05

Hémostase : endothélium, Willebrand et hémophilie

05-01 L'activité des pompes à calcium SERCA3 participe à la réponse inflammatoire

K. Beddek, F. Adam, F. Saller, D. Borgel, R. Bobe*

Hith, UMR_S1176, Université Paris-Saclay, Inserm, Le Kremlin-Bicêtre

Introduction. La signalisation calcique est fortement impliquée dans la régulation de la réponse inflammatoire. Si le rôle des canaux ioniques responsables d'influx calcique est largement étudié, celui des acteurs responsables de la mobilisation calcique depuis les réserves intracellulaires, comme les pompes à calcium SERCA, est beaucoup moins exploré. Notre étude s'intéresse à l'isoforme SERCA3 qui est exprimée à la fois dans les cellules endothéliales, les leucocytes ainsi que les plaquettes ; trois types cellulaires participant activement à la réponse inflammatoire. L'absence de SERCA3 dans les plaquettes est associée à un défaut d'activation plaquettaire chez l'homme et la souris.

Résultats. En utilisant plusieurs modèles d'inflammation *in vivo*, nous montrons que les souris déficientes en SERCA3 (SERCA3^{-/-}) présentent un défaut de translocation précoce des leucocytes sur le site de lésion endothéliale de façon indépendante des plaquettes et une adhésion ferme des leucocytes partiellement atténuée. De plus, le recrutement leucocytaire est lui aussi diminué mais ceci est dépendant des plaquettes.

Enfin, nous observons, pour les souris déficientes en SERCA3, une protection de la barrière endothéliale indépendamment des plaquettes et directement dépendant de l'endothélium. L'étude des cellules endothéliales isolées de poumons murins SERCA3^{-/-} (mLEC S3^{-/-}) montre une plus faible mobilisation calcique et une inhibition partielle de la réorganisation du cytosquelette d'actine en réponse à la thrombine.

Conclusion. En conclusion, l'absence de SERCA3 semble être associée à une réduction de la réponse inflammatoire. L'étude des voies de signalisation impliquant spécifiquement des réserves en calcium contrôlées par SERCA3 pourrait donc identifier des cibles potentielles permettant le contrôle du processus inflammatoire notamment dans le cadre de certaines pathologies associées à un emballement du système immunitaire.

05-02 L'activation des canaux *transient receptor potential vanilloid 4* (TRPV4) induit la transition des cellules endothéliales veineuses ou artérielles vers un phénotype pro-inflammatoire

K. Beddek¹, F. Raffin², F. Saller¹, D. Borgel¹, D. Riccobono³, R. Bobe¹, FX. Boitton³

¹ Hith, UMR_S1176, Université Paris-Saclay, Inserm, Le Kremlin-Bicêtre ;

² Département des plateformes, unité analyses biologiques, IRBA, Brétigny-sur-Orge ;

³ Département effets biologiques des rayonnements, unité de radiobiologie, IRBA, Brétigny-sur-Orge

Introduction. Les canaux TRPV4 (*transient receptor potential vanilloid 4*) des cellules endothéliales participent à de nombreuses fonctions cellulaires incluant l'homéostasie calcique, la perméabilité de la barrière endothéliale et le tonus des muscles lisses. Cependant, leur rôle dans l'orientation des cellules endothéliales vers un phénotype pro-inflammatoire n'a jusqu'à présent pas été abordé.

Résultats. En étudiant des cellules endothéliales artérielles (HPAEC) et veineuse (HUVEC), nous montrons que l'activation pharmacologique des canaux TRPV4 avec le GSK1016790A, induit une entrée importante de Ca²⁺ qui est bloquée par deux antagonistes distincts de TRPV4 : HC-067047 and RN9893. L'activation de TRPV4 stimule le réarrangement du cytosquelette d'actine et des jonctions adhérentes (VE-cadhérine) dans les deux types cellulaires et conduit à une diminution rapide de la résistance électrique transendothéliale. En plus de ces effets sur l'intégrité de la barrière endothéliale, l'activation de TRPV4 augmente de façon sélective, via l'activation du facteur de transcription NFκB, l'expression d'ICAM-1, molécule d'adhésion impliquée dans le recrutement des lymphocytes. Enfin, l'activation de TRPV4 provoque aussi l'apoptose principalement des cellules endothéliales veineuses. L'ensemble de ces observations peuvent être abolies en présence d'inhibiteurs de TRPV4 dont les effets sont aussi visibles en l'absence d'activation pharmacologique de TRPV4 suggérant une activation basale de ces canaux.

Conclusion. En conclusion, nos résultats indiquent que l'activité TRPV4 et l'influx de Ca²⁺ qui en résulte, peuvent induire le passage des cellules endothéliales veineuses et artérielles vers un phénotype pro-inflammatoire et suggèrent que l'inhibition pharmacologique de ces canaux pourrait protéger l'endothélium dans les pathologies impliquant un état inflammatoire des cellules endothéliales.

05-03 Étude du système fibrinolytique et du couple facteur Willebrand/ADAMTS13 dans le syndrome d'activation lymphohistiocytaire

A. Launois¹, S. Valade², E. Roose³, E. Mariotte², M. Darmon², L. Galicier⁴, L. Zafrani², V. Lemiale², E. Azoulay², S. Mathis⁵, I. Kalidi⁵, A. Stepanian¹, K. Vanhoorelbeke³, A. Veyradier¹, B. Joly¹

¹ Service d'hématologie biologique, AP-HP. Nord, Université de Paris, Hôpital Lariboisière, EA3518 Institut de Recherche Saint-Louis, Paris ;

² Réanimation médicale, AP-HP. Nord, Université de Paris, Hôpital Saint-Louis, Paris ;

³ Laboratory for Thrombosis Research, KU Leuven Kulak Campus Kortrijk, Courtrai, Belgique ;

⁴ Immunologie clinique, AP-HP. Nord, Université de Paris, Hôpital Saint-Louis, Paris ;

⁵ Service d'hématologie biologique, AP-HP. Nord, Université de Paris, Hôpital Saint-Louis, Paris

Introduction. Le syndrome d'activation lymphohistiocytaire (SALH) est une pathologie rare, le plus souvent acquise, reposant sur une activation lymphocytaire TCD8/NK et macrophagique non régulée, responsable d'une sécrétion massive de cytokines aboutissant à un état hyperinflammatoire. Le taux de mortalité au cours du SALH est d'environ 40 %. Des anomalies de l'hémostase, notamment de la fibrinolyse, sont fréquemment rapportées dans le SALH. Le purpura thrombotique thrombocytopenique (PTT) est une forme de microangiopathie thrombotique (MAT) définie par un déficit fonctionnel sévère en ADAMTS13, la protéase spécifique de clivage du facteur Willebrand (VWF). A l'état basal, ADAMTS13 adopte une conformation fermée chez le volontaire sain. En revanche, la conformation d'ADAMTS13 est ouverte à la phase aiguë du PTT auto-immun et cela de manière spécifique. Dans la littérature internationale, plusieurs cas de MAT associés au SALH ont été rapportés, sans lien physiopathologique clairement établi.

Patients et méthodes. Du 1^{er} janvier 2015 au 31 décembre 2018, 45 patients présentant un SALH ont été inclus dans l'étude grâce à un recrutement monocentrique. Une analyse exhaustive des dossiers médicaux des patients et leur investigation biologique ont été réalisées au diagnostic. L'étude du système fibrinolytique repose sur la mesure du fibrinogène (méthode de Clauss), des D-dimères et des monomères de fibrine (immunoturbidimétrie), du plasminogène (colorimétrie), du t-PA et du PAI-1 (ELISA). L'exploration du système VWF/ADAMTS13 repose sur la mesure de l'antigène VWF (VWF:Ag), la répartition des multimères VWF (électrophorèse), la mesure de l'activité ADAMTS13 (FRETS-VWF73) et de l'antigène ADAMTS13 (3H9-ELISA), le titrage des IgG anti-ADAMTS13 (ELISA) et l'étude de la conformation d'ADAMTS13 (1C4-ELISA).

Résultats. L'analyse épidémiologique de notre cohorte rapporte un âge médian de 53 ans [27-77 ans], un sex-ratio de 1,6 H/1 F et un contexte de lymphome associé au diagnostic de SALH chez 32 patients (71 %).

L'étude du système fibrinolytique met en avant une hyperfibrinolyse définie par une diminution du fibrinogène et du plasminogène, une augmentation des D-dimères, monomères de fibrine et médiateurs de la fibrinolyse (tPA et PAI-1).

L'exploration du système VWF/ADAMTS13 met en évidence une augmentation du VWF:Ag, concordant avec l'état inflammatoire des patients, une augmentation des multimères du VWF de haut poids moléculaire, et de manière surprenante, un déficit fonctionnel profond en ADAMTS13 (activité < 15 %, N = 50-100 % et diminution de l'antigène : 264 ± 222 ng/mL, N = 630 ng/mL) en l'absence d'IgG anti-ADAMTS13 chez 16 patients (36 %). Par ailleurs, la conformation d'ADAMTS13 est fermée dans l'ensemble de la cohorte SALH. Enfin, aucun lien entre le système fibrinolytique et le couple ADAMTS13/VWF n'a été mis en évidence.

