

06 Hémostase : plaquettes

06-01 La dynamique mitochondriale et le métabolisme oxydatif des mégacaryocytes sont essentiels pour initier la formation plaquettaire

S. Poirault-Chassac^{*1}, V. Nivet-Antoine², A. Houvert³, A. Kauskot⁴, E. Lauret⁵, R. Lai-Kuen⁶, I. Dusanter-Fouri³, D. Baruch⁴

¹ UMR_S 1140, Université Paris-Descartes, Paris ; ² UMR_s1140 université paris Descartes, faculté de pharmacie, AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris ; ³ Inserm U1016, CNRS UMR8104, Institut Cochin, Paris ; ⁴ UMR S1140, Université Paris Descartes, Paris ; ⁵ UMR S1016, Université Paris Descartes, Paris ; ⁶ Pticm, Inserm us 025, CNRS ums 3612, Université Paris-Descartes, Paris

Introduction. La thrombopoïèse est la dernière étape du développement des mégacaryocytes (MK) entraînant la formation de plaquettes. Cette formation est augmentée au niveau des vaisseaux post-pulmonaires hyperoxiques par rapport aux artères pulmonaires. Ces observations suggèrent un rôle de la tension en oxygène et des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans la biogenèse plaquettaire. Nous avons fait l'hypothèse d'un mécanisme régulateur de la biogenèse plaquettaire à partir de mégacaryocytes (MK) matures humains, en lien avec les variations des espèces réactives de l'oxygène (ERO).

Résultats. Ici, nous montrons qu'un agent antioxydant tel que la N-acétylcystéine (NAC) inhibe la formation de MK plaquetto-gènes (FMP) humains issus de la différenciation de cellule CD34+ de sang de cordon, tandis qu'un agent prooxydant comme le nicotinamide (NAM) améliore la biogenèse plaquettaire. Nous avons exploré l'effet de la régulation de la FMP par les variations des ERO endogènes, et notamment d'origine mitochondriale (mt). L'addition de MitoTEMPO conduit à une inhibition des mtERO et à une diminution de la FMP, tandis que l'augmentation des mtERO par l'expression transitoire inducible, du mutant SIRT3 à désacétylation nulle, conduit à une augmentation de la FMP. Afin d'affiner la compréhension de ce processus, nous avons mesuré le facteur de circularité des MK au cours de la FMP et nous avons défini le stade correspondant aux premières déformations dans des MK dits intermédiaires, entre le stade initial des MK ronds et le stade terminal des MK formant de longues proplaquettes. Une augmentation des mtERO n'est visible que dans ces MK intermédiaires, et pas dans les MK ronds ou terminaux. Dans d'autres cellules, les variations des mtERO peuvent s'associer à des modifications de la fusion et fission des mitochondries. Nos observations montrent dans les MK ronds un réseau mitochondrial interconnecté et dans les MK terminaux des mitochondries fragmentées, suggérant de fortes modifications de la dynamique mitochondriale. Nous avons montré que l'initiation de la thrombopoïèse est associée au recrutement mitochondrial de la protéine de fission Drp1, suggérant une induction de la fission mitochondriale dans les MK ronds. Le blocage de la fission par un inhibiteur pharmacologique de l'activité de Drp1, le Mdivi-1, diminue la FMP et les mtERO, tandis que la diminution des mtERO par le MitoTEMPO diminue le recrutement mitochondrial de la protéine de fission Drp1.

Conclusion. Ces résultats indiquent une relation réciproque entre les mtERO et la fission mitochondriale dans les MK matures et suggèrent une boucle d'amplification qui initie la thrombopoïèse.

06-02 Caractérisation de nouveaux variants du gène de la tubuline $\alpha 4A$ impliqués dans une thrombopénie constitutionnelle

J. Carré^{*1}, S. Poirault-Chassac², C. Bachelot-Loza³, A. Houvert⁴, M.F. Hurtaud-Roux⁵, P. Gaussem⁶, S. Bayart⁷, M. Castelle⁸, A. Harroche⁹, I. Dusanter-Fouri⁴, A. Vincenot¹⁰, D. Pidard³

¹ Hôpital européen Georges-Pompidou AP-HP, Paris ; ² UMR_S 1140, Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes, Paris ; ³ Université Paris Descartes, faculté de pharmacie, Inserm UMRS 1140, Paris ; ⁴ Inserm U1016, CNRS UMR8104, Institut Cochin, Paris ; ⁵ Service d'hématologie biologique, Hôpital Robert-Debré (AP-HP), Paris ; ⁶ UMRS 1140 université Paris Descartes, faculté de pharmacie, AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris ; ⁷ CRTH, CHU de Rennes, Rennes ; ⁸ Crc maladies hémorragiques constitutionnelles, Hôpital Necker AP-HP, Paris ; ⁹ Service d'hématologie, Hôpital Necker, Paris ; ¹⁰ Service d'hématologie biologique, Hôpital Robert-Debré, Paris

Introduction. Les thrombopénies constitutionnelles (TC) forment un groupe de pathologies plaquettaires héréditaires rares, de symptomatologie variable et de diagnostic difficile. Malgré la découverte récente de l'implication de nombreux gènes dans ces pathologies, environ la moitié des patients suspects de TC reste sans diagnostic étiologique précis.

Patients et méthodes. Le dépistage génétique en NGS (*Next generation sequencing*) d'une cohorte de patients suspects de TC sans étiologie moléculaire retrouvée a permis d'identifier trois nouveaux variants du gène de la tubuline $\alpha 4A$ (*TUBA4A*), chez des sujets macrothrombopéniques de deux familles distinctes et chez un patient isolé dans un contexte de thrombopénie familiale. Dans les familles étudiées, le variant est transmis sur un mode autosomal dominant. L'objectif de notre travail est de caractériser au niveau cellulaire l'implication de variants de *TUBA4A* dans l'apparition de TC, via des analyses morphologiques, fonctionnelles et biochimiques réalisées chez les sujets porteurs d'un même variant familial ainsi que chez des sujets sains.

Résultats. En microscopie optique, nous avons mis en évidence des protrusions cytoplasmiques plus rares et plus épaisses pour les mégacaryocytes plaquetto-gènes obtenus après mis en culture de cellules progénitrices CD34+ périphériques de patients porteurs d'un variant. Au niveau plaquettaire, une diminution de 35 % de l'expression de la tubuline $\alpha 4A$ a été objectivée grâce à la technique de Western blot dans les plaquettes de patients de l'une des familles. L'immunomarquage de plaquettes fixées sur lames et observées en microscopie à épifluorescence révèle une augmentation du nombre de préplaquettes circulantes, accompagnée d'une anomalie de répartition de la tubuline α au sein de la bande marginale plaquettaire chez les patients. Dans une seconde étape, la production de vecteurs lentiviraux permettant une expression inducible des variants protéiques identifiés a montré qu'il est ainsi possible d'observer une augmentation du contenu en tubuline $\alpha 4A$ cellulaire après induction. Cette approche expérimentale nous permettra d'analyser spécifiquement l'impact des variants dans la différenciation et maturation terminale (thrombopoïèse) des progéniteurs mégacaryocytaires humains en culture.

Conclusion. Les résultats obtenus témoignent de l'association entre la présence d'un variant de *TUBA4A* et des modifications phénotypiques notables. De plus, la caractérisation précise des anomalies cellulaires permettra à la fois d'étendre le panel des gènes impliqués dans le diagnostic de TC, mais également d'améliorer les connaissances sur les rôles de la tubuline $\alpha 4A$ et de ses partenaires au cours de la mégacaryopoïèse et de la thrombopoïèse.

06-03 Le traitement du purpura thrombotique thrombocytopénique auto-immun par caplacizumab prévient la survenue d'évolutions défavorables jusqu'à l'amélioration de l'activité ADAMTS13

P. Coppo^{*1}, S. Malot², E. Azoulay³, E. Maury⁴, L. Galicier⁵, P. Poullin⁶, P. François⁷, C. Presne⁸, R. Dhote⁹, M. Hamidou¹⁰, S. Saheb¹¹, A. Wynckel¹², S. Girault¹³, Y. Delmas¹⁴, J.F. Augusto¹⁵, P. Perez¹⁶, A. Charvet Rumpler¹⁷, C. Deligny¹⁸, A. Veyradier¹⁹, Y. Benhamou²⁰

¹ Hématologie, Hôpi, Paris ; ² Hématologie clinique, CHU Saint-Antoine, Paris ; ³ Réanimation médicale, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ⁴ Réanimation médicale, CHU Saint-Antoine, Paris ; ⁵ Immunologie clinique, CHU Saint-Louis, Paris ; ⁶ Hémaphèrese, CHU La Timone, Marseille ; ⁷ Néphrologie, CHU Albert Calmette, Lille ; ⁸ Néphrologie, CHU Amiens, Amiens ; ⁹ Médecine interne, AP-HP, Paris ; ¹⁰ Médecine interne, CHU de Nantes, Nantes ; ¹¹ Hémaphèrese, Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, Paris ; ¹² Réanimation, CHU Reims, Reims ; ¹³ Hématologie, CHU de Limoges Dupuytren, Limoges ; ¹⁴ Néphrologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux ; ¹⁵ Néphrologie, CHU Angers, Angers ; ¹⁶ Réanimation, CHU Nancy, Nancy ; ¹⁷ Hématologie, CHRU Jean Minjoz Besançon, Besançon ; ¹⁸ Médecine interne, CHU de Fort de France, Fort-de-France, Martinique ; ¹⁹ Hématologie biologique, Hôpital Lariboisière, Paris ; ²⁰ Médecine Interne, CHU Rouen, Rouen

Introduction. Contexte : Le caplacizumab, un nanocorps anti-facteur Willebrand, s'est révélé efficace dans le purpura thrombotique thrombocytopénique auto-immun (PTTI) dans deux essais cliniques. Il a bénéficié d'une autorisation de mise sur le marché pour les patients atteints d'un PTTI au diagnostic depuis septembre 2018. À ce jour, aucune donnée de vraie vie n'est disponible.

Objectif : Évaluer l'efficacité et la tolérance du caplacizumab chez des patients atteints de PTTi non sélectionnés.

Patients et méthodes. Matériel et méthodes : En France, de septembre 2018 à octobre 2019, nous avons traité selon un schéma consensuel au plan national 68 patients avec un diagnostic clinique de PTTi. Le traitement a consisté en une « triplette » associant dès le diagnostic des échanges plasmatiques (EP), une immunosuppression par corticoïdes et rituximab, et du caplacizumab. L'évolution des patients a été comparée à celle de 160 patients historiques appariés en termes de sévérité et traités selon le schéma historique par EP et corticoïdes au diagnostic, et rituximab en cas de réponse défavorable au traitement standard.

