II. The mechanism of anemia produced by infection with *Haemobartonella felis*. *Nippon Juigaku Zasshi* 37(1), 49-54
- MANNING A.M. (2002) Oxygen therapy and toxicity. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 32(5), 1005-1020
- MANOURY B., GREGORY W.F., MAIZELS R.M., WATTS C. (2001) Bm-CPI-2, a cystatin homolog secreted by the filarial parasite *Brugia malayi*, inhibits class II MHC-restricted antigen processing. *Curr. Biol.* 11(6), 447-451

- MARCOS R., SANTOS M., MALHÃO F., *et al.* (2009) Pancytopenia in a cat with visceral leishmaniasis. *Vet. Clin. Path.* 38(2), 201-205
- MASON N., DUVAL D., SHOFRER F.S., GIGER U. (2003) Cyclophosphamide exerts no beneficial effect over prednisone alone in the initial treatment of acute immune-mediated hemolytic anemia in dogs: a randomized controlled clinical trial. *J. Vet. Intern. Med.* 17(2), 206-212
- MATHES M., JORDAN M., DOW S. (2006) Evaluation of liposomal clodronate in experimental spontaneous autoimmune hemolytic anemia in dogs. *Exp. Hematol.* 34(10), 1393-1402
- MATUS R.E., SCHRADER L.A., LEIFER C.E., GORDON B.R., HURVITZ A.I. (1985) Plasmapheresis as adjuvant therapy for autoimmune hemolytic anemia in two dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 186(7), 691-693
- MCCHESENEY L.P., XIAO F., SANKARY H.N., *et al.* (1994) An evaluation of leflunomide in the canine renal transplantation model. *Transplantation* 57(12), 1717-1722
- MCCOWN J.L., SPECHT A.J. (2011) Iron Homeostasis and Disorders in Dogs and Cats: A Review. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 47(3), 151-160
- MCCULLOUGH S. (2003) Immune-mediated hemolytic anemia: understanding the nemesis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 33(6), 1295-1315
- MEHL M.L., KYLES A.E., CRAIGMILL A.L., EPSTEIN S., GREGORY C.R. (2003) Disposition of cyclosporine after intravenous and multi-dose oral administration in cats. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 26(5), 349-354
- MENARD M. (2013) Les anémies centrales chez le chat. Thèse Méd. Vét., Ecole nationale vétérinaire d'Alfort
- MERCADANTE E.R., LORENZ U.M. (2016) Breaking Free of Control: How Conventional T Cells Overcome Regulatory T Cell Suppression. *Front. Immunol.* 7, 193
- MÉRESSE S., STEELE-MORTIMER O., MORENO E., *et al.* (1999) Controlling the maturation of pathogen-containing vacuoles: a matter of life and death. *Nat. Cell. Biol.* 1(7), E183-E188
- MESSIK J.B., HARVEY J.W. (2012) Hemotropic mycoplasmosis (hemobartonellosis). *In Infectious diseases of the dog and cat*, Eds Greene C.E., 4<sup>e</sup> ed. Saint Louis, Elsevier, pp 310-319
- MILLER A.G., DOW S., LONG L., OLVER C.S. (2012) Antiphospholipid antibodies in dogs with immune mediated hemolytic anemia, spontaneous thrombosis, and hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* 26(3), 614-623
- MIYARA M., GOROCHOV G., EHRENSTEIN M., *et al.* (2011) Human FoxP3+ regulatory T cells in systemic autoimmune diseases. *Autoimmun. Rev.* 10(12), 744-755
- MOHR A., ATIF M., BALDERAS R., GOROCHOV G., MIYARA M. (2019) The role of FOXP3+ regulatory T cells in human autoimmune and inflammatory diseases. *Clin. Exp. Immunol.* 197(1), 24-35
- MOSCA A., BRESCIANI L. (2016) Life-threatening haematological complication occurring in a cat after chronic carbimazole administration. *JFMS Open Rep.* 2(2)