Conclusion. Dans notre cohorte, un syndrome PTT-like est associé au SALH chez plus d'un tiers des patients au diagnostic. Ce syndrome relève d'un déficit quantitatif profond en ADAMTS13 probablement secondaire à sa dégradation par des médiateurs de l'inflammation et/ou de la

fibrinolyse comme la plasmine. Une perspective scientifique serait d'étudier les produits de dégradation d'ADAMTS13 pour documenter le rôle de la plasmine dans le syndrome PTT-like du SALH et ainsi d'envisager de nouvelles thérapeutiques.

05-04 Le polymorphisme D1472H du facteur von Willebrand interfère avec l'activité cofacteur de la ristocétine VWF:Rco in vitro : intérêt de mesurer l'activité VWF:GplbM

F. Lassalle*¹, E. Jeanpierre², C. Zawadzki¹, P. Boisseau³, A. Rauch¹, C. Ternisien⁴, A. Veyradier⁵, A. Borel-Derlon⁶, E. Fressinaud¹, J. Goudemand¹, S. Susen¹

¹ Institut d'hématologie-transfusion, CHU de Lille, Lille ; ² Institut d'hématologie-transfusion, CHU, Lille ; ³ Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Hôtel-Dieu, Nantes ; ⁴ Laboratoire d'hémostase, CHU de Nantes, Nantes ; ⁵ Hématologie biologique, Hôpital Lariboisière, Paris ; ⁶ Laboratoire d'hémostase, CHU de Caen Normandie, Caen

Introduction. Le diagnostic de la maladie de Willebrand (VWD) et l'inclusion dans le Centre de référence de la maladie de Willebrand (CRMW) repose sur plusieurs dosages biologiques, notamment l'antigène du facteur von Willebrand (VWF:Ag) et son activité fonctionnelle. Le *gold standard* pour la mesure de l'activité fonctionnelle du VWF restait jusqu'à présent l'activité cofacteur de la ristocétine (VWF:Rco), qui mesure la liaison, induite par la ristocétine, du VWF aux plaquettes via le récepteur Gplb. Un défaut quantitatif (VWD type 1) est suspecté lorsque VWF:Ag est < 30 % et un défaut qualitatif (VWD type 2) lorsque le ratio VWF:Rco/VWF:Ag est < 0,7. Cependant, certains polymorphismes, en particulier D1472H, altèrent la liaison du VWF à la ristocétine in vitro et diminuent ainsi faussement l'activité. D'autres tests sont disponibles pour mesurer l'activité du VWF, en particulier le test Innovance[®] VWF AC (VWF:GplbM), qui n'utilise pas de ristocétine. Des particules de latex coâtées avec un anticorps anti-Gplb sont mises en contact avec une GPIb recombinante (rGPIB) présentant deux mutations gain de fonction. La liaison du VWF à la rGPIb va entraîner une agglutination détectée par immunoturbidimétrie. Du fait de l'absence de ristocétine, il n'y a plus d'interférences avec les polymorphismes tels que D1472H.

Le but de ce travail a été de réévaluer les critères biologiques d'inclusion au CRMW afin de définir un nouvel algorithme, incluant le test VWF:GplbM, pour éviter les explorations inutiles, en particulier le génotypage du VWF.

Matériels et méthodes. En septembre 2019, la base de données du CRMW inclut 3791 individus au total. Parmi les 3101 individus ayant eu un génotypage complet du VWF, 1047 ont un VWF:Ag > 30 % avec un ratio VWF: activité/VWF:Ag < 0,7. Finalement, 137 individus (soit 13 % des individus avec un VWF:Ag > 30 % un ratio bas et un génotypage complet) ont été exclus du diagnostic de VWD car ils ne présentaient aucun variant pathogénique dans le VWF. Nous avons pu réétudier 71 de ces 137 patients, dont 41 présentant D1472H et 30 sans aucun variant identifié, en réalisant des dosages de VWF:Ag et VWF:GplbM. La technique locale de mesure de l'activité du VWF n'était pas toujours connue.

Résultats. Pour les 41 individus présentant D1472H, il n'y avait pas de différence significative entre les dosages de VWF:Ag locaux et ceux réalisés au CRMW par contre, l'activité VWF:GplbM était significativement plus élevée que celle mesurée avec les techniques locales ($p < 0,0001$), ce qui a normalisé le ratio VWF:GplbM/VWF:Ag (> 0,7) chez 37 patients sur 41 (90 %, $p < 0,0001$). Pour les 30 patients sans aucun variant identifié, l'activité VWF:GplbM était aussi significativement plus élevée que celle mesurée avec les techniques locales ($p < 0,001$), avec une normalisation du ratio chez 25 patients sur 30 (83 %, $p < 0,0001$).

Conclusion. Le génotypage du VWF, réalisé inutilement pour 62 patients sur 71, aurait pu être évité si l'activité Innovance[®] VWF:GplbM avait été dosée en 1^{re} intention. Ainsi, un nouvel algorithme d'inclusion au CRMW est proposé : pour les individus ayant un VWF:Ag > 40 % et un ratio VWF: activité/VWF:Ag < 0,7, l'activité VWF:GplbM est réalisée. Si le ratio est toujours < 0,7, le patient est inclus au CRMW mais s'il est > 0,7, il n'est pas inclus.

05-05 Dosage de l'activité du facteur IX et étude pharmacodynamique d'efrénocog alfa (Alprolix[®]) chez les patients hémophiles B sévères substitués : données de la vraie vie

S. Atsou¹, F. Fiona¹, J. Duchemin¹, S. Ellouze¹, E. Sourdeau¹, A. Launois¹, V. Roussel-Robert², N. Stieljes², S. Combe², M. Fontenay³, E. Curis⁴, G. Jourdi*⁵

¹ Service d'hématologie biologique, AP-HP, Hôpital Cochin, F-75014, Paris ; ² Centre régional de traitement de l'hémophilie (crth), AP-HP, Hôpital Cochin, F-75014, Paris ; ³ Université de Paris, Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR 8104, Service d'Hématologie Biologique, AP-HP, Hôpital Cochin, F-75014, Paris ; ⁴ Laboratoire de biomathématiques, EA 7537, faculté de pharmacie, université de Paris, Service de biostatistiques et informatique médicale SBIM, Hôpital Saint-Louis, AP-HP, Paris ; ⁵ Université de Paris, U1140 Innovative Therapies in Hemostasis, Inserm, 75006 Paris, France, service d'hématologie biologique, AP-HP, hôpital Cochin, F-75014, Paris

Introduction. Efrénocog alfa est un facteur (F) IX recombinant humain fusionné au fragment Fc de l'immunoglobuline IgG1 présentant une demi-vie prolongée. Il est de plus en plus prescrit dans le traitement et la prévention des accidents hémorragiques chez les patients hémophiles B. De grandes discordances des taux de FIX ont été observées dans des études réalisées sur des plasmas surchargés en fonction des méthodes et réactifs utilisés. Nos objectifs étaient d'évaluer les performances de deux méthodes chromogéniques (CSA) et une chromométrie (OSA) et d'étudier la pharmacodynamie (PD) d'efrénocog alfa dans la vraie vie.

Patients et méthodes. Soixante échantillons provenant de 15 patients hémophiles B sévères prélevés à différents intervalles de temps suivant l'injection d'efrénocog alfa sont inclus. L'activité du FIX est mesurée avec CK Prest OSA, Biophen FIX, Rox FIX et une méthode chromométrique (CK Prest OSA calibrée avec un standard produit-spécifique) considérée de référence. Le test de génération de thrombine (TGT) est déclenché avec un pM de facteur tissulaire dans 56 échantillons. Cinq paramètres sont analysés : temps de latence (LT), temps au pic (TTP), hauteur maximale du pic (PH), potentiel endogène de thrombine (ETP) et vélocité. Des modèles PD des relations de ces paramètres avec le taux de FIX sont établis.

Résultats. CK Prest OSA sous-estime significativement le taux de FIX (différence > 30 %) par rapport à la méthode de référence sur toute la gamme de mesure (médiane 21,5 UI/dL [min un ; max 86] selon la méthode de référence). Biophen FIX et Rox FIX permettent un dosage fiable du FIX sauf pour des taux < 20 UI/dL ($n = 30$) qui sont également significativement sous-estimés. L'amélioration des justesses de ces méthodes, lorsqu'elle est nécessaire, par correction du biais s'accompagne d'une perte de précision due à l'incertitude de cette correction qui s'ajoute à celle de la mesure ; les taux de FIX corrigés diffèrent de plus de 30 % de la valeur de référence dans 23 % des cas avec CK Prest OSA, 37 % avec Biophen FIX et 23 % avec Rox FIX pour les valeurs < 20 UI/dL. En TGT, la vélocité est le paramètre le plus sensible au taux de FIX chez les patients substitués, suivie par le PH, puis le TTP, l'ETP et enfin le LT. Les relations entre le taux de FIX (mesuré avec la méthode de référence) et les différents paramètres de TGT ont été caractérisées en utilisant des modèles de régression linéaire à effets mixtes tenant compte de l'incertitude de mesure et de la variation de chaque paramètre d'un patient à l'autre pour une concentration donnée de FIX. La modélisation des différentes cinétiques révèle que suite à l'injection d'efrénocog alfa, le taux de FIX et la vélocité du TGT diminuent en premier, suivis par le PH puis l'ETP.