Résultats. Résultats : Tous les patients sauf un ont guéri du PTTi et ont normalisé leurs plaquettes en cinq jours (25^e-75^e percentile : 4-6). Trois patients (4,5 %) ont présenté une exacerbation d'évolution favorable. Aucune maladie réfractaire n'a été observée. Une patiente (1,5 %) de 83 ans est décédée à J9 d'une embolie pulmonaire massive. Chez les survivants, la réponse durable a nécessité cinq EP (4-6,75), ce qui correspond à un volume de plasma de 233 mL/kg (177-295). La durée totale de traitement par caplacizumab a été de 33 jours (29-37). Une activité ADAMTS13 détectable (activité ≥ 20 %) a été le plus souvent observée aux semaines 3 ou 4 après le dernier EP (80 %). Cependant, chez 14 patients (20 %), l'activité ADAMTS13 est devenue détectable après J30. L'évolution sous caplacizumab a été la même chez les patients ayant une atteinte cardiaque (troponine > 0,25 µg/L) ou une atteinte cérébrale cliniquement significative (épilepsie, coma, déficit focal), historiquement de mauvais pronostic, que chez ceux sans ces atteintes d'organe. Après un suivi médian de 12 mois (5-12), aucune rechute clinique n'a été observée. Des effets secondaires liés au caplacizumab ont été observés chez 34 patients (50 %) après un délai de 10,5 jours (4,5-22,5), à type de saignements mineurs ; des effets secondaires jugés graves ont été observés dans quatre cas. Les patients traités par la « triplette » ont normalisé leur plaquette plus rapidement que les patients historiques, et moins d'exacerbations ont été observées (p < 0,001 et p < 0,01, respectivement). La fréquence des décès et des maladies réfractaires était également plus faible (p = 0,03 et p = 0,01, respectivement). Ce régime a également diminué très significativement le nombre d'EP et les volumes de plasma d'un rapport de 2 (p < 0,001). La survie sans rechute était plus élevée chez les patients traités par la « triplette » (p = 0,03).

Conclusion. Conclusion : Dans cette première étude de « vraie vie », nous montrons qu'une « triplette », associant des EP, un traitement immunosuppresseur par corticoïdes et rituximab, et du caplacizumab en première ligne prévient les évolutions défavorables de la maladie et diminue très significativement la charge de soin. Le caplacizumab, par son action immédiate, protège les patients jusqu'à l'amélioration de l'activité ADAMTS13 par le rituximab. En gommant le pronostic historiquement péjoratif des atteintes cardiaque et cérébrale, il améliore pour la première fois en plus de 20 ans la survie des patients.

06-04 Impact de la sévérité initiale dans l'essai HERCULES évaluant l'efficacité du caplacizumab dans le traitement du purpura thrombotique thrombocytopénique acquis

P. Coppo^{*1}, M. Scully², S. Cataland³, K. Pavenski⁴, P. Knoebl⁵, H.J. Kremer⁶, F. Peyvandji⁷, A. Meijhan⁸, J. De La Rubia⁹, H. De Winter¹⁰, R. Sousa¹¹, F. Callewaert¹²

¹ Hématologie, Hôpi, Paris ; ² Department of Haematology, University College London hospitals NHS trust, Londres, Royaume Uni ; ³ Division of Hematology, Université d'État de l'Ohio, Columbus, États-Unis ; ⁴ Department of laboratory Medicine and pathobiology, St. Michael's Hospital/Research Institute, Toronto, Canada ; ⁵ Department of Medicine 1, division of Hematology and hemostasis, Vienna University Hospital, Vienne, Autriche ; ⁶ University Clinic of Hematology and central Hematology laboratory, Inselspital, University Hospital of Bern, Bern, Suisse ; ⁷ Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia and Thrombosis Center, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italie ; ⁸ Division of Hematology, Duke University Medical Center, Durham, États-Unis ; ⁹ Hematology Department, Universidad Católica de Valencia Hospital Dr. Peset, Valence, Espagne ; ¹⁰ Clinical Development, Ablynx NV, Zwijnaarde, Belgique ; ¹¹ Medical Affairs, Sanofi, Porto Salvo, Portugal ; ¹² Medical Affairs, Sanofi, Gand, Belgique

Introduction. Le Purpura Thrombotique Thrombocytopénique acquis (PTTA) est une forme de microangiopathie thrombotique spontanément fatale en l'absence de traitement, en raison de la formation de thrombi plaquettaires riches en facteur Willebrand dans la majorité des vaisseaux de la microcirculation. Au diagnostic, des facteurs prédictifs de mortalité ont été identifiés. Ce travail étudie l'évolution des patients inclus dans l'essai HERCULES en fonction de ces facteurs pronostiques.

Patients et méthodes. Le score de sévérité français est un score allant de 0 à 4 évaluant trois critères :

- atteinte cérébrale : oui = 1, non = 0,
- LDH : > 10 × VNS = 1 ; ≤ 10 × VNS = 0,
- âge : > 60 ans = 2 ; > 40 et < 60 ans = 1 ; < 40 ans = 0

Un score ≥ 3 indique une maladie très sévère. L'atteinte cardiaque, caractérisée par un taux de troponine cardiaque sérique (cTn) > 2,5 × VNS est un autre facteur de risque indépendant de mortalité. Dans l'essai HERCULES, un PTTa très sévère était défini comme un score de sévérité français ≥ 3 OU une atteinte neurologique sévère (coma, convulsion, déficit focal) OU une atteinte cardiaque. Les données des patients inclus ont été analysées en fonction de la sévérité initiale pour une analyse descriptive.

Résultats. Dans le bras placebo, chez les patients avec une maladie définie comme moins sévère à l'inclusion, un cas de décès a été observé (2,1 %) ; chez les malades très sévères, deux décès (8,0 %) ont été observés, dans le bras placebo. Vingt patients (41,7 %) ont eu des exacerbations et un (2,1 %) une maladie réfractaire parmi les patients avec une maladie moins sévère Vs respectivement huit patients (32,0 %) et deux patients (8,0 %) pour les maladies très sévères. Dans le bras caplacizumab, le traitement par caplacizumab a pu diminuer le délai de normalisation plaquettaire ainsi que le nombre de décès et les exacerbations, durant la période de double aveugle de l'étude. Trois exacerbations (10 %) ont été observées, toutes avec un PTTa très sévère, mais aucun décès ni maladie réfractaire ont été rapportés dans le bras caplacizumab.

Conclusion. Quel que soit le niveau de sévérité initial, un bénéfice est observé pour tous les patients traités par caplacizumab. Le caplacizumab semble ainsi gommer les facteurs de mauvais pronostic initial historiques, et pourrait améliorer le pronostic de cette pathologie, en particulier pour les formes les plus graves.

06-05 Évaluation de la réponse à l'arrêt des agonistes des récepteurs à la thrombopoïétine dans le purpura thrombopénique immunologique : expérience du service d'oncologie-hématologie du centre hospitalier d'Avignon

S. Sabri^{*1}, S. Chebrek¹, B. Slama², H. Zerazhi³, C. Tchouko², E. Kerneis², STS. Takam¹

¹ Oncologie médicale et hématologie clinique, Centre hospitalier d'Avignon, Avignon, France ; ² Oncologie médicale et hématologie clinique, CH Henri Duffaut, Avignon ; ³ Hématologie, CH, Avignon

Introduction. Le purpura thrombopénique immunologique (PTI) est une maladie auto-immune caractérisée par une diminution du taux de plaquettes circulantes entraînant une majoration du risque hémorragique. Le romiplostim comme l'eltrombopag, agonistes des récepteurs à la thrombopoïétine (ARTPO) ont fait la preuve d'une efficacité remarquable dans des essais thérapeutiques contrôlés menés chez des patients adultes atteints de PTI le plus souvent chronique, qu'ils soient ou non splénectomisés [1-2].

Matériels et méthodes. Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive des réponses à l'introduction et l'arrêt des ARTPO sur une série de 71 patients atteints de PTI chronique, diagnostiqués et suivis entre janvier 2003 et octobre 2019. Le diagnostic a été posé après, un bilan biologique comprenant hémogramme avec frottis de sang ; bilan de coagulation, sérologies hépatiques et HIV, bilan immunologique et myélogramme pour certains.

Résultats. L'âge moyen au diagnostic est de 71 ans (18-92), avec un sex-ratio H/F de 1,60. Le taux moyen des plaquettes au diagnostic était de 16 G/L (10-52). Tous les patients ont reçu au moins deux lignes thérapeutiques, moyenne de trois (2-6). La corticothérapie représente la première ligne classique, avec une corticosensibilité chez 25,35 %, une corticodépendance chez 35,21 % et une corticorésistance chez 36,61 % des patients. 63,38 % ont reçu du rituximab hebdomadaire.

Concernant les ARTPO, 50 % (35) des patients ont reçu du romiplostim seul à la dose moyenne de 4 µg/kg (1-10), 22,5 % (16) de l'eltrombopag seul avec une dose moyenne de 50 mg (25-75), 27,5 % (20) ont reçu les deux molécules après échec, réponse partielle ou intolérance de l'une. Les indications des ARTPO : 71,83 % pour une rechute et 28,17 % pour PTI réfractaire aux autres lignées thérapeutiques, la durée moyenne de traitement est de 129,4 semaines (4-288) pour le romiplostim, 77,5 semaines (4-144) pour l'eltrombopag, 44,75 semaines (16-144) pour les deux. Une réponse complète est notée chez 54,9 %, partielle chez 19,71 %, et échec dans 25,35 %, avec un délai moyen de réponse de quatre semaines (2-12) pour les deux molécules. La tolérance était bonne chez l'ensemble soit 83,1 %, mauvaise chez 16,9 % à type de (nausées, céphalée, 1 neuropathie (Révolade), 1 thrombose (Nplate), 3 AVC (Nplate), 2 CRMD avec les deux). L'arrêt fut réalisé chez 44 % (31) des cas, dont 36 % de rechute soit 25/71, avec un délai moyen de rechute de deux mois (1-10). Reprise des ARTPO chez 14 % avec les doses prescrites à l'arrêt ; 9 % ont répondu et 5 % ont résisté. En ce qui concerne le devenir actuel des patients, 49 cas vivants dont 46 sont en réponses. 13 décès dont 10 sous Nplate et trois sous Révolade, les causes de décès sous Nplate (une embolie pulmonaire, 1 choc cardiogénique, un gliome, 1 rupture d'anévrisme, quatre hémorragies, 1 choc septique, un SMD accusé), sous Révolade (un sepsis, 1 SMD accusé, une hémorragie) et neuf perdus de vue.

Conclusion. La prescription des ARTPO chez les PTI chroniques réfractaires ou en échec à d'autres lignes représente une opportunité de prise en charge, avec une efficacité chez au moins 50 % des patients. La réponse est obtenue à nouveau après reprise quel que soit le délai chez certains. La question se pose sur la durée de traitement avant l'arrêt, chez quel profil de patients, après désescalade ? De nouvelles perspectives sont en cours d'études et d'évaluation.