- MOSMANN T.R., COFFMAN R.L. (1987) Two types of mouse helper T-cell clone: Implications for immune regulation. *Immunol. Today* 8(7), 223-227
- MQADMI A., ZHENG X., YAZDANBAKHSH K. (2005) CD4+CD25+ regulatory T cells control induction of autoimmune hemolytic anemia. *Blood* 105(9), 3746-3748
- MUELLER R., KRAHL T., SARVETNICK N. (1996) Pancreatic expression of interleukin-4 abrogates insulinitis and autoimmune diabetes in nonobese diabetic (NOD) mice. *J. Exp. Med.* 184(3), 1093-1099
- NECTOUX A., GUIDETTI M., GOY-THOLLOT I. (2018) Les groupes sanguins du chat: nouveautés. *Pratique Vet.* n°54, 270-273
- NENTWIG A., MELI M.L., SCHRACK J., *et al.* (2018) First report of *Cytauxzoon* sp. infection in domestic cats in Switzerland: natural and transfusion-transmitted infections. *Parasit. Vector.* 11(1), 292
- NORRIS C.R., GRIFFEY S.M., SAMII V.F. (1999) Pulmonary thromboembolism in cats: 29 cases (1987-1997). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 215(11), 1650-1654
- NORRIS J., BOSWARD K., WHITE J., *et al.* (2005) Clinicopathological findings associated with feline infectious peritonitis in Sydney, Australia: 42 cases (1990–2002). *Aust. Vet. J.* 83(11), 666-673
- OLIVEIRA G.G.S., HUTCHINGS P.R., ROITT I.M., LYDYARD P.M. (1994) Production of erythrocyte autoantibodies in NZB mice is inhibited by CD4 antibodies. *Clin. Exp. Immunol.* 96(2), 297-302
- OLSON S.W., HOHENHAUS A.E. (2019) Feline non-regenerative anemia: Diagnostic and treatment recommendations: *J. Feline Med. Surg.*
- OLVER C.S. (2010) Erythropoiesis. In *Schalm's veterinary hematology*, Eds Weiss D.J., Wardrop J.K., 6<sup>e</sup> ed. Ames, Blackwell Publishing, pp 36-42
- ONISHI Y., FEHERVARI Z., YAMAGUCHI T., SAKAGUCHI S. (2008) Foxp3+ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells in vitro and actively inhibit their maturation. *PNAS* 105(29), 10113-10118
- OTTENJANN M., WEINGART C., ARNDT G., KOHN B. (2006) Characterization of the anemia of inflammatory disease in cats with abscesses, pyothorax, or fat necrosis. *J. Vet. Intern. Med.* 20(5), 1143-1150
- OVERMANN J.A., SHARKEY L.C., WEISS D.J., BORJESSON D.L. (2007) Performance of 2 microtiter canine Coombs' tests. *Vet. Clin. Pathol.* 36(2), 179-183
- PACKMAN C.H. (2016) Hemolytic anemia resulting from immune injury. In *Williams hematology*, Eds Kaushansky K., Lichtman M.A., Prchal J.T., Levi M.M., Press O.W., Burns L.J., Caligiuri M.A., 9<sup>e</sup> ed. New York, McGraw - Hill, pp 823-845
- PALMEIRO B.S. (2013) Cyclosporine in Veterinary Dermatology. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 43(1), 153-171
- PANDIYAN P., ZHENG L., ISHIHARA S., REED J., LENARDO M.J. (2007) CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4+ T cells. *Nat. Immunol.* 8(12), 1353-1362
- PAUL W.E., SEDER R.A. (1994) Lymphocyte responses and cytokines. *Cell* 76(2), 241-251

- PAWSON P., DOWELL F.J. (2014) Investigation of the effects of a polymerised bovine haemoglobin solution on tension in isolated canine saphenous artery. *J. Small Anim. Pract.* 55(6), 301-308
- PERRY F.E., BARKER R.N., MAZZA G., *et al.* (1996) Autoreactive T cell specificity in autoimmune hemolytic anemia of the NZB mouse. *Eur. J. Immunol.* 26(1), 136-141
- PERSICHETTI M.-F., SOLANO-GALLEGO L., SERRANO L., *et al.* (2016) Detection of vector-borne pathogens in cats and their ectoparasites in southern Italy. *Parasite. Vector.* 9(1), 247
- PETERSON M.E., HURVITZ A.I., LEIB M.S., CAVANAGH P.G., DUTTON R.E. (1984) Propylthiouracil-associated hemolytic anemia, thrombocytopenia, and antinuclear antibodies in cats with hyperthyroidism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 184(7), 806-808
- PHILLIPS J.M., PARISH N.M., DRAGE M., COOKE A. (2001) Cutting Edge: Interactions Through the IL-10 Receptor Regulate Autoimmune Diabetes. *J. Immunol.* 167(11), 6087-6091
- PIEK C.J., JUNIUS G., DEKKER A., *et al.* (2008) Idiopathic Immune-Mediated Hemolytic Anemia: Treatment Outcome and Prognostic Factors in 149 Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 22(2), 366-373
- PIEK C.J. (2011) Canine idiopathic immune-mediated haemolytic anaemia: a review with recommendations for future research. *Vet. Quart.* 31(3), 129-141
- POLZIN D.J. (2011) Chronic kidney disease in small animals. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 41(1), 15-30
- POULETTY N. (2010) Frottis sanguin: évaluation des érythrocytes. *Point Vet.* n°305, 29-33
- POWERS A., SILBERSTEIN L.E. (2008) Autoimmune hemolytic anemia. In *Hematology Basic Principles and Practice*, Eds Hoffman R., Benz E.J., Shattil S.J., Furie B., Silberstein L.E., McGlave P., Heslop H., 5<sup>e</sup> ed. Philadelphia, Elsevier, pp 645-686
- PRITTIE J.E. (2003) Triggers for use, optimal dosing, and problems associated with red cell transfusions. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 33(6), 1261-1275
- PUTHENPARAMBIL J., LECHNER K., KORNEK G. (2010) Autoimmune hemolytic anemia as a paraneoplastic phenomenon in solid tumors: A critical analysis of 52 cases reported in the literature. *Wien. Klin. Wochenschr.* 122(7), 229-236
- QUIGLEY J.G., YANG Z., WORTHINGTON M.T., *et al.* (2004) Identification of a human heme exporter that is essential for erythropoiesis. *Cell* 118(6), 757-766
- RAMSDELL F., LANTZ T., FOWLKES B.J. (1989) A nondeletional mechanism of thymic self tolerance. *Science* 246(4933), 1038-1041
- RAMSEY I. (2017) Immunosuppression protocols. In *Small Animal Formulary - Part A: Canine and Feline*, *Brit Small Anim Vet Assoc*, 9<sup>e</sup> ed. Cardiff, BSAVA Library, pp 446
- RANDOLPH J.F., SCARLETT J.M., STOKOL T., SAUNDERS K.M., MACLEOD J.N. (2004) Expression, bioactivity, and clinical assessment of recombinant feline erythropoietin. *Am. J. Vet. Res.* 65(10), 1355-1366
- REAGAN W.J., SCOTT-MONCRIEFF C., CHRISTIAN J., *et al.* (1998) Effects of human intravenous immunoglobulin on canine monocytes and lymphocytes. *Am. J. Vet. Res.* 59(12), 1568-1574

