Congrès Français d'Hémostase

GFHT CoMETH MHEMO

BOOK DES ABSTRACTS

1er / 3 JUIN 2022

Centre de congrès Cité Mondiale

BORDEAUX

congres-hemostase.com

Poly'Hémos

LE NOUVEL OUTIL D'ÉDUCATION THÉRAPEUTIQUE VENEZ LE DECOUVRIR SUR LE STAND BAYER

POUR MIEUX APPRÉHENDER L'HÉMOSTASE ET SES PATHOLOGIES AVEC VOS PATIENTS

Élaboré par l'équipe du CRC-MHC

CHU ROUEN NORMANDIE

avec le soutien de

BAYER

30246-0522 - PP-PF-HEM-FR-0177-1 - Bayer HealthCare SAS - SAS au capital de 47.857.291,14 - RCS Lille Métropole 706 580 149 - Siège social : 220 avenue de la Recherche 59120 Loos Sterling Cooper Paris

SOMMAIRE

Communications orales

Jeudi 2 juin 2022 – 08h30 à 10h30

- Session « Anomalies hémorragiques de l'hémostase » Page 4
- Session « Anomalies thrombotiques veineuses et artérielles, acquises et héréditaires (1) » Page 9

Jeudi 2 juin 2022 – 14h00 à 15h30

- Session « Communications orales : Prix CFH » Page 14

Vendredi 3 juin 2022 – 08h30 à 10h00

- Session « Anomalies thrombotiques veineuses et artérielles, acquises et héréditaires (2) » Page 17
- Session « Laboratoire / Pharmacie clinique » Page 20

Posters Commentés

Vendredi 3 juin 2022 – 10h45 à 11h15

- Session « Posters Commentés (1) » Page 23

Vendredi 3 juin 2022 – 13h30 à 14h00

- Session « Posters Commentés (2) » Page 25

Posters

- Anomalies hémorragiques de l'hémostase : aspects scientifiques, diagnostiques (clinico-biologiques), thérapeutiques, et déficits rares Page 27

- Anomalies thrombotiques veineuses et artérielles, acquises et héréditaires : aspects scientifiques, diagnostiques (clinico-biologiques), et thérapeutiques Page 48

- Laboratoire / Pharmacie clinique : accréditation, évaluation des pratiques, aspects pharmaco-économiques, éducation thérapeutique Page 57

Jeudi 2 juin 2022 – 08h30 à 10h30
Session « Anomalies hémorragiques de l'hémostase »

00034 - Hémophile A sévère en échec de diagnostic moléculaire : une histoire ancienne ?

Y. Jourdy[1], M. Frétigny[1], A. Dericquebourg[1], C. Vinciguerra[1]

[1]*Hospices Civils de Lyon - Lyon (France)*

Introduction : Le diagnostic moléculaire de l'hémophilie A sévère comprend la recherche des inversions récurrentes de l'intron 22 et de l'intron 1, le séquençage des régions codantes (ainsi que des jonctions intron/exon, de la région promotrice et de la région 3' non traduite) du gène F8 et la recherche des anomalies du nombre de copies par MLPA. Néanmoins, environ 1% des hémophiles A sévères demeurent sans diagnostic génétique. L'absence de diagnostic génétique complique la détection des femmes conductrices et a un impact sur le conseil génétique donné à ces familles. Des variants de structure de la région Xq28 sont suspectés chez les patients hémophiles A sévères en échec de diagnostic génétique.

Matériels et Méthodes : Un séquençage total du gène F8 a été effectué par Next Generation Sequencing (NGS). Les réarrangements détectés ont été confirmés par un ensemble de méthodes telles que le séquençage Sanger des points de cassure, la PCR quantitative et la cytogénétique.

Résultats : Parmi les 813 familles avec des antécédents d'hémophilie sévère génotypées dans notre laboratoire, 8 (1%) étaient en échec de diagnostic moléculaire. L'ADN d'un individu de chacune de ces familles (7 hémophiles et une femme conductrice obligatoire avec un taux de FVIII:C <1%) a été étudié par NGS (84% de couverture à >30X). Aucun variant ponctuel candidat n'a été identifié chez ces patients. Des points de cassure localisés dans les introns du gènes F8 ont été identifiés chez tous les cas. Le même réarrangement a été identifié chez deux patients sans lien de parenté identifié. Trois inversions chromosomiques équilibrées ont été identifiées. Deux sont limitées à la région Xq28 (1,970 Mb et 0,362 Mb) et la dernière correspond à une inversion péricentrique de l'X (Xp11.23_Xq28). Cette dernière inversion a été confirmée en cytogénétique. Dans quatre cas, les réarrangements correspondent à l'insertion de régions dupliquées du génome (34 kb du chromosome 6, 447 kb du chromosome 9 et 247 kb du chromosome X) dans le gène F8. Ces duplications/insertions ont été confirmées par qPCR et séquençage des jonctions. Le dernier cas est une retrotransposition d'une séquence LINE L1 dans l'exon 13 du gène F8. Aucun de ces réarrangements n'impliquent d'autres gènes OMIM.

Conclusion : Tous les cas inclus dans ce travail étaient causés par des variants de structure affectant le gène F8. A ce jour nous avons résolu la totalité des hémophilies A sévères en échec de diagnostic moléculaire de notre centre. Des méthodes spécifiques de détection de ces réarrangements ont été développées facilitant grandement la réalisation des études familiales. Ces résultats pourront avoir un impact sur le conseil génétique donné à ces familles.

00043 - Quantification of platelet Filamin A does not support the pathogenicity of FLNA missense compared to nonsense variants

M. Ibrahim-Kosta[1], M. Poggi[1], V. Sbarra[1], N. Hézard[1], C. Falaise[1], G. Mourey[2], F. Nedelec[3], E. Gabinaud[1], M. Fiore[4], N. Saut[1], E. Toméi[1], M. Alessi[1], P. Saultier[1]

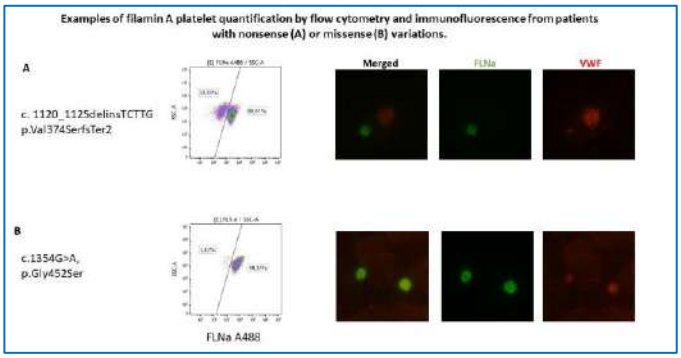
[1]*Aix Marseille Univ, Inserm 1263, Inrae 1260, C2vn, APHM, National Reference Center on Constitutional Platelet Disorders (CRPP) - Marseille (France),*
[2]*Haemophilia Treatment Centre, University Hospital of Besançon. Hemostasis Laboratory, Etablissement Français du Sang - Besançon (France),*
[3]*Department of Haemostasis, University Hospital of Rennes - Rennes (France),*
[4]*Centre de Référence des Pathologies Plaquettaires Constitutionnelles, Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Haut-Lévêque, Groupe Hospitalier Sud, CHU de Bordeaux, Pessac - Bordeaux (France)*

Introduction : Filamin A (FLNA) variants are responsible of a rare X-linked dominant syndromic macrothrombocytopenia mainly associated with nodular brain heterotopia. Absence of FLNA within platelets may help to establish the pathogenicity of candidate variants. The aim of this study is to assess the value of platelet FLNA quantification in 10 patients (9 females) carrying 8 novel FLNA variants (3 nonsense and 5 missense) and referred for thrombocytopenia and/or dense granule defect.

Matériels et Méthodes : Clinical features, platelet count and size, results of platelet aggregation, dense granules analysis, and glycoprotein levels were collected. Intra-platelet FLNA was quantified by whole blood flow cytometry (FC) and immunofluorescence. Genetic variants have been identified using a platelet disorders gene sequencing panel.

Résultats : The three nonsense variants were: c.133C>T (p.Gln45Ter), c.1056delG (p.Thr353LeufsTer32) and c.1120_1125delinsTCTTG (p.Val374SerfsTer2). All patients(n=5) exhibited macrothrombocytopenia (83-130x109/L, 5-10% macroplatelets) associated with extra-hematological manifestations (nodular brain heterotopia in all, ligamentous hyperlaxity and cardiac malformations). In all patients, FC identified a subpopulation of FLNA-negative macroplatelets (30-35%). FLNA-negative macroplatelets were also identified by immunofluorescence (Figure.1A). The five missense variants were: c.1354G>A (p.Gly452Ser), c.3755C>T (p.Ala1252Val), c.6791G>A (p.Arg2264Gln), c.568C>T (p.Arg190Trp), and c.5053A>G (p.Thr1685Ala). All variants were predicted to be deleterious using multiple prediction tools and were absent from general population databases for two or rarely reported for three variants (GnomAD exome frequency: 1.69x10-5-5.65x10-6). Thrombocytopenia (36-133x109/L) was reported in 4/5 patients. One patient had an isolated dense granule defect. Macroplatelets were detected at a variable level (0-50%). Two patients had associated organ defect (psychomotor delay, cardiac, hyperlaxity, liver cytolysis). Brain MRI, performed in three patients, was normal. FC and immunofluorescence analysis did not reveal any negative FLNA platelet subpopulation (Figure.1B). The patient carrying the p.Ala1252Val was finally diagnosed as a telomeropathy (TERT variant).

Conclusion : Our results highlight the value of FLNA platelet quantification to investigate the pathogenicity of nonsense FLNA variants. In contrast, quantification of platelet Filamin A may not be informative regarding missense variants.



00054 - Elimination of factor VIII inhibitors by the IgG-degrading enzyme from Streptococcus pyogenes

M. Bou Jaoudeh[1], V. Daventure[2], S. Delignat[2], J. Astermark[3], H. Lévesque[4], V. Proulle[2], S. Lacroix-Desmazes[2]

[1]*Inserm Umrs1138, Sorbonne Université - Paris (France),*
[2]*Inserm Umrs1138 - Paris (France),*
[3]*Lund University (Sweden),*
[4]*Unirouen - Rouen (France)*

Introduction : The administration of exogenous therapeutic factor VIII (FVIII) to correct bleeding in patients with hemophilia A (HA) is complicated by the development of neutralizing anti-FVIII IgG, referred to as 'FVIII inhibitors'. The development of FVIII inhibitors precludes further use of therapeutic FVIII. Bypassing agents, such as activated factor VII or bispecific antibodies, are however not as efficient as FVIII in correcting major bleeds resulting from injuries or surgery. IdeS is an enzyme from Streptococcus pyogenes that hydrolyses human IgG and was used with success in kidney transplant to prevent antibody-mediated allograft rejection. Our aim is to investigate whether IdeS may remove FVIII inhibitors from inhibitor-positive patients.

Matériels et Méthodes : IdeS was incubated with i) plasma from 119 patients with severe or mild/moderate HA, with or without FVIII inhibitors ; ii) plasma from 43 patients with acquired HA; or iii) human monoclonal anti-FVIII $IgG1_k$ or $IgG4_k$ specific for the A2 (BOIIB2), A3 (KM41), C1 (LE2E9), or C2 (BO2C11) FVIII domains. IgG hydrolysis of the Fc fragment was confirmed by SDS-PAGE and Western blot. Residual FVIII recognition was measured in ELISA using a secondary anti-Fc detection antibody.

Résultats : IdeS readily hydrolyzed recombinant monoclonal IgG as well as polyclonal IgG in patients' plasma. IdeS treatment resulted in a significant reduction of FVIII recognition in ELISA, confirming the release of the Fc fragment from the $F(ab')_2$ fragments. Because IdeS retains the integrity of the $F(ab')_2$ fragments, treatment had no major impact on the inhibitory activity towards FVIII *in vitro*.

Conclusion : IdeS efficiently hydrolyses anti-FVIII IgG *in vitro*. Work in FVIII-deficient mice passively immunized with human anti-FVIII IgG will bring the proof of concept for the removal of FVIII inhibitors by IdeS *in vivo*, opening a time window for the efficient use of FVIII replacement therapy. Importantly, it will reveal whether IdeS-mediated transient removal of FVIII inhibitors may be applied to all inhibitor-positive HA patients or should be restricted to patients with low inhibitor titers. Aside from the use of by-passing agents and/or emicizumab, IdeS-mediated transient removal of FVIII inhibitors may be a new therapeutic option to improve the management of inhibitor-positive patients.

00063 - Cinétique de décroissance des inhibiteurs anti-facteur VIII chez les patients hémophiles A sévères traités par emicizumab : description et modélisation

C. Nougier[1], P. Noyel[2], C. Berger[3], H. Rezigue[1], J.C. Bordet[1], F. Sobas[1], A. Lienhart[4], S. Meunier[4]

[1]*Centre de Biologie et Pathologie Est, Laboratoire d'hématologie-HCL - Bron (France),*
[2]*Laboratoire d'hématologie, CHU Nord - Saint Etienne (France),*
[3]*Service d'Hémato-Oncologie Pédiatrie CHU Nord - Saint Etienne (France),*
[4]*Unité d'hémostase Clinique, HCL - Bron (France)*

Introduction : Depuis 2018 emicizumab (HEMLIBRA®) est un traitement prophylactique indiqué chez les patients hémophiles A sévères avec inhibiteur anti-facteur VIII ou antécédent d'inhibiteurs. L'évolution des titres des inhibiteurs chez des patients ne recevant plus de facteur VIII (FVIII) exogène est peu décrite dans la littérature. L'objectif de ce travail est d'étudier l'évolution des titres d'inhibiteurs chez 9 patients HA sévères traités par emicizumab et en modéliser la cinétique de décroissance.

Matériels et Méthodes : Neuf patients HA sévères ont été inclus dans cette étude observationnelle. Le titre de l'inhibiteur (T) a été mesuré par technique Bethesda chromogénique (absence d'interférence de l'emicizumab) avant l'initiation du traitement par emicizumab puis au cours du suivi jusqu'à 1504 jours (j) de traitement cumulés (min: 566 j-max: 2569 j). Une modélisation de la décroissance du titre en fonction de la durée cumulée de traitement a été réalisée grâce au logiciel Igor Pro®. Les $t_{1/2}$ (demi-vie ou le temps pour une décroissance de plus de 50% du titre initial) et le $t_{<5UB}$ (le temps pour obtenir un titre inférieur à 5 UB/mL) ont été calculés pour chaque patient.

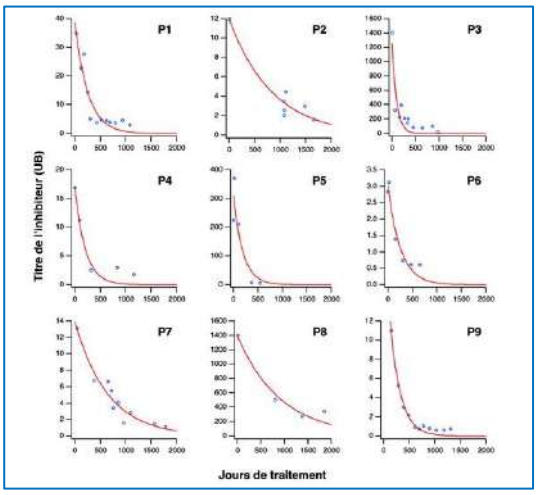
Résultats : Les résultats des titres initiaux, de $t_{1/2}$ et $t_{<5UB}$ sont présentés dans le tableau 1. La cinétique de décroissance des inhibiteurs peut être modélisée selon l'équation : Titre (T)= T0 x $e^{-[(t-t_0) / (t_{1/2}/\ln 2)]}$ où T représente le titre, t représente le temps, t_0 représente le nombre de jours de traitement jusqu'à la première détermination du titre, $t_{1/2}$ la demi-vie et T0 le titre initial (Figure 1). La moyenne des $t_{1/2}$ est de 279 j [min=66 j-max=640 j ; $t_{1/2}$ médiane=175 j] et n'est pas corrélée au titre initial (r^2=0.0359). Le $t_{<5UB}$ est en moyenne de 1287 j [min=251 j-max=5193 j ; médiane=698 j]. Le $t_{<5UB}$ est en revanche corrélé positivement au titre initial (r^2=0.74). Aucun des 9 patients n'a à ce jour un titre <0.6 UB.

Conclusion : Ces premiers résultats montrent que contrairement à la demi-vie de l'inhibiteur, plus le titre initial est élevé, plus le temps nécessaire pour avoir un titre < à 5 UB est augmenté. Il est également intéressant de noter que l'inhibiteur reste positif (>0.6 UB) chez tous les patients même après plus de 2500 jours de traitements, certains patients ayant un titre se stabilisant à 0.6 UB après 470 jours ou 1027 jours de traitement (Figure 1 : Patient P6 et Patient P9). La modélisation de la cinétique de décroissance des inhibiteurs des patients hémophiles A traités par emicizumab pourrait permettre de prédire facilement le temps nécessaire pour que le titre de l'inhibiteur repasse en dessous de 5 UB, seuil permettant l'utilisation de FVIII en cas de chirurgie urgente ou programmée ou d'accident hémorragique. Néanmoins pour que la modélisation soit robuste, il est nécessaire d'augmenter l'effectif et le recueil de données.

Tableau 1 : T0, t1/2 et t<5UB chez les patients

	Titre initial (UB)	t1/2 (j)	t<5 UB (j)
Patient 1	36	176	522
Patient 2	12	585	733
Patient 3	1259	66	1832
Patient 4	17	142	251
Patient 5	310	135	801
Patient 6	3	175	déjà <5UB
Patient 7	13	448	662
Patient 8	1386	640	5193
Patient 9	11	140	301

Figure 1 : Cinétique de décroissance



00065 - Impact du choix des réactifs pour la surveillance biologique d'un patient traité par Idelvion® : aspect médico-économique

C. Nougier[1], F. Blanc Jouvan[2], H. Rezigue[1], S. Marin[1], V. Chamouard[3], A. Lienhart[4], S. Desage[4]

[1]Centre de Biologie et Pathologie Est, Laboratoire Hématologie, HCL - Bron (France),
[2]Laboratoire Hématologie, Centre Hospitalier Annecy Genevois - Annecy (France),
[3]Unité Hémostase Clinique, Pharmacie, GHE - Bron (France),
[4]Unité Hémostase Clinique, GHE - Bron (France)

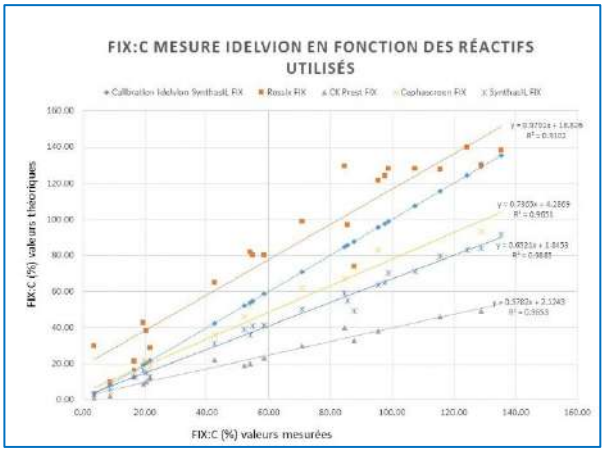
Introduction : Le dosage du facteur IX (FIX) pour la surveillance biologique des patients hémophiles B traités par albutrepenonacog alfa (Idelvion®, CSL Behring) varie en fonction des réactifs utilisés. L'objectif de ce travail a été de comparer les résultats obtenus en FIX pour 6 patients traités par Idelvion® en utilisant 3 réactifs différents pour le dosage chronométrique et le dosage chromogénique. En fonction des résultats obtenus pour la pharmacocinétique, l'impact médico-économique de la consommation d'Idelvion® a été calculé pour 3 patients en cas d'une chirurgie lourde ou d'une chirurgie légère.

Matériels et Méthodes : Les dosages chronométriques de FIX ont été réalisés sur ACLTOP750 avec le SynthasIL®/Werfen (silice), ou le CKPrest®/Stago (kaolin)et le Cephascreen®/Stago (polyphénol) sur STAR Max. Une calibration spécifique a été réalisée à partir d'un concentré d'Idelvion® en utilisant le SyhthasIL®. Le dosage chromogénique de FIX a été réalisé à l'aide du kit Rox FIX®/Rossix. La corrélation des différentes techniques a été comparée à la calibration spécifique. L'analyse médico-économique a été réalisée à l'aide des pharmacocinétiques (T0, T30min , T24h, TJ7) en calculant les taux de récupération pour 3 patients. Les calculs des posologies indiquées pour la dose initiale lors d'une chirurgie lourde ou légère ont été réalisés à l'aide du calcul de la récupération et du poids du patient et ont permis de déterminer l'impact médico-économique (1.75€ TTC/UI d'Idelvion®) en fonction du réactif utilisé.

Résultats : Les résultats chronométriques utilisant le CKPrest®, le SynthasIL® et le Cephascreen® montrent un biais moyen négatif systématique de -56 %, -30% et -16% respectivement par rapport à la calibration spécifique alors que le dosage chromogénique montre un biais moyen systématique positif de +33% (Figure 1). Le calcul du taux de récupération à partir des résultats de FIX obtenus avec le synthasIL®, le CKPrest® et le Cephascreen® entrainait une surconsommation d'Idelvion® de 3 875, 1 1296,2119 unités internationales (UI) respectivement pour une chirurgie lourde et de 1405, 6101, 1348 unités pour une chirurgie légère. Les surcouts associés étaient de 6 781 et 2 459 € pour le SynthasIL®, 19 768 et 10 677€ pour le CKPrest®, 3 708 et 2 360€ pour le Cephascreen®. L'utilisation de la technique chromogénique entraîne une sous-consommation de médicament (au moins 1 211 et 1 053 UI) par rapport à la calibration spécifique.

Conclusion : L'utilisation d'une calibration spécifique pour la surveillance biologique des patients hémophiles B traités par Idelvion® est une alternative aux techniques de dosage prise en défaut : l'utilisation du CK-Prest® est à proscrire en raison d'une sous-estimation importante ; l'utilisation des réactifs SynthasIL® ou Cephascreen® entraîne une sous-estimation de 20 à 30%. Cette sous-estimation a un impact médico-économique significatif sur les consommations et le coût du traitement. La technique chromogénique RoxFIX est également à proscrire en raison d'une surestimation des résultats avec potentiellement un risque hémorragique.

Dosages FIX avec les différents réactifs



00113 - Développement d'iso-anticorps anti-αIIbβ3 dans la thrombasthénie de Glanzmann : prévalence et facteurs de risque associés

C. Derray[1], Y. Huguenin[2], V. Goin[1], N. Robert[1], S. Laborde[1], D. Desprez[3], R. D'oiron[4], G. Lavigne[5], M.C. Alessi[6], C. Falaise[6], C. Pouymayou[6], S. Voisin[7], M. Fiore[1]

[1]Laboratoire d'Hématologie – Centre de Référence des Pathologies Plaquettaires - CHU Bordeaux - Bordeaux (France),
[2]CRC-MHC- CHU de Bordeaux - Bordeaux (France),
[3]CRC-MHC- CHU Strasbourg - Strasbourg (France),
[4]CRC-MHC, APHP, Kremlin-Bicètre - Paris (France),
[5]Laboratoire d'Hématologie - CHU Nîmes - Nîmes (France),
[6]Laboratoire d'Hématologie - Centre de Référence des Pathologies Plaquettaires - APHM - Marseille (France)
[7]Laboratoire d'Hématologie - Centre de Référence des Pathologies Plaquettaires – CHU de Toulouse (France)

Introduction : La thrombasthénie de Glanzmann (TG) est une maladie hémorragique autosomique récessive rare causée par l'absence ou la dysfonction de l'intégrine $\alpha_{IIb}\beta_3$. La sous-unité α_{IIb} est codée par le gène *ITGA2B*. La sous-unité β_3 est codée par le gène *ITGB3*. Les mutations causant la TG peuvent affecter l'un ou l'autre de ces deux gènes. Les hémorragies sévères ou les gestes invasifs à haut risque sont généralement traités ou prévenus par l'administration de concentrés plaquettaires. Cependant, les patients peuvent naturellement s'immuniser contre l'intégrine rendant les transfusions plaquettaires ultérieures inefficaces. A l'heure actuelle, la prévalence et les facteurs de risque associés à ce risque d'immunisation restent mal connus.
L'objectif de notre étude était d'identifier au sein d'une cohorte nationale de patients TG, la prévalence, l'évolution naturelle et les facteurs de risque socio-démographiques, génétiques ou thérapeutiques associés à la formation d'anticorps anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$.

Matériels et Méthodes : Quarante patients atteints de TG ont été inclus dans 6 centres français (Bordeaux, Toulouse, Marseille, Strasbourg, Kremlin-Bicêtre, Nîmes). Le dépistage des anticorps anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ a été réalisé par la méthode de référence MAIPA (Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigen assay). Le dépistage de ces anticorps a été effectué à l'inclusion, puis tous les 6 mois pendant une période de 18 mois au total, ainsi qu'après chaque évènement transfusionnel à 7 jours (J7) et 1 mois (M1).

Résultats : Parmi les 40 patients inclus : 17 patients présentaient des anticorps anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ à l'inclusion (42,5 %) dont 8 fortement positifs (20 %) et 9 faiblement positifs (22,5 %). Au cours de l'étude, quatre patients ont été transfusés dont une patiente au décours d'un accouchement, qui ne s'est pas immunisée. Parmi les trois autres patients, un d'entre-eux a présenté une séro-conversion faible à M1 de la transfusion, deux ont eu une augmentation de leur positivité à J7 et M1. Dans la sous-cohorte de Bordeaux (14 patients) les principales données à l'inclusion ont été recueillies (Figure 1). Parmi les six patients positifs, cinq présentaient la

mutation c.1544+1G>A à l'état homozygote, habituellement observée chez les patients issus de la communauté des Manouches. La dernière patiente caucasienne, qui présentait une mutation faux-sens à l'état homozygote dans *ITGB3* s'était immunisée après avoir été multi-transfusée au cours de sa vie. Les données relatives aux antécédents familiaux et transfusionnels (nombre, produits, date de la première et dernière transfusion) n'avaient pas encore totalement été recueillies pour cette étude.

Conclusion : Les premiers résultats de notre étude montre une prévalence élevée des anticorps anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ à l'inclusion (42.5 %). La transfusion de plaquettes était associée à une augmentation des anticorps anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ chez 3/4 patients au cours de l'étude. Dans la sous-cohorte de Bordeaux, l'origine ethnique et la présence de la mutation c.1544+1G>A étaient le principal facteur de risque d'immunisation anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$. Mais, cette étude est encore en cours et des données supplémentaires vont être recueillies, ce qui permettra de mettre en évidence d'autres facteurs de risque pour la première fois dans cette pathologie.

Sous-cohorte de Bordeaux. Test statistique du Chi2

			anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ négatif (n=8)	anti-$\alpha_{IIb}\beta_3$ positif (n=6)	P*
Age moyen à l'inclusion en année			18	36	
Sexe	Masculin (n=4)		2 (50 %)	2 (50 %)	
	Féminin (n=10)		6 (60 %)	4 (40 %)	
Origine ethnique	**Gens du voyage (n=5)**		**1 (20 %)**	**4 (80 %)**	**0.04**
	Caucasien (n=7)		5 (71 %)	2 (29 %)	
	Syrien (n=2)		2 (100 %)	0 (0 %)	
Type de TG	Type I (n=13)		7 (54 %)	6 (46 %)	
	Type II (n=1)		1 (100 %)	0 (0 %)	
Génotypage	Mutation gène ITGA2B (n=12)		7 (58 %)	5 (42 %)	
		dont la mutation c.1544+1G>A (n=6)	**1 (17 %)**	**5 (83 %)**	**0.003**
		autres mutations (n=6)	6 (100 %)	0 (0 %)	
	Mutation gène ITGB3 (n=2)		1 (50 %)	1 (50%)	
Grossesse antérieure (n=2)			2 (100 %)	0 (0 %)	

00125 - Emicizumab : Données de vie réelle issues de la cohorte FranceCoag chez 119 patients hémophiles A avec inhibiteur (EMHIRA)

A. Harroche[1], A. Rauch[2], Y. Repesse[3], F. Hadim[4], D. Pau[4], S. Pibre[4], A. Gaude[5], R. D'oiron et Collaborateurs Francecoag[6]

[1]Centre de Traitement de l'hémophilie, AP-HP, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades - Paris (France),
[2]Institut d'hématologie et de Transfusion, CHU de Lille - Lille (France),
[3]Service d'hématologie Biologique, CHU de Caen Normandie - Caen (France),
[4]Affaires Médicales, Roche S.A.S - Boulogne-Billancourt (France),
[5]Chugai Pharma France - Paris La Défense (France),
[6]Consortium Francecoag et Centre d'hémophilie et des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles Rares, AP-HP, Hôpital Bicêtre, Université Paris-Saclay et Inserm Umr S1176 - Le Kremlin-Bicêtre (France)

Introduction : Emicizumab a montré une réduction significative des épisodes hémorragiques au cours du programme de développement clinique HAVEN notamment chez les patients hémophiles A avec inhibiteur (PHAi). Les données de vie réelle étant limitées, l'étude EMHIRA avait pour objectifs de décrire dans la pratique clinique courante les épisodes hémorragiques traités, les caractéristiques des PHAi sous prophylaxie emicizumab et de leur maladie, ainsi que la tolérance.

Matériels et Méthodes : EMHIRA est une étude non interventionnelle portant sur les PHAi ayant initié emicizumab entre juin 2017 et décembre 2020, conduite à partir des données collectées dans le cadre de la cohorte nationale FranceCoag et extraites en octobre 2021. Le critère principal d'évaluation était le nombre et le taux annualisé de saignements traités chez les patients sous prophylaxie emicizumab depuis au moins 6 mois. Une analyse de la survie sans saignement traité a également été effectuée avec la méthode de Kaplan-Meier.

Résultats : Parmi les 119 patients éligibles analysés ayant initié une prophylaxie emicizumab, 112 (94.1%) présentaient une HAi sévère, 5 (4.2%) une HAi modérée et 2 (1.7%) une HAi mineure. A l'initiation d'emicizumab, la distribution de l'âge des patients était : < 2 ans (10.9%) / [2-18[ans (33.6%) / [18-65[ans (50.4%) / ≥65 ans (5.0%). Le pic historique médian d'inhibiteur était de 301 UB/mL (Q1-Q3 : 48-1780) et le titre médian de 2.6 UB/mL (Q1-Q3 : 0.5-10.0) au cours des 3 mois précédant l'initiation d'emicizumab. Pour l'analyse d'efficacité, 102 patients traités par emicizumab depuis au moins 6 mois ont été pris en compte. Au cours de leur suivi (médiane : 96.5 semaines, Q1-Q3 : 67.9-131.7), les patients ont reçu emicizumab pendant 89.1 semaines (Q1-Q3 : 54.2-127.1) en médiane. Sur cette période, 78 patients (76.5%) n'ont présenté aucun saignement, 24 (23.5%, IC95% [15.7%-32.9%]) ont eu 37 saignements (3 patients lors de la dose de charge), dont 17 patients avec 1 événement et 7 avec au moins 2 événements. 16 hémarthroses ont été rapportées chez 12 patients (11.8%, IC95% [6.2%-19.7%]), 2 hémorragies cérébrales chez 1 patient (1.0%, IC95% [0.02%-5.34%]) et/ou 1 hémorragie rétropéritonéale mettant en jeu le pronostic vital chez 1 patient (1.0%, IC95% [0.02%-5.34%]). Les taux médian et moyen annuels de saignements traités sous emicizumab étaient respectivement de 0 (Q1-Q3: 0-0) et de 0.23±0.79 (hémarthroses : 0.16±0.46). Les survies sans saignement traité des PHAi à 26, 52 et 104 semaines ont été respectivement estimées à 95%, 84% et 73%. Aucun nouveau signal de tolérance n'a été identifié.

Conclusion : Cette étude en vie réelle à partir des données de la cohorte prospective FranceCoag a permis de confirmer l'efficacité et la tolérance d'emicizumab dans une large population non sélectionnée de PHAi.

00126 - Clairance accélérée des plaquettes induite par les forces de cisaillement, un nouveau mécanisme de thrombopénie sous ECMO

A. Dupont[1], A. Rauch[1], M. Rosa[1], M. Desvages[1], M. Didelot[1], E. Jeanpierre[1], D. Corseaux[1], P.J. Lenting[2], J.C. Bordet[3], B. Staels[1], F. Vincent[1], C.V. Denis[2], E. Van Belle[1], C. Casari[2], S. Susen[1]

[1]Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur De Lille, U1011-Egid - Lille (France),
[2]Inserm, Umr-S 1176, Université Paris-Saclay, - Le Kremlin Bicêtre, (France),
[3]Lab Hémostase, Hcl-Ghe & Ea4609, Ucbl1 - Lyon (France)

Introduction : Alors qu'une diminution de la numération plaquettaire est observée chez la plupart des patients sous assistance circulatoire extracorporelle (ECMO), la prévalence et les mécanismes sous-jacents de cette thrombopénie associée à un mauvais pronostic restent méconnus. Un rôle direct de l'ECMO dans la survenue de cette thrombopénie a été évoqué. Quelques travaux montrent que les anomalies rhéologiques liées à l'ECMO pourraient induire le shedding (clivage du domaine extracellulaire) de récepteurs plaquettaires. Notre hypothèque est que le shedding du récepteur plaquettaire au facteur Willebrand (FW) GPIbα induit par les forces de cisaillement élevées de l'ECMO serait impliqué dans cette thrombopénie. Notre objectif est d'en étudier les mécanismes.

Matériels et Méthodes : La numération plaquettaire, les fonctions plaquettaires et le shedding de GPIbα à la surface des plaquettes ont été évalués dans une cohorte prospective de patients sous ECMO (avant, 1, 24 et 48h après induction de l'ECMO). Les fonctions plaquettaires, le shedding de GPIbα et les interactions FW-GPIbα en réponse à différentes intensités de forces de cisaillement ont été étudiés *ex vivo d*ans un circuit d'ECMO. L'impact des forces de cisaillement sur la clairance de plaquettes a été analysé *in vivo* en transfusant à des souris NOD/SCID des plaquettes humaines soumises *ex vivo* dans le circuit d'ECMO à différences intensités de forces de cisaillement.

Résultats : Nous observons dans notre cohorte de 107 patients sous ECMO une diminution de la numération plaquettaire au cours du temps. Une heure après le début de l'ECMO, 90% des patients présentent une numération plaquettaire diminuée. Cette numération plaquettaire diminue, respectivement, de 7 (médiane),

35 et 41%, 1, 24 et 48 h après initiation de l'ECMO. Elle est associée à une perte d'expression de GPIbα à la surface des plaquettes (intensité moyenne de fluorescence : 47,8±9,1 avant ECMO vs, respectivement, 44,7±10,3 p=0,001 et 42,3±8,9, p=0,002, 1h et 24h après initiation de l'ECMO) et à une augmentation des taux circulants de GPIbα soluble (5,6±3,3 avant ECMO vs 10,8±4,1 µg/mL 24h après initiation de l'ECMO, p<0,0001). Le shedding de GPIbα plaquettaire est également observé *ex vivo* dans le circuit d'ECMO. Il n'est pas affecté par la présence d'un anticorps bloquant l'interaction VWF-GPIbα ou d'un anticorps limitant la dégradation du VWF, ni par une concentration plasmatique excessive de VWF. En revanche, le shedding de GPIbα plaquettaire augmente avec l'intensité des forces de cisaillement (x 2,8 pour des forces de cisaillement d'intensité élevée par rapport à l'absence de forces de cisaillement). Enfin, plus l'intensité des forces de cisaillement appliquée aux plaquettes est élevée, plus les plaquettes transfusées aux souris NOD/SCID sont éliminées rapidement, ceci en lien avec une clairance plus rapide des plaquettes qui ont perdu l'expression du récepteur GPIbα à leur surface par rapport celles qui en expriment encore (demi-vie : 0,41±0,1 vs 1,30±0,2 h, p=0.008).

Conclusion : Les forces de cisaillement élevées induites par l'ECMO entrainent un shedding de GPIbα, indépendamment du FW, et une thrombopénie, liée à une clairance plus rapide des plaquettes qui ont perdu l'expression du récepteur GPIbα à leur surface. L'inhibition du shedding plaquettaire de GPIbα pourrait représenter une nouvelle approche thérapeutique pour réduire la thrombopénie observée chez les patients sous ECMO.

Jeudi 2 juin 2022 – 08h30 à 10h30
Session « Anomalies thrombotiques veineuses et artérielles, acquises et héréditaires (1) »

00001 - Syndrome thrombotique des anticorps antiphospholipides provoqué par la contraception orale : analyse rétrospective du risque de récidive

J-C. Gris[1], C. Bourguignon[1], S. Bouvier[1], E.I. Nouvellon[1], J. Laurent[1], A. Perez-Martin[1], E. Mousty[1], M. Nikolaeva[2], J. Kizreova[3], V. Bitsadze[4], A.D. Makatsariya[5]

[1]CHU - Nîmes (France),
[2]Université Médicale de l'Altaï - Barnaul (Russian Federation),
[3]Permière Université de Médecine Ivan Setchenov - Moscou (Russian Federation),
[4]Première Université de Médecine Ivan Setchenov - Moscou (Russian Federation),
[5]Premièer Université de Médecine Ivan Setchenov - Moscou (Russian Federation)

Introduction : Le risque de récidive du syndrome des anticorps antiphospholipides (SAPL) thombotique (SAPLt), type veineux, provoqué par un facteur de risque surajouté, est incertain. Ce risque conditionne cependant la thromboprophylaxie secondaire. Nous avons donc mené une étude rétrospective sur dossiers, internationale et multicentrique, chez des femmes ayant un diagnostic de SAPLt diagnostiqué après un premier épisode de maladie thrombo-embolique veineuse (MTEV) associée à la contraception orale combinée (COC) oestro-progestative, à faible risque de récidive, sous thromboprophylaxie secondaire chronique par aspirine faible dose (AFD).

Matériels et Méthodes : Un total de 3.441 dossiers de femmes ayant développé une première poussée de MTEV sous COC entre les 1er janvier 2010 et 2021 a pu être analysé dans les 3 centres participants, Moscou, Barnaul et Nîmes. Pour finalement retenir 264 dossiers, de diagnostic de MTEV crédible, non associés à un cancer, non favorisés par la grossesse et le post partum, de moins de 46 ans, de score HERDOO2 < 2, ayant un diagnostic confirmé de SAPL (mêmes kits d'Ac aPL en phase solide dans les 3 centres), prenant un traitement chronique par AFD et ayant accepté un suivi annuel.

Résultats : Les phénotypes cliniques de MTEV initiale comprenant 166 thromboses veineuses profondes (TVP) distales, 53 TVP proximales et 45 embolies pulmonaires (EP). Parmi les anticorps antiphospholiides (Ac aPL), 39% ont un anticoaguant lupique LA, 45,5% des anticorps anticardiolipide aCL, 57,2% des anticorps anti-beta2-glycoprotéine 1 ab2Gp1, 11,7% une triple positivité.
Durant un total de 1.327,7 patient.années d'observation, 22 thromboses sont survenues: 16 TVP distales, 3 proximales, 1 EP et 2 AIT. Le taux global de récidive thrombotique est de 1,66 (1-2,3) pour 100 patient.années: 1,06 en cas de TVP distale, 2,88 en cas de TVP proximale et 2,57 en cas d'EP (p=0.0036). Aucun décès ou saignement majeur n'a été à déplorer. Les facteurs de risque, après analyse de survie multiparamétrique, agissant de façon indépendante sur la survie sans événement thrombotique sont le temps écoulé entre la première prise de COC et la première poussée de MTEV (p<0,0001: temps plus court, survie sans événement plus courte), une TVP proximale (p=0,0035), un tabagisme actif (p=0,0008), une forte positivité pour les IgG ab2Gp1 (p=0,0181) ou les IgM ab2Gp1 (p=0,0321).
Conclusion : Chez les femmes ayant un SAPLt déclenché par la COC, ayant un score HERDOO2 < 2, sous thrombopropylaxie par AFD, une TVP distale initiale est associée à un faible risque de récidive thrombotique. Ce risque est plus prononcé en cas de thrombose veineuse initiale proximale ou centrale, est modulé par des cofacteurs simples.
Ces données observationnelles originales apportent des éléments qui pourront aider à construire les essais thérapeutiques manquants.

00006 - Does my patient have HIT? There should be an app for that

M. Stoll[1], F. Allemand[1]

[1]Emosis - Illkirch-Graffenstaden (France)

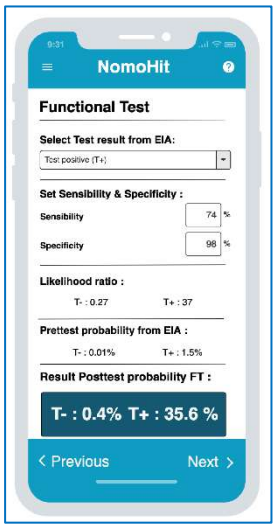
Introduction : Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is a common clinical issue in intensive care setting.
However, while HIT diagnostic work-up is well defined, involving a pretest scoring (4Ts score), an immunoassay and a functional assay, if the former is positive, there is no way to easily turn their results into a quantification of how likely a patient has HIT.
We developed an iOS and Android based app (NomoHIT) for such a purpose.

Matériels et Méthodes : The method is a digital equivalent of Fagan nomogram which is a graphical tool for estimating how much the result on a diagnostic test changes the probability that a patient may have the disease, depending upon the test sensitivity and specificity, expressed as a likelihood ratio, and upon the prior bioclinical evidence, expressed as a pretest probability.
The Fagan nomogram belongs to the statistical field of Bayesian inference, in which probabilities are interpreted as subjective degrees of belief and are updated on the basis of additional information.
Fagan nomogram is however difficult to apply in practice, especially to the multi-step diagnostic workup of HIT.
The app we developed consists in successive screens with query fields to be sequentially completed with 4Ts score output, and the results of immunoassay and of functional assay, after having specified the sensitivity and specificity of the used assays.
The app then applies the well-known Bayes' probability inversion formula to compute the ultimate probability of positive diagnosis, by using each post score or posttest probability as pretest probability in the following algorithmic step.

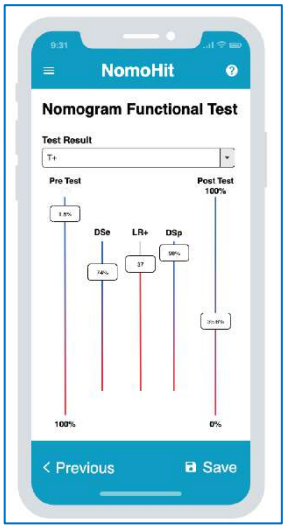
Résultats : Results will be exemplified through an interactive interface.
As an example, the computation applied to a case with a 4Ts score of 5, a positive Elisa immunoassay with 97% sensitivity and 87% specificity, and a positive functional assay with 88% sensitivity and 95% specificity, results in a 95.5% positive predictive value.
Interestingly enough, the app displays the intermediate probabilities, enabling the physician to assess the information gain she may expect from moving forward into the diagnostic workup.

Conclusion : Bayesian approach provides clinicians with a systematic framework for estimating the probability of HIT in their patients, to help in informing their medical decision making.
The app we developed offers the lab specialists and physicians a user-friendly tool to benefit from the Bayesian approach in practice.

Functional test Se & Sp



Functional test Nomogram



00015 - No venous thromboembolic (VTE) recurrence after one-year follow-up of hospitalized COVID-19 patients diagnosed with VTE event: a prospective study

M. Delrue[1], A. Stépanian[1], S. Voicu[2], K. Nassarmadji[3], D. Sène[3], P. Bonnin[4], J.P. Kevorkian[5], P.O. Sellier[6], J.M. Molina[6], M. Neuwirth[7], D. Vodovar[8], S. Mouly[9], A. Mebazaa[10], B. Mégarbane[2], V. Siguret[7]

[1]Hematology Laboratory & Thrombosis Unit-Hospital Group Lariboisière-Fernand Widal, APHP; Ea 3518 Université Paris Cité - Paris (France),
[2]Department of Medical and Toxicological Critical Care-Hospital Group Lariboisière-Fernand Widal, APHP; Inserm Umrs-1144-Université Paris Cité - Paris (France),
[3]Department of Internal Medicine-Hospital Group Lariboisière-Fernand Widal, APHP - Paris (France),
[4]Laboratory of Clinical Physiology-Hospital Group Lariboisière-Fernand Widal, APHP; Umrs-1148-Université Paris Cité - Paris (France),
[5]Department of Diabetology-Endocrinology-Hospital Group Lariboisière-Fernand Widal, APHP - Paris (France),
[6]Department of Infectious Disease-Hospital Group Lariboisière-Fernand Widal, APHP - Paris (France),
[7]Hematology Laboratory & Thrombosis Unit-Hospital Group Lariboisière-Fernand Widal, APHP; Inserm Umrs-1140-Université Paris Cité - Paris (France),
[8]Paris Poison Control Center-Hospital Group Lariboisière-Fernand Widal, APHP; Inserm Umrs-1144-Université Paris Cité - Paris (France),
[9]Department of Internal Medicine-Hospital Group Lariboisière-Fernand Widal, APHP; Inserm Umrs-1144-Université Paris Cité - Paris (France),
[10]Department of Anesthesiology and Critical Care-Hospital Group Lariboisière-Fernand Widal, APHP; Inserm Umrs-942-Université Paris Cité - Paris (France)

Introduction : A high prevalence of venous thromboembolic events (VTE) has been observed in hospitalized patients with severe COVID-19. SARS-CoV-2 infection induces major endothelial cell dysfunction with systemic inflammatory response, both resulting in micro- and macrovascular thrombotic events. Data regarding outcomes after hospital discharge are scarce. Notwithstanding the particular pathogenesis of thrombosis in COVID-19 patients, whether SARS-CoV-2 infection is an effective transient VTE risk factor requiring 3-6 month anticoagulant therapy is still debated. We aimed to investigate the outcome of COVID-19 patients with diagnosed VTE during hospital stay, while on anticoagulant therapy and after its discontinuation over one-year follow-up.

Matériels et Méthodes : We conducted a prospective cohort study in our hospital intensive care unit (ICU) and medical wards. We included all consecutive COVID-19 patients with VTE diagnosed during hospitalization (03/2020-04/2021), further referred after hospital discharge to our outpatient thrombosis unit for follow-up. Laboratory thrombophilia screening was performed within 24h of DVT/PE diagnosis. Outcome criteria included confirmed symptomatic VTE recurrence and bleeding events. Visits were planned at 1, 3, 6, and 12 months after VTE diagnosis and included physical examination to assess outcomes and laboratory reassessment of initially abnormal thrombophilia parameters. All patients gave their informed consent.

Résultats : Of the 59 discharged patients who developed COVID-19 related VTE during hospital stay, 48 patients (aged 62 years, 38M/10F) were included (Table). Median follow-up duration was 12 months [12-14], of which 6 months [5.5-6.6] after anticoagulant discontinuation. During hospitalization, 40 patients (83%) presented PE and 8 patients (17%) had isolated DVT. Antiphospholipid antibodies initially present in 26 patients (54%) persisted in only four patients (8%) after 12 weeks. Of the 48 patients, 83% received LMWH for initial VTE management whereas 94% were treated with DOAC after discharge. Anticoagulants were discontinued after 6 months in 39 patients (81%). Anticoagulants were continued in eight patients (16%) in relation to antiphospholipid syndrome (n=3), past VTE history (n=2) and underlying cancer (n=3). No symptomatic VTE recurrence was observed neither during nor after anticoagulant therapy discontinuation. One 66-year-old patient with a 6-year history of ischemic cardiomyopathy developed myocardial infarction 5 months after apixaban initiation. During the anticoagulant therapy period, 3 and 2 patients presented major or minor bleedings, respectively (ISTH criteria). One major bleeding patient further developed confirmed heparin-induced thrombocytopenia (Figure).

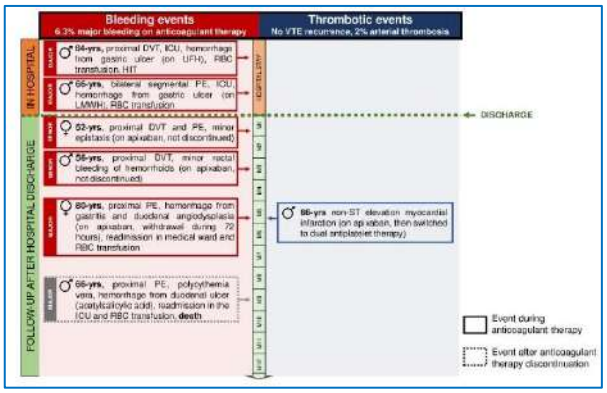
Conclusion : To the best of our knowledge, this is one of the first prospective real-life studies evaluating outcomes over 12-months following COVID-19-related VTE diagnosis in hospitalized patients. Our results support the low VTE recurrence risk in either critically or non-critically ill COVID-19 patients with VTE while on anticoagulant therapy and 6-month after its discontinuation.

