

## Le test direct à l'antiglobuline

G. Canellini, Institut Central des Hôpitaux, Hôpital du Valais, Sion

### Introduction

Le test direct à l'antiglobuline (TDA) nommé anciennement test de Coombs direct, a été mis au point il y a plus de 70 ans et reste un élément clé dans le domaine de la transfusion et l'investigation des anémies hémolytiques autoimmunes (AHA). Le TDA identifie la sensibilisation des hématies *in vivo* par des immunoglobulines (Ig) et/ou du complément. La majorité des réactifs détectent la présence d'IgG et de C3d fixés sur les globules rouges mais en principe pas les IgA ni les IgM.

### Performance du TDA

Le prélèvement doit être réalisé sur tube anticoagulé par EDTA afin d'éviter l'activation du complément *in vitro*. Il existe 2 méthodes principales : en tube et en carte-gel. La technique en carte-gel (sensibilité 65%, spécificité 70%), recommandée actuellement, est plus sensible car dépourvue d'étape de lavage.

### Faux négatifs

En présence d'IgA, d'IgM, d'anticorps de faible affinité, ou d'un taux d'IgG et de C3d inférieur au seuil de détection, le TDA donnera un résultat faussement négatif. En effet, au moins 200 à 500 molécules d'IgG par hématie sont nécessaires pour obtenir un résultat positif. Des techniques plus sensibles comme, la cytométrie de flux ou des tests enzymatiques peuvent révéler des IgG non décelées par le test classique mais elles sont rarement disponibles dans les laboratoires de routine. Le test d'éluion, qui consiste à détacher les anticorps fixés puis à les identifier, a une sensibilité proche de la cytométrie de flux.

Chez 5-10% des patients avec AHA le TDA reste négatif. Dans ce cas, il importera dans un premier temps de répéter le TDA pour exclure un problème technique, de réaliser un TDA détectant les IgA et les IgM, et d'effectuer une éluion. Si aucun anticorps n'est décelable, le diagnostic d'AHA sera posé après exclusion des autres causes d'hémolyse et réponse à un traitement de stéroïdes (Figure 1).

### Faux positifs

Les globules rouges des sujets sains peuvent porter des molécules d'IgG ou de complément, fixées de manière non spécifique ou participant au processus physiologique de senescence. Un TDA positif est retrouvé chez environ 0.1% des donneurs de sang et chez 1-15% des patients hospitalisés, sans aucun signe d'hémolyse. Le suivi réalisé chez les donneurs de sang avec TDA positif montre que 3-10% développent une AHA, 20-25% ont un TDA qui devient négatif et 60-70% gardent un TDA positif sans maladie.

Une fixation non spécifique d'IgG ou de C3d sur les hématies ou des réactions croisées sont plus précisément observées lors de maladies hépatiques, d'hypergammaglobulinémie, d'infections, de néoplasie, de lupus systémique, de syndrome des antiphospholipides, de maladies rénales, d'administration de médicaments, d'IgG et de sérum anti-lymphocytaire. Le prélèvement sur sang de cordon peut également amener à un résultat faussement positif en raison de la gelée de Wharton. La valeur prédictive du TDA n'est donc solide que si elle est corrélée à une hémolyse.

### Application clinique

La détermination du TDA est utile dans les situations suivantes : tests transfusionnels, hémolyse après transfusion, anémie hémolytique, hémolyse néonatale. Un TDA positif indique qu'une anémie hémolytique est vraisemblablement d'origine immune (Figure 1).

- AHA: Les autoanticorps chauds en sont la cause la plus fréquente. Le TDA est de spécificité IgG +/- C3d. Une éluion s'avère nécessaire si les autoanticorps ne sont pas décelables dans le plasma. La corrélation entre l'intensité du TDA et la sévérité de l'hémolyse est mauvaise et le TDA peut rester positif malgré la résolution de l'hémolyse après traitement. Lors d'agglutinines froides, le TDA est de spécificité C3d, signe indirect de l'activation du complément par des IgM s'étant détachées de la surface des hématies. Un TDA négatif peut raisonnablement écarter le diagnostic d'agglutinines froides car retrouvé seulement dans 2% des cas. Pour poser le diagnostic d'autoanticorps froids, il est nécessaire de réaliser un bilan d'agglutinines froides, en acheminant les prélèvements dans un thermos à 37°C.

