

# **Anémies hémolytiques auto-immunes: du laboratoire au lit du patient**

**Pharm. Biol. S. Eeckhoudt**

**Dr D. Pranger**

**Jeudis de la Biologie Médicale, 28 mai 2026**

## INTRODUCTION (1)

- **Peu d'études randomisées**
- **Diagnosis and Treatment of Autoimmune Hemolytic Anemia` in Adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting**  
Blood Review (May 2020)
- **Protocole National de Diagnostic et de Soins: Anémie Hémolytique Auto-Immune**  
Haute Autorité de Santé (Février 2017)

## INTRODUCTION (2)

3 critères importants dans la compréhension et la prise en charge:

- **Type d'anticorps** (froids – chauds)
- **Age** (enfant – adulte)
- **Etiologie:** AHAi primaire ou secondaire  
AH induite par médicament: étiologie secondaire, catégorie distincte

# TYPE D'ANTICORPS (1)

## Anticorps froids

Cible antigénique **publique** (I, i, H)

**IgM**

**Activation** du complément avec hémolyse **intra-vasculaire** possible

CD **C3d** positif

Agglutination spontanée

## Anticorps chauds

Cible antigénique **publique** (RH)

**IgG**

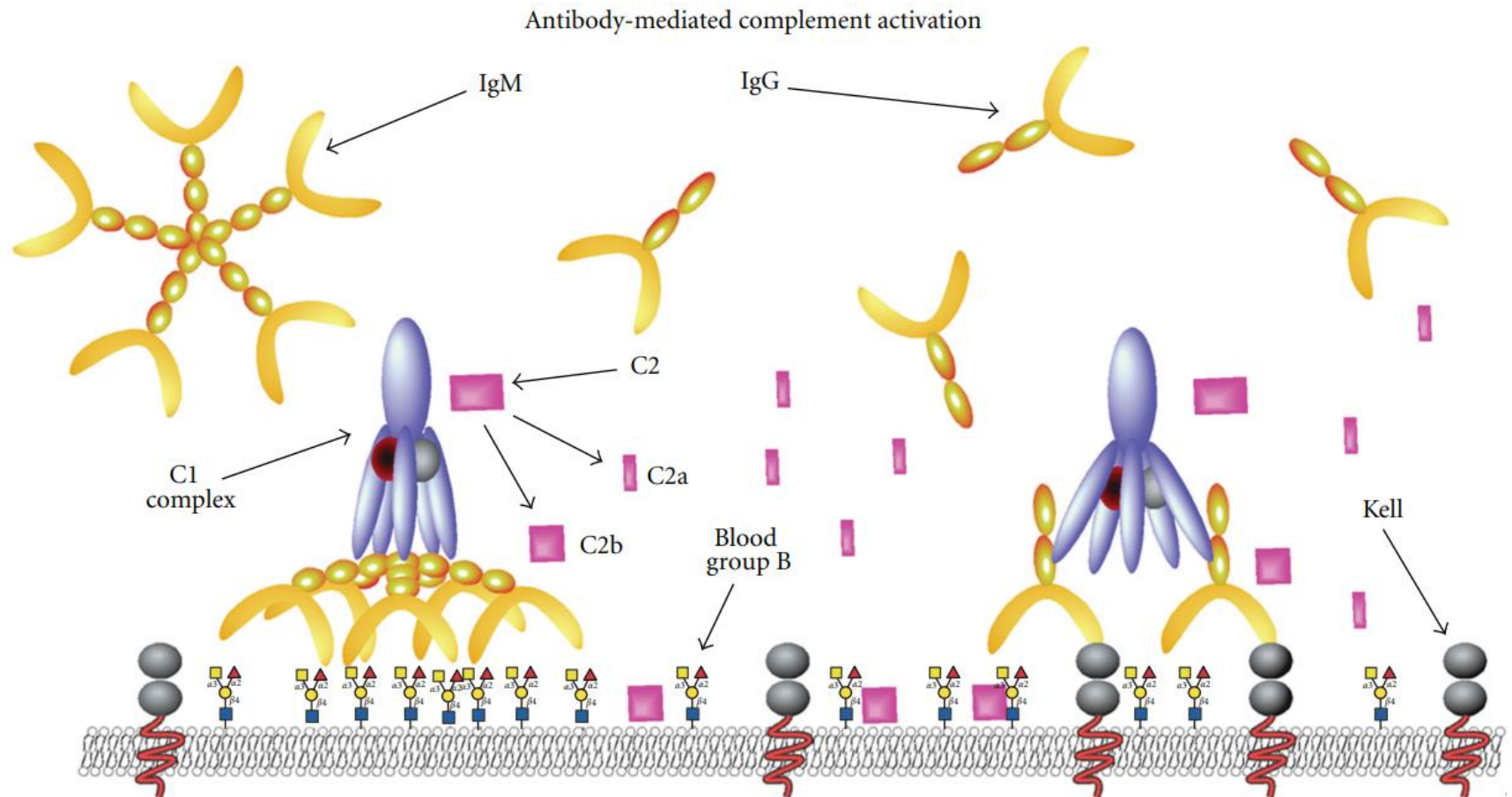
**Opsonisation** des GR par auto-IgG avec hémolyse **extra-vasculaire**