Table. Initial clinical/laboratory characteristics

Patients characteristics	Median [IQR] or n(%)
Age (years)	62 [52-67]
Male gender, n (%)	38 (79)
Body mass index (kg/m²)	27.0 [24.3-30.0]
Past VTE history, n (%)	6 (12)
COVID-19-related parenchymal lung involvement	
<10%, n (%)	4 (8)
10-25%, n (%)	15 (31)
25-50%, n (%)	15 (31)
50-75%, n (%)	14 (30)
Critically ill patients, n (%)	17 (35)
Time from first symptoms to VTE diagnosis (days)	12 [9-16]
Time from hospital admission to VTE diagnosis (days)	0 [0-4]
Description of VTE	
Pulmonary embolism, n (%)	40 (83)
Proximal, n (%)	26 (75)
Isolated, n (%)	32 (67)
Bilateral, n (%)	19 (40)
Deep vein thrombosis, n (%)	16 (33)
Proximal, n (%)	8 (17)
Isolated, n (%)	8 (17) (6 in the ICU)
Bilateral, n (%)	2 (4)
Initial anticoagulant therapy	
Low-molecular weight heparin (therapeutic dose), n (%)	40 (83)
Apixaban	3 (6)
Rivaroxaban	3 (6)
Unfractionated heparin (therapeutic dose), n (%)	2 (4)
Anticoagulant therapy on hospital discharge	
Apixaban	35 (73)
Rivaroxaban	10 (21)
Low molecular weight heparin (therapeutic dose), n (%)	3 (6)
Length of hospital stay (days)	11 [7-18]
Laboratory data (performed within 24h of VTE diagnosis)	
Hemoglobin (g/dL)	12.7 [11.4-13.3]
Platelet count (G/L)	323 [255-380]
Leukocytes (G/L)	8.2 [6.8-10.3]
Serum creatinine (µM)	72.0 [59.0-84.0]
Fibrinogen (g/L)	5 [5.4-7.8]
D-dimer (ng/mL)	1,410 [1,190-6,450]
Antiphospholipid antibodies	
Lupus anticoagulant, [dRVVT LAC-Screen/confirm® Siemens], PTT-LA and Staclot-LA® Stago if needed, n (%)	24 (50)
Anti-cardiolipin and/or anti-beta 2-GPI antibodies (Acustar®, Werfen), n (%)	7 (15)
Persistence of anti-phospholipid antibodies ≥12 weeks, n (%)	4 (8)
Antithrombin activity* (IU/dL)	92 [85-102]
Protein C clotting activity* (IU/dL)	82 [66-93]
Protein S*	
Clotting activity (IU/dL)	58 [43-75]
Free antigen (IU/dL)	88 [71-111]
F2 G20210A variant, n (%)	4 (8)
F5 G1691A variant, n (%)	2 (4)

*no patient had confirmed natural inhibitor deficiency.

Figure : patient follow-up (n=48)



00044 - Susceptibilité génétique à la maladie thromboembolique veineuse chez la femme sous pilule

D-A. Tregouet[1], P. Suchon[2], M. Germain[1], G. Munsch[1], B. Segier[1], N. Saut[2], D. Smadja[3], A. Boland[4], J. Emmerich[5], J.F. Deleuze[4], P.E. Morange[2]

[1]Bordeaux Population Health Research Center, Inserm U1219 - Bordeaux (France),
[2]C2vn, Inrae, Inserm Aix-Marseille University - Marseille (France),
[3]Hematology Department and Biosurgical Research Lab (carpentier Foundation), European Georges Pompidou Hospital, Assistance Publique Hôpitaux de Paris - Paris (France),
[4]National Center of Human Genomics Research - Evry (France),
[5]Department of Vascular Medicine, Paris Saint-Joseph Hospital Group, University of Paris - Paris (France)

Introduction : La maladie thromboembolique veineuse (MTEV), 3ème cause de mortalité d'origine cardiovasculaire, est une maladie complexe dont l'étiologie fait intervenir des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux. Tout récemment, une étude d'association pangénomique menée chez plus de 80 000 patients

avec antécédents personnels de MTEV a identifié une centaine de variations génétiques associées au risque de MTEV en population générale, la moyenne d'âge des patients étudiés étant >55 ans (medRxiv 2022.03.04.22271003; doi: https://doi.org/10.1101/2022.03.04.22271003). L'objectif de ce travail est d'étudier l'impact de ces variations dans une population à fort risque de MTEV, le sous-groupe des femmes en âge de procréer et utilisatrices de contraceptifs oraux combinés (COC), dans lequel le risque de MTEV est multiplié par ~4.

Matériels et Méthodes : Ce travail repose sur un échantillon de 600 femmes ayant présenté un épisode documenté de MTEV durant la période d'utilisation de COC (i.e cas) et de 500 femmes utilisatrices de COC sans histoire personnelle de MTEV (i.e témoins), issues de l'étude PILGRIM pour lesquelles des données génétiques pangénomiques sont disponibles. L'effet individuel et combiné des 100 variations récemment identifiées sur le risque de MTEV est évalué par régression logistique, en ajustant sur l'âge, l'indice de masse corporelle et le statut tabagique. Une étude d'association pangénomique est également réalisée pour identifier des variations pouvant influencer le risque de MTEV spécifiquement chez la femme sous COC. Les résultats de cette étude d'association sont comparés à ceux observés dans un échantillon indépendant de 198 patientes avec MTEV sous COC et 181 femmes témoins sous COC issu de la cohorte FARIVE.

Résultats : L'âge moyen de patientes MTEV incluses dans l'étude PILGRIM est 32.3±9.6 et celui des témoins de 31.6±9.0 ans. Collectivement, les 100 variants étudiés étaient fortement associés au risque de MTEV ($p < 10^{-20}$). L'aire sous la courbe du modèle incluant les variables d'ajustement et ces variants était de 0.76 [0.74 – 0.79], et significativement plus élevée que celle obtenue avec les variables d'ajustement seules (0.61 [0.58 – 0.65]). De manière intéressante, les 4 variations les plus significatives ($p < 5\ 10^{-3}$) situées dans les gènes ABO, ZFPM2, FGG et SLC44A2 étaient caractérisées par des Odds Ratios sensiblement plus élevés que ceux observés en population générale (1.75 vs 1.44 ; 1.41 vs 1.23 ; 1.42 vs 1.09 et 1.44 vs 1.12, respectivement).
Si l'analyse d'association pangénomique issue de la méta analyse des études PILGRIM et FARIVE n'a identifié qu'un seul gène, ABO, significatif au seuil recommandé de $p<5\ 10^{-8}$, elle a néanmoins mis en évidence 3 nouveaux loci au seuil suggestif de $p<10^{-7}$, JADE2, IRF2 et DTHD1, dont la validation dans un nouvel échantillon indépendant est en cours.

Conclusion : Ce travail démontre que les variations génétiques associés au risque de MTEV en population générale participent aussi au risque de MTEV chez les femmes sous COC, avec parfois même des effets plus forts. La prise en compte de ces variations pourrait permettre de mieux appréhender, à l'échelle individuelle, le risque de MTEV avant la mise sous COC.

00052 - Post viral idiopathic purpura fulminans by anti-protein S antibodies is associated with congenital thrombophilia and antiphospholipid antibodies

A. Theron[1], O. Dautremay[2], E. Boissier[3], G. Captier[4], I. Cau-Diaz[5], E. Jeziorski[6], C. Biron-Andreani[5]

[1]Department of Pediatric Oncology and Hematology, University of Montpellier, University Hospital - Montpellier (France),
[2]Bioard'aisne Laboratory - Charleville-Mézières (France),
[3]Laboratory of Hematology, University Hospital - Nantes (France),
[4]Department of Orthopedic and Plastic Pediatric Surgery, University of Montpellier, University Hospital - Montpellier (France),
[5]Department of Biological Hematology, University of Montpellier, University Hospital - Montpellier (France),
[6]Department of Pediatrics, Infectious Diseases, And Immunology, University of Montpellier, University Hospital - Montpellier (France)

Introduction : Idiopathic purpura fulminans (IPF) is a rare and severe coagulation disorder, linked to transient anti-protein S antibodies in the context of post-viral infection such as varicella. Anti-protein S antibodies seem to be most common in the context of varicella than IPF. We hypothesize that other pro-coagulant factor could be associated with anti-protein S antibodies in IPF such as congenital thrombophilia or antiphospholipid antibodies (APLa).

Matériels et Méthodes : This study is an ancillary study of our French multicentric retrospective study and systematic review of the literature cases recently published. All the methodological details of the patient's recruitment and data collection are detailed in the publication: "A. Theron & al. Blood Adv 2022; 6 (2): 495–502". For this study, we analyze patients in whom the search for congenital thrombophilia and/or antiphospholipid antibodies were performed. Thrombophilia was defined by i) the existence of a deficiency in antithrombin, protein C, protein S confirmed at a distance from the episode of IPF or confirmed by a genetic analysis or a family study; ii) existence of a G20210A polymorphism in the prothrombin gene or R506Q polymorphism in factor V. APLa was defined according to the ISTH recommendations by the presence of lupus anticoagulant (LA) testing anti-cardiolipin antibodies (ACA) (IgG or IgM) or anti-beta2-GP I antibodies (β2GP1a) (IgG or IgM) at the time of the IPF episode. Distal necrosis leading to amputation and skin necrosis requiring skin grafting were considered as severe complications.

Résultats : Congenital thrombophilia testing was performed in 25 patients. Seven (28%) had congenital thrombophilias: three heterozygous FV R506Q polymorphism and one homozygous form, three heterozygous prothrombin G20210A polymorphism, and one familial protein C deficiency. One patient was compound heterozygote FV R506Q and Prothrombin G20210A. APLa testing was performed in 32 patients: APLa was found in 19/32 patients (59%): 17 ACA (53%), 5 LA (16%); 4 β2GP1a (13%). Regarding complications: 12 (27%) patients underwent amputation, 11 (25%) underwent skin grafting and 13 (29%) had deep vein thrombosis. Congenital thrombophilia did not influence the risk of severe complications RR: 0.8 [95%CI: 0.37-1.71] p=1 or venous thrombosis RR: 1.2 [95%CI: 0.40-3.62] p=1. The presence of an APLa does not influence the risk of severe complications RR: 0.7 [95%CI: 0.33-1.51] p=0.39 or venous thrombosis either RR: 0.9 [95%CI: 0.47-1.64] p=1.

Conclusion : We found a high prevalence of congenital thrombotic risk and APLa in a population of patients with IPF. However, we could not show an association with the occurrence of severe vascular complications or venous thromboembolism. Further studies are required to better understand the mechanism of this rare form of purpura fulminans.

00059 - Modulation du phénotype hémostatique et inflammatoire des monocytes après TAVI et impact sur les complications post-procédurales

F. Lassalle[1], F. Vincent[1], M. Rosa[1], A. Rauch[1], F. Dumezy[2], C. Roumier[2], D. Dombrowicz[1], C. Gheeraert[1], P. Lefebvre[1], B. Staels[1], A. Vincentelli[1], E. Van Belle[1], S. Susen[1], A. Dupont[1]
[1]Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1011 Egid - Lille (France),
[2]Institut d'hématologie-Transfusion, CHU Lille - Lille (France)

Introduction : La sténose valvulaire aortique (SVA), pathologie valvulaire qui touche 2 à 7% des sujets de plus 70 ans, entraîne une perturbation du flux sanguin avec une faible pulsatilité artérielle et des contraintes de cisaillement élevées. Lorsque la maladie devient symptomatique, la mortalité à 2 ans est de 50% en l'absence de traitement. Le seul traitement efficace est le remplacement de la valve sténosée par voie chirurgicale ou percutanée (TAVI, transcatheter aortic valve implantation). Le TAVI a révolutionné la prise en charge des patients atteints de forme sévère de la SVA. Cette procédure permet, de manière instantanée, la réouverture de la valve et la correction de la pulsatilité et des contraintes de cisaillement. Cependant, le TAVI est responsable d'une réaction inflammatoire systémique chez plus de 50% des patients et les complications post-procédurales hémorragiques et thrombotiques sont fréquentes. Les mécanismes impliqués dans ces complications sont encore mal connus. De nombreux travaux rapportent les liens étroits entre les processus d'hémostase et ceux de l'inflammation, notamment via les monocytes (immunothrombose). Notre objectif est d'étudier l'effet de la procédure TAVI sur le phénotype des

monocytes circulants pour comprendre les mécanismes impliqués dans les complications post-procédurales et identifier de nouvelles pistes thérapeutiques.

Matériels et Méthodes : 36 patients ayant bénéficié d'une procédure TAVI pour une SVA ont été inclus dans l'étude. La répartition des différents sous-types de monocytes (classiques (CD14++ CD16-), non classiques (CD14+ CD16++,) et intermédiaires (CD14++ CD16+)) a été évaluée par cytométrie en flux juste avant le TAVI (T0) et le lendemain (J1). Pour 12 de ces patients, une analyse transcriptomique à haut débit (GeneChip™ Human Gene 2.0 ST Array) des monocytes classiques a été réalisée à T0 et J1 après tri cellulaire.

Résultats : Nous avons observé une augmentation des taux de monocytes à J1 par rapport à T0, liée à une augmentation des taux de monocytes classiques et intermédiaires (respectivement, 0,446±0,026 vs 0,757±0,049 G/L, p<0.0001; 0,028±0,003 vs 0,049±0,005 G/L, p<0.0001). Un taux élevé de monocytes intermédiaires préprocédural était associé à une surmortalité à un an alors qu'un taux élevé de monocytes non classiques post-procédural était associé à la survenue de complications hémorragiques ou thrombotiques à un mois. Nous avons également observé par analyse transcriptomique que 267 gènes étaient sur-exprimés et 28 sous-exprimés dans les monocytes classiques à J1 par rapport à T0. Les gènes les plus sur-exprimés codaient pour des protéines impliquées dans l'activation leucocytaire et la réponse inflammatoire et parmi les gènes impliqués dans la coagulation, les gènes *THBD* (thrombomoduline) et *F5* (FV) étaient les 2 gènes les plus sur-exprimés.

Conclusion : Le TAVI module le phénotype hémostatique et inflammatoire des monocytes, en lien avec les complications post-procédurales, suggérant un rôle de l'immunothrombose dans la survenue des complications post-procédurales du TAVI.

00068 - Antithrombin deficiency and altered heparin responsiveness during veno-arterial extracorporeal life support: a prospective study

A. Mansour[1], M. Berahou[2], A. Pontis[3], J. Odot[2], F. Nedelec[4], A. Paradiso[2], F. Reizine[5], Y. Launey[6], A. Ousmen[7], R. Garlantezec[7], E. Flécher[8], N. Nesseler[2], I. Gouin-Thibault[3]

[1]Anesthésie-Réanimation, Irset-Inserm 1085, CHU Pontchaillou - Rennes (France),
[2]Anesthésie-Réanimation, CHU Pontchaillou - Rennes (France),
[3]Hématologie Biologique, Irset-Inserm 1085, CHU Pontchaillou - Rennes (France),
[4]Hématologie Biologique, CHU Pontchaillou - Rennes (France),
[5]Réanimation Médicale, CHU Pontchaillou - Rennes (France),
[6]Anesthésie Réanimation, CHU Pontchaillou - Rennes (France),
[7]Santé Publique - Rennes (France),
[8]Chirurgie Cardiaque Thoracique et Vasculaire - Rennes (France)

Introduction : During veno-arterial extracorporeal life support (VA-ECMO), unfractionated heparin (UFH) is administered to prevent hemocompatibility-related adverse events. Antithrombotic properties of UFH rely on plasma antithrombin (AT) activity. Given the underlying critical illness and blood exposure to shear stress and non-biological surfaces during ECMO, inflammation, coagulopathy including decreased AT levels and apparent altered heparin responsiveness are frequently associated with thrombosis and/or bleeding. While there is currently no data on AT levels and no evidence of a beneficial effect on heparin responsiveness or adverse events, AT supplementation is routinely administered during ECMO.
The aims of this study were 1/to determine dynamic changes of plasma AT levels during the first week of ECMO support and 2/to evaluate the association between AT deficiency and heparin response.

Matériels et Méthodes : Adults receiving VA-ECMO were prospectively included (CHU Rennes, France). All patients received UFH using a standardized protocol (anti-FXa range: 0.30-0.50 IU.mL-1). For each patient, arterial blood was withdrawn on citrated tubes, at 11 time-points (H0 at ECMO initiation, H+2, H+6, H+12, H+24 and daily up to D7). Anti-FXa activity and AT level were measured (STA Liquid anti-Xa®, Stachrom AT®; Stago). Data regarding clinical management, outcomes and heparin dosage were collected. A new index was created to evaluate heparin responsiveness (HRI-Heparin Responsiveness Index) measured at each time-points as follows: HRI= heparin dosage [IU.kg-1.h-1] / anti-FXa activity [IU.mL-1]. Results are presented as median (Q1,Q3) or mean (sd).

Résultats : Fifty patients, median age 60.8y (IQR 52.2-68.4), including 42% post-cardiotomy ECMO were included between April 2020 and May 2021, with a total of 403 samples. Median ECMO duration was 7 days (4-12). Median AT level was 51(37-60) %, at H0. AT levels significantly increased throughout the follow-up, without any supplementation (Figure 1). Overall, the mean AT time weighted average was of 64.4(16.5)%. The mean pourcentage of time with an AT time weighed average below 80%, 70% and 50% was of 77.9(28.4)%, 63.1(34.3)% and 23.5(33.2)%, respectively.
Throughout the ECMO duration, the daily median UFH dosage per kg varied from 301(116-371) to 403(181-496) IU.kg-1. The mean pourcentage of time within anti-FXa range (0.30 and 0.50 IU/mL) was of 34.1(25.2) %.
AT level was not correlated to heparin responsiveness evaluated by anti-FXa activity, heparin dosage or HRI (Figure 2).
Out of the 50 patients, 46% had at least one thrombotic event. There was no significant difference in the AT time weighed average or in the pourcentage of time within anti-FXa range, between patients with and without thrombosis.

Conclusion : Antithrombin deficiency is common during the first 72 hours of VA-ECMO support and is not related to heparin responsiveness.

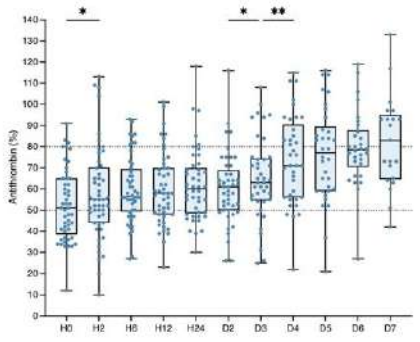


Figure 1:
Plasma antithrombin levels during VA-ECMO support, since ECMO initiation (H0) and up to day 7. * : P ≤ 0.05, ** : P ≤ 0.01.

00071 - Hématopoïèse clonale de signification indéterminée et sténose valvulaire aortique, prévalence élevée et large spectre de mutations

F. Lassalle[1], N. Duployez[2], F. Vincent[1], A. Rauch[1], M. Rosa[1], B. Staels[1], C. Preudhomme[2], S. Susen[1], E. Van Belle[1], A. Dupont[1]

[1]Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1011-Egid, F-59000 Lille, France - Lille (France),
[2]Université de Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Laboratoire d'hématologie, Umr9020-U1277-Canther – Cancer Heterogeneity, Plasticity And Resistance To Therapies, F-59000, Lille, France - Lille (France)

Introduction : La sténose valvulaire aortique (SVA) est la pathologie valvulaire acquise la plus fréquente chez le sujet âgé. Conséquence d'un processus actif de calcification de la valve, médié par une inflammation chronique et des contraintes de flux élevées, cette pathologie présente de nombreuses similarités avec l'athérosclérose. Une hématopoïèse clonale de signification indéterminée (CHIP), définie par la présence de mutations somatiques dans les cellules souches hématopoïétiques sans pathologie hématologique associée et présente chez 10 à 20% des sujets de plus de 70 ans en population générale, a été récemment identifiée comme un nouveau facteur de risque d'athérosclérose.

Une étude récente a rapporté la présence d'au moins une CHIP dans les gènes *DNMT3A* et *TET2* chez un tiers des patients avec une SVA sévère et un risque accru de mortalité à 8 mois chez les patients porteurs de CHIP après un TAVI, procédure de remplacement de valve percutanée associée dans plus de 50% des cas à une réaction inflammatoire systémique. L'objectif de cette étude était d'établir le profil complet de CHIP chez des patients atteints de SVA et bénéficiant d'un TAVI et de déterminer si la présence d'une CHIP était associée à un état inflammatoire accru après la procédure TAVI.

Matériels et Méthodes : Une analyse de séquençage haut-débit avec un panel de 67 gènes a été réalisée chez 270 patients atteints de SVA sévère, sans pathologie hématologique connue, et bénéficiant d'un TAVI (âge moyen : 82±7 ans, 42% d'hommes). Une numération formule sanguine et un dosage de la CRP ont été réalisés avant, 1 et 3 jours après le TAVI.

Résultats : Un total de 444 mutations (avec une fréquence allélique ≥1%) dans 35 gènes différents ont été détectées chez 202 patients sur 270 (prévalence de la CHIP : 50%, 71% et 78% chez les patients âgés, respectivement, de moins de 70 ans, de 70 à 80 ans et de plus de 80 ans). Malgré une prévalence élevée de mutations dans les gènes *DNMT3A* (129 patients, 48%) et *TET2* (117 patients, 43%), des mutations dans les gènes *PPM1D*, *ASXL1*, *SF3B1*, *TP53*, *CBL* et *SRSF2* ont également été identifiées chez au moins 5% des patients. En revanche, nous n'avons pas observé de lien entre la présence d'une CHIP et un état inflammatoire accru après la procédure TAVI.

Conclusion : Cette étude montre que la prévalence de la CHIP est particulièrement élevée chez les patients atteints de SVA sévère et bénéficiant d'un TAVI et que le spectre des mutations observées est très large. Ces nouvelles données appuient la part inflammatoire et athérosclérotique de la SVA. De futures études sont nécessaires pour clarifier la relation entre la présence d'une CHIP, le développement de la SVA et les complications post-procédurales du TAVI.

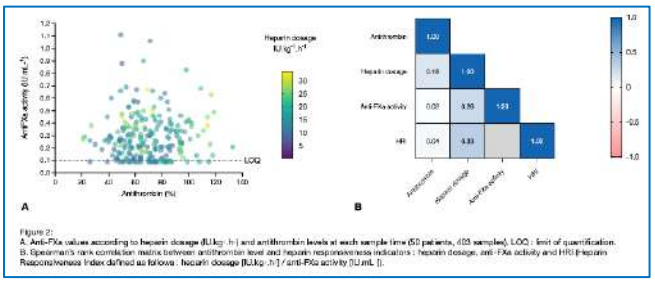


Figure 2:
A. Anti-FXa values according to heparin dosage (IU.kg⁻¹.h⁻¹) and antithrombin levels at each sample time (50 patients, 403 samples). LOQ : limit of quantification.
B. Spearman's rank correlation matrix between antithrombin level and heparin responsiveness indications : heparin dosage, anti-FXa activity and HRI (Heparin Responsiveness Index defined as follows : heparin dosage (IU.kg⁻¹.h⁻¹) / anti-FXa activity (IU.mL⁻¹)).

Jeudi 2 juin 2022 – 14h00 à 15h30
Session « Communications orales : Prix CFH »

00012 - Évaluation du risque hémorragique des anticoagulants dans l'hémophilie : une étude cas-témoin AVK vs AOD (KADOAH)

L. Maucorps[1], P. Gautier[2], M. Trossaert[3], B. Pan-Petesch[4], V. Cussac[5], P. Chamouni[6], B. Guillet[1]

[1]CRC-MHC, CHU de Rennes - Rennes (France)
[2]CRC-MHC, CHU de Caen - Caen (France)
[3]CRC-MHC, CHU de Nantes - Nantes (France)
[4]CRC-MHC, CHU du Brest - Brest (France)
[5]CRC-MHC, CH du Mans - Le Mans (France)
[6]CRC-MHC, CHU de Rouen - Rouen (France)

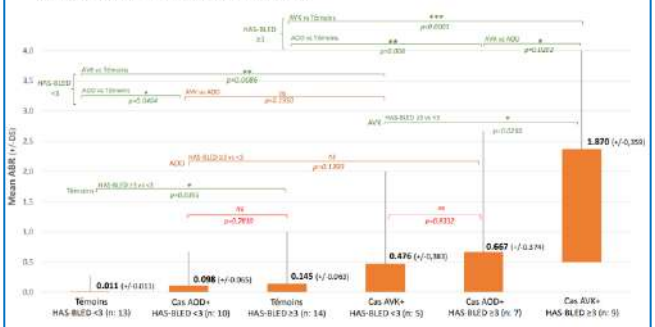
Introduction *:* Les pathologies thrombotiques artérielles ou veineuses sont rares chez les patients avec hémophilie (PAH). L'anticoagulation alors nécessaire pose le problème de leur risque hémorragique surajouté. Cependant, aucune étude n'a montré à ce jour si ce risque était différent avec les Antivitamines K (AVK) ou les Anticoagulants oraux directs (AOD).

Matériels et méthodes : L'étude cas-témoin multicentrique et ambispective KADOAH (vKA vs DOA in Hemophilia) compare le risque hémorragique des PAH recevant ou ayant reçu des AVK vs des AOD pendant au moins 6 mois au cours des 10 dernières années. Chaque patient était apparié à un témoin sur l'âge, le type d'hémophilie, le taux basal du facteur (VIII ou IX) et le score HAS-BLED. Le critère de jugement principal était l'apparition d'évènements hémorragiques graves (EHG).

Résultats : Un total de 27 cas et 27 témoins a été inclus. L'âge médian des cas [Min-Max] était de 76 ans [40-84]. Parmi les 27 cas, 14 ont reçu un AVK, 17 un AOD (4 ayant reçu auparavant un AVK). Leur indication était majoritairement une fibrillation auriculaire (25/27 cas; 93%). Au moins 1 EHG était rapporté chez 16/27 cas [59%] vs 3/27 [11%] témoins (*p=0,002*). Ces 16 cas cumulaient un total de 28 EHG: 13 hématomes, 5 hématuries, 5 hémorragies gastro-intestinales (HGI), 2 hémarthroses, 2 saignements post-chirurgicaux et 1 hémorragie intracrânienne. Le ratio annualisé moyen de saignement (mABR) [DS] était significativement plus élevé chez les cas à 0,743 [+/-0,195] vs 0,059 [+/-0,057] chez les contrôles (*p=0,004*).
Parmi les cas recevant un AVK ou un AOD, l'âge, le score HAS-BLED, la sévérité et le type de l'hémophilie étaient comparables. Au moins 1 EHG était rapporté chez 12/14 (86%) cas avec AVK vs 4/17 (24%) avec AOD, sur une période cumulée de respectivement 539 et 316 mois (*p=0,001*). Le mABR était significativement 6 fois plus haut avec AVK vs AOD : 1,372 [+/-0,319] vs 0,224 [+/-0,160] (p=*0,002*). Les cas avec score HAS-BLED ≥3 étaient plus nombreux à présenter au moins 1 EHG vs les cas avec score <3 : 11/13 (85%) vs 5/14 (36%) (p=*0,001*), avec respectivement un mABR à 1,488 [+/-0,305] vs 0,252 [+/-0,165] (p=*0,002*). Cette influence sur le risque hémorragique du score HAS-BLED était également retrouvée pour chacun des 2 types d'anticoagulant. Une stratification du risque hémorragique a été mise en évidence en fonction du traitement par AVK ou AOD et du score HAS-BLED (Fig 1).
Des HGI ont été rapportées chez 5/27 (19%) cas. Elles paraissaient directement liées à l'absence de traitement par un inhibiteur de la pompe à protons (IPP) concomitant aux anticoagulants : 5/15 (33%) cas sans IPP avaient une HGI vs 0/12 cas avec IPP (*p=0,047*).

Conclusion : L'étude KADOAH montre qu'en cas d'anticoagulation indiquée chez les PAH, un AOD devrait être préféré aux AVK. Cependant, cette recommandation doit également tenir compte du score HAS-BLED. Enfin, un IPP paraît indispensable pour prévenir les HGI liées aux anticoagulants chez les PAH.

Fig 1. Stratification du risque hémorragique chez les patients avec hémophilie en fonction du type d'anticoagulant et du score HAS-BLED.



ABR : annualised bleeding rate prenant en compte les évènements hémorragiques graves définis par des saignements ayant nécessité un traitement procoagulant, une hospitalisation et/ou une transfusion de culots globulaires ; AVK : traitement par Antivitamine K ; AOD : traitement par anticoagulant oral direct ; DS : déviation standard ; HAS-BLED : score évaluant le risque hémorragique et tenant compte de la présence ou non d'une hypertension artérielle, une néphropathie ou hépatopathie, un accident vasculaire cérébral, un antécédent hémorragique, un INR labile, l'âge>65 ans et la prise d'alcool ou de médicaments favorisant les saignements (ex. aspirine, AINS) ; ns : non significatif ; * : *p entre <0,05 et >0,001* ; ** : *p entre <0.001 et >0,0001* ; *** : *p<0.0001*.

00016 - JAK2V617F mutation exacerbates the thrombo-inflammatory response to Cerebral Venous Sinus Thrombosis in mice

M-C. Bourrienne[1], M. Solo-Nomenjanahary[2], D. Faille[3], J. Gay[3], S. Loyau[2], J.L. Villeval[4], V. Edmond[4], I. Plo[4], B. Ho-Tin-Noé[2], M. Mazighi[5], N. Ajzenberg[3]

[1]Service Hématologie Biologique, Hôpital Beaujon (aphp) ; Inserm Lvts U1148 Université De Paris - Clichy (France),
[2]Inserm U1148, Laboratory For Vascular Translational Science - Paris (France),
[3]Laboratoire Hématologie, Hôpital Bichat (aphp), Inserm U1148, Laboratory For Vascular Translational Science - Paris (France),
[4]Inserm Umr1287, Université Paris Saclay, Gustave Roussy - Villejuif (France),
[5]Département De Neurologie, Hôpital Lariboisière (aphp), Fhu Neurovasc, Inserm U1148, Laboratory For Vascular Translational Science - Paris (France)

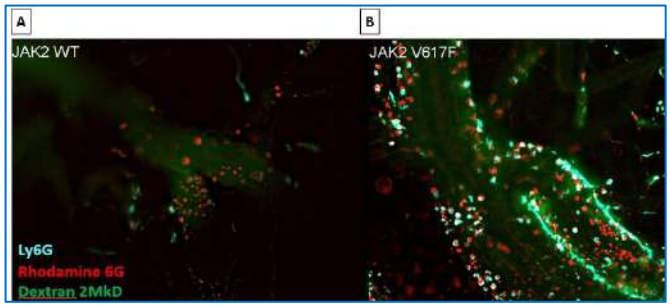
Introduction : Cerebral venous sinus thrombosis (CVST) is a rare cause of stroke. JAK2V617F mutation, the most frequent mutation in myeloproliferative neoplasms (MPNs), has been reported to be associated with CVST. Worse outcome has been observed in MPN-related CVST patients with particularly higher thrombotic recurrence. However, the underlying related pathophysiological mechanisms are still poorly understood. To investigate whether JAK2V617F mutation predisposes to specific pathophysiological processes and/or worse prognosis using a mouse model of CVST.

Matériels et Méthodes : A new CVST model was achieved by autologous clot injection into the superior sagittal sinus. Clinical, biological and imaging outcomes, were analyzed in mice expressing JAK2V617F mutation only in hematopoietic cells (Jak2V617F) compared to Jak2WT mice. On day 1 (D1) after CVST, parenchymal injury was monitored (magnetic resonnance imaging, immuno-histology, intravital microscopy). Platelet-neutrophil agregates (PNAs) and neutrophil activation were determined by flow cytometry analysis of whole blood samples.

Résultats : At D1 after CVST, survival rate was decreased in Jak2V617F mice compared to Jak2WT mice (78.5% versus 100%, p=0.04). Two hours after CVST, intravital microscopy demonstrated increased neutrophil and platelet adhesion in cortical cerebral veins in Jak2V617F mice compared to Jak2WT mice. At D1, higher level of circulating PNAs (69±18% vs 23±13%, p< 0.01) and increased expression of CD11b on neutrophils were also observed in Jak2V617F mice. At D1, occurrence of intracranial hemorrhage was higher in Jak2V617F compared to Jak2WT mice (69% vs 36% respectively, p=0.03). Following sacrifice at D1, brain immunohistological analyses showed that neutrophils localized within cortical haemorrhagic area suggesting involvement of neutrophils in the bleeding process.

Conclusion : Our study shows that the JAK2V617F mutation leads to a specific CVST pattern with increased intracranial hemorrhage and mortality. Our results suggest that neutrophils could contribute to hemorrhagic complications as part of the thrombo-inflammatory response.

Intravital microscopy images after CVST in mice



00019 - Differences in bleeding profiles and venous clot structures between emicizumab and factor VIII-treated mice

T. Sefiane[1], V. Muczynski[1], X. Heiligenstein[2], O. Christophe[1], C. Denis[1], C. Casari[1], P. Lenting[1]

[1]Inserm U1176 - Le Kremlin-Bicêtre (France),
[2]Cryocapcell - Le Kremlin-Bicêtre (France)

Introduction : Emicizumab is a bispecific antibody used to treat hemophilia A with/without inhibitors. We previously reported that emicizumab partially corrects bleeding in factor VIII (FVIII)-deficient mice following tail-clip injury. Using a milder bleeding model of tail vein-transection (TVT), we further analyzed emicizumab's hemostatic efficacy in mice.
We aimed to analyze the bleeding profile and clot stability/structure following FVIII or emicizumab treatment.

Matériels et Méthodes : FVIII-deficient mice received low-dose FVIII (5 IU/kg) or emicizumab (5 mg/kg) intravenously before TVT, and bleeding profiles were evaluated with/without removing the occlusive clot (wound challenge). Alternatively, tail sections were collected 10 minutes post-injury and prepared for microscopic analysis by immunofluorescence (fibrin, platelets and red blood cells (RBCs)) or scanning electron microscopy (SEM).

Résultats : Without wound challenge, blood loss was similar in FVIII-treated mice (28±7 µL) or emicizumab-treated mice (32±15 µL; p=0.99; Figure 1). In FVIII-treated mice, each wound challenge was followed by rapid bleeding arrest and minor blood loss (135±33 µL after 2 challenges). No differences were observed between mice treated with FVIII or FVIII-Fc. In emicizumab-treated mice, wound challenges were associated with prolonged times to arrest, spontaneous rebleeding thereafter and abundant additional blood loss (533±165 µL; p< 0.0001 versus FVIII with challenges). Immunofluorescence analysis of occlusive clots revealed that FVIII-derived clots contain larger areas of co-localization between aggregated RBCs and platelets compared to emicizumab-derived clots (21±4% vs 4±1% of RBC-signal overlapping platelet-signal; p=0.0031). SEM-analysis further confirmed differences in clot-structure between both treatments (Figure 2). Compact RBC-structures were observed in clots from FVIII-treated mice, with individual RBCs being mostly indistinguishable. In contrast, the outer-surface of clots from emicizumab-treated mice consisted of a fractured structure harbouring individual RBCs and apparent ruptured fibrils.

Conclusion : Clots forming in the presence of FVIII or emicizumab show different structure and density, which correlate with wound challenge response and clot stability. Our data suggest mechanistic differences in clot formation.

Figure 1

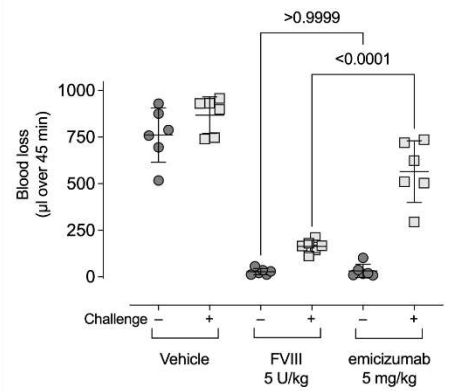


Figure 1: Blood loss after tail vein-transection (circles) and subsequent wound challenge (squares) in FVIII-deficient mice treated with low-dose FVIII or emicizumab. Statistical analysis was performed via one-way ANOVA with Tukey's correction for multiple comparisons.

Figure 2

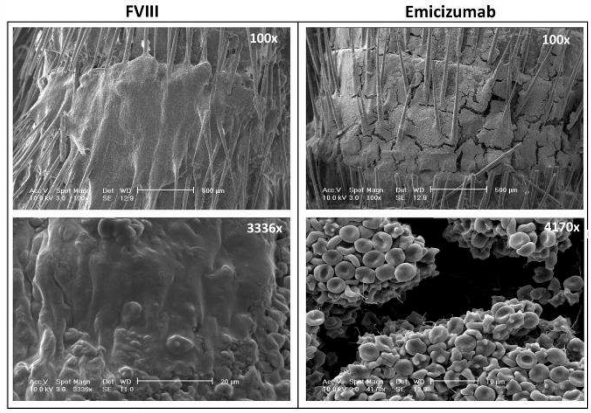


Figure 2: Scanning electron microscopy imaging of occlusive clots present in FVIII-deficient mice treated with FVIII or emicizumab.

00051 - Therapeutic efficacy of mesenchymal stromal cells in the management of hemophilic arthropathies

A. Theron[1], M. Maumus[1], K. Toupet[1], C. Bony[1], J. Christinan[1], N. Sirvent[2], C. Biron-Andreani[3], D. Noel[1]

[1]IRMB, University of Montpellier, Inserm - Montpellier (France),
[2]CHU Arnaud de Villeneuve, Service d'hématologie Pédiatrie - Montpellier (France),
[3]CHU St Eloi, CRC des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles - Montpellier (France)

Introduction : Hemophilic arthropathy is a severe complication of hemophilia induced by repeated hemarthrosis and microbleeds in the joints of patients. It is a particularly serious adverse event in young patients for which, no curative treatment is available, except joint prosthesis replacement. One potential therapeutic strategy is the use of mesenchymal stromal cells (MSCs) that have shown significant interest in the therapeutic management of osteoarthritis and inflammatory arthritis and are currently tested in clinics. However, MSCs have been poorly investigated in the management of hemophilic arthropathies likely due to the lack of relevant in vitro models of this pathology. The objectives of our study were to 1) develop an in vitro model of hemarthrosis relevant to hemophilic arthropathy and 2) investigate the therapeutic effect of MSCs in this model.

Matériels et Méthodes : Murine chondrocytes were isolated from the knees and femoral heads of newborn mice (aged 6-7 days) and cultured in DMEM medium containing 10% calf serum for 5 days. Blood was recovered from adult mice and added to chondrocytes at different concentrations and exposure times. Murine MSCs were isolated from the bone marrow of C57BL/6 mice and characterized before use. For co-culture experiments, MSCs were seeded in an

insert (Transwell) and added on top of chondrocytes cultured in the wells of 12/24-wells culture plates at different time points during or after blood exposure. Cell survival and proliferation were quantified using the CellTiter-Glo® assay and cellular apoptosis was measured by the Caspase-Glo® assay. Gene expression quantification was done by RT-qPCR.

Résultats : After 3 days of exposure to 20% of whole blood, chondrocyte survival was dramatically decreased while apoptosis increased significantly. This was accompanied with a phenotypic change of chondrocytes characterized by a decreased production of anabolic markers (type IIB collagen, aggrecan), and the increase of catabolic (MMP13, ADAMTS5) inflammatory (COX2, IL6, TNFα) and oxidative stress (iNOS, HMOX1, NRF2...) marker expression.
Addition of MSCs during or after chondrocyte exposure to whole blood allowed a higher survival rate and a lower apoptosis rate. Moreover, the expression of anabolic markers was enhanced while catabolic and inflammatory markers decreased.

Conclusion : We generated a relevant in vitro model of hemarthrosis. Importantly, we demonstrated that MSCs exert a protective and regenerative effect on murine hemarthrosic chondrocytes suggesting that MSC-based therapy might be of interest for hemophilic arthropathies.

00060 - Heparin cofactor activity of Antithrombin measured with Stachrom-ATIII in type II inherited antithrombin deficiencies

C. Rial[1], S. Gandrille[2], J. Duchemin[3], P. Suchon[4], L. Darnige[2], L. Khider[5], O. Sanchez[6], C. Mouton[7], C. Ternisien[8], F. Zouiti[9], I. Martin-Toutain[10], C. Flaujac[11], P.E. Morange[4], V. Roussel-Robert[12], L. Mauge[13]

[1]Service d'hématologie Biologique, Assistance Publique Hôpitaux de Paris-Centre (AP-HP.cup), F-75015 - Paris (France),
[2]Service d'hématologie Biologique, Assistance Publique Hôpitaux de Paris-Centre (AP-HP.cup), F-75015 Paris France ; Thérapies Innovantes en Hémostase, Inserm Umr-S1140, Université de Paris, 75006 - Paris (France),
[3]Service d'hématologie Biologique, AP-HP, Center-Université de Paris, Hôpital Cochin, - Paris (France),
[4]Laboratoire d'hématologie, Hôpital de la Timone, AP-HM, 13005 Marseille, France; C2vn, Aix-Marseille Université, Inserm, Inrae, - Marseille (France),
[5]Service de Médecine Vasculaire, Assistance Publique Hôpitaux de Paris-Centre (aphp-Cup), F-75015, Paris, France. Université Paris Cité, Parcc, Inserm, U970 F-75015 - Paris (France),
[6]Service de Pneumologie, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris-Centre (aphp-Cup), F-75015, Paris, France ; F-Crin Innovte, Saint-Étienne, France. Thérapies Innovantes En Hémostase, Inserm Umr-S1140, Université de Paris, 75006 - Paris (France),
[7]Laboratoire d'hématologie, CHU de Bordeaux, Hôpital Haut Lévêque, - Pessac (France),
[8]Laboratoire d'hémostase, Centre de Traitement de l'hémophilie, Hôtel Dieu, Chu De Nantes - Nantes (France),
[9]Service d'hématologie Biologique, Hôpital Antoine Béclère Aphp - Paris Saclay (France),
[10]Service Hématologie Biologique GH Pitié Salpêtrière - Paris (France),
[11]Laboratoire De Biologie Médicale, Secteur Hémostase, Centre Hospitalier de Versailles (andré Mignot) - Le Chesnay (France),
[12]Unité Fonctionnelle d'hémostase Clinique, Centre de Compétence des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles, AP-HP.centre, Hôpital Cochin, - Paris (France),
[13]Service d'hématologie Biologique, Assistance Publique Hôpitaux de Paris-Centre (AP-HP.cup), F-75015 Paris, France ; Université Paris Cité, Parcc, Inserm, U970 F-75015 - Paris (France)

Introduction : Inherited antithrombin deficiency (ATD) is a severe thrombophilia characterized by decreased antithrombin activity in plasma and predisposition to venous thromboembolism. Contrary to quantitative type I ATDs, type II ATDs are characterized by a decreased activity and a normal antigen level due to defect of the heparin binding site (HBS) or the reactive site (RS), or to conformational changes interfering with AT activity for which a slight decrease of circulating levels can also be observed. ATD screening relies on heparin cofactor activity (ATCof) measurement but the performance of commercially assays to detect type II ATDs is variable, especially for type II HBS. This study reports the ATCof measured by Stachrom-ATIII in patients with a genetically characterized type II ATD and type I Dublin that is also difficult to detect.

Matériels et Méthodes : This retrospective French cohort study (45 centers) included genetically characterized inherited type I Dublin or type II ATD for whom ATCof was measured with Stachrom-ATIII reagent (Diagnostica Stago®). Clinical and biological data related to the thrombotic history and the biological characteristics of ATD were collected. Quantitative variables were expressed as median [range] and categorical variables as percentages on available data.

Résultats : From 2000 to 2021, 540 patients were included: age, 36 years [<12 months-80]; men, 31%; 410 probands (P) and 130 relatives (R). A personal thrombotic history was reported in 260 patients (48%) (233 P and 27 R): 93 pulmonary embolisms (PE) ± deep vein thrombosis (DVT), 110 DVT, 23 superficial vein thrombosis (SVT), and 34 arterial events. Median age at the primary event was 35 yo [<12 mo-78] (n=254). There were recurrences for 78 patients (30%) within a median follow up of 2 years [<12 mo-53]. In the whole cohort, 14 variants (3%) were type I Dublin, 337 (62%) HBS (among them: 91 p.Pro73Leu, 43 p.Arg79His and 71 Budapest 3), 69 (13%) PE, 41 (8%) RS, 55 (10%) Cambridge 2 (CAM2), and 24 (4%) remained unclassified (UCV). Median Stachrom ATCof was 63% [20-93]. Stachrom ATCof level was >80% for 36 heterozygous patients (6,7%) (med 83,5%): 10 type I Dublin, 4 HBS, including 1 Budapest 3 variant, 6 PE, 13 CAM2, 3 UCV; no RS were missed. Among these 36 patients, 18 had a personal thrombotic history. Interestingly, 14 of them presented a significant dissociation between Stachrom ATCof and antigen level in favor of a type II deficiency HBS or RS.

Conclusion : Using Stachrom ATIII assay, only 6,6% of type II ATDs presented with ATCof higher than the lower limit of the reference values (80-120%), two thirds were CAM2 or type I Dublin, known to be difficult to detect whatever the assay used. Almost all HBS variants were detected, even those often missed by other assays, except one Budapest 3 variant, which is associated with a higher risk of thrombosis than other HBS type II ATD. Stachrom ATIII is thus a robust assay to detect type II ATD. However, despite normal antithrombin activity, genetic analysis should be considered in case of strong personal or familial thrombotic history.

Vendredi 3 juin 2022 – 08h30 à 10h00
Session « Anomalies thrombotiques veineuses et artérielles, acquises et héréditaires (2) »

00005 - Grossesse après MTEV provoquée par la contraception orale : étude rétrospective multicentrique internationale

J-C. Gris[1], C. Bourguignon[2], S. Bouvier[2], E. Nouvellon[2], J. Laurent[2], A. Perez-Martin[2], E. Mousty[2], M. Nikolaeva[3], J. Khizroeva[4], V. Bitsadze[4], A. Makatsariya[4]

[1],
[2]CHU - Nîmes (France),
[3]Université de l'Altaï - Barnaul (Russian Federation),
[4]Université I.M. Sechenov - Moskva (Russian Federation)

Introduction : Peu de données sont disponibles sur le pronostic thrombotique des femmes à antécédent personnel de premier événement thromboembolique veineux (MTEV) provoqué par la contraception orale combinée (COC) oestro-progestative, débutant une première grossesse.

Matériels et Méthodes : Etude rétrospective, multicentrique internationale, sur 3 centres, focalisée sur les patientes vues pour bilan de thrombophilie suite à une première poussée de MTEV provoquée par la COC de 2010 à 2021, ayant inclus les patientes sans thrombophilie constitutive ni anticorps antiphospholipide, ayant ensuite initié une grossesse suivie au sein des 3 centres recruteurs en acceptant le schéma commun de throboprophylaxie, basé sur les HBPM, de posologie indexée sur l'IMC, de posologie doublée lors des 3 premières semaines du postpartum.
Objectif : analyse des récidives thrombotiques durant la grossesse puis le post-partum; étude des facteurs de risque.

Résultats : Nous avons inclus les dossiers de 2.145 femmes enceintes. Un total de 88 récidives a été observé : 58 ante-natales (dont 2 embolies pulmonaires EP), 29 post-natales (dont 16 EP), principalement durant le premier trimestre de la grossesse (41/59) et durant les 2 premières semaines suivant l'accouchement (24/29).
L'incidence annualisée des récidives de MTEV est de 49,6 (37-62) pour 1.000 patient-années durant la grossesse et de 118,7 (78-159) pour 1.000 patient-années durant les 6 semaines du post-partum (x2,4). Concernant les récidives sous forme d'EP, l'incidence est de 1,68 (1-4) pour 1.000 patient-années durant la grossesse et de 65,5 (35-97) pour 1.000 patient-années après l'accouchement (x39). Les facteurs de risque de récidive de la grossesse sont l'hypercholestérolémie (uniquement significatif chez les femmes russes) et la naissance d'un nouveau-né sévèrement petit pour son âge gestationnel (< 3ème percentile du poids ajusté sur le sexe et l'âge gestationnel), ceux du post-partum sont la survenue d'une pré-éclampsie. Le type de manifestation initiale (phlébite distale, proximale ou EP) n'impacte pas sur le risque de récidive. Un saignement majeur est survenu chez 38 femmes (1,8%), toutes sous la forme d'une hémorragie du pos-tpartum primaire sévère, au demeurant favorisée par les conditions obstétricales.

Conclusion : Notre étude multicentrique internationale rétrospective conduite chez des femmes à antécédent d'un seul type de première poussée de MTEV provoquée, dépendante de la COC, ayant accepté un seul type de thromboprophyaxie, montre un risque significatif de récidive thrombotique veineuse lors de la grossesse malgré une thromboprophylaxie indexée sur la masse corporelle et sur le moment le plus à risque, les 3 semaines du postpartum. Ces données ont certes tous les défauts des études rétrospectives mais sont en l'état uniques par leur homogénéité et leur densité elle fournissent néanmoins des indications pouvant aider à construire un véritable essai thérapeutique contrôlé en insu, dans les règles de l'art.

00072 - La forme déglycosylée de 1E12, une IgG monoclonale anti-FP4, inhibe l'activation cellulaire induite par les anticorps de thrombopénie thrombotique induite par la vaccination contre la COVID-19 (VITT)

C. Vayne[1], R. Palankar[2], S. Billy[3], S. Handtke[2], T. Thiele[2], C. Cordonnier[4], C. Pouplard[1], A. Greinacher[2], Y. Gruel[1], J. Rollin[1]

[1]CHRU de Tours, Service d'hématologie-Hémostase, Tours, France, Université de Tours, Ea7501 GICC, Tours, France - Tours (France),
[2]Université de Greifswald, Institut d'immunologie et Médecine Transfusionnelle, Greifswald, Allemagne - Greifswald (Germany),
[3]Université de Tours, Ea7501 GICC, Tours, France - Tours (France),
[4]Université de Lille, Inserm, CHU de Lille, U1172-Lilncog-Lille Neuroscience & Cognition, Lille, France - Lille (France)

Introduction : Les thrombopénies thrombotiques induites par les vaccins (VITT) sont une complication rare mais grave des vaccins à vecteur adénovirus utilisés contre la COVID-19 due à la présence d'IgG dirigées contre le facteur plaquettaire 4 (FP4). Afin d'améliorer la sécurité des vaccins à stratégie adénovirus, il est primordial de mieux comprendre la physiopathologie des VITT, et notamment les mécanismes conduisant à l'hypercoagulabilité et aux thromboses atypiques.

Matériels et Méthodes : Nous avons développé une IgG1 chimérique anti-FP4, 1E12, qui reconnaît le FP4 natif comme les anticorps de VITT, et avons évalué si 1E12 pouvait mimer les effets des anticorps de VITT en termes de spécificité et d'effets cellulaires. Nous avons ensuite généré une forme déglycosylée de 1E12 (DG-1E12), qui se lie toujours au FP4 mais n'interagit plus avec les récepteurs FcγR, et avons étudié sa capacité à inhiber l'activation cellulaire induite par les anticorps de VITT.