Conclusion. Les CSA (Biophen FIX and Rox FIX) et le CK Prest OSA ne permettent pas de mesurer de manière fiable les taux de FIX chez les patients hémophiles B sévères substitués par efrénocog alfa sur toute la gamme de mesure. Le TGT permettrait une analyse globale de la coagulation parfois nécessaire chez les patients substitués, en plus du dosage du FIX.

05-06 Impact des anticoagulants circulants anti-VIII sur les paramètres pharmacocinétiques du FVIII dans le traitement prophylactique de l'hémophilie A sévère

M. Chekkal*¹, N. Bennaoum¹, A. Adda¹, F. Seghier²

¹ Hémiobiologie, EHU 1^{er}-Novembre, Oran, Algérie ; ² Laboratoire d'hématologie, Faculté de Médecine d'Oran, Oran, Algérie

Introduction. Le développement des anticoagulants circulants (ACC) anti-VIII est la principale complication du traitement de l'hémophilie A sévère.

Le but du traitement prophylactique est de maintenir le taux de FVIII > 1 % grâce à des injections à un intervalle régulier. Différents régimes ont été décrits dans la littérature et les plus utilisés sont de deux fois et de trois fois par semaine.

Notre objectif a été de déterminer l'impact du développement d'ACC sur la demi-vie du facteur VIII et sur la durée de protection (DDP) et de démontrer l'intérêt d'un régime ciblé en fonction des paramètres pharmacocinétiques.

Patients et méthodes. Nous avons sélectionné 11 enfants atteints d'hémophilie A sévère de l'unique centre d'hématologie pédiatrique de notre ville d'Oran dont l'âge varie de 2 à 11 ans.

Tous les patients sont au régime de prophylaxie au Kogenate[®] (concentré de FVIII recombinant) à raison de 50 UI/kg une fois par semaine. Pour chaque patient nous avons calculé la demi-vie et la durée de protection (durée avec un taux de FVIII > 1 %). La demi-vie a été calculée après dosage du facteur VIII (réactif et instrument de la gamme Stago[®] France) à 1 h, 2 h, 4 h, 6 h et 24 h d'intervalles d'une injection de 50 UI/kg de concentré de Facteur VIII.

Puis nous avons recherché une corrélation entre la demi-vie et la durée de protection avec les ACC anti-VIII tirés par méthode Bethesda.

Nous avons exclu les cas avec titre des ACC anti-VIII ≥ 5 UB/mL.

Résultats. Nous constatons que la demi-vie moyenne chez nos patients est de 7,8 h alors que la durée de protection moyenne passée avec un taux de FVIII > 1 % est de 52,3 h. Nous avons observé aussi une bonne

corrélation négative entre ces deux paramètres pharmacocinétiques et le titre des ACC anti-VIII avec des coefficients de corrélation respectifs de 0,68 et 0,71 avec la demi-vie et la DDP.

Nous constatons aussi que 36,3 % des patients ont développé des ACC anti-VIII à un titre faible et que les deux patients avec titre d'ACC anti-VIII les plus élevés ont les demi-vies et durée de protections les plus courtes.

Conclusion. Les ACC anti-VIII diminuent la demi-vie du facteur VIII injecté et la durée de protection chez nos patients.

Il existe de grandes différences dans la durée de protection variant de 37 à 69 h accentuant l'intérêt d'un traitement ciblé selon les paramètres pharmacocinétiques.

Le régime d'une fois par semaine utilisé dans notre centre est insuffisant. Il convient ainsi de modifier le régime de prophylaxie chez nos patients en fonction des paramètres pharmacocinétiques et passer à deux voire trois injections par semaine selon les cas.

05-07 P. (Pro2145Thrfs*5) et p.(Cys2216Phefs*9) deux nouvelles mutations identifiées dans le domaine D4 du facteur Von Willebrand chez des patientes d'origine afro-caribéenne

MD. Dubois^{*1}, S. Pierre-Louis², J. Rabout², C. Denis³, O. Christophe³, S. Susen⁴, J. Goudemand⁵, P. Boisseau⁶, R. Nevire¹, PL. Olivier Nicolas¹

¹ Ea 7525 vulnérabilité cardiovasculaire dans un environnement caribéen, Université des Antilles Campus de Schoelcher, Schoelcher, Martinique ; ² Centre régional de traitement de l'hémophilie, CHU de Fort de France, Fort-de-France, Martinique ; ³ UMR S1176, Université Paris Sud XI- Faculté de Médecine, Le Kremlin-Bicêtre ; ⁴ Pole hématologie-transfusion, CHU Lille, Inserm Laboratoire J&K, U1011, U995, Lille ; ⁵ Hématologie biologique, CH Régional Universitaire de Lille, Lille ; ⁶ Génétique, CHU Hôtel-Dieu, Nantes

Introduction. Le facteur Von Willebrand (VWF) est une glycoprotéine multimérique synthétisée par les cellules endothéliales et les mégacaryocytes. Le VWF est synthétisé sous forme de précurseur monomérique de 2 813 résidus, appelé le pré-pro-VWF. Il contient un peptide signal de 22 acides aminés suivi d'un propeptide (VWFpp) de 741 acides aminés et d'une protéine mature de 2 050 acides. Le VWF circule dans le plasma, sous forme de multimères comprenant de deux à 40 sous-unités. La maladie de Von Willebrand est due dans la plupart des cas à la présence de défauts génétiques localisés sur le gène du VWF. Nous rapportons ici deux patientes afro-caribéennes avec des mutations situées sur le proVWF (propeptide et VWF mature) entraînant la maladie de von Willebrand de type 3 (la plus sévère).

Patients et méthodes. Une étude rétrospective observationnelle a été effectuée chez deux patientes afro-caribéennes (non apparentées) âgées respectivement de 38 ans et 89 ans et présentant de nombreux épisodes hémorragiques. Les données biologiques suivantes ont été recueillies : VWF:Ag, VWF:RCO, FVIII. Ces analyses ont été complétées par l'étude des multimères du VWF et par le séquençage haut débit (la technologie IDT Illumina) ciblant le gène codant du VWF.

Résultats. La patiente âgée de 38 ans, présentait un taux FVIII:C = 2%, VWF:Ag = 5 IU/dL et VWF:RCO = 5 IU/dL. L'analyse des multimères a montré une absence totale de VWF. Différentes mutations et polymorphismes ont été identifiés sur le proVWF. Au niveau du propeptide (domaine D2), nous avons mis en évidence trois mutations : p.(Val510 =), p.Ala631Val et p.Met740Ile. Sur le VWF mature, quatre mutations ont été identifiées : p.His817Gln (D1), p. Asp1472His (A1), p.Arg2185Gln (D4) et p.(Pro2145Thrfs*5) (D4). Cette femme a été diagnostiquée comme présentant la maladie de von Willebrand de type 3.

La patiente âgée de 89 ans, avait un taux de VWF:Ag = 30 IU/dL, VWF:RCO = 30 IU/dL, et FVIII:C = 33%. Les multimères étaient uniformément et modérément diminués, évoquant une maladie de Willebrand de type 1. Met740Ile était l'unique mutation identifiée sur le propeptide. Sur le VWF mature six mutations ont été mises en évidence : p.His817Gln, p. (Tyr1086 =) (D3), p.Asp1472His, p.(Cys2216Phefs*9) (D4), p. Arg2287Trp et p.Arg2185Gln. Cette femme présentait la maladie de von Willebrand de type 1 et était transmettrice de type 3.

Discussion. La plupart des mutations (p.Ala631Val, p.Met740Ile, p. His817Gln, p.Asp1472His et p.Arg2185Gln) sont rapportées dans la littérature comme peu ou pas délétères. À ce jour, seules les deux mutations situées dans le domaine D4 (p.(Pro2145Thrfs*5) et p. (Cys2216Phefs*9)), pourraient être responsables de la forme sévère de la maladie. Ces variants sont non décrits de la littérature. Ces mutations p.(Pro2145Thrfs*5) et p.(Cys2216Phefs*9) perturbent le cadre lecture sur cinq et neuf acides aminés (codon stop inclus), ce qui entraîne une fin prématurée de la traduction du VWF. Nous exprimerons de manière transitoire l'expression de ses mutations in vitro et caractériserons leur effet sur la synthèse, la sécrétion et la clairance du VWF.

Conclusion. Cette étude permettra d'approfondir notre compréhension sur les mécanismes physiopathologiques des mutations dans le domaine C terminal.

05-08 Quel suivi biologique d'un patient hémophile A traité par émicizumab ?