- REINERT N.C., FELDMAN D.G. (2016) Acquired Fanconi syndrome in four cats treated with chlorambucil. *J. Feline Med. Surg.* 18(12), 1034-1040
- REYNOLDS C.A., LAPPIN M.R. (2007) « Candidatus Mycoplasma haemominutum » infections in 21 client-owned cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 43(5), 249-257
- RIEDER J., MISCHKE R. (2018) Immunsuppressive Therapie bei Hunden und Katzen. Eigenschaften von Wirkstoffen und ihre Anwendung bei verschiedenen immunvermittelten Erkrankungen. *Tierärztl. Prax. Ausg. K. Kleintiere Heimtiere* 46(02), 105-118
- RIZZI T.E., REICHARD M.V., COHN L.A., *et al.* (2015) Prevalence of Cytauxzoon felis infection in healthy cats from enzootic areas in Arkansas, Missouri, and Oklahoma. *Parasite. Vector.* 8, 13
- RONCAROLO M.-G., LEVINGS M.K. (2000) The role of different subsets of T regulatory cells in controlling autoimmunity. *Curr. Opin. Immunol.* 12(6), 676-683
- ROSSMAN M.D., MAIDA B.T., DOUGLAS S.D. (1990) Monocyte-derived macrophage and alveolar macrophage fibronectin production and cathepsin D activity. *Cell Immunol.* 126(2), 268-277
- SAHIN G., AKAY O.M., KUS E., *et al.* (2009) Effects of immunosuppressive drugs on platelet aggregation and soluble P-selectin levels in renal transplant patients. *Ren Fail* 31(2), 111-117
- SAKAGUCHI S., SAKAGUCHI N., ASANO M., ITOH M., TODA M. (1995) Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.* 155(3), 1151-1164
- SATO M., VEIR J.K., LEGARE M., LAPPIN M.R. (2017) A Retrospective Study on the Safety and Efficacy of Leflunomide in Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 31(5), 1502-1507
- SCHMIEDT C.W., GRIMES J.A., HOLZMAN G., MCANULTY J.F. (2009) Incidence and risk factors for development of malignant neoplasia after feline renal transplantation and cyclosporine-based immunosuppression. *Vet. Comp. Oncol.* 7(1), 45-53
- SCHOEMAN T., LOBETTI R.G., JACOBSON L.S., PENZHORN B.L. (2001) Feline babesiosis: signalment, clinical pathology and concurrent infections. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 72(1), 4-11
- SCHRADER L.A., HURVITZ A.I. (1983) Cold agglutinin disease in a cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183(1), 121-122
- SCOTT-MONCRIEFF J.C., REAGAN W.J., SNYDER P.W., GLICKMAN L.T. (1997) Intravenous administration of human immune globulin in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 210(11), 1623-1627
- SCOTT-MONCRIEFF J.C., TREADWELL N.G., MCCULLOUGH S.M., BROOKS M.B. (2001) Hemostatic abnormalities in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 37(3), 220-227
- SEDDON B., MASON D. (2000) The third function of the thymus. *Immunol. Today* 21(2), 95-99
- SHARKEY L.C., HILL S.A. (2010) Structure of bone marrow. In *Schalm's veterinary hematology*, Eds Weiss D.J., Wardrop J.K., 6<sup>e</sup> ed. Ames, Blackwell Publishing, pp 8-13