Résultats : En ELISA, la pré-incubation du Fab'2 de 1E12 (10 µg/mL) avec du FP4 inhibe très fortement la liaison des anticorps humains de VITT à cette chimiokine, démontrant une spécificité proche de 1E12 et des anticorps de VITT vis-à-vis du FP4. De la même façon que les anticorps humains de VITT, 1E12 (10 et 5 µg/mL) active très fortement les plaquettes en présence de FP4 et en l'absence d'héparine au cours du test de libération de sérotonine (SRA-FP4). Cet effet est dépendant du récepteur FcγRIIa, car totalement inhibé en présence de IV.3, un anticorps monoclonal bloquant FcγRIIa, ou d'IdeS, une protéase bactérienne qui clive les IgG et inhibe leur liaison à FcγRIIa. Comme les anticorps humains de VITT, 1E12 (10 µg/mL) incubé avec des polynucléaires neutrophiles, des plaquettes et du FP4, induit la libération d'ADN et la génération de « Neutrophil Extracellular Traps » (NETs), et dans un modèle microfluidique de thromboses en sang total, il entraîne la formation d'agrégats leuco-plaquettaires de grande taille contenant de la fibrine (et/ou du fibrinogène).
En revanche, la forme déglycosylée de 1E12 (DG-1E12 ; 50 µg/mL) réduit considérablement l'activation plaquettaire induite par les plasmas de VITT (n= 14 ; p<0,001) au cours du SRA-FP4. De plus, lorsque des plaquettes et des neutrophiles sont pré-incubés avec DG-1E12 (100 µg/mL), la NETose induite par les anticorps de VITT est complètement inhibée. Enfin, dans notre modèle de thrombose en sang total, DG-1E12 (100 µg/mL) inhibe complètement la formation de microthromboses médiée par les anticorps de VITT dans des conditions de flux veineux.

Conclusion : 1E12 mime parfaitement les effets des anticorps humains de VITT in vitro, et constitue un outil essentiel pour étudier la physiopathologie de ces complications, notamment avec des modèles murins. Il pourrait aussi aider à standardiser les tests biologiques utilisés pour le diagnostic des VITT.
DG-1E12 prévient l'activation des cellules sanguines et la formation de thrombus induite par les anticorps de VITT in vitro et pourrait aider au développement d'un nouveau médicament neutralisant les effets pathogènes des auto-anticorps anti-FP4.

00080 - PHRC TVC : CRP et D-dimères prédictifs d'une forme plus sévère et d'une évolution plus péjorative

V. Le Cam Duchez[1], P. Billoir[2], V. Siguret Depasse[3], E. Masson Fron[4], L. Drouet[5], I. Crassard[6], P.E. Morange[7], B. Polak[8], V. Wolff[9], G. Godenèche[10], A. Triquenot-Bagan[11]

[1]Normandie Univ, Unirouen Inserm U 1096-Envi, CHU de Rouen, Service d'hématologie Biologique - F76000 Rouen (France),
[2]Normandie Univ, Unirouen Inserm U 1096-Envi, CHU de Rouen, Service d'hématologie Biologique - Rouen (France),
[3]Hopital Lariboisière, Hématologie Biologique - Paris (France),
[4]Hopital Lariboisière, Biochimie - Paris (France),
[5]Hopital Lariboisière, Service de Cardiologie - Paris (France),
[6]Hopital Lariboisière, Service de Neurologie - Paris (France),
[7]Aix Marseille Univ, Inserm, Inrae, C2vn - Marseille (France),
[8]CHU de Grenoble - La Tronche (France),
[9]CHU de Strasbourg, Unité Neurovaculaire - Strasbourg (France),
[10]CH de La Rochelle, Unité Neurovaculaire - La Rochelle (France),
[11]CHU de Rouen, Unité Neurovaculaire - Rouen (France)

Introduction : La thrombose veineuse cérébrale (TVC) est une maladie rare à expression clinique et radiologique extrêmement variable, tout comme son évolution. Les mécanismes en jeu dans cette variabilité ne sont pas connus. L'objectif de ce PHRC multicentrique français était de constituer une cohorte prospective de patients atteints de thrombose veineuse cérébrale afin d'étudier chez ces patients la génération de thrombine, la dégradation du caillot, les marqueurs d'inflammation, et d'étudier leur association avec la présentation initiale clinico-radiologique et l'évolution de la TVC.

Matériels et Méthodes : Dans le cadre du PHRC multicentrique français N° 2010/087/HP, 231 patients consécutifs avec un diagnostic de TVC confirmé par imagerie ont été inclus. Pour chacun d'entre eux, différents prélèvements sanguins ont été réalisés : 1/ au moment du diagnostic avant la mise sous traitement anticoagulant (J0) ; 2/ avant la mise sous traitement anticoagulant oral (J5) ; 3/ à 3 mois (M3) ; 4/ 1 mois après l'arrêt du traitement anticoagulant ou à 13 mois en cas de poursuite du traitement (M12). Sur chaque échantillon, ont été effectués une mesure de la CRP ultrasensible (u-CRP), des D-dimères et un test de génération de thrombine (TGT). A J0, les paramètres de l'hémogramme ont été colligés et le ratio Neutrophiles/Lymphocytes (NLR) a été calculé.

Résultats : Parmi les 231 patients inclus, les patients ayant un mode de début de la maladie aigu ou subaigu avaient une u-CRP et un NLR significativement plus élevés que ceux dont le mode de début était chronique (p=0.019 et 0.023 respectivement). D'autre part, ces mêmes paramètres étaient significativement plus élevés chez les patients ayant des troubles de conscience initiaux (p=0.009 et 0.012 respectivement), de même que le taux de D-dimères à J0 (p=0.039). Enfin l'u-CRP et les D-dimères à J0 étaient significativement plus élevés chez les patients ayant un score NIHSS plus péjoratif (p=0.0009 et 0.02 respectivement). Concernant l'imagerie, 4 paramètres à J0 étaient significativement plus élevés chez les patients ayant plus de 3 sinus thrombosés par rapport à ceux ayant 3 sinus thrombosés ou moins : la u-CRP (p=0.031), le NLR (p=0.018), les D-dimères (p=0.012) et la vélocité du TGT (p=0.03). La CRP et le NLR étaient significativement plus élevés en présence de lésions parenchymateuses (p=0.035 et 0.013 respectivement) , et l'ETP du TGT était plus élevé lorsque ces lésions parenchymateuses étaient ischémiques par rapport aux lésions hémorragiques (p=0.048).
Enfin, grâce à des courbes ROC, nous avons montré que l'u-CRP et les D-dimères à J0 pouvaient être prédictifs d'un décès en cours d'hospitalisation avec des seuils de 37,2 mg/L -AUC : 84,0 % ; Se : 75,0 % ; Sp : 84,5%- et 1985 µg/L -AUC : 83,0 % ; Se : 100% Sp : 73,9 %-, respectivement.

Conclusion : Nous rapportons ici des associations entre biomarqueurs de l'inflammation et de l'hypercoagulabilité avec la présentation clinique et radiologique initiale des TVC, et leur évolution.

00086 - Use of prothrombin complex concentrates in severe liver disease: in vitro dose effects on haemostasis parameters: COPIH Study

I. Ben Salah[1], M. Rousseaux[1], M.C. Bourienne[1], L. Boudaoud[1], C. Trichet[1], P.E. Rautou[2], F. Durand[2], O. Roux[2], E. De Raucourt[1]

[1]Service d'hématologie Biologique-Hôpital Beaujon-Aphp - Clichy (France),
[2]Service d'hépatologie et de Réanimation Hépatodigestive, Aphp Hupnvs, Hopital Beaujon - Clichy (France)

Introduction : Changes in pro- and anti-coagulant pathways are common features in patients with severe liver disease leading to an increased risk of both bleeding and thrombotic complications. Common strategies to manage hemorrhage include fresh frozen plasma, platelets transfusion and prothrombin complex concentrates infusion (PCCs). PCCs offer a good alternative in patients with liver diseases by avoiding large-volume infusion. However, conflicting results have been reported on optimal dosage of PCCs regarding thrombotic risk. Hemostasis parameters were evaluated at baseline and, after in vitro addition in whole blood of two doses of PCCs in patients with severe liver diseases (acute liver failure or chronic liver disease).

Matériels et Méthodes : PCC (Confidex®, CSL Behring) was added to reach 50% (low) or 100 % (high) of FII level at final concentration, which correspond respectively in vivo to 13 [9-14] U/kg and 31 [29-34] U/kg in patients. Then, rotational thromboelastometry (EXTEM) and thrombin generation (TG) assay (+/- thrombomodulin) were performed respectively, in whole blood and plasma. Results were compared with healthy controls and expressed as median [interquartile range].

Résultats : At baseline, patients had a coagulopathy characterized by significant prolonged INR, prolonged EXTEM clotting time and decreased thrombin generation without thrombomodulin. After PCC addition, INR was halved from baseline but did not improve significantly with increasing dose. TG parameters increased supraphysiologically in patients compared to baseline and controls. High-dose of PCC was associated with higher thrombin peak and endogenous thrombin potential (ETP) than low dose ($p < 0.05$) (Table 1). In addition, PCC increased thrombomodulin resistance, and significant higher resistance was observed with the high-dose (Table 1).

Conclusion : Our results support that, compared to high doses, low doses of PCC induce less hypercoagulability in patients with severe liver disease. Clinical studies are required to determine whether low doses of PCC may be used in these patients without increasing thrombotic risk.

Table 1 : Clinical characteristics and hemostasis

	Controls	ESLD baseline	ESLD (+ PCC, FII 50%)	ESLD (+PCC, FII 100%)
Number of patients	10	32	32	32
Type of liver failure (n, %) • **Chronic liver disease** • **Acute liver disease**		11 (34%) 21(66%)		
Severity of liver disease (MELD score)*		31.5 [29-36]		
INR	1 [0.8-1.2]	3.0 [2.6-4.3]	1.7 [1.5-2]	1.65 [1.4-1.9]
TG assay (without TM): -Thrombin peak (nmol) -ETP (nM.min⁻¹)	144 [121-179] 1220 [1088-1430]	68 [44-92] 742 [454-862]	268 [142-323] 2788 [2003-4385]	439 [245-538] 4493 [3123-4977]
TG assay (with TM): -Thrombin peak (nmol) -ETP (nM.min⁻¹)	53 [43-87] 271 [238-379]	57 [37-85] 531 [326-795]	200 [106-293] 1948 [935-3479]	345 [177-468] 4011 [2365-4505]
***MELD, Model for End-Stage Liver Disease**				

Table 1 : Clinical characteristics and hemostasis parameters before and after PCC addition

00108 - Association d'un anti-GPVI, le glenzocimab, au traitement de recanalisation de l'AVC ischémique : résultats de l'étude ACTIMIS

M. Jandrot-Perrus[1], M. Mazighi[2], S. Richard[3], I. Sibon[4], A. Commenducci[5], A. Sari[5], A. Meilhoc[5], S. Binay[5], G. Avenard[5]

[1]Inserm - Paris (France),
[2]Ap-Hp - Paris (France),
[3]CHRU Nancy - Nancy (France),
[4]CHU Bordeaux - Bordeaux (France),
[5]Acticor-Biotech - Paris (France)

Introduction : Malgré l'efficacité des traitements de recanalisation (TR) actuels, de nombreux patients victimes d'un accident vasculaire cérébral ischémique aigu (AIS) présentent une évolution défavorable. La glycoprotéine (GP) VI plaquettaire impliquée dans la formation, la croissance et la stabilité des thrombi, est identifiée comme une cible thérapeutique pour des maladies thrombotiques aigues. GPVI joue un rôle critique dans différents modèles de pathologie thrombotique et, en particulier, dans la thrombo-inflammation associée à l'ischémie cérébrale (IC)[(1)]. Le déficit en GPVI n'est associé tout au plus qu'à des saignements mineurs chez l'homme comme chez l'animal. Le glenzocimab est un fragment d'anticorps humanisé dirigé contre la GPVI [(2)]. L'objectif de ce travail est d'évaluer la sécurité et d'identifier une potentielle efficacité du glenzocimab associé aux stratégies de revascularisation, thrombolyse intraveineuse (TIV) ± thrombectomie mécanique (TM) chez des patients présentant une IC.

[(1)] Stegner D., Klaus V., Nieswandt B. Platelets as modulators of cerebral ischemia /reperfusion injury. Front Immunol. 2019 ;10 :2505
[(2)] Voors-Pette C., Lebozec K., Dogterom P., et al. Safety and tolerability, pahrmacokinetics and pharmacodynamics of ACT017, an antiplatelet GPVI Fab. Arterioscle. Thromb. Vasc. Biol. 2019 ;39:956

Matériels et Méthodes : ACTIMIS (NCT03803007) est une étude internationale, randomisée, en double aveugle, contrôlée contre placebo. Les patients éligibles à la TIV ± TM, avec un début des symptômes ≤ 4,5 heures ont été assignés de façon aléatoire aux groupes placebo ou glenzocimab selon un schéma initial de posologie croissante de 125 mg à 1 000 mg (Phase 1b), puis à la dose de 1 000 mg vs placebo (1:1) en groupes parallèles (Phase 2a). Le critère d'évaluation principal était la tolérance avec un focus sur l'incidence des hémorragies intracrâniennes (HIC).

Résultats : Cent soixante-six patients, avec un âge médian de 75 ans et un score NIHSS médian de 12 points ont été inclus. Parmi les 66 cas de HIC rapportés, 6 étaient symptomatiques, 1/102, (1%) dans le bras glenzocimab versus 5/64 (8%) dans le bras placebo ; 60 étaient des HIC non symptomatiques, 30/102 (29%) sous glenzocimab versus 30/64 (48%) sous placebo. Vingt décès toutes causes confondues ont été rapportés, 8/102 (8 %) dans le bras glenzocimab et 12/64 (19%) dans le bras placebo. Une tendance favorable sur l'évolution à 90 jours (mRS) a été observée pour les patients les plus âgés et les plus sévères.

Conclusion : A la phase aiguë de l'IC, l'administration de glenzocimab, avec un traitement de recanalisation optimal, est associée à une réduction des taux d'HIC et de mortalité. Ces résultats encourageants doivent être confirmés dans une plus large étude de phase 2-3, [ACTISAVE (NCT05070260)], actuellement en cours.

Vendredi 3 juin 2022 – 08h30 à 10h00
Session « Laboratoire / Pharmacie clinique »

00030 - Comment intégrer la valeur du TCA lors de la validation biologique d'un dosage de facteur VIII ou FIX chez un hémophile non traité ?

C. Pouplard[1], A. Ryman[2], T. Baglo[3], A. Elira Dokekias[4], G. Groupe Bimho[1]

[1]CHU de Tours - Tours (France),
[2]CHU Bordeaux - Bordeaux (France),
[3]CHU de Cotonou - Cotonou (Benin),
[4]CHU de Brazaville - Brazaville (Congo, the Democratic Republic of the)

Introduction : Le temps de céphaline avec activateur (TCA) est souvent utilisé comme test de dépistage de l'hémophilie A ou B et le diagnostic biologique repose sur les dosages du FVIII ou du FIX. Plusieurs membres du groupe des biologistes des maladies hémorragiques (BIMHO) participent à l'Alliance franco-africaine pour le traitement de l'hémophilie (AFATH) et ont noté, durant leurs missions, qu'il était parfois difficile d'intégrer pour un biologiste les résultats du TCA lors de la validation biologique du dosage du FVIII ou du FIX. La littérature est relativement pauvre sur ce sujet et nous étions dans l'incapacité de pouvoir donner des conduites simples et fiables à nos collègues. Nous avons ainsi initié une étude rétrospective visant à colliger un grand nombre de dosages de FVIII ou de FIX associés à une mesure du TCA et réalisés chez des hémophiles non traités.

Matériels et Méthodes : Dans ce contexte, nous avons recueilli 532 dosages de FVIII et 287 dosages de FIX ainsi que les TCA correspondants. Selon les centres, les TCA avaient été réalisés avec différents réactifs : CK Prest (Stago), Actin FS (Siemens), Synthasil (Werfen), STA PTT Automate (Stago) et Hemosil Synthasil (Werfen).

Résultats : Lorsque les taux de FVIII sont comparés aux TCA obtenus quel que soit le réactif utilisé, nous observons qu'un TCA ≥ 90 sec est fortement évocateur d'un taux de FVIII < 1% (VPP = 96,3%) (Figure 1). Un TCA < 60 sec n'est jamais associé à un déficit sévère en FVIII (VPN : 100%). Lorsque l'analyse des données est réalisée en prenant en compte le réactif de TCA nos résultats montrent qu'un TCA > 80 sec avec le CK Prest® ou l'Actin FS® est toujours associé à un déficit sévère en FVIII (VPP = 100%) (Figure 2 A, 2B). Avec le STA APTT® (Figure 2C), le seuil > à 80 secondes a une VPP de 95,6 vis à vis d'un taux de FVIII ≤ 1% et une VPN de 95,1%. Avec le TCA Synthasil® et Triniclot APTT HS®, un seuil > 80 secondes a une VPP de 81% pour confirmer un déficit en FVIII < 1% et une VPN rspectivement de 98% et 96,3% (Figure 2D).
Les performances du TCA vis à vis du diagnostic de l'hémophilie B sévère sont moins bonnes. Ainsi, un TCA supérieur à 80 secondes est toujours associé à un taux de FIX ≤ 2% (VPP 100%, VPN 81%) et un TCA supérieur à 90 secondes est fortement évocateur d'un déficit sévère en FIX (VPP 95 ; VPN 87,2%).

Conclusion : Ce travail nous a permis de définir des valeurs seuils pour le TCA qui sont simples et facilement utilisables pour la validation des dosages de FVIII et FIX. L'analyse du temps de coagulation du TCA et non de son ratio a été privilégiée dans ce travail en raison de la difficulté pour les pays de membres de l'AFATH de déterminer le temps témoin du TCA avec chaque lot de réactif et selon les recommnadations en vigueurs. Nous avons rédigé un document didactique et synthètique à destination des partenaires de l'AFATH. Ce flyer sera facilement consultable et distribué en format électronique et papier de façon à être un document de paillasse.
Avec les collaboration de : F Blanc Jouvan CH Annecy; B Bulabois CHU Grenoble, M. Donnard, CHU Limoge; V Eschwege, CHU Nancy; C. Flaujac, CH Versailles; F. Grand, CHU Poitiers; E. Jeanpierre, CHU Lille; D. Lasne, APHP Necker; V Le Cam Duchez, CHU Rouen; G Mourey, EFS Besançon; P Munier, CH Valence; F Nedellec, CHU Rennes; C. Nougier, HC Lyon; C. Ternisien, CHU Nantes; M Smahi, CH Eaubonne; M Tuffigot, CHU Angers et J Szymezak, CHU Reims.

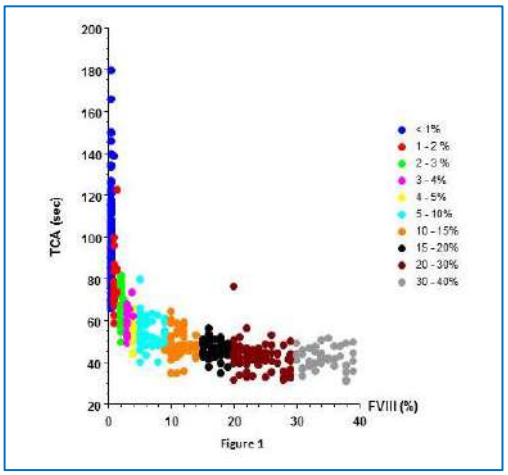


Figure 1

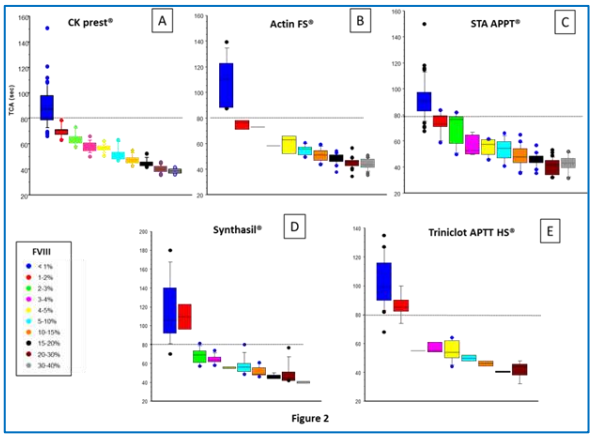


Figure 2

00064 - Analyses des prescriptions de mesure d'efficacité des antiagrégants par Multiplate® au CHU de Bordeaux

M. Fiore[1], L. Weinmann[2], I. Sibon[3], C. James[1], A. Habchi[1]

[1]Laboratoire d'hématologie-CHU de Bordeaux - Pessac (France),
[2]Laboratoire d'hématologie-CHU de Bordeaux - Pessac (France) - Bordeaux (France),
[3]Service de Neurologie Vasculaire-CHU de Bordeaux - Bordeaux (France)

Introduction : Dans ce travail, nous rapportons l'expérience du CHU de Bordeaux dans l'utilisation du Multiplate® pour l'évaluation de l'inhibition des fonctions plaquettaires par les antiagrégants.
L'objectif de cette étude était d'analyser les principaux motifs de prescription afin d'évaluer notamment leur pertinence et leur intérêt.

Matériels et Méthodes : Cette étude rétrospective observationnelle a été réalisée au CHU de Bordeaux, en incluant toutes les prescriptions de mesure d'efficacité des antiagrégants de type aspirine ou inhibiteur du récepteur plaquettaire à l'ADP par le Multiplate® (Roche Diagnostics) sur une période de six mois entre le 1er janvier 2020 et le 30 juin 2020.
Les données personnelles pour chaque patient ont ensuite été recueillies par le biais d'un logiciel dédié dans lequel figurait toute l'histoire clinique et biologique des patients inclus.
L'analyse des cas d'AVC a évalué les résistances aux traitements antiplaquettaires, ainsi que l'existence de lien entre les comorbidités ou le mécanisme de l'AVC. Par ailleurs, une évaluation de la persistance des effets antiagrégants a été documentée en cas de suspension de ces traitements avant chirurgie.

Résultats : Entre janvier et juin 2020, 721 prescriptions ont été analysées. Les suspicions d'AVC et les indications de neurochirurgie constituaient les principaux motifs de réalisation de ces tests (246

et 85 demandes de tests respectivement). Nos résultats ont permis de recenser 187 cas d'AVC et AIT testés par Multiplate®. Avant l'administration d'un bolus d'antiagrégant chez ces patients, 78% d'entre eux étaient répondeurs à l'aspirine contre 59% pour le clopidogrel (96% et 80% respectivement après administration de bolus). L'athéromatose constituait la cause la plus fréquente d'AVC (33%) avec un ADPtest statistiquement supérieur (+310 AU.min) par rapport aux AVC d'origine lacunaire (458 et 148 AU.min respectivement, p<0,001). Une élévation du taux de plaquettes, de la CRP et du fibrinogène étaient associée à une hausse significative du résultat de l'ASPItest de même que la présence d'un cancer évolutif ou la consommation de tabac. Seule l'élévation du fibrinogène était associée à une hausse significative de l'ADPtest. Le Kardégic® 160 mg possédait une meilleure efficacité que le Kardégic® 75 mg (191 AU.min vs 302 AU.min, p=0,005). En revanche, l'aspirine 100 mg ne montrait pas de supériorité par rapport au Kardégic® 75 mg (221AU.min vs 302 AU.min, p=0,2). L'évaluation des motifs de chirurgie, gestes invasifs et hémorragies a montré l'intérêt du Multiplate dans la gestion des risques hémorragiques et thrombotiques.

Conclusion : Dans notre étude, nous montrons qu'environ 80% des patients admis pour un AVC et traiter par antiplaquettaire étaient sensibles à l'aspirine et 60% seulement au clopidogrel, soulignant la plus grande variabilité de réponse inter-individuelle de ce dernier traitement. Les facteurs de risque associés à une mauvaise réponse étaient plus fréquemment en lien avec un état inflammatoire du patient. Enfin, l'utilisation du Multiplate avait permis également un ajustement des durées de suspension des traitements antiagrégants en cas de chirurgie ou acte invasif semi-urgent.

00066 - Une centrifugation accélérée (4 minutes à 4000g) impacte-t-elle la recherche d'anticoagulants circulants de type lupiques ?

H. Rezigue[1], M. Terrasse[1], Y. Perucchetti[1], D. Sanchez-Blazquez[1], E. Jousselme[1], C. Nougier[1]

[1]Centre de Biologie et Pathologie Est, Laboratoire d'hématologie, HCL - Bron (France)

Introduction : Les recommandations du GFHT (Groupe Français d'étude sur l'Hémostase et la Thrombose) préconisent une centrifugation à une vitesse comprise entre 1500 et 2000g/15 min ou entre 2000 et 2500g/10 min afin d'obtenir un Plasma Pauvre en Plaquettes (PPP) (<10G/L). Cependant, en cas d'urgence, les modes de centrifugation peuvent être adaptés (3000g/5 minutes (Sultan A. 2010) ou 4440g/2 minutes (Boudaoud L, 2006)) pour les paramètres d'hémostase prélevés sur plasma frais. Cette centrifugation rapide est validée pour les analyses du TP, du TCA, des D-dimères et du fibrinogène. En revanche, ce protocole n'a fait l'objet d'aucune étude pour le traitement pré-analytique (pré-congélation) des échantillons prélevés pour la recherche d'anticoagulants circulants de type lupiques (ACC). L'objectif de ce travail a été d'évaluer un nouveau programme de centrifugation pour la recherche d'ACC afin d'optimiser les délais pré-analytiques.

Matériels et Méthodes : Pendant un mois au Laboratoire d'Hématologie (HCL), 135 plasmas ont été double centrifugés (ROTINA 380R®, Hettich) selon 2 programmes différents : standard à 2250g/10 min et rapide 4000g/4 min. La numération plaquettaire a été réalisée avant et après centrifugation (XN-9000®, Sysmex). Les prélèvements ont ensuite été congelés à -20°C. La recherche d'ACC, par les tests dRVVT et SCT, a été réalisée sur ACL-TOP 700® (Werfen). Les taux de plaquettes résiduels ont été analysés statistiquement (test de Student) et les résultats de dRVVT et SCT ont été comparés en prenant en compte la variabilité intrinsèque de la méthode de dosage de chaque paramètre : lorsque la différence entre les 2 résultats est supérieure à 2,8 fois l'écart-type de fidélité intermédiaire, il existe un éventuel impact analytique.

Résultats : Pour le dRVVT et SCT, il a été mis en évidence une forte concordance (kappa de Cohen = 0.812 et 0.758, respectivement) et une absence d'impact analytique selon le mode de centrifugation. Concernant la numération plaquettaire, les taux de plaquettes résiduels sont significativement différents entre les protocoles (p<0.001). Toutefois, les moyennes des plaquettes résiduelles sont inférieures à 10 G/L avec les deux modes de centrifugation (moyenne +/- Sd : standard 1.46 +/- 0.12 G/L et rapide 3.37 +/- 0.48 G/L).

Conclusion : Le programme de centrifugation rapide (4 minutes à 4000g) est validé et est donc une bonne alternative au programme standard. En effet, la recherche d'ACC est l'analyse la plus sensible à la présence de plaquettes résiduelles. Ce programme de centrifugation rapide étant validé pour les ACC, il est donc possible de l'utiliser pour la centrifugation des autres paramètres d'hémostase nécessitant une congélation. De plus, en moyenne, 25 demandes de recherches d'ACC sont pré-traitées quotidiennement au laboratoire. L'utilisation de ce nouveau protocole permettrait un gain d'environ 5h de temps de centrifugation par jour, ce qui est non négligeable pour les équipes techniques.

00076 - Bilan actualisé de l'implantation de la formation HEMOPHAR destinée aux pharmaciens d'officine dispensant emicizumab

V. Chamouard[1], L. Fraticelli[2], J. Freyssenge[3], I. Lopez[4], J. Jouglen[5], V. Cahoreau[6], Y. Dargaud[7]

[1]Centre de Référence Hémophilie, Service Pharmaceutique, Hospices Civils de Lyon, Permedes - Lyon (France),
[2]Laboratoire Parcours Santé Systémique (p2s) Ur 4129, Université de Lyon 1 - Lyon (France),
[3]Laboratoire Reshape Inserm U1290 - Lyon (France),
[4]Service Pharmaceutique Hôpital Cochin Permedes - Paris (France),
[5]Service Pharmaceutique, Permedes - Toulouse (France),
[6]Service Pharmaceutique, Permedes - Bordeaux (France),
[7]Centre de Référence Hémophilie, Hospices Civils de Lyon - Lyon (France)

Introduction : Des médicaments utilisés dans le traitement de maladies rares sont désormais disponibles en pharmacie d'officine, emicizumab étant l'un d'entre eux. Ce dernier est destiné aux patients atteints d'hémophilie A sévère avec ou sans inhibiteur traités en prophylaxie. Dans un tel contexte, l'accompagnement des pharmaciens d'officine est essentiel pour permettre de sécuriser le bon usage du médicament tout en améliorant notablement son accès. Pour cela, une formation nationale adaptée à la pratique officinale sur cette pathologie appelée HEMOPHAR, a été mise en place avec le concours du Centre de référence de l'Hémophilie (CRH) sous la forme d'un e-learning (https://hemophar.fr). L'objectif est de présenter un bilan actualisé de l'implantation nationale de la formation HEMOPHAR.

Matériels et Méthodes : Une étude observationnelle rétrospective a été réalisée à partir des données recueillies dans le cadre des demandes d'accès à la formation en ligne HEMOPHAR. Elle a porté sur trois critères de jugement principaux : 1) Mesure du nombre de pharmaciens ayant bénéficiés d'une connexion à HEMOPHAR 2) Description de la dispersion géographique des lieux d'exercice afin de mesurer la dynamique territoriale d'adhésion à la formation 3) Mesure des résultats obtenus aux quatre quizz d'évaluation des connaissances à l'issu des quatre modules de formation.

Résultats : Au total, un code de connexion nominatif a été transmis à 336 pharmaciens d'officine ce qui représente environ 76% des pharmacies concernés par ces dispensations en France. Les patients bénéficiant de cette dispensation à l'officine dépendent de 29/33 CRC-MHC répartis sur l'ensemble du territoire national. Des certificats attestant que le résultat aux quizz est juste à plus de 80%, ont été délivrés à 152/336 pharmaciens inscrits à la formation.

Conclusion : HEMOPHAR est né de la volonté affirmée des membres du CRH de transmettre des notions indispensables à la prise en charge des patients hémophiles en ville et de répondre au défi d'une information/formation de qualité, indépendante de l'industrie pharmaceutique. Cela a pour but de renforcer le lien hôpital ville particulièrement crucial dans le contexte des maladies rares. Ces données posent néanmoins la question de la non exhaustivité de la réalisation de cette formation, cette dernière n'ayant pas été rendue obligatoire par les tutelles. Elle pose

également la question de l'adaptation de cette dernière en termes de forme et d'organisation de son accès. C'est la raison pour laquelle, l'étude EVAFOR (EVAluation des FORmations suivies par les pharmaciens pour la dispensationd'emicizumab en pharmacie d'officine), étude multicentrique nationale aura pour objectif d'évaluer la satisfaction des pharmaciens vis-à-vis d'HEMOPHAR selon la méthode d'évaluation de Kirkpatrick. Cette dernière doit permettre – entre autres - de comprendre quels sont les freins et les leviers de la mise en œuvre d'une telle démarche et d'envisager les enjeux liés à l'amélioration de l'accessibilité pour les patients.

Badran AS, Keraa K, Farghaly MM. Applying the Kirkpatrick model to evaluate dental students' experience of learning about antibiotics use and resistance. Eur J Dent Educ. 2021 Dec 22.

00101 - Impact d'emicizumab sur l'adhésion médicamenteuse : données préliminaires d'un centre

A. Tanguy[1], S. Desage[1], A. Lienhart[1], S. Meunier[1], Y. Dargaud[1], T. Novais[2], V. Chamouard[3]

[1]Centre de Référence Hémophilie, GHE, Hospices Civils de Lyon - Lyon (France), [2]Service Pharmaceutique, Hôpital des Charpennes, Hospices Civils de Lyon - Lyon (France), [3]Centre de Référence Hémophilie, Service Pharmaceutique, GHE, Hospices Civils de Lyon - Lyon (France)

Introduction : L'adhésion médicamenteuse (AM) des patients atteints de maladie chronique peut fortement influencer l'efficacité d'un traitement au long cours et la qualité de vie du patient. Emicizumab, en raison de ses modalités d'administration (voie sous-cutanée et intervalles de doses espacés), pourrait avoir un impact bénéfique sur l'AM. Plusieurs méthodes permettant de l'évaluer ont été validées et publiées dans la littérature (1). L'objectif est de vérifier si l'instauration d'un traitement par emicizumab améliore l'AM des patients.

Matériels et Méthodes : Une étude observationnelle a été menée sur la cohorte des patients du CRH de Lyon ayant effectué un switch vers emicizumab il y a plus d'un an. Le Medication Possession Ratio (1) (MPR) a été calculé 12 mois avant et 12 mois après l'instauration du traitement à partir des données de dispensation des médicaments. Le MPR avant switch a été calculé, avec et sans prise en compte des doses d'urgence prescrites pour le traitement des accidents hémorragiques. Lorsque le MPR est supérieur à 0,8, l'observance est considérée comme bonne.

Résultats : Les valeurs moyennes du MPR obtenues en pré et post switch ne présentent pas de différence statistiquement significative en prenant en compte ou non les doses d'urgence dans le calcul. Sur la période précédant le switch, 2 patients avaient un MPR inférieur à 0,8 (un seul si on tient compte des doses d'urgence). En post-switch, tous les patients ont un MPR supérieur à 0,8. On peut également noter que 8/11 patients traités par emicizumab ont eu recours à des doses de FVIII ou d'agents by-passant au cours de leur première année de traitement post switch. En moyenne 4.8 ± 6,08 doses d'urgence ont été ainsi dispensées par an. Ces doses sont utilisées par certains patients pour le traitement d'évènements hémorragiques. Pour d'autres patients ces dernières sont non encore utilisées et en stock au domicile.

Conclusion : Les résultats de cette étude préliminaire sont en faveur d'une bonne AM avec un MPR supérieur à 0.8 pour le FVIII, majorée pour emicizumab. L'analyse des résultats ne met cependant pas en évidence de différence statistiquement significative entre les MPR pré et post-switch y compris en incluant les doses d'urgence, probablement du fait du faible échantillon inclus. L'étude ADHEMI (ADHésion thérapeutique à l'occasion du changement de prophylaxie par EMIcizumab), se propose donc d'élargir les inclusions à 11 centres répartis sur le territoire national. Cette dernière nous permettra de confirmer le cas échéant, les résultats préalablement obtenus.

(1).Sperber CM, Samarasinghe SR, Lomax GP. An upper and lower bound of the Medication Possession Ratio. Patient Prefer Adherence. 30 août 2017;11:1469-78.

Résultats du calcul des MPR

n = 11	MPR (moyenne ± SD)	MPR (médiane)	Test de Wilcoxon
Pré switch (sans doses d'urgence)	0.90 ± 0.11	0.91	p= 0,09
Pré switch (avec doses d'urgence)	0.94 ± 0.12	0.92	p = 0,37
Post switch	0.98 ± 0.09	1	

Vendredi 3 juin 2022 – 10h45 à 11h15
Session « Posters Commentés (1) »

00038 - Délétions récurrentes de l'intron 13 chez les hémophiles A mineurs : état des lieux en France

Y. Jourdy[1], C. Burin Des Roziers[2], P. Boisseau[3], C. Zawadzki[4], M.L. Winter[5], M. Fretigny[1], C. Vinciguerra[1]

[1] Réseau Génostase - Lyon (France),
[2] Réseau Génostase - Paris (France),
[3] Réseau Génostase - Nantes (France),
[4] Réseau Génostase - Lille (France),
[5] Réseau Génostase - Tours (France)

Introduction : En 2018, il a été démontré que des petites délétions de 7 à 14 pb dans une répétition de 25 T dans l'intron 13 du gène F8 entraînaient une anomalie d'épissage. Ces délétions ont initialement été décrites comme responsables d'environ 5% des hémophilies A mineurs en France. Depuis quelques années au niveau national, ces délétions sont systématiquement recherchées lors du diagnostic moléculaire d'une hémophilie A mineure. L'objectif de ce travail est de faire un état des lieux de la prévalence et des connaissances acquises sur ces délétions récurrentes au niveau du territoire national.

Matériels et Méthodes : Cinq laboratoires français membres du réseau Génostase et réalisant le diagnostic moléculaire de l'hémophilie A (CHRU de Tours, CHU de Lille, CHU de Nantes, Hôpital Cochin et les Hospices Civils de Lyon) ont colligé des données génétiques et biologiques des patients porteurs de ce type d'anomalie.

Résultats : Sur 2305 diagnostics moléculaires d'hémophilie A mineure, une délétion de l'intron 13 a été identifiée dans 219 cas (9,2%). Il existe des différences marquées de prévalence de cette anomalie en fonction des centres : la prévalence de ces anomalies est comprise entre 6,3 et 7,5% pour les laboratoires de Lyon et de Lille, alors qu'elle est beaucoup plus élevée pour les laboratoires de Nantes et Cochin (12% et 13,7% respectivement). La délétion de 13 pb (c.2113+461_2113+473del) est la plus fréquente (82% des cas). Les hémophiles porteurs de ce type d'anomalie présentent des phénotypes mineurs avec un taux de FVIII:C de 32 +/- 9% [10% – 60%]. Il n'y a pas de différence significative du taux de FVIII en fonction de la taille de la délétion. Aucun patient n'a développé d'inhibiteur. La réponse à la desmopressine a été testée sur 18 patients qui se sont tous révélés bon répondeur à ce traitement (FVIII :C ≥50% 2h après l'injection). Nous décrivons aussi quatre cas de femme hémophile A mineures porteuses de deux variants du gène F8 dont une délétion de l'intron 13.

Conclusion : Avec une prévalence nationale proche de 10% chez les hémophiles A mineurs, les délétions de l'intron 13 sont bien plus fréquentes que nous l'avions suspecté initialement. Cette étude a aussi permis de préciser le phénotype des patients porteurs de ces anomalies : des taux de FVIII proches de 30% et une bonne réponse à la desmopressine. Du fait de la grande fréquence de ces délétions, une recherche systématique s'impose chez les patients hémophiles A mineurs et doit être envisagée chez des femmes à taux bas de FVIII pour identifier une éventuelle double conduction d'hémophilie.

00057 - Interim 52-Week Analysis of Immunogenicity to the Vector Capsid and Transgene-Expressed Human FVIII in GENEr8-1

A. Rauch[1], B. Long[2], T.M. Robinson[2], J. Day[3], H. Yu[2], K. Lau[2], K. Patton[2], G. De Hart[2], J. Henshaw[4], S. Agarwal[2], C. Vettermann[2], S. Gupta[2]

[1] - Lille (France),
[2] - San Rafael (United States),
[3] - London (United Kingdom),
[4] - Novato (United States)

Introduction : AAV-mediated gene therapy vectors represent a complex drug design with multiple components that may impact immunogenicity. Both vector and patient-specific factors impact the safety and efficacy of gene therapy administration and clinical trials monitor immunogenicity directed toward both the vector delivery system and the expressed transgene product. Valoctocogene roxaparvovec is an AAV5-mediated gene therapy under investigation for the treatment of hemophilia A and encodes a codon-optimized B-domain deleted human FVIII protein (hFVIII-SQ) under control of a liver-selective promoter. This report describes clinical immunogenicity monitoring data from up to 1 year of follow up from GENEr8-1, an ongoing, fully enrolled, Phase 3, single-arm, open-label study in 134 male participants with severe hemophilia A.

Matériels et Méthodes : Prospective patients were required to test negative for anti-AAV5 total antibody (AAV5 TAb) utilizing an electrochemiluminescent bridging (ECLA) screening assay being developed as a companion diagnostic by ARUP Laboratories (Salt Lake City, USA). Additionally, all participants were required to have had at least 150 exposure days to FVIII replacement products without previous clinically detectable FVIII inhibitor development. Following dose administration, patient plasma was analyzed for AAV5 TAb, and a cell-based AAV5 transduction inhibition (TI) assay was used to further characterize the capsid-neutralizing potential of the anti-AAV5 antibodies. Development of FVIII inhibitors was monitored using the Nijmegen-modified Bethesda assay, and FVIII-specific TAb were assessed by bridging ECLA. Additionally,

Résultats : Immune responses to valoctocogene roxaparvovec were preferentially directed toward the AAV5 capsid, characterized by the production of anti-AAV5 binding and neutralizing antibodies as well as transient AAV5 capsid-specific cellular immune responses. A moderately positive correlation between AAV5 capsid-specific IFNg ELISpot responses and plasma levels of the liver enzyme ALT was detected, suggesting these responses may be a contributing factor to transient elevations in ALT in some participants. There was no significant association between AAV5-specific cellular immune responses and FVIII activity, and no association between FVIII-specific cellular immune response and ALT or FVIII activity was detected.

Conclusion : There was no clinical evidence of inhibitor formation in subjects dosed with valoctocogene roxaparvovec.

00069 - Cohorte Prospective Française de Thrombose Veineuse Cérébrale : Caractéristiques clinico-biologiques et radiologiques (PHRC TVC)

V. Le Cam Duchez[1], A. Triquenot-Bagan[2], I. Crassard[3], L. Drouet[3], P.E. Morange[4], V. Wolff [5], G. Godenèche[6], B. Polak[7]

[1]Normandie Univ, Unirouen Inserm U 1096-Envi, CHU de Rouen, Service d'hématologie Biologique - 76000 Rouen (France),
[2]CHU de Rouen, Unité Neurovasulaire - Rouen (France),
[3]Hopital Lariboisière, Service de Neurologie - Paris (France),
[4]Aix Marseille Univ, Inserm, Inrae, C2vn - Marseille (France),
[5]CHU de Strasbourg, Unité Neurovasculaire - Strasbourg (France),
[6]CH de La Rochelle, Service De Neurologie - La Rochelle (France),
[7]CHU de Grenoble, Hématologie Biologique - Grenoble (France)

Introduction : La thrombose veineuse cérébrale (TVC) est une maladie rare à expression clinique et radiologique extrêmement variable, tout comme son évolution. Le bilan étiologique peut rester négatif ou retrouver des causes locales, des causes générales ou une thrombophilie. Les mécanismes en jeu dans cette variabilité

ne sont pas connus. L'objectif de ce PHRC multicentrique français était de recruter une cohorte prospective de patients atteints de thrombose veineuse cérébrale et d'étudier chez ces patients la génération de thrombine et la dégradation du caillot et de regarder leur influence sur la présentation initiale et l'évolution de la TVC.

Matériels et Méthodes : Dans le cadre du PHRC multicentrique français N° 2010/087/HP, entre 2011 et 2016, 231 patients de plus de 15 ans, avec un diagnostic de TVC confirmé par imagerie ont été inclus dans 21 centres français. Leurs caractéristiques cliniques, biologiques, radiologiques et étiologiques ont été collectées au moment du diagnostic, à la sortie d'hospitalisation, à 3 mois et à 1 mois après l'arrêt du traitement anticoagulant ou à 13 mois en cas de poursuite du traitement. Le bilan étiologique, le choix et la durée du traitement étaient laissés à l'appréciation du neurologue. Cette cohorte a été comparée à la cohorte ISCVT de Ferro et al.

Résultats : Parmi les 231 patients, il y avait 158 (68,4%) femmes ; la moyenne d'âge des patients est 41,2 ans [16-85 ans]. Le mode de début était aigu chez 82 patients, subaigu chez 131 et chronique chez 18. 117 patients avaient une hypertension intracrânienne ou céphalée isolée et 96 un syndrome focal ; 35 avaient initialement des troubles de conscience. Le diagnostic a été confirmé par angio scanner veineux chez 85 patients, IRM/VRM chez 71 patients et plusieurs imageries chez 69 patients. 32 patients avaient seulement 1 sinus thrombosé et le nombre médian de sinus thrombosés était de 3. Durant l'hospitalisation 229 patients ont reçu un traitement anticoagulant ; 5 patients sont décédés. La durée moyenne d'hospitalisation était de 10 jours. Le bilan étiologique est resté négatif chez 31 patients. Un bilan de thrombophilie a été réalisé le plus souvent mais pas toujours complet : il a retrouvé 1,4% de déficit en AT, 1,9% de déficit en PC, 12,7% de déficit en PS, 8% de mutation Leiden du facteur V et 9,5% de mutation du facteur II. 38 causes locales ont été mises en évidence et 88 patientes prenaient une contraception orale oestroprogestative au moment de l'accident. La durée médiane du traitement anticoagulant a été de 9 mois. La durée médiane de suivi a été de 11,9 mois et 205 patients ont été suivi jusqu'à la fin de l'étude dont 8 patients décédés. 2 Patients ont présenté une récidive de leur TVC et 88% des patients avaient un score de Rankin <2.

Conclusion : Cette cohorte est comparable à la cohorte de référence ISCVT. Néanmoins, il faut noter que la présentation clinique initiale est moins sévère dans notre cohorte due sans doute à l'amélioration des moyens diagnostiques entre 2004 et 2011.

00092 - Emicizumab chez des patients avec hémophilie A, ≥ 50 ans et comorbidités – Données agrégées de 4 études cliniques

R. D'oiron[1], V. Jiménez-Yuste[2], J. Oldenburg[3], E. Tzeng[4], B. Trzaskoma[4], F. Sanabria[5], J. Mahlangu[6]

[1]Centre d'hémophilie et des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles Rares, AP-HP, Hôpital Bicêtre, Université Paris-Saclay et Inserm UMR S1176 - Le Kremlin-Bicêtre (France),
[2]Hospital Universitario La Paz, Autónoma University - Madrid (Spain),
[3]Universitätsklinikum Bonn - Bonn (Germany),
[4]Genentech, Inc., South - San Francisco, CA (United States),
[5]F. Hoffmann-La Roche Ltd, - Basel (Switzerland),
[6]University of The Witwatersrand and National Health Laboratory Service - Johannesburg (South Africa)

Introduction : Cette analyse post-hoc a évalué l'efficacité et la tolérance d'emicizumab chez des personnes atteintes d'hémophilie A (PHA) ≥ 50 ans avec des facteurs de risque cardiovasculaire (CV), ou virus de l'immunodéficience humaine (VIH), et/ou infection antérieure ou actuelle par le virus de l'hépatite C (VHC) (données présentées à l'ASH 2021).

Matériels et Méthodes : HAVEN 1 (NCT02622321), 3 (NCT02847637), 4 (NCT03020160) et STASEY (NCT03191799) ont inclus des PHA d'âge ≥ 12 ans avec ou sans inhibiteurs anti-FVIII, excluant les PHA avec maladie hépatique sévère, les infections à VIH avec numération de CD4 < 200 cellules/µL, ou antécédents/signes cliniques de cirrhose. Les facteurs de risque CV étaient : antécédents de maladie CV ou hypertension actuelle, diabète, hyperlipidémie ou IMC ≥ 30kg/m2. Les saignements étaient définis selon les protocoles des études.

Résultats : Au cut-off des données, la population totale comprenait 504 PHA. L'âge médian (min-max) était de 33 ans (12–80). La durée médiane (min-max) de traitement par emicizumab était de 2,04 ans (0,02–4,25). Parmi ces personnes, 96 PHA étaient âgées de plus de 50 ans et éligibles à cette analyse (HAVEN 1, n=17 ; HAVEN 3, n=33 ; HAVEN 4, n=12 ; STASEY, n=34). Dans ce sous-groupe, l'âge médian était de 57 ans (50–80) et la durée médiane de traitement de 2,02 ans (0,14–4,25). Une personne (1,0 %) avait une infection par le VIH isolée, 48 (50,0 %) avaient une infection par le VHC isolée, et 22 (22,9 %) avaient une co-infection VIH + VHC. 70 PHA (72,9 %) ≥ 50 ans avaient ≥ 1 facteurs de risque CV et 24 (25,0 %) avaient ≥ 2 facteurs de risque CV, comparé à 35,5 % et 9,7 % de la population totale, respectivement.
Le taux de saignements annualisés (ABR, annualized bleed rate) traités moyen était de 1,39 (IC 95 % : 0,08–6,23) dans la population totale vs 1,82 (IC 95 % : 0,19–6,93) chez les PHA ≥ 50 ans et était comparable chez les PHA avec facteurs de risque CV et infections VIH/VHC. Les PHA ≥ 50 ans avec VIH + VHC avaient un ABR moyen plus élevé numériquement de 2,72 (IC 95 % : 0,5–8,34) ; cependant, la différence n'était pas statistiquement significative et la moyenne était biaisée par un ABR de 21 pour une personne et un ABR ≥ 5 pour trois personnes. Des événements indésirables (EI) et des EI graves sont survenus chez 91,7 % et 19,2 % des PHA dans la population totale et 92,7 % et 24,0 % des PHA ≥ 50 ans respectivement. Les taux d'EI de grade 3-4 et de réactions au site d'injection étaient similaires quel que soit l'âge. Des événements thrombotiques (ET) et des microangiopathies thrombotiques sont survenus chez six (1,2 %) et trois (0,6 %) PHA de la population totale, respectivement. Parmi elles, un ET est apparu chez deux PHA ≥ 50 ans (2,1 %) ; toutes deux avaient ≥ 1 facteur de risque CV et l'une avait une infection VHC.

Conclusion : Les ABR et la tolérance étaient comparables chez des PHA ≥ 50 ans avec facteurs de risque CV ou infections VIH/VHC et dans la population totale recevant emicizumab en prophylaxie.