P. Kerneves*, P. Gautier, M. Brionne-François, E. Vallée, Y. Repessé
Laboratoire d'hématologie, CHU Caen, Caen

Introduction. L'émicizumab est un anticorps monoclonal bispécifique, mimant l'activité du facteur VIII, récemment approuvé pour le traitement prophylactique des patients hémophiles A sévères avec inhibiteurs. La surveillance biologique de ces patients pose problème puisque l'émicizumab interfère avec les méthodes de coagulation utilisées en routine, telles que le TCA. L'objectif de ce travail était d'évaluer l'intérêt de différents tests d'hémostase pour déterminer les concentrations d'émicizumab et l'activité équivalente en facteur VIII dans des échantillons plasmatiques de patients traités.

Matériels et méthodes. Afin de déterminer la concentration en émicizumab, des calibrations ont été réalisées en ajoutant des concentrations croissantes d'émicizumab dans des échantillons déplétés en facteur VIII. Ces échantillons ont été analysés ensuite par thromboélastographie rotative, Clot Waveform Analysis (CWA) et par dosages chromométrique et chromogénique de facteur VIII (réactifs humains/bovins). Afin de déterminer l'activité équivalente en facteur VIII, des échantillons de patients hémophiles A modérés et mineurs ont été analysés par thromboélastométrie. Des droites de calibration (clotting time (CT) en fonction des concentrations en facteur VIII) ont été réalisées.

Résultats. Nous avons pu montrer qu'il existe des corrélations non linéaires entre les paramètres mesurés avec les différentes méthodes utilisées (CT par thromboélastographie, FVIII chromogénique avec des réactifs humains, paramètres de CWA) et les concentrations en émicizumab dans des plasmas déplétés en facteur VIII. Nous avons ainsi pu déterminer les concentrations en émicizumab dans les échantillons plasmatiques des patients traités. Nous avons également pu déterminer l'activité équivalente en FVIII dans les échantillons plasmatiques des patients traités par émicizumab en utilisant une droite de calibration représentant le CT obtenu par thromboélastographie en fonction des taux de FVIII.

Conclusion. Nos résultats indiquent qu'il semble exister une corrélation entre les concentrations d'émicizumab et certains paramètres (CT par thromboélastographie) et dosage de FVIII par méthodes chromogéniques avec des réactifs humains. Il semble donc possible, à partir d'un échantillon de patient traité par émicizumab, d'évaluer sa concentration. De plus, il semble envisageable de déterminer par thromboélastographie l'activité équivalente de facteur VIII. Ainsi, dans certaines situations cliniques (syndrome hémorragique, intervention chirurgicale, ou suspicion d'anticorps anti-émicizumab), cette étude suggère la possibilité d'utiliser la thromboélastographie et le dosage chromogénique du FVIII pour adapter la prise en charge des patients traités par émicizumab.

05-09 Intérêt d'un dosage automatisé en chimiluminescence de l'activité de l'ADAMTS13 pour un diagnostic rapide du purpura thrombotique thrombocytopénique

P. Toulon^{*1}, I. Harzallah²
¹ Hématologie, CHU Pasteur, Nice ; ² Laboratoire d'hématologie, Centre Hospitalier de Mulhouse, Mulhouse

Introduction. Le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) est une microangiopathie thrombotique (MAT) rare due à un déficit sévère, congénital ou acquis, en ADAMTS13 (*disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13*), une enzyme vivant le facteur von Willebrand (VWF). Le déficit en ADAMTS13 entraîne une accumulation des multimères ultra-larges de VWF, aboutissant à une agrégation des plaquettes et à la formation de microthrombi. Ainsi, à côté des symptômes cliniques, le diagnostic du PTT repose sur des signes biologiques communs aux MAT (présence d'une thrombopénie, d'une anémie hémolytique avec présence de schizocytes), et d'un déficit sévère en ADAMTS13 (< 10%). Le PTT étant associé à une morbidité et une mortalité importante en l'absence d'un traitement adapté, son diagnostic rapide est indispensable. Ainsi la possibilité d'obtenir rapidement le dosage de l'ADAMTS13 est-elle importante dans la gestion des patients suspects de PTT. Le but de cette étude est d'évaluer les performances d'une nouvelle trousse de dosage automatisé de l'activité de l'ADAMTS13 et de comparer les résultats obtenus avec ceux obtenus avec le test FRET-S-VWF73.

Patients et méthodes. L'HemosIL AcuStar ADAMTS13 (Instrumentation Laboratory, IL, Bedford, MA, USA) est un test permettant la mesure quantitative de l'activité de l'ADAMTS13 qui est automatisé sur l'automate de chimiluminescence AcuStar (IL). Il s'agit d'un test prêt à l'emploi et disponible 24/7 avec un temps moyen d'obtention du résultat de 33 minutes. Nous avons rétrospectivement évalué 36 spécimens sériques (étude en cours) obtenus chez des patients avec microangiopathie thrombotique et suspects de PTT. Le diagnostic de TTP a été confirmé dans quatre cas. L'agrément entre les deux méthodes de dosage a été évalué en utilisant la valeur seuil de 10 % pour l'activité ADAMTS13.

Résultats. Les résultats de l'activité ADAMTS13 évaluée avec la trousse HemosIL AcuStar ADAMTS13 n'étaient pas significativement différents de ceux obtenus avec le FRET5-VWF73 ($58,3 \pm 27,7\%$ vs. $57,1 \pm 32,6\%$, $p = 0,253$). De plus, la concordance des résultats à savoir si l'activité ADAMTS13 était inférieure ($n = 4$) ou supérieure à 10% était excellente ($kappa = 1,00$) dans cette série, permettant le diagnostic correct du PTT chez les quatre patients.

Conclusion. Grâce à un temps d'obtention du résultat très court (33 minutes) et une automatisation totale du test, ces résultats suggèrent que la mesure de l'activité ADAMTS13 grâce au test HemosIL AcuStar ADAMTS13 pourrait être un test adapté à sa détermination en urgence permettant ainsi un diagnostic rapide du PTT.

05-10 Trouble de l'hémostase et ménorragies fonctionnelles

I. Ghachem*, A. Hela, S. Dimassi, K. Radhia, M. Iness, D. Fatma, H. Meriem, I. Lamia, S. Hadeif
Laboratoire d'Hématologie et banque du sang Sahloul Sousse, Laboratoire d'Hématologie et banque du sang Sahloul Sousse, Sousse, Tunisie

Introduction. Les ménorragies sont un problème de santé altérant la qualité de vie des femmes qui en souffrent. Elles sont inexpliquées dans 50 % des cas. Récemment, plusieurs écrits ont étudié le rôle des troubles hémorragiques héréditaires dans les ménorragies fonctionnelles. Cette problématique n'avait jamais été étudiée en Tunisie. Notre objectif était de déterminer la prévalence des différents troubles de l'hémostase chez les femmes atteintes de ménorragies fonctionnelles.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude descriptive qui a inclus 40 cas de ménorragies fonctionnelles adressés à notre laboratoire pour exploration de troubles de l'hémostase. Un bilan d'hémostase et une numération de la formule sanguine ont été pratiqués. La recherche des anomalies de la fonction plaquettaire a été effectuée par un agrégomètre photométrique qui analyse simultanément l'agrégation plaquettaire par turbidité et la sécrétion d'ATP par luminescence, le dépistage de la maladie de Von Willebrand par le dosage de taux d'antigène Von Willebrand (Ag VWF) par immunoturbidité et l'activité de cofacteur de la ristocétine (RCo-VWF) par turbidité et le facteur VIII par dosage chromométrique et la recherche d'un déficit en facteurs de la coagulation par dosage chromométrique et colorimétrique pour le facteur XIII.

Résultats. La moyenne d'âge des patientes était de 29 ± 9 ans avec des extrêmes qui varient entre 13 et 48 ans. Les femmes nulligestes étaient majoritaires (63 %). Des ecchymoses et des gingivorragies étaient associées aux ménorragies dans 45 % des cas. Au moins un trouble de l'hémostase a été retrouvé chez 52,5 % des femmes ménorragiques. La prévalence de troubles de l'hémostase était plus importante chez les femmes de plus de 26 ans (57,9 %), ayant une gestité > 2 (61,5 %) et ayant un groupe sanguin O (60 %).

Une anomalie de la fonction plaquettaire était retrouvée dans 50 % des cas. L'anomalie concernait un seul agoniste chez 11 cas (44 %). L'agoniste entraînant le plus d'anomalies était la Ristocétine (30 %). Parmi ces 11 cas ayant présenté une anomalie de l'agrégation plaquettaire en présence de Ristocétine, neuf cas étaient indemnes de la maladie de VWD. Une anomalie de la sécrétion plaquettaire était retrouvée dans 44 % des cas et était concomitante à une anomalie de l'agrégation plaquettaire dans 53 % des cas. L'acide arachidonique était l'agoniste le plus incriminé (32 %) dans l'anomalie de la sécrétion plaquettaire.

La maladie de VWD a été retrouvée chez quatre patientes, soit une fréquence de 7,5 %. Il s'agit d'un type 1 (un cas) ou type 2 de la maladie (trois cas). Parmi les femmes non atteintes de VWD, cinq cas avaient un Ag VWF et/ou RCo-VWF entre 30 et 50 UI/dL et dont deux cas avaient un groupe sanguin O. Seulement deux femmes (5 %) avaient un taux de facteur X inférieur à la normale sans autres anomalies pour l'une et associé à une anomalie de la sécrétion plaquettaire avec un seul agoniste (ADP) pour l'autre.