*(Possibilité d'activation du complément = signe de gravité)*

CD **IgG** (CD C3d)

## Mixte, hémolysine biphasique

# TYPE D'ANTICORPS (2)



- Possibilité d'activation du complément:  $IgG3 > IgG1 > IgG2$ . Pas  $IgG4$  (100  $IgG3$  pour détruire 1 GR, 1000  $IgG1$  pour détruire 1 GR)
- Densité antigénique souvent insuffisante
- $IgG$  anti-RH des AHAI =  $IgG1$  et  $IgG3$

## AGE ET ETIOLOGIE (1)

	<b>Pédiatrique</b> 0,2-0,8/100 000	<b>Adulte</b> 1-3/100 000
<b>Froids</b>	Secondaire Mycoplasme EBV Varicelle CMV	15-25% des AHAI Maladie des AF (primaire) Syndrome des AF (secondaire)
<b>Chauds</b>		48-70% des AHAI 45% primaire 26% maladie AI 24% LPD 5% causes variées (greffe de CSH)

- Critère de chronicité n'est plus utilisé par manque de marqueurs

## FACTEURS DE RISQUE (1)

- Age
- Maladie auto-immune (SLE)
- LNH (CLL)
- Greffe de CSH
- PTI (30% CDpos) – Syndrome d'Evans

# DIAGNOSTIC (1)

## Caractère hémolytique

Frottis sanguin

Réticulocytes

**LDH**

**Haptoglobine**

Bilirubine Indirecte

(Hb libre)

(Hémosidérine urinaire)



## Caractère auto-immunitaire

CD: Auto-Ac Froid/Chaud



## Examens complémentaires

Définition type étiologie: I ou II

AHAI type dépendant

## DIAGNOSTIC (2)

### Caractère Hémolytique

#### Marqueurs biochimiques

LDH + Haptoglobine

LDH  $\leq$  Hapto  $>$  25 mg/dL: 95% de spécificité

LDH  $>$  Hapto  $<$  25 mg/dL: 92% de sensibilité

Hapto basse: post-transfusion, IH

aHaptoglobulinémie: 4% population africaines, 0,1% population caucasienne

#### Frottis sanguin

Anisocytose

NRBC possible

Sphérocytose (Auto-Ac chauds)

Agrégats de GR (Auto-Ac froid)

Exclusion MAT (schizocytes)

#### Réticulocytes

60% des cas élevés au diagnostic

40% des cas bas au diagnostic:

Compensation médullaire déficiente

Infection

**Hémolyse qui concerne les réticulocytes**

#### Hémoglobinurie

Critère de sévérité, hémolyse IV

#### Hémosidérinurie

Hémolyse subaigue, chronique

# DIAGNOSTIC (3)

Caractère Hémolytique

<i>Durée de vie des hématies</i>	<b>Hémolyse modérée</b>	<b>Hémolyse sévère</b>
	<b>20-40 jours</b>	<b>&lt; 20 jours</b>
<i>Bilirubine plasmatique</i>	↑ bilirubine non conjuguée augmentation restant inférieure à 70-85 µmol/l (soit 4-5 mg/l)	
<i>Méthémoglobinémie</i>	↑	
<i>Plasma/sérum</i>	Coloration rosée / rouge	
<i>Haptoglobine sérique</i>	↓ - Absente	Absente
<i>Hémoglobinémie</i>	↑	↑↑
<i>LDH plasmatique</i>	↑	↑↑
<i>Hémosidérine urinaire</i>	Variable	Présence
<i>Hémoglobinurie</i>	Absente	Présence

## DIAGNOSTIC (4)

### Caractère Auto-Immunitaire

#### Coombs Direct

Auto-anticorps fixé

Polyspécifique

**Monospécifique (IgG, C3d). C3d non reconnu par SRE**

*Tube* (500 molécules/GR)

Spécificité: 87%, Sensibilité; 43%, Opérateur dépendant

*Micro-colonne* (200-300 molécules/GR)

Spécificité: 70%; Sensibilité: 65%, Lecture automatisée

*Cytométrie en flux* (30-40 molécules/GR)

Laboratoire spécialisé

Faux négatifs:

Auto-ac de faible affinité (LISS, lavage)

IgA (5% des AHAI)

AHAI à CD négatif

Faux positifs:

8% des patients hospitalisés

IVIg, Rhogam, ATG, daratumumab , paraprotéines

Allo-ac (DHTR, HDN, ...)