- SHELTON G.H., LINENBERGER M.L. (1995) Hematologic abnormalities associated with retroviral infections in the cat. *Semin. Vet. Med. Surg. Small Anim.* 10(4), 220-233
- SHEN C.-R., MAZZA G., PERRY F.E., *et al.* (1996) T-helper 1 dominated responses to erythrocyte Band 3 in NZB mice. *Immunology* 89(2), 195-199
- SHEN C.-R., WARD F.J., DEVINE A., *et al.* (2002) Characterization of the Dominant Autoreactive T-cell Epitope in Spontaneous Autoimmune Haemolytic Anaemia of the NZB Mouse. *J. Autoimmun.* 18(2), 149-157
- SHEN C.-R., YOUSSEF A.-R., DEVINE A., *et al.* (2003) Peptides containing a dominant T-cell epitope from red cell band 3 have in vivo immunomodulatory properties in NZB mice with autoimmune hemolytic anemia. *Blood* 102(10), 3800-3806
- SHEN H., GOODALL J.C., GASTON J.S.H. (2009) Frequency and phenotype of peripheral blood Th17 cells in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 60(6), 1647-1656
- SHERRILL M.K., COHN L.A. (2015) Cytauxzoonose: diagnostic et traitement d'une maladie émergente. *J. Feline Med. Surg.* 17(11), 940-948
- SHULL B.C., LEES H., LI P.K. (1980) Mechanism of interference by hemoglobin in the determination of total bilirubin. I. Method of Malloy-Evelyn. *Clin. Chem.* 26(1), 22-25
- SILVERTHORN D.U. (2019a) Gas exchange and transport. *In Human physiology an integrated approach*, 8<sup>e</sup> ed. Harlow, Pearson education, pp 562-586
- SILVERTHORN D.U. (2019b) The immune system. *In Human Physiology an Integrated Approach*, 8<sup>e</sup> ed. Harlow, Pearson education, pp 754-785
- SPURLOCK N.K., PRITTIE J.E. (2011) A review of current indications, adverse effects, and administration recommendations for intravenous immunoglobulin. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 21(5), 471-483
- STOHLMAN S.A., PEI L., CUA D.J., LI Z., HINTON D.R. (1999) Activation of Regulatory Cells Suppresses Experimental Allergic Encephalomyelitis Via Secretion of IL-10. *J. Immunol.* 163(11), 6338-6344
- STOKOL T., BLUE J.T., FRENCH T.W. (2000) Idiopathic pure red cell aplasia and nonregenerative immune-mediated anemia in dogs: 43 cases (1988-1999). *J. Am. Vet. Medical Assoc.* 216(9), 1429-1436
- STOKOL T. (2010a) Disseminated intravascular coagulation. *In Schalm's veterinary hematology*, Eds Weiss D.J., Wardrop J.K., 6<sup>e</sup> ed. Ames, Blackwell Publishing, pp 679-688
- STOKOL T. (2010b) Immune-mediated anemias in the cat. *In Schalm's veterinary hematology*, Eds Weiss D.J., Wardrop K.J., 6<sup>e</sup> ed. Ames, Blackwell Publishing, pp 226-232
- STOKOL T., BLUE J.T. (1999) Pure red cell aplasia in cats: 9 cases (1989-1997). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214(1), 75-79
- SWANN J.W., SZLADOVITS B., GLANEMANN B. (2016) Demographic Characteristics, Survival and Prognostic Factors for Mortality in Cats with Primary Immune-Mediated Hemolytic Anemia. *J. Vet. Intern. Med.* 30(1), 147-156

- SWANN J.W., GARDEN O.A., FELLMAN C.L., *et al.* (2019) ACVIM consensus statement on the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 33(3), 1141-1172
- SYKES J.E., DRAZENOVICH N.L., BALL L.M., LEUTENEGGER C.M. (2007) Use of conventional and real-time polymerase chain reaction to determine the epidemiology of hemoplasma infections in anemic and nonanemic cats. *J. Vet. Intern. Med.* 21(4), 685-693
- SYKES J.E., TERRY J.C., LINDSAY L.L., OWENS S.D. (2008) Prevalences of various hemoplasma species among cats in the United States with possible hemoplasmosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 232(3), 372-379
- SYKES J.E. (2010) Feline hemotropic mycoplasmas. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 20(1), 62-69
- SYKES J.E. (2013) Canine and feline infectious diseases, Saint Louis, Elsevier, pp 510-520
- TADOKORO C.E., SHAKHAR G., SHEN S., *et al.* (2006) Regulatory T cells inhibit stable contacts between CD4+ T cells and dendritic cells in vivo. *J. Exp. Med.* 203(3), 505-511
- TARRANT J.M. (2005) The role of flow cytometry in companion animal diagnostic medicine. *Vet. J.* 170(3), 278-288
- TASKER S., HELPS C.R., DAY M.J., *et al.* (2004) Use of a Taqman PCR to determine the response of *Mycoplasma haemofelis* infection to antibiotic treatment. *J. Microbiol. Meth.* 56(1), 63-71
- TASKER S., PETERS I.R., DAY M.J., *et al.* (2009) Distribution of *Mycoplasma haemofelis* in blood and tissues following experimental infection. *Microb. Pathog.* 47(6), 334-340
- TASKER S., PETERS I.R., PAPASOULIOTIS K., *et al.* (2009c) Description of outcomes of experimental infection with feline haemoplasmas: copy numbers, haematology, Coombs' testing and blood glucose concentrations. *Vet. Microbiol.* 139(3-4), 323-332
- TASKER S., MURRAY J.K., KNOWLES T.G., DAY M.J. (2010) Coombs', haemoplasma and retrovirus testing in feline anaemia. *J. Small Anim. Pract.* 51(4), 192-199
- THOMASON J., ARCHER T., WILLS R., PRESS S., MACKIN A. (2016) The Effects of Cyclosporine and Aspirin on Platelet Function in Normal Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 30(4), 1022-1030
- TOCCI L.J. (2010) Transfusion Medicine in Small Animal Practice. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 40(3), 485-494
- TOCCI L.J., EWING P.J. (2009) Increasing patient safety in veterinary transfusion medicine: an overview of pretransfusion testing. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 19(1), 66-73
- TRUMEL C., BOURGES-ABELLA N., DIQUELOU A. (2004) Syndrome anémique en hématopathologie. *EMC - Vétérinaire* 1(4), 154-174
- VIDARD L., ROCK K.L., BENACERRAF B. (1992) Diversity in MHC class II ovalbumin T cell epitopes generated by distinct proteases. *J. Immunol.* 149(2), 498-504
- VIGNALI D.A.A., COLLISON L.W., WORKMAN C.J. (2008) How regulatory T cells work. *Nat. Rev. Immunol.* 8(7), 523-532