06-06 Évaluation du réactif ristocétine (Stago®) pour l'agrégation plaquettaire par mesure photométrique sur TA-8V (Stago®)

M. Daniel*¹, J.C. Bordet¹, F. Sobas¹, C. Nougier¹, C. Negrier², S. Le-Quellec²

¹ Laboratoire d'hématologie, Centre de Biologie et Pathologie Est - HCL, Boulevard Pinel, Bron, Lyon ; ² Unité d'hémostase clinique, Hôpital Louis Pradel - Groupement Hospitalier Est - HCL, Boulevard Pinel, Bron, Lyon

Introduction. Le test photométrique d'agrégation plaquettaire (TAP) à la ristocétine est utile dans le diagnostic de certaines pathologies plaquettaires comme le Syndrome de Bernard Soulier ainsi que dans la caractérisation des maladies de Willebrand. Le but de cette étude était d'évaluer les performances du réactif ristocétine (Diagnostica STAGO®), non étiqueté CE à l'heure actuelle et dont l'usage officiel est exclusivement destiné à la recherche, sur l'agrégomètre TA-8V (SD-Medical, STAGO®). **Matériels et méthodes.** Des TAP utilisant l'agrégomètres TA-8V (SD-Medical, STAGO®) ont été réalisés sur plasma riche en plaquettes (PRP) citratés de volontaires sains, à quatre concentrations finales (1, 1,2, 2 et 0,5 mg/mL) de ristocétine (Diagnostica STAGO®). Les valeurs de référence et la répétabilité du paramètre d'intensité maximale d'agrégation (%) ont été évaluées pour les quatre concentrations de ristocétine. La stabilité du réactif de ristocétine a été testée sur une période de deux mois après reconstitution et conservation du réactif à -20 °C.

Résultats. Au total 30 volontaires sains ont été inclus dans cette étude après obtention de leur consentement éclairé. Les valeurs de moyennes $\pm \sigma$ (min-max) étaient de 92 ± 4 (86-108 %), pour une concentration finale de ristocétine de 2 mg/mL, 93 ± 5 (80-108 %) pour la concentration finale de ristocétine à 1,2 mg/mL, 92 ± 7 (83-109 %) et 7 ± 4 (0-7 %) pour les concentrations finales à 1 mg/mL et 0,5 mg/mL respectivement. Ainsi, nous avons considéré comme valeurs normales des intensités maximales d'agrégation > 80 % pour les AGRR à 2, 1,2 et 1 mg/mL et < 8 % d'intensité maximale d'agrégation pour les AGRR à 0,5 mg/mL.

La répétabilité était très bonne pour toutes les concentrations hautes de ristocétine, avec un coefficient de variation inférieur à 10 %. Le CV était plus élevé pour la concentration basse de ristocétine à 0,5 mg/mL, ce qui était attendu dans ces valeurs et n'avait pas d'impact sur l'interprétation des résultats. Le réactif ristocétine était stable pendant toute la durée de la période testée, soit deux mois après reconstitution.

Conclusion. Cette étude a permis d'établir des valeurs de référence d'agrégation plaquettaire pour différentes concentrations finales de ristocétine. Les tests complémentaires ont montré que ce réactif de ristocétine présente une bonne répétabilité, et peut être conservé à -20 °C pendant deux mois après reconstitution avant d'être utilisé. Ces données peuvent être applicables à d'autres laboratoires réalisant des TAP à la ristocétine (Diagnostica STAGO®) sur agrégomètre TA-8V et souhaitant satisfaire aux démarches d'accréditation par le COFRAC de ces analyses.

06-07 Effets spécifiques des antiplaquettaires sur l'inhibition de l'agrégation plaquettaire induite par les bactéries

N. Hannachi¹, E. Oge-Ganaye², L. Camoin Jau*²

¹ Mephi, Aix Marseille Université. École doctorale N°62 EDSVS. IHU Méditerranée Infection M, Marseille ; ² Service d'hématologie, CHU Timone APHM, Marseille

Introduction. Les plaquettes jouent un rôle majeur dans les mécanismes de l'hémostase. Leur activation exagérée induit la survenue de complications emboliques, notamment observées lors d'infections sévères telles que le sepsis ou l'endocardite infectieuse (EI). En effet, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus sanguinis*, principaux agents pathogènes identifiés lors des EI, interagissent avec les plaquettes par l'intermédiaire de récepteurs membranaires spécifiques et induisent la formation de thrombi objectivés lors de l'analyse histologique des végétations formées au décours des EI. Malgré le rôle majeur des plaquettes dans ces infections sévères, aucun traitement antiplaquettaire n'est actuellement recommandé. L'objectif de notre étude est d'évaluer *in vitro* l'effet des principaux agents antiplaquettaires sur l'activation et l'agrégation plaquettaire induite par ces deux bactéries.

Patients et méthodes. Des échantillons de sang ont été prélevés sur des donneurs sains (n = 40). Le plasma riche en plaquettes a été traité *in vitro*

par différents médicaments antiplaquettaires (aspirine, ticagrélor, tirofiban). Trois souches bactériennes de *Staphylococcus aureus* et de *Streptococcus sanguinis* ont été testées. L'effet des six souches bactériennes en présence et en absence des différents antiplaquettaires a été évalué à travers trois approches complémentaires : mesure de l'agrégation plaquettaire, quantification de l'expression de la P-sélectine par cytométrie de flux et analyse des ultrastructures d'agrégats plaquettes-bactéries par microscopie électronique à balayage. L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel Graph-Pad.

Résultats. Toutes les souches ont induit une agrégation plaquettaire significative. Les antiplaquettaires testés ont montré des effets différents en fonction de l'espèce bactérienne impliquée, avec un degré d'inhibition variable entre les souches appartenant à une même espèce. Le ticagrélor a induit l'effet inhibiteur le plus élevé sur l'activation plaquettaire ($p < 0,001$) et l'agrégation ($p < 0,01$) induite par *S. aureus*. En présence de *S. sanguinis*, la combinaison d'aspirine et de ticagrélor a permis d'obtenir l'inhibition la plus significative de l'activation et l'agrégation plaquettaire ($p < 0,05$ et $p < 0,001$ respectivement). L'analyse par microscopie électronique à balayage a montré des différences dans la composition des agrégats plaquettaires induits par *S. aureus* et *S. sanguinis*. Le traitement des plaquettes par *S. aureus* a induit la présence de filaments et des poches bactériennes. En revanche, l'infection par *S. sanguinis* a généré des agrégats présentant une organisation amorphe avec une perte de l'intégrité cellulaire. L'effet des médicaments antiplaquettaires sur cette organisation dépendait également des espèces impliquées.

Conclusion. Notre étude a démontré que les agents antiplaquettaires inhibent l'activation et l'agrégation plaquettaire induite par les bactéries de manière souche dépendante. Ces résultats suggèrent la nécessité de prendre en compte la souche impliquée pour un traitement antiplaquettaire optimal.

06-08 Efficacité d'un traitement par anticoagulant oral direct et immunoglobulines intraveineuses dans un cas complexe de thrombopénie induite à l'héparine immunoallergique résistante aux traitements usuels

EM. Walle*¹, O. Chassin², N. Legris², N. Chanson³, B. Jondeau¹, A. Perrier-Cornet¹, C. Lavenue-Bombled⁴, S. Combe¹, V. Picard¹, S. Sanekli¹, V. Proulle⁴

¹ Service hématologie biologique, CHU Bicêtre, HUPS, AP-HP, Université Paris-Saclay, Le Kremlin-Bicêtre ; ² Service neurologie adultes, CHU Bicêtre, HUPS, AP-HP, Université Paris-Saclay, Le Kremlin-Bicêtre ; ³ Service médecine interne, CHU Bicêtre, HUPS, AP-HP, Université Paris-Saclay, Le Kremlin-Bicêtre ; ⁴ Service hématologie biologique, CHU Bicêtre, HUPS, AP-HP, Université Paris-Saclay, Inserm UMR_S1176, Le Kremlin-Bicêtre

Introduction. Nous présentons le cas d'une thrombopénie induite à l'héparine immunoallergique (TIH) dont la prise en charge a nécessité le relais du danaparoiide sodique (DS) par un anticoagulant oral direct (AOD) et l'administration d'immunoglobulines intraveineuses (IGIV).

Résultats. Le patient est un homme de 71 ans polyvasculaire (HTA, diabète, coronaropathie, artériopathie). Il est traité par antibiotiques pour un érysipèle du membre inférieur (MI), mais est hospitalisé huit jours après pour aggravation clinique. Une thrombose veineuse profonde des MI (TVP) est éliminée et une anticoagulation préventive par héparine (enoxaparine sodique, HBPM) commencée. À J7 du traitement par HBPM, le patient présente une hémiparésie gauche, reliée à une ischémie cérébrale carotidienne objectivée sur l'IRM, et une chute brutale des plaquettes (74 à 20 G/L). L'association d'une diminution de plus de 50 % du chiffre de plaquettes et d'une thrombose aiguë à J7 d'un traitement par HBPM suggère une TIH (score de 4T = 6) confirmée par la détection d'anticorps anti-PF4 par test ELISA. Le traitement par HBPM est arrêté et relayé par le DS (recommandations GIHP/GFHT 2019), mais à doses préventives malgré la thrombose aiguë, associé à des transfusions plaquettaires et une supplémentation en fibrinogène. Il est alors transféré dans notre hôpital. À l'arrivée, il présente une thrombopénie (49 G/L), un TP à 59 %, un Fibrinogène à 1,4 g/L et des D-Dimères $> 4 000$ ng/mL. Le DS est administré à doses curatives. Mais le tableau thrombotique s'aggrave avec apparition de nouvelles lésions ischémiques cérébrales à l'IRM. À J12, devant l'extension de la thrombose cérébrale et la persistance de la thrombopénie associée à des D-Dimères élevés, une TIH par réaction croisée au DS et une cause autre de CIVD (septique) sont évoquées. Le traitement par DS est relayé par un AOD, le dabigatran, comme suggéré dans la littérature. Le diagnostic de TIH croisée est éliminé par la négativité du test spécifique de relargage à la sérotonine marquée. À l'inverse, un sepsis sur angiocholite aiguë est diagnostiqué et l'antibiothérapie probabiliste instaurée est efficace en 48 h. Le traitement par AOD est maintenu, mais la thrombopénie persiste (16 G/L). À J5 du traitement curatif par dabigatran, malgré des transfusions plaquettaires, survient un épisode de rectorragie nécessitant une transfusion érythrocytaire. Un traitement par IGIV est débuté, comme proposé dans la littérature pour certaines TIH auto-immunes, qui permet une ascension rapide du chiffre de

plaquettes en 48 h (66 puis 163 G/L). En raison d'une TVP du MI découverte à l'échographie doppler, le traitement par AOD est maintenu sans complication pendant trois mois.

Conclusion. En conclusion, notre patient a présenté une thrombopénie due à une TIH associée à une CIVD et un sepsis. La correction de la thrombopénie a nécessité l'utilisation d'IGIV. Les AOD ont été utilisés avec succès pour l'anticoagulation soulignant leur utilité dans la prise en charge de certaines TIH.

06-09 Résultats du rituximab dans le traitement du purpura thrombopénique immunologique de l'adulte

H. Laga*¹, M. Allouda², S. Gherras¹, D. Amirouche³, L. Ferhah³, N. Dali⁴, H. H. aitali⁴

¹ Service d'hématologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie ; ² Service hématologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie ; ³ Hématologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie ; ⁴ Hématologie, CHU Nedir Mohamed. Porte B «sortie», Tizi Ouzou, Algérie

Introduction. Le traitement du purpura thrombopénique immunologique (PTI) a longtemps été basé sur les corticoïdes, les immunoglobulines et la splénectomie qui restent le traitement de référence du PTI. Les nouvelles thérapeutiques en particulier le rituximab constituent une alternative potentielle. Le but de notre travail est d'évaluer la réponse au rituximab dans le traitement du PTI.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude rétrospective et monocentrique de 231 patients (pts) atteints de PTI colligé dans notre service d'hématologie sur une période allant de janvier 2009 à décembre 2018, dont 20 pts (9 %) ont été traités par rituximab. L'évaluation a été faite en décembre 2019.