Vendredi 3 juin 2022 – 13h30 à 14h00
Session « Posters Commentés (2) »

00045 - CLEC4M, un nouvel acteur moléculaire participant à la régulation des taux plasmatiques de Facteur V

D-A. Tregouet[1], P.E. Morange[2], A. Martinez-Perez[3], M. Kleber[4], A. Van Hylckama Vlieg[5], N. Saut[2], M. Germain[1], J.F. Deleuze[6], N. Smith[7], G. Delgado[8], M. Sabater-Lleal[3], F.R. Rosendaal[5]

[1]Bordeaux Population Health Research Center, Inserm U1219 - Bordeaux (France),
[2]C2vn, Inrae, Inserm Aix-Marseille University - Marseille (France),
[3]Genomics of Complex Diseases Group, Research Institute Hospital de la Santa Creu I Sant Pau - Barcelona (Spain),
[4]Department of Medicine, University of Heidelberg - Heidelberg (Germany),
[5]Leiden University, Medical Center - Leiden (Netherlands),
[6]National Center of Human Genomics Research - Evry (France),
[7]Department of Epidemiology, University of Washington - Seattle (United States),
[8]V Medicine Clinic, University of Heidelberg - Heidelberg (Germany)

Introduction : Le Facteur V (FV) est une protéine clé de la cascade de la coagulation. Les taux plasmatiques de FV ont été trouvés associés à plusieurs maladies chez l'homme, comme la thrombose, le saignement et certaines complications diabétiques. A ce jour, deux gènes sont connus pour être impliqués dans la régulation des taux plasmatiques de FV, le gène de structure F5 et le gène PLXDC2, ce dernier ayant été identifié en 2019 par une étude d'association pan-génomique conduite sur un échantillon de 510 sujets.

Matériels et Méthodes : Pour identifier de nouveaux déterminants génétiques des taux plasmatiques du FV, une méta-analyse de 5 études d'association pan-génomiques est réalisée, incluant cette fois-ci 4 363 participants. Un sixième échantillon de 1,019 individus est disponible pour répliquer toute nouvelle association génétique.

Résultats : La méta-analyse identifie trois régions géniques présentant des polymorphismes significativement associés, au seuil pan-génomique de p=5 10-8, aux taux de FV, parmi lesquelles le locus F5 (avec comme polymorphisme le plus significatif rs6027: β = -0.151 ± 0.008, p = 1.97 10-76) et le locus PLXDC2 (avec comme polymorphisme le plus significatif rs927826 : β = -0.056± 0.005; p = 2.36 10-31). La troisième association, totalement nouvelle, concerne le locus CLEC4M où le polymorphisme rs594793 présente l'association la plus significative (β = -0.025± 0.004; p = 2.22 10-8). Cette association est confirmée dans l'échantillon de réplication (β = -0.022± 0.009; p = 0.022). A noter que cette association n'est pas modifiée après ajustement sur les taux plasmatiques de facteur Willebrand (vWF) qui ont récemment été trouvés comme étant influencés par des polymorphismes (rs571497 & rs2277998) au sein du gène CLEC4M. Ces deux derniers polymorphismes sont en faible déséquilibre de liaison avec le polymorphisme rs594793 (r2 = 0.14 , r2 = 0.49, resp.) et présentent des associations avec les taux de FV beaucoup plus faibles (p = 6.2 10-4 , p = 1.9 10-3 , resp. dans la méta-analyse).

Conclusion : Ce travail identifie le locus CLEC4M comme un nouveau acteur moléculaire participant à la régulation des taux plasmatiques d'au moins 2 protéines importantes de la cascade de la coagulation. Les mécanismes moléculaires mis en jeu nécessitent désormais d'être étudiés de manière plus approfondie par des travaux expérimentaux.

00075 - Rôle de l'équilibre NET/DNase dans la gravité de la COVID-19

G. Garcia[1], S. Labrouche-Colomer[1], E. Clequin[2], A. Dewitte[2], M. Mamami-Matsuda[2], C. James[1]

[1]Inserm, Umr1034, Biologie des Maladies Cardiovasculaires, Université de Bordeaux - Pessac (France),
[2]CNRS, ImmunoConcEpt, U5164, Université De Bordeaux - Bordeaux (France)

Introduction : Les Neutrophils Extracellular Traps (NETs), acteurs majeurs de l'immunothrombose, sont des filets d'ADN couplés au protéines cytoplasmiques du PNN libérés dans le milieu extracellulaire afin d'éviter la propagation d'un agent pathogène dans l'organisme et sa destruction. Physiologiquement, les NETs sont régulés par les DNases.
Une augmentation des marqueurs de NETs a été décrite dans la COVID-19. Cet excès de NETs participerait à la physiopathologie des formes graves par un excès d'immunothrombose et de la mise en place d'une coagulopathie.
Nous émettons l'hypothèse d'une diminution de l'activité DNase chez les patients les plus graves, responsable d'une diminution de la clairance des NETs.
Nos objectifs étaient de mettre au point une méthode de dosage de l'activité globale des DNases, et de doser en parallèle l'activité DNase et les biomarqueurs de NETs, chez des patients COVID-19 atteints de forme modérée ou grave.

Matériels et Méthodes : Une méthode de dosage de l'activité globale des DNAses plasmatiques par une approche fluorimétrique en microplaque a été utilisée. Cette approche est basée sur l'action de la DNase plasmatique sur une quantité d'ADN fixe et mesure de la concentration d'ADN résiduelle grâce à l'agent fluorescent Picogreen®. L'activité de la DNAse est quantifiée grâce une gamme de calibration réalisée en parallèle. La répétabilité et la reproductibilité de la méthode ont été validées sur 5 donneurs sains.
L'activité globale des DNAses plasmatiques ainsi que deux marqueurs spécifiques de NETs par technique ELISA, l'histone 3 citrullinée (H3cit) et les complexes H3cit-ADN ont été évalués chez 34 patients atteints d'une forme grave de COVID-19 et chez 34 patients présentant une forme modérée (protocole COLCOV19).

Résultats : Notre méthode d'évaluation de l'activité globale DNases plasmatiques mise au point est répétable avec des coefficients de variation intra-essais inférieurs à 20%. Notre méthode est également reproductible avec des coefficients de variation inter-essais inférieurs à 20%.
Comme décrit dans la littérature, les patients atteints d'une COVID-19 sévère présentaient des taux d'H3cit et de complexe H3cit-ADN, marqueurs spécifiques de NETs, plus élevés que les patients ayant une forme modérée. L'activité globale des DNAses plasmatiques était plus élevée chez les patients graves comparés aux patients présentant une forme modérée. Cependant, le ratio marqueurs de NETs/activité globale des DNase était plus élevé chez les patients sévères que modérés. Nous en déduisons que l'augmentation de l'activité globale des DNases plasmatiques ne permet pas d'éliminer l'excès de NETs observé dans les formes graves.

Conclusion : Un déséquilibre du ratio NETs/DNAse est observé dans la COVID-19 sévère, confirmant la place importante des NETs et DNases dans la physiopathologie des formes graves de la COVID-19. La perspective est maintenant de comprendre les mécanismes responsables de cette dérégulation.

00079 - Balance NETose vitale vs. NETose non vitale dans la pré-éclampsie

F. Guillotin[1], M. Fortier[1], M. Portes[2], C. Demattei[3], E. Mousty[2], E. Nouvellon[1], E. Mercier[4], M. Chea[1], V. Letouzey[5], S. Bouvier[4], J.C. Gris[4]

[1]Laboratoire d'Hématologie, CHU de Nîmes - Nîmes (France),
[2]Département de Gynécologie Obstétrique, CHU de Nîmes - Nîmes (France),
[3]BESPIM, CHU de Nîmes - Nîmes (France),
[4]Laboratoire d'Hématologie, CHU de Nîmes-Université de Montpellier - Nîmes-Montpellier (France),
[5]Département de Gynécologie Obstétrique, CHU de Nîmes-Université de Montpellier - Nîmes-Montpellier (France).

Introduction : Les polynucléaires neutrophiles sont des cellules clés de l'immunité innée. Activés, ils sont capables de libérer des

filaments de chromatine décondensée appelés « neutrophil extracellular traps » (NETs) par le processus de « NETose ». Les NETs ont un effet procoagulant ; ils favorisent la formation du thrombus et le déclenchement de la coagulation. Une activation des polynucléaires neutrophiles est décrite au cours de la grossesse, cette activation étant majorée dans les pathologies médiées par le placenta qui sont associées à une augmentation du risque thrombotique. La présence de NETs a été décrite dans l'espace intervilleux de patientes ayant développé une pathologie vasculaire placentaire, suggérant que la NETose pourrait jouer un rôle dans la physiopathologie de ces complications. Deux mécanismes de NETose ont été décrits dans la littérature : la NETose vitale, qui conduit à la production de NETs sans lyse cellulaire, passant majoritairement par la voie des Toll Like Récepteurs (TLRs), et la NETose suicidaire, conduisant également à la génération de NETs mais dépendante des espèces réactives de l'oxygène. Toutefois, la part de ces deux types de NETose n'a jamais été étudiée dans le contexte de la grossesse normale ou compliquée par une pré-éclampsie. L'objectif de notre étude a été de caractériser ces deux mécanismes de NETose et de déterminer la part de chacun au cours de la grossesse normale ou compliquée par une pré-éclampsie (étude ancillaire à l'étude « GrossPath », NCT 01736826).

Matériels et Méthodes : Des polynucléaires issus de volontaires sains ont été stimulés par du plasma de femmes enceintes avec grossesse normale ou ayant développé une pré-éclampsie. La NETose vitale a été déterminée par le pourcentage de NETs doublement marqués par la myéloperoxydase et l'histone H3 citrullinée (NETs citrullinés). Les NETs issus de la NETose non vitale (NETs non citrullinés) ont été déduits à partir du pourcentage de NETs totaux (myéloperoxydase positive) auxquels ont été soustrait le pourcentage de NETs issus de la NETose vitale (myéloperoxydase positive, Histone H3 citrullinée positive).

Résultats : Nous avons tout d'abord confirmé l'induction de NETs chez les femmes enceintes avec grossesse normale, activité significativement plus importante chez les patientes avec PE (p=0.03). Les NETs non citrullinés, correspondant à la NETose non vitale, sont en pourcentage significativement plus présents chez les femmes enceintes ayant développé une pré-éclampsie que chez celles ayant eu une grossesse normale (p=0.019).

Conclusion : Les deux mécanismes de NETose sont présents au cours de la grossesse. L'augmentation du nombre de NETs dans la pré-éclampsie serait liée à une augmentation de la part de NETose non vitale, dont une partie recouvre la NETose suicidaire dépendante des espèces réactives de l'oxygène dont la production est exacerbée au cours de la pré-éclampsie.

00091 - Efficacy and safety of valoctocogene roxaparvovec gene transfer for severe hemophilia A: GENEr8-1 two-year analysis results

H. Chambost[1], J. Mahlangu[2], M.C. Ozelo[3], F. Peyvandi[4], K. Jayaram[5], H. Yu[5], T.M. Robinson[5], W.Y. Wong[5], S.W. Pipe[6]

[1] - Marseille (France),
[2] - Johannesburg (South Africa),
[3] - Campinas (Brazil),
[4] - Milan (Italy),
[5] - Novato (United States),
[6] - Ann Arbor (United States)

Introduction : GENEr8-1 is a phase 3, single-arm, open-label, sponsor-blinded trial evaluating safety and efficacy of adeno-associated virus (AAV)-based gene transfer with valoctocogene roxaparvovec in severe hemophilia A (NCT03370913). We report results from the year two analysis of the ongoing GENEr8-1 study.

Matériels et Méthodes : This prospective study included men ≥18 years with severe hemophilia A (FVIII ≤1 IU/dL), AAV5 antibody and FVIII inhibitor negative, on FVIII prophylaxis who received a single 6x1013 vg/kg valoctocogene roxaparvovec infusion (ITT population; N=134). Of those, 132 were HIV negative (mITT population), 112 enrolled from a prospective noninterventional study (rollover population), providing baseline data for annualized bleeding rate (ABR) and FVIII use. The primary efficacy endpoint was change from baseline in ABR for treated bleeds from five weeks post-infusion or three days after the end of FVIII prophylaxis, whichever was later, to last visit by data cut-off (efficacy evaluation period, EEP). Change from baseline in annualized FVIII infusion rate (AFR) was assessed over the EEP; FVIII activity is reported for week 104.

Résultats : Mean ABR decreased by 4.1 treated bleeds per year (p<0.0001; N=112; median follow-up 110 weeks), an 85% reduction from 4.8 (median 2.8) at baseline. Mean AFR was reduced by 133 infusions per participant (p<0.0001), a 98% reduction from 135.9 (median 128.6) at baseline. Mean FVIII activity at week 104 was 23.0 (median 11.8) IU/dL by chromogenic substrate assay, an increase of 22.0 IU/dL (p<0.0001; N=132). By one-stage assay, mean FVIII was 36.1 (median 21.6) IU/dL at week 104. No new safety signals emerged and no treatment-related SAE were reported during year two. Overall, the most common treatment associated adverse events occurred early and included transient infusion associated reactions (37.3%) and asymptomatic, mild to moderate liver enzyme elevations (88.8%). Eighty-three percent received immunosuppressive treatment in response to liver enzyme elevations. Fifty-three percent and 99% of these participants were off immunosuppression (IS) by week 52 and 104, respectively. There were no IS-related serious adverse events (SAE) in year two.

Conclusion : A single treatment with valoctocogene roxaparvovec was well-tolerated and led to stable and durable annualized bleed control superior to prior prophylaxis through two years post gene transfer.

Posters
Anomalies hémorragiques de l'hémostase : aspects scientifiques, diagnostiques (clinico-biologiques), thérapeutiques, et déficits rares

00003 - Impact de la pandémie à Covid 19 sur le suivi des patients atteints de thrombasthénie de Glanzmann : expérience du MHC-CRC de Strasbourg

M. Netala[1], J. Wimmer[1], A.C. Gerout[1], L. Sattler[1], D. Desprez[1]

[1]*CRC-MHC - Strasbourg (France)*

Introduction : L'épidémie de COVID-19 a entrainé d'autres conséquences sanitaires que celles directement imputables à la COVID-19, en interférant avec le suivi des patients atteints de pathologies chroniques, bien que la crise sanitaire ait aussi créé des opportunités, telles que le déploiement de la téléconsultation et de la télé-expertise.
Nous nous sommes intéressés à l'impact de la pandémie sur le suivi des patients atteints de Thrombasthénie de Glanzmann (TG) au CRC-MHC.

Matériels et Méthodes : Notre cohorte comprend 38 patients atteints de TG (âge médian de 41 ans (10-66)). 32 sont de type 1, tous porteurs de la mutation c.1544+1G>A. Malgré une prévalence élevée de facteurs de risque cardiovasculaire reconnus pour être des facteurs aggravants de la COVID-19 (71% des patients sont au minimum obèse), sur les 16 patients ayant présenté une infection clinique à Coronavirus, seul un cas grave avec activation de la coagulation et déglobulisation secondaire a été répertorié.

Résultats : Si l'on compare le nombre de consultations entre mars 2018 et mars 2020 (n=174) au nombre de consultations entre mars 2020 et mars 2022 (n=142), nous avons observé une diminution de 20%. Pour la même période, le nombre médian de consultations a été de 2 (0-24*) contre 1 (0-27*) pour les 2 années précédant la pandémie. La diminution du suivi a surtout concerné les TG de type 1 ; ce phénomène a été plus marqué chez les TG manouches de moins de 30 ans pour lesquels la diminution atteint 41%. Enfin, six patients tous de type 1 n'ont aucun suivi spécialisé depuis le début de la pandémie.
L'évolution des séances d'HDJ a été identique. Les soins dentaires très importants en cas de TG ont en revanche été maintenus et honorés par les patients
Aucune téléconsultation n'a pu être organisée par manque de compliance et de possibilité technique des patients. Pour les mêmes raisons, aucun patient atteint de TG n'a participé aux réunions d'information sur l'évolution de la pandémie et la vaccination.
**Patiente TG suivi avec angiodysplasie traitée par octréotide*

Conclusion : Nous n'avons pas observé la même différence chez les autres patients avec MHC sévère.
La nécessité de réaliser des dépistages antigéniques salivaires peut être une explication. En effet, malgré des relances régulières, seuls 29 patients dont 5 de type I sont vaccinés avec un schéma complet.

00009 - Effet de l'association du rFVIIa et de Mim8 dans l'hémophilie A

J. Bovet[1], M. Ezban[2], K. Jensen[2], J. Lund[2]

[1]*Novo Nordisk - Paris (France),*
[2]*Novo Nordisk - Malov (Denmark)*

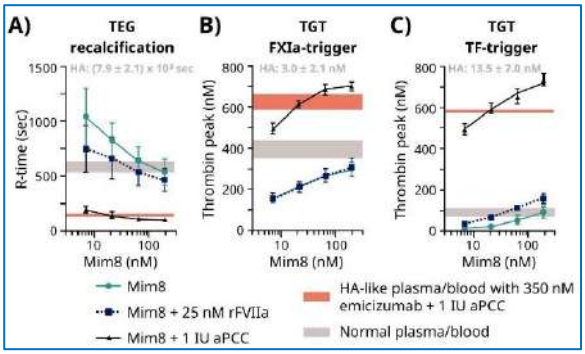
Introduction : Mim8, nouvel anticorps humain bispécifique mimant le facteur (F)VIIIa, a été conçu pour le traitement prophylactique sous-cutané de patients atteints d'hémophilie A (HA) avec et sans inhibiteurs. In vitro et dans les modèles de souris d'HA, Mim8 a présenté des propriétés hémostatiques supérieures à un analogue de séquence identique (ASI) de l'émicizumab. L'association d'anticorps bispécifiques et de concentrés de complexe prothrombinique activés (aPCC) peut avoir des effets synergiques et augmenter le risque d'événements thrombotiques. Aucune augmentation de risque pour la sécurité n'a été montrée pour l'association d'anticorps bispécifiques et de FVII activé recombinant (rFVIIa). Nous mesurons ici les effets de l'association Mim8+rFVIIa ou aPCC dans du sang de type HA en utilisant des tests globaux dans différentes conditions.

Matériels et Méthodes : Du sang de donneurs sains (N=5) a été rendu HA par ajout d'anticorps neutralisant le FVIII. Mim8 (concentrations plasmatiques de 0–190 nM) a été ajouté au sang/plasma, en association avec le rFVIIa (équivalant à une dose de 0-270 µg/kg) ou 1 UI d'aPCC. L'association de l'ASI d'émicizumab+aPCC a été utilisée comme comparateur. La formation d'un caillot a été mesurée par thromboélastographie (TEG) après recalcification avec 0,011 M de Ca2+. Un test de génération de thrombine (TGT) a été initié avec 0,008 U/ml de FXIa ou 1 pM de facteur tissulaire (TF).

Résultats : Les effets de l'association Mim8+rFVIIa sur les paramètres de TEG ont été additifs et d'une ampleur inférieure à celle des effets observés avec Mim8+aPCC ou de l'ASI d''émicizumab+aPCC, qui ont eu des effets synergiques. (Figure A). Dans le TGT déclenché par FXIa, Mim8 a augmenté la génération de thrombine de manière dépendante de la concentration, une réponse qui n'a pas été affectée par l'ajout de rFVIIa. L'ajout de Mim8 ou de l'ASI d'émicizumab avec l'aPCC a significativement accru la génération de thrombine (Figure B). Dans le TGT déclenché par TF, l'association Mim8+rFVIIa a semblé avoir des effets légèrement supérieurs à la somme de leurs contributions individuelles (peut-être en raison d'une interaction TF-rFVIIa). Cependant, le pic de thrombine a été significativement plus bas que celui observé pour l'association de l'ASI d'émicizumab+aPCC (Figure C).

Conclusion : L'association Mim8+25 nM de rFVIIa a entraîné une génération de thrombine proche de la normale et la formation d'un caillot à la plupart des concentrations de Mim8 testées, des effets d'une ampleur bien plus faible que ceux observés pour les associations Mim8+aPCC ou ASI d'émicizumab+aPCC.

Figure. Formation d'un caillot et génération de TH



00010 - Immunogénicité dans les essais cliniques de phase 2 de concizumab : impact clinique des anticorps anti-médicament

J. Bovet[1], L. Hummelshøj Landsy[2], G. Castaman[3], K. Cepo[2], P. Lenting[4], J. Oldenburg[5]

[1]Novo Nordisk - Paris (France),
[2]Novo Nordisk - Søborg (Denmark),
[3]Hôpital Universitaire Careggi - Firenze (Italy),
[4]Inserm - Kremlin Bicetre (France),
[5]Département d'immuno-Hématologie - Bonn (Germany)

Introduction : Le concizumab (anticorps monoclonal dirigé contre l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire [TFPI]) est en phase 3 de développement clinique en prophylaxie sous-cutanée administrée une fois par jour pour l'hémophilie A/B (HA/HB) avec/sans inhibiteurs. Comme avec d'autres anticorps monoclonaux, le traitement peut provoquer une réponse immunogénique menant à la formation d'anticorps anti-médicament (ADA). L'objectif est d'étudier l'impact clinique des ADA anti-concizumab en phase 2.

Matériels et Méthodes : Dans les essais explorer4 (HA/HB avec inhibiteurs) et explorer5 (HA sans inhibiteurs), l'analyse des ADA de liaison a été réalisée avec un test d'électrochimioluminescence par pontage hautement sensible et spécifique au médicament. L'activité neutralisante des échantillons confirmés positifs a ensuite été caractérisée par un test de fonctionnalité du TFPI modifié. Les données d'immunogénicité ont été évaluées en lien avec la répartition des hémorragies, les concentrations de concizumab, le TFPI libre et les paramètres de sécurité. Nous présentons ici les résultats de la partie principale et des parties d'extension de l'essai (≥ 76 semaines de traitement).

Résultats : Dans l'essai explorer4, 6 patients sur 25 ont développé des ADA de liaison au concizumab ; 5 patients présentaient de faibles titres d'anticorps de liaison, sans modifications significatives de la répartition des hémorragies, des taux de concizumab et de TFPI libres, des événements indésirables (EI) ni des paramètres de coagulation. Chez 3 patients sur 5, les anticorps ont été transitoires et ont diminué pendant l'essai pour atteindre un taux inférieur au seuil de détection. Un patient présentant des titres faibles d'ADA après avoir subi un traumatisme a développé des titres élevés d'ADA ayant une activité neutralisante in vitro. Ce patient a continué à recevoir le concizumab malgré le rétablissement du TFPI libre, signalant 2 épisodes hémorragiques sur une période de plus de 7 mois. Dans l'essai explorer 5, des faibles titres d'anticorps de liaison dirigés contre le concizumab ont été développés par 9 patients sur 36, sans modification significative de la répartition des hémorragies, des niveaux de concizumab, du TFPI libre ni des EI ou des paramètres de coagulation. Chez un patient, un résultat neutralisant positif in vitro a été noté lors d'une visite, les résultats ayant été négatifs lors des visites suivantes.

Conclusion : Dans les études de phase 2 du concizumab, 25 % des patients ont développé des ADA ; la grande majorité des patients ont présenté des titres faibles et transitoires d'ADA, sans effet clinique observé. Une corrélation entre un impact clinique et le rétablissement du TFPI libre a pu être établie chez un seul patient qui a présenté des titres élevés d'ADA ; cependant, cet effet clinique demeure non concluant.

00017 - Usefulness of rotational plasma thromboelastometry in severe inherited FXIII deficiency

I. Ben Salah[1], A. Launois[2], C. Flaujac[2], C. Lavenu-Bombled[3], P. De Mazancourt[4], I. Martin-Toutain[2], M.C. Bourrienne[1], E. De Raucourt[5]

[1]Service Hématologie Biologique, Hôpital Beaujon (APHP) - Clichy (France),
[2]Laboratoire de Biologie Médicale, Hôpital André Mignot - Versailles (France),
[3]Laboratoire Hématologie, Hôpital Bicêtre (APHP)-HITH, Umr_s1176, Inserm, Université Paris-Saclay - Kremlin Bicêtre (France),
[4]Laboratoire de Biologie Moléculaire, Hôpital Ambroise Paré (APHP), Umr1179 Paris Saclay University - Boulogne Billancourt (France),
[5]Centre de Ressources et Compétences des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles Rares, Centre Hospitalier de Versailles (André Mignot), Service Hématologie Biologique, Hôpital Beaujon (APHP) - Clichy (France)

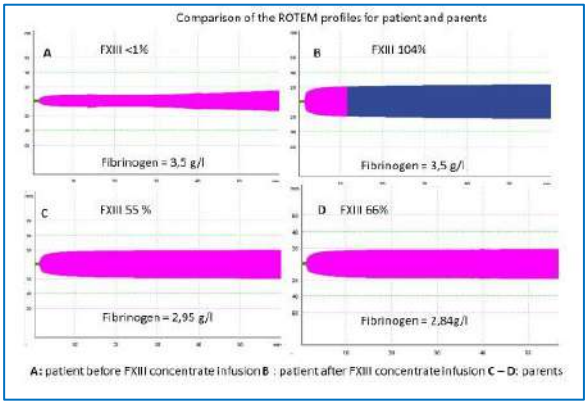
Introduction : FXIII deficiency is one of the rarest bleeding disorders, characterized, in severe cases, by neonatal umbilical hemorrhage and spontaneous intracranial hemorrhage. Severe FXIII deficiency (< 5 UI/dL) is usually diagnosed in early childhood and requires lifelong prophylaxis with FXIII concentrate. Diagnosis and monitoring of FXIII deficiency remains challenging as standard coagulation tests are insensitive, and specific assays remain difficult to perform. Plasma thromboelastometry (ROTEM) has been reported to be affected by FXIII deficiency.
Herein, we report the case of a children referred to our center for bleeding tendency.

Matériels et Méthodes : Plasma ROTEM assay was used at diagnosis and after to monitor substitution with FXIII concentrates.

Résultats : An eight- year- old boy was referred for delayed post-traumatic bleedings and spontaneous ecchymosis observed for several months. There was no personal or familial bleeding history and no consanguinity. All standard coagulation assays, von Willebrand factor levels, both platelet count and function were normal. EXTEM Parameters with ROTEM used on plasma showed abnormalities, particularly decreased MCF (Figure A) despite normal fibrinogen level. FXIII specific assay revealed a severe FXIII deficiency (FXIII < 1 %). As no bleeding tendency had been reported in early childhood an acquired FXIII deficiency was suspected. After FXIII concentrate infusion, bleeding tendency improved, ROTEM parameters normalized (Figure B) and remained within normal range at Day 7, 14 and 28 ruling out an inhibitor. Specific assay confirmed the absence of FXIII inhibitor. ROTEM was normal in both parents who exhibited FXIII level at 55 % and 66 %, respectively (figure C-D). Constitutive FXIII deficiency was confirmed, with composite heterozygosity for the F13A1 variants c.1984C>T in exon 14 (p.Arg662*) and c.1504G>A in exon 12 (p.G502R), inherited by his father and mother, respectively.

Conclusion : ROTEM/thromboelastometry used on plasma is sensitive to severe FXIII deficiency and may help to monitor replacement therapy with FXIII concentrate.

Comparison of ROTEM profiles



00018 - Hémophilie A acquise post-vaccination contre la COVID-19 : à propos d'un ou deux cas alsacien(s)…

J. Wimmer[1], L. Sattler[1], A.C. Gerout[2], M. Netala[3], I. Harzallah[4], C. Ladhari[5], D. Desprez[3]

[1]Laboratoire d'hématologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France),
[2]Service de Pharmacie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France),
[3]Centre Régional de Traitement de l'hémophilie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France),
[4]Laboratoire d'hématologie, Groupe Hospitalier de la Région de Mulhouse et Sud Alsace - Mulhouse (France),
[5]Centre Régional de Pharmacovigilance, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France)

Introduction : En 2021, nous avons relevé deux cas d'hémophilie A acquise (HAA) en Alsace sans étiologie évidente. Cependant, l'étude chronologique des évènements a permis d'identifier une vaccination récente contre la COVID-19.

Matériels et Méthodes : Le premier cas concerne une patiente de 69 ans pour laquelle le diagnostic a été posé trois mois après l'injection de la seconde dose du vaccin Cominarty (Pfizer-

BioNTech) et dont la symptomatologie hémorragique débuta un mois auparavant par un saignement important consécutif à une griffure de chat. Un mois plus tard, devant l'apparition d'hématomes, un allongement du TCA (ratio 2,6) et une anémie, des examens complémentaires retrouvent une activité du facteur VIII (FVIII) à 2 % ainsi qu'un inhibiteur du FVIII titré à 5 UB/mL. Une corticothérapie est instaurée en association avec du concentré de complexe prothrombinique activé (CCPA). L'éradication de l'inhibiteur a nécessité l'instauration additionnelle de cyclophosphamide. Le tableau clinique s'est compliqué d'une pneumopathie à *P. jiroveci* dans un contexte d'aplasie médullaire consécutive à la thérapie immunosuppressive. L'issue clinique a été favorable après deux mois de séjour en service de réanimation. Le bilan étiologique a seulement mis en évidence une maladie de Biermer devant une gastrite chronique atrophique : cette pathologie auto-immune n'étant généralement pas associée à l'apparition d'une HAA.
Le second cas concerne une patiente de 85 ans ayant présenté des hématomes apparus deux mois après l'administration de la dose de rappel du vaccin Cominarty. Dans un premier temps, ces symptômes furent initialement attribués à son traitement anticoagulant chronique prescrit dans le cadre d'une fibrillation auriculaire. Devant la persistance et l'extension des hématomes, la patiente est hospitalisée et le bilan biologique retrouve une anémie associée à une activité indosable du FVIII ainsi qu'un inhibiteur titré à 3600 UB/mL. L'évolution a été lentement favorable à l'issue d'un traitement associant corticothérapie, rituximab et CCPA. Le bilan étiologique n'a pas permis de retrouver de cause évidente d'HAA.

Résultats : En France, les données de pharmacovigilance du vaccin Cominarty mentionnent 16 cas d'HAA depuis le début de la campagne vaccinale, survenus entre 2 et 95 jours après le début du schéma vaccinal [1]. Plusieurs cas sont également rapportés dans la littérature avec des délais allant de quelques jours à 52 jours après l'administration de ce même vaccin [2-5].

Conclusion : Ces deux cas s'ajoutent à la liste des HAA potentiellement imputables à la vaccination par Cominarty. Bien que la majorité des HAA soit idiopathique, le lien potentiel de causalité de ce vaccin ne peut être ici exclu. Par principe de précaution, toute nouvelle administration de ce vaccin est contre-indiquée pour ces deux patientes. La gravité de ce syndrome justifie une vigilance toute particulière devant l'apparition de manifestations hémorragiques ou un allongement du TCA dans les suites d'une vaccination contre la COVID-19.

[1] CRPV de Bordeaux, CRPV de Marseille, CRPV de Strasbourg, CRPV de Toulouse. Enquête de pharmacovigilance du vaccin Pfizer-BioNTech Comirnaty. Rapport n°19 : période du 27 août 2021 au 11 novembre 2021.
[2] Murali A, Wong P, Gilbar PJ, et al. Acquired Hemophilia A following Pfizer-BioNTech SARS CoV-2 mRNA vaccine, successfully treated with prednisolone and rituximab. J Oncol Pharm Pract 2022;1–4
[3] Leone MC, Canovi S, Pilia A, et al. Four cases of acquired hemophilia A following immunization with mRNA BNT162b2 SARS-CoV-2 vaccine. Thromb Res 2022; 211: 60–62.
[4] Farley S, Ousley R, Van Wagoner N, et al. Autoimmunity after Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Vaccine: A Case of Acquired Hemophilia A. Thromb Haemost 2021; 121: 1674–1676.
[5] Radwi M, Farsi S. A Case Report of Acquired Haemophilia following COVID-19 Vaccine. J Thromb Haemost 2021; 19: 1515–1518.

00021 - Accidental discovery of an unusual constitutional dysfibrinogenemia: LONGMONT fibrinogen

D. Desprez[1], L. Sattler[1], I. Harzallah[2], M. Hanss[3], P. De Mazencourt[4], A. Debliquis[2], B. Drenou[2], A. Raissi[2]

[1]Laboratoire d'hématologie - Strasbourg,
[2]Laboratoire d'hématologie - Mulhouse,
[3]Laboratoire d'hématologie - Lyon,
[4]Laboratoire de Biochimie Hormonologie et Génétique Moléculaire - Boulogne-Billancourt,

Introduction : Constitutional dysfibrinogenemia are rare qualitative coagulation disorders. Sometimes routine laboratory screening does not detect them.

Matériels et Méthodes : We report here, an unusual case of a constitutional dysfibrinogenemia: Longmont fibrinogen, discovered incidentally in the laboratory in an 88-year-old male patient.
Résultats : A systematic clotting study in an 88-year-old male patient hospitalized in the Pneumology department to explore a minimal hemoptysis revealed a major deficiency of fibrinogen with indosable rates (<0.35g/l).
The others clotting tests were in accordance with a patient treated by VKA (Vitamine K antagonist). Factor V, D-dimer and platlet count levels were all normal excluding a disseminated intravascular coagulation (DIC).
The liver function tests present no abnormalities excluding a liver failure.
His past medical history was remarkable for rare ecchymosis and a hematuria episode two years earlier while the patient was on DABIGATRAN.
The patient was operated on several times and had several dental extractions without any bleeding complication (ISTH hemorrhagic score 2).
His two daughters have no hemorrhagic story. Fibrinogen assay could only be achieved in one of them and was normal. As well, there is no personal or family history of thrombosis.

Conclusion : The fibrinogen assay used in our laboratory is the Clauss method (QFA thrombin 100 UNIH/mL on ACL-TOP750). It is an indirect optical measurement.
A fibrinogen assay using the Clauss method and based on a mechanical detection (STA®-Liquid Fib, Stago), revealed 4.25g/l of fibrinogen.
The immunoassay of the fibrinogen revealed a normal rate with 4.45g/l.
Genetic analysis by NGS (SeqCap EZ Choice capture kit; Roche using a MiSeq (Illumina) found a heterozygous mutation (FGB Arg166Cys). This fibrinogen variant is described in the literature under the name of LOGMONT fibrinogen.
Few cases were described in the literature (n=2) not capable of formally predicting the individual thrombotic or hemorrhagic risk associated with this mutation.
Viscosimetric measurement systems do not detect this variant. In fact, fibrinogen levels are normal with these systems. On the other hand, methods using an optical detection highlight this anomaly with an indosable level of fibrinogen. This is explained by the particular pathophysiology of this dysfibrinogenemia: the mutation results in a polymerization defect that causes increased transparency in the clot leading to abnormal test results when using a spectrophotometric analyzer.

00023 - Prise en charge des hémorragies sous concizumab en prophylaxie chez des hémophiles A/B avec/sans inhibiteurs en phase 3

H. Schneid[1], J. Astermark[2], P. Angchaisuksiri[3], K. Kavakli[4], M. Zak[5], S. Seremetis[6]

[1]Novo Nordisk Frence - Puteaux (France),
[2]Université De Lund - Lund (Sweden),
[3]Université Mahidol - Bangkok (Thailand),
[4]Université Edge - Izmir (Turkey),
[5]Novo Nordisk A/s - Soborg (Denmark),
[6]Novo Nordisk Inc. - Princeton (United States)

Introduction : Concizumab, anticorps monoclonal dirigé contre l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI), est analysé dans des études de phase 3, en prophylaxie sous-cutanée administré 1fois/jour pour les patients hémophiles A/B (HA/HB) avec et sans inhibiteurs. Les données des études de phase 2 ont établi la preuve du concept clinique avec une sécurité favorable. Dans les études de phase 3, 3 patients présentant des facteurs de risque thrombotique utilisant un médicament concomitant le jour de l'apparition de l'événement contenant un facteur (dans 2 cas aussi les jours précédant) ont développé des événements thromboemboliques non mortels, entraînant la mise en pause de l'étude.

Matériels et Méthodes : L'analyse précise de toutes les données d'études cliniques et non cliniques, incluant des études de

génération de thrombine avec association du concizumab et d'agents hémostatiques supplémentaires [facteur VIII (FVIII), facteur IX (FIX), facteur VII activé recombinant (rFVIIa) et concentré de complexe prothrombinique activé (aPCC) ; Kjalke M, et al. J Thromb Haemost 2021; 19(7):1687–96], a été prise en compte pour une stratégie de limitation des risques.

Résultats : Les données des essais de phase 2 n'ont révélé aucun problème de sécurité d'emploi avec l'utilisation d'agents concomitants pour la prise en charge des hémorragies survenant sous traitement par concizumab. De plus, les études in vitro n'ont pas montré d'interactions médicamenteuses cliniquement significatives lors de l'association du concizumab avec le rFVIII, le rFIX, le rFVIIa ou l'aPCC. Une recommandation sur la prise en charge des hémorragies légères/modérées survenant sous traitement a été mise en place pour assurer une utilisation appropriée de produits concomitants dans le cadre de la stratégie de limitation des risques. Cette stratégie stipule l'utilisation de la dose autorisée la plus faible pour les agents bypassants et la dose le plus faible nécessaire pour obtenir l'activité plasmatique recommandée pour les facteurs de substitution, en respectant les intervalles d'administration indiqués dans les mentions légales. La recommandation inclut aussi une surveillance plus étroite par les investigateurs du traitement des hémorragies et la confirmation par le personnel du site de chaque dose administrée. Un groupe d'experts a aussi été établi. Les modifications supplémentaires incluent un nouveau schéma posologique pour concizumab, avec une dose de charge de 1,0 mg/kg suivie d'une dose quotidienne initiale de 0,20 mg/kg de concizumab et une adaptation de dose basée sur les taux d'exposition au concizumab.

Conclusion : Une stratégie de limitation des risques, une recommandation de prise en charge des hémorragies survenant sous traitement et un nouveau schéma posologique ont été élaborés et mis en place pour garantir la sécurité des patients de tous types d'hémophilie pendant les études cliniques de phase 3 redémarrées.

00026 - Mesures de qualité de vie liée à la santé après prophylaxie sous-cutanée quotidienne à long terme par concizumab chez des hémophiles A/B avec/sans inhibiteurs : résultats des parties principales et d'extensions des études de phase 2

H. Schneid[1], M. Faller[2], S.M. Tønder[3], T. Porstmann[2]

[1]Novo Nordisk - Puteaux (France),
[2]Novo Nordisk Health Care AG - Zurich (Switzerland),
[3]Novo Nordisk A/s - Soborg (Denmark)

Introduction : Concizumab, anticorps monoclonal contre l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI), en prophylaxie sous-cutanée est en développement chez les patients hémophiles. Cette analyse porte sur les changements de qualité de vie (QVLS) après concizumab dans 2 essais de phase 2 explorer4 (NCT03196284) et explorer5 (NCT03196297).

Matériels et Méthodes : Ces essais incluaient une partie principale (≤ 24 sem.) et une partie d'extension (explorer4 : ≤ 94 sem. ; explorer5 : ≤ 102 sem.). Dans explorer4, 26 patients hémophiles A/B avec inhibiteurs (HAwI/HBwI) ont été randomisés (ratio de 2:1) pour concizumab en prophylaxie (n = 17) ou en traitement à la demande par rFVIIa (n = 9) puis en prophylaxie par concizumab dans la partie d'extension, dont 25 exposés à concizumab dans la partie d'extension et 22 terminant l'essai. Dans explorer5, 36 patients hémophiles A (HA) sévères, puis 32 dans la partie d'extension et 30 ont terminé l'essai. Le questionnaire SF-36v2 (Short Form Health Survey à 36 items) était utilisé à l'état initial (avant concizumab) et pendant les 2 parties. L'analyse chez les patients ayant terminé les essais déterminait les différences entre l'état initial et la fin de la partie d'extension, selon les différences minimales importantes (DMI). L'analyse individuelle identifiait l'amélioration des scores pour composante physique (PCS), capacités fonctionnelles (FP) et douleur physique (DC), selon le seuil de réponse recommandé (normes population générale USA 2009, SF-36v2).

Résultats : Pour explorer4 chez 22 patients, l'amélioration entre l'état initial et la fin de la partie d'extension dépassait les seuils de DMI pour le score PCS. Les seuils de DMI ont été atteints pour les FP, DC, rôle physique, état de santé général, vitalité, fonctionnement social et santé mentale. Individuellement l'analyse a révélé que 63,6 %, 54,5 % et 50,0 % des 22 patients présentaient une amélioration atteignant ou dépassant le seuil de réponse pour les scores respectifs PCS, FP et DC (Tableau 1). Pour explorer5 (n=30), le score PCS a atteint le seuil de DMI pour l'amélioration entre l'état initial et la fin de l'extension, bien que de grands écarts types aient été observés. Individuellement l'analyse a révélé que 43,3 %, 33,3 % et 33,3 % présentaient une amélioration atteignant ou dépassant le seuil de réponse pour les scores respectifs de PCS, FP et DC (Tableau 1).

Conclusion : Les changements de la QVLS des 2 études illustrent l'amélioration après une prophylaxie sous-cutanée à long terme par concizumab chez les patients HAwI/HBwI, dans les domaines cliniquement pertinents comme les FP et la DC. Ils suggèrent un effet positif potentiel de cette prophylaxie sur le fonctionnement physique et une diminution de la douleur. L'amélioration du score PCS observée dans tous les sous-groupes d'hémophiles, suggère un meilleur état de santé fonctionnel, malgré le grand écart type obtenu. L'effet potentiel bénéfique de la prophylaxie par concizumab est étudié dans les essais de phase 3.

Changement des scores SF-36v2 (scores des composants)

Domaines SF-36v2	HAwI/HBwI		HA		Seuil de DMI
	Scores SF-36v2 à l'état initial Moyenne (ET) N=25	Changement des scores SF-36v2 depuis l'état initial Moyenne (ET) N=22	Scores SF-36v2 à l'état initial Moyenne (ET) N=30	Changement des scores SF-36v2 depuis l'état initial Moyenne (ET) N=30	
Scores résumés des composantes					
PCS	57,8 (7,5)	6,5 (6,1)	46,9 (8,2)	2,8 (5,2)	2
MCS	53,9 (6,5)	1,5 (6,4)	52,6 (6,7)	-1,0 (6,4)	3
Scores par domaine					
Fonctions physiques	57,8 (8,8)	6,0 (8,3)	47,6 (8,5)	1,0 (8,0)	3
Rôle - physique	41,7 (6,4)	4,8 (7,5)	48,0 (7,5)	1,2 (8,5)	3
Douleur physique	44,1 (9,2)	9,8 (8,0)	47,8 (7,6)	2,6 (10,9)	3
État de santé général	42,0 (9,4)	5,6 (5,1)	47,8 (10,9)	0,9 (6,8)	2
Vitalité	49,7 (8,8)	4,7 (7,1)	53,2 (7,5)	-0,0 (6,6)	2
Fonctionnement social	45,6 (8,4)	3,9 (6,7)	50,2 (7,7)	-2,2 (5,3)	3
Rôle - émotionnel	49,8 (6,8)	1,0 (7,7)	50,5 (7,1)	-1,8 (10,2)	4
Santé mentale	51,6 (6,7)	3,1 (5,8)	51,0 (7,8)	-0,4 (7,6)	3

DMI: différences minimales importantes, ET: écart-type, MCS: résumé de la composante mentale, PCS: résumé de la composante physique, SF-36v2: questionnaire sur la santé abrégé 36 items

00028 - Maladie de Willebrand de type Vicenza et accouchement sous Vonicog alfa : à propos d'un cas

J. Wimmer[1], L. Sattler[1], P. Deruelle[2], V. Thuet[3], A.C. Gerout[4], O. Feugeas[5], D. Desprez[5]

[1]Laboratoire d'hématologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France),
[2]Service de Gynécologie et d'obstétrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France),
[3]Service d'anesthésie-Réanimation Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France),
[4]Service de Pharmacie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France),
[5]Centre Régional de Traitement de l'hémophilie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France)

Introduction : La période du péri et post-partum constitue une situation à risque accru pour les patientes atteintes d'une maladie de Willebrand (MW) nécessitant parfois une thérapie substitutive à base de facteur von Willebrand (VWF).

Matériels et Méthodes : Nous rapportons le cas d'une patiente de 33 ans atteinte d'une MW constitutionnelle familiale de type Vicenza caractérisée par la présence de la mutation R1205H à l'état hétérozygote au sein de l'exon 27 du gène du VWF. D'un point de vue clinique, son phénotype hémorragique est relativement marqué avec un score hémorragique de Tosetto à 19 points. Son bilan biologique habituel retrouve une activité du VWF par méthode cofacteur de la ristocétine (VWF:Rco) inférieure à 10 UI/dL, une mesure antigénique du VWF (VWF:Ag) à 13 UI/dL ainsi

qu'une activité fonctionnelle du facteur VIII (FVIII) à 9 UI/dL. Dans ses antécédents obstétricaux, on relève une fausse couche hémorragique ainsi qu'une grossesse menée à son terme en 2018, pour laquelle elle a bénéficié d'une thérapie substitutive à base de VWF plasmatique (Wilfactin®) ainsi qu'un bolus de FVIII (Factane®) pour une dose totale respectivement de 214 UI/kg et 36 UI/kg.
Elle a récemment bénéficié d'une substitution par Vonicog alfa (Veyvondi®) en prévention du risque hémorragique de son second accouchement. A l'instar du premier accouchement, celui-ci a également été réalisé par voie basse, sans analgésie péridurale. La surveillance biologique de cette procédure a été réalisé par dosage de l'activité du FVIII, de l'antigène (VWF:Ag) et de l'activité (VWF:Rco) du VWF ainsi que par la mesure de son activité basée sur l'utilisation d'une GpIbα recombinante (VWF:GpIbM).

Résultats : Au cours de cette procédure, la patiente s'est vu administrer une quantité totale de 11 050 UI de Vonicog alfa en 6 administrations ainsi qu'un bolus initial de 3000 UI de FVIII : soit des consommations totales respectivement de 124 UI/kg et 34 UI/kg. Le suivi biologique a permis de déterminer une demi-vie plasmatique de 6,5 heures par méthode VWF:Rco et 7,9 heures par méthode VWF:GpIbM ainsi qu'un taux de récupération de 2,5 %/UI/kg par méthode VWF:Rco. D'un point de vue clinique, ce traitement substitutif s'est avéré efficace en limitant les manifestations hémorragiques à un simple saignement post-partum tout à fait physiologique avec une durée d'hospitalisation de 5 jours.

Conclusion : A notre connaissance, il s'agit de la première utilisation obstétricale du Vonicog alfa dans ce type de MW. L'efficacité a été jugée excellente par l'équipe multidisciplinaire en charge de la patiente, notamment en raison de la richesse, de cette spécialité, en multimères de haut poids moléculaire de VWF, lui conférant un excellent potentiel hémostatique. Sur le plan biologique, nous avons également constaté une très bonne stabilisation du facteur VIII au cours de la période du péripartum. Enfin, le taux de récupération semble supérieur à celui observé, lors de son premier accouchement, avec le VWF plasmatique tandis que les demi-vies passablement raccourcies restent similaires entre les deux spécialités.

00033 - Caractérisation de deux variants faux-sens du gène F5 de signification indéterminée

Y. Jourdy[1], K. Boulanger[1], M. Frétigny [1], C. Vinciguerra[1]

[1]*Hospices Civils De Lyon - Lyon (France)*

Introduction : Le déficit congénital en facteur V (FV) de la coagulation est une pathologie hémorragique rare à transmission autosomique récessive. A ce jour, plus de 200 variants du gènes F5 ont été décrits dans la littérature comme responsables de déficit en FV. La grande majorité de ces variations génétiques sont des variations ponctuelles, essentiellement de type faux-sens. A l'inverse des variants non-sens et des variants décalant le cadre de lecture (petite insertion ou délétion) qui sont simples d'interprétation, les variants faux-sens sont plus difficiles à classer du fait du caractère très polymorphique du gène F5. Ainsi, de nombreux variants faux-sens du gène F5 identifiés chez des patients sont de signification clinique inconnue. L'objectif de ce travail est de démonstrer le caractère délétère de 2 variants faux-sens (c.5419G>A/p.Ala1807Thr et c.5534A>G/p.His1845Arg) du gène F5 identifiés à l'état hétérozygote chez des patients porteurs d'un déficit mineur en FV.

Matériels et Méthodes : L'analyse in silico des variants faux-sens d'intérêt a été réalisée à l'aide de trois algorithmes : CADD, REVEL et SpliceAI. L'impact fonctionnel de ces variants a été étudié à la fois par expression cellulaire dans des cellules COS-1 et par minigène dans des cellules Hela.

Résultats : Le variant F5 c.5419G>A (p.Ala1807Thr), affectant le dernier nucléotide de l'exon 16, a été identifié à l'état hétérozygote et en association avec l'haplotype R2, chez un patient avec taux de FV:C à 35%. La fréquence de ce variant dans la population générale est de 0,0014%. Le variant F5 c.5534A>G (p.His1845Arg) a été identifié chez un patient avec un déficit mineur en FV (FV:C = 50%). Ce variant a une fréquence de 0,011% dans la population européenne. L'analyse in silico de ces deux variants par des logiciels de prédiction d'altération fonctionnelle est en faveur de leur effet délétère (CADD : 33 et 25,9 ; REVEL : 0,816 et 0,943 respectivement pour les variants p.Ala1807Thr et p.His1845Arg). Une altération de l'épissage est prédite uniquement pour le variant p.Ala1807Thr par SpliceAI. Les analyses in vitro d'expression de FV mutant en cellule COS-1 met en évidence un impact fort du variant p.His1845Arg sur la biosynthèse du FV (FV:Ag = 11,1% du FV sauvage produit dans les mêmes conditions). A l'inverse, aucun impact sur la biosynthèse ou l'activité du FV n'est identifié pour le variant p.Ala1807Thr, mais l'analyse par minigène montre que le variant c.5419G>A (p.Ala1807Thr) est responsable du saut de l'exon 16 (p.[Glu1737Profs*5]).

Conclusion : Les analyses fonctionnelles in vitro réalisées dans ce travail ont permis de démontrer le caractère délétère (diminution de synthèse pour un variant et anomalie d'épissage pour l'autre) et de classer ces variants comme probablement délétère (classe 4). Nos résultats sont cohérents avec les phénotypes des deux patients inclus dans ce travail. Ce travail souligne l'intérêt des analyses fonctionnelles in vitro pour l'interprétation des variants de signification indéterminée.