- VISCO C., BARCELLINI W., MAURA F., *et al.* (2014) Autoimmune cytopenias in chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Hematol.* 89(11), 1055-1062
- VIVIANO K.R. (2013) Update on Immununosuppressive Therapies for Dogs and Cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 43(5), 1149-1170
- VIVIANO Katrina R, WEBB J.L. (2011) Clinical Use of Cyclosporine as an Adjunctive Therapy in the Management of Feline Idiopathic Pure Red Cell Aplasia. *J. Feline Med. Surg.* 13(12), 885-895
- WALKER M.C., MANDELL T.C., CRAWFORD P.C., *et al.* (2005) Expression of erythropoietin in cats treated with a recombinant adeno-associated viral vector. *Am. J. Vet. Res.* 66(3), 450-456
- WANG A., SMITH J.R., CREEVY K.E. (2013) Treatment of canine idiopathic immune-mediated haemolytic anaemia with mycophenolate mofetil and glucocorticoids: 30 cases (2007 to 2011). *J. Small Anim. Pract.* 54(8), 399-404
- WARDROP K.J. (2005) The Coombs' test in veterinary medicine: past, present, future. *Vet. Clin. Pathol.* 34(4), 325-334
- WARDROP K.J. (2012) Coombs' Testing and Its Diagnostic Significance in Dogs and Cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 42(1), 43-51
- WARMAN S.M., MURRAY J.K., RIDYARD A., *et al.* (2008) Pattern of Coombs' test reactivity has diagnostic significance in dogs with immune-mediated haemolytic anaemia. *J. Small Anim. Pract.* 49(10), 525-530
- WATTS C., MOSS C.X., MAZZEO D., *et al.* (2003) Creation versus Destruction of T Cell Epitopes in the Class II MHC Pathway. *Ann. NY Acad. Sci.* 987(1), 9-14
- WEINER H.L. (1997) Oral tolerance: immune mechanisms and treatment of autoimmune diseases. *Immunol. Today* 18(7), 335-343
- WEINGART C., GIGER U., KOHN B. (2004) Whole blood transfusions in 91 cats: a clinical evaluation. *J. Feline Med. Surg.* 6(3), 139-148
- WEINGART C., KOHN B. (2008) Clinical use of a haemoglobin-based oxygen carrying solution (Oxyglobin) in 48 cats (2002-2006). *J. Feline Med. Surg.* 10(5), 431-438
- WEINSTEIN N.M., BLAIS M.-C., HARRIS K., *et al.* (2007) A newly recognized blood group in domestic shorthair cats: the Mik red cell antigen. *J. Vet. Intern. Med.* 21(2), 287-292
- WEISS D.J. (1986) Antibody-mediated suppression of erythropoiesis in dogs with red blood cell aplasia. *Am. J. Vet. Res.* 47(12), 2646-2648
- WEISS D.J. (2006) Evaluation of dysmyelopoiesis in cats: 34 cases (1996-2005). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 228(6), 893-897
- WEISS D.J. (2008) Bone Marrow Pathology in Dogs and Cats with Non-Regenerative Immune-Mediated Haemolytic Anaemia and Pure Red Cell Aplasia. *J. Comp. Pathol.* 138(1), 46-53
- WEISS D.J., TVEDTEN H. (2012) Erythrocyte disorders. In *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*, Eds Willard M.D., Tvedten H., 5<sup>e</sup> ed. Saint Louis, Elsevier, pp 38-62