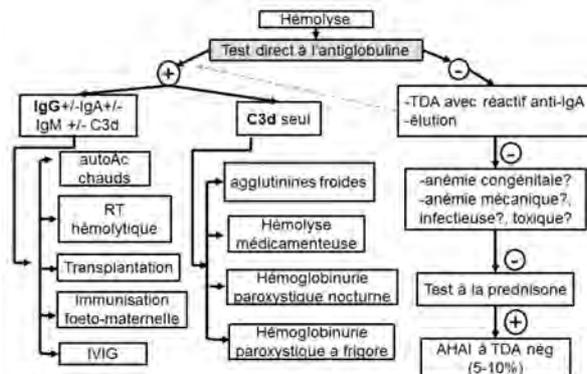


Figure 1 : Utilité du TDA en cas d'hémolyse (AHA= anémie hémolytique autoimmune; autoAc=autoanticorps; Ig=immunoglobulines; IVIG=immunoglobulines intraveineuses, nég=négatif; RT=réaction transfusionnelle; TDA=test direct à l'antiglobuline)

- Anémie hémolytique induite par les médicaments : plus de 150 médicaments ont été associés au déclenchement d'une hémolyse, surtout les céphalosporines, les pénicillines et leurs dérivés, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, la quinine/quinidine. Le TDA est positif de type C3d, avec ou sans IgG, ou parfois négatif. L'éluion reste négative. Des tests spécialisés (laboratoire de référence international) en présence du médicament ou de son métabolite permettent de confirmer le diagnostic mais sont rarement réalisés.
- Alloimmunisation après transfusion : un TDA devenant positif, d'intensité faible, dans les 14 jours après une transfusion fait suspecter une alloimmunisation qui sera recherchée par le test d'éluion.
- Immunsation foeto-maternelle : Un TDA de spécificité IgG, de faible intensité, est observé lors d'incompatibilité ABO entre la maman et le bébé ou lors d'injection de Rhophylac® (prophylaxie anti-D), situations où l'hémolyse est en générale peu sévère. Un TDA positif ne permet donc pas de prédire la gravité de l'hémolyse néonatale ou la nécessité d'une phototherapie. Par contre, un TDA fortement positif ( $\geq 2+$ ) chez un nouveau-né, sans anticorps identifiés dans le plasma de la maman, doit faire rechercher une alloimmunisation par un anticorps anti-privé, en réalisant un test d'éluion ainsi qu'un test de compatibilité entre les globules rouges du papa et le plasma de la maman.

### Recommandations en pratique

Devant un TDA nouvellement positif, le médecin doit effectuer un bilan d'hémolyse (dosage de l'hémoglobine, des réticulocytes, de l'haptoglobine, de la bilirubine totale et conjuguée, des LDH) et une recherche d'anticorps irréguliers chez le patient.

En présence d'hémolyse :

- Le type d'anticorps responsable de l'hémolyse (Figure 1) est déterminé par le contexte clinique, la spécificité du TDA, le résultat de la recherche d'anticorps irréguliers et éventuellement du test d'éluion. Selon l'origine de l'hémolyse, le patient sera adressé à un médecin hématologue, qui jugera l'indication à un bilan étiologique.

En l'absence d'hémolyse :

- La signification d'un TDA positif sans hémolyse est incertaine. Les études suggèrent qu'en l'absence de symptômes ou de signes orientant vers une pathologie, le risque de développer une maladie auto-immune ou une néoplasie sous-jacente est relativement faible. Sans éléments particuliers à l'anamnèse et à l'examen clinique, un nouveau contrôle du TDA à 6 mois est recommandé.

### Références

- [1] Jäger U, Barcellini W, Broome CM, et al. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults : Recommendations from the First International Consensus Meeting. Blood Rev. 2019 <https://doi.org/10.1016/j.blre.2019.100648>
- [2] Parker V, Torney CA. The Direct Antiglobulin Test: Indications, Interpretation and Pitfalls. Arch Pathol Lab Med. 2017; 141:305-310.
- [3] Canellini G. Les anémies hémolytiques auto-immunes. Labmag 2019 ; 5 : 92-8

### Personne de contact

Dr Giorgia Canellini

giorgia.canellini@hopitalvs.ch