Conclusion. Les ménorragies sont les signes les plus fréquemment pourvoyeurs de VWD mais la recherche des anomalies de l'agrégation plaquettaire reste le trouble d'hémostase le plus fréquent. La prévalence de la VWD était supérieure à ce qui est attendu par rapport à la population générale mondiale. Une stratégie diagnostique semble être impérative afin de justifier le dépistage des anomalies hémostatiques.

05-11 Prise en charge des hémorragies du système nerveux central chez les hémophiles au centre de traitement de l'hémophilie de Dakar

SA. Toure*¹, M. Seck², BF. Faye³, D. Sy⁴, N. Dieng³, EHD. Niang⁵, M. Keita³, ES. Bousso³, AB. Diallo³, FB. Sall³, A. Sall⁶, FAO. Touré³, S. Diop³

¹ Hématologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal, Dakar, Sénégal ; ² Hématologie, UCAD, Dakar, Sénégal ; ³ Hématologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal ; ⁴ Hématologie, Centre National de Transfusion Sanguine, Dakar, Sénégal ; ⁵ Hématologie clinique, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal ; ⁶ Hématologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal

Introduction. Les hémorragies du système nerveux central (SNC) constituent l'une des complications les plus graves de l'hémophilie avec un risque de mortalité précoce. Leur prévalence est estimée entre 2,2 % et 7,5 % chez les hémophiles. L'objectif de ce travail était d'évaluer la fréquence et le profil évolutif des hémorragies du SNC chez les hémophiles.

Patients et méthodes. Il s'agissait d'une étude de cohorte portant sur les 264 hémophiles suivis dans notre centre. Nous avons inclus tout patient présentant une hémorragie du SNC dont le diagnostic était suspecté devant des manifestations neurologiques aiguës et confirmé à la TDM. Les protocoles de substitution en concentrés de facteur VIII ou IX étaient établis avec un objectif de saturation à 100 % (50 UI/kg dont le rythme dépendait de la demi-vie du Concentrés de Facteurs de la Coagulation CFC) jusqu'à la régression des manifestations cliniques puis poursuivis à la demande à 20 UI/kg. Nous avons étudié les paramètres épidémiologiques, diagnostiques, thérapeutiques et évolutifs des patients. Les facteurs de risques de morbidité et de mortalité ont été évalués.

Résultats. Sur une durée de sept ans, nous avons colligé 13 cas (huit hémophiles A sévères, trois hémophiles A modérés, un hémophile B sévère et un hémophile B modéré) ayant présenté une hémorragie du SNC. L'âge médian des patients était de 12,8 ans (quatre mois-37 ans). La fréquence des hémorragies du SNC était estimée à 4,9 % et représentait 46,4 % des hémorragies vitales. Les saignements étaient survenus de manière spontanée (27,1 %) et post-traumatique (72,9 %) ; et étaient essentiellement intracrâniens (92,31 %) et méningés (7,69 %). Le délai entre l'apparition des premiers signes et la consultation aux urgences était en moyenne de trois jours (1-7 jours). Les manifestations cliniques étaient dominées par des céphalées (53,8 %), un syndrome d'hypertension intracrânienne (23,1 %), un coma (15,4 %) et un syndrome de compression médullaire lente complète associé à un syndrome neurogène périphérique (7,7 %). Deux patients (15,38 %) ont en plus de ces signes, présenté respectivement un syndrome pyramidal et une hémorragie conjonctivale unilatérale. Sur le plan thérapeutique, 53,8 % des patients ont été traités avec des CFC à forte dose et un patient a subi un drainage chirurgical. La dose moyenne de CFC utilisée était de 55 UI/kg (30-100). La durée moyenne du traitement par les CFC était de 5,7 jours (3-7). Sur le plan évolutif, cinq patients (38,5 %) ont eu une rémission complète sans séquelles et un patient (7,7 %) a présenté des séquelles. Un patient traité avec des CFC et six patients n'ayant pas bénéficié d'une prise en charge thérapeutique avec des CFC sont décédés (53,8 %). Le délai entre le diagnostic et le décès était en moyenne de 46,4 h (1 h-5 jours). Nous avons noté une corrélation significative entre le traitement précoce par les CFC (dans les 2 h) et la mortalité ($p = 0,014$).

Conclusion. Les hémorragies du SNC constituent une complication grave et létale chez l'hémophile si la prise en charge n'est pas précoce. Elles représentent 77,7 % des causes de décès dans notre cohorte. La substitution en CFC s'impose dès la suspicion diagnostique et permet de réduire la morbidité et la mortalité. Une bonne sensibilisation des patients et de leur entourage sur la gravité de la survenue brutale de troubles neurologiques permettrait davantage de diminuer cette incidence.

05-12 Implication de la thromboélastométrie rotatoire dans le dépistage des anomalies de l'hémostase au cours des ménorragies

I. Ghachem*, K. Radhia, S. Dimassi, M. Iness, D. Fatma, H. Meriem, I. Lamia, S. Hadeif
Laboratoire d'Hématologie et banque du sang Sahloul Sousse, Laboratoire d'Hématologie et banque du sang Sahloul Sousse, Sousse, Tunisie

Introduction. Le thromboélastométrie rotatoire (Rotem), technique semi-automatisée, a montré sa performance dans la gestion des saignements périopératoire et dans la prise en charge des hémorragiques au cours des chirurgies cardiovasculaires, transplantation hépatique et lors des traumatismes. Toutefois, il n'existe, à l'heure actuelle, que des données limitées sur la valeur diagnostique du Rotem en dehors des salles opératoires. L'objectif de notre étude est d'explorer l'utilité de cette technique dans le dépistage des troubles hémorragiques héréditaires chez un échantillon d'individus non connus porteurs de ces maladies.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude pilote portée sur 40 cas et 20 témoins. Une exploration des anomalies hémostatiques a été entamée et associée à une exploration par le ROTEM.

Résultats. Au moins un trouble d'hémostase a été retrouvé chez 52,5 % des femmes ménorragiques, soit 95,2 % d'anomalies de la fonction plaquettaire, 14,3 % de VWD et 9,5 % déficit en facteur X. Le Rotem était pathologique pour quatre cas et trois témoins sans différence significative ($p = 0,68$). Trois malades présentaient une anomalie au temps INTEM. Seule une des quatre femmes diagnostiquées de VWD (trois cas et un témoin) avait un profil pathologique avec une anomalie aux deux temps Intem et Extem avec un déficit modéré en facteur VIII (46 %). Ces anomalies concernaient la phase d'amplification (temps de formation du caillot « CFT » et angle α) et la phase de propagation (fermeté maximale du caillot « MCF ») et épargnaient la phase d'initiation (temps de coagulation

[CT]) et la phase de lyse de caillot (taux de lyse du caillot à 30 et 60 min [L130 et L160]). Deux témoins avaient une anomalie à l'INTEM et à l'EXTEM. L'étude de FIBTEM effectuée pour les femmes présentant une anomalie à l'analyse EXTEM n'a pas montré d'anomalie. L'air sous la courbe ROC calculé était de 0,61-0,75 avec une sensibilité de 10 % et une spécificité de 88 %, une valeur prédictive positive (VPP) faible pour les troubles d'hémostase et une valeur prédictive négative estimée à 97 % pour la VWD et le déficit en facteur et 47 % dans les anomalies de la fonction plaquettaire.

Discussion. La faible performance en termes de sensibilité et de VPP concorde avec les résultats de l'étude de Schmidt et al ou le Rotem avait un faible potentiel discriminatif de la VWD. La détection de VWD par un allongement de temps d'initiation de la formation de caillot CT reste controversée. En effet, dans notre étude, la majorité des femmes dictées VWD avaient un profil normal et même la seule patiente dictée VWD type 2 ayant un profil pathologique avec une anomalie aux deux temps Intem et Extem, avait un CT normal. Par ailleurs, Schmidt et al ont montré que les patients atteints de VWD type 3 ayant un taux de facteur VIII considérablement diminué, avaient des résultats de tests ROTEM dans l'intervalle de référence. Dans ce contexte, une initiative d'essai élaborée par Topf et al a montré que l'Extem avait une sensibilité de 79 % à 100 % pour la VWD lorsque la Ristocétine était additionnée à l'échantillon (Ricotem). L'absence d'anomalie observée au Fibtém ou le caillot résultant dépend seulement de la formation et la polymérisation de la fibrine est en accord avec l'absence de l'hypofibrinémie recensée.

Conclusion. Le coût élevé de ce test et sa pauvre performance à discriminer les individus atteints de troubles d'hémostase suggèrent l'abstention de la pratique systématique de cette analyse pour le dépistage des ménorragies fonctionnelles.

05-13 Maladie de Willebrand acquise et traitement prophylactique des hémorragies digestives sur angiodyplasies intestinales par immunoglobulines intraveineuses : à propos d'un cas

A. Meyer¹, B. Jondeau², A. Perrier-Cornet³, C. Lavenu-Bombled^{*3}

¹ Service de gastro-entérologie, CHU Bicêtre, AP-HP, Université Paris-Saclay, 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. La maladie de Willebrand acquise (MWA) est une maladie rare de physiopathologie variable : anticorps dirigés contre le facteur Willebrand (VWF), adsorption sur cellules cancéreuses ou protéolyse.