#### Coombs Indirect (RAI)

Auto-anticorps libre circulant – Intéressant en cas de transfusion

# EXAMENS COMPLEMENTAIRES (1)

Auto-Anticorps Froids

## Maladie des AF (CAD)

Chronique

Etiologie **primaire**

Clone B de bas grade → **Monoclonal Kappa**

« Least uncommon cAIHA »

## Syndrome des AF (CAS)

Etiologie **secondaire**:

infection → **Polyclonal**

clone B agressif → **Monoclonal Kappa ou Lambda**

## Maladie des AF (CAD)

Table 2

Diagnostic criteria for cold agglutinin disease.

Level	Criteria	Procedures, comments and reminders
Required for diagnosis	Chronic hemolysis	As assessed by hemoglobin levels and biochemical markers of hemolysis
	Polyspecific DAT positive	Performed in most laboratories but insufficient for diagnosis
	Monospecific DAT strongly positive for C3d	DAT is usually negative for IgG, but occasionally weakly positive
	CA titer $\geq$ 64 at 4°C	Blood specimen must be kept at 37-38°C from sampling until serum/plasma has been removed from the clot/cells
Confirmatory but not required for diagnosis	No overt malignant disease or relevant infection	Clinical assessment for malignancy. Radiology as required. Exclusion of recent infection with <i>Mycoplasma</i> or EBV
	Monoclonal IgM $\kappa$ in serum (or, rarely, IgG or $\lambda$ phenotype)	Blood specimen must be kept at 37-38°C from sampling until serum/plasma has been removed from the clot/cells
	Ratio between $\kappa$ and $\lambda$ positive B-cells $>$ 3.5 (or, rarely, $<$ 0.9)	Flow cytometry in bone marrow aspirate
	'CA-associated lymphoproliferative disorder' by histology	Bone marrow biopsy

CA, cold agglutinin; DAT, direct antiglobulin test; EBV, Epstein-Barr virus; Ig, immunoglobulin. Previously published by Berentsen (23), reused under general permission, slightly modified. Copyright: The American Society of Hematology.

**Pas de signes cliniques ou radiologiques de néoplasie**

# EXAMENS COMPLEMENTAIRES (3)

## Auto-Anticorps Froids

### Maladie des AF (CAD) (2)

#### Caryotype:

Trisomie 3 partielle ou complète avec souvent trisomie 12 ou 18

#### NGS:

Mutation KMT2D (69% des cas) ou CARD11 (31% des cas)

#### Ponction médullaire:

Cytométrie: population lymphocytaire kappa, LPL ou MZL

#### Biopsie médullaire:

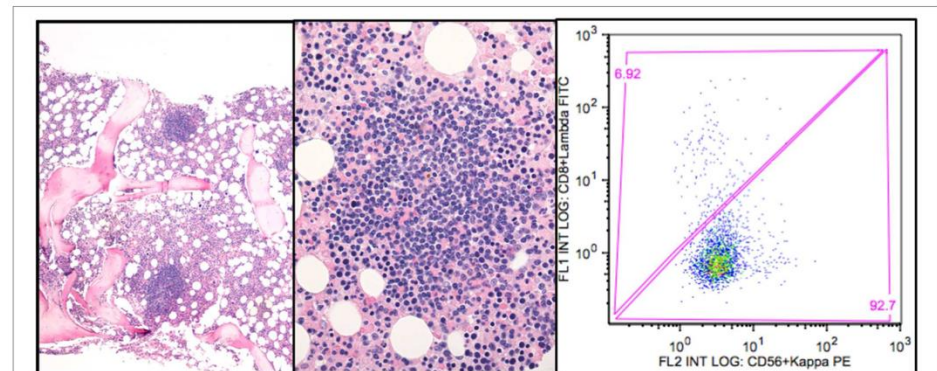
Infiltration homogène « CAD-associated LPD »

Agrégats de cellules sur 5 à 80% de la surface intertrabéculaire

Présence de plasmocytes autour de l'agrégat mais pas à l'intérieur

Même restriction de chaîne légère sur les plasmocytes

#### Pas de site MZL extra-médullaire



**FIGURE 1** | CAD-associated lymphoproliferative disorder. **(A)** shows the nodular infiltration pattern. **(B)** highlights the resemblance to marginal zone B cell infiltration. **(C)** shows the typical flow cytometry finding of a monoclonal  $\kappa$ + B-cell population (gated on CD19+ B-cells). Courtesy of U. Randen. First published in Clin Adv Hematol Oncol 2020 by S. Berentsen et al. (41), reused under Creative Commons Attribution Non-Commercial License. Copyright: S. Berentsen, A. Malecka, U. Randen, and G.E. Tjønnfjord.