Résultats. L'âge moyen au diagnostic est de 43 ans (22-81 ans). On note une prédominance féminine (13 femmes, huit hommes) avec un sex-ratio H/F : 0,6. Au diagnostic, la maladie était asymptomatique chez sept pts (35 %) et révélée par des hémorragies cutanées isolées chez sept pts (35 %), hémorragies cutanéomuqueuses chez six pts (30 %). Le score hémorragique était ≥ 8 chez sept pts (35 %). Le taux moyen de plaquettes : 16 G/L (0-63 G/L) dont 11 pts (55 %) avaient un taux de plaquettes < 10 G/L. L'âge moyen au moment de la mise en route du rituximab est de 41 ans (22-81 ans). Le délai moyen entre le diagnostic et le début du traitement était de 11 mois (2-50 mois). Le rituximab a été prescrit chez tous les patients à la dose de 375 mg/m² une fois par semaine pendant quatre semaines, en deuxième intention chez 14 pts (70 %), trois pts (22 %) étaient en RC, quatre pts (28 %) en RP, sept pts (50 %) étaient en échec. Six pts (30 %) ont reçu le rituximab en troisième intention, deux pts (33 %) étaient en RC, un pt était en Rp (17 %) et un échec a été observé chez trois pts (50 %). La médiane de suivi après rituximab était de 49 mois (un mois-118 mois). La réponse globale était de 50 % (RC : 25 %, RP : 25 %). Parmi les répondeurs, 2 pts (20 %) ont rechuté après un délai moyen de réponse de quatre mois. Aucune complication infectieuse grave n'a été observée.

Conclusion. La corticothérapie et la splénectomie restent le traitement de choix du PTI de l'adulte, le rituximab est efficace avec de bon taux de réponse. Il constitue une alternative possible chez les PTI persistants et réfractaires.

06-10 Thrombopathie aspirin-like induite par la gabapentine : à propos d'un cas

T. Baglo*, C. Vayne, JB. Valentin, L. Ardillon, EA. Guery, Y. Gruel, C. Pouplard

Service d'hématologie-hémostase, CHRU de Tours, Tours

Introduction. La gabapentine est un analogue structural de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) indiqué dans le traitement des douleurs neuropathiques périphériques, et dont l'action antalgique semble liée à une diminution des flux calciques au niveau des neurones sensoriels. Son utilisation est généralement bien tolérée, même si des effets indésirables neurologiques et infectieux sont assez souvent décrits. Nous rapportons ici le cas d'une thrombopathie de type *aspirin-like* associée à des manifestations hémorragiques, et imputable à la gabapentine.

Résultats. Une femme de 44 ans est adressée en consultation d'hémostase au CHRU de Tours pour des manifestations hémorragiques cutanéomuqueuses récentes et inexpliquées. Cette patiente a pour principal antécédent un cancer du sein traité par chimio- et radiothérapie, en rémission. Elle présente toutefois une neuropathie chronique traitée depuis neuf mois par la gabapentine associée à des injections trimestrielles de kétamine. L'interrogatoire révèle qu'elle présente depuis huit mois une symptomatologie hémorragique cutanéomuqueuse à type de ménométrorragies associées à des gingivorragies et des ecchymoses faciles (score ISTH-BAT = 6), sans autre anomalie à l'examen clinique.

L'hémogramme révèle une anémie microcytaire d'origine ferriprive. Les examens d'hémostase usuels (TP, TCA, Fg) sont normaux, tout comme l'exploration du facteur Willebrand. Les tests d'agrégation plaquettaire, à la recherche d'une thrombopathie mettent en évidence une absence d'agrégation plaquettaire en réponse à l'acide arachidonique et à l'adrénaline, une hypoagrégabilité majeure avec réversibilité totale à l'ADP ainsi qu'une agrégation subnormale au collagène. Ce profil d'agrégation plaquettaire est donc en faveur d'une thrombopathie comparable à celles induites par l'aspirine ou *aspirin-like*.

Malgré l'absence de données dans la littérature concernant l'imputabilité de cette molécule, la survenue d'une symptomatologie hémorragique un mois après l'instauration de la gabapentine chez cette patiente sans antécédent hémorragique nous a conduits à arrêter ce traitement. Une normalisation des tests d'agrégation plaquettaires effectués six jours après l'arrêt du médicament et une disparition contemporaine des manifestations hémorragiques sont très en faveur d'une thrombopathie médicamenteuse induite par la gabapentine.

Conclusion. A notre connaissance, nous rapportons ici le premier cas de thrombopathie induite par la gabapentine chez l'homme. Une seule équipe a démontré *in vitro* un effet inhibiteur dose-dépendant de cette molécule sur l'agrégation plaquettaire induite par le collagène, l'ADP et l'acide arachidonique (Pan, *J Pharm Pharmacol* 2007). Bien que les mécanismes de cette thrombopathie acquise ne soient pas clairement identifiés, la gabapentine semble inhiber les voies de synthèse du thromboxane A2 plaquettaire. Ce cas illustre l'intérêt d'une surveillance clinique étroite lors de l'utilisation de cette molécule.

06-11 Étude de polymorphismes génétiques impliqués dans la variabilité de la réponse plaquettaire au clopidogrel chez les coronariens

L. Khefacha¹, R. Mezrigui*², S. Chouchene², S. Boukhris³, M. Sassi¹, R. Dabboubi⁴, H. Raddaoui⁵, HK. Ben⁶, M. Gaaloul², F. Maatoug⁵, M. Hassine²

¹ Laboratoire de biologie, EPS Fattouma Bourguiba, Centre de Maternité et de Néonatalogie, Monastir, Tunisie ; ² Laboratoire d'hématologie et banque du sang, CHU Fattouma Bourguiba Monastir, Monastir, Tunisie ; ³ Hématologie clinique, EPS Fattouma Bourguiba Monastir, Monastir, Tunisie ; ⁴ Laboratoire biochimie, Hôpital d'enfants Béchir Hamza, Tunis, Tunisie ; ⁵ Service interne de cardiologie b, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie ; ⁶ Service interne de cardiologie b, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie

Introduction. Le clopidogrel est un antiagrégant plaquettaire largement utilisé dans la prévention secondaire du risque athérombotique chez les coronariens. Cependant, il semble que certains variants génétiques peuvent influencer la réponse plaquettaire au clopidogrel notamment les polymorphismes touchant le cytochrome P450 2C19, jouant un rôle dans la conversion du clopidogrel en métabolite actif, la P-glycoprotéine, interférant dans l'absorption intestinale du médicament et le récepteur plaquettaire P2Y12. Dans ce cadre, notre étude vise à rechercher une éventuelle association entre la présence de ces différents polymorphismes génétiques et l'absence de réponse plaquettaire au clopidogrel chez les coronariens.

Matériels et méthodes. Il s'agit d'une étude transversale portant sur 150 coronariens. Pour chaque patient, la réponse biologique au clopidogrel a été évaluée avec le VerifyNow[®] P2Y12 et exprimée en unités de réaction au récepteur P2Y12 (PRU). Dans notre étude, la résistance au Clopidogrel est définie par un PRU ≥ 208 . Les polymorphismes CYP2C19 G681A, ABCB1 C3435T et P2Y12 i-T744C ont été étudiés par PCR-RFLP en utilisant les enzymes de restriction *SmaI*, *Mbol* et *Maell* respectivement.

Résultats. L'âge moyen de notre population est de 58,4 \pm 10,0 ans, majoritairement de sexe masculin (90 %). Elle est répartie en fonction de la réponse biologique au clopidogrel en deux groupes : groupe résistants (n = 50) et groupe sensibles (n = 100).

L'analyse des résultats de cette étude ont montré l'association statistiquement significative entre la présence du polymorphisme CYP2C19 G681A et la résistance biologique au clopidogrel chez les coronariens (OR = 2,351 ; p = 0,047). De même, l'analyse des sous-groupes a montré que cet effet est plus accentué chez les diabétiques, en effet, ce variant augmente environ quatre fois le risque de résistance au clopidogrel (OR_{ajusté} = 4,437 ; p = 0,032).

Par contre, notre étude a montré l'absence d'une association statistiquement significative avec les polymorphismes ABCB1 C3435T et P2Y12 i-T744C (OR = 1,761 ; p = 0,106 et OR = 0,837 ; p = 0,676 respectivement).

Conclusion. Il est important, à notre avis, de pouvoir introduire les tests génétiques en routine avant la mise en route du traitement par la recherche du polymorphisme CYP2C19 681G > A du moins chez les patients diabétiques afin de mieux adapter les mesures thérapeutiques chez ces patients à risque.

06-12 Impact du traitement immunosuppresseur dans l'essai HERCULES évaluant l'efficacité du caplacizumab dans le traitement du purpura thrombotique thrombocytopénique acquis

P. Coppo^{*1}, M. Scully², S. Cataland³, K. Pavenski⁴, P. Knoebel⁵, H.J. Kremer⁶, F. Peyvandi⁷, A. Meijhan⁸, J. De La Rubia⁹, R. Sousa¹⁰, H. De Winter¹¹, F. Callewaert¹²

¹ Hématologie, Hôpital, Paris ; ² Department of Haematology, University College London hospitals NHS trust, Londres, Royaume Uni ; ³ Division of Hematology, Université d'État de l'Ohio, Columbus, États-Unis ; ⁴ Department of laboratory Medicine and pathobiology, St. Michael's Hospital/Research Institute, Toronto, Canada ; ⁵ Department of Medicine 1, division of Hematology and hemostasis, Vienna University Hospital, Vienne, Autriche ; ⁶ University Clinic of Hematology and central Hematology laboratory, Inselspital, University Hospital of Bern, Bern, Suisse ; ⁷ Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia and Thrombosis Center, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italie ; ⁸ Division of Hematology, Duke University Medical Center, Durham, États-Unis ; ⁹ Hematology Department, Universidad Católica de Valencia Hospital Dr. Peset, Valence, Espagne ; ¹⁰ Medical Affairs, Sanofi, Porto Salvo, Portugal ; ¹¹ Clinical Development, Ablynx NV, Zwiinaarde, Belgique ; ¹² Medical Affairs, Sanofi, Gand, Belgique

Introduction. L'essai de phase 3 HERCULES a démontré l'efficacité du caplacizumab dans le traitement du purpura thrombotique thrombocytopénique acquis (PTTA) vs bras contrôle placebo, les deux bras conjointement à une association échanges plasmatiques (EP) et traitement immunosuppresseur. A la corticothérapie protocolisée (Cs), d'autres immunosuppresseurs, essentiellement du rituximab (RTX), pouvaient être associés selon les pratiques locales. Nous comparons ici l'impact de ces traitements.