La MWA peut se compliquer d'épisodes hémorragiques pouvant être sévères surtout en cas de challenge hémostatique. La prise en charge de ce risque repose sur le traitement étiologique s'il est possible et sur la correction des troubles de l'hémostase en cas d'hémorragie ou de geste invasif. En cas de MWA dans un contexte de MGUS, le traitement par immunoglobulines intraveineuses (IGIV) est très souvent efficace. Le mode d'action repose sur l'élimination des anticorps par des anticorps anti-idiotypiques et le blocage des récepteurs Fc du système réticulo-endothélial. Ce traitement peut également être mis en place de façon prophylactique car les IGIV auraient un effet de rétrocontrôle négatif sur les clones lymphocytaires B.

Patients et méthodes. Nous rapportons le cas d'une patiente avec MGUS présentant une MWA chez qui nous avons instauré depuis neuf mois un traitement prophylactique par IGIV pour des hémorragies digestives sur angiodyplasies intestinales.

Le diagnostic de MWA a été posé en 2014 dans un contexte d'anémie profonde (hémoglobine 6,2 g/dL) sur saignement d'une angiodyplasie duodénale chez une patiente de 77 ans déjà suivie pour un MGUS. Le bilan biologique a objectivé des taux de VWF effondrés (VWF:RCO : < 13 %, VWF:Ag : 16 %, FVIII:C : 17 %). Par la suite elle a présenté de nombreux épisodes d'hémorragies digestives dues à des angiodyplasies intestinales avec anémie sévère, nécessitant une prise en charge en réanimation pour plusieurs d'entre eux. Elle a eu à plusieurs reprises un traitement des angiodyplasies par électrocoagulation au plasma argon par voie endoscopique associée à des perfusions d'IVIG (1 g/kg une fois) et d'acide tranexamique. L'association de ces traitements a toujours permis d'arrêter le saignement, et de maintenir des taux de VWF et FVIII:C > 50 % pendant environ huit à 10 jours. Cependant, les épisodes devenant pluriannuels, un traitement prophylactique par IGIV a été mis en place en mars 2019.

Résultats. La prophylaxie a été commencée à la dose de 0,5 g/kg toutes les trois semaines, rapidement augmentée à 0,75 g/kg au même rythme. En résiduel, les taux de VWF:Ag et FVIII:C sont d'environ 20 % contre des taux généralement < 10 % hors prophylaxie, mais les taux de VWF:RCO restent indétectables. Le taux d'hémoglobine s'est stabilisé à 12,5 g/dL. Après neuf mois de traitement prophylactique, la patiente n'a pas présenté de nouvel accident hémorragique. La patiente n'est plus asthénique et rapporte un bénéfice net en termes de qualité de vie. Le seul effet

indésirable rapporté est une fatigue et une sensation de « malaise » durant les quelques jours suivant la perfusion d'IGIV.

Conclusion. Devant ce traitement efficace et les plaintes exprimées par la patiente nous avons décidé d'espacer le délai entre les injections à quatre semaines à partir de janvier 2020.

05-14 Administration de desmopressine chez des patients atteints de maladie de Willebrand de type 2B : Impact sur les paramètres hémostatiques

A. Dupont*, A. Rauch, C. Paris, F. Lassalle, E. Fressinaud, J. Goudemand, C. Zawadzki, E. Jeanpierre, S. Susen
Service d'hémostase et transfusion, centre de référence de la maladie de Willebrand, CHU, Lille

Introduction. La maladie de Willebrand de type 2B (MW2B), liée à des mutations « gain de fonction » dans le gène du facteur de Willebrand (VWF), se caractérise par une affinité accrue du VWF pour le récepteur GPIIb/IIIa plaquettaire entraînant une réduction variable des multimères de haut poids moléculaire (HPM) du VWF et une thrombopénie inconstante et fluctuante. La desmopressine est classiquement contre-indiquée chez les patients atteints de MW2B en raison du risque de thrombopénie après libération du VWF anormal. Cependant, cette contre-indication repose sur le résultat de petites séries de patients ne tenant pas toujours compte de la mutation et sans apparition systématique d'une thrombopénie après administration de desmopressine.

L'objectif de cette étude est d'évaluer, chez des patients MW2B sans thrombopénie à l'état basal, l'impact de l'administration de desmopressine sur la numération plaquettaire, l'activité plasmatique du VWF (VWF:Act) et le temps d'occlusion plaquettaire en collagène-épinéphrine (TO/CEPI) et collagène-ADP (TO/CADP).

Patients et méthodes. Quatorze patients MW2B (âge moyen : 23 ans) issus de sept familles différentes ont été inclus. Huit patients présentent la mutation R1341Q et six patients la mutation R1306Q, deux mutations parmi les plus fréquemment observées dans la VWD-2B. Un prélèvement a été réalisé avant injection et 30 minutes, 1, 2 et 4 h après la fin de l'injection de desmopressine (0,3 µg/kg).

Résultats. Avant injection, tous les patients présentent une numération plaquettaire > 150 G/L, une réduction partielle ou totale des HPM du VWF, un VWF:Act < 50 %, un TO/CEPI et un TO/CADP > 300 s et un taux d'hémoglobine > 12 g/dL. Deux heures après l'administration de desmopressine, on observe une diminution significative de la numération plaquettaire (187 ± 31 vs 223 ± 34, p = 0,002) sans cependant induire de thrombopénie sauf pour un patient (thrombopénie mineure à 143 G/L). De plus, malgré une correction du VWF:Act (> 50%) chez tous les patients, 2 h après l'injection de desmopressine, les TO/CEPI restent supérieurs à 300 s alors que les TO/CADP se raccourcissent (p = 0,01).

Conclusion. En conclusion, cette étude montre que l'utilisation de desmopressine chez des patients MW2B typiques permet la correction de VWF:Act et ne conduit pas systématiquement à une thrombopénie. Ces résultats vont à l'encontre d'une contre-indication systématique de la desmopressine chez les patients MW2B présentant les mutations R1341Q et R1306Q sans thrombopénie à l'état basal. De plus, la persistance d'un allongement majeur du TO/CEPI chez ces patients, après correction de l'activité du VWF et en l'absence de thrombopénie, suggère une thrombopathie associée dont l'impact sur le phénotype hémorragique et les mécanismes moléculaires impliqués restent à décrire.

05-15 Suivi biologique des patients hémophiles A traités par lonoctocog α par un dosage chromométrique simple avec le CK-Prest®, sans facteur multiplicatif, accessible 24 h/24

F. Devaux*, S. Zia-Chahabi¹, E. De Raucourt², F. Samdjee³, A. Perrier-Cornet⁴, B. Gillet⁵, R. D'Oiron⁵, C. Flaujac¹

¹ Laboratoire de biologie médicale (secteur hémostase), CH de Versailles André Mignot, Le Chesnay ; ² Centre de ressources et compétences maladies hémorragiques, CH de Versailles André Mignot, Le Chesnay ; ³ Pharmacie, CH de Versailles André Mignot, Le Chesnay ; ⁴ Laboratoire d'hémostase, Hôpital Bicêtre AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre ; ⁵ Centre de ressources et compétences maladies hémorragiques, Hôpital Bicêtre AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre

Introduction. Lonoctocog α est un facteur VIII (FVIII) recombinant humain de longue durée d'action utilisé dans le traitement de l'hémophilie A. Sa stabilité vient d'une chaîne unique avec un domaine B tronqué, sans ajout de macromolécule. Pour son suivi, le fournisseur recommande une méthode chromogénique, difficilement applicable 24 h/24, ou une méthode chromométrique en appliquant un facteur multiplicatif de 2, lié à une sous-estimation d'environ 45 %. L'utilisation d'une méthode chromométrique classique nécessite une comparaison préalable avec la méthode chromogénique et une vigilance pour les cliniciens devant appliquer le facteur multiplicatif. Cette étude a pour objectif d'évaluer la mise en place d'une méthode chromométrique s'affranchissant du facteur

de conversion via une calibration spécifique du FVIII Lonoctocog, qui permettrait une disponibilité du dosage 24 h/24 avec les réactifs habituels.