## EXAMENS COMPLEMENTAIRES (4)

### Auto-Anticorps Froids

#### Syndrome des AF (SAD)

Etiologie **secondaire**:

Infection:

Polyclonal  
Courte durée

Clone B agressif:

Monoclonal  
Chronicité  
Idem CAD + signes cliniques ou radiologiques de LNH

**Recommandé de faire la distinction entre CAD et CAS**

Titration des AF  
Ponction/biopsie médullaire  
Electrophorèse + immunofixation  
CMF sang périphérique et moelle  
CT scan

# EXAMENS COMPLEMENTAIRES (5)

## Auto-Anticorps Chauds

### Etiologie secondaire (1)

#### Hématologiques

LLC  
Leucémie T-LGL  
Lymphomes B  
Lymphome T angioimmunoblastique  
Maladie de Castleman  
SMD/SMP

#### Tumeurs solides

Thymome  
Kyste ovarien dermoïde  
Carcinome

#### Maladie auto-immune et inflammatoires

SLE/APL  
Arthrite rhumatoïde, Sjogren  
Hépatite auto-immune, CBP  
Sarcoïdose  
...

#### Infections:

Virus: HIV, EBV, HCV, CMV  
Bactéries: tuberculose, brucellose, babésiose

#### Immuno-déficiences primaires

#### Autre

Greffes CSH et hépatique

#### Médicaments

# EXAMENS COMPLEMENTAIRES (6)

## Etiologie secondaire (2)

**Table 5**

Drug induced antibody formation.

---

Hapten and drug adsorption mechanisms

Drugs such as penicillins, cephalosporins, tetracycline, carbromal, hydrocortisone, oxaliplatin, and tolbutamide

Immune/ternary complex mechanisms

Drugs such as stibophen, metformin, quinine, quinidine, cephalosporins, amphotericin b, rifampicin, antazolin, thiopental, tolmetin, probenecid, nomifensine, cephalosporins, diclofenac and doxepin

Autoantibody mechanism

Drugs such as cephalosporins, tolmetin,  $\alpha$ -methyldopa, L-dopa, mefenamic acid, teniposide, pentostatin, cladribine, fludarabine, lenalidomide, procainamide and diclofenac

Non-immunologic protein adsorption

Cephalosporins, carboplatin, cisplatin and oxaliplatin

Unknown methods of AIHA causation

Drugs such as mesantoin, phenacetin, insecticides, chlorpromazine, acetaminophen, ibuprofen, thiazides, omeprazole, carboplatin, nalidixic acid, erythromycin, and streptomycin

---

# EXAMENS COMPLEMENTAIRES (7)

## Auto-Anticorps Chauds

### Etiologie secondaire (3)

Recommendations for the diagnosis of secondary wAIHA in adults.

Disease or condition	Tests to be performed in every patient	Tests to be performed only in some circumstances
SLE and other autoimmune diseases	<ul style="list-style-type: none"><li>. Antinuclear Abs (ANA) and if + with titer &gt; 1/80</li><li>: anti-dsDNA Abs and other specificities</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>. Lupus anticoagulant</li><li>. Anticardiolipin Abs</li><li>. Anti-<math>\beta</math>2gpI Abs (only for patients with overt SLE, strongly positive ANA or past history of thrombosis)</li><li>. CH50, C3 and C4 in case of SLE</li></ul>
Lymphoma and solid tumors	<ul style="list-style-type: none"><li>. Serum protein electrophoresis</li><li>. Immunoelectrophoresis</li><li>. Immunophenotyping of B-lymphocytes from peripheral blood</li><li>. <sup>a</sup>CT scan (chest/abdomen/pelvis)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>. Bone marrow biopsy = &gt; especially in the presence of monoclonal gammopathy or hypogammaglobulinemia, lymph nodes, and/or disproportionate splenomegaly on the CT scan and/or monotypic lymphocyte population</li></ul>
Primary immunodeficiency	<ul style="list-style-type: none"><li>. IgG, IgA and IgM levels</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>. Lymph node biopsy</li><li>. Extended phenotype of T/ NK and memory B cells</li><li>. Post vaccine (eg, tetanus toxoid, pneumococcal) serology</li></ul>
Infections	<ul style="list-style-type: none"><li>. HIV, HCV and (HBV)<sup>b</sup> tests</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>. CMV, EBV, Parvovirus B19 and others based on clinical and/or biological evidence</li></ul>

Notes: SLE = systemic lupus erythematosus; Abs = antibodies; ds = double strand.