- WERNER L.L., GORMAN N.T. (1984) Immune-Mediated Disorders of Cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 14(5), 1039-1064
- WESTFALL D.S., JENSEN W.A., REAGAN W.J., RADECKI S.V., LAPPIN M.R. (2001) Inoculation of two genotypes of *Hemobartonella felis* (California and Ohio variants) to induce infection in cats and the response to treatment with azithromycin. *Am. J. Vet. Res.* 62(5), 687-691
- WHELAN M.F., O'TOOLE T.E., CHAN D.L., *et al.* (2009) Use of human immunoglobulin in addition to glucocorticoids for the initial treatment of dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 19(2), 158-164
- WHITLEY N.T., DAY M.J. (2011) Immunomodulatory drugs and their application to the management of canine immune-mediated disease. *J. Small Anim. Pract.* 52(2), 70-85
- WILDIN R.S., FREITAS A. (2005) IPEX and FOXP3: Clinical and research perspectives. *J. Autoimmun.* 25, 56-62
- WILLI B., BORETTI F.S., CATTORI V., *et al.* (2005) Identification, molecular characterization, and experimental transmission of a new hemoplasma isolate from a cat with hemolytic anemia in Switzerland. *J. Clin. Microbiol.* 43(6), 2581-2585
- WILLI B., BORETTI F.S., BAUMGARTNER C., *et al.* (2006a) Prevalence, Risk Factor Analysis, and Follow-Up of Infections Caused by Three Feline Hemoplasma Species in Cats in Switzerland. *J. Clin. Microbiol.* 44(3), 961-969
- WILLI B., TASKER S., BORETTI F.S., *et al.* (2006b) Phylogenetic analysis of « *Candidatus Mycoplasma turicensis* » isolates from pet cats in the United Kingdom, Australia, and South Africa, with analysis of risk factors for infection. *J. Clin. Microbiol.* 44(12), 4430-4435
- WILSON H.E., JASANI S., WAGNER T.B., *et al.* (2010) Signs of left heart volume overload in severely anaemic cats. *J. Feline Med. Surg.* 12(12), 904-909
- WORKMAN C.J., SZYMCZAK-WORKMAN A.L., COLLISON L.W., PILLAI M.R., VIGNALI D.A.A. (2009) The Development and Function of Regulatory T Cells. *Cell. Mol. Life Sci.* 66(16), 2603-2622
- XU L., ZHANG T., LIU Z., *et al.* (2012) Critical role of Th17 cells in development of autoimmune hemolytic anemia. *Exp Hematol* 40(12), 994-1004
- YANG Y., WATERS J.B., FRÜH K., PETERSON P.A. (1992) Proteasomes are regulated by interferon gamma: Implications for antigen processing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89(11), 4928-4932
- YAU V.K., BIANCO D. (2014) Treatment of five haemodynamically stable dogs with immune-mediated thrombocytopenia using mycophenolate mofetil as single agent. *J. Small Anim. Pract.* 55(6), 330-333
- YUNIS E.J., HONG R., GREWE M.A., *et al.* (1967) Postthymectomy wasting associated with autoimmune phenomena. *J. Exp. Med.* 125(5), 947-966
- ZINI E., HAUSER B., MELI M.L., GLAUS T.M. (2007) Immune-mediated erythroid and megakaryocytic aplasia in a cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 230(7), 1024-1027
- ZOIA A., DRIGO M. (2017) Association Between Pancreatitis and Immune-mediated Haemolytic Anaemia in Cats: A Cross-sectional Study. *J. Comp. Pathol.* 156(4), 384-388

ZULTY J.C., KOCIBA G.J. (1990) Cold agglutinins in cats with haemobartonellosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 196(6), 907-910

# Annexes

**Annexe 1** - Données démographiques chez les chats présentant une AHMI primaire, une AHMI secondaire et chez les chats témoins

Variable	Nombre de chats avec une AHMI primaire (N, %)	Nombre de chats avec une AHMI secondaire (N, %)	Nombres de chats témoins (N,%)
Effectif	22	44	39 762 (89 pour l'âge)
<b>Âge</b>			
< 2 ans	9 (41%)	3 (6,8%)	30 (34%)
[2 – 6[ ans	7 (32%)	18 (41%)	23 (26%)
[6 – 13[ ans	6 (27%)	13 (59%)	17 (19 %)
≥ 13 ans	0 (0%)	10 (23%)	19 (21%)
<b>Sexe</b>			
Femelle	7 (32%)	22 (50%)	19 383 (49%)
Femelle entière	2 (9,1%)	4 (9,1%)	10 900 (27%)
Femelle stérilisée	5 (23%)	18 (41%)	8 483 (21%)
Mâle	15 (68%)	22 (50%)	19915 (50%)
Mâle entier	2 (9,1%)	2 (4,5%)	10 015 (25%)
Mâle stérilisé	13 (59%)	20 (45%)	9 900 (25%)
Animal entier	4 (18%)	6 (13%)	20915 (53%)
Animal stérilisé	18 (82%)	38 (86%)	18 383 (47%)
<b>Race</b>			
Européen	17 (77%)	34 (77%)	30 985 (78%)
Sacré de Birmanie	2 (9%)	1 (2%)	794 (2%)
Siamois	1 (5%)	3 (7%)	660 (2%)
Chartreux	1 (5%)	2 (5%)	520 (1%)
Main Coon	0 (0%)	1 (2%)	325 (1%)
Norvégien	1 (5%)	1 (2%)	116 (0,3%)
Angora	0 (0%)	1 (2%)	30 (0,1%)