00036 - Efficacité et sécurité du turoctocog alfa chez les patients atteints d'hémophilie A nécessitant une intervention chirurgicale : étude rétrospective monocentrique

N. Drillaud[1], P.O. Bertho[1], V. Horvais[1], C. Ternisien[1], F. Marc[1], S. Marianne[1], M. Trossaërt[1]

[1]*Centre de Traitement de L'hémophilie - Nantes (France)*

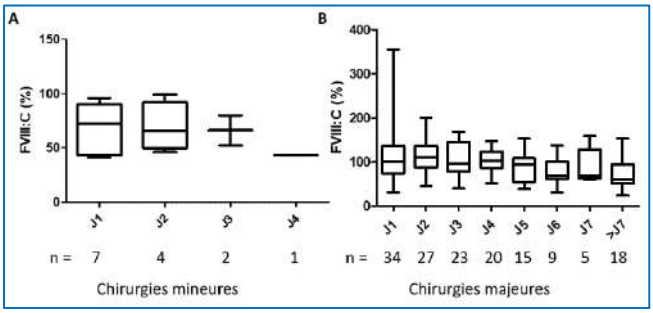
Introduction : Le turoctocog alfa est un facteur VIII recombinant (rFVIII) disponible en France depuis 2014 chez les patients atteints d'hémophilie A, pour traiter et prévenir les épisodes hémorragiques. Peu de données de vie réelle sont disponibles dans la littérature concernant son utilisation en chirurgie.

Matériels et Méthodes : Nous avons mené une étude rétrospective observationnelle sur 4 ans, au CHU de Nantes, sur l'utilisation du turoctocog alfa pour 59 interventions chirurgicales (39 majeures et 20 mineures) chez 38 patients (36 hommes et 2 femmes). Les résultats sont exprimés en médiane (interquartile).

Résultats : Cinq (13%) patients sont atteints d'hémophilie A sévère, 2 (5%) d'hémophilie A modérée et 31 (82%) d'hémophilie A mineure. L'âge médian était de 64 (4-87) ans. Pour les patients ayant eu une intervention chirurgicale majeure, les taux de base de l'activité coagulante du FVIII (FVIII:C) étaient de 12 (7-25) %. Le nombre d'injections était de 7 (4-14) avec une dose de charge préopératoire de 41,7 (36,2-46,5) UI/kg et une dose totale de 242,2 (122,5-417,5) UI/kg. Chez les patients ayant eu une intervention chirurgicale mineure, le taux initial de FVIII:C était de 28 (9-31) %. Le nombre d'injections était de 2 (2-3) avec une dose de charge préopératoire de 33,3 (28,3-35,5) UI/kg et une dose totale de 56,6 (48,5-93,8) UI/kg. La durée d'hospitalisation était de 6 (3-9) jours pour les chirurgies majeures et de 1 (1-2) jour pour les chirurgies mineures. L'efficacité clinique globale a été qualifiée d'excellente/bonne dans 51 interventions (86%) et de moyenne dans 8 (14%). Ce dernier groupe représentait 6 patients (5 hémophiles mineurs et 1 hémophile sévère). Quatre interventions étaient des chirurgies urologique (3 saignements à la chute d'escarre et 1 hématurie après retrait de la sonde urinaire par le patient), 2 hématomes 1 semaine après des chirurgies dermatologiques, 1 hématome le lendemain d'une chirurgie cardiaque malgré un FVIII:C normal (119 %) et 1 épisode hémorragique suite à des avulsions dentaires chez le patient atteint d'hémophilie sévère. Par ailleurs, deux patients sur six étaient traités par antiagrégant plaquettaire. Les taux de FVIII:C ont été maintenus à des valeurs physiologiques acceptables dans les jours

suivant les interventions chirurgicales (figure). Aucun événement thromboembolique, anticorps anti-FVIII ni autre événement indésirable n'a été signalé.
Conclusion : Cette cohorte rétrospective de vie réelle confirme l'efficacité et la sécurité du turoctocog alfa dans la prise en charge des chirurgies majeures et mineures chez les patients atteints d'hémophilie A. Aucun évènement indésirable et une bonne efficacité globale ont été observés.

Taux résiduels de FVIII : C en post-opératoire



00037 - Efficacité et sécurité à long terme du concizumab en prophylaxie chez les patients hémophiles A sévères et les patients hémophiles A/B avec inhibiteurs : résultats des parties principales et d'extensions des études de phase 2

N. Drillaud[1], J. Astermark[2], P. Angchaisuksiri[3], G. Benson[4], G. Castaman[5], P. Chowdary[6], H. Eichler[7], V. Jiménez-Yuste[8], K. Kavakli[9], L. Hvitfeldt Poulsen[10], J. Oldenburg[11], S. Zupancic Salek[12], A. Shapiro[13], A.P. Wheeler[14], G. Young[15]

[1]Centre de Traitement de l'hémophilie - Nantes (France),
[2]Centre de Thrombose et d'hémostase - Malmö (Sweden),
[3]Hématologie - Bangkok (Thailand),
[4]Hématologie - Belfaste (Ireland),
[5]Département de Thérapie Cellulaire et d'hématologie - Florence (Italy),
[6]Centre d'hémophilie et de Thrombose - Londres (United Kingdom),
[7]Hémostase Clinique et Médecine Transfusionnelle - Homburg (Germany),
[8]Hématologie - Madrid (Spain),
[9]Hématologie - Izmir (Turkey),
[10]Centre d'hémophilie - Aaarhus (Denmark),
[11]Immuno-Hématologie et Hémostase - Bonn (Germany),
[12]Hématologie - Zagreb (Croatia),
[13]Centre d'hémophilie et de Thrombose - Indianapolis (United States),
[14]Département d'histopathologie, de Microbiologie et d'immunologie - Nashville (United States),
[15]Ecole de Médecine Keck - Los Angeles (United States)

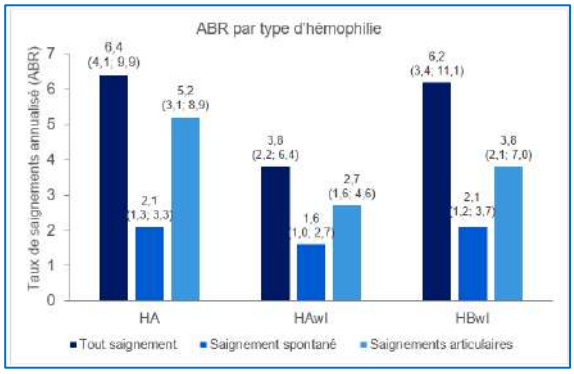
Introduction : Concizumab, un anticorps monoclonal dirigé contre l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI), est en développement clinique (phase 3) en prophylaxie sous-cutanée administré une fois par jour pour l'hémophilie A/B (HA/HB) avec/sans inhibiteurs. Nous présentons ici les résultats de la partie principale et des parties d'extension des essais combinées de phase 2 sur le concizumab explorer4 (NCT03196284) et explorer5 (NCT03196297). L'objectif de la partie d'extension des études était d'évaluer l'efficacité et la sécurité du concizumab à long terme chez les patients HA/HB avec inhibiteurs (HAwI/HBwI) (explorer4) et les patients HA sévère sans inhibiteurs (explorer5).

Matériels et Méthodes : Les deux études comprenaient une partie principale (≥ 24 semaines) et une partie d'extension (jusqu'à 102 semaines au total). Les patients ont été traités avec 0,15 mg/kg de concizumab, avec une augmentation possible de dose à 0,20 et 0,25 mg/kg s'ils présentaient ≥3 hémorragies spontanées traitées au cours de 12 semaines. Les critères d'évaluation incluaient le taux d'hémorragies annualisé (ABR), la modification des paramètres de coagulation, le nombre d'événements indésirables (EI) et l'apparition d'anticorps anti-médicament (ADA) pendant l'essai. Les résultats présentés sont ceux obtenus à la posologie maximale de concizumab.

Résultats : Au total, 36 patients HA, 15 HAwI et 10 HBwI ont été exposés au concizumab. Une bonne efficacité du concizumab (Fig. 1) a été observée chez les patients HA, HAwI et HBwI. Une augmentation des D-dimères et des fragments de prothrombine 1+2 a été observée parallèlement à l'augmentation des concentrations de concizumab chez certains patients, reflétant l'effet hémostatique du concizumab. La majorité des ADA observés ont été de faibles titres et transitoires, sans effet clinique observé. Il n'y a pas eu d'EI conduisant à une sortie d'étude, ni d'événements thrombo-emboliques, ni de décès durant la partie principale et la partie d'extension des études.

Conclusion : Les résultats de la partie d'extension des études de phase 2 du concizumab confirment ceux de la partie principale, en faveur du développement du concizumab comme traitement sous-cutané administré une fois par jour pour tous types d'hémophilie.

ABR par type d'hémophilie



00040 - Un seuil de positivité spécifique pour la recherche des anticorps anti Facteur Willebrand en ELISA chez les patients atteints de maladie de Willebrand de type 3

E. Jeanpierre[1], C. Paris[2], F. Lassalle[1], C. Ternisien[3], S. Susen[4]

[1]CHU Lille, Institut d'hématologie Transfusion, Institut Pasteur de Lille, UMR1011-Egid - Lille (France),
[2]CHU Lille, Institut d'hématologie Transfusion - Lille (France),
[3]CHU Nantes, Service d'hématologie-Hémostase, Hôtel-Dieu - Nantes (France),
[4]CHU Lille, Institut d'hématologie Transfusion, Institut Pasteur de Lille, UMR1011-Egid, Lille, 59000 France pour le Centre de Référence de la Maladie de Willebrand - Lille (France)

Introduction : Le développement d'anticorps anti-facteur Willebrand (anti-VWF) peut se produire dans deux situations cliniques : des allo-anticorps peuvent apparaître chez les patients atteints de la maladie de von Willebrand de type 3 (VWD type 3) et des auto-anticorps peuvent apparaître et conduire à un syndrome de von Willebrand acquis (AVWS) dans plusieurs conditions sous-jacentes (par exemple un syndrome lymphoproliphératif). Les deux types d'anticorps peuvent être détectés par un test ELISA.
Nous avons récemment modifié le test ELISA utilisé au laboratoire pour la détection des anticorps anti-VWF. Le facteur Von Willebrand dérivé du plasma (pdVWF) était précédemment utilisé pour recouvrir les microplaques et nous l'avons remplacé par du vonicog alfa, un VWF recombinant (rVWF). Le seuil de positivité a été recalculé sur 42 donneurs sains. En utilisant ce nouveau seuil, la détection des anticorps anti-VWF était retrouvée légèrement positive chez une partie des patients atteints de VWD type 3, alors qu'elle était auparavant négative avec le test ELISA utilisant le pdVWF.
L'ojectif a donc été d'évaluer le seuil de positivité spécifique pour la détection des anticorps chez les patients diagnostiqués avec la maladie de von Willebrand de type 3.

Matériels et Méthodes : Un total de 41 échantillons provenant de 20 patients (sans traitement de substitution) diagnostiqués comme étant atteints de VWD type 3 et bien caractérisés (phénotypiquement et génotypiquement dans le cadre du Centre de Référence Maladie de Willebrand) ont été testés en ELISA utilisant le rFVW. En bref, des microplaques sont recouvertes de rVWF. Après 24h à température ambiante, les échantillons sont distribués et l'anticorps anti-VWF, s'il est présent, est révélé par un anti-IGg1 marqué à la péroxydase. Pour chaque patient, 2 dilutions

sont utilisées (1/10 et 1/50). Les résultats sont exprimés en densité optique (DO). La spécificité du signal est validée par la différence de DO entre les puits contenant du Willebrand et les puits sans Willebrand (pour lesquels la DO doit être la plus faible possible et bien-sûr inférieure à celle des puits avec rVWF). Les résultats de la dilution au 1/10 ont été analysés et, la répartition ne suivant pas une loi normale, le 95ème percentile a été retenu comme seuil.

Résultats : Un seuil de positivité de 0,470 a été défini pour les patients atteints de VWD de type 3. Ce seuil est plus élevé que celui calculé initialement à 0,200 chez les donneurs sains, et la détection des anticorps anti-VWF reste donc négative pour l'ensemble des patients VWD type 3 testés et non faiblement positive.

Conclusion : Un seuil spécifique de positivité a été caractérisé pour les patients atteints de la maladie de von Willebrand de type 3. Ce seuil spécifique devra donc être utilisé pour la détection des allo-anticorps. Ainsi, lors de la prescription d'une recherche d'anticorps anti-VWF, le contexte doit être clairement défini afin d'utiliser le seuil de positivité approprié. Un formulaire de renseignement devra accompagner toute demande de recherche d'anti-VWF.

00041 - Déficit isolé congénital en prothrombine : expérience du laboratoire d'hématologie du CHU Ibn Rochd de Casablanca

Y. Essayh[1,2], H. Bencharef[1,2], B. Oukkache[1,2]

[1]*Laboratoire d'hématologie, CHU Ibn Rochd Casablanca.*
[2]*Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, Université Hassan I - Casablanca (Morocco)*

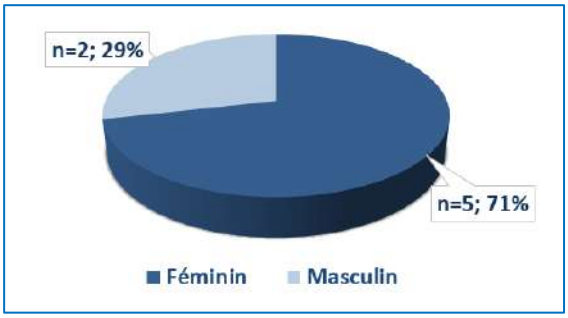
Introduction : Le déficit isolé en prothrombine (facteur II) est une pathologie rare de la coagulation à transmission autosomique récessive, la prévalence de la forme homozygote est d'environ 1 personne sur 1 à 2 millions retrouvée essentiellement dans les régions et les groupes ethniques avec des taux accrus de consanguinité. L'objectif de ce travail est de décrire le profil épidémiologique et de discuter les différents aspects cliniques et biologiques de ce déficit.

Matériels et Méthodes : Il s'agit d'une étude descriptive s'étalant sur une période de 11ans, allant de 2011 à 2022 incluant tous les cas du déficit isolé en prothrombine ayant été diagnostiqués au laboratoire d'hématologie du CHU Ibn Rochd de Casablanca, le recueil des données pour chaque patient a été réalisé rétrospectivement à l'aide d'une fiche d'exploitation qui comportait les rubriques suivantes : données épidémiologiques, circonstances de découverte de la maladie, bilan de coagulation ainsi que les modalités de prise en charge. Le déficit est classé sévère en cas de taux d'activité de facteur II <5%, modéré si taux compris entre 5 et 10% et mineur si taux >10%.

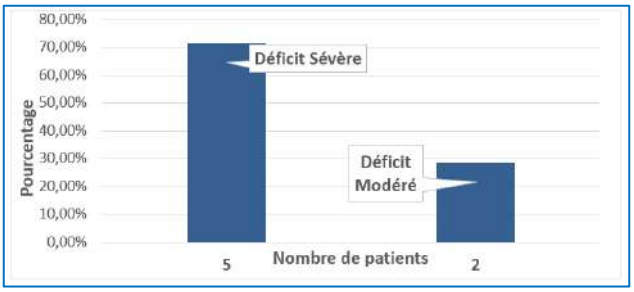
Résultats : Dans notre laboratoire, nous avons recensé 07 patients diagnostiqués de déficit isolé en facteur II. La sex-ratio était de 5/2 à prédominance féminine, la moyenne d'âge était de 15 ans avec un écart type de 10 ans. La symptomatologie clinique prédominante était un syndrome hémorragique cutanéomuqueux le plus souvent provoqué par une intervention ou secondaire à un traumatisme, avec pour conséquence un syndrome anémique parfois mal toléré. Il n'a pas été noté de manifestations thrombotiques, pathologie auto immune ou autre pathologie héréditaire associée au déficit en facteur II chez ces patients.
Sur le plan biologique, tous les patients présentaient un bilan d'hémostase perturbé fait d'un taux de prothrombine bas avec une moyenne de 27 % (+/- 19%) et d'un Temps de céphaline + activateur allongé avec une moyenne de 100sec (+/- 50 sec). Le diagnostic de déficit isolé en facteur II a été posé chez tous les patients sur des taux du facteur II allant de <1% à 8,2% classant les patients en 2 catégories : 5 patients présentant un déficit sévère et 2 patients un déficit modéré. Les taux des autres facteurs : V et X étaient normaux chez tous les patients. Il n'a pas été rapporté de dépistage des anticorps anti facteur II chez ces patients. L'enquête familiale a été réalisée dans un seul cas : diagnostic du déficit isolé en facteur II chez 2 sœurs et une notion de consanguinité parentale de 1er degré a été objectivée dans un autre cas.

Conclusion : Le déficit isolé en prothrombine peut entraîner un syndrome hémorragique responsable de saignements excessifs. Il est essentiel de poursuivre les efforts de collaboration clinique, biologique et l'étude génétique pour le diagnostic de cette anomalie afin d'approfondir nos connaissances sur ce trouble rare de la coagulation et assurer sa prise en charge adéquate.

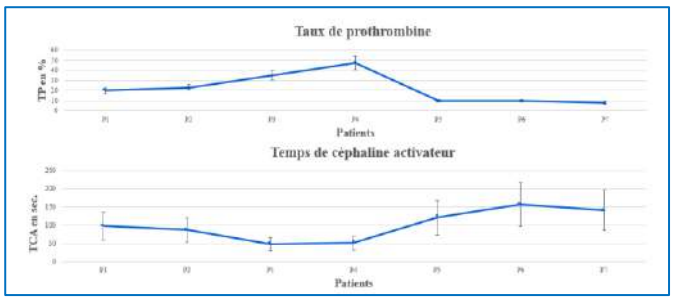
Sex ratio des patients de la série



Classification des patients selon le déficit



Bilan de coagulation des patients de la série



00042 - Hémophilie A acquise, facteur VIII porcin et titrage d'inhibiteur anti-FVIII porcin : retour de trois expériences

C. Lavenu-Bombled[1], J. Bourdin[1], N.A. Van-Khoi[1], A. Blandinières[1], F. Zoouiti[2], G. Morelle[3], H. Maynadie[3], R. D'oiron[3], C. Desconclois[2]

[1]*Service Hématologie Biologique, CRC Mhemo, CHU Bicêtre, AP-HP, Université Paris Saclay - Le Kremlin-Bicêtre (France),*
[2]*Service Hématologie Biologique, Hôpital Antoine-Béclère AP-HP - Clamart (France),*
[3]*Centre de Référence Hémophilie, CHU Bicêtre, AP-HP, Université Paris Saclay - Le Kremlin-Bicêtre (France)*

Introduction : Le susoctogog alfa (Obizur®), facteur VIII (FVIII) recombinant de séquence porcine, dépourvu du domaine B, a l'AMM pour le traitement en première intention des épisodes hémorragiques chez les patients atteints d'hémophilie A acquise due à des anticorps dirigés contre le FVIII, comme les traitements historiques que sont les agents by-passant (facteur VIIa recombinant ou concentrés de complexe prothrombinique). Le dosage du facteur VIII porcin (pFVIII) s'effectue selon la technique chronométrique usuelle, quelle que soit le déficient et le réactif de

TCA utilisé et sans nécessité de calibration spécifique ce qui simplifie le suivi biologique du traitement (Turecek 2016).
Avant l'initiation du traitement il est recommandé d'étudier l'effet inhibiteur des anticorps sur le pFVIII afin de prédire son efficacité. Le titrage repose classiquement sur la méthode Nijmegen, et a été utilisé dans une étude publiée en 2012 (Kempton 2012). Différentes adaptations sont nécessaires : la cible n'est pas le FVIII d'un témoin humain mais le pFVIII obtenu à partir d'une ampoule de susoctogog alfa qu'il est nécessaire de diluer en plasma déficient en facteur VIII contenant du facteur Willebrand pour permettre la stabilité du pFVIII lors des incubations. Il n'est pas mentionné dans cette étude la concentration nécessaire en facteur Willebrand (VWF).
Malgré la persistance de questionnements techniques, nous avons eu à trois reprises à réaliser ce titrage « test ». Pour un des patients le traitement par susoctogog alfa a été mis en place. Nous décrivons ici notre méthodologie et nos résultats, sur deux sites du même groupe hospitalier.

Matériels et Méthodes : Les trois titrages ont été réalisés entre octobre 2019 et avril 2021. Les dilutions de l'ampoule de susoctogog alfa ont été réalisées en déficient FVIII, de fournisseurs différents mais contenant tous du VWF. Le même calibrant a été utilisé. Pour l'un des titrages une partie des dilutions a été réalisée avec du tampon Owren Koller en complément.

Résultats : Les dilutions nécessaires pour un ajustement à 100% de pFVIII ont été plus importantes qu'attendu dans pour un des sites (dilution effectuée 1/16 versus dilution calculée en fonction du taux de pFVIII annoncé par le fabriquant 1/11). Les valeurs du témoin s'échelonnaient entre 47 et 54%, les trois titrages étaient < 0.4 UB (pour des titrages contre du FVIII humain positifs avec des taux compris entre 3.8 et 256 UB).

Conclusion : Ces trois expériences nous ont permis de valider le protocole de titrage en pFVIII dans nos laboratoires. Le fabricant mettant à disposition gracieusement des ampoules de susoctogog alfa lyophilisé, il est possible de mettre en place la logistique permettant de faire ce titrage, même en urgence. Nous utilisons des plasmas déficients en FVIII contenant du VWF différents. Nos techniques de dosage du FVIII sont différentes (Automated APTTT et TCK, déficients différents) mais réalisées sur le même type d'automate Nous avons été confrontées sur un des sites à un taux après reconstitution de l'ampoule supérieur à celui attendu. D'autres équipes ont rencontré le même problème (non publiés) et il n'est pas encore possible de déterminer la part de la dilution manuelle, de la conservation ou des réactifs utilisés pour le dosage. Nous envisageons de faire des titrages sur des mêmes échantillons en interlaboratoire pour valider notre pratique. De ces expériences nous retenons que l'aspect biologique ne doit pas être un frein à l'utilisation du susoctogog alfa en cas de besoin.

00050 - Sécurité d'emploi et efficacité de la prophylaxie par le concizumab en relai d'un traitement à la demande par rFVIIa : résultats de sous-analyse de l'essai de phase 2 explorer4 chez des patients atteints d'hémophilie A ou B sans inhibiteurs

A. Lienhart[1], A. Shapiro[2], K. Cepo[3], S.M. Tønder[3], G. Young[2], V. Jiménez-Yuste[4]

[1] (France),
[2] (United States),
[3] (Denmark),
[4] (Spain)

Introduction : L'essai explorer4 (NCT03196284) était un essai de phase 2 visant à établir la preuve de concept clinique pour le concizumab (anticorps monoclonal inhibiteur de la voie du facteur tissulaire [TFPI]) une fois par jour par voie sous-cutanée pour la prévention des hémorragies dans l'hémophilie A/B avec inhibiteurs (HAwI/HBwI).
L'objectif est d'évaluer la sécurité d'emploi et l'efficacité chez des patients passés d'un traitement à la demande par FVII activé recombinant (rFVIIa) dans la partie principale de l'étude explorer4 à une prophylaxie quotidienne par le concizumab dans l'étude d'extension.

Matériels et Méthodes : Les patients, randomisés selon un ratio de 2:1, ont reçu une prophylaxie quotidienne par concizumab ou rFVIIa à la demande pendant la partie principale de l'essai explorer4 (≥24 semaines). Pendant l'étude d'extension (56-94 semaines), les patients sous traitement à la demande sont passés à une prophylaxie par 0,15 mg/kg de concizumab (après une dose de charge de 0,5 mg/kg), avec la possibilité de porter la dose à 0,20 et 0,25 mg/kg (si ≥3 hémorragies spontanées traitées étaient survenues dans les 12 semaines). Le taux d'hémorragie annualisé (ABR) a été estimé sur la base d'une régression binomiale négative. Les résultats sont présentés au dernier niveau de dose de concizumab.

Résultats : Huit patients (6 HAwI, 2 HBwI) ont été inclus à cette sous-analyse. Deux patients sont restés sous 0,15 mg/kg de concizumab, 3 sont passés à 0,20 mg/kg et 3 à 0,25 mg/kg. Un patient a rempli le critère de manque d'efficacité défini dans le protocole à la dose de 0,25 mg/kg et a été exclu. L'ABR moyen estimé (intervalle de confiance [IC] 95 %) a été de 19,2 (10,7 ; 34,2) vs 4,9 (2,4 ; 10,0) pour le traitement à la demande et la prophylaxie par concizumab, respectivement. L'ABR moyen estimé pour les hémorragies spontanées et articulaires (IC 95 %) a diminué de 17,0 (9,7 ; 29,8) à 2,5 (1,1 ; 5,7) et de 14,8 (8,1 ; 26,9) à 3,0 (1,3 ; 6,9), respectivement. Trois patients n'ont pas eu d'hémorragies au dernier niveau de dose de concizumab (durée d'exposition : 212, 115, 303 jours). Il n'y a pas eu de signaux de sécurité après passage au concizumab.

Conclusion : La sécurité d'emploi et l'efficacité, pour les patients de l'essai explorer4 passés du rFVIIa à la demande à une prophylaxie par concizumab ont confirmé les résultats de l'essai principal/partie d'extension, avec une efficacité maintenue à plus long terme et un profil de sécurité d'emploi favorable sous concizumab.

00055 - Real-world clinical and patient-centric outcomes in people with haemophilia A in France: findings from the CHESS II study

K. Legendre[1], A. Shaikh[2], T. Burke[3], C. Hawes[4], G. Duport[1], J. O'hara[2], C. Camp[4]

[1] - Paris (France),
[2] - Daresbury (United Kingdom),
[3] - Chester (United Kingdom),
[4] - London (United Kingdom)

Introduction : Haemophilia A (HA; factor VIII [FVIII] deficiency), characterized by prolonged trauma-related and/or spontaneous intra-articular bleeding events, is associated with adverse impacts on physical functioning and quality of life (QoL). The breadth of clinical and patient-relevant outcomes/experiences of people with HA (PWHA) in France – and variation between those with mild, moderate and severe HA – is not well understood. The aim is to examine demographic, clinical and patient-centric outcomes across condition severity among adult PWHA in France, as captured in the 'Cost of Haemophilia in Europe: a Socioeconomic Survey - II' (CHESS II) study.

Matériels et Méthodes : Data for non-inhibitor PWHA living in France were extracted from CHESS II and stratified based on clinician-reported baseline endogenous FVIII. Participant demographics, clinical outcomes (annualized bleeding rate (ABR)), incidence of target joints (ISTH definition) and joints exhibiting symptoms of chronic damage ('problem' joints), treatment regimen and QoL (EQ-5D-5L index score) were assessed. Outcomes by HA severity were compared using descriptive statistics. Study methodology and interpretation of results were informed by a representative from l'Association Française des Hémophiles (AFH) patients' organisation.

Résultats : Sixty PWHA were included in the analysis (mild n=10, moderate n=19, severe n=31) with a mean age of 26 years. Forty-

five percent of participants were full-time students; for the remainder of the cohort, full-time employment decreased with increasing HA severity (Table 1). Prophylaxis regimens were most common for participants with severe HA. Low incidence was observed for all clinical outcomes, and only target joint incidence increased with increasing severity of HA. EQ-5D-5L index scores were similar across subgroups (Table 2).

Conclusion : Real-world data from the CHESS II provides preliminary insights into the clinical outcomes and QoL of PWHA in France. Subjects enrolled comprised a young cohort of PWHA with low reported incidence of clinical outcomes and high QoL. Further data is needed to contextualize the burdens experienced by PWHA in France.

Table 1: Cohort demographics by condition severity

	Mild (n = 10)	Moderate (n = 19)	Severe (n = 31)	TOTAL (n = 60)
Age (mean ± SD)	25.10 ± 4.43	23.68 ± 4.89	28.48 ± 12.99	26.40 ± 10.05
Body Mass Index, BMI (mean ± SD)	23.35 ± 2.65	25.03 ± 1.96	23.83 ± 2.18	24.13 ± 2.25
Employment status (n [% of subjects])				
Employed full time	6 [60%]	6 [32%]	6 [19%]	18 [30%]
Employment part-time	0 [0%]	1 [5%]	2 [6%]	3 [5%]
Self-employed	0 [0%]	0 [0%]	2 [6%]	2 [3%]
Unemployed	1 [10%]	0 [0%]	1 [3%]	2 [3%]
Student	3 [30%]	8 [42%]	16 [52%]	27 [45%]
Other	0 [0%]	4 [21%]	4 [13%]	8 [14%]

Table 2: Treatment strategy, clinical and patient

	Mild (n = 10)	Moderate (n = 19)	Severe (n = 31)	TOTAL (n = 60)
Receiving factor replacement therapy	3 [30%]	5 [26%]	31 [100%]	39 [65%]
Primary on-demand	3 [100%]	3 [60%]	8 [26%]	14 [36%]
Primary prophylaxis	0 [0%]	0 [0%]	2 [6%]	2 [5%]
Secondary on-demand	0 [0%]	2 [20%]	7 [23%]	9 [23%]
Secondary prophylaxis	0 [0%]	0 [0%]	14 [45%]	14 [36%]
Annualised bleed rate (mean ± SD)	1.40 ± 0.97	1.06 ± 0.94	2.94 ± 2.35	2.10 ± 2.01
Target joints (mean ± SD)	0.10 ± 0.32	0.11 ± 0.46	0.68 ± 1.05	0.40 ± 0.85
'Problem' joints (mean ± SD)	0.10 ± 0.32	0.00 ± 0.00	0.19 ± 0.48	0.12 ± 0.37
EQ-5D-5L (sample (n); mean ± SD)	3; 0.98 ± 0.02	8; 0.96 ± 0.04	22; 0.96 ± 0.06	33; 0.96 ± 0.05

00056 - Early real-world experience with emicizumab and concomitant factor VIII treatments in adults with hemophilia A in the US

K. Legendre[1], L. Cafuir[2], A. Estrin[3], E. Chen[4], D. Hinds[4], P. Prince[3], J. Thorburn[3], H. Mead[4], C. Kempton[2]

[1] Paris (France),
[2] Atlanta (United States),
[3] New York (United States),
[4] San Rafael (United States)

Introduction : Real-world studies of emicizumab use tend to describe the overall hemophilia population, with limited data focusing on the adult population without inhibitors. With the advent of novel therapeutics, such as gene therapy, understanding healthcare resource utilization (HCRU) and cost of emicizumab use in specific populations is needed.

Matériels et Méthodes : Adult males with hemophilia A (PwHA) and without inhibitors who initiated emicizumab were identified using IBM MarketScan claims data after 10/4/2018 (approval date for emicizumab in PwHA without inhibitors). Patients were indexed on their first emicizumab claim; and were required to be enrolled ≥180 days prior to and ≥90 days after index date with ≥90 days of continuous use. Patients were followed until emicizumab discontinuation, health plan disenrollment, or end of data (12/31/2020). HCRU and costs were reported overall and among patients with prior factor VIII (FVIII) prophylaxis. All-cause HCRU, including emicizumab and FVIII use, and annualized costs were assessed over both the induction period (month 1) and maintenance period (months 2+).

Résultats : 71 patients who initiated emicizumab (FVIII prophylaxis subgroup: 52) were identified; the mean age was 35 (subgroup: 34) years with follow-up of 12.0 (subgroup: 11.1) months. At baseline, the annualized all-cause total cost was $532,948 (subgroup: $645,727). 68% (subgroup: 73%) had at least one FVIII fill over the follow-up period, with a mean of 0.37 (subgroup: 0.46) fills per month during induction, and 0.17 (sub-group: 0.21) during maintenance. Most patients had ≥1 outpatient encounter per month, however total HCRU spend was mostly driven by treatment cost. The annualized mean cost was $50,491 (subgroup: $61,512) for FVIII treatment, $777,171 (subgroup: $793,168) for emicizumab and FVIII treatment, and $808,617 (subgroup: $814,592) for mean all-cause total cost.

Conclusion : This study highlights the continued burden of treatment and healthcare cost for PwHA without inhibitors despite advances in treatment options.

00058 - Hémophiles demandeurs d'asile : expérience strasbourgeoise

J. Wimmer[1], L. Sattler[1], T. Collin[2], L. Lopez[2], L. Rabotin[2], A.C. Gerout[3], O. Feugeas[2], D. Desprez[2]

[1]Laboratoire d'hématologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France),
[2]Centre de Ressource et de Compétence des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France),
[3]Service de Pharmacie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France)

Introduction : D'après les dernières données de la fédération mondiale de l'hémophilie, près de 400 000 personnes atteintes de cette affection ne bénéficient pas d'une prise en charge optimale. Naturellement, cette situation est susceptible de les inciter à quitter leur pays d'origine vers d'autres destinations présentant un système de santé offrant potentiellement une meilleure prise en charge. Actuellement, nous ne disposons d'aucune donnée épidémiologique relative aux hémophiles en situation de demande d'asile en France. En hébergeant le siège du parlement européen et de la cour européenne des droits de l'homme, Strasbourg semble constituer une destination privilégiée par ces derniers.

Matériels et Méthodes : Au cours de la dernière décennie, le centre de ressource et de compétence des maladies hémorragiques constitutionnelles (CRC-MHC) des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS) a pris en charge 10 hémophiles A sévères (HAS) et 3 hémophiles mineurs. A ce jour, 8 des 10 patients HAS sont suivis régulièrement, les 2 autres ayant quitté la région ou ayant été extradé. Avec un âge médian de 33 ans (14-40 ans) à leur arrivée en France, ces patients sont issus de différents pays. En effet, cette cohorte est composée de quatre patients géorgiens, un ukrainien, un algérien, un syrien et d'un sénégalais. Le motif d'émigration était majoritairement médical, à l'exclusion des patients syrien et ukrainien ayant fui leurs pays en guerre. Parmi ces huit patients, trois sont venus en France accompagnés de leurs parents ou épouse. De plus, aucun ne bénéficiait d'une prophylaxie substitutive au moment de l'arrivée en France et tous souffraient d'arthropathie évolutive quel que soit leur âge, avec des délabrements osseux importants. De surcroît, deux patients présentaient une infection active par le virus de l'hépatite C et quatre étaient en état de dénutrition.

Résultats : Une fois leur prise en charge médicale rendue possible après leur enregistrement préalable auprès de la permanence d'Accès aux Soins de Santé des HUS (nommée la Boussole), un suivi régulier a été mis en place avec instauration d'une prophylaxie. Les injections sont réalisées en hôpital de jour pour 6 patients qui bénéficiaient hebdomadairement de kinésithérapie et depuis peu d'activité physique adaptée. Leur compliance est parfaite. Deux patients ont bénéficié de chirurgie orthopédique avec mise en place de prothèse de genou et de hanche. Concernant l'aspect social de leur prise en charge, une assistante sociale, attachée au CRC-MHC, informe et oriente les patients en fonction des besoins repérés. Un accompagnement associatif par la Croix-rouge française et l'association française de l'hémophilie n'a été effectif que pour les patients syrien et ukrainien. Les conditions restent

précaires pour 3 patients résidant en hôtel social et se trouvant toujours en situation irrégulière. Seul le patient sénégalais travaille et parle couramment français. L'isolement social reste majeur pour le patient syrien qui est le seul à suivre une thérapie.

Conclusion : La prise en charge de ce type de patient représente une charge de travail conséquente par l'équipe du CRC-MHC mais reste gratifiante en regard de la reconnaissance exprimée par les patients. Un partage d'expérience sur le plan national pourrait être intéressant pour quantifier et tenter d'améliorer cette situation particulière.

00061 - Réponse pharmacodynamique à la desmopressine chez les conductrices de l'hémophilie A dans une large cohorte nationale

B. Guillet[1], R. D'oiron[2], M. Trossaert[3], B. Wibaut[4], B. Pan-Petesch[5], F. Volot[6], B. Frotscher[7], L. Ardillon[8], S. Desage[9], H. Chambost[10], C. Biron-Andreani[11], S. Girault[12], B. Tardy[13], S. Castet[14], X. Delavenne[13]

[1]CRC-MHC - Rennes (France),
[2]CRC-MHC - Bicêtre (France),
[3]CRC-MHC - Nantes (France),
[4]CRC-MHC - Lille (France),
[5]CRC-MHC - Brest (France),
[6]CRC-MHC - Dijon (France),
[7]CRC-MHC - Nancy (France),
[8]CRC-MHC - Tours (France),
[9]CRC-MHC - Lyon (France),
[10]CRC-MHC - Marseille (France),
[11]CRC-MHC - Montpellier (France),
[12]CRC-MHC - Limoges (France),
[13]CRC-MHC - Saint Etienne (France),
[14]CRC-MHC - Bordeaux (France)

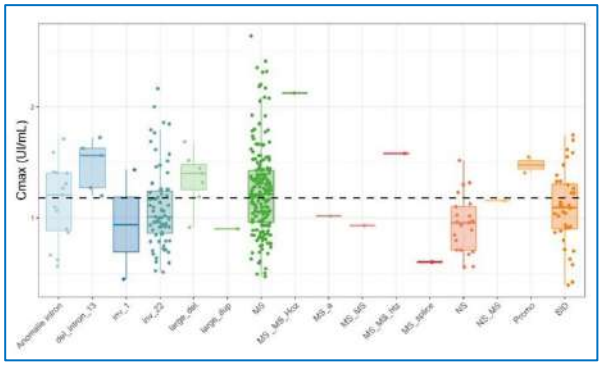
Introduction : La desmopressine (DDAVP) est indiquée chez les conductrices d'hémophilie A (CHA) pour augmenter leur taux de facteur VIII (FVIII), mais avec une grande variabilité interindividuelle dont les raisons ne sont pas totalement comprises. L'étude GIDEHAC recherche ces facteurs influençant la réponse du facteur VIII et du facteur Willebrand antigène (VWF) à la DDAVP intraveineuse chez des CHA.

Matériels et Méthodes : Des CHA avec génotypage F8 et test DDAVP réalisées, ont été incluses rétrospectivement avec recueil des taux de FVIII avant/après DDAVP, dose administrée, poids, taux de VWF, groupe sanguin et génotype F8. Les taux de FVIII et VWF ont été analysées de façon conjointe par approche compartimentale par modèles non-linéaires à effets mixtes (logiciel MONOLIX v2021, lixsoft). A partir du modèle développé, les paramètres pharmacocinétiques (PK) individuels ont été estimés par approche Bayésienne. Les données PK du FVIII et VWF ont été décrites selon un modèle de réponse indirecte. Les productions endogènes de FVIII et VWF ont été décrites par des constantes d'ordre 0, et leurs éliminations par des constantes d'ordre 1.

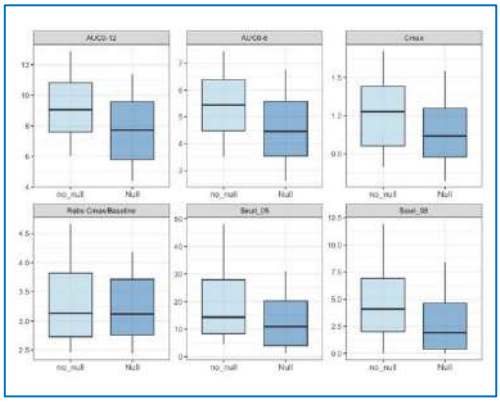
Résultats : Un total de 398 CHA a été inclus par 14 centres français, d'âge médian 25 ans. La sévérité de l'HA chez les apparentés masculins est sévère (42%), modérée (15%) et mineure (41%). Le FVIII basal médian= 0,34 IU/mL avec ratio FVIII/VWF= 0,4. La mutation F8 est nulle chez 141/361. Le groupe sanguin est O chez 215/350. Après une dose médiane de DDAVP de 0,3 µg/Kg, le pic FVIII médian= 1,09 IU/mL et le rendement FVIII médian= 2,8. Les temps médians prédits avec FVIII>0,5 IU/mL et >0,8 IU/mL sont respectivement 17h et 4,5h. Le FVIII basal est corrélé au pic FVIII mais avec une grande variabilité (r2=0,274).
Grâce aux estimations PK individuelles, différents facteurs de variabilités du FVIII post DDAVP ont été identifiés. Un effet inhibiteur du taux de VWF sur l'élimination du FVIII existe selon un modèle du Imax avec concentration inhibitrice de 50% de la clairance du FVIII d'environ 1 UI/mL comme déjà observé avec des concentrés de FVIII ou de VWF. Le poids affecte significativement le volume de distribution et la clairance des FVIII et VWF. Le groupe sanguin O est associé à une clairance 20% inférieure du VWF vs non O, affectant la clairance du FVIII. Les génotypes F8 influencent le pic (Fig 1) et l'AUC du FVIII. Le groupe des mutations Nulles est significativement associé vs Non-Nulles à une valeur médiane plus basse du pic FVIII (1,00 vs 1,25 IU/mL), de l'AUC à 12h (7,5 vs 9 IU/mL.h) et du temps prédit avec FVIII>0,5 IU/mL (10 vs 15h) et >0,8 IU/mL (2 vs 4h) (Fig 2).

Conclusion : La réponse FVIII à la DDAVP chez les CHA subit l'influence forte des VWF, poids, groupe sanguin et génotype F8. Le test thérapeutique à la DDAVP est nécessaire chez les CHA à taux FVIII bas, mais un outil d'estimation Bayésien prenant en compte ces différents facteurs pourrait permettre une évaluation de la réponse à la DDAVP en limitant le nombre de prélèvements.

Pic FVIII après DDAVP en fonction du génotype F8



PK FVIII post-DDAVP et variant F8 Nul vs Non-Nul



00077 - Impact du confinement lié à la pandémie COVID 19 sur la population hémophile pédiatrique et adulte suivie au CRC-MHC de Dijon

F. Volot[1], A. Callegarin[1], A. Soudry-Faure[2], E. Ksiazek[2], S. Delienne[1], Y. Cottin[3], M. Maynadié[4], M. Boulin[5]

[1]CRC MHC Chu Dijon - Dijon (France),
[2]DRCI, Unité de Soutien Méthodologique à la Recherche - Dijon (France),
[3]Département de Cardiologie - Dijon (France),
[4]Département d'hématologie Biologique, Registre des Hémopathies Malignes, Inserm U1231 - Dijon (France),
[5]Département de la Pharmacie et Epicad LNC UMR1231 - Dijon (France)

Introduction : La pandémie de COVID 19 a créé une crise sanitaire mondiale sans précédent. Des craintes existaient sur la prise en charge durant cette période de patients atteints de maladie chronique.
Le CRC-MHC de Dijon a souhaité évaluer l'impact du 1er confinement sur sa cohorte de patients hémophiles en termes de symptomatologie hémorragique, prise en charge, adhérence au traitement, santé mentale et mode de vie.

Matériels et Méthodes : Une enquête prospective, transversale, téléphonique utilisant 2 questionnaires un général et un spécifique à l'hémophilie et à l'âge a été réalisée au CRC- MHC de Dijon du 5 mai 2020 au 2 juin 2020 (CLEO CD study : NCT04390126).

Résultats : Parmi les 284 patients hémophiles A et B suivis et contactés pour cette étude, 239 (84%) ont accepté de participer dont 183 adultes et 56 enfants.

Sur les 239 patients, 221 (92%) vivaient dans une maison avec jardin ou dans un appartement avec une terrasse. 144 (60%) patients vivaient en zone rurale et seulement 29 (16%) des adultes vivaient seuls.
Chez 78% des adultes et 81% des enfants, les saignements ont été inchangés ou diminués.
82% des adultes et 98.2% des enfants ont été adhérents à leur traitement. Pour les patients en traitement prophylactique, la non adhérence a concerné les concentrés anti hémophiliques à durée de vie prolongée chez 6 patients, ayant pour la plupart diminué leur activité physique (n=4), ou professionnelle (n=1), ou par crainte de pénurie de médicaments (n=1). Les patients ayant espacé leur traitement prophylactique avaient tous bénéficié d'une courbe de pharmacocinétique et leurs résultats permettaient cet espacement en toute sécurité. Parmi les 181 patients prenant un traitement antalgique, 3 soit 2% ont diminué leur prise par peur des effets secondaires si un COVID survenait.
Globalement, 67% des adultes et 71% des enfants se sont sentis aussi bien qu'avant le confinement. 84% des adultes ne souffraient pas de détresse psychologique (score de Kessler : K6<5).74% des adultes et 70% des enfants ont déclaré qu'ils se sentaient bien ou très bien.
Aussi bien pour les adultes que pour les enfants, les 3 principaux changements de comportement délétères concernaient l'augmentation de temps passé devant un écran (49% et 57%), la diminution de l'activité physique (43% et 48%), et la prise de poids (32% et 27%)

Conclusion : Le CRC-MHC de Dijon a appliqué pendant cette période les recommandations de la WFH et du CRMH pour la prise en charge et le suivi des patients. Peu de données existent sur l'impact de la COVID 19 dans la population hémophile et leur prise en charge. Un impact négatif du confinement a été observé sur certains changements de comportement chez 43% des adultes et 48% des enfants. Par contre, nos résultats sont encourageants en ce qui concerne les symptômes hémorragiques qui sont restés inchangés ou diminués, l'adhérence au traitement satisfaisante et la santé mentale.

00084 - Déficit en facteur X et TCA normal chez une patiente enceinte : à propos d'un cas

V. Ernest[1], C. Falaise[1], N. Hezard[1], C. Bernard[1], L. Methlin[1], C. Pouymayou[1], P. Suchon[1], H. Chambost[2], L. Petit-Jean[3], M. Ibrahim[1], P.E. Morange[1]

[1]Laboratoire d'hématologie et d'hémostase, CHU La Timone - Marseille (France),
[2]Service d'hématologie Pédiatrique, CHU La Timone Enfants - Marseille (France),
[3]Service de Gynécologie-Obstétrique, CH Régional - Avignon (France)

Introduction : Le déficit en facteur X est une pathologie hémorragique constitutionnelle rare de transmission autosomique récessive. Le phénotype hémorragique varie de formes asymptomatiques à des manifestations hémorragiques sévères. Le registre national FranceCoag (mise à jour du 29/03/2022) répertorie 35 patients porteurs d'un déficit en facteur X (< 10%), d'âge médian 33 ans, dont 17 femmes.

Matériels et Méthodes : Nous rapportons le cas d'une patiente de 24 ans présentant un déficit sévère en facteur X de découverte fortuite au 9e mois de sa grossesse. Cette patiente est adressée en consultation d'hémostase spécialisée à 38 semaines d'aménorrhée (SA) pour l'exploration d'une diminution du TP à 21%. Elle est issue d'une union consanguine : ses parents sont cousins germains. L'examen ne retrouve pas de syndrome hémorragique spontané (score ISTH-BAT à 1, score de Higham à 80), ni provoqué (antécédent d'interruption volontaire de grossesse médicamenteuse et d'avulsion de dents de sagesse sans complication hémorragique). Elle n'aurait pas eu de bilan d'hémostase antérieur. Le TCA est normal (APTTr = 1,0 et TCKr = 1,0), de même que la génération de thrombine (FT5pm ETP = 2093nmol/min). Le dosage des cofacteurs montre un déficit isolé en facteur X (2%), les facteurs II, V, VII sont normaux (87%, 99% et 177% respectivement). Le facteur VIII est à 377%. La recherche d'anticorps anti-facteur X est négative. L'analyse moléculaire par Sanger ne retrouve pas la mutation Padoue du facteur X (Arg251Trp). Nous avons contre-indiqué l'anesthésie péri-médullaire sans préférence pour le mode d'accouchement (voie basse ou césarienne). La patiente a accouché en maternité niveau IIb par voie basse, spontanément à 41 SA et 4 jours, sous traitement préventif par complexe prothrombinique humain (PPSB) OCTAPLEX® à la posologie de 15UI/kg administré à dilatation complète, renouvelé à 24, 48 et 72 heures. Elle n'a pas présenté de complication hémorragique. L'objectif hémostatique a été atteint (FX : 10%, 17% et 20% et TP à 40%, 54% et 57% respectivement à 24h, 48h et 72h).

Conclusion : Le déficit en facteur X expose à des complications obstétricales potentiellement graves. Malgré l'absence d'antécédent hémorragique, nous avons choisi d'administré un traitement préventif par PPSB (quantités variables de facteur X), les concentrés de facteur X dérivé du plasma (pd-fX) n'étant disponibles en France que dans le cadre d'autorisation d'importation. Le déficit en facteur X s'accompagnant classiquement d'une diminution du TP et d'un allongement du TCA, le cas présenté surprend par la normalité du TCA et de la génération de thrombine. Il illustre la diversité de phénotypes biologiques pouvant s'associer au déficit en facteur X : allongement isolé du TCA (mutation Melbourne), diminution isolée du TP (mutation Padoue). Nous avons écarté la présence d'une mutation Padoue par méthode Sanger. Les résultats du NGS seront discutés à l'occasion de cette présentation.

00085 - Hémorragie sous anticoagulant oral direct : un mode de révélation inhabituelle d'un déficit sévère en facteur V

Z. Guilbert[1], C. Ladislas[1], S. Malika[2], P. Fabien[2], P. Lucile[2], F. Michaela[3], D. Jérôme[1], P. Valérie[4]

[1]Service Hématologie Biologique et Hémostase Clinique, Hôpital Cochin, AP-HP.Centre-Université Paris Cité - Paris (France),
[2]Service de Cardiologie, Hôpital Cochin, AP-HP.centre-Université Paris Cité - Paris (France),
[3]Service Hématologie Biologique et Hémostase Clinique, Hôpital Cochin, AP-HP.Centre-Université Paris Cité et Institut Cochin, CNRS UMR8104, Inserm U1016 - Paris (France),
[4]Service Hématologie Biologique et Hémostase Clinique, Hôpital Cochin, AP-HP.Centre-Université Paris Cité; CRC-Inserm Umrs 1138 - Paris (France)

Introduction : Les anticoagulants oraux directs (AOD) sont largement utilisés en cardiologie en raison de leur efficacité sans nécessité de surveillance biologique, et de leur risque hémorragique moindre comparé aux antagonistes de la vitamine K. Nous rapportons le cas d'un patient sous AOD chez qui des anomalies biologiques découvertes au décours d'une hémorragie post-traumatique ont abouti à la découverte d'un déficit sévère en facteur V (FV) de la coagulation.