<sup>a</sup> Unless an obvious case of SLE.

<sup>b</sup> Mostly pre-therapeutic.

## EXAMENS COMPLEMENTAIRES (8)

### Etiologie primaire (1)

Exclusion des causes secondaires

Pas de clone spécifique comme dans CAD

**Auto-Anticorps Chauds**

# TRAITEMENTS (1)

## Définitions

### Réponse complète (RC)

1. Normalisation de l'Hb
2. Absence de signes d'hémolyse (normalisation LDH, haptoglobuline, bilirubine, réticulocytes)
3. Absence de support transfusionnel

+ CAD: absence d'acrocyanose, absence de clone B kappa, absence d'IgM clonale

### Réponse (R)

1. Augmentation Hb  $> 2$  g/dL par rapport au diagnostic OU normalisation Hb
2. Persistance de signes d'hémolyse
3. Absence de support transfusionnel  $> 7$  jours

### Non réponse

Echec d'obtention R ou RC

**Important:** la négativation du CD n'est pas dans les critères de réponse

## TRAITEMENTS (2)

### Définitions

#### Durée de réponse

Durée écoulée entre obtention RC ou R et perte de R ou RC

#### Rémission

Mesurée entre l'arrêt complet de tout traitement et la perte de R ou RC

#### Résistance aux stéroïdes

Absence de R (ou RC) après 3 sem de traitement avec une dose d'au moins 1mg/kg de prednisolone

#### Dépendance aux stéroïdes

Nécessité de maintenir une dose de prednisolone  $> 10$  mg/jour pour maintenir R