Patients et méthodes. La Cs dans HERCULES était un traitement par (méthyl)prednisolone à la dose de 1 mg/kg/j durant les EP puis une semaine supplémentaire après le dernier EP avant décroissance de dose dans l'objectif d'un arrêt complet à J30 des EPs selon l'état clinique et l'activité ADAMTS13. Les données des patients inclus ont été stratifiées selon le type de traitement immunosuppresseur de première ligne administré (initiation dans les trois premiers jours de traitement) puis analysées rétrospectivement. Deux groupes principaux sont apparus ; les patients traités par Cs seul et ceux traités par association Cs + RTX.

Résultats. Des 145 patients randomisés dans HERCULES, 112 (77,2 %) patients ont reçu initialement une Cs seule Vs 24 (16,6 %) une association Cs + RTX. Neuf patients ont reçu un traitement immunosuppresseur autre ou n'ont pas reçu d'immunosuppression. L'activité ADAMTS13, la numération plaquettaire, les valeurs de LDH, de troponine cardiaque et de créatininémie étaient comparables entre les deux bras à l'inclusion. Les patients traités par caplacizumab ont normalisé leurs plaquettes plus rapidement que les patients traités par placebo. Quel que soit le traitement immunosuppresseur, le traitement par caplacizumab a aussi permis de diminuer le nombre de décès, de récurrence ou événement thromboembolique majeur, ainsi que le taux d'exacerbations ou de rechutes. Dans le bras placebo, les exacerbations sont survenues dans des proportions identiques pour des patients traités par Cs seul (N = 20, 37%) ou par association Cs + RTX (N = 8, 50%), confirmant l'efficacité retardée (non immédiate) du RTX. Le traitement par caplacizumab a également permis de réduire les récurrences (exacerbations + rechutes) Vs placebo quelle que soit l'immunosuppression utilisée (respectivement N = 7 ; 12,1% Vs N = 20 ; 37% pour Cs seul et N = 1 ; 12,5% Vs N = 8, 50% pour Cs + RTX). Les deux décès décrits sont survenus chez deux patients du bras placebo traités par Cs seul (un troisième patient du bras placebo est décédé avec un autre type de traitement immunosuppresseur).

Conclusion. Le traitement immunosuppresseur dans le PTTA n'a pas d'action immédiate, ce qui expose le patient à des complications potentiellement fatales (décès, maladie réfractaire, exacerbations). Le traitement par caplacizumab, par son action immédiate, prévient ces complications jusqu'à ce que le traitement immunosuppresseur soit efficace.

06-13 Apport des histogrammes dans la détection des anomalies et erreurs de la numération plaquettaire

H. Halouani*, H. Jouini, S. Bahroun, I. Abene, NEH. Toumi

Laboratoire d'hématologie, Hôpital d'enfants Béchir Hamza, Tunis, Tunisie

Introduction. La numération plaquettaire a une grande valeur dans les décisions clinique et thérapeutique. Les automates d'hématologie permettent la numération des plaquettes par impédance et/ou diffraction optique et fournissent des histogrammes. Ces derniers illustrent la répartition plaquettaire en fonction du volume. Malgré les progrès considérables, des erreurs de comptage par excès ou par défaut sont toujours possibles. Dans ce travail, on se propose d'évaluer l'apport des histogrammes dans la détection des anomalies de numération plaquettaire en les comparant à l'aspect microscopique des plaquettes.

Matériels et méthodes. Notre étude concerne 106 patients qui ont consulté en externe. A la numération formule sanguine (NFS) des histogrammes plaquettaires anormaux ont été notés (Sysmex XN550). Pour chaque patient, un frottis sanguin a été confectionné à partir du tube EDTA et coloré au MGG. L'observation microscopique a permis d'établir une corrélation entre les aspects anormaux des histogrammes et l'aspect microscopique des plaquettes.

Les données ont été saisies et analysées sur le logiciel Excel.

Résultats. Le sex-ratio H/F est de 1,3 et l'âge moyen est égal à 12,11 ans.

Les 106 histogrammes plaquettaires anormaux ont été répartis en cinq catégories : 35 non lissés, 48 non-retour à la ligne de base, 12 non retour à la ligne de base avec aspects non lissés (mixte), quatre pics élargis, sept doubles pics.

L'observation microscopique des FS a permis d'obtenir les résultats suivants :

- *double pic* : anisoplaquettose et une microcytose globulaire (28,6 % chacune)
- *non lissé* : Macroplaquettes (MP) (60 %).
- *non-retour à la ligne de base* : MP (39,6 %) et des amas de plaquettes (AP) 22,9 %.
- *mixte* : microcytose globulaire (41,7 %).
- *pic élargi* : un AP, un anisoplaquettose, un MP et un microcytose globulaire.

Au total, 78,3 % des histogrammes anormaux correspondent à des anomalies plaquettaires observées au microscope.

Conclusion. Les histogrammes ont un apport considérable dans la détection des anomalies et erreurs de la numération plaquettaire.

Devant tout aspect anormal de l'histogramme plaquettaire, un frottis sanguin doit être minutieusement examiné par le biologiste.

Une étude sur un échantillon plus large serait d'une grande valeur diagnostique.

06-14 Intérêt des échanges plasmatiques dans la prise en charge préopératoire des patients ayant une thrombopénie induite par l'héparine en phase aiguë

C. Cavalie^{*1}, N. Gendron¹, S. Provenchere², R. Sonnevill², E. Kantor², D. Faille¹, N. Ajzenberg¹

¹ Département d'hématologie et d'immunologie biologiques, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris ; ² Département d'anesthésie et réanimation, Hôpital Bichat AP-HP, Paris

Introduction. La thrombopénie induite par l'héparine (TIH) est une complication majeure du traitement par héparine liée à la présence d'anticorps IgG dirigés contre le complexe facteur quatre plaquettaire/héparine (PF4/H) qui peut se compliquer de thromboses. En cas de suspicion de TIH, l'héparine doit être immédiatement arrêtée et substituée par un autre anticoagulant tel que le danaparoiide sodique ou l'argatroban. L'utilisation de ces molécules au cours de chirurgie augmente le risque hémorragique et n'est pas recommandée. Il a été rapporté que des échanges plasmatiques (EP) pouvaient éliminer rapidement les anti-PF4/H et permettre l'administration d'héparine pour une chirurgie urgente. Nous rapportons le cas de deux patients chez qui la réalisation d'EP a entraîné la négativation des anticorps anti-PF4/H et a permis la réalisation d'une chirurgie urgente sous héparine pour l'un d'eux.

Résultats. Une femme de 36 ans a bénéficié d'une ECMO veino-artérielle devant une dégradation respiratoire aiguë dans un contexte de fibrose pulmonaire. La patiente est inscrite sur liste de greffe pulmonaire en super-urgence. Devant l'apparition d'une thrombopénie à J10 de l'anticoagulation par héparine non fractionnée (HNF) (nadir à 29 G/L) et d'une thrombose veineuse profonde fémorale, une recherche d'anticorps anti-PF4/H est réalisée par ELISA (Zymutest HIA IgG, Hyphen Biomed). Ils sont fortement positifs (2 609 mU.DO, seuil de positivité > 500 mU.DO) et la TIH est confirmée par la positivité du test d'activation plaquettaire induite par l'héparine (HIPA) sur deux témoins. Une anticoagulation par argatroban est instaurée. La patiente étant hyper-immunisée anti-HLA, elle bénéficie de cinq séances d'EP qui permettent également de négativer les anti-PF4/H (125 mU.DO) et l'HIPA le jour de l'intervention.

Un patient de 63 ans ayant comme antécédent un syndrome coronarien aigu stenté, est hospitalisé pour un choc cardiogénique compliqué de défaillance multiviscérale et nécessitant la pose d'une ECMO veino-artérielle. Devant une majoration de la thrombopénie à J12 d'anticoagulation par HNF (nadir à 15 G/L), d'une thrombose de circuit d'ECMO inexplicée, le diagnostic de TIH est suspecté. Le diagnostic est confirmé par la forte positivité des anti-PF4/H (2291 mU.DO) associée à un HIPA positif. L'HNF est arrêtée et un traitement par argatroban est introduit. Devant la nécessité de réaliser une fermeture chirurgicale de la communication interventriculaire sous circulation extracorporelle, quatre séances d'EP sont réalisées et permettent la négativation des anti-PF4/H (481 mU.DO le jour de la chirurgie). Le patient a été opéré sous HNF aux

doses habituelles associée à 500 mg IV d'aspirine sans complication thrombotique. En postopératoire l'argatroban a été repris.

Conclusion. En conclusion, ces deux observations confirment que les EP peuvent constituer une solution rapide pour éliminer les anti-PF4/H, permettant ainsi l'administration d'héparine lors d'une chirurgie urgente, en phase aiguë d'une TIH.

06-15 Apport des paramètres plaquettaires obtenus en impédancemétrie et fluorescence sur Sysmex XN series dans le diagnostic des thrombopénies constitutionnelles

S. Girard*¹, F. George¹, J.C. Bordet¹, F. Mestrallet¹, C. Lours¹, S. Le-Quellec²

¹ Service d'hématologie biologique, centre de biologie et de pathologie est, Hospices Civils de Lyon, Bron ; ² Unité d'hémostase clinique, hôpital cardiologique louis pradel, Hospices Civils de Lyon, Bron

Introduction. Les thrombopénies constitutionnelles (TC) sont un ensemble de pathologies rares correspondant à un déficit quantitatif d'origine génétique associé ou non à une thrombopathie. Ces thrombopénies sont hétérogènes, de diagnostic difficile souvent erroné en thrombopénie auto-immune. L'établissement d'une démarche diagnostique à partir des données de l'hémogramme, de la microscopie est nécessaire pour pré-orienter, classer les TC en différents sous-groupes. L'utilisation des paramètres plaquettaires rendus par impédancemétrie et fluorescence des hémogrammes analysés sur automates Sysmex[®] XN series peut contribuer à aider au diagnostic et à l'orientation rapide des TC.

Matériels et méthodes. Une étude monocentrique, rétrospective de mai 2016 à janvier 2019, a été réalisée sur 35 patients diagnostiqués pour une TC définie génétiquement dans 91 % des cas. La morphologie plaquettaire était disponible dans 100 % des cas. Les hémogrammes analysés, ont été prélevés sur EDTA-K2. Les paramètres plaquettaires étudiés (PLT-F-X, PLT-F-Y, PLT-F-Z, P-MFV, H-IPF % et IPF %) renseignent sur la structure, la taille, la fluorescence, l'immaturation des plaquettes. Les valeurs normales ont été vérifiées sur 35 sujets sains volontaires. Les résultats, analysés par le logiciel GraphPad Prism v5, sont exprimés en médiane et en intervalle du premier et du troisième quartile ; le seuil de significativité *p* value est fixé à 0,05. Les groupes appariés ont été comparés par un test des rangs signés de Wilcoxon. Les seuils discriminants les entités de TC ont été établis par des courbes ROC.