Matériels et Méthodes : Patient : homme de 81 ans, multiples antécédents chirurgicaux (prothèse totale de hanche, kyste pylonidal, exérèse cutanée) et médicaux (rhumatisme psoriasique, hypertension artérielle, diabète de type II), traité par AOD (apixaban 5 mgx2/j) et cordarone pour fibrillation auriculaire (FA) depuis 14 ans (CHA2DS2VAC=4). Il n'a aucun antécédent personnel ou familial hémorragique. Il se présente aux urgences après une chute de vélo pour hématome extensif de la cuisse droite avec flexion limitée du genou.

Résultats : Un hématome des parties molles de la cuisse droite est objectivé en tomodensitométrie (TDM : 3,2x8,2x11 cm) : des soins locaux et des antalgiques sont prescrits et le patient retourne à domicile sans modification de traitement (hémoglobine, Hb : 12,7 g/dL). Deux jours plus tard, il est à nouveau admis aux urgences pour majoration de la limitation de la marche et douleurs thoraciques : le patient reçoit 3 culots globulaires (CGR) en raison de la déglobulisation (Hb : 7,5 g/dL) et du PPSB devant les anomalies biologiques (TP : 20%, ratio TCA : 2,56, fibrinogène : 3,8 g/L) attribuées initialement au traitement par AOD qui est arrêté

malgré l'absence de surdosage. Quatre jours après, un nouvel épisode de déglobulisation nécessite la transfusion de 2 CGR pour stabiliser le taux d'Hb (Hb : 7,6 puis 9,8 et 14,1 g/dL). Les anomalies de l'hémostase persistant malgré l'arrêt du traitement (TP : 28%, ratio TCA : 1,96, activité anti-Xa <18 ng/ml), leur exploration donne les résultats suivants : FV <3%, FII : 93%, FVII : 104%, FX : 82%, FVIII : 108%. La recherche d'inhibiteur anti-FV est négative et l'indice de Rosner est à 2%. Les constantes biochimiques sont normales. En raison du risque thrombo-embolique élevé (FA, CHA2DS2VAC=4) et hémorragique majoré chez ce patient (FV<3%, accident hémorragique grave sous AOD), une fermeture percutanée de l'auricule gauche est préférée à une anticoagulation au long cours. Six mois après la chirurgie, la prothèse est en place et il n'y a pas de thrombus auriculaire à la TDM cardiaque.

Conclusion : La découverte inattendue d'un déficit sévère en FV chez un patient sous AOD à l'occasion d'un épisode hémorragique grave a modifié la prise en charge de sa FA en faisant privilégier une fermeture percutanée de l'auricule gauche à un traitement par AOD au long cours. Ce cas souligne l'importance de la recherche d'anomalie constitutionnelle de l'hémostase chez les patients sous AOD présentant des manifestations hémorragiques disproportionnées en dehors d'un surdosage.

00089 - Traitement par ibrutinib d'une maladie de Waldenström compliquée d'un syndrome de Willebrand acquis : à propos d'un cas

A. Dupont[1], A. Butelet[1], E. Jeanpierre[1], M. Srour[2], A. Bauters[3], M. De Charette[4], S. Poulain[5], S. Susen[1]

[1]Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1011 Egid - Lille (France),
[2]Service des Maladies du Sang, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille - Lille (France),
[3]Laboratoire d'hémostase, CHU de Lille - Lille (France),
[4]Service d'hématologie, Centre Hospitalier Universitaire de la Réunion, - Saint Denis (France),
[5]Laboratory of Hematology, Biology and Pathology Center, CHU of Lille, Inserm UMR S 1177, Team 4, Cancer Research Institute, - Lille (France)

Introduction : La maladie de Waldenström (MW), syndrome lymphoprolifératif B caractérisé par une infiltration médullaire de lymphoplasmocytes et la production d'une IgM monoclonale, s'accompagne dans environ 13% des cas d'un syndrome de Willebrand acquis (SWA) qui peut se manifester par un syndrome hémorragique cutanéomuqueux. L'ibrutinib, inhibiteur de première génération de la tyrosine kinase de Bruton (BTK) est désormais indiqué en monothérapie dans la MW en deuxième ligne de traitement. Les patients sous ibrutinib présentent fréquemment des complications hémorragiques cutanéomuqueuses généralement modérées liées à un défaut fonctionnel des plaquettes sur les voies d'activation dépendantes de la BTK. L'utilisation de l'ibrutinib chez un patient atteint de SWA reste donc controversée et les très rares cas rapportés dans la littérature ne décrivent pas la cinétique d'évolution des marqueurs biologiques liés à la MW et au SWA après induction du traitement par ibrutinib.

Matériels et Méthodes : Nous décrivons le cas d'une patiente âgée de 75 ans présentant une MW en rechute après une immunochimiothérapie compliquée d'un SWA et traitée par ibrutinib (280 mg/j pendant 1 mois puis 420 mg/j). Un prélèvement sanguin a été réalisé avant et 1, 2, 3, 4, 5, 8 et 12 mois après le début du traitement par ibrutinib. Nous avons évalué, à chaque temps, la concentration sérique d'IgM monoclonale, les fonctions plaquettaires et le facteur Willebrand (VWF) (taux antigénique (VWF:Ag), activité (VWF:Act), multimères et propeptide (VWF:pp), recherche d'anticorps anti-VWF).

Résultats : Avant mise sous traitement par ibrutinib, la patiente présente le bilan suivant : IgM monoclonale 41 g/L, VWF:Act 21%, VWF:Ag 17%, profil multimèrique du VWF normal, VWF:pp 78% et VWF:pp/VWF:Ag 4,5, indicateur d'une clairance accrue du VWF et absence d'anticorps anti-VWF. Nous observons dès le premier mois de traitement une diminution de la concentration d'IgM monoclonale et une augmentation du VWF:Ag et du VWF:Act (respectivement, 40 et 47%). Après 2 mois, le VWF:Ag, le VWF:Act et le VWF:pp se sont normalisés. Après un an de traitement par ibrutinib, la concentration d'IgM monoclonale a diminué de 90% et les paramètres du VWF sont restés dans les valeurs normales, aucun évènement hémorragique n'a été signalé par la patiente et la tolérance au traitement est excellente. Nous observons par contre la persistance d'un temps de latence augmenté pour l'agrégation des plaquettes en réponse au collagène 1,25 µg/ml, marqueur de l'effet de l'ibrutinib sur les fonctions plaquettaires.

Conclusion : Cette observation montre que la présence d'un SWA chez un patient atteint de MW ne doit pas contre-indiquer l'utilisation de l'ibrutinib. La réponse obtenue avec l'ibrutinib dans ce contexte est excellente même après un an de traitement sans majoration du risque hémorragique. Ces données devront être confirmées dans une cohorte plus importante de patients. Il sera également nécessaire de préciser la place du suivi biologique de l'hémostase primaire dans ce contexte.

00093 - Hémophilie acquise du péri-partum : à propos d'un cas

S. Desage[1], E. Jousselme[2], A. Dericquebourg[2], S. Meunier[1], V. Chamouard[1], C. Nougier[2], Y. Dargaud[1], A. Lienhart[1]

[1]Unité d'hémostase Clinique, Hôpital Louis Pradel, Hospices Civils de Lyon - Bron (France),
[2]Laboratoire d'hématologie, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon - Bron (France)

Introduction : L'hémophilie acquise du post-partum est une pathologie rare avec une incidence estimée de 1 cas pour 350 000 naissances. Dans le registre EACH2, 42 cas d'hémophilies acquises liées à la grossesse ont été rapportés, avec un délai moyen au diagnostic de 89 jours après l'accouchement. Dans ce registre, une seule patiente a bénéficié d'un diagnostic pendant la grossesse. Des agents bypassants ont été prescrits pour le traitement des manifestations hémorragiques et 39 patientes ont reçu un traitement immunosuppresseur. Nous rapportons le diagnostic et la prise en charge d'une patiente ayant présenté une hémophilie A acquise diagnostiquée dans le péri-partum.

Résultats : Il s'agit d'une patiente de 34 ans, G3P0, admise à 37 SA d'une grossesse gémellaire pour mise en travail spontanée. Un allongement isolé du TCA avait été mis en évidence 15 jours auparavant et a été confirmé le jour de l'admission. Le facteur VIII était à 36% en technique chronométrique et à 66% en technique chromogénique, avec un inhibiteur anti-VIII à un titre de 0,6 UB/mL. Devant une stagnation du travail, la patiente a bénéficié d'une césarienne sous couvert d'ELOCTA® 50 UI/kg. Les pertes sanguines ont été estimées à 1,3 L et la patiente a également reçu de l'EXACYL®, 3 PFC, 3 CGR et du NALADOR® sur atonie utérine. Un choc hémorragique sur hémopéritoine secondaire à une lésion du ligament rond et à une plaie vésicale a nécessité une reprise chirurgicale à J2. L'ELOCTA® 50UI/kg a été poursuivi toutes les 24h jusqu'à J4 de la reprise. Devant un facteur VIII indosable à 12h de la dernière injection d'ELOCTA®, un traitement par FEIBA® 50 UI/kg a été introduit toutes les 12h à J5 de la reprise chirurgicale, puis espacé à toutes les 24h à J7 et arrêté à J11.
Devant une majoration progressive des métrorragies, la patiente a été à nouveau hospitalisée 20 jours après son accouchement avec une échographie retrouvant de nombreux caillots intra-utérins. Le facteur VIII était à 11% avec un anti-VIII titré à 1 UB/mL. Un traitement substitutif par ELOCTA® 60 UI/kg a été introduit toutes les 12h pendant 3 jours puis toutes les 24h pendant 3 jours. Une intervention chirurgicale a permis le retrait des caillots intra-utérins.
Une corticothérapie à la posologie de 1 mg/kg/j a été introduite pendant la première hospitalisation et une décroissance a été rapidement réalisée devant une mauvaise tolérance. Le titre le plus élevé d'anti-VIII a été mesuré à 1,5 UB/mL et a été obtenu à 5 mois de la prise en charge initiale. Un an après la prise en charge initiale, le facteur VIII est à 41% en technique chronométrique et à 51% en technique chromogénique, avec un inhibiteur non détectable depuis 6 mois.

Conclusion : Ce cas illustre les difficultés diagnostiques initiales ainsi que l'importance du diagnostic et du traitement hémostatique, pour limiter le risque hémorragique lié à l'accouchement. La tolérance de la corticothérapie doit être régulièrement réévaluée chez les patientes présentant une hémophilie acquise liée à la grossesse.

00094 - Emicizumab chez des adultes avec hémophilie A et obésité – Données agrégées de trois études de phase III (HAVEN 1, 3 et 4)

R. D'oiron[1], M. Recht[2], J. Mahlangu[3], M. Minhas[4], B. Trzaskoma[4], M. Shah[4], G. Young[5]

[1]Centre d'hémophilie et des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles Rares, AP-HP, Hôpital Bicêtre, Université Paris-Saclay et Inserm UMR S1176 - Le Kremlin-Bicêtre (France),
*[2]*American Thrombosis and Hemostasis Network **Oregon Health & Science University - *Rochester, Ny **Oregon Health & Science University (United States), [3]University of The Witwatersrand and National Health Laboratory Service - Johannesburg (South Africa),*
[4]Genentech, Inc., South - San Francisco Ca (United States),
[5]Children's Hospital Los Angeles, Keck School of Medicine, University of Southern California - Los Angeles, CA (United States)

Introduction : Une modélisation a montré que le poids corporel est un facteur prédictif important de la pharmacocinétique d'emicizumab. Dans les études HAVEN, le dosage effectif basé sur le poids a permis une prévention efficace des saignements, mais l'impact de l'obésité (indice de masse corporelle [IMC] ≥ 30 kg/m2) n'a pas été évalué. L'objectif était de comparer le taux de saignements annualisé (ABR : annualized bleed rate) et les concentrations résiduelles d'emicizumab parmi des personnes atteintes d'hémophilie A (PHA) adultes obèses et non obèses dans HAVEN 1, 3 et 4, et dans une analyse post-hoc (données présentées à l'ISTH 2021).

Matériels et Méthodes : Un consentement éclairé et l'approbation du comité d'éthique ont été obtenus avant les études HAVEN. Les critères d'inclusion pour cette analyse étaient : ≥ 18 ans ; avec ou sans inhibiteurs anti-FVIII ; ≥ 24 semaines sous emicizumab ; IMC disponible à l'inclusion. Les ABRs de saignements traités ont été analysés sur la période d'étude (par une régression binomiale négative) et à des intervalles de 24 semaines (non ajustés) jusqu'à adaptation de la dose à la hausse pour les personnes concernées. Les concentrations plasmatiques résiduelles moyennes d'emicizumab, mesurées à des temps planifiés pour chaque étude, ont été analysées.

Résultats : Au cut-off des données du 15 mai 2020, 44 (17 %) et 216 (83 %) PHA adultes d'IMC ≥ 30 kg/m2 et IMC < 30 kg/m2 ont été inclus et représentaient une exposition à emicizumab en patients-années de 94,29 et 522,97, respectivement. Pendant la période de l'étude, les ABRs ajustés des PHA adultes étaient de 1,48 (intervalle de confiance à 95 % [IC] : 0,82-2,68) avec IMC ≥ 30 kg/m2 et 1,40 (IC 95 % : 1,06-1,85) avec IMC < 30 kg/m2. Les ABRs étaient similaires entre les deux groupes dans le temps (**Tableau 1**). Des concentrations résiduelles efficaces étaient maintenues dans les deux groupes quel que soit le schéma thérapeutique avec des concentrations > 30 µg/mL. Dans la cohorte avec une dose hebdomadaire, la concentration résiduelle moyenne d'emicizumab (erreur type) était de 51,47 (3,04) µg/mL et de 53,21 (1,18) µg/mL à la 5e semaine suivant la dose de charge pour les PHA adultes d'IMC ≥ 30 kg/m2 (n=27) et < 30 kg/m2 (n=137), respectivement (**Figure 1**).

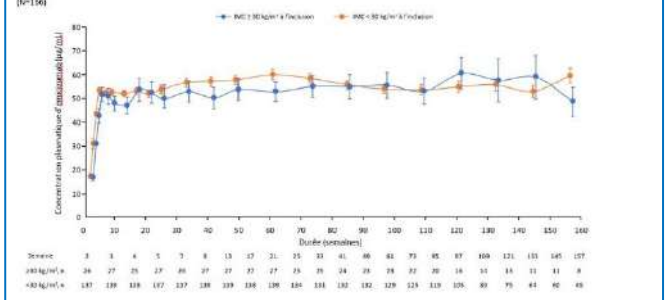
Conclusion : Des concentrations résiduelles efficaces d'emicizumab ont été maintenues chez des PHA adultes obèses et non obèses dans HAVEN 1, 3, et 4, et les ABRs traités étaient similaires entre les deux groupes.

Table 1. Taux non ajusté de saignements annualisés pour les saignements traités parmi des PHA adultes avec et sans inhibiteurs anti-FVIII, avec un IMC mesuré à l'inclusion et recevant emicizumab depuis ≥ 24 semaines dans HAVEN 3, HAVEN 3, ou HAVEN 4, regroupés selon l'IMC à l'inclusion (≥ 30 kg/m² ou < 30 kg/m²), au fil du temps. (N=260)

	IMC ≥ 30 kg/m² à l'inclusion				IMC < 30 kg/m² à l'inclusion			
	Nbre PHA	Nbre PHA avec 0 saignement (%)	Nbre PHA avec ≥ 1 saignement (%)	ABR des saignements traités, moyenne (IC 95 %)	Nbre PHA	Nbre PHA avec 0 saignement (%)	Nbre PHA avec ≥ 1 saignement (%)	ABR des saignements traités, moyenne (IC 95 %)
Semaine 1–24	44	36 (82)	8 (18)	1,38 (0,08–6,22)	216	133 (62)	83 (38)	2,24 (0,32–7,61)
Semaine 25–48	39	30 (77)	9 (23)	0,67 (0,00–4,98)	207	158 (76)	49 (24)	1,02 (0,03–5,60)
Semaine 49–72	36	28 (78)	8 (22)	1,21 (0,05–5,93)	201	160 (80)	41 (20)	0,94 (0,02–5,47)
Semaine 73–96	31	27 (87)	4 (13)	1,54 (0,12–6,49)	175	143 (82)	32 (18)	0,67 (0,00–4,99)
Semaine 97–120	22	18 (82)	4 (18)	0,59 (0,00–4,85)	140	113 (81)	27 (19)	0,84 (0,01–5,29)
Semaine 121–144	19	17 (89)	2 (11)	0,23 (0,00–4,15)	119	95 (80)	24 (20)	0,80 (0,01–5,23)
Semaine 145–168	10	10 (100)	0 (0)	NE	63	50 (79)	13 (21)	0,83 (0,01–5,27)

L'IMC à l'inclusion n'était pas disponible pour une personne dans HAVEN 1.
Chaque intervalle de 24 semaines nécessitait des données disponibles de > 10 PHA adultes pour le calcul de l'ABR ; les données pour des intervalles de temps avec ≤ 10 PHA adultes (Semaine 169 à semaine 216) ne sont pas rapportées ici.
Les PHA avec 0 saignement et ≥ 1 saignement comprennent ceux avec 0 saignement et ≥ 1 saignement, respectivement, dans chaque intervalle de 24 semaines.
Les données sont regroupées quel que soit le schéma thérapeutique, et incluent des PHA recevant emicizumab une fois par semaine, une fois toutes les deux semaines et une fois toutes les 4 semaines.
Les IC à 95 % ont été dérivés de la distribution exacte de Poisson.
Un saignement traité est défini comme un saignement suivi par un traitement pour ce saignement ; les saignements dus à une chirurgie/procédure étaient exclus.
ABR, taux de saignements annualisé ; IMC, indice de masse corporelle ; IC, intervalle de confiance ; NE, non estimé ; PHA, personne atteinte d'hémophilie A.

Figure 1. Moyenne (erreur type) des concentrations résiduelles d'emicizumab chez des PHA avec et sans inhibiteurs anti-FVIII, avec un poids mesuré à l'inclusion et recevant emicizumab depuis ≥ 24 semaines une fois par semaine dans HAVEN 1 ou HAVEN 3, regroupés selon l'IMC à l'inclusion (≥ 30 kg/m² ou < 30 kg/m²), au fil du temps (N=166)



L'IMC à l'inclusion n'était pas disponible pour une personne dans HAVEN 1.
Variance décrite comme erreur type.
La dose hebdomadaire d'emicizumab de maintenance était de 1,5 mg/kg/semaine.
Les concentrations plasmatiques résiduelles d'emicizumab étaient mesurées à des temps définis dans HAVEN 1 et 3 ; les données pour des intervalles de temps avec ≤ 10 PHA adultes (Semaine 158 à semaine 216) ne sont pas rapportées ici.
IMC, indice de masse corporelle ; IC, intervalle de confiance ; PHA, personne atteinte d'hémophilie A.

00095 - Prise en charge d'une transposition des gros vaisseaux chez un nouveau-né hémophile A modéré

S. Desage[1], A. Lienhart[1], C. Nougier[2], V. Chamouard[1], Y. Dargaud[1], S. Meunier[1]

[1]Unité d'hémostase Clinique, Hôpital Louis Pradel, Hospices Civils de Lyon - Bron (France),
[2]Laboratoire d'hématologie, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon - Bron (France)

Introduction : La transposition des gros vaisseaux (TGV) est une cardiopathie cyanogène dont la prévalence est de 32.5/100 000 : le ventricule droit donne naissance à l'aorte et le ventricule gauche à l'artère pulmonaire. Lorsque le diagnostic est anténatal et associé à une cyanose néonatale, une manœuvre de Rashkind doit être réalisée dès le 1er jour pour établir une communication entre les oreillettes gauche et droite, puis une chirurgie de switch artériel est programmée dans la première semaine de vie. Cette chirurgie de switch artériel est réalisée sous CEC. Peu de données existent dans la littérature pour guider la prise en charge des nouveau-nés hémophiles sous CEC. D'après une recherche MeSH Terms sur PubMed réalisée en mars 2022, un seul cas de chirurgie de tétralogie de Fallot chez un hémophile A sévère a été publié en 2021. Nous rapportons la prise en charge hémostatique d'un enfant né avec un diagnostic anténatal de TGV et d'hémophilie A modérée.

Résultats : Il s'agit d'un enfant né à terme d'une maman conductrice d'hémophilie A modérée. Le diagnostic étant anténatal, une réunion multidisciplinaire a été organisée entre cardio-pédiatres, réanimateurs, chirurgiens, gynécologues, hémostasiens, et pharmaciens pour organiser l'accouchement et la prise en charge chirurgicale de cette TGV. Un hôpital de jour a été proposé à la famille avant la naissance pour présenter les différents

intervenants, la structure et les décisions prises pour la procédure. Une césarienne a été programmée à 38 SA et s'est déroulée sans complication. L'APGAR était à 6/9/10 à 1, 5 et 10 minutes. Le dosage du facteur VIII à la naissance a confirmé l'hémophilie A modérée, avec un facteur VIII à 2%. La substitution en facteur VIII, initialement discontinue puis continue, a débuté dès J1 pour permettre la réalisation d'une manœuvre de Rashkind et l'organisation de la chirurgie correctrice sous CEC dans les 7 premiers jours. La substitution a été maintenue pendant 3 semaines en perfusion continue avec une vitesse moyenne de perfusion de 5 UI/kg/h. Pendant toute la période d'hospitalisation, les dosages chromogéniques quotidiens de facteur VIII ont été stables entre 80 et 110%. Il n'y a pas eu de complication hémorragique peropératoire ni de complication thromboembolique. L'évolution a été favorable sur le plan cardiaque et aucun anticorps anti-FVIII n'a été détecté jusqu'à son retour à domicile.

Conclusion : Ce cas de chirurgie cardiaque chez un nourrisson hémophile A modéré illustre la complexité de la prise en charge et la nécessité d'une coordination entre les différents intervenants pour permettre une prise en charge optimale.

00097 - Une présentation atypique d'une maladie de Willebrand de type 2B : à propos de deux cas

K. Guenounou Ghemmour[1], S. Hadjali Saichi[1], I. Frigaa[1]

[1]Centre d'hémobiologie Transfusion Sanguine, Centre Hospitalo-Universitaire - Alger (Algeria)

Introduction : La maladie de Willebrand (VWD) de type 2B est associée à des mutations dans le domaine A1 du VWF, responsables d'une hyper affinité du facteur Willebrand (VWF) pour la GPIbα plaquettaire, avec une l'hyperagrégabilité aux faibles doses de ristocétine, et une diminution des multimères de haut poids moléculaire (MHPM). D'autres formes de VWD 2B ont été décrites, elles se caractérisent par la présence d'une agrégation à faible dose de ristocétine sans anomalies multimériques telles que les types NewYork, Malmo et autres.

Matériels et Méthodes : Nous rapportons le cas des jumeaux K.A et K.I adressés du service de néonatologiepour l'exploration d'un syndrome hémorragique fait d'ecchymoses à J3 de vie. Ils ont bénéficié d'un bilan d'hémostase comprenant un bilan strandard, un dosage du facteur Willebrand sur STAR MAX2, un test de liaison au collagène, une étude de la fonction plaquettaire, des tests RIPA croisés, une étude des multimères du facteur Willebrand et un dosage du propeptide.

Résultats : Le bilan d'hémostase a retrouvé un taux de plaquette normale, TP et TCAnormaux. L'activité cofacteur de la ristocétine était normale et le ratio VWF :RCo / VWF :Ag supérieur à 0,7. L'étude de la fonction plaquettaire a retrouvé une agrégation normale avec tous les agonistes (ADP, collagène, épinéphrine, acide arachidonique et la ristocétine à 1, 5 mg/ml) , on a cependant noté la présence d'une hyper agrégabilité à la concentration de 0,5 mg/ml de ristocétine chez les deux jumeaux. Les tests de mélanges ont mis en évidence une hyperagrégabilité des plaquettes témoins en présence des plasmas des jumeaux à la concentration de 0,5mg/ml confirmant ainsi le diagnostic de la maladie de Willebrand de type 2B. l'étude de la liaison au collagène (VWF :CB) était normale avec un ratio VWF :CB / VWF :Ag supérieur à 0,7. L'étude des multimères a retrouvé une expression normale avec la présence des seize bandes multimériques(ratio MHPM supérieur à 0,7). Le dosage du propeptide était normal. Les jumeaux ont été revus à l'âge de 10 mois, le score ISTH BAT était normal (à 1), les résultats biologiques étaient similaires avec un test RIPA (Ristocetin Induced Platelet Aggregation) positif à la concentration de 0,5 mg/ml de ristocétine comme seule anomalie. En effet cette forme de maladie de Willebrand de type 2B a été décrite par plusieurs auteurs, confirmant ainsi l'importance de l'utilisation du test RIPA comme examen de première intention en combinaison avec VWF :Rco et VWF :Ag pour le diagnostic de toutes les formes de VWD particulièrement les variants de type 2Bdont le taux de l'antigène, l'activité , et la liaison au collagène sont normaux

Conclusion : Les tests génétiques n'étant pas disponibles dans notre pays, nous n'avons pas pu déterminer l'anomalie moléculaire chez les deux nourrissons, l'utilisation des tests RIPA et RIPA croisés nous ont permis de poser le diagnostic de VWD 2B dans sa forme atypique à l'âge néonatal.

00099 - Douleurs musculo-articulaires disséminées intenses – un effet secondaire rare de l'emicizumab ?

A. Fournel[1*], M. Martin[2], B. Frotscher[2]

[1]CRC-MHC Chu Besançon - Besançon (France),
[2]CRC-MHC Chru Nancy - Nancy (France)

Introduction : L'emicizumab est un traitement innovant pour les patients hémophiles A sévères avec et sans inhibiteur. Depuis la mise sur le marché en France, de nombreux patients hémophiles A sévères bénéficient de ce traitement qui présente les avantages de pouvoir être injecté par voie sous-cutanée et ayant une très longue demi-vie permettant des schémas thérapeutiques allégés Les effets secondaires décrits de ce médicament sont peu nombreux.

Matériels et Méthodes : Nous rapportons 2 cas de patients hémophiles A sévères (HAS) sans inhibiteur traités par emicizumab chez lesquels après l'introduction du traitement des douleurs musculo-articulaires disséminées intenses sont apparues progressivement.

Résultats :
1. Il s'agit d'un patient HAS de 80 ans pour lequel une introduction d'emicizumab a été décidée en raison d'un terrain veineux périphérique très pauvre. Environ 3 mois après l'introduction du traitement au schéma thérapeutique habituel le patient décrit l'apparition de douleurs musculo-articulaires très intenses différentes de ses douleurs articulaires habituelles touchant les membres, le dos et allant jusqu'au petites articulations. Aucun autre traitement n'a été introduit, le patient n'a pas présenté d'autres symptômes, il ne présentait pas de syndrome inflammatoire. Environ 2 à 3 semaines après l'arrêt de l'emicizumab les douleurs ont progressivement disparu. En raison d'une efficacité sur les saignements et d'un doute de l'imputabilité de l'emicizumab, le traitement a été réintroduit à demi-dose. Environ 5 mois après la réintroduction les douleurs ont réapparu nécessitant l'arrêt complet. Quelques semaines après l'arrêt de l'emcizumab les douleurs ont complétement disparu.

2. Il s'agit d'un patient de 11 ans, HAS avec un antécédent d'inhibiteur transitoire faible titre, qui présente un phénotype hémorragique clinique important. L'introduction d'emicizumab a été motivée par la persistance de saignement malgré une prophylaxie intensive bien conduite. A 9-10 mois de l'introduction du traitement (schéma thérapeutique 1 injection hebdomadaire), apparition d'une polyarthralgie totale et progressivement invalidante. Nous avons réalisé un bilan radiologique, inflammatoire, un avis auprès d'un spécialiste de la rééducation pédiatrique, toutes ces investigations se sont avérées négatives et nous avons donc considéré l'imputabilité de l'emicizumab pour cette polyarthralgie totale. Au bout de 5 semaines d'arrêt du traitement, disparition complète du tableau douloureux avec un retour à l'état clinique antérieur.

Conclusion : A nos connaissances, ce type de douleurs avec une telle intensité nécessitant l'arrêt du traitement n'a pas encore été rapporté comme effet secondaire de l'emicizumab. Chez ces 2 patients l'imputabilité de l'emicizumab dans l'apparition de ces douleurs musculo-articulaires intenses parait très probable.
Il est donc très important de suivre régulièrement les patients traités par emicizumab après l'introduction du traitement.

00100 - Dosage chronométrique ou chromogénique du facteur VIII pour le diagnostic d'hémophilie A ?

M. Toussaint[1], K. Marchand[1], R. Benoit[1], J. Perrin[1], M. Fretigny[2], M. Martin[3], B. Frotscher[3]

[1]Service d'hématologie Biologique CHRU Nancy - Nancy (France),
[2]Laboratoire de Génétique CHU Lyon - Lyon (France),
[3]CRC-MHC CHRU Nancy - Nancy (France)

Introduction : Le diagnostic d'une hémophilie A repose sur le dosage du FVIII. Habituellement, le dosage du FVIII est réalisé par une méthode chronométrique, mais le FVIII peut également être mesuré par une méthode chromogénique. Chez certains patients atteints d'une hémophilie A mineure, une différence entre les 2 méthodes peut être observée.
Le but de ce travail est de comparer le phénotype clinique et biologique d'un groupe de 15 patients atteints d'une hémophilie A mineure (PHAM) porteurs du même variant (p.Ile390Thr) situé proche du site de clivage de la thrombine et montrant une discordance entre les 2 dosages (groupe 1) avec celui des PHAM sans discordance entre les 2 dosages. Dans le 1e groupe, le diagnostic de l'hémophilie est basé sur le dosage du FVIII chronométrique qui est diminué, mais leur FVIII mesuré avec la méthode chromogénique est normal.

Matériels et Méthodes : Quinze PHAM avec une discordance entre le FVIII chronométrique et chromogénique (FVIII humain Hyphen®) et 14 PHAM sans discordance ont été inclus dans cette étude. Les mesures chronométriques et chromogéniques du FVIII et le test de génération de thrombine (TGT, méthode CAT, TF 1pM) ont été réalisés avec du sang citrate après une double centrifugation à 2500 g pendant 15 min. Le TGT a été réalisé chez 7 patients du groupe 1, tous les patients du groupe 2 et 6 témoins.
Le score ISTH/SSC a été utilisé pour déterminer le phénotype hémorragique des patients.

Résultats : L'activité médiane du FVIII avec le test chonométrique et chromogénique était respectivement de 28 UI.dL-1 et 84,5 UI dL-1 pour le premier groupe et de 31 UI.dL-1 et 26 UI .dL-1 pour le second groupe de malades. Le score hémorragique médian était de 1 pour le premier groupe et de 5 pour le second groupe.
Les résultats de TGT montrent que l'ETP, le pic de thrombine et l'index de vélocité ne présentent aucune différence statistique entre le groupe 1 et le groupe témoin alors qu'il existe une différence statistique avec le groupe 2. Cependant, le temps de latence s'est avéré statistiquement différent dans groupe 1 par rapport au groupe 2 et au groupe témoin.

Conclusion : La discordance observée entre les mesures du FVIII par méthode chronométrique et chromogénique chez les PHAM du groupe 1 porteurs du même variant est associée à un phénotype hémorragique normal. Les résultats de TGT confirment dans le groupe 1 un travail thrombinique équivalent à celui des témoins et supérieur à celui observé dans le groupe 2.
Ces résultats suggèrent que la mesure du FVIII par méthode chromogénique pourrait être plus corrélée au phénotype hémorragique et devrait être utilisé pour diagnostiquer l'hémophilie A, en particulier chez les patients avec une discordance entre les 2 méthodes.

00102 - Apparition d'un anticorps anti-facteur Willebrand chez une jeune patiente atteinte d'une maladie de Willebrand de type 2A

S. Ben Brahim[1], M. Martin[2], R. Benoit[1], P. Judlin[3], C. Zuily-Lamy [3], E. Jeanpierre[4], V. Eschwège[1], B. Frotscher[2]

[1]Service d'hématologie Biologique CHRU Nancy - Nancy (France),
[2]CRC-Maladies Hémorragiques Constitutionnelles CHRU Nancy - Nancy (France),
[3]Service de Gynécologie Obstétrique CHRU Nancy - Nancy (France),
[4]Laboratoire D'hématologie CHRU Lille - Lille (France)

Introduction : L'apparition d'un anticorps anti-facteur Willebrand (Ac anti-VWF) est une complication rare chez des patients atteints d'une maladie de Willebrand. Elle est quasi exclusivement décrite chez des patients atteints d'un type 3 après substitution par un concentré de VWF exogène.

Résultats : Cas Clinique
Il s'agit d'une patiente de 17 ans atteinte d'une maladie de Willebrand de type 2A. Depuis ses premières règles et malgré une introduction rapide d'un traitement hormonal associé à l'acide tranexamique, la patiente souffrait de ménorragies. Elle a présenté plusieurs épisodes d'anémie ferriprive et des injections de concentré de VWF (WILFACTIN) à la demande ont été nécessaires pendant ses règles avec une bonne efficacité clinique.
En raison des effets secondaires et d'une efficacité médiocre du traitement hormonal il a été décidé de l'arrêter et de traiter la patiente avec du WILFACTIN et de l'acide tranexamique pendant les règles. Dès les règles suivantes une injection de 40 UI/kg/j de WILFACTIN a été réalisée, mais sans aucune efficacité clinique.
La patiente a dû être hospitalisée en raison d'une déglobulisation sévère survenue en quelques jours. Ni une augmentation de la posologie, ni un switch vers un VWF recombinant (VEYVONDI) n'ont diminué les ménorragies. Les dosages biologiques du VWF montraient une clairance rapide du VWF injecté sans diminution des valeurs basales de la patiente. Devant une suspicion clinique et biologique d'apparition d'un Ac-anti-VWF une recherche d'Ac a été réalisée ; elle était négative par la méthode Bethesda, mais montre la présence d'un Ac à titre très élevé (1/25 000) par ELISA.
L'état clinique de la patiente s'est dégradé malgré l'introduction d'un traitement hormonal par un analogue de la GnRH (ENANTONE). Il a donc été décidé de traiter la patiente avec une perfusion d'IgIV (CLAYRIG, 0,4g/kg/24h pendant 2 jours). Ce traitement immunomodulateur montrait une efficacité biologique immédiate se traduisant par une augmentation du FVIII, VWFAg et VWFAct après substitution, mais sans aucune efficacité clinique. Par la suite, un curetage utérin et la mise en place d'un ballon de Bakry ont été nécessaires. A cause de la persistance des ménorragies malgré tous les traitements une thermocoagulation de l'endomètre (NOVASURE) a dû être réalisée avec une bonne efficacité clinique.
Deux ans après, l'Ac anti-VWF reste détectable. La patiente n'a plus présenté de complication hémorragique.

Conclusion : A notre connaissance, aucun autre cas de maladie de Willebrand de type 2A compliqué d'un Ac anti-VWF n'a été décrit dans la littérature. L'Ac anti-VWF ne semble pas agir sur le VWF de la patiente suggérant que le VWF exogène comportant des multimères de haut poids moléculaire (absente chez la patiente) est préférentiellement ciblé par l'anticorps. Cette hypothèse est renforcée par le fait que l'élimination du VWF recombinant (VEYVONDI), comportant des multimères de très haut poids moléculaire, était plus rapide que l'élimination du VWF plasmatique (WILFACTIN).

00114 - Etude de vie réelle évaluant l'efficacité, la sécurité et la pharmacocinétique des patients traités par rVIII-SC (Afstyla®)

B. Guillet[1], A. Hassoun[2], B. Wibaut[3], A. Harroche[4], C. Biron-Andréani[5], Y. Repesse[6], R. D'oiron[7], B. Tardy[8], B. Pan Petesch[9], P. Chamouni[10], V. Gay[11], M. Fouassier[12], C. Pouplard[13], C. Martin[14], X. Delavenne[15]

[1]CRC-MHC, Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, EHESP, IRSET (institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail) - UMR_s 1085 - Rennes (France),
[2]CTH, Hôpital Simone Veil - Eaubonne (France),
[3]CRC–MHC, CHU de Lille - Lille (France),
[4]Département d'hématologie, Hôpital Universitaire Necker Enfants Malades - Lille (France),
[5]CRC–MHC, CHU de Montpellier - Montpellier (France),
[6]Laboratoire D'hématologie, CRC-MHC, CHU de Caen - Caen (France),
[7]CRH, CRC-MHC, Hôpital Bicêtre, AP-HP et HITH, Umr_s1176, Inserm, Université Paris-Saclay - Le Kremlin-Bicêtre (France),
[8]CRC-MHC, CHU de Saint-Etienne - Saint Etienne (France),
[9]CRC-MHC, CHU de Brest - Brest (France),
[10]CRC-MHC, CHU de Rouen - Rouen (France),

[11]CRC-MHC, CH de Chambéry - Chambéry (France),
[12]CRC-MHC, CHU de Nantes - Nantes (France),
[13]CRC-MHC, CHU de Tours - Tours (France),
[14]CSL-Behring - Paris (France),
[15]Inserm, UMR 1059, Dysfonction Vasculaire et de L'hémostase, Université de Lyon, Saint Etienne et Laboratoire de Pharmacologie – Toxicologie, CHU de Saint-Etienne - Saint Etienne (France)

Introduction : Le rVIII-SingleChain (rVIII-SC) est un concentré de facteur VIII (FVIII) recombinant présentant une affinité accrue au facteur von Willebrand comparée aux autres FVIII. Le rVIII-SC est indiqué dans le traitement et la prévention des hémorragies chez les patients atteints d'hémophilie A.
Objectifs : recueillir des données (efficacité et sécurité) en vie réelle des patients traités avec le rVIII-SC et effectuer une analyse pharmacocinétique (PK) de population.

Matériels et Méthodes : Cette analyse intermédiaire comprend les données collectées de 2018 à 2021, des patients traités en prophylaxie avec rVIII-SC, suivis par les centres français de traitement de l'hémophilie. Les données enregistrées sont : les taux annualisés d'hémorragies, la fréquence d'administration et la consommation avant/après le passage au rVIII-SC. Une analyse PK de population a également été menée et comparée aux résultats des PK issus des essais cliniques.

Résultats : Au total, 58 patients ont été inclus dans cette étude : 36 étaient précédemment traités en prophylaxie et 16 « à la demande » avec un autre FVIII et 6 sont issus de l'étude de développement clinique du rVIII-SC. 43 patients switchés en prophylaxie par le rVIII-SC recevaient précédemment un traitement prophylactique avec un autre FVIII (n= 36), ou un traitement à la demande (n= 5). Les 11 patients restants à la demande ont continué le même régime de prise en charge. Les 6 patients de l'étude pré-AMM sont restés en prophylaxie sous rVIII-SC (exclus de l'analyse des prophylaxies avant/après). La proportion de patients recevant une prophylaxie ≤ 2 injections/semaine a augmenté avec rVIII-SC (27/36; 75%) vs leur période précédente avec un autre FVIII (22/36; 61%). Chez les 12 patients précédemment à plus de 2 injections/semaine sous FVIII standard, 9 (75%) d'entre eux sont passés à 2 injections/semaine avec une diminution de leur consommation (respectivement 94,4 ± 15,1 vs 72,4 ± 14,7 UI/kg, p < 0,01). Après le passage sous rVIII-SC, les patients ont maintenu un bon contrôle hémostatique. Ainsi, chez les 23 patients ayant atteint leur 1ère visite de l'étude, après une durée moyenne de 32 semaines, le taux annualisé de saignements spontanés a diminué de 1,3 à 0,9. La moitié des patients n'ont eu aucun saignement. Il n'y a eu aucun développement d'inhibiteur. Une analyse PK a révélé une clairance plus faible du rVIII-SC (1,9 vs 2,1 dL/h) que celle rapportée dans les essais cliniques. La demi-vie était plus longue, chez les adolescents/adultes et les enfants < 12 ans (respectivement 15,5 vs 14,5h et 11,8 vs 10,3h). Ces demi-vies sont comparables à celles observées en vie réelle avec le rFVIII-Fc (respectivement 15,5 et 11,7h).

Conclusion : Les patients qui sont passés à une prophylaxie avec rVIII-SC ont démontré un excellent contrôle hémostatique et une réduction de la fréquence des perfusions. Une analyse PK de population a révélé des paramètres pharmacocinétiques améliorés par rapport à ceux rapportés dans les essais cliniques.

00116 - Emicizumab et L-Asparaginase font-ils bon ménage ? Cas d'un enfant hémophile A sévère ayant développé une hémopathie maligne

A. Harroche[1], L. Goubeau[1], D. Lasne[1], C. Bally[1], L. Frenzel[1], D. Borgel[1]

[1]Paris (France)

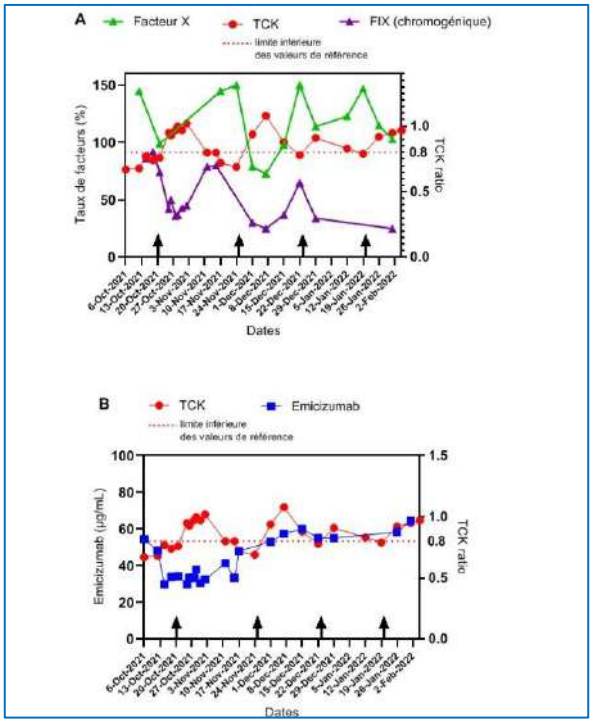
Introduction : Nous rapportons le cas d'un enfant de 4 ans, hémophile A sévère sans inhibiteur, ayant développé une leucémie aigue lymphoblastique (LAL) pré-B, 19 mois après le début d'une prophylaxie par emicizumab (1,5 mg/kg/semaine). Il est décidé le maintien de l'emicizumab avec recours aux concentrés de facteur (F) VIII lors de gestes invasifs. L'introduction de la L-Asparaginase (L-Aspa), connue pour interférer sur la synthèse protéique, a nécessité une surveillance étroite de l'hémostase.
Objectifs : Etudier l'effet du traitement de la LAL sur la concentration d'emicizumab et décrire la surveillance de l'hémostase pendant la chimiothérapie.

Matériels et Méthodes : La surveillance de l'hémogramme et de l'hémostase était bi-hebdomadaire et hebdomadaire respectivement. Les examens d'hémostase dont l'interprétation est possible chez un patient traité par emicizumab ont été réalisés sur l'ACLTOP (Werfen) : temps de céphaline avec activateur Kaolin (TCK, CK-Prest-Stago) ; concentration d'emicizumab (méthode chronométrique avec FVIII déficient plasma, SynthASil (Werfen) et un calibrant emicizumab (r2 diagnostic)) ; FIX (méthode chromogénique (Rox FIX, Rossix)) ; FX (méthode chronométrique (FX déficient plasma, Werfen) ; fibrinogène Clauss (Dade thrombin-Siemens) ; antithrombine (STACHROM® AT III-Stago). Les résultats sont présentés en médiane [min-max]. Les corrélations ont été réalisées par le test de Pearson (GraphPad, V6).

Résultats : Au cours des 4 premières cures de L-Aspa (associée à des corticoïdes et d'autres chimiothérapies) en milieu hospitalier puis en hospitalisation à domicile, l'enfant n'a présenté aucune manifestation hémorragique. Les gestes à risque (ponctions lombaires n=6 et myélogrammes, n=3) étaient couverts par une perfusion de 50 UI/Kg de FVIII. Une augmentation du TCK ratio a été observée après chaque cure, corrélée à une diminution du FIX (r=-0,87 p<0,0001), FX (r= -0,82 p=0,0003) (Figure 1A) et du fibrinogène (r=-0,7 p=0,0032). La concentration d'emicizumab, stable depuis le 28/04/2020 (60,4 [54,5-71,6] µg/mL, n=5) diminue rapidement et transitoirement après l'introduction des corticoïdes le 09/10/2021 (nadir : 29,9 µg/mL le 15/10). Elle ne diminue pas après les cures de L-Aspa et n'est pas corrélée au TCK ratio (r=-0,0015 p=0,49) (figure 1B). Les concentrations de fibrinogène et les taux d'antithrombine (obtenus rétrospectivement car sa surveillance n'est pas requise dans le protocole pédiatrique) diminuent après chaque cure (nadir 0,7 g/L et 50 % respectivement).

Conclusion : Nous observons une baisse transitoire de la concentration d'emicizumab dès la préphase de corticoïdes ; l'imputabilité des corticoïdes reste à démontrer. L'allongement du TCK après les cures de L-Aspa n'est pas associé à une diminution des concentrations d'emicizumab, ainsi la prophylaxie reste efficace lors de la chimiothérapie. La surveillance de l'hémostase est possible avec les dosages conventionnels du fibrinogène, du FX et par le FIX chromogénique.

Evolution des examens d'hémostase. A - TCK ratio e



00120 - Distribution extravasculaire du facteur IX, une évaluation pharmacologique ?

X. Delavenne[1], B. Guillet[2]

[1]Inserm, UMR 1059, Dysfonction Vasculaire et de l'hémostase, Université de Lyon - Saint-Etienne (France),
[2]CRC-MHC, CHU de Rennes - Rennes (France)

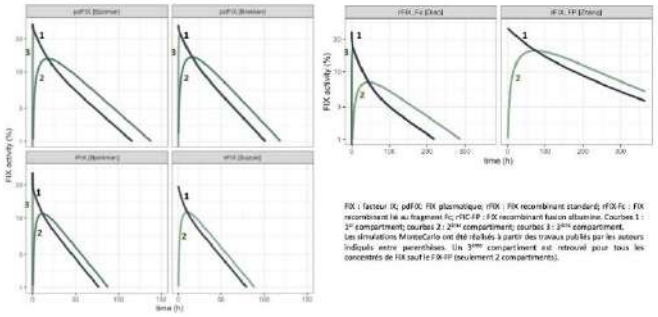
Introduction : Le traitement de l'hémophilie B repose sur l'utilisation de concentrés de facteur IX (FIX) dont les propriétés pharmacocinétique (PK) sont fortement influencées par leur nature (dérivés plasmatiques (pdFIX), recombinant (rFIX), recombinant à longue demi-vie (rFIX-EHL)). La demi-vie et le temps au-dessus du seuil de 1% sont des éléments importants pour l'évaluation des capacité hémostatiques de ces produits. Cependant, le FIX possède une distribution extravasculaire importante en lien avec sa fixation au collagène IV qui pourrait influencer de façon bénéfique son efficacité. Notre objectif était de comparer les profils de distribution des différents concentrés de FIX.

Matériels et Méthodes : Des simulations de Monte-Carlo ont été réalisées pour déterminer les profils d'activité FIX dans différents compartiments de distribution avec SimulX (Monolix Suite). Sur les bases de la littérature, des modèles PK de population ont été recueillis pour le pdFIX, le rFIX, le FIX lié à l'albumine humaine (rFIX-FP), le FIX couplé au domaine Fc de l'IgG1 humaine (rFIXFc) pour simuler l'administration à l'état d'équilibre chez 1000 patients de 40 UI/kg deux fois par semaine (pdFIX, rFIX) et une fois par semaine (rIX-FP, rFIXFc).

Résultats : Les PK du FIX sont décrites selon des modèles à 2 ou 3 compartiments. Ces approches compartimentales pourraient confirmer pour le rFIX-FIX la présence du 2ème compartiment correspondant à la liaison du FIX au collagène IV sous-endothélial, ainsi que d'un 3ème compartiment périphérique sauf pour le rFIX-FP (Fig). Le 2ème compartiment présent pour tous les concentrés correspond à la liaison rapide du FIX au collagène IV sous-endothélial capable de coagulation in situ très rapide. Il est réversible et bidirectionnel avec le 1ercompartiment. Un 3ème compartiment est décrit ici pour tous les concentrés de FIX sauf le rFIX-FP. Son profil PK se superposant à celui de la première phase du 1er compartiment (pic puis décroissance rapide), suggérant une diffusion extra-vasculaire.Des différences significatives sont constatées pour les volumes du 2ecompartiment (15,8 à 87 dL) des différents concentrés FIX. Les conséquences en terme d'exposition, évalué par la concentration moyenne dans ce compartiment, étaient de 10,4; 5,9; 6,9 et 10,4 UI/mL pour le pdFIX, rFIX, rFIX-FC, rFIX-FP. Les temps moyens de résidence du FIX estimés étaient de respectivement 42,3; 34,4; 137,0 et 217,4 h pour ces mêmes produits

Conclusion : Ce travail de simulation montre des variations significatives de la distribution extravasculaire entre les différents concentrés de FIX. Cette étude pourrait aider à déterminer les schémas posologiques des concentrés FIX dans la vie réelle en prenant en compte cette caractéristique.

Fig. Modèles pharmacocinétiques des différents concentrés de facteur IX



00123 - Histoire de l'inhibiteur du FVIII de 119 patients avec hémophilie A de la cohorte FranceCoag avant mise sous emicizumab (EMHIRA)

Y. Repesse[1], A. Harroche[2], A. Rauch[3], F. Hadim[4], A. Gaude[5], D. Pau[4], S. Pibre[4], R. D'oiron et Collaborateurs Francecoag[6]

[1]Service d'hématologie Biologique, CHU de Caen Normandie - Caen (France),
[2]Centre de Traitement de l'hémophilie, AP-HP, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades - Paris (France),
[3]Institut d'hématologie et de Transfusion, CHU de Lille - Lille (France),
[4]Affaires Médicales, Roche S.A.S - Boulogne-Billancourt (France),
[5]Chugai Pharma France - Paris La Défense (France),
[6]Consortium Francecoag et Centre d'hémophilie et des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles Rares, AP-HP, Hôpital Bicêtre, Université Paris-Saclay et Inserm UMR S1176 - Le Kremlin-Bicêtre (France)

Introduction : Emicizumab est un anticorps monoclonal humanisé bispécifique qui n'a pas de relation structurelle ni d'homologie de séquence avec le Facteur VIII (FVIII). Par conséquent il n'induit ni ne favorise le développement d'inhibiteur anti-FVIII. Chez les patients avec hémophilie A et inhibiteur (PHAi), emicizumab a montré une réduction significative des épisodes hémorragiques au cours du programme de développement clinique HAVEN. Les données de vie réelle étant limitées, l'étude EMHIRA avait pour objectifs de décrire dans la pratique clinique courante les caractéristiques des PHAi et de la maladie incluant l'histoire de l'inhibiteur jusqu'à l'initiation d'une prophylaxie emicizumab, ainsi que les épisodes hémorragiques traités et la tolérance.