#### Etat réfractaire

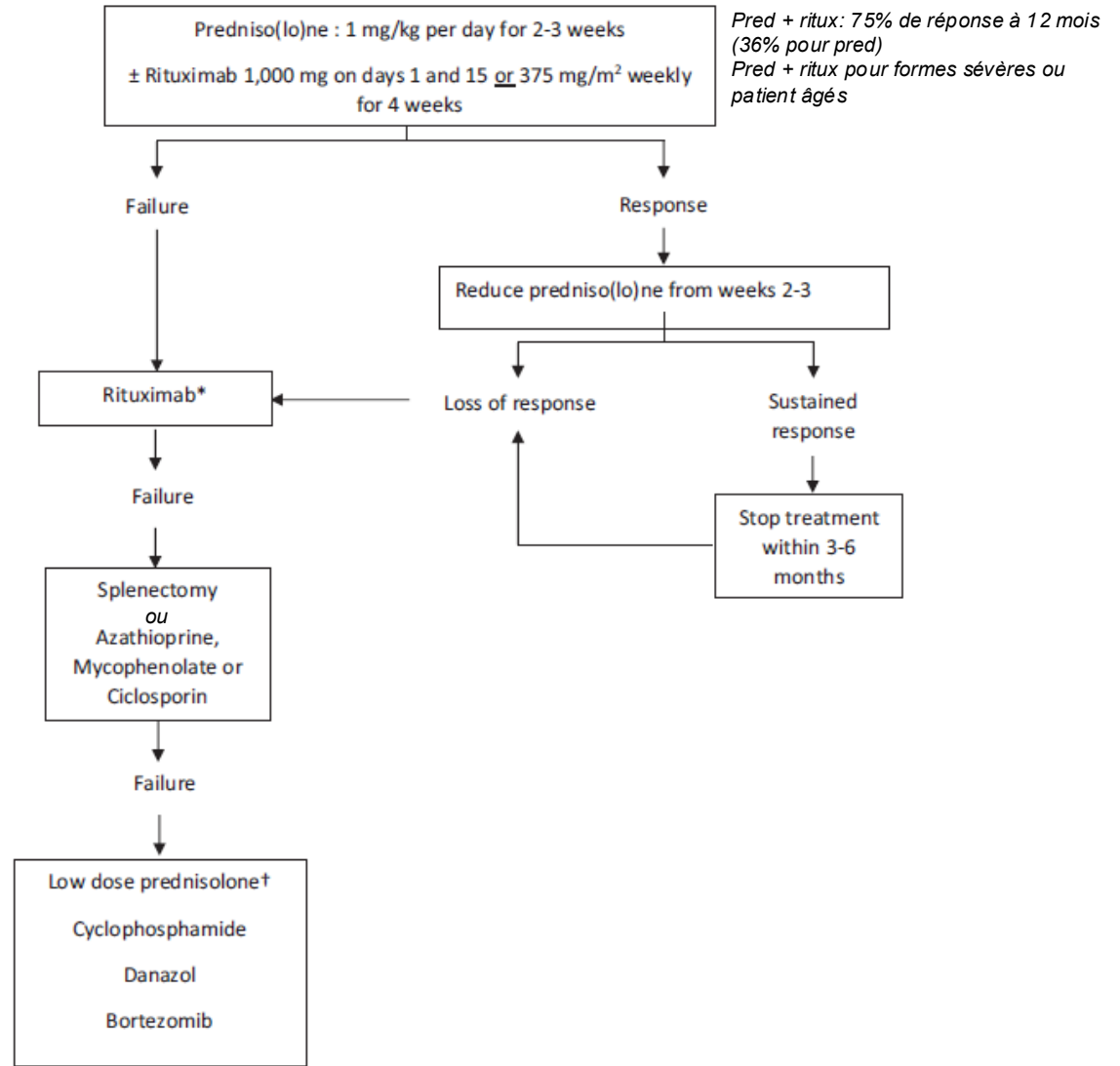
Pas de R après 3 lignes de traitement

Pour AHAI à ac chauds: splénectomie et/ou au moins 1 essai d'immunosuppresseur

# TRAITEMENTS (3)

## Etiologie primaire

### Auto-Anticorps Chauds



\*If rituximab given first line, re-treatment may be considered if a sustained response was achieved. Otherwise, move to third line options.

† Prednisolone ≤10 mg daily ± a steroid sparing agent

HSCT; haematopoietic stem cell transplantation

Fig. 1. Therapeutic algorithm for warm-antibody mediated AIHA in adults

# TRAITEMENTS (4)

## Auto-Anticorps Chauds

### Etiologie primaire

#### Situation d'urgence

Transfusion inefficace

Envisager bolus iv 500 mg methylprednisolone

IVIg: 0,4 à 0,5 g/kg/jour pdt 5 jours

Plasmaphérese (case reports)

*ou*

# TRAITEMENTS (5)

## Auto-Anticorps Chauds

### Etiologie secondaire

#### LLC

14% de CD IgG + au diagnostic

Prévalence AHAI: 2.9% Binet A, 10,5% Binet B

Traitement doit tenir compte du stade de la LLC

Stade A: corticoïdes, ritux utilisé en seconde ligne (71% de réponse mais pas soutenue)

Pas de réponse corticoïdes et/ou ritux ou LLC active: traiter la CLL

Cas multiréfractaire ou del17q ou mutation TP53: ibrutinib

Eviter la splénectomie

#### SLE

AHAI à ac chaud chez 10% des patients avec SLE (origine africaine), anti-phospholipides associés