**Annexe 2.a** – Répartition des symptômes chez les chats atteints d’AHMI primaire et secondaire

Symptômes	Chats atteints d’AHMI primaire (N = 22)		Chats atteints d’AHMI secondaire (N = 44)	
Fatigabilité accrue	1	5%	1	2%
Abattement	12	55%	27	61%
Dysorexie	11	50%	21	48%
Dysurie, malpropreté	1	5%	2	5%
Vomissements	5	23%	9	20%
Hyperthermie	4	18%	9	20%
Hypothermie	2	9%	3	7%
Ictère	4	18%	10	23%
Pica	0	0%	2	5%
Prurit	2	9%	1	2%
Polydipsie	1	5%	4	9%
Cachexie	0	0%	5	11%
Déshydratation	2	9%	15	34%
Muqueuses pâles	15	68%	30	68%
Tachypnée	8	36%	17	39%
Autres troubles respiratoires	1	5%	8	18%
Tachycardie	5	23%	9	20%
Bradycardie	0	0%	1	2%
Souffle	13	59%	19	43%
Bruit de galop	4	18%	7	16%
Pouls filant	1	5%	4	9%
Lymphadénopathie	1	5%	8	18%
Dermatose	0	0%	5	11%
Diarrhée	0	0%	3	7%
Distension abdominale	1	5%	2	5%
Masse abdominale	0	0%	1	2%
Faiblesse des membres pelviens	1	5%	0	0%
Hématomes, pétéchies	3	14%	0	0%
Epanchement	1	5%	1	2%
Œdèmes	0	0%	1	2%

**Annexe 2.b** – Répartition des symptômes en fonction de la cause sous jacente à l’AHMI

Symptômes	Tout chat atteint d’AHMI (N=66)		Mycoplasmos <sup>e</sup> (N=6)		PIF (N=3)		Néoplasie (N=11)		Maladie inflammatoir <sup>e</sup> * (N=17)	
Fatigabilité accrue	2	3%	0	0%	1	33%	0	0%	0	0%
Abattement	39	59%	6	100%	1	33%	7	64%	9	53%
Dysorexie	32	48%	3	50%	2	67%	5	45%	7	41%
Dysurie malpropreté	3	5%	0	0%	0	0%	1	9%	1	6%
Vomissement	14	21%	1	17%	1	33%	2	18%	5	29%
Hyperthermie	13	20%	0	0%	1	33%	3	27%	3	18%
Hypothermie	5	8%	0	0%	0	0%	0	0%	3	18%
Ictère	14	21%	1	17%	2	67%	3	27%	4	24%
Pica	2	3%	0	0%	0	0%	1	9%	1	6%
Prurit	3	5%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Polydipsie	5	8%	1	17%	1	33%	0	0%	2	12%
Cachexie	5	8%	0	0%	1	33%	0	0%	3	18%
Déshydratation	17	26%	3	50%	2	67%	3	27%	5	29%
Muqueuses pâles	45	68%	5	83%	2	67%	8	73%	10	59%
Tachypnée	25	38%	3	50%	0	0%	4	36%	7	41%
Autres troubles respiratoires	9	14%	2	33%	1	33%	3	27%	1	6%
Tachycardie	14	21%	1	17%	0	0%	4	36%	2	12%
Bradycardie	1	2%	0	0%	0	0%	0	0%	1	6%
Souffle	32	48%	2	33%	3	100%	1	9%	9	53%
Bruit de galop	11	17%	1	17%	0	0%	3	27%		0%
Pouls filant	5	8%	0	0%	0	0%	2	18%	2	12%
Lymphadénopathie	9	14%	3	50%	1	33%	0	0%	2	12%
Dermatose	5	8%	1	17%	0	0%	1	9%	2	12%
Diarrhée	3	5%	0	0%	2	67%	0	0%	0	0%
Distension abdominale	3	5%	0	0%	1	33%	1	9%	0	0%
Masse abdominale	1	2%	0	0%	1	33%	0	0%	0	0%





# LES ANÉMIES HÉMOLYTIQUES À MÉDIATION IMMUNE FÉLINES : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE ET ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DES CAS PRÉSENTÉS AU CHUVA ENTRE 2012 ET 2020