Matériels et méthodes. Les dosages de FVIII ont été réalisés par technique chromométrique (CK-PREST[®], Stago (FVIII CKP)) ou chromogénique TriniCHROM Factor VIII :C (Tcoag) sur Star Max[®] (Stago). La calibration spécifique a été établie à partir de Lonoctocog alfa reconstitué selon les recommandations fournisseur puis dilué dans un plasma déficient en FVIII (1 UI/mL) (test FVIII CKPA). La méthode a été vérifiée sur le plasma d'hémophiles A traités par Lonoctocog alfa (n = 22) en comparant les méthodes chromométriques FVIII CKP et FVIII CKPA, à la méthode chromogénique. Les études de répétabilité (n = 10) et de reproductibilité (n = 16) ont été réalisées à partir des contrôles internes de qualité : niveau normal CN, pathologique CP, très pathologique CP10 (dilution 1/10 CP). **Résultats.** Le FVIII Lonoctocog reconstitué en eau est peu stable, alors qu'il reste stable au moins 5 h après reconstitution en plasma déficient FVIII. La configuration du test (FVIII CKPA) est une courbe polynomiale d'ordre 2, identique à celle habituellement utilisée avec les mêmes critères de conformité (r = 1,0). Le FVIII par technique chromogénique est corrélé au FVIII CKPA (R = 0,998, biais moyen -4,59 % ; [1,7 % ; 104 %]) et deux fois plus élevée que le FVIII CKP (R = 0,999). La linéarité a été vérifiée à partir de plasma chargés en FVIII Lonoctocog, de 120 % à < 1 % (r² = 1). Les études de répétabilité et de reproductibilité CN, CP, CP10 montrent des coefficients de variation respectifs de répétabilité de 1,24 %, 1,32 % et 2,96 %, et de reproductibilité de 5,79 %, 3,84 % et 8 %, conformes aux critères acceptables du GFHT.

Discussion. La réalisation de la courbe de calibration dédiée Lonoctocog alfa est satisfaisante, permettant de s'affranchir du facteur de multiplication en technique chromométrique standard.

Conclusion. La courbe de calibration spécifique peut donc constituer une alternative pour les laboratoires ne disposant pas de technique chromogénique et/ou souhaitant disposer d'un dosage 24 h/24 avec leur technique chromométrique habituelle afin de limiter l'erreur liée au facteur multiplicatif.

05-16 Suivi biologique des patients atteints d'hémophilie A traités par émicizumab (Hemlibra[®]) : utilisation du test de génération de thrombine

C. Achard^{*1}, A. Lienhart², C. Negrier², C. Nougier³

¹ Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Bichat, Rue Henri Huchard, Paris, France ; ² Centre régional de traitement de l'hémophilie, Hôpital Louis Pradel, Bron ; ³ Laboratoire d'hématologie, Centre de Biologie et Pathologie Est - HCL, Bron

Introduction. L'hémophilie A est une pathologie congénitale liée à l'X définie par un déficit en facteur (F) VIII de la coagulation. Le développement d'un nouvel anticorps bispécifique mimant l'action du FVIII, l'émicizumab, est une avancée majeure pour le traitement des patients atteints d'HA. Cependant, l'émicizumab interfère de manière significative avec les tests utilisés en routine au laboratoire, ce qui complique le suivi biologique des patients traités. En effet, l'usage de traitements substitutifs ou d'agents by-passants lors de situations à risque (hémorragie aiguë, chirurgie invasive) nécessite la prise en compte de l'effet pro-coagulant de la prophylaxie par émicizumab. L'objectif de notre étude a été d'utiliser le test de génération de thrombine (TGT) sur différentes concentrations plasmatiques d'émicizumab, pour le suivi des paramètres hémostatiques. L'administration concomitante d'émicizumab et d'autres molécules pro-coagulantes a ensuite été étudiée.

Matériels et méthodes. 11 concentrations d'émicizumab (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 et 100 µg/mL) ont été testées par épreuve de surcharge d'un plasma déficient en FVIII (Cryo pep[®] factor VIII déficient plasma). Puis, l'administration de gammes de concentrations de FVIII recombinant (rFVIII), de Feiba[®] et de FVII activé recombinant (rFVIIa) a été effectuée sur des plasmas en l'absence et en présence de 60 µg/mL d'émicizumab. Les mesures ont été effectuées en duplicate sur Fluroscan Ascent[®], avec activation de la coagulation par 20 µL de facteur tissulaire à un pM. Les concentrations en émicizumab ont été vérifiées en utilisant le dosage chromométrique spécifique sur ACLTOP 750 (Werfen[®]). Les résultats obtenus sur les différents paramètres (pic de thrombine et potentiel endogène de thrombine (ETP)) ont été comparés à ceux obtenus sur des plasmas témoins.

Résultats. La concentration en émicizumab est corrélée de façon significative avec la hauteur du pic de TGT (r = 0,95, p < 0,001), ainsi qu'avec le potentiel endogène de thrombine (r = 0,97, p < 0,0001). Pour la concentration la plus élevée de la gamme (100 µg/mL), les paramètres ne sont pas normalisés. Les surcharges plasmatiques en rFVIII montrent des profils comparables en présence ou non de l'émicizumab. Pour le Feiba[®], les résultats montrent une augmentation dose-dépendante du pic et de l'ETP, ainsi qu'un important effet synergique avec l'émicizumab in vitro : on observe une normalisation des paramètres dès la dose de 6,25 UI/kg de Feiba[®] en présence d'émicizumab. Les paramètres sont ensuite augmentés de façon dose-dépendante au-delà des valeurs témoins. Cet effet synergique est également observé lors des surcharges en rFVIIa de

façon plus modérée : on observe une augmentation dose-dépendante du pic et de l'ETP mais celle-ci reste inférieure aux valeurs témoins.

Conclusion. La corrélation des concentrations d'émicizumab avec les paramètres du TGT semble permettre une estimation de l'état hémostatique global des patients traités, et ainsi une évaluation de l'équilibre du traitement et du risque hémorragique. Le TGT semble être un outil intéressant pour l'adaptation posologique des agents by-passants et ainsi le contrôle de la survenue de complications.

05-17 Chirurgie majeure chez les hémophiles : à propos de sept cas

SA. Toure^{*1}, M. Seck², BF. Faye³, D. Sy⁴, N. Dieng³, AB. Senghor⁵, AB. Diallo³, SM. Guéye³, M. Gadj⁶, A. Sall⁷, FAO. Touré³, S. Diop³

¹ Hématologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal, Dakar, Sénégal ; ² Hématologie, ucad, UCAD, Dakar, Sénégal ; ³ Hématologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal ; ⁴ Hématologie, Centre National de Transfusion Sanguine, Dakar, Sénégal ; ⁵ Hématologie, Centre national de transfusion sanguin, Dakar, Sénégal ; ⁶ Hématologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar ; ⁷ Hématologie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal

Introduction. La gestion de l'hémostase périopératoire constitue un véritable défi lors d'intervention chirurgicale chez l'hémophile. Le risque hémorragique postchirurgical de l'hémophile est estimé à 1,9 % avec une mortalité de 4,5 % dans les pays développés. L'objectif de ce travail était d'évaluer l'efficacité des protocoles de substitution en concentrés de facteurs dans la prévention du risque hémorragique postchirurgical des hémophiles.

Patients et méthodes. Il s'agissait d'une étude rétrospective et analytique portant sur sept hémophiles A (trois sévères, trois modérées et un mineure) ayant subi une intervention chirurgicale. Selon les indications, la chirurgie urologique prédominait (42,8 %) avec une cure de hernie inguinoscrotale étranglée, une torsion du cordon spermatique et une cure de varicocèle. La chirurgie orthopédique suivait à 28,6 % avec une amputation traumatique du pied et un drainage d'un abcès de la cuisse gauche. Les autres indications étaient respectivement un pseudotumeur du massif facial gauche (14,3 %) et un drainage d'un hématome sous-dural aigu frontal gauche (14,3 %). Toutes les chirurgies étaient classées majeures selon les critères prédéfinis. Les protocoles de substitution en concentrés de facteur de coagulation (CFC) VIII étaient établis selon le type de chirurgie (50 UI/kg/j pendant les trois premiers jours puis la dose a été réduite à 30 UI/kg/j pendant cinq jours en moyenne). Avant l'intervention, nous avons analysé les antécédents de saignement, la quantité totale de facteur VIII reçue par le patient, le dépistage des inhibiteurs anti-FVIII et l'existence de complications orthopédiques. L'efficacité du protocole était évaluée sur la survenue de saignement, la quantité totale de facteur reçue, la durée d'hospitalisation et le délai de cicatrisation.

Résultats. L'âge médian des patients était de 16 ans (7-46 ans). Le nombre de saignement moyen par an était estimé à 3,57/an. Le dépistage des inhibiteurs était négatif chez tous les patients. Le délai entre l'indication de la chirurgie et l'intervention était en moyenne de 2,9 jours (10 h-1 an 2 mois). La durée moyenne de l'intervention chirurgicale était d'une heure 49 min (1 h-3 h). L'hémostase était bonne dans 85,7 % des cas. Les suites opératoires étaient favorables sans complications dans 71,4 %. Le délai de cicatrisation moyen était de 31,3 jours (20 jours-2 mois). Une reprise du saignement au niveau du site opératoire a été observée chez un patient (14,3 %). Trois patients ont présenté des complications respectivement à type de sepsis (14,3 %) ; lâchage des sutures et nécrose (14,3 %) et staphylocoque maligne de la face (14,3 %). Un patient a développé des inhibiteurs en postopératoire. Un patient est décédé au bout de 21 jours suite à un choc septique. La durée moyenne d'hospitalisation était de 13,3 jours (3-31 jours). La consommation totale en CFC était estimée en moyenne à 15257 UI/patient (2 000 UI-34800 UI).