Pas de guidelines

Généralement bonne réponse aux corticoïdes

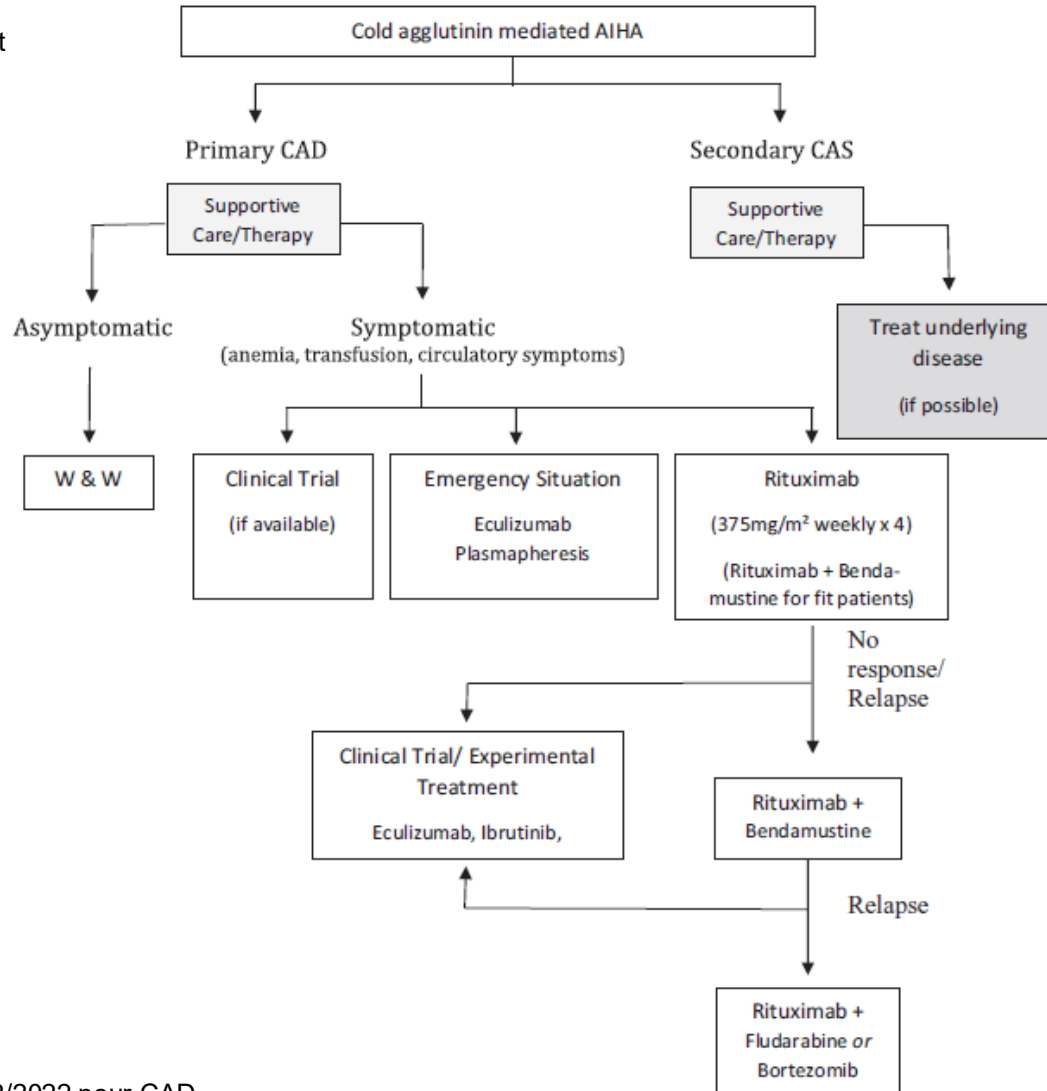
Ritux si rechute ou pas de réponse, MMF en troisième ligne

Eviter splénectomie surtout si APL+

# TRAITEMENTS (6)

## Etiologie primaire et secondaire

Si Hb < 10 g/dL (comorbidité)  
Acrocyanose n'est pas facteur de tt



Auto-Anticorps Froids

Sutimlimab (Enjaymo) approuvé 02/2022 pour CAD

CEC: réchauffeur et eculizumab si risque élevé

# TRAITEMENTS (7)

## Etiologie primaire et secondaire

### Situation d'urgence

Transfusion + Eculizimab

Plasmaphérèse à 37°C:

réduction IgM circulante

pas d'étude prospective mais recommandé

Eviter transfusion PFC = apport de complément

Auto-Anticorps Froids

# RISQUES RECHUTES / DECES (1)

	<b>wAIHA (n = 225) IgG (n = 158); IgG +C (n = 67)</b>	<b>CAD (n = 107)</b>	<b>Mixed AIHA (n = 24)</b>	<b>Atypical AIHA (n = 22)</b>
<b>Hematologic features of primary AIHA patients</b>				
Median Age at diagnosis (years, range)	67 (5–94); 65 (21–92)	70 (28–94)	61 (20–86)	45 (25–78)
Hb (g/dL), median (range)	7.3 (2.1–14.1); 6.5 (2.0–11.5)	8.2 (4.0–13.5)	6.4 (4.3–10.7)	6.6 (3.0–10.9)
LDH (U/LN), median (range)	1.7 (0.6–26.7); 1.8 (0.8–7.2)	1.4 (0.3–12.2)	1.7 (0.6–9.8)	2 (0.7–18.1)
Ret ( $\times 10^9/L$ ), median (range)	180 (22–644); 143 (53–641)	123 (13–644)	181 (45–576)	195 (29–780)
Inadequate reticulocytosis, n of pts (%)	86 (54); 35 (52)	69 (64)	15 (62)	14 (64)
<b>Hazard risks for AIHA relapse</b>				
Hb at onset	<6 g/dl	HR 1.98	95% CI 1.2–3.2	
AIHA type	Non wAIHA	HR 1.21	95% CI 0.9–1.5	
Evans Syndrome	Co-presence of ITP	HR 1.84	95% CI 1.2–2.7	
<b>Hazard risks for AIHA related death</b>				
Evans Syndrome	Co-presence of ITP	HR 8	95% CI 2.5–26	
AIHA related complications	Acute renal failure	HR 6.3	95% CI 1.4–29	
Multi-treatment (>4 lines)	Infections	HR 4.8	95% CI 1.5–15	