Matériels et Méthodes : EMHIRA est une étude non interventionnelle portant sur les PHAi ayant initié emicizumab entre juin 2017 et décembre 2020, conduite à partir des données collectées dans le cadre de la cohorte nationale FranceCoag et extraites en octobre 2021. L'histoire de l'inhibiteur depuis sa découverte jusqu'à l'initiation d'emicizumab a été décrite dans la population de l'étude.

Résultats : Parmi les 119 patients éligibles analysés ayant initié une prophylaxie emicizumab, 112 (94.1%) présentaient une HAi sévère, 5 (4.2%) une HAi modérée et 2 (1.7%) une HAi mineure. L'apparition de l'inhibiteur a été découverte dans un délai médian d'1,9 an (Q1-Q3 : 0,9-7,5) après le diagnostic de la maladie. L'âge médian à la découverte de l'inhibiteur était de 3 ans (Q1-Q3 : 1,4-10,3) [<2 ans, 38,6% ; 2-12 ans, 39,5% ; 12-18 ans, 5.0% ; >18 ans, 15,8%]. La durée médiane d'exposition au FVIII en Jours Cumulés de Présentation à l'Antigène (JCPA) avant la découverte était de : 13 JCPA (Q1-Q3 : 7-18) chez les patients <2 ans (n=44), 14 JCPA (8-20) chez les 2-12 ans (n=33), 20 JCPA (14-85) chez les 12-18 ans (n=3) et 35 JCPA (26-151) chez les >18 ans (n=14). A la découverte de l'inhibiteur, le titre médian était de 8 UB/mL (Q1-Q3 : 1,7-23,2). Le pic historique médian d'inhibiteur était de 301 UB/mL (Q1-Q3 : 48-1780), et le titre médian de 5,4 UB/mL (Q1-Q3 : 1,6-23,8) à l'initiation d'emicizumab (entre les 3 mois précédant et le mois suivant l'instauration du traitement). 111 patients (93,3%) étaient forts répondeurs. 57 patients (47,9%) avaient un historique d'induction de tolérance immune (ITI). Le dernier schéma thérapeutique avant l'initiation d'emicizumab était un traitement à la demande chez 45,1% des patients, une prophylaxie dans 31,5% des cas, et une ITI dans 20,7%.

Conclusion : Sur la base des données de la cohorte prospective FranceCoag, cette étude conduite en vie réelle a permis de décrire l'histoire naturelle de l'inhibiteur anti-FVIII avant l'initiation d'emicizumab dans une large population non sélectionnée de patients avec HAi.

00124 - Données de chirurgies chez 119 patients avec hémophilie A et inhibiteur sous emicizumab issues de la cohorte FranceCoag (EMHIRA)

A. Rauch[1], Y. Repesse[2], A. Harroche[3], F. Hadim[4], S. Veissaire[4], D. Pau[4], A. Gaude[5], R. D'oiron et Collaborateurs Francecoag[6]

[1]Institut d'hématologie et de Transfusion, CHU de Lille - Lille (France),
[2]Service d'hématologie Biologique, CHU de Caen Normandie - Caen (France),

[3]Centre de Traitement de l'hémophilie, AP-HP, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades - Paris (France),
[4]Affaires Médicales, Roche S.A.S - Boulogne-Billancourt (France),
[5]Chugai Pharma France - Paris La Défense (France),
[6]Consortium Francecoag et Centre d'hémophilie et des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles Rares, AP-HP, Hôpital Bicêtre, Université Paris-Saclay et Inserm Umr S1176 - Le Kremlin-Bicêtre (France)

Introduction : Emicizumab a montré une réduction significative des épisodes hémorragiques au cours du programme de développement clinique HAVEN notamment chez les patients hémophiles A avec inhibiteur (PHAi). La chirurgie est un sujet d'intérêt majeur chez ces patients en raison du risque de saignement périopératoire. Des données de chirurgies issues des essais cliniques (HAVEN 1-4) ont été partagées ainsi que des données de vie réelle mais elles restent encore limitées. L'étude EMHIRA avait pour objectif de décrire dans la pratique clinique courante les épisodes hémorragiques traités, la tolérance, les caractéristiques des PHAi sous prophylaxie emicizumab et de leur maladie, ainsi que les chirurgies. Les données de chirurgies sont présentées ici.

Matériels et Méthodes : EMHIRA est une étude non interventionnelle portant sur les PHAi ayant initié emicizumab entre juin 2017 et décembre 2020, conduite à partir des données collectées dans le cadre de la cohorte nationale FranceCoag et extraites en octobre 2021. Les chirurgies (incluant les interventions chirurgicales et les gestes invasifs) ont été décrites au cours de l'année précédant l'initiation d'emicizumab dans la population de l'étude et chez les patients traités par emicizumab depuis au moins 6 mois. Les chirurgies ont été classées en majeures ou mineures (selon le niveau de risque de saignement).

Résultats : Parmi les 119 patients éligibles analysés ayant initié une prophylaxie emicizumab, 112 (94,1%) présentaient une HAi sévère, 5 (4,2%) une HAi modérée et 2 (1,7%) une HAi mineure. Au cours de l'année précédant l'initiation d'emicizumab, 114 chirurgies ont été rapportées chez 58 patients (48,7%) ; 32 d'entre elles (28,1%) étant des chirurgies articulaires réalisées chez 20 patients (16,8%). Parmi ces 114 chirurgies, 23 (20.2%) étaient considérées comme majeures (7 arthroplasties, 1 arthrodèse, 3 synovectomies, 3 autres chirurgies orthopédiques et 9 autres chirurgies).
Le tableau 1 détaille le nombre de chirurgies pendant la période d'exposition à emicizumab chez les 102 PHAi avec au moins 6 mois d'exposition [médiane : 89.1 semaines (Q1-Q3 : 54.2-127.1)]. Parmi les 43 patients ayant eu au moins une chirurgie sous emicizumab, 42 (97.7%) ont reçu au moins un traitement associé par FVIII et/ou agents by-passant.

Conclusion : Sur la base des données de la cohorte prospective FranceCoag, cette étude en vie réelle a permis de décrire les chirurgies réalisées dans une large population non sélectionnée de PHAi traités par emicizumab.

Tableau 1

Tableau 1 : Chirurgies pendant la période d'exposition à emicizumab

	Nombre de chirurgies	Nombre de patients (%)
Chirurgie	70	43* (42,2%)
Chirurgie articulaire	29	17*
Chirurgie majeure	13	8*
Arthroplastie	6	5
Arthrolyse	3	2
Ostéotomie	1	1
Autre chirurgie orthopédique	1	1
Neurochirurgie	1	1
Autre chirurgie	1	1
Chirurgie mineure	55	24*
Chirurgie articulaire	17	9
Chirurgie dentaire	9	9
Pose d'une voie veineuse centrale	3	3
Retrait d'une voie veineuse centrale	16	16
Autre chirurgie	10	7
Chirurgie non classée	2	2
Chirurgie articulaire	1	1
Autre chirurgie	1	1

**Un patient peut avoir présenté plusieurs chirurgies*

00127 - Thrombose Veineuse Profonde distale dans la maladie de Glanzmann : le choix de ne pas traiter par anticoagulant au cas par cas

C. Falaise[1], A. Harroche[2], C. Bally[2], P. Morange[3], P. Saultier[1]

[1]APHM-Service d'hématologie Pédiatrique - Centre de Référence des Pathologies Plaquettaires-Timone Enfant - Marseille (France),
[2]APHP-Service d'hématologie - Centre de Référence d'hémophilie-Necker - Paris (France),
[3]APHM-Service d'hématologie Biologie-Timone - Marseille (France)

Introduction : La thrombasthénie de Glanzmann (TG) est une thrombopathie sévère responsable de manifestations hémorragiques cutanéomuqueuses dès l'enfance. Cependant, ces patients restent exposés à un risque de thrombose. Nous rapportons la prise en charge sans recours à un traitement anticoagulant de thrombose veineuse profonde (TVP) distale chez deux patients non apparentés atteints d'une TG.

Résultats :
Patient 1 : Garçon, 15 ans, IMC à 27kg/m^2, pubère, score ISTH BAT à 15, absence complète d'expression de la GPIIbIIIa plaquettaire en cytométrie en flux (CMF), mutation homozygote du gène ITGB3, anticorps antiGPIIbIIIa détectables depuis l'âge de 5 ans. Le patient présentait des comorbidités : diabète insulinodépendant mal équilibré et une oligoarthrite juvénile traitée par antiTNFα. Alors qu'il était suivi en ambulatoire pour des gingivorragies chroniques traités par acide tranexamique (ATX) et compliquées d'une anémie ferriprive à 70g/L, il a développé une thrombose veineuse profonde surale droite (veine tibiale postérieure droite sans extension au tronc collecteur poplité). La prise en charge de la TVP distale a été une compression élastique bilatérale de classe III 24h/24, un arrêt de l'ATX et une perfusion de culot globulaire (Hémoglobine cible entre 90 et 100g/L). Le bilan de thrombophilie héréditaire et acquis était négatif. L'évolution a été favorable sans traitement anticoagulant avec une disparition de la TVP sans séquelle anatomique ni hémodynamique.

Patient 2 : Femme de 38 ans, IMC à 24, score ISTH BAT à 9, absence de GPIIbIIIa en CMF, mutation homozygote du gène ITGB2, avec anticorps antiGPIIbIIIa détectables depuis l'âge de 7 ans. Sept jours après la prise en charge d'une hémorragie digestive aigue sur saignement de polypes gastriques traités par mucosectomie, clip hémostatique, ATX et FVIIactivé, alors qu'il persistait une déglobulisation lente (Hb : 87g/L), la patiente a présenté une thrombose des veines musculo-soléaires droites. Puis 48heures après elle a présenté une TVP tibiale gauche, puis une TV sur voie centrale (Picc line) touchant la veine basilique jusqu'à la veine axillaire, puis une TV superficielle sur voie veineuse périphérique. L'évolution a été favorable avec un traitement symptomatique (compression élastique bilatérale, arrêt du FVIIactivé et ATX, retrait des voies veineuses), sans traitement anticoagulant et sans récidive du saignement digestif. Le contrôle du Doppler à 3 semaines ne montrait pas d'extension des thrombi. Le bilan de thrombophilie héréditaire et acquis était négatif.

Conclusion : Dans ces deux cas de TVP distales, chez des patients jeunes avec complications hémorragiques récentes de leur TG, un traitement par compression élastique, une correction de l'anémie, un arrêt de l'ATX et un retrait de la voie veineuse sans recours aux anticoagulants a permis une évolution favorable de la TVP.
La balance bénéfice/risque des anticoagulants dans le cas des TVP distales, chez les patients à haut risque hémorragique doit être mesurée au cas par cas.

00128 - Déficit en Facteur XI acquis chez une jeune fille dans un contexte d'hépatite auto-immune et de syndrome de Sjögren

A. Blandinières[1], A. Thebaut[2], H. Maynadié[3], C. Lavenu-Bombled[1], G. Morelle[4], R. D'oiron[3], C. Galeotti[5]

[1]Laboratoire d'hématologie - Centre de Ressources et de Compétences des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles, Hôpital Bicêtre-APHP et Inserm U1176, Université Paris Saclay - Le Kremlin-Bicêtre (France),
[2]Service d'hépatologie Pédiatrique, Hôpital Bicêtre-APHP - Le Kremlin-Bicêtre (France),
[3]Centre de Référence Hémophilie, Hôpital Bicêtre-APHP et Inserm U1176, Université Paris Saclay - Le Kremlin-Bicêtre (France),
[4]Centre de Référence Hémophilie, Hôpital Bicêtre-APHP - Le Kremlin-Bicêtre (France),
[5]Centre de Référence Hémophilie et Service de Rhumatologie Pédiatrique, Hôpital Bicêtre-APHP - Le Kremlin-Bicêtre (France)

Introduction : La présence d'un inhibiteur du Facteur XI (FXI) est une cause rare de déficit en FXI.
Matériels et Méthodes : Nous rapportons la mise en évidence d'un inhibiteur anti-FXI chez une patiente âgée de 18 ans dans un contexte d'hépatite auto-immune de type 1 associée à un syndrome de Sjögren.

Résultats : La patiente présente une hépatite auto-immune de type 1 associée à une cholangite sclérosante diagnostiquée à l'âge de 14 ans devant une asthénie avec diarrhée chronique, inflexion staturo-pondérale, cytolyse hépatique, hypergammaglobulinémie et des Ac anti-muscles lisses. Un syndrome de Sjögren est également suspecté devant une sialadénite de grade 4 à la biopsie des glandes salivaires accessoires et la détection de FAN (au 1/1280) et d'Ac anti-DNA malgré l'absence d'Ac anti-SSA et SSB. Un traitement par azathioprine, hydroxychloroquine, acide ursodésoxycholique et budésonide a permis la normalisation du bilan hépatique et une diminution de l'hypergammaglobulinémie.
Quatre ans après le début de sa maladie, après l'arrêt du budésonide, le syndrome inflammatoire augmente (VS 106 mm et CRP 22 mg/L) ainsi que l'hypergammaglobulinémie et la cytolyse hépatique. Un allongement isolé du TCA (TP >100% ; TCA M/T 1,57) est également découvert fortuitement dans le cadre du suivi biologique bi-annuel de la maladie auto-immune. Jusqu'alors les bilans d'hémostase (TP et TCA) étaient normaux. L'exploration de cet allongement du TCA montre un déficit en FXI (7%) avec des taux normaux de FVIII (204%) et de FIX (95%). La non-correction de l'allongement du TCA lors du mélange du plasma du patient avec un plasma témoin (indice de Rosner 19%) est en faveur de la présence d'un anticoagulant circulant ou d'un inhibiteur spécifique. Le titrage met en évidence un inhibiteur anti-FXI à la concentration maximale de 2,7 unités Bethesda/mL.
La patiente ne présente aucune symptomatologie hémorragique (score ISTH-BAT à 0), notamment des règles normales. Aucun geste invasif n'a été effectué depuis la mise en évidence de l'inhibiteur. Une corticothérapie orale est réintroduite afin de diminuer son syndrome inflammatoire, la cytolyse hépatique ainsi que le taux d'Ac anti-FXI.

Conclusion : Si le déficit congénital en FXI est l'un des plus fréquents des déficits rares, peu de déficits acquis dûs à un inhibiteur sont décrits dans la littérature. Ils sont généralement associés à un contexte auto-immun ou néoplasique. Les manifestations cliniques sont hétérogènes allant du patient asymptomatique à une symptomatologie hémorragique menaçant le pronostic vital. Des complications thrombotiques ont également été décrites (Bortoli et al, Semin Arthritis Rheum 2009). Il est important de rechercher un inhibiteur anti-FXI lors de la découverte d'un déficit en FXI, notamment en cas d'antécédents d'hémostase normaux. La découverte d'un anti-FXI modifiera alors la prise en charge en cas d'accident hémorragique ou de geste invasif.

Evolution des paramètres biologiques d'hémostase

	mai 2020	janvier 2021	décembre 2021	janvier 2022
TP (%)	99	>100	>100	>100
TCA (M/T)	1,11	1,57	1,62	1,94
Fibrinogène (g/dL)	3,4	3,7	4,8	4,8
FVIII (%)		204	224	327
FIX (%)		98	127	
FXI (%)		11	7	8
Recherche d'anticoagulant circulant (indice de Rossner)			Recherche positive (19%)	
Anticorps anti-FXI (unité Bethesda)				2,7

00129 - A propos de deux anticoagulants circulants de type lupique de présentation atypique

S. Lemoine[1], J. Amiral[2], I. Mignon[3], A. Bachelot[3], D. Jan[4], J. Auchabie[5], V. Ugo[1], A. Godon[1], P. Beurrier[6], M. Tuffigo[1]

[1]Laboratoire d'hématologie-CHU d'Angers - Angers (France),
[2]Hyphen Biomed - Neuville-sur-Oise (France),
[3]Laboratoire d'hématologie-CH de Cholet - Cholet (France),
[4]Laboratoire de Biologie Médicale-CH de Laval - Laval (France),
[5]Réanimation Unité de Surveillance Continue-CH Cholet - Cholet (France),
[6]Centre de Traitement de L'hémophilie-CHU d'Angers - Angers (France)

Introduction : Les anticoagulants circulants de type lupique (ACC) sont une source d'interférence sur les tests chronométriques phospholipides dépendants, en allongeant artificiellement les temps de coagulation (principalement le TCA) et en interférant sur les dosages des facteurs avec un risque de sous-estimation. Dans certaines situations, ils peuvent entrainer une modification de la prise en charge d'un patient. Nous rapportons deux cas d'ACC de présentation inhabituelle, dont les anomalies analytiques peuvent conduire à une interprétation et une prise en charge difficiles.

Matériels et Méthodes :
La 1ère patiente est une jeune fille de 12 ans, adressée aux urgences du CH de Laval, pour apparition spontanée d'ecchymoses sur les membres inférieurs. A l'interrogatoire sa mère ne rapporte aucun antécédent hémorragique personnel et familial. Le bilan d'hémostase réalisé (réactifs Werfen® sur ACL TOP) retrouve un bilan très perturbé. Devant le tableau clinico-biologique, la patiente est adressée en consultation d'hémostase clinique dès le lendemain au CHU d'Angers avec contrôle du bilan de coagulation (réactifs STAGO® sur STAR Max).
Le 2ème patient est un homme de 50 ans, admis en réanimation au CH de Cholet, pour la prise en charge d'une détresse respiratoire aigüe liée à une infection par SarsCov2. Un bilan de coagulation est réalisé (réactifs Werfen® sur ACL TOP) et retrouve un TP incoagulable et des facteurs abaissés suggérant une CIVD (D-Dimères : 1264ng/mL). La normalité du fibrinogène contrastant avec les anomalies du bilan de coagulation et l'absence de correction du bilan après administration de PFC ont fait suspecter une interférence analytique. Le bilan est envoyé au CHU d'Angers pour contrôle sur STAR Max.

Résultats :
Patient 1 : Le bilan réalisé au CH de Laval retrouvait un profil d'hypovitaminose K (fig.1), avec une baisse plus marquée du facteur II. Le ratio TCA était également allongé (fig.2) et le fibrinogène normal. Le bilan de contrôle réalisé, le lendemain, au CHU d'Angers retrouve un déficit en facteur II isolé, permettant d'évoquer un lupus anticoagulant avec hypoprothrombinémie, notamment dans un contexte d'une diarrhée virale 2 semaines auparavant. La recherche d'ACC s'est révélée fortement positive et la recherche d'anti-facteur II par méthode Bethesda négative, comme attendu dans ce cas de figure. Un échantillon de sérum, adressé au laboratoire Hyphen Biomed, a retrouvé un anti-facteur II de type IgG en technique Elisa permettant de confirmer l'hypothèse.
Patient 2 : Les premiers résultats du bilan de coagulation réalisés étant très perturbés et contrôlés à plusieurs reprises (fig.1 et 2), un contrôle du bilan a été réalisé au CHU d'Angers. L'analyse comparative des résultats obtenus dans les deux laboratoires (fig.1 et 2), le profil des résultats du CHU d'Angers (TP abaissé contrastant avec facteurs II, V, VII, X normaux et discordance TCA/TCK) et le contexte clinique ont orienté vers l'hypothèse d'un ACC dont la recherche s'est révélée fortement positive.

Conclusion : Ces 2 cas reflètent bien l'hétérogénéité des anticorps anti-phospholipides et des interférences analytiques qui en découlent, y compris entre des réactifs de trousses différentes. Dans des cas particuliers, leurs impacts sur les tests de coagulation complexifient le diagnostic clinique et la prise en charge associée. Ces 2 cas restent des situations exceptionnelles, à ne pas méconnaitre, au vu des conséquences cliniques potentielles, et montrent la nécessité de garder un sens critique lors de l'interprétation des résultats de biologie, et l'importance de

connaitre les caractéristiques des différents réactifs utilisés dans chaque laboratoire.

Figure 1

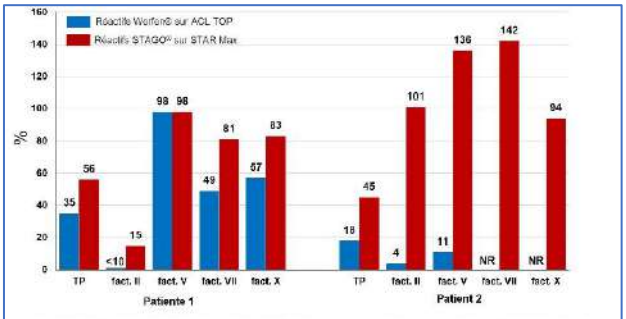


Figure 1. Résultats du TP et des facteurs II, V, VII et X chez les 2 patients en fonction des réactifs/automates utilisés. Fact. : facteur. NR: non réalisé.

Figure 2

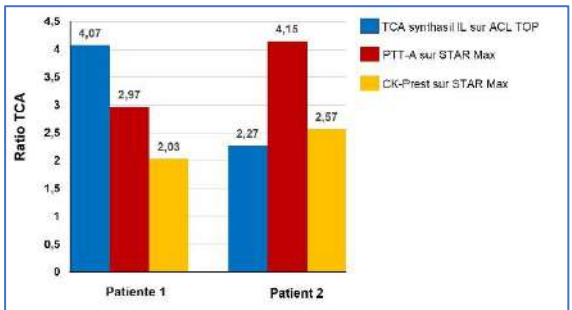


Figure 2. Résultats de la mesure du ratio TCA chez les 2 patients en fonction des réactifs/automates utilisés.

00130 - Prise en charge infirmière d'un patient atteint d'hémophilie acquise

S. Delienne[1], H. Nurit[2], S. Laurent[3], C. Lefranc[4]

[1]CRC-MHC CHU Dijon - Dijon (France),
[2]Medecine Interne - Clermont-Ferrand (France),
[3]Medecine Interne - Villefranche-sur-Saône (France),
[4]CRMH Lyon - Lyon (France)

Introduction : L'hémophilie acquise (HAA) est une pathologie auto-immune hémorragique rare avec une prévalence d'environ 1 à 1,5 cas/million d'individu par an. La prise en charge de ces patients nécessite alors souvent une hospitalisation dans un service de soins. Les infirmières sont au premier plan pour la mise en place des traitements et la surveillance du patient en collaboration avec les centres de traitement de l'hémophilie (CRC-MHC). Nous avons voulu dans ce travail connaitre l'avis de ces infirmières dans la prise en charge de ces patients atteints d'hémophilie acquise.

Matériels et Méthodes : Un questionnaire a été réalisé par un groupe d'infirmières de CRC-MHC et de médecine interne, sur les aspects de prise en charge du patient atteint d'HAA. Les questions sont à choix multiples. Pour certaines, un classement par ordre de préférence est demandé. Dans ce cas, les résultats seront exprimés en score allant de 1 à 10 suivant le classement donné aux réponses. Il est mis en ligne via Survey Monkey depuis le 1er mars 2022 et sera ouvert jusqu'au 1er mai 2022. Il s'adresse aux infirmières des CRC-MHC et de médecine interne accueillant des patients atteints d'HAA. Nous présentons des résultats intermédiaires qui seront complétés lors de la présentation au congrès.

Résultats : Au total 35 infirmières ont répondu au questionnaire. Peu d'infirmières ont des recommandations de prise en charge des patients atteints d'HAA, seulement 12% peuvent se référer à un protocole spécifique présent dans le service et 25% reçoivent des conseils de prise en charge de la part des équipes de CRC-MHC. 52% ne reçoivent aucune consigne particulière. Lors de la reconstitution d'un médicament, elles apprécient particulièrement la facilité de reconstitution (5,16), la rapidité (4,71), d'avoir un mélange sans bulles (4,06) et d'avoir à disposition l'ensemble du matériel de reconstitution (4,03). Lors de l'administration, les infirmières privilégient l'injection intra veineuse (5,27) à l'administration au pousse seringue (4,45) et préfèrent un médicament qui ne nécessite pas de surveillance. Sur la fréquence d'administration, les avis sont partagés entre une administration moins fréquente (8 à 12h) avec un temps d'injection plus long (40min) (4,07) et une administration plus fréquente (2 à 3h) avec un temps d'injection rapide (2-3min) (3,72). Le rythme de la surveillance des patients dans le service est dans 70% dépendant du rythme des injections.

Conclusion : Il s'agit à notre connaissance du premier travail réalisé sur l'avis des infirmières dans la prise en charge de l'HAA. Il met en évidence le manque de consignes lors de la prise en charge de ces patients et la nécessité d'élaborer un protocole sur les précautions particulières à prendre avec les patients atteints d'HAA. Concernant les médicaments, les infirmières privilégient avant tout la facilité et la rapidité de reconstitution du médicament, ainsi qu'une administration par voie intra veineuse de préférence à intervalle de 8 à 12h.

00131 - Un cas de pseudosyndrome des plaquettes grises

A. Ranc[1], D. Chiffré-Rakotoarivony[1], C. Biron[1], I. Diaz[1]

[1]Département d'hématologie Biologique, Centre Hospitalo-Universitaire de Montpellier - Montpellier (France)

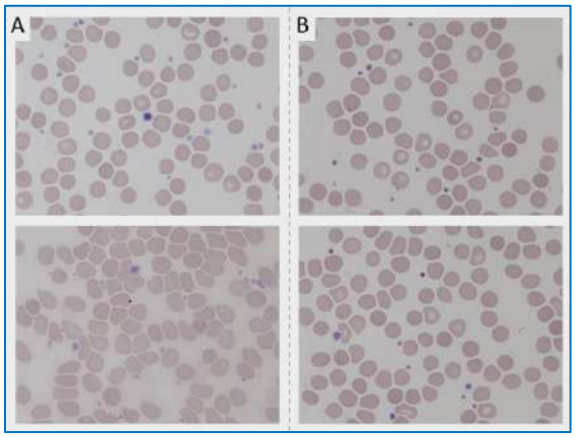
Introduction : Le syndrome des plaquettes grises (SPG) est une maladie hémorragique constitutionnelle rare liée à un défaut de production des granules alpha. Cette pathologie est facilement évoquée sur l'analyse cytologique des plaquettes, qui prennent une teinte grise sur frottis colorés au May Grunwald Giemsa.

Matériels et Méthodes : *Histoire de la maladie :* Une patiente de 38 ans, enceinte de 37 SA (G2P1), rapporte une histoire hémorragique significative (Score de Tosseto à 10) familiale et personnelle depuis l'enfance (saignements cutanéo-muqueux, post-opératoires et post-partum). Elle évoque une hémophilie A mineure chez un neveu.

Résultats :
Exploration biologique et prise en charge :
Le bilan biologique ne retrouve pas d'anomalie (hémoglobine : 12,4 g/dL, plaquettes : 204 G/L, VPM : 11,3 fL, leucocytes : 10,4 G/L, TQ : 12 sec (normes : 9,3 – 13,9), TCK ratio : 1,1, fibrinogène : 7,5 g/L, temps d'occlusion (Col/Epi) : 112 secondes, vWF:Ag > 250%, vWF:Act > 200%, FVIII > 250%, FIX : 121%, FXI : 93%. Devant l'histoire hémorragique et un VPM augmenté, une étude cytologique des plaquettes met en évidence 30% de macroplaquettes et 80% de plaquettes hypogranulées voire dégranulées pouvant évoquer un diagnostic de SPG (figure A).
Suite à une cholestase gravidique, la patiente est hospitalisée, une césarienne en semi-urgence est pratiquée sous anesthésie générale et transfusion plaquettaire avec contre-indication à la péridurale. L'accouchement s'est déroulé sans complication (pertes sanguines 400 cc) mais à J2 post-partum, elle présente un hématome de rate compliqué d'un hémopéritoine, nécessitant la réalisation d'une splénectomie et la transfusion de culots globulaires et de concentrés plaquettaires.
A distance de l'accouchement, un bilan de contrôle avec frottis sanguins simultanément sur tube EDTA (plaquettes grises – figure A) et sur tube citraté (plaquettes normales – figure B) sont réalisés. Au contact de l'EDTA, les plaquettes de cette patiente se sont activées et ont dégranulé leur contenu. Cytologiquement, le granulomère est absent et donne l'aspect gris des plaquettes. Cet aspect n'est pas retrouvé sur le frottis sanguin réalisé à partir du tube citraté, témoin de l'artéfact, et permet de mettre en évidence un « pseudosyndrome des plaquettes grises ». Il s'agit d'une anomalie pré-analytique, liée à une dégranulation artéfactuelle par l'EDTA dont quelques cas sont rapportés dans la littérature, mais certainement sous-estimés.
Concernant cette patiente, il n'y a, à ce jour, aucune anomalie mise en évidence pour le diagnostic étiologique du syndrome hémorragique (NGS plaquettes sans anomalie). Par ailleurs, la

patiente s'est révélée être conductrice d'hémophilie A à taux normal, n'expliquant pas l'anamnèse hémorragique.
Conclusion : Il nous a semblé important de rapporter ce cas de pseudosyndrome des plaquettes grises chez une patiente explorée pour syndrome hémorragique. Dans le cadre de l'exploration plaquettaire, devant une suspicion de SPG, un contrôle du frottis à partir de sang sur tube citraté permet d'éliminer le diagnostic de SPG.

Frottis colorés au MGG sur EDTA (A) et citrate (B)



00132 - Quand la maladie de Waldenstrom saigne : Willebrand acquis chez 6 patients

E. Hammami[1], I. Harzallah[1], B. Drénou[1]

[1]*GHRMSA - Mulhouse*

Introduction : Le syndrome de Willebrand acquis (WA) est une pathologie rare de l'hémostase. Les syndromes lymphoprolifératifs constituent la deuxième étiologie de WA après les cardiopathies. Cette complication est classiquement associée à la leucémie lymphoïde chronique, au myélome et à la MGUS. La maladie de Waldenstrom (MW) peut rarement se compliquer d'un WA.
Nous présentons les caractéristiques biologiques et cliniques de 6 patients atteints de MW et de WA.

Matériels et Méthodes : Une étude rétrospective portant sur les malades atteints de MW suivis au Groupe Hospitalier de Mulhouse et Sud Alsace (GHRMSA) de 2012 à 2021 a été réalisée. Les patients suivis pour MW avec des taux bas de facteur Willebrand ont été inclus. Le bilan d'hémostase de première intention comprenait un TP, TCA et une numération plaquettaire. Le temps d'occlusion plaquettaire (TOP) à l'ADP et à l'Epinéphrine ainsi qu'un dosage du facteur Willebrand Antigène (FvW :Ag), un dosage de l'activité Willebrand (activité cofacteur à la ristocétine FvW :Rco) et un dosage du taux de Facteur VIII (FVIII :C) ont été réalisés.

Résultats : Sur 100 patients atteints de MW, six avaient un WA (6%). Chez ces six patients, la médiane des ratios TCA était de 1,46, tandis que la médiane des FvW:Ag et FvW :RCo était respectivement de 30,5 et de 27,5 % . Le TOP était allongé à l'Epinéphrine et à l'ADP chez tous les patients. La recherche d'anticorps anti-Willebrand réalisée chez 3 patients était négative. Le ratio propeptide/Antigène Willebrand était augmenté chez un seul patient suggérant une clairance accrue du facteur Willebrand. L'étude des Multimères Willebrand réalisée chez un seul patient (sur les 4 analyses réalisées) était normale.
Les six patients n'avaient aucun antécédent hémorragique avant le diagnostic de MW. La symptomatologie hémorragique était faite d'épistaxis chez trois patients en plus d'une hémorragie post opératoire chez un patient.
Au moment du diagnostic du WA, le pic IgM variait de 8,3 à 61,4 g/l. Le patient ayant le pic le plus élevé était celui qui avait présenté la symptomatologie hémorragique la plus sévère (épistaxis ayant nécessité une intervention chirurgicale). Ce patient avait également une thrombopénie modérée (103 G/L).

Conclusion : Le WA compliquant une MW reste une situation rare. Cependant, elle est sous diagnostiquée. Dépister le WA avant une situation à risque hémorragique est primordial, même en l'absence de signes hémorragiques. La recherche de WA systématique pourrait être envisagée lors du diagnostic de MW. La survenue d'un WA chez un patient atteint de LLP complique la prise en charge thérapeutique. Devant la rareté de cette complication, des études randomisées ne sont pas envisageables. Ceci implique la nécessité d'effectuer un partage d'expérience autour de cette association Willebrand-Waldenstrom.

Posters
Anomalies thrombotiques veineuses et artérielles, acquises et héréditaires : aspects scientifiques, diagnostiques (clinico-biologiques), et thérapeutiques

00008 - L'intensité du signal de fluorescence directe des neutrophiles (NEU-SFL) : marqueur de NETose dans la pré-éclampsie ?

S. Bouvier[1], F. Guillotin[2], M. Fortier[2], M. Portes[3], C. Demattei[4], L. Cultrera[2], M. Loyens[2], C. Bourguignon[2], S. Brun[2], E. Mousty[3], E. Nouvellon[2], E. Mercier[1], M. Chea[2], V. Letouzey[5], J.C. Gris[1]

[1]Laboratoire d'Hématologie, CHU de Nîmes, Université de Montpellier – Nîmes-Montpellier (France),
[2]Laboratoire d'Hématologie CHU de Nîmes - Nîmes (France),
[3]Département de Gynécologie Obstétrique CHU de Nîmes - Nîmes (France),
[4]Bespim CHU de Nîmes - Nîmes (France),
[5]Département de Gynécologie Obstétrique, CHU de Nîmes-Université de Montpellier - Nîmes-Montpellier (France).

Introduction : Les polynucléaires neutrophiles sont des cellules clés de l'immunité innée. Activés, ils sont capables de libérer des filaments de chromatine décondensée appelés « neutrophil extracellular traps » (NETs) par le processus de « NETose ». Les NETs ont un effet procoagulant ; ils favorisent la formation du thrombus et le déclenchement de la coagulation. Une activation des polynucléaires neutrophiles est décrite au cours de la grossesse, cette activation étant majorée dans les pathologies médiées par le placenta qui sont associées à une augmentation du risque thrombotique. La présence de NETs a été décrite dans l'espace intervilleux de patientes ayant développé une pathologie vasculaire placentaire, suggérant que la NETose pourrait jouer un rôle dans la physiopathologie de ces complications. Ceci se traduit au niveau périphérique par une augmentation de marqueurs indirects de NETose tels que les nucléosomes ou l'ADN libre circulants. La visualisation des NETs par immunofluorescence s'avère fastidieuse, la quantification des nucléosomes et de l'ADN libre circulant manque à ce jour de standardisation. Récemment, des études ont mis en évidence l'indice de fluorescence des neutrophiles (NEU-SFL), obtenu facilement à partir de certains automates de numération sanguine, comme reflet de la NETose chez les patients avec une coagulation intra-vasculaire disséminée.

Matériels et Méthodes : L'objectif de notre étude a été de déterminer le NEU-SFL dans une cohorte de grossesse normale et chez des femmes ayant développé une pré-éclampsie (étude ancillaire à l'étude « GrossPath », NCT 01736826). Cet indice a été colligé à partir des paramètres de recherche donnés par l'automate Sysmex™ XN-10® analyzer (Sysmex Corporation, Kobe, Japan). Nous avons ensuite étudié la corrélation entre cet indice et la concentration d'histone H3 citrullinée, reconnue comme marqueur indirect de NETose, et déterminée par technique ELISA.

Résultats : Nous avons montré que le NEU-SFL augmente au cours de la grossesse normale et diminue significativement chez les patientes pré-éclamptiques, cette baisse étant corrélée aux concentrations d'histone H3 citrullinée. La diminution du NEU-SFL est en accord avec les résultats obtenus après stimulation par le phorpbol-12-myristate-13-acetate (PMA), activateur de NETose.

Conclusion : Cette différence de cinétique du NEU-SFL en fonction du devenir de la grossesse suggère l'implication de plusieurs mécanismes de NETose dans la grossesse, actuellement en cours d'étude.

00013 - Altération des propriétés mécaniques et structurelles des caillots de plasma hypercoagulables

L. Wolff[1], N. Westbrook[2], J. Moreau[2], J.M. Allain[3], C. James[1]

[1]Inserm U1034, Université de Bordeaux, Pessac, France - Pessac (France),
[2]Laboratoire Charles Fabry, Université Paris-Saclay, Institut d'Optique Graduate School, CNRS UMR8501, 91127, Palaiseau Cedex (France)
[3]LMS, Ecole Polytechnique, CNRS, Palaiseau, France - Palaiseau (France)

Introduction : Les événements thromboemboliques veineux (ETEV) représentent la troisième cause de décès cardiovasculaire et 50 % des ETEV récurrents restent encore inexpliqués. Une identification des causes des ETEV inexpliqués pourrait améliorer leur traitement et leur prévention. Nous avons émis l'hypothèse que les propriétés micromécaniques et structurelles de caillots plasmatiques, ayant un profil hyper-coagulable pourraient être modifiées. Notre objectif est donc de développer une nouvelle méthode analysant les propriétés mécano-structurelles de caillots pathologiques.

Matériels et Méthodes : Les caillots de fibrine sont fabriqués à partir de plasma pauvre en plaquettes (PPP) humain (témoins), d'une solution de facteur tissulaire et de phospholipides (respectivement 5pM et 4uM final), de fibrinogène marqué à A488, des billes de 6um de diamètre et enfin du CaCl2 (10mM final) pour déclencher la coagulation. Afin de mesurer les modules viscoélastiques des caillots, des mesures de micro-rhéologie passive (utilisant un système de détection précis basé sur l'enregistrement du mouvement brownien des billes) ont été réalisées. Afin de quantifier le réseau de fibrine des caillots, ces derniers ont été observés avec un microscope confocal. Après avoir développé un protocole nous permettant de fabriquer des caillots reproductibles, nous les avons enrichis en facteurs de coagulation (fibrinogène et FVIII - 1,5g/L et taux trois fois plus élevé que chez un témoin, respectivement) pour les rendre hyper-coagulables.

Résultats : Les caillots hyper-coagulables sont plus denses et plus rigides que les caillots sains. La densité de nœuds et des fibres y est plus importante et les fibres y sont plus courtes. Mécaniquement, les modules viscoélastiques sont augmentés, ce qui témoigne de caillots plus rigides.

Conclusion : En vue des modifications structurelles et mécaniques des caillots hyper-coagulables, cette double analyse pourrait être un outil pour explorer et mieux comprendre l'hypercoagulabilité.

00020 - Evaluation du test HemosIL® AcuStar HIT-IgG (PF4-H) pour le diagnostic des thrombopénies à l'héparine (TIH) au CHU de Lille

K. Ben Hadj Ali[1], M. Desvages[1], A. Dupont[2], A. Bauters[1]

[1]Laboratoire d'hémostase, Institut d'hématologie Transfusion, CHU Lille - Lille (France),
[2]Laboratoire d'hémostase, Institut d'hématologie Transfusion, CHU Lille. Univ.lille, Inserm, Institut Pasteur de Lille, U1011-Egid. - Lille (France)

Introduction : La TIH est une complication rare mais potentiellement grave des traitements par l'héparine liée à la présence d'anticorps activateurs anti-PF4 héparine dépendants (AcPF4-H). En cas de suspicion de TIH, le relais par un traitement non héparinique à dose curative est recommandé : il s'agit d'une urgence thérapeutique. Le résultat d'un test diagnostique rapide et spécifique pourrait améliorer le diagnostic et la prise en charge thérapeutique de la TIH.
Objectifs : Evaluer les performances diagnostiques du test HemosIL® AcuStar HIT-IgG (PF4-H). Définir la valeur prédictive positive du test.

Matériels et Méthodes : Analyse de plasmas d'une cohorte prospective de 45 prélèvements citratés adressés au laboratoire pour suspicion de TIH et de 17 plasmas congelés issus d'une cohorte de patients avec une TIH confirmée (TIH +). Ont été classés TIH +, les prélèvements présentant une recherche d'Ac PF4-H ELISA positive (DO>0 .4) (ELISA, PF4 IgG, Immucor), associée à un test d'agrégation plaquettaire positif ou à un test de libération de la sérotonine radiomarquée (TLSRA) positif.

Résultats : Cohorte prospective : n = 45, score 4T moyen = 3,7 + 1,3. Le seuil de positivité de l'AcuStar est de 1,0 U/mL, 14 patients (26,2%) avaient un taux >1 U/mL, 8 étaient TIH +, 31 patients avaient un taux < 1 U/mL, tous étaient TIH - (Se= 100%, Sp=75,6%, VPP= 57,14%, VPN= 100%).
Cohorte des patients TIH +: n = 17, score 4T moyen = 5,23 + 1,3. Pour 15 plasmas le dosage des AcPF4-H AcuStar était > 1 U/mL et pour 2 plasmas le dosage était <1 (0,72 et 0,88 U/mL) (Ac PF4-H ELISA = 0,43 et 0,72 DO, score des 4T à 5 et 4 respectivement). En combinant les résultats de ces 17 patients TIH + avec ceux des 8 patients TIH + identifiés dans la cohorte prospective, la Se du test Ac PF4-H AcuStar est de 92%.
A partir d'une courbe ROC nous avons défini le cut-off optimal pour le test AcPF4-H AcuStar à 2,75 U/mL (Se = 84%, Sp = 91,9 %) et nous avons identifiés 3 groupes (1 - 2,75 U/ml ; 2,75 - 10 U/ml et >10 U/mL). Dans le premier groupe (1 – 2,75 U/mL), score 4T moyen = 4,2 + 1,8, pour 3 patients / 5 (60%) la TIH était exclue (faux positifs) contre 6 patients / 29 dans les 3 groupes (20.68%). Dans le groupe intermédiaire (2.75 – 10 U/m l) n = 12, 9 TIH +, score 4T moyen = 5 + 1.3. Dans le dernier groupe (Ac PF4-H > 10 UI/ml) n= 12, score des 4T = 5.25 + 1.4, le diagnostic de TIH était confirmé chez tous les patients, soit 41% des Ac PF4-H positifs.
Un titre faible d'Ac anti PF4-H Acustar (< 2.75 U/mL) permet d'exclure une TIH avec une Sp de 91.1% et à l'inverse, un titre élevé (> 10 U/mL) permet de confirmer la TIH avec une Sp de 100%.

Conclusion : Le test HemosIL Acustar HIT-IgG (PF4-H) permet une mesure rapide (30 min) des Ac PF4-H, le risque de TIH augmente avec le titre des Ac PF4-H. Un titre d'HemosIL IgG PF4-H > 10 U/ml présente une spécificité de 100% et pourrait dispenser de la réalisation d'un test fonctionnel. Ces seuils devront être validés par une étude multicentrique.

00022 - Impact of age on in vitro metabolism of clopidogrel: a potential explanation for high on-treatment platelet reactivity in elderly?

A. Pontis[1], X. Delavenne[2], M.C. Verdier[3], S. Hodin[4], A. Andriamaharo[5], P. Guéret[6], F. Nédelec-Gac[6], P. Gaussem[7], C. Bachelot-Loza[8], I. Gouin-Thibault[1]

[1]Laboratoire d'hématologie-Hémostase Bioclinique, Pontchaillou, CHU de Rennes ; Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail-IRSET, Inserm Umr_s 1085, Université Rennes 1 - Rennes (France),
[2]Laboratoire de Pharmacologie Toxicologie, CHU de Saint Etienne ; Inserm, UMR 1059, Dysfonction Vasculaire et de l'hémostase, Université de Lyon - Saint Etienne (France),
[3]Service de Pharmacologie, CHU de Rennes ; Inserm, Ehesp, IRSET (Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail) - Umr_s 1085, Rennes ; Inserm, Centre d'investigation Clinique, CIC 1414, Rennes, Université Rennes 1 - Rennes (France),
[4]Inserm, UMR 1059, Dysfonction Vasculaire et de l'hémostase, Université de Lyon - Saint Etienne (France),
[5]Université Rennes 1 - Rennes (France),
[6]Laboratoire d'hématologie-Hémostase Bioclinique, Pontchaillou, CHU de Rennes - Rennes (France),
[7]Service d'hématologie Biologique, AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, F-75015 Paris ; Inserm U1140, Innovations Thérapeutiques en Hémostase, Université de Paris - Paris (France),
[8]Inserm U1140, Innovations Thérapeutiques en Hémostase, Université de Paris - Paris (France)

Introduction : High on-treatment platelet reactivity (HTPR) exits in about 30% of patients on clopidogrel and reaches 50% in elderly patients. Poor responders have an eight-fold increased risk of cardiovascular events. Little is known on the mechanism of this biological resistance and the reasons for the higher resistance to clopidogrel in the elderly have not been investigated. One hypothesis is an age-related impaired hepatic metabolism of the prodrug clopidogrel, leading to a lower formation of its active metabolite (clopidogrel-AM).
The primary objective of this work was to compare the levels of the clopidogrel-AM formed upon activation of clopidogrel by human "old" and "young" microsomes and the secondary objective was to compare the effects of the metabolism products on platelet functions assessed by ADP-induced platelet aggregation.

Matériels et Méthodes : We developed an *in vitro* model using "young" and "old" HLMs of mean age 51.2±8.5 and 73.6±2.3 y, respectively. "Young" and "old" HLMs, in an incubation mixture (β-NADP+ hydrate, D-glucose-6-phosphate, recombinant glucose-6-phosphate deshydrogenase from L. mesenteroides and MgCl2 in a potassium-phosphate buffer), were added to citrated platelet-rich-plasma from healthy donors (<65 years old) with or without clopidogrel (50µM) and incubated at 37°C for 30 (T30) and 45min (T45). Clopidogrel-AM was quantified by a validated LC MS/MS method. Platelet aggregation was performed by light transmission aggregometry (LTA) using ADP 10µM.

Résultats : The generation of clopidogrel-AM increased over time and concentrations were comparable to those reported in treated patients by clopidogrel 75mg/day, at steady state. At T30, mean clopidogrel-AM concentration was significantly higher with "young" (8.56µg/L, 95%CI [5.87-11.24]) than with "old" HLMs (7.64µg/L, 95%CI [5.14-10.14], p=0.002); as well as at T45: 11.40µg/L, 95%CI [7.57-15.22] versus 10.63µg/L, 95%CI [7.10-14.15], p=0.016) (n=21) (Figure 1). Despite a significant inhibition of platelet aggregation, no significant difference was found in LTA (ADP 10µM) after clopidogrel metabolism by "old" or "young" HLMs, probably due to a low sensitivity of the method to small variations of clopidogrel-AM. Nonetheless, we observed that all IPA were either >70% or <45% irrespective of the metabolite concentration and the incubation time (Figure 2). This "on-off effect" clopidogrel-AM could be in favor of an individual platelet sensitivity to clopidogrel. These results deserve further investigation.

Conclusion : In this original model combining metabolic and functional approaches, less clopidogrel-AM was produced with older HLMs. This provides support for a decreased CYP450 activity that may contribute to HTPR in elderly patients.

Figure 1

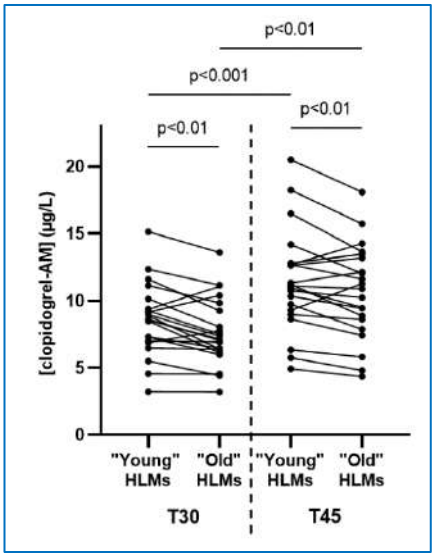
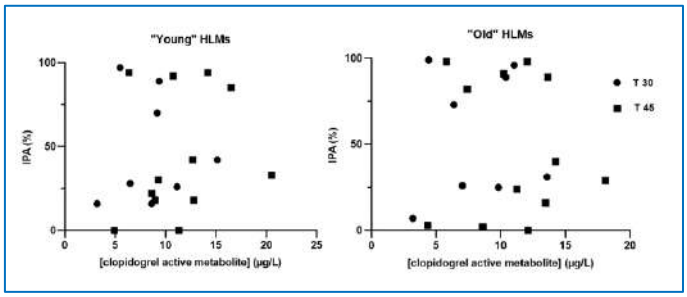


Figure 2



00024 - Première expérience de dépistage du lupus anticoagulant dans la prééclampsie sévère et l'éclampsie à Ouagadougou au Burkina Faso

S. Sawadogo[1], A. Minoungou/Ouattara[2], K. Nébié[1], M. Nikiema/Minoungou[3], E. Kafando[1]

[1]Université Joseph Ki-Zerbo - Ouagadougou (Burkina Faso),
[2]Centre Hospitalier Régional de Ziniaré - Ziniaré (Burkina Faso),
[3]Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo - Ouagadougou (Burkina Faso)

Introduction : Les anticoagulants circulants lupiques ou anticorps anti-prothrombinase sont caractérisés par leur capacité à interférer in vitro avec les réactions de coagulation dépendant des phospholipides. Ils font partie de l'entité nosologique du syndrome des anticorps anti-phospholipides qui associe entre autres des thromboses veineuses et artérielles, des avortements, des pré-éclampsies et éclampsies à répétition.
Dans les pays à ressources limitées, du fait du faible développement des laboratoires, les investigations biologiques des syndromes des anticorps anti-phospholipides ne sont pas toujours accessibles. Nous rapportons ici la toute première expérience de dépistage des anticoagulants lupiques dans la pré-éclampsie sévère et l'éclampsie au Burkina Faso.