Résultats. Des algorithmes décisionnels de classification des TC en quatre groupes ont été établis en combinant les paramètres plaquettaires : microplaquettes (n = 5), taille normale (n = 7), macroplaquettes (n = 8) et plaquettes géantes (n = 15). Les aires sous la courbe étaient comprises entre 0,8 et un sans zone de chevauchement entre les seuils et intervalles définissant les groupes : 7,2-8,45-13 pour P-MFV, 1,15-5,65-29,2 pour IPF (%), 0,7-1,9-15,4 pour H-IPF (%), 62,35-79,95-108,4 pour PLT-F-X (ch), 42,35-60,55-104,8 pour PLT-F-Y (ch), 35,95-41,25-59,6 pour PLT-F-Z (ch). La proportion de concordance des patients de chaque groupe a été définie : 100 % de concordance pour TC à microplaquettes, 75 %-100 % pour TC de taille normale, 87,5-100 % pour TC à macroplaquettes et 86,7 %-100 % pour TC à plaquettes géantes.

Conclusion. Les paramètres plaquettaires des analyseurs Sysmex[®] XN series, sont reproductibles, répétables, indépendants des variations interopérateurs. Les performances analytiques sont évaluées régulièrement via les contrôles intra- et interlaboratoires. Dans un contexte de suspicion de TC, ces paramètres issus de l'impédancemétrie et de la fluorescence sont un complément ou une alternative à la morphologie plaquettaire microscopique. Par leur combinaison, l'établissement de seuils discriminants les différents groupes de TC, ils conduisent à une orientation de 1^{re} ligne et un ciblage des analyses à réaliser en deuxième ligne pour le diagnostic des TC.

06-16 Purpura thrombopénique immunologique et romiplostim : à propos d'une cohorte de 15 patients

H. Brahimi*¹, A. Rebouh², AA. Ziani², B. Cherifa¹, M. Mezroud², F. Lamraoui¹, S. Taoussi¹, MT. Abad¹, M. Bradai¹

¹ Hématologie, EHS ELCC CAC Université Blida 1, Blida, Algérie ;

² Hématologie, EHS ELCC CAC, Blida, Algérie

Introduction. L'avènement des agonistes du récepteur de la thrombopoïétine représente une alternative intéressante dans la prise en charge thérapeutique du PTI chronique.

L'objectif de notre présentation est d'évaluer l'efficacité et la tolérance du Romiplostim chez une cohorte de patients adultes atteints de PTI chronique. L'avènement des agonistes du récepteur de la thrombopoïétine représente une alternative intéressante dans la prise en charge thérapeutique du PTI chronique.

L'objectif de notre présentation est d'évaluer l'efficacité et la tolérance du romiplostim chez une cohorte de patients adultes atteints de PTI chronique.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude rétrospective de 15 patients présentant un PTI chronique primaire dont huit réfractaires, quatre avant splénectomie (trois contre-indications et un refus de la splénectomie chez

un patient) et trois en préparation à la splénectomie après échec des autres traitements.

La durée d'évolution du PTI est de 25 mois (15-492).

Résultats. Il s'agit de 15 patients, 12 femmes et trois hommes, d'âge moyen au diagnostic de 37 ans (12-65). L'âge moyen au traitement par Romiplostim est de 48 ans (19-74).

Le nombre moyen de lignes thérapeutiques antérieurement reçues est de 2 (1-4) : corticothérapie : 100 % des cas, anti-CD20 : 11 patients, Danazol : 1, Dapsone : quatre et huit patients ont reçu des IgIV en situation d'urgence.

À l'inclusion le taux moyen des plaquettes était de 13 000/μl (4 000-38 000) ; à noter que deux patients ont été inclus malgré un taux de plaquettes > 30 000/μl en raison d'une hémorragie cérébroméningée chez un patient et d'une arythmie liée à une fibrillation auriculaire nécessitant une anticoagulation efficace type Rivaroxaban au long cours. Tous les patients ont reçu une dose initiale de 3 μg/kg jusqu'à une dose maximale de 10 μg/kg avec ajustement en fonction de la numération plaquettaire. L'échec est défini par l'absence de réponse après 10 semaines à dose maximale.

La réponse était précoce avec une médiane à sept jours chez les répondeurs, un seul cas de réponse tardive à huit semaines de traitement à dose maximale a été observé. Le taux de réponse globale est de 80 % (RC 53 %, R 27 %) avec une médiane de réponse à sept jours. Une perte d'efficacité secondaire inexpliquée est notée chez deux patients après une période d'efficacité de neuf semaines. Une résistance primaire est observée chez deux patients à dose maximale.

La durée moyenne de suivi depuis la mise en route du Romiplostim est de huit mois (1-21).

Aucun effet secondaire majeur, en particulier thrombotique, n'a, jusqu'à la, été noté.

Conclusion. Notre expérience récente rejoint les données de la littérature ; le Romiplostim est une alternative intéressante chez les patients réfractaires sévères et même chez les patients non éligibles à la splénectomie (refus ou contre indication majeure).

06-17 Prise en charge du purpura thrombopénique auto-immun de l'adulte en Tunisie : expérience d'un service d'hématologie

E. Berred*¹, R. Barred¹, R. Mansouri¹, B. Manel¹, S. Kefi¹, D. Jabr¹, M. Bahri¹, H. Ben Neji¹, M. Achour², R. Kharra³, Y. Ben Abdennebi¹, K. Kacem¹, R. Belakhal⁴, B. Meddeb², L. Aissaoui¹

¹ Hématologie clinique, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie ; ² Service d'hématologie clinique, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie ; ³ Service d'hématologie, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie ; ⁴ Hématologie, hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

Introduction. Le traitement du PTAI repose en première intention sur l'abstention thérapeutique, les corticoïdes et les immunoglobulines polyvalentes. La splénectomie reste le seul traitement curateur du PTAI chronique. En Tunisie, il n'existe pas de consensus sur la prise en charge du PTAI. Les traitements de deuxième ligne restent limités par les conditions socio-économiques. Ce travail a pour objectifs de décrire les caractéristiques clinicobiologiques du PTAI, d'analyser les modalités thérapeutiques et les réponses aux traitements et de rapporter enfin le profil évolutif.

Patients et méthodes. Étude monocentrique rétrospective allant de janvier 2011 à décembre 2017, ayant inclus tous les patients âgés de plus que 16 ans suivis et traités pour PTAI.

Résultats. Deux cent trente-quatre patients ont été inclus avec un âge médian de 46 ans (16-92 ans), un sex-ratio de 0,28. La durée médiane de suivi était de 24 mois (3-60 mois). 32 % des patients avaient un score de Khellaf ≥ 8. Le taux médian de plaquettes était de 8 000 elt/mm³ (0-94 000). 6,4 % des patients (n = 15) avaient un PTAI secondaire. Dans les PTAI primaires (n = 219), l'abstention thérapeutique a été indiquée dans 16 % des cas. 32 patients étaient asymptomatiques. Le taux médian de plaquettes était de 54 000 (18 000-94 000). Au long cours, un PTAI chronique a été enregistré chez 29 malades et une patiente a développé des manifestations auto-immunes (LED).

84 % des patients (n = 184) ont bénéficié d'au moins un traitement. Les patients traités étaient symptomatiques dans 86,4 % (n = 159). Le traitement initial par corticothérapie orale a été instauré chez ces patients (n = 184). La durée médiane de la corticothérapie était de trois mois (0,75-9 mois). 83,7 % des patients (n = 154/184) ont initialement répondu à la corticothérapie dont 132 avec une RC (71,7 %). Trente patients (16,3 %) étaient en échec (21 corticorésistances, neuf cortico-dépendances). Le délai médian de réponse aux corticoïdes était de 15 jours (7-60 jours). A six mois, 54 patients soit 29,3 % étaient toujours en réponse.

Le PTAI a été étiqueté nouvellement diagnostiqué, persistant et chronique dans respectivement 29 %, 6 % et 65 % des cas.

15 patients ont bénéficié d'une splénectomie en raison d'un PTAI chronique. La réponse globale était de 86,6 % dont 66,6 % de RC. Le Danatrol à la dose de 600 mg/j a été utilisé chez 23 malades : 21

patients avec un PTAI chronique (contre-indication ou un refus à la splénectomie) et deux autres en rechute après splénectomie. Une réponse favorable a été obtenue chez 10 patients soit 43 % des cas (six RC, quatre RP).

Conclusion. Les caractéristiques cliniques de nos patients sont celles rapportées dans la littérature (65 % PTAI chronique). Les corticoïdes constituent l'option thérapeutique majeure. La splénectomie a été réalisée dans seulement 12,5 % des cas (problème de refus++). Le recours au Danatrol a été utilisé soit comme solution d'attente avant splénectomie soit une alternative à la splénectomie (refus, contre-indication) soit en rechute post-splénectomie. L'usage des thérapeutiques innovantes (rituximab, Eltrombopag) reste limité vu le coût encore élevé de ces drogues.

06-18 Est-il possible de designer de nouveaux médicaments pour la thrombocythémie essentielle ?

AG. De Brevern*

DSIMB - bioinformatics team, Inserm UMR_S 1134, INTS, Univ Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Labex GR-Ex, Paris

Introduction. La thrombocythémie essentielle (TE) est caractérisée par une production excessive de plaquettes par les mégacaryocytes de la moelle osseuse. Les traitements actuels, comme l'hydroxycarbamide ou l'interféron alpha-2a, donnent des résultats particulièrement intéressants. Les bases moléculaires de la TE n'ont été appréhendées que récemment avec des mutations ponctuelles caractéristiques. La mutation principale (plus de la moitié des cas) est celle de la tyrosine kinase *JAK2*^{V617F}, elle est aussi associée aux autres syndromes myéloprolifératifs. *JAK2* a aussi quelques autres mutants associés à la TE.

La seconde protéine touchée est la calréticuline (CALR), elle représente 25 à 30 % des TE. Les mutations CALR affectent de manière surprenante toujours le 9^e exon. Ils consistent souvent en une suppression et/ou des insertions, associées à un décalage de une paire de bases (*frameshift*, fs). Ces mutations conduisent à une modification sérieuse du domaine C-terminal. La longueur finale de la protéine est peu modifiée restant entre 408 et 430 résidus au lieu de 417 initialement. Même si deux mutations (type 1 et type 2) sont prépondérantes, plusieurs dizaines d'autres ont été décrites.

La troisième porte sur le récepteur à la Thrombopoïétine (MPL, avec plusieurs mutants associés à la position W515 et le mutant S505N. Il existe des TE associées à des triples mutants négatifs et à d'autres protéines d'intérêt, mais l'analyse a porté sur ces trois protéines principales.

Matériels et méthodes. Les différents mutants analysés de *JAK2*, CALR et MPL ont été pris dans la littérature ainsi que dans la banque de données COSMIC (<https://cosmic-blog.sanger.ac.uk>, après analyse fine). Les données structurales ont été obtenues dans la Protein DataBank (PDB, <https://www.rcsb.org>). Les structures ont été visualisées avec le logiciel PyMOL (<https://pymol.org/2/>), les modélisations sont réalisées avec le logiciel Modeller (<https://salilab.org/modeller/>) et SCWRL pour les chaînes latérales (<http://dunbrack.fccc.edu/SCWRL3.php/>). Des logiciels plus spécialisés sont aussi utilisés.