---

**AUTEUR :** Marine HEBERT

## **RÉSUMÉ :**

Les anémies hémolytiques à médiation immune (AHMI) sont des anémies par destruction accrue des érythrocytes en raison d'un dysfonctionnement du système immunitaire. Les AHMI sont d'origine primaire, secondaires à des affections variées (infections, inflammations, néoplasie) ou encore iatrogènes. Les signes cliniques les plus fréquemment rencontrés sont des muqueuses pâles, une tachypnée, une tachycardie, un souffle cardiaque, un abattement, une anorexie et plus occasionnellement des syncopes et des signes neurologiques. Dans une première partie, cette étude propose une synthèse des données rapportées par la littérature jusqu'à ce jour. Puis, sera abordée, dans une seconde partie, une étude rétrospective sur 72 cas présentés au Centre Hospitalier Vétérinaire d'Alfort entre le 1<sup>er</sup> janvier 2012 et le 1<sup>er</sup> août 2020. L'objectif de cette étude est de corroborer les connaissances actuelles sur le sujet et de fournir de nouvelles données sur une affection très peu documentée dans l'espèce féline. Les paramètres étudiés étaient le signalement des chats, leur présentation clinique et biologique, les modalités de diagnostic, le traitement proposé et le temps de survie. Les cas d'AHMI ont été détectés principalement *via* une hémagglutination persistante après dilution saline. Le test de Coombs direct semble peu contributif dans le diagnostic des AHMI et sa sensibilité est remise en cause. Notre étude a mis en évidence une majorité d'AHMI secondaires avec une prédominance des causes inflammatoires suivi par les causes néoplasiques. Les AHMI centrales sont des affections rares, avec un premier cas de Pure Red Cell Aplasia associée à une néoplasie chez le chat rapporté dans cette étude. Les chats atteints d'AHMI primaire sont plus jeunes que les chats atteints d'AHMI secondaire. Les animaux stérilisés semblent prédisposés au développement d'une AHMI. Les Siamois et Angoras seraient prédisposés aux AHMI secondaires. L'anémie est généralement sévère avec une atteinte concomitante fréquente des autres lignées sanguines. La présentation clinique et les paramètres biologiques n'orientent généralement pas vers un type d'AHMI et des examens d'imagerie ou de recherche d'agent infectieux sont requis. Le traitement repose principalement sur une immunomodulation, sachant que la méthylprednisolone semble moins efficace, et une suppression de la cause sous-jacente. Une grande proportion de chats répond au traitement immunosuppresseur mais le taux de rechute est élevé. Le taux de mortalité est d'environ un tiers des animaux mais varie en fonction de l'affection sous-jacente. Seule l'absence de normalisation de l'hématocrite sous un mois est de mauvais pronostic. Une étude prospective concernant l'efficacité du traitement, la survie et les facteurs pronostics de mortalité serait à envisager.

## **MOTS CLÉS :**

ANEMIE HEMOLYTIQUE, ANEMIE, MALADIE AUTO-IMMUNE, IMMUNOSUPRESSEUR, PARAMETRE HEMATOLOGIQUE, DIAGNOSTIC, ETUDE RETROSPECTIVE, CARNIVORE DOMESTIQUE, CHAT, CHUVA

## **JURY :**

Président : Pr Philippe LANG

1<sup>er</sup> Assesseur : Dr Christelle MAUREY-GUENEC

2<sup>nd</sup> Assesseur : Dr Delphine LE ROUX

# FELINE IMMUNE MEDIATED HEMOLYTIC ANEMIA : BIBLIOGRAPHICAL SYNTHESIS AND RETROSPECTIVE STUDY OF CASES PRESENTED IN CHUVA BETWEEN 2012 AND 2020

---

**AUTHOR:** Marine HEBERT

## **SUMMARY:**

Immune mediated hemolytic anemia (IMHA) are anemia caused by increased destruction of red blood cells due to a dysfunction of the immune system. IMHA are idiopathic, secondary to various conditions (infections, inflammations, neoplasia) or iatrogenic. The most frequently reported clinical signs are pale mucous membranes, tachypnea, tachycardia, heart murmur, lethargia, anorexia and more occasionally failure and neurological signs. In the first part, this study proposes a synthesis of the data reported in the literature to date. Then, in the second part, a retrospective study will be carried out on 72 cases presented at the Centre Hospitalier Vétérinaire d'Alfort between 1 January 2012 and 1 August 2020. The purpose of this study is to corroborate current knowledge on the subject and to provide new data on a very poorly documented disease in the feline species. The parameters studied were the signalement of the cats, their clinical and biological presentation, diagnostic modalities, proposed treatment and survival time. Cases of AHMI were detected **mainly** via persistent haemagglutination after saline dilution. The direct Coombs test appears to be of little help in the diagnosis of IMHA and its sensitivity is questioned. Our study revealed a majority of secondary IMHA with a predominance of inflammatory causes followed by neoplastic causes. Central IMHA are rarely reported, with a first case of Pure Red Cell Aplasia associated with neoplasia in cats reported in this study. Cats with primary IMHA are younger than cats with secondary IMHA. Neutered cats appear to be predisposed to the development of IMHA. Siamese and Angora cats appear to be predisposed to secondary IMHA. Anaemia is usually severe with frequent concomitant damage to other bloodlines. The clinical presentation and biological parameters do not generally point to a type of IMHA and imaging exam or infectious agent search are required. Treatment is mainly based on immunomodulation, with methylprednisolone appearing to be less effective, and suppression of the underlying cause. A large proportion of cats respond to immunosuppressive treatment but the rate of relapse is high. The mortality rate is about one third of the animals but varies according to the underlying condition. Only if the haematocrit does not normalise within one month is the prognosis poor. A prospective study concerning the effectiveness of treatment, survival and prognostic factors for mortality should be considered.

## **KEYWORDS:**

HEMOLYTIC ANEMIA, ANEMIA, AUTOIMMUNE DISEASE, IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY, HEMATOLOGICAL PARAMETER, DIAGNOSIS, RETROSPECTIVE STUDY, DOMESTIC CARNIVORE, CAT, CHUVA

## **JURY:**

Chairperson: Pr Philippe LANG

1<sup>st</sup> Assessor: Dr Christelle MAUREY-GUENEC

2<sup>nd</sup> Assessor: Dr Delphine LE ROUX