Conclusion. Nous avons montré à travers cette étude la faisabilité de la chirurgie chez les hémophiles dans un pays à ressources limitées. Cependant, il est nécessaire de mettre en place des protocoles de substitution en facteur adaptés au contexte et au type de chirurgie afin de réduire la morbidité et la mortalité.

05-18 Aspects cliniques et pronostic de l'hémophilie à Tizi Ouzou

D. Amirouche¹, H. Laga^{*2}, M. Allouda³, S. Gherras², K. Ait Seddik⁴, N. Dali⁵, H. H. aital⁶

¹ Hématologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie ; ² Service d'hématologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie ; ³ Service hématologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie ; ⁴ Hématologie, CHU Nedir Mohamed, Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, Algérie ; ⁵ Hématologie, CHU Nedir Mohamed, Porte B «sortie», Tizi Ouzou, Algérie ; ⁶ Hématologie, CHU Nedir Mohamed, Tizi Ouzou, Algérie

Introduction. L'hémophilie est une maladie génétique rare et grave ; sa transmission est récessive liée au chromosome X. Elle est due à un déficit en facteur VIII (hémophilie A) ou en facteur XI (hémophilie B). Il existe une corrélation entre l'intensité du déficit en facteur antihémophilique et l'expression clinique de la maladie. Sa prise en charge thérapeutique est pluridisciplinaire. Le but de notre travail est de déterminer les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, biologiques et évolutives des patients hémophiles suivis dans notre service.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive allant de 1990 à 2018. 26 pts atteints d'hémophilie A ou B ont été colligés. Le support des données était les dossiers d'hospitalisation et les fiches de consultations des pts.

Résultats. L'âge moyen est de 33 ans (16 ans à 73 ans). la moyenne d'âge au DC est de 13 ans (15 mois à 37 ans). Six pts (23 %) ont un ATCD familial d'hémophilie. Au diagnostic 22 pts (84,6 %) ont présenté un syndrome hémorragique, il s'agit d'une hémarthrose chez neuf pts (40,9 %) ; un hématome chez sept pts (31,8 %) et les deux à la fois chez six pts (27 %). Le dosage du facteur antihémophilique est fait chez 25 pts (96 %) : il s'agit d'hémophilie A chez 21 pts (84 %) dont 13 pts (61,9 %) sont des hémophiles A sévères, quatre pts (19 %) mineures et trois pts (14 %) modérés. il s'agit d'hémophilie B chez quatre pts (6 %) qui sont tous classés sévères. Sur le plan thérapeutique les pts hémophiles A ont reçu soit le facteur VIII recombinant soit le facteur VIII plasmatique selon la disponibilité des produits. les pts avec hémophilie B ont reçu le facteur IX plasmatique. Les hémophiles A sévères sans inhibiteurs reçoivent la prophylaxie (15 UI/kg 2 fois/S). Deux pts avec hémophilie A sévère qui sont des frères ont développé des anticorps circulants (ACC), un est un faible répondeur et l'autre un fort répondeur. Les ACC sont négatifs au dernier contrôle. Ils ont reçu le facteur VIIa aux besoins. La recherche d'ACC n'a pas été faite chez les hémophiles B. Seulement quatre pts (15 %) ont reçu le vaccin contre l'hépatite B. Deux pts ont fait une hépatite C, traités et déclarés guéris. Tous nos pts ont des sérologies virales HIV et HCV négatives. Sept pts (27 %) ont développé une arthropathie hémophilique dont un pt a bénéficié d'une prothèse du genou et l'autre est en attente d'une PTH.

Conclusion. L'hémophilie est une maladie hémorragique constitutionnelle grave source de complications invalidantes telles que l'arthropathie hémophilique à l'origine d'un handicap et d'un défaut d'insertion socioprofessionnel, la survenue d'ACC et la transmission de maladie virales. Le recensement des malades, l'éducation sanitaire et la prophylaxie permettent une meilleure prise en charge des pts limitant ainsi les complications.

05-19 Déficit en facteur XI : à propos de 20 cas

Y. Dhaha*¹, BW. El¹, A. M², S. Fekih Salem¹, B. Meddeb², E. Gouider¹

¹ Service hématologie biologique, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie ;

² Service hématologie clinique, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

Introduction. Le déficit congénital en facteur XI est caractérisé par une réduction de l'activité et/ou de l'antigène du facteur XI. Ce déficit est surtout découvert lors d'un traumatisme ou d'un geste chirurgical, en particulier lorsque des tissus à haute activité fibrinolytique sont concernés. Il est largement répandu dans certaines populations notamment chez les Juifs d'origine ashkénaze.

Nous rapportons une série tunisienne de déficit congénital en facteur XI avec une revue de la littérature.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude rétrospective menée du 1^{er} janvier 2011 au 31 décembre 2019, qui a concerné les patients ayant un déficit en facteur XI diagnostiqué au service d'hématologie biologique et suivis régulièrement dans le centre de traitement des hémophiles à l'hôpital Aziza Othmana. Les données cliniques ont été recueillies (particulièrement l'âge au diagnostic, circonstances de découverte, caractéristiques du syndrome hémorragique et les antécédents familiaux). Le bilan de coagulation de première intention (TP, TCA et dosage du

fibrinogène) ainsi que le dosage spécifique du facteur FXI ont été réalisés par technique coagulométrique sur STA[®] compact puis sur ACL TOP[®]. Le déficit en FXI a été confirmé sur deux prélèvements différents.

Résultats. Pendant la période d'étude ; 20 patients ont été colligés. L'âge moyen de découverte était de 29 ans (7-68 ans) avec un sex-ratio (M/F) = 0,33. Les circonstances de la découverte étaient fortuites lors d'un bilan préopératoire dans 14 cas, devant un syndrome hémorragique dans quatre cas ou lors d'une enquête familiale dans deux cas. Les antécédents familiaux hémorragiques ont été rapportés dans 30 % des cas. Des antécédents personnels hémorragiques ont été retrouvés chez cinq patients. L'épistaxis était la principale manifestation clinique. Huit patients ont subi un acte chirurgical dont six avaient des suites opératoires simples.

Sur le plan biologique, le TCA était allongé et isolé dans 75 % des cas et corrigé à l'épreuve de mélange plasma malade et plasma témoin dans tous les cas. Le bilan d'hémostase (TP, TCA et fibrinogène) a été revenu normal dans cinq cas. Le taux de FXI moyen était de 24 % (1-58 %). Aucune corrélation n'a été retrouvée entre les caractéristiques biologiques et cliniques. Les patients étaient traités par l'acide tranexamique avec recours aux plasmas frais congelés en cas de persistance des saignements ou lors d'une chirurgie et ceci en absence de concentrés de facteur XI en Tunisie.

Conclusion. Nos résultats sont compatibles avec les données de la littérature. Des études prospectives multicentriques seraient nécessaires pour mieux évaluer la corrélation clinicobiologique et incluant l'étude moléculaire pour une meilleure compréhension de la particularité des anomalies génétiques de ce déficit en FXI chez une population tunisienne.

05-20 Hémophilie : bénéfices de la prophylaxie tertiaire

N. Boualem*

Hématologie CHU. faculté de médecine, Université Abderrahmane Mira de Bèjaïa - Campus Aboudaou, Tala Hamza, Algérie

Introduction. L'hémophilie est une coagulopathie congénitale dont la prise en charge reste un challenge non seulement dans la gestion des complications hémorragiques mais aussi dans la préservation du capital articulaire qui est d'une grande importance dans l'insertion sociale de ces patients.

La prophylaxie à domicile même tertiaire, grâce à un programme d'éducation thérapeutique permet de réduire l'incidence et la gravité des épisodes hémorragiques d'un côté et de conférer à ces malades une certaine confiance et une assurance en cas d'urgences.

Matériels et méthodes. C'est une étude rétrospective du janvier 2014 jusqu'à décembre 2018.

Vingt-deux malades adultes âgés 16 à 49 ans atteints d'hémophilie A sévère ont suivi une d'éducation thérapeutique pendant des années, ont été mis en 2013 sous prophylaxie tertiaire (faible dose) 20 UI/kg/semaine à domicile.

Consultation spécialisée mensuelle et enquête sur le registre des urgences et évaluation sur les plans : socioprofessionnel, scolaire et qualité de vie de nos patients mis sous prophylaxie.

Résultats. Sur le nombre de consultation en urgence par année, on note une diminution de 120 en 2014 à 15 en 2018.

Sur le plan socioprofessionnel huit patients sont toujours scolarisés au lycée et à l'université et cinq travaillent d'une manière stable et les autres saisonnièrement. Par ailleurs trois patients envisagent de se marier.

Discussion. Le Per capita en 2017 en Algérie pour le VIII n'est qu'à 1,99. Nos malades adultes non pas bénéficié d'une prophylaxie ni primaire ni secondaire vu que la prophylaxie a débuté en 2008. Mais depuis 2013 nos patients sont plus rassurés, plus confiants et se prennent en charge en urgence à domicile eux-mêmes.

Conclusion. Par défaut de moyens, les hémophiles adultes n'ayant pas bénéficié d'une prophylaxie primaire au jeune âge, un traitement prophylactique même tertiaire à faible dose, à domicile paraît efficace.