Résultats. Les résultats sont encore préliminaires mais donneront une vue d'ensemble tridimensionnel du système mis en place. Des études ont déjà mis en avant les différences entre *JAK2* V617 et son mutant F617, elles sont vues ici aussi, mais ici les autres mutants *JAK2* sont aussi mis en avant. Les mutants de CALR ont eux une particularité structurale caractéristique, avec un changement drastique de la zone mutée d'une zone désordonnée à une jolie tendance de zone ordonnée avec des structures hélicales. Enfin, le travail sur MPL est en cours.

Conclusion. Les trois protéines principalement impliquées dans la TE sont en interaction proche, les mutations connues apportent donc un bon point de départ pour comprendre le mécanisme fin impliqué. Ce type de travail bio-informatique/chémo-informatique permet d'avoir de bonnes bases pour réfléchir à un ou des designs réfléchis de petites molécules (*drug design*). Même si le travail est préliminaire, il est déjà intéressant de voir que les formes mutées de CALR donnent des séquences jamais observées dans le vivant et donc particulièrement intéressante à cibler.

06-19 Thrombocythémie et monocytémie induites par l'oxaliplatine et la méthylprednisolone chez un patient atteint d'un cancer colorectal

M. Laurichesse¹, P. Maud², G. Gaëtan³, G. Lea³, C. Mathilde³, S. Francois¹, R. Virginie³, B. Gerald³

¹ Laboratoire, Groupe Hospitalier Bretagne Sud - Hôpital du Scorff, Lorient ;

² Oncologie, Groupe Hospitalier Bretagne Sud - Hôpital du Scorff, Lorient ;

³ Immunologie plaquettaire, EFS Rennes, Rennes

Introduction. L'oxaliplatine (OX) est l'un des traitements les plus utilisés pour le cancer colorectal. Les toxicités les plus fréquemment rapportées

sont la neurotoxicité sensorielle périphérique et la toxicité gastro-intestinale. Une thrombocythémie peut également survenir pendant le traitement. Bien que la myélosuppression soit la principale cause de cette thrombocythémie, la séquestration splénique peut également intervenir. Un troisième mécanisme, d'origine immune, peut survenir après l'administration de doses cumulatives d'OX. Appelé syndrome auto-immun Oxaliplatine dépendant (OIDS), il a été décrit après des perfusions de FOLFOX.

Patients et méthodes. Nous rapportons le cas d'un homme caucasien de 66 ans chez qui un adénocarcinome rectal a été diagnostiqué en août 2017.

Résultats. Ce patient a reçu plusieurs cures avec de l'OX intra-artériel hépatique, du 5-FU et de CETUXIMAB (CE). Un prétraitement par méthylprednisolone (MP) a également été administré et la douleur a été prise en charge par du sulfate de morphine. Le patient a présenté une thrombopénie profonde immédiatement après une cure. Un syndrome auto-immun Oxaliplatine dépendant (OIDS) a été suspecté avec la présence d'Ac anti-GPIIb/IX, Ia/IIa et IIb/IIIa dépendants de l'OX, détectés avec la méthode MAIPA. Malgré l'éviction de l'OX, le patient a de nouveau présenté une thrombopénie brutale lors de la cure suivante. Un dépistage d'anticorps médicament-dépendants a été effectué et a mis en évidence des anticorps anti-plaquettes MP-dépendants. Nous avons également utilisé une nouvelle méthodologie basée sur la cytométrie de flux et les billes Luminex (PakLx, Immucor). De façon surprenante, cette nouvelle méthode a permis d'identifier des anticorps MP-dépendants contre CD36 (GPIV). Le CD36 est exprimé par les plaquettes, mais aussi par les monocytes. Il est intéressant de noter que nous avons également observé une diminution du rapport monocytes/PNN après chaque injection de MP. L'anticorps anti-plaquettes dépendant de la MP était toujours détectable, mais avec une intensité moindre, trois et six mois après l'événement initial. Le patient n'a plus présenté de thrombopénie lors des cures suivantes (sans MP et OX).

Conclusion. La méthodologie utilisée pour la détection des anticorps médicament-dépendants était : 1) la méthode MAIPA de référence, historiquement utilisée pour les anticorps GPIIb/IX, Ia/IIa et IIb/IIIa, et 2) la technologie Luminex récemment développée avec les mêmes cibles plus CD36. Les cliniciens doivent garder à l'esprit que même après le retrait de l'OX dans le syndrome auto-immun OX-dépendant, la thrombocythémie peut persister. Dans de telles situations, il est important de détecter les anticorps dépendants aux autres médicaments reçus par le patient. En conclusion, ce cas rare de thrombopénie induite par un médicament dû à l'utilisation de plusieurs médicaments est également le premier rapport de monocytémie induite par des médicaments.

06-20 L'infection à *Helicobacter pylori* dans le purpura thrombopénique idiopathique et les anémies ferritines pris en charge dans un centre hospitalier en Arabie Saoudite

H. Bellaq¹, M. Manal², K. Abelhamid³, A. Allani⁴

¹ Service d'hématologie, hôpital Mouwasat Riyadh, Riyad, Arabie Saoudite ;

² Service d'hématologie, hôpital Mouwasat Riyadh, Riyad, Arabie Saoudite ;

³ Hématologie, hôpital Mouwasat Riyadh, Riyad, Arabie Saoudite ;

⁴ Hématologie, hôpital Mouwasat Riyadh, Riyad, Arabie Saoudite

Introduction. L'infection à *Helicobacter pylori* peut être associée à certaines maladies auto-immunes incluant PTI. Certains auteurs suggèrent le rôle de cet agent pathogène dans l'anémie ferriprive (gastrite auto-immune) sans étiologie évidente. Nous nous sommes intéressés dans ce travail à déterminer la prévalence de l'infection à *H. pylori* dans une population de patients porteurs de ces deux affections hématologiques et d'évaluer la réponse au traitement éradicateur de ce germe.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude prospective qui a concerné tous les patients atteints de PTI chronique asymptomatique ou d'anémie ferriprive récidivante sans cause évidente durant l'année 2019.

Résultats. La recherche d'*H. pylori* était réalisée par le test respiratoire à l'urée. Le traitement éradicateur chez les patients infectés comportait une association d'oméprazole, d'amoxicilline et de clarithromycine. L'évaluation de la réponse thérapeutique était bactériologique et hématologique à un mois et à trois mois. Nous avons colligé 34 cas. L'âge médian était de 28 ans et le sex-ratio était de 1,2. Parmi eux, quinze avaient un PTI chronique dont neuf ont reçu deux lignes thérapeutiques. Sur les 19 maladies ayant une anémie ferriprive, une résistance au traitement par voie orale a été notée chez trois patients. La fréquence d'*H. pylori* dans notre série était de 61 % et la réponse bactériologique et hématologique dans notre étude était respectivement de 85 % et 38 %.

Conclusion. La fréquence de l'infection à *H. pylori* dans notre série (61 %), rejoint celle de la littérature. Sa recherche devrait être symptomatique dans certaines affections hématologiques réfractaires dans lesquelles l'étiopathogénie de ce germe a été suggérée. En effet, le traitement anti-*H. pylori* est facile et non toxique, permettant dans certains cas d'obtenir des réponses objectives non négligeables.

06-21 Proposition d'une technique de correction d'une pseudo-thrombopénie liée à l'EDTA

R. Rouached^{*1}, MY. Kaabar², M. Tarress¹, M. Cheikhrouhou³, S. Guermazi³

¹ Hématologie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie ; ² Laboratoire d'hématologie, Charles Nicolle, Tunis, Tunisie ; ³ Laboratoire d'hématologie, Hôpital Charles Nicolle de Tunis, Tunis, Tunisie

Introduction. La découverte d'une thrombopénie sur un hémogramme impose avant toute démarche diagnostique et thérapeutique d'écartier une pseudo-thrombopénie expliquée par une agglutination des PQ *in vitro* induite par l'EDTA, par la réalisation d'un frottis sanguin (FS). En cas d'amas plaquettaire, il est recommandé de corriger le taux de PQ par une numération sur tube citraté.

L'objectif de ce travail est de proposer une technique de correction du taux de PQ dans les cas de pseudo-thrombopénie induite par l'EDTA sans recours à un nouveau prélèvement.

Patients et méthodes. Les cas de pseudo-thrombopénie induite par l'EDTA détectés durant l'année 2019 ont été inclus. Un FS a été réalisé confirmant la présence d'amas plaquettaires.

Quatre dilutions au CellPack[®] (liquide de dilution de l'automate Sysmex) des différents prélèvements ont été respectivement faites au 1/2, au 1/4, au 1/8 et au 1/16. Nous avons ensuite noté le taux de PQ retrouvés dans chaque dilution et corrigé par le facteur de dilution.

Résultats. 21 cas de pseudo-thrombopénie ont été étudiés. Parmi les cas étudiés, une correction significative du taux des PQ a été obtenue, chez quatre cas, particulièrement avec les dilutions aux 1/8 et 1/16. Ces cas correspondaient à des gros amas plaquettaires. Une légère correction a été obtenue chez huit autres cas. Il n'y a eu cependant pas de changement significatif du chiffre des PQ pour les autres cas.

Conclusion. Ces résultats montrent que cette technique pourrait être d'un grand apport dans certains cas. En effet, elle pourrait éliminer un risque hémorragique. Elle est également facile et disponible dans tous les laboratoires. Cependant, la qualité de la correction reste à prouver en comparant avec les résultats trouvés sur tube citraté. Ainsi, l'augmentation de la taille de l'échantillon nous permettra peut-être d'identifier des critères prédictifs de la correction (amas plaquettaires de grande taille).

06-22 Purpura thrombopénique immunologique et néoplasies solides : à propos d'une cohorte de 14 patients

M. Bradai¹, H. Brahimi^{*1}, AA. Ziani², A. Rebouh², B. Cherifa¹, M. Mezroud¹, F. Lamraoui¹, S. Taoussi¹, S. Oukid¹, KM. Benlabiod¹, N. Rekab¹, MY. Bochakor¹, MT. Abad¹

¹ Hématologie, EHS ELCC CAC Université Blida 1, Blida, Algérie ; ² Hématologie, EHS ELCC CAC, Blida, Algérie

Introduction. L'association d'un PTI à une néoplasie solide est rarement décrite dans la littérature et peut poser un problème de diagnostic et parfois même de prise en charge thérapeutique. L'association d'un PTI à une néoplasie solide est rarement décrite dans la littérature et peut poser un problème de diagnostic et parfois même de prise en charge thérapeutique.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique de 14 patients présentant une association PTI-cancer solide. Le diagnostic de PTI était retenu sur le caractère isolé de la thrombopénie, myélogramme riche en mégacaryocytes, négativité du bilan étiologique et la réponse au traitement.

Résultats. Il s'agit de 14 patients (pts), 12 femmes et deux hommes, l'âge moyen au diagnostic de PTI était de 53 ans (41-66).