# TRAITEMENT DES SYMPTOMES (1)

## Transfusion

Si état du patient le justifie

Tenir compte des antécédents transfusionnels / obstétricaux du patient

Tenir compte de la présence d'anticorps circulants

GR transfusés seront hémolysés à la même vitesse que GR du patient

CAD, SAD, destruction des IgM circulantes avec DTT

AHA auto-ac chauds: allo-adsorption (complexe, long et rarement concluant)

Transfuser en iso-Phéno-RhK (Fy, Jk, Ss)

Surveiller les 20 premières minutes de la transfusion

## Prévention

### Thromboprophylaxie

Risque x10

Critères de sévérité: Hb basse, LDH élevée, splénectomie.

Recommandée chez tous les patients hospitalisés

Conseillée en ambulatoire si risques associés et hémolyse importante

### Supplémentation

Acide folique

### CAD

Protection contre le froid

# AHAI et TRANSPLANTATION (1)

## Organe solide

Passenger Lymphocytes Syndrome

Lymphocytes résiduels du donneur O, A ou B

Anémie Hémolytique «Allo-Immune »

Titrage des **IgM** et IgG

Rein>foie>cœur

Apparaît 3 à 24 jours après la transplantation

Transitoire car pas de prise des lymphocytes

## Cellules Souches Hématopoïétiques

## AHAI et HSCT (1)

Sévère

Réfractaire

Mortalité élevée

2 à 4% des HSCT

4099 HSCT pédiatrique et adulte 2000-2015

60 cas AHAI

49 Ac chaud

11 Ac froid

Médiane d'apparition: 6 mois post transplantation

Ac froid d'apparition plus précoce

Traitement:

Corticothérapie: 88%

Rituximab: 63%

IVIG: 67%

Plasmaphérèse chez 7 patients

Splénectomie chez 7 patients

Réponse complète 33/60

Réponse 7/60

Survie médiane à l'installation de l'AHAI: 229 jours

## Facteurs de risque

**TABLE 4** | Risk factors and therapies for post-allogenic hematopoietic stem cell transplant (allo-HSCT) AIHA.

	<b>Risk factor</b>	<b>Estimated risk</b>	<b>95% confidence interval</b>	<b>P-value</b>
<b>Risk factors associated with AIHA development post-allo-HSCT</b>				
Recipient	Age < 15 years	n.a.	n.a.	0.005
Disease features	Nonmalignant diagnosis pre-HSCT	3.5 (Hazard risk)*	1.1–10.9	0.031
Donor	Unrelated donor	1.45 (Relative risk)	1.05–1.99	0.02
	Unrelated donor	5.28 (Hazard risk)	1.22–22.9	0.026
	HLA mismatch donor	n.a.	n.a.	0.005
Source of stem cells	Cord blood use	n.a.	n.a.	0.005
Conditioning	Alemtuzumab use	2.5 (Hazard risk)*	1.1–5.7	0.028
Allo-HSCT complications	Chronic GVHD	12.17 (Relative risk)	96–1.54	0.018
	CMV reactivation	3.4 (Hazard risk)*	1.2–9.6	0.02

## AHAI et HSCT (2)

### Traitement

Drug	Dose	N of patients	ORR (range)	N of line
<b>Therapy of AIHA post-allo-HSCT</b>				
Wait & See	–	6	83%	–
Steroids	1–2 mg/Kg day	125	20% (10–50)	1st line
IVIg	2 g/Kg × 2 days	51	12% (10–50)	1st line
Splenectomy	–	18	38% (0–100)	2nd line
PEX	–	10	10 (0–14)	>2nd line
Rituximab	375 mg/sm/week × 4 weeks	18	89% (75–100%)	1st line
		125	52% (36–100)	2nd line
Alemtuzumab	15 mg/day × 3/wk	2	50% (0–100)	>2nd line
Bortezomib	1,3 mg/mq	19	63% (25–100)	>2nd line
Sirolimus	3 mg/sm D1–1 mg/sm day	6	100%	>2nd line
Eculizumab	900 mg	3	33% (0–50)	>2nd line
Daratumumab	16 mg/Kg/week	3	100%	>2nd line
Abatacept	10 mg/Kg day	3	100%	>2nd line

*n.a.* not available. \* refers to all the autoimmune complications; PEX, plasma exchange.

Première ligne: ritux le plus intéressant

Ritux plus intéressant en première ligne

Splénectomie sans effet

**QUESTIONS?**

**MERCI**