Le PTI était antérieur à la découverte du cancer chez cinq pts (groupe 1) avec un délai moyen de 35 mois (5-72) et un taux moyen de plaquettes à 33 000/ μ l (0-84 000), dans le deuxième groupe, le PTI est survenu chez huit pts déjà suivis pour néoplasie c avec un délai moyen de 26 mois (2-60) et un taux de plaquettes moyen à 30 000/ μ l (3-82 000) ; une seule patiente a présenté un PTI au moment du diagnostic du cancer.

Il s'agissait de quatre néoplasies du col, deux néoplasies du cavum, deux cancers de la parotide, trois cas de néo du sein, une tumeur du goitre, un cancer de la base de la langue et une patiente a présenté deux néoplasies (col, sein).

Dans le premier groupe : une rémission complète (RC) du PTI a été obtenue sous corticothérapie chez quatre pts et la cinquième était en abstention et n'a reçu de traitement qu'en préparation à la mastectomie ; deux pts de ce groupe sont décédés suite à leur néoplasie.

Dans le deuxième groupe : le recours à une biopsie osseuse était systématique afin d'éliminer des métastases médullaires, sept pts ont été traités par corticoïdes, associées à des immunoglobulines dans un cas avec RC dans 100 % des cas et abstention chez un seul patient.

À long terme, la patiente qui a présenté les deux pathologies au même moment a développé un bilan d'auto-immunité (anticorps anti-DNA) fortement positif.

Conclusion. Le PTI est un diagnostic d'élimination ; l'association d'une thrombopénie à une néoplasie pose une difficulté supplémentaire, par

l'exclusion de toutes les autres causes (métastases, syndrome de consommation, paranéoplasique).

La réponse aux différents traitements renforce le diagnostic. Cette association rare pose un nouveau défi dans la prise en charge du cancer.

06-23 Purpura thrombopénique immunologique et grossesse

H. Laga^{*1}, M. Allouda², S. Gherras¹, D. Amirouche³, L. Ferhah³, N. Dali⁴, H. H. aitali⁴

¹ Service d'hématologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie ; ² Laboratoire d'hémobiologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie ; ³ Hématologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie ; ⁴ Hématologie, CHU Nedir Mohamed. Porte B «sortie», Tizi Ouzou, Algérie

Introduction. La thrombopénie est un motif fréquent de consultation en hématologie, elle est observée dans 6 à 10 % des grossesses. Le purpura thrombopénique immunologique ne représente qu'environ 5 % des causes de thrombopénies au cours de la grossesse. Il peut préexister ou apparaître dès le premier trimestre. Il reste un diagnostic d'exclusion. Les anticorps antiplaquettaires maternels peuvent traverser la barrière placentaire dès la 14^e semaine de la gestation et ils seront alors à l'origine d'une thrombopénie néonatale d'évolution favorable. Le but de notre travail est de préciser les caractéristiques cliniques biologiques évolutives et thérapeutiques de nos patientes.

Patients et méthodes. Notre étude est rétrospective et descriptive de janvier 2011 à décembre 2018. Trente-huit patientes (ptes) ont été colligées durant cette période.

Résultats. L'âge médian était de 32 ans (21-45). Dix ptes (26 %) avaient des antécédents de PTI et quatre ptes (10,5 %) avaient des antécédents de thrombopénie gestationnelle. La thrombopénie a été découverte au premier trimestre chez neuf ptes (23 %), au deuxième trimestre chez 12 ptes (32 %), au troisième trimestre chez sept ptes (19 %). Un syndrome hémorragique a été retrouvé chez seulement quatre ptes (10,5 %) fait d'ecchymose et de pétéchies et épistaxis. Sur le plan biologique ; le taux médian de plaquettes au diagnostic était de 50 G/L (4-120 G/L), 18 ptes (47,5 %) avaient un taux de plaquettes < 30 G/L. Une anémie a été retrouvée chez 10 ptes (26 %), le taux médian d'Hb était de 11,5 g/dL (5-14 g/dL). Sur le plan thérapeutique, 16 ptes (42 %) ont nécessité une corticothérapie à 1 mg/kg, 25 % au deuxième trimestre et 67 % au troisième trimestre, les immunoglobulines leur ont été associées dans 29 % des cas (11 ptes). L'évolution obstétricale a été marquée par un avortement spontané chez une patiente et un accouchement à terme pour le reste des patientes. Le nombre de plaquettes au moment de l'accouchement étaient entre 30-50 G/L chez huit ptes (22 %), entre 50-80 G/L chez quatre ptes (10 %) et supérieur à 80 G/L chez 26 ptes (68 %). Vingt-sept (71 %) gestantes ont accouché par voie normale et 11 (29 %) par césarienne pour cause obstétricale. Neuf (23 %) patientes ont nécessité une transfusion de plaquette. Deux incidents hémorragiques ont été observés au moment de l'accouchement. Tous les nouveaux nés étaient vivants. A distance de l'accouchement le taux de plaquettes était normal chez 22 ptes (57 %), entre 50-100 G/L chez neuf ptes (24 %) et inférieur à 30 G/L chez sept ptes (19 %).

Conclusion. La survenue d'une thrombopénie pendant la grossesse est rare. Néanmoins l'association pose un problème de prise en charge thérapeutique des patientes. Une collaboration entre hématologiste, obstétriciens et anesthésistes réanimateurs est fondamentale pour améliorer leur prise en charge.

06-24 Variation du volume plaquettaire moyen dans les thrombopénies

F. Abida*, M. Châari, I. Dammak, H. Mellassi, H. Elleuch
Laboratoire d'hématologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Introduction. La thrombopénie est un problème hématologique couramment rencontré en médecine hospitalière et ambulatoire. Elle est due essentiellement soit à une hypoproduction plaquettaire appelée thrombopénie centrale (TC), soit à une hyperdestruction plaquettaire appelée thrombopénie périphérique (TP). Le but de notre étude est d'étudier la variation du VPM entre deux groupes de patients thrombopéniques et un groupe de témoins.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude rétrospective étudiant des patients ayant une thrombopénie à l'hémogramme, vérifiée sur frottis sanguin et dont l'origine centrale ou périphérique a été confirmée par myélogramme. Cette étude a été menée au laboratoire d'hématologie du CHU Hédi CHAKER de Sfax, sur une période de 12 mois entre novembre 2018 et octobre 2019. Nous avons relevé l'âge, le sexe et les données des NFS de ces patients à partir du Santé Lab (programme informatique du ministère).

Un groupe de témoins a été étudié en parallèle, comportant des patients de la consultation externe des différents services du même CHU à l'exception du service d'hématologie clinique et ayant un taux de plaquettes compris entre 150 000 et 450 000/mm³ sans aucune anomalie des autres

lignées. Nous avons relevé, à partir du Santé-Lab, les données de ces témoins qui sont : l'âge, le sexe, le taux de plaquettes et le VPM.

Résultats. Cent soixante-dix patients ont été inclus dans cette étude. Cent-dix porteurs d'une TC, et 60 porteurs d'une TP. L'âge moyen a été respectivement de $37,85 \pm 24,86$ ans et de $35,67 \pm 28,43$ ans. Le sex-ratio a été respectivement égal à 1,34 et 1. Le VPM a été significativement plus élevé dans le groupe de TP que dans celui de TC avec des valeurs respectives de $11,8 \pm 1,0$ fl vs $11,0 \pm 1,3$ fl. Cinq cents témoins ont été inclus d'âge moyen de $46,31 \pm 18,82$ ans. La moyenne des VPM a été de $10 \pm 0,6$ fl. La comparaison des moyennes des VPM chez les deux groupes thrombopéniques et les témoins a montré des valeurs significativement plus élevées chez les thrombopéniques par rapport aux témoins.

Conclusion. Le VPM est un paramètre plaquettaire facilement obtenu et fiable qui peut aider l'orientation diagnostique en cas de thrombopénie.

06-25 Pièges pour l'estimation de la numération plaquettaire et du volume plaquettaire moyen dans les thrombopénies constitutionnelles : à propos d'un cas

C. Aumont¹, S. Sanekli², C. Lavenue-Bomblet^{*3}

¹ Service hématologie biologique, CHU Bicêtre, AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre ;

² Service hématologie biologique, CHU Bicêtre, AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre ;

³ Service hématologie biologique, CHU Bicêtre, AP-HP, Université Paris Saclay, Le Kremlin-Bicêtre

Introduction. Le syndrome MYH9 regroupe plusieurs pathologies liées à des mutations du gène *MYH9*, de transmission dominante, et qui ont en commun une macrothrombopénie. La présentation clinique est variable pouvant associer des anomalies purement hématologiques (syndromes de May-Hegglin et Sebastian), une atteinte rénale (glomérulonéphrite évoluant vers une insuffisance rénale), une surdité de perception et une cataracte (syndrome de Epstein ou de Fechtner).

L'hématologiste est interpellé par une macrothrombopénie avec présence de plaquettes géantes (plus grosses qu'une hématie ou diamètre > 8 µm),

qui doit faire rechercher la présence d'inclusions cytoplasmiques basophiles dans le cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (pseudo-Döhle). Le volume plaquettaire moyen (VPM) peut être analysé et exprimé en fl par les automates de cytologie ou en diamètre après analyse au microscope. La gestion des plaquettes de VPM > 10 fl est différente selon les méthodes de mesure des automates. Certains procédés de mesure peuvent être pris en défaut pour la détermination du nombre de plaquettes de très grand volume qui peuvent être comptées comme des hématies.

Patients et méthodes. Pendant longtemps les quantifications et descriptions des grosses plaquettes ont été optimales avec des automates dits à détermination optique type ADVIA[®]. Cet automate permet également la mesure de différents paramètres plaquettaires qui peuvent apporter des informations intéressantes dans le cadre des thrombopénies constitutionnelles (TC). Dans notre laboratoire nous avons pour habitude d'utiliser cet automate en première intention pour le diagnostic et le suivi des TC. Cependant il a été mis en défaut pour une patiente porteuse d'un syndrome MYH9 type Epstein. En effet la détermination optique du chiffre de plaquette mais surtout celle du VPM chez cette patiente étaient sous-estimées (4 G/L et VPM < 11 fl), sans alarme plaquettaire associée. Les numérations plaquettaires sur automate XN Sysmex[®] par impédance (4 G/L) et optique (4 G/L) étaient également sous-estimées.

Résultats. Nous avons donc quantifié son chiffre de plaquettes par fluorescence sur l'automate XN Sysmex[®] (11 G/L) confirmé par numération microscopique dans une chambre de comptage (Thrombo-tic[®]). Dans ces conditions techniques nous ne pouvons pas avoir de mesure du VPM. Par contre, la technique de fluorescence proposée par l'automate Sysmex[®] permet de fournir la fraction de plaquettes immatures (IPF). Notre patiente présentait un IPF très élevé (61 %), comme rapporté chez les patients porteurs d'un syndrome MYH9 et confirmé sur notre cohorte.

Conclusion. La mise en défaut des techniques de numération plaquettaires classiques (impédance et optique) constaté chez plusieurs fournisseurs d'automates nous confirme la nécessité d'une relecture attentive du frottis et d'une numération plaquettaire par technique de fluorescence, par comptage microscopique ou par cytométrie en flux. Il faut également être interpellé par un VPM et/ou un IPF élevés, fréquents dans les TC.