Matériels et Méthodes : Nous avons mené une étude cas-témoins non appariée en milieu hospitalier qui a comparé les femmes avec une prééclampsie ou une éclampsie sévères à des témoins (femmes enceintes à terme sans complications obstétricales). Les échantillons ont été prélevés et traités dans le respect des exigences préanalytiques. Le Temps de venin de vipère de Russel dilué a été utilisé pour la recherche de l'anticoagulant lupique. L'algorithme utilisé comprenait les tests de dépistage, de mélange et de confirmation. La présence d'un anticoagulant lupique était définie par un ratio temps de dépistage / temps de confirmation > 1,2.

Résultats : Au total, 86 cas et 87 témoins ont été inclus dans l'étude. L'âge moyen était respectivement de 25,3 ± 6 ans et 25,4 ± 4,9 ans. On notait des complications obstétricales de types prématurité ou mort fœtale chez 31,4% des cas contre aucune chez les témoins.
La prévalence de l'anticoagulant lupique était de 22,1% chez les cas contre 3,4 % chez les témoins avec un odd ratio de 6,12 ; [1,45 – 25,84], p = 0,014). Parmi les patients possédant un anticoagulant, 68,2 % étaient des primigestes (OR = 2,69 ; [1,04 – 6,97] ; p = 0,042). Le diagnostic de syndrome des anti-phospholipides obstétrical pouvait être évoqué chez 4,6 % des cas.

Conclusion : Cette étude est une première expérience au Burkina Faso. L'anticoagulant lupique était fréquent et associé à la prééclampsie sévère / éclampsie dans notre contexte. Toutefois, il est nécessaire de faire une validation des méthodes, de mettre en place les contrôles nécessaires et d'implémenter d'autres techniques complémentaires de diagnostic afin d'améliorer l'exploration des syndromes des anticorps anti-phospholipides.

00046 - Platelet PN-1 regulates clot structure and retraction

S. Loyau[1], Y. Boulaftali[1], L. Venisse[1], V. Arocas[1], M.C. Bouton[1]

[1]Inserm U1148 - Paris (France)

Introduction : Background: Protease Nexin-1 (PN-1), is a strong inhibitor of serine proteases. We recently established platelet PN-1 as a negative regulator of thrombin generation and thrombosis. Altered clot architecture and retraction are known to be associated with abnormal thrombin generation.
Aim: To evaluate the role of platelet PN-1 on clot structure and retraction.

Matériels et Méthodes : Clot retraction was assessed after recalcification in glass tubes of human platelet-rich plasma (PRP) incubated or not with a PN-1-blocking IgG, or of PRP obtained from wild-type (WT) or PN-1 knock-out (PN-1-/-) mice. Clot architecture was evaluated with confocal microscopy of human or mice platelet-rich clots (PRC) supplemented with Alexa647-fibrinogen and Alexa488 anti-CD41, a platelet marker. Adhesion and spreading of Alexa647-GPIX labelled Platelets were assessed on immobilized fibrinogen at 37°C. Clot viscoelasticity properties were analysed with ROTEM and the phosphorylation state of platelet tyrosine proteins and myosin light chain (MLC) by western blot of solubilized clots.

Résultats : Surprisingly, clot weight was increased by 66% in human PRC incubated with a blocking anti-PN-1 IgG and by 40% in PN-1-/- PRC compared to their controls. Confocal microscopy images showed a fibrin network structure more porous in PRC from PN-1-/- mice or in human PN-1 inhibited PRC. TEMograms showed that the blocking anti-PN-1 IgG induced a 26% decrease of the maximum clot elasticity. Adhesion to fibrinogen was markedly decreased (P<0,001) in TRAP-4 or convulxin- activated platelets from PN-1-/- mice compared to WT respectively by 27% and 26%. Platelets PN-1-/- display a more pronounced actin polymerization in response to TRAP-4 activation. Interestingly, platelets from PN-1-/- mice exhibit a significant decrease of phosphorylation on Tyr 759 of the β3 cytoplasmic tail during clot formation.

Conclusion : Despite its anti-thrombin effect, platelet PN-1 accounts for the formation of a tight structure of PRC. We thus identify a critical positive role of PN-1 on platelet-driven clot retraction. Platelet PN-1 has an inhibitory effect on, F-actin polymerization. Further studies are required to determine how PN-1 contributes to the intracellular signalling pathways in clot retraction.

00048 - Les hématopoïèses clonales de signification indéterminée : un facteur de risque cardiovasculaire comme les autres

M. Dufossée[1], S. Marti[2], S. Fawaz[3], D.A. Trégouët[4], C. Tzourio[5], S. Debette[5], C. James[6], T. Couffinhal[3], O. Mansier[6]

[1]Inserm U1034, Université de Bordeaux, Biologie des Maladies Cardiovasculaires - Pessac (France),
[2]CHU de Bordeaux, Laboratoire d'hématologie - Pessac (France),
[3]CHU de Bordeaux, Service des Maladies Coronaires - Pessac (France),
[4]Bordeaux Population Health Research Center, Inserm U1219, Université de Bordeaux - Bordeaux (France),
[5]CHU de Bordeaux, Département de Neurologie and Institut des Maladies Neurodégénératives - Bordeaux (France),
[6]CHU de Bordeaux, Laboratoire d'hématologie - Pessac (France) - Pessac (France)

Introduction : Les hématopoïèses clonales de signification indéterminée (CHIP) sont définies par la détection dans les leucocytes de mutations associées aux leucémies en absence d'hémopathie. Les CHIP semblent associées à un sur-risque d'évènements cardiovasculaires (ECV) liés à l'athéro-thrombose (accidents vasculaires cérébraux et infarctus du myocarde-IDM) indépendamment des facteurs de risque traditionnels (FDRCV, diabète, tabagisme, dyslipidémie, hypertension artérielle). Toutefois les possibles interactions entre CHIP et FDRCV n'ont pas été étudiées dans le contexte des ECV.

Matériels et Méthodes : La cohorte des 3C comprend plusieurs milliers de patients de plus de 65 ans tirés au sort sur liste électorale et ayant bénéficié d'un suivi cardiologique. Dans cette cohorte, nous avons recherché la présence d'une CHIP par séquençage ciblé chez 297 sujets sans antécédent d'ECV à l'inclusion. La présence d'une CHIP était définie comme la détection d'au moins une mutation avec une fréquence allélique (VAF) ≥2%. Les données disponibles comprenaient une évaluation du profil inflammatoire (CRP), des FDRCV et de la charge en athérome (nombre de plaques détectées en échographie, épaisseur intima-media). Le risque cardiovasculaire global a été évalué selon le score AHA life's simple 7 et défini comme favorable si le patient présentait au moins 3 items à l'optimum. Nous avons étudié l'association entre la

présence d'une CHIP, le profil cardiovasculaire et inflammatoire à l'inclusion et l'incidence d'ECV (IDM, angor, suivi médian 81 mois).

Résultats : Une CHIP a été détectée chez 121/297 patients (41%). La plupart des mutations identifiées affectaient les gènes DNMT3A (46%) et TET2 (30%), avec 40% des patients avec CHIP présentant 2 mutations ou plus. Les patients porteurs de CHIP étaient plus âgés que les patients sans CHIP (74.2 VS 73 ans, p=0,03) mais sans augmentation du taux de CRP (1.66 VS 1.75 mg/L respectivement). La charge en athérome et la prévalence des différents FDRCV étaient également comparables entre les patients avec et sans CHIP (61 VS 60% de patients porteurs de plaques, épaisseur intima-media médiane 0,68 VS 0,6725 respectivement). Cependant, les patients porteurs de CHIP présentaient plus fréquemment un risque cardiovasculaire faible (68,2% VS 55,3%, p=0,042).
Durant le suivi, 79 patients ont développé un IDM et 73 un angor. En considérant différentes VAF (2%, 5% ou 10%), l'existence d'une CHIP n'impactait ni la fréquence ni le délai de survenue d'ECV (angor +/- IDM). Des résultats comparables étaient observés en ne considérant que les mutations de DNMT3A et TET2. Néanmoins, parmi les patients ayant présenté un ECV, les patients avec CHIP avaient plus fréquemment un risque cardiovasculaire faible (p=0,0013 pour angor+/-IDM, p= 0,06 pour angor et p=0,01 pour IDM).

Conclusion : Ces résultats suggèrent que dans une population sans antécédent d'ECV, la présence d'une CHIP n'est pas associée à une inflammation ou à une charge athéromateuse plus importante. Par elles-mêmes, les CHIP n'induisent pas d'augmentation majeure de l'incidence des ECV liés à l'athéro-thrombose. Néanmoins, les CHIP semblent interagir avec les FDRCV traditionnels pour induire des ECV soit par un effet synergique avec certains d'entre eux, soit en se substituant à des facteurs particuliers. Ces données devront être confirmées sur des cohortes de plus grande taille.

00067 - Increased blood viscosity and red blood cell aggregation in patients with COVID-19

C. Nougier[1], E. Nader[2], C. Boisson[2], R. Hamdi[1], P. Connes[2], Y. Dargaud[3]

[1]Centre de Biolohie et Pathologie Est, Laboratoire Hématologie, HCL - Lyon (France),
[2]Laboratoire Interuniversitaire de Biologie de la Motricité (LIBM) Ea7424, Team « Vascular Biology And Red Blood Cell », Université Claude Bernard Lyon 1, France 2 Laboratoire d'excellence du Globule Rouge (labex Gr-Ex), Pres Sorbonne, Paris, France - Lyon (France),
[3]Unité d'hémostase Clinique, Hopital Cardiologique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France; Ur4609 Hémostase et Thrombose, Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de Médecine Lyon Est, Lyon, France - Lyon (France)

Introduction : Endothelial injury, hypercoagulability, and decreased blood flow are suspected to play a key role in thrombosis,multiorgan failure, and death of patients with COVID-19.The link between increased blood viscosity and COVID-19-related complications and severity is not formerly established and can only be suspected.The aim of this study was to (1) analyze blood viscosity, red bl ood cell (RBC) deformability, and aggregation in hospitalized patients with Coronavirus disease 19 (COVID-19); (2) test the associations between impaired blood rheology and blood coagulation; and (3) test the associations between impaired blood rheology and several indicators of clinical severity.

Matériels et Méthodes : A total of 172 patients with COVID-19, hospitalized in COVID-unit of the Internal Medicine Department (Lyon, France) participated in this study between January and May 2021. Clinical parameters were collected for each patient. Routine hematological/biochemical parameters, blood viscosity, RBC deformability and aggregation, and RBC senescence markers were measured on the first day of hospitalization. A control group of 38 healthy individuals was constituted to compare the blood rheological and RBC profile. Rotational thromboelastography was performed in 76 pa tients to study clot formation dynamics.

Résultats : Our study demonstrated that patients with COVID-19 had increased blood viscosity despite lower hematocrit than healthy individuals, as well as increased RBC aggregation. In-vitro experiments demonstrated a strong contribution of plasma fibrinogen in this RBC hyper-aggregation. RBC aggregation correlated positively with clot firmness, negatively with clot formation time, and positively with the length of hospitalization. Patients with oxygen supplementation had higher RBC aggregation and blood viscosity than those without, and patients with pulmonary lesions had higher RBC aggregation and enhanced coagulation than those without.

Conclusion : This study is the first to demonstrate blood hyper-viscosity and RBC hyper-aggregation in a large cohort of patients with COVID-19 and describe associations with enhanced coagulation and clinical outcomes.

00088 - Identification de variants génétiques rares associés à la maladie thromboembolique veineuse par séquençage ciblé en panel

P. Suchon[1], N. Saut[2], M.C. Alessi[1], D.A. Tregouet[3], P.E. Morange[1]

[1]Aix Marseille Univ, Inserm, Inrae, C2vn - Marseille (France),
[2]Service d'hématologie Biologique, CHU Timone - Marseille (France),
[3]Inserm Umr 1219, Bordeaux Population Health Research Center, University of Bordeaux - Bordeaux (France)

Introduction : L'héritabilité de la maladie thromboembolique veineuse (MTEV) est élevée (35%-60%). Des variants génétiques rares pourraient expliquer la survenue d'épisodes sévères de MTEV. L'identification de ces variants est facilitée par le développement des technologies de séquençage haut débit.
L'objectif de notre étude est d'identifier des variants rares potentiellement responsables d'épisodes de MTEV non provoqués chez 128 patients âgés de moins de 60 ans présentant un bilan de thrombophilie négatif, et majoritairement des antécédents familiaux de MTEV.

Matériels et Méthodes : Un panel ciblé de 20 gènes en lien avec la coagulation ou précédemment décrits comme associés à la MTEV a été séquencé chez les patients sélectionnés. Les variants rares identifiés (fréquence allélique MAF ≤ 0,1% dans la population générale) ont ensuite été classés selon les recommandations de l'American College of Medical Genetics (ACMG).

Résultats : L'analyse des séquences codantes et régulatrices des 20 gènes sélectionnés (tableau 1) a permis d'identifier 15 variants potentiellement délétères (classes 4 et 5 ACMG) et 21 variants de signification indéterminée (classe 3 = VUS). 31/36 variants étaient non synonymes. Parmi les variants de classe 4-5, 5 étaient situés sur les gènes des inhibiteurs de la coagulation (SERPINC1, PROC, PROS1) et ont été identifiés chez des patients ayant bénéficié d'un bilan de thrombophilie sous traitement anticoagulant, empêchant le dosage plasmatique des inhibiteurs physiologiques. En complément, 10 variants de classe 4-5 ont été identifiés sur les gènes F2, F5, F7, F10, FGA et TFPI. Parmi eux, 7 n'avaient jamais été rapportés dans les bases de données publiques. Enfin, 4 VUS ont été identifiés sur SERPINC1 et 7 sur PROS1, chez des patients ne présentant pas de déficit plasmatique pour la protéine correspondante. Le variant Heerlen situé sur PROS1 était présent chez 3 patients (MAF = 0,012) à une fréquence plus élevée que celle rapportée dans la base de données gnomAD (MAF=0,003).

Conclusion : Cette étude a permis la découverte de variants potentiellement associés à la MTEV chez des patients avec bilan de thrombophilie négatif. Nos résultats suggèrent par ailleurs qu'une stratégie basée sur le séquençage d'un panel ciblé de gènes pourrait aider à identifier des anomalies moléculaires sur les inhibiteurs naturels de la coagulation chez des patients sous traitement anticoagulant. Des études de validation fonctionnelle des nouveaux variants identifiés doivent être conduites.

Tableau 1. Gènes identifiés

	Nombre de variants identifiés			
Gène	Classe 5	Classe 4	Classe 3	Not previously reported [classe 5/classe 4/classe 3]
PROS1	1	0	7	2 [0/0/2]
SERPINC1	0	1	4	1 [0/0/1]
PROC	0	3	0	1 [0/1/0]
F2	0	3	1	2 [0/2/0]
F5	1	1	3	1 [0/0/1]
F7	0	2	0	2 [0/2/0]
FGA	1	0	0	0
F10	0	1	0	1 [0/1/0]
TFPI	0	1	0	1 [0/1/0]
F8	0	0	2	0
F13A1	0	0	2	0
FGG	0	0	1	0
F3	0	0	1	1 [0/0/1]

*Classification selon les recommandations ACMG.
Aucun variant potentiellement délétère (avec fréquence allélique mineure ≤0,1% dans la population générale) n'a été identifié sur les gènes suivants : *F9, F11, F12, VWF, FGB, ABO, F13B.*

00104 - Chirurgie urgente sous AOD : Y a-t-il une place pour les échanges plasmatiques ?

C. Delassasseigne[1], Q. Beaufils[1], P. Laporte[1], L. Weinmann[1], F. Thevenot[2], X. Lafarge[2], T. Cabantous[2], C. Mouton[1]

[1]Laboratoire Hématologie CHU Bordeaux - Bordeaux (France),
[2]Etablissement Français du Sang Nouvelle-Aquitaine, Site de Bordeaux Pellegrin - Bordeaux (France)

Introduction : Pour la chirurgie urgente sous traitement anticoagulant direct par voie orale (AOD), il est recommandé d'évaluer le degré d'urgence de la procédure, le niveau de risque hémorragique, l'anticoagulation par un dosage spécifique de l'AOD, d'utiliser l'antidote Idarucizumab® du dabigatran (si concentration > à 30 ng/ml et chirurgie à haut risque hémorragique) (1). Pour le rivaroxaban et l'apixaban (Xabans), compte tenu de la demi-vie courte de ces molécules, on doit évaluer le degré d'urgence après dosage. Sans possibilité de différer, la « réversion » de l'effet anticoagulant des Xabans peut être faite par PCC au cours de la chirurgie. A ce jour, l'andexanet alfa n'est pas commercialisé en France et le produit a uniquement une AMM européenne en situation hémorragique grave.
L'échange plasmatique (PLEX), technique rapide réalisable sur voie d'abord périphérique, élimine les Xabans (2).
Le but de l'étude a été d'évaluer l'impact des PLEX à éliminer les AOD de type Xabans.

Matériels et Méthodes : 4 patients sous Xabans bénéficiant de PLEX au long cours pour des polyradiculonévrites chroniques ont été inclus dans l'étude. Les échanges sont réalisés contre une solution d'albumine. Les prélèvements sont faits avant PLEX (T0), immédiatement après (T1) et 1h après (T2). Pour 3 patients, les prélèvements ont été réalisés lors de 4 séances de PLEX à des dates différentes, les résultats sont exprimés en moyenne (tableau I).
Patient 1 sous apixaban 2.5mgX2, 1 seule séance à T0 et T1
Patient 2 sous apixaban 5mgX2, 4 séances à T0 T1 T2
Patient 3 sous rivaroxaban 15mg, 4 séances à T0 T1 T2
Patient 4 sous rivaroxaban 20mg, 3 séances à T0 T1 T2
Pour chaque prélèvement, les paramètres suivants sont évalués : dosages des anti Xa apixaban ou rivaroxaban, TP, TCA, Fibrinogène, Antithrombine, Facteurs II et V (réactifs et automates WERFEN).

Résultats : Résultats Tableau I : Impact des PLEX sur la concentration plasmatique en Xabans et paramètres de coagulation
Pour l'Apixaban, le pourcentage (%) d'élimination après PLEX est compris entre 41 et 47%, quelle que soit la dose. Pour le Rivaroxaban, ce pourcentage se situe entre 25 et 35% avec résultat plus faible pour la dose de 20mg que pour la dose de 15mg. Après les PLEX, les facteurs de la coagulation diminuent en moyenne de 30 à 70% selon les paramètres, en rapport avec la solution échangée (albumine).
On ne montre pas de différences sur les dosages à T1 et T2.

Conclusion : La méthode d'échange plasmatique, de par son accessibilité et son efficacité sur l'élimination de l'apixaban et du rivaroxaban pourrait être utilisée en présence de concentrations significatives > 150 ng/ml chez des patients en situation d'urgence et dont on ne pourrait différer l'opération.
Pour les patients anticoagulés et nécessitant des échanges plasmatiques réguliers, la question se pose de réaliser l'échange avant la prise d'AOD afin de ne pas diminuer l'efficacité du traitement anticoagulant.

Bibliographie :
(1) Management of bleeding associated with direct oral anticoagulants: update on reversal strategies. Ruff CT and al.Circulation. 2016 Jul 19;134(3):248
(2) The management of anticoagulation in patients undergoing therapeutic plasma exchange: A concise review. Shunkwiler Sara M et al. J Clin Apher. 2018 Jun;33(3):371-379
- Therapeutic Plasma Exchange for Urgent Rivaroxaban Reversal. Varun Kumar and al. Tex Heart Inst J. 2018 Apr 7;45(2):96-9
- Effects of therapeutic plasma exchange on anticoagulants in patients receiving therapeutic anticoagulation: a systematic review. Hodulik KL, Root AG, Ledbetter LS, Onwuemene OA.Transfusion. 2019 May;59(5):1870-1879
- The effect of hemoadsorption on rivaroxaban blood plasma concentration in emergency cardiac surgery. Bernard Krüger and al. Indian J Thorac Cardiovasc Surg. 2021 Nov;37(6):680-683
- Plasma Exchange for Urgent Apixaban Reversal in a Case of Hemorrhagic Tamponade after Pacemaker Implantation. Wilson W Lam and al.Tex Heart Inst J. 2015 Aug 1;42(4):377-80
- Comparison of three modalities of plasmapheresis on coagulation: Centrifugal, single-membrane filtration, and double-filtration plasmapheresis. Raphaël Marlu and al. J Clin Apher. 2021 Jun;36(3):408-419
- Drug-Drug Interactions Leading to Adverse Drug Reactions with Rivaroxaban: A Systematic Review of the Literature and Analysis of VigiBase. Silvia Fernandez and al. J Pers Med. 2021 Mar 30;11(4):250

Tableau1

	Patient 1		Patient 2			Patient 3			Patient 4		
	T0	T1	T0	T1	T2	T0	T1	T2	T0	T1	T2
AOD/Dose mg	Apixaban 2,5 x 2		Apixaban 5 x 2			Rivaroxaban 15			Rivaroxaban 20		
Age (années)	87		65			74			77		
ALAT (UI/mL)	-	-	22			20			15		
DFG (mL/min)	-	-	91			91			81		
TP (%)	80	48	69	39	42	49	28	26	49	22	23
TCA (ratio)	1,00	1,15	1,18	1,68	1,69	1,23	1,55	1,55	1,17	1,61	1,56
Fib (g/L)	3,9	1,5	3,5	1,1	1,1	2,0	0,7	0,7	2,8	0,8	0,7
Axa AOD (ng/mL)	151	89	284	168	151	217	138	139	168	119	124
% élimination après PLEX	-	**41%**		**41%**	**47%**	-	**35%**	**35%**	-	**29%**	**25%**
Facteur II (%)	-	-	79	31	31	57	28	27	63	24	25
Facteur V (%)	-	-	98	37	39	74	22	31	78	26	29
AT (%)	-	-	126	51	49	113	49	49	78	26	29

00109 - Intérêt de la neutralisation des AODs par DOAC-Remove pour les dosages d'activité anticoagulante des protéines C et S

W. Ghammad[1], N. Gendron[1,2], S. Luneau[1], D. Smadja[1,2], D. Helley[1,3], L. Mauge[1,3]

[1]Service d'hématologie Biologique, Assistance Publique Hôpitaux de Paris-Centre (AP-HP.CUP), F-75015 Paris, (France).
[2]Thérapies Innovantes en Hémostase, Inserm UMR-S1140, Université de Paris, 75006. - Paris (France).
[3]Université Paris Cité, PARCC, Inserm, U970 F-75015 - Paris (France).

Introduction : Les anticoagulants oraux directs (AOD) sont de plus en plus utilisés pour le traitement de la maladie veineuse thromboembolique. Mais la recherche de thrombophilie biologique chez les patients traités par AOD est limitée par leur interférence sur certains tests. Notamment, il y a un risque de surestimation des dosages de l'activité anticoagulante des protéines C (PC) et S (PS), seuls tests permettant de dépister certains déficits qualitatifs. Ce travail porte sur la place de la neutralisation ex vivo de l'AOD avec du charbon activé pour pouvoir réaliser ces dosages.

Matériels et Méthodes : L'activité anticoagulante de la PC (Hémoclot Protein C, Hyphen Biomed) et l'activité cofacteur de la PC activée de la PS (Staclotâ Protein S, Diagnostica Stago) ont été mesurées (STAR-MAX, Diagnostica Stago) avant et après traitement

du plasma par DOAC-Remove (DOAC-R, 5-Diagnostic) chez des patients consécutifs traités par AOD dans le cadre d'un bilan de thrombophilie. Une interférence de l'AOD était définie par une diminution d'activité après DOAC-R > 2,8 sd (14% pour la PC, 10% pour la PS). L'activité anti-Xa (STA®-Liquid ANTI-Xa, Diagnostica Stago) a été mesurée sur la gamme de l'AOD avant et après traitement du plasma (limite de quantification à 30 ng/mL).

Résultats : Les dosages ont été réalisés chez 32 patients sous rivaroxaban et 36 patients sous apixaban avec des taux médians respectivement, de 85,0 ng/mL [min < 30 ng/mL; max 345 ng/mL] et de 92,5 ng/mL [min < 30 ng/mL; max 326 ng/mL]. Après DOAC-R, le taux d'AOD était < 30 ng/mL pour les 68 patients.
Concernant la PC, une interférence a été observée chez 15 patients parmi 28 (53%) traités par rivaroxaban, corrélée positivement avec le taux d'AOD (R^2=0.47). L'interférence était systématique au-delà de 117 ng/mL (n=12) et absente si < 30 ng/mL (n=7). Sous apixaban, on note 10 interférences parmi 31 patients (32%), avec une variation relative médiane de 9,7% du taux de PC, non corrélée au taux d'AOD. Il n'y avait pas d'interférence pour des taux < 50 ng/mL (n=6).
Pour la PS, une interférence a été observée chez 18 patients parmi 28 (64%) traités par rivaroxaban, corrélée positivement avec le taux d'AOD (R^2=0.79). Pour deux patients, un déficit en PS apparaissait après pastille. L'interférence était systématique au-delà de 94 ng/mL (n=14) et absente si <30 ng/mL (n=8). Sous apixaban, on note 8 interférences parmi 34 patients (23%), avec une variation relative médiane de 5,5% du taux de PS, non corrélée au taux d'AOD. Il n'y avait pas d'interférence pour des taux < 82 ng/mL (n=15).

Conclusion : Dans notre expérience, que ce soit pour les dosages de PC ou PS, l'interférence du rivaroxaban est plus importante que celle de l'apixaban, elle est corrélée à son taux et peut être observée dès qu'il est >30 ng/mL. L'utilisation des pastilles DOAC-R pourrait permettre de réaliser les dosages d'activité anticoagulante des PC et PS en présence de ces AODs et ainsi de détecter tous les types de déficits.

00111 - Ratio du TCA ACTIN FSL/ACTIN FS® pour la recherche des anticoagulants circulants de type lupique sur ATELLICA COAG 360 (SIEMENS)

C. Assadi-Gazvini[1], A. Launois[1], S. Tapiero[2], S. Chabay[2], A. Maurizot[2], I. Martin-Toutain[3], C. Flaujac[1]

[1]Laboratoire de Biologie Médicale, Secteur Hémostase, Centre Hospitalier de Versailles, André Mignot - Le Chesnay (France),
[2]Service de Médecine Vasculaire, Centre Hospitalier de Versailles, André Mignot - Le Chesnay (France),
[3]Centre de Ressources et Compétences Maladies Hémorragiques Constitutionnelles, Centre Hospitalier de Versailles, André Mignot - Le Chesnay (France)

Introduction : La recherche des anticoagulants circulants de type lupique (LA) est l'un des éléments permettant le diagnostic de syndrome des anti-phospholipides (SAPL). Les TCA (temps de céphaline avec activateur) et dRVVT (temps de venin vipère Russell dilué) reposent sur un test de dépistage (avec une faible concentration en phospholipides (PL)) suivis s'ils sont positifs d'un test de confirmation (avec une forte concentration en PL). Les valeurs seuils utilisées doivent être définies avec précision, le plus souvent fixées au 99ème percentile d'une population saine. Ce travail vise à identifier le ratio normalisé du TCA Actin FSL® (faible concentration PL) / TCA Actin FS® (forte concentration PL) (réactifs SIEMENS), sur l'automate ATTELICA COAG 360®(SIEMENS) en comparant les résultats obtenus avec nos tests de référence pour le laboratoire, réalisés sur automate STAR MAX® avec des réactifs STAGO.

Matériels et Méthodes : L'étude a été réalisée à partir de novembre 2021, toutes les recherches de SAPL étaient des prélèvements consécutifs (n=328) et ayant fait l'objet d'une revue de prescription selon les critères ISTH. Les prélèvements ont été réalisés sur plasma citraté selon les recommandations du GFHT.

Afin de détecter les LA, les tests sont réalisés avec les réactifs SIEMENS sur ATELLICA COAG 360®: TCA (réactifs Actin FSL®/FS® (PL d'origine végétale et activateur acide ellagique)) et dRVVT (LA1 depistage® ; LA2 confirmation®). Les critères des positivités des réactifs SIEMENS ont été comparés aux mêmes prélèvements techniqués sur automates STAR MAX® (STAGO) réactifs (STAGO : PTTLA® (PL d'origine animale et activateur silice), STA Staclot DRVV Screen®/Confirm®) et les dossiers interprétés contextuellement avec le contexte clinique et les anticorps anticardiolipide et anti-ß2Gp1. Les anticoagulants oraux directs (AOD) ont été neutralisés par le DOAC REMOVE™.

Résultats : Les résultats sont présentés au tableau 1 et 2.
Le ratio normal du TCA Actin FSL® est calculé à ≤1.25 et TCA Actin FS® ≤1.20. La valeur obtenue au 99ème percentile pour le TCA Actin FSL®/TCA Actin FS® est négative si <1,10 positive si ≥1,20 et dans « une zone grise » si comprise entre 1,10 et 1,20.
Pour le dRVVT, le seuil au 99ème percentile du LA1 dépistage® est de 41.2 secondes soit un ratio de 1.18. Le ratio TCA Actin FSL®/TCA Actin FS® est interprétable si l'AOD a été neutralisé *in-vitro,* les seuils sont à interprétés cependant avec précaution.

Conclusion : Ces résultats TCA Actin FSL®/TCA Actin FS® corroborent le livre blanc SIEMENS obtenus sur 154 échantillons de donneurs sains (ratio au 99ème percentile 1.10), sur 100 prélèvements pathologiques (ratio médian 1.2).
Les LA positifs avec le ratio TCA Actin FSL®/ TCA Actin FS® ne sont jamais interprétés seuls ; ils sont interprétés avec les autres marqueurs biologiques du SAPL ainsi que la clinique associée.
Ce cut-off du ratio normalisé TCA Actin FSL®/ TCA Actin FS® devra être confirmé sur des études plus larges en particulier pour les AOD.

Résultats des patients sans AOD

Tableau 1 : résultats des plasmas de patients normaux et ceux conclus syndrome des anti-phospholipides (SAPL) positifs sur les tests biologiques de recherche d'anticoagulants circulants de type lupique : valeur médiane, bornes extrêmes et valeur au 99ème percentile.

Automate	STAR MAX®	ATELLICA COAG 360®			
Tests	Ratio PTTLA® (réactif STAGO)	Ratio TCA Actin FSL® (réactif SIEMENS)	Ratio TCA Actin FS® (réactif SIEMENS)	**Ratio normalisé TCA Actin FSL®/ TCA Actin FS**	Ratio LA1 dépistage® (réactif SIEMENS)
Patients normaux* (N = 228)	Médiane = 1,10 [0.83 ; 2.02]	Médiane = 1,14 [0.85 ; 2.02]	Médiane = 1,03 [0.77 ; 1.80]	**Médiane = 1,10 [0.87 ; 1.20]**	N = 246 Médiane = 0,98 [0.81 ; 1.19]
	99ème percentile = 1,78	99ème percentile = 1,70	99ème percentile = 1,60	**99ème percentile = 1,19**	99ème percentile = 1,18
Patients conclus SAPL positifs * (N = 69)	Médiane = 1,21 [0.87 ; 3.96]	Médiane = 1,23 [0.96 ; 2.98]	Médiane = 0,96 [0.64 ; 1.72]	**Médiane = 1,26 [1.20 ; 2.35]**	N = 31 Médiane = 1,24 [1.20 ; 2.32]

*Les résultats normaux ou pathologiques ne sont jamais interprétés seuls ; ils sont confrontés aux autres marqueurs biologiques du syndrome des anti-phospholipides et à la clinique.

Résultats des patients avec AOD

Tableau 2 : résultats des plasmas de patients recevant des anticoagulants oraux directs (AOD), et traités par DOAC REMOVE™ pour neutraliser *in-vitro* les AOD avant réalisation des tests de recherche d'anticoagulants circulants de type lupique : valeur médiane, bornes extrêmes et valeur au 99ème percentile.

Automate	STAR MAX®	ATELLICA COAG 360®			
Tests	Ratio PTTLA® (réactif STAGO)	Ratio TCA Actin FSL® (réactif SIEMENS)	Ratio TCA Actin FS® (réactif SIEMENS)	**Ratio normalisé TCA Actin FSL®/ TCA Actin FS®**	Ratio LA1 dépistage® (réactif SIEMENS)
Patients sous AOD, traités par DOAC REMOVE™ et conclus négatifs (N = 34)	Médiane = 0,99 [0.85 ; 1.29]	Médiane = 1,10 [0.92 ; 1.36]	Médiane = 0,96 [0.77 ; 1.30]	**Médiane = 1,15 [1.03 ; 1.37]**	N = 31 Médiane = 1,02 [0.86 ; 1.23]
	99ème percentile = 1,28	99ème percentile = 1,35	99ème percentile = 1,26	**99ème percentile = 1,33**	99ème percentile = 1,20

00115 - Déficit combiné en FVII et en PC : intérêt de la neutralisation in vitro des AOD pour les dosages sur l'ATELLICA COAG 360®

C. Flaujac[1], T. Benboubker[1], S. Chabay[2], L. Mauge[3], D. Helley[3], I. Martin-Toutain[4], A. Launois[1]

[1]Laboratoire de Biologie Médicale, Secteur Hémostase, Centre Hospitalier De Versailles, André Mignot - Le Chesnay-Rocquencourt (France),
[2]Service de Médecine Vasculaire, Centre Hospitalier de Versailles, André Mignot - Le Chesnay-Rocquencourt (France),
[3]Service d'hématologie Biologique, Assistance Publique Hôpitaux de Paris-Centre (ap-Hp.cup), F-75015 - Paris (France),

[4]*Centre de Ressources et Compétences Maladies Hémorragiques Constitutionnelles, Centre Hospitalier de Versailles, André Mignot - Le Chesnay-Rocquencourt (France)*

Introduction : La protéine C (PC) est une protéine vitamine K (vitK) dépendante avec une demi-vie proche du facteur VII (FVII). Le déficit en PC est fortement associé à la maladie thromboembolique veineuse (MTEV) et son dosage fait partie du bilan de thrombophilie (BT).

Matériels et Méthodes : La PC a été dosée par 2 techniques (coagulante (PCAct) et amidolytique (PCAm)) et sur 2 automates (STAR MAX® (STAGO) et ATELLICA COAG 360® (SIEMENS)), respectivement avec les réactifs STACLOT PC® (PCActS) et STACHROM PC® (PCAmS) et PROTEIN C COAG® (PCActA) et BERICHROM PC® (PCAmA). Le FVII a été dosé avec 2 réactifs STAGO sur STAR MAX®, l'un d'origine animale (NéOptimal®) et l'autre humaine (Néoplastine R®). Le charbon activé (DOAC REMOVE™) est utilisé pour neutraliser *in vitro* les anticoagulants oraux directs (AOD) et son utilisation pour le dosage de la PC coagulante a déjà été montré pour le réactif STACLOT PC® (Favre et coll. Blood Coagul Fibrinolysis. 2021). Nous avons évalué son efficacité pour le réactif PROTEIN C COAG® à l'aide d'échantillons patients (n=27) et nous présentons le cas rare d'un patient présentant un déficit combiné en FVII et en PC.

Résultats : Mr B, 36 ans, a présenté un premier épisode de MTEV idiopathique avec une embolie pulmonaire bilatérale (EP) associée à une thrombose veineuse profonde poplitée droite. Un traitement par rivaroxaban a été instauré.
Suivant les recommandations du GFHT, un BT a été réalisé et retrouve une PCAmS diminuée à 44% comme seule anomalie associée à un FVII abaissé à 44% faisant évoquer un début de carence en vitK.
Un contrôle à 6 mois montre une PCAct, après neutralisation du rivaroxaban, à 65% contre 68% avant neutralisation avec le réactif PCActS et à 50% contre 54% avant neutralisation avec le réactif PCActA. Les PCAmS et PCAmA sont à 64% et 57% respectivement. La PC antigènique est normale à 91% faisant suspecter un déficit qualitatif en PC. Le déficit en FVII persiste, malgré la prise de vitamine K, avec deux réactifs différents (origine animale à 54% et humaine à 66%) et un antigène normal à 92% orientant vers un déficit congénital. L'étude du gène *F7* retrouve une substitution à l'état hétérozygote (c.1171G>A induisant un changement d'acide aminé p.(Gly391Ser)), déjà décrite, et cohérente avec le taux de FVII. En revanche, l'étude du gène *PROC* met en évidence à l'état hétérozygote un variant p.(His253Asn), non rapporté dans la littérature à ce jour.
Les PC dosées sur l'ATELLICA COAG 360® avant/après neutralisation des AOD sont présentées dans le tableau 1. Les dosages de PC chronométrique retrouvent des taux significativement plus bas après neutralisation des AOD, le charbon activé est sans effet sur le dosage de PC amidolytique.

Conclusion : Nous décrivons ici, les difficultés diagnostiques d'un cas de déficit congénital en PC et en FVII chez un jeune homme initialement sans ATCD familiaux de MTEV, mais dont le frère vient de faire une EP récemment (BT en cours). Nous rapportons aussi un nouveau variant du gène *PROC*. Par ailleurs, nous confirmons le déficit en PC avec tous les réactifs et l'intérêt de la neutralisation par le DOAC REMOVE™ dans la réalisation des BT, qui semble fiable avec les réactifs SIEMENS sur ATELLICA COAG 360® comme avec le réactif STAGO sur STAR MAX®. Ces données sont cependant à confirmer sur une plus large population.

Dosage des PC avant/après neutralisation des AOD

Tableau 1 : Impact du DOAC REMOVE™ sur la concentration moyenne des AOD [Apixaban et Rivaroxaban] et les taux moyens de protéine C (PC) dosés sur les automates ATELLICA COAG 360® (SIEMENS) et comparaison avec les données publiées sur STARMAX® (STAGO)

	Apixaban (ng/ml)	Rivaroxaban (ng/ml)	PC coagulante (%)	PC amidolytique (%)	PC coagulante (%)
Automate et technique	*STAR MAX® Liquid anti-Xa®*		*ATELLICA COAG 360® Protein C COAG®*	*ATELLICA COAG 360® Berichrom PC®*	*STAR MAX® Staclot PC®*
n	13	12	27	25	21 (1)
Avant DOAC REMOVE™	159 (70; 230)	83 (17; 149)	98 (68; 128)	117 (90; 144)	138 (87; 200) (1)
Après DOAC REMOVE™	16 (9; 23)	17 (11; 23)	93 (66; 120)	117 (91; 143)	127 (85; 197) (1)
p	<0,0001	0,0047	0,0019	>0,85	0,0007 (1)

(1) Favre K, Zia-Chahabi S, Tardi C, de Maintenant N, Fouquet C. Direct oral anticoagulant neutralization by activated charcoal DOAC-Removal for thrombophilia screening. Blood Coagul Fibrinolysis. 2021 Jul 1;32(5):334-338

00118 - Complications thrombotiques/obstétricales dans une population de femmes enceintes avec déficit constitutionnel en antithrombine

C. Mouton[1], E. Harbulot[2], A. Guy[2], A. Ryman[2], L. Mauge[3], C. Delassasseigne[2], M. Fiore[2]

[1]*Laboratoire d'hématologie, CHU de Bordeaux - Pessac (France),*
[2]*Laboratoire d'hématologie, CHU de Bordeaux - Bordeaux (France),*
[3]*Service d'hématologie Biologique, Assistance Publique Hôpitaux de Paris-Centre (AP-HP, Cup - Paris (France)*

Introduction : Du fait de la rareté des déficits constitutionnels en antithrombine (AT) et à l'exception des femmes sous anticoagulants au long cours, les recommandations de prise en charge actuelle pendant la grossesse s'appuient sur un nombre réduit d'études et de niveau de preuve faible. L'objectif principal de ce travail était de rapporter les complications thrombotiques et obstétricales au sein d'une population de femmes enceintes présentant une anomalie constitutionnelle de l'AT dans la région Nouvelle-Aquitaine et de les comparer à la littérature.

Matériels et Méthodes :
Population étudiée : il s'agissait d'une étude observationnelle, rétrospective (2008-2019) monocentrique approuvée par le comité d'éthique. Les dossiers obstétricaux de 26 femmes ont été analysés.

Résultats :
Les principaux résultats sont décrits dans le tableau I : population de l'étude selon le type de déficit et évolution des grossesses selon la prise en charge : avec ou sans traitement anticoagulant. On observait principalement :
- à l'exception d'une patiente type II RS avec TVP/EP à 8 SA mais avant IVG programmé, que seules des patientes de type I (n=3) ont présenté une TVP, d'issue favorable : 2 en AP (1 patiente sous prophylaxie et 1 inaugurale du déficit) et, 2 TVP en PP /3 grossesses pour une même patiente.
- le nombre de FCS était plus fréquent dans le type IIHBS, particulièrement pour la patiente homozygote (1).
- L'anticoagulation était débutée en AP pour 22/29 grossesses. Les 7 grossesses non traitées en AP concernaient des patientes type IIHBS Htz. 100% des grossesses arrivées à terme ont été traitées pendant la période du PP.
- pour la patiente Budapest III homozygote, seules les 2 grossesses traitées ont été à terme (2).
- en excluant cette patiente, car le bénéfice du traitement était indéniable et la GEU, l'issue des grossesses était plus favorable dans le groupe traité en AP : 100 % de grossesses vivantes contre 14/27 (51.8%) chez les non traitées. L'échantillon trop faible ne permet pas de savoir si un traitement en AP aurait été favorable pour les types IIHBS Htz (27 non traitées/11 grossesses vivantes contre 1 traitée/vivante).
- Aucune MFIU n'est survenue parmi les grossesses traitées contre 3 pour les non traitées, le déficit en AT n'étant pas connu.
- Pour la majorité des grossesses traitées en curatif de type I et la patiente Budapest 3, l'HBPM a été suspendue à la délivrance et les patientes substituées en concentrés d'AT dérivés du plasma.

Conclusion : Les recommandations consensuelles en 2022 pour le traitement antithrombotique, chez les patientes de type I traitées au long cours, ainsi que la prophylaxie en PP, ont été tenues dans la période d'observation. Dans les autres situations, la prophylaxie et la dose ont été envisagées au cas par cas en AP. L'utilisation de concentrés d'AT au moment de la délivrance a une place importante dans la prise en charge. Les résultats de notre cohorte sont très proches d'autres cohortes décrites (3).

Tableau I

	Total	Type I	Type IIRS (reactive site)	Type II HBS Hétérozygote (heparin binding site)	Type II HBS Homozygote
Patientes	26	14	2	9	1
Grossesses	57	25	0	23	9
IVG		6	1	-	-
FIV		-	2	3	-
Complications et issue de la grossesse n=57					
Grossesse non traitées	28 (49%)	6 (24%)	-	15 (65%)	7 (78%)
Naissance vivante	7 (25%)	3	-	4 (27%)	0
FCS précoces–GEU (n=1)		1+ 1*	-	11 (73%)	5
MFIU		1	-	-	2
Grossesses traitées en AP	22	19 ((100%)	-	1	2 (100 %)
Traitées en PP seul	7	-		7	-
Naissance vivante	29 (100%)	19	-	8	2
FCS/MFIU		-	-	-	-
TVP		4	-	-	-
Total naissances vivantes	36 (63%)	22 (88%)	-	12 (52%)	2 (22%)

AP anté-partum ; FIV : fécondation in vitro ; FCS précoce : fausse-couche spontanée < 12 semaines d'aménorrhées (SA); IVG : Interruption volontaire de grossesse ; MFIU : mort fœtale in utero ; PP post-partum ;TVP : thrombose veineuse profonde

00133 - Thrombopénie Thrombosante post vaccination Covid : Il ne s'agit pas toujours d'une VITT !

E. Hammami[1], B. Drénou[1], A. Debliquis[1], I. Harzallah[1]

[1]Ghrmsa - Mulhouse (France)

Introduction : La vaccination Covid a joué un rôle important dans le contrôle de la pandémie du COVID-19. Cependant, plusieurs effets secondaires ont été rapportés suite à cette vaccination. L'une des principales complications ayant suscité un engouement dans le milieu médical et extra médical était la survenue d'une thrombopénie thrombosante induite par le vaccin (VITT). Néanmoins, il est possible d'occulter d'autres étiologies responsables de thrombopénie thrombosante, décrites suite à une vaccination. Le Purpura Thrombopénique Thrombopathique (PTT) est l'une de ces étiologies, et se caractérise par une forte mortalité. Poser le diagnostic de PTT dans un contexte post-vaccinal est donc primordial.

Matériels et Méthodes : Nous rapportons le cas d'un PTT survenant au décours d'une vaccination Covid avec évolution favorable.

Résultats : Il s'agit d'une patiente âgée de 55 ans, sans antécédents pathologiques notables, qui consulte aux urgences pour un tableau digestif (diarrhée, vomissements) persistant depuis 3 jours accompagné de céphalées et de vertiges. Le bilan initial réalisé aux urgences a révélé une anémie normochrome normocytaire régénérative à 10,7 g/dl avec une thrombopénie à 15 G/L. Le frottis sanguin a révélé la présence de schizocytes à un taux de 2 % et le bilan d'hémolyse était positif avec une haptoglobine effondrée et des LDH élevées. Le diagnostic de microangiopathie thrombotique (MAT) a donc été posé. La fonction rénale était correcte. Le score français prédisant la survenue d'un PTT était à 2.
Le bilan étiologique d'une MAT a été réalisé avant tout traitement et a révélé un déficit sévère en ADAMTS13 inférieur 5% et des auto-anticorps anti ADAMTS13 positifs. L'interrogatoire poussé de la patiente a révélé la notion d'injection de la seconde dose du vaccin Cominarty (Pfizer-BioNTech) 10 jours avant la survenue des symptômes. Le délai entre la vaccination et la survenue des symptômes concordait avec les délais de survenue d'un PTT post vaccination Covid-19 décrits dans la littérature [1][2].
Des plasmaphérèses ont été réalisées immédiatement après le diagnostic, ainsi qu'un traitement par dexaméthasone et rituximab. Cependant, vu l'aggravation de la thrombopénie un traitement par caplacizumab a été introduit à J5. L'évolution était favorable avec réascencion de la numération plaquettaire et normalisation du taux d'ADAMTS 13.

Conclusion : Le PTT est une pathologie thrombotique rare, survenant chez 1,5 cas/Million de personnes en France [3]. Cependant, sa gravité pouvant conduire à un décès du patient doit obligatoirement faire penser à ce diagnostic devant un tableau de MAT mais aussi devant une thrombopénie post vaccinale, d'autant plus que les thérapeutiques disponibles sont en évolution continue. La physiopathologie de la survenue d'un PTT post vaccination n'est toujours pas entièrement élucidée, même si l'hypothèse de mimétisme moléculaire a été avancée dans la littérature.

[1] Maayan H, Kirgner I, Gutwein O, Herzog-Tzarfati K, Rahimi-Levene N, Koren-Michowitz M, et al. Acquired thrombotic thrombocytopenic purpura: A rare disease associated with BNT162b2 vaccine. J Thromb Haemost JTH. 2021 Sep;19(9):2314–7.
[2] Ruhe J, Schnetzke U, Kentouche K, Prims F, Baier M, Herfurth K, et al. Acquired thrombotic thrombocytopenic purpura after first vaccination dose of BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. Ann Hematol. 2021 Jul 26;
[3] Mariotte E, Azoulay E, Galicier L, Rondeau E, Zouiti F, Boisseau P, et al. Epidemiology and pathophysiology of adulthood-onset thrombotic microangiopathy with severe ADAMTS13 deficiency (thrombotic thrombocytopenic purpura): a cross-sectional analysis of the French national registry for thrombotic microangiopathy. Lancet Haematol. 2016 May;3(5):e237-245.

00136 - Évaluation de la spécificité du test fonctionnel de la résistance à la protéine C activée dans la détection du statut génétique de la mutation V Leiden

S. Hadjali-Saichi[1], K. Guenounou-Guemmour[2], I. Frigaa[2]

[1]Centre Hémobiologie Transfusion Sanguine Mohamed Bénabadji CHU Mustapha - Alger (Algeria),
[2]Centre Hémobiologie Transfusion Sanguine Mohamed Bénabadji CHU Mustapha - Alger (Algeria)

Introduction : La mutation V Leiden est l'anomalie la plus fréquente parmi les mutations touchant les facteurs de la coagulation, avec de fortes variations géographiques, et la résistance à la protéine C activée (RPCa) est le paramètre phénotypique le plus utilisé dans la recherche de cette mutation.
Objectif : Etude de la sensibilité et la spécificité de la RPCa dans la détection de la mutation V Leiden, ainsi que de fixer les intervalles de confiance qui permettent de prédire l'homozygotie et l'hétérozygotie pour la mutation.

Matériels et Méthodes : Cette étude a été réalisée sur 105 patients adressés à l'unité d'hémostase de CHTS Mustapha Pacha pour l'exploration étiologique d'un syndrome thrombo-embolique chez qui une RPCa a été retrouvée.
La recherche de RPCa a été réalisée par le kit STACLOT® APC-R Stago sur l'automate STA compact, l'étude génétique de la mutation V Leiden a été réalisée par « Polymerase Chain Reaction » (PCR) en Temps Réel Taqman.

Résultats : Sur les 105 patients, 99 patients étaient hétérozygotes pour la mutation V Leiden, 4 homozygotes et seulement 2 n'ont pas présenté la mutation. L'étude statistique a retrouvé une sensibilité à 100% et une spécificité à 98%. La stratification de la population par groupes selon le statut génétique pour la mutation à permet de fixer des intervalles de confiance. Les patients homozygotes ont des temps de coagulation d'environ 62-70 secondes, ; les patients hétérozygotes ont des temps de coagulation d'environ 40 à 60 secondes et les patients avec des temps de coagulation qui varient entre 107 à 111 étaient non porteurs de la mutation FV Leiden.

Conclusion : Le STACLOT® APC-R présente une excellente sensibilité et spécificité dans la recherche de la mutation V Leiden et le taux de RPCa peut constituer un bon paramètre d'orientation pour la détermination du statut génétique des patients.

Mots clés : Thrombose, résistance à la protéine C activée, facteur V-Leiden, spécificité, statut génétique.

00137 - Vésicules extracellulaires au cours du traitement d'induction des leucémies aigües lymphoblastiques : quelle signification ?

P. Nguyen[1], J. Bordas[1], C. Pluchart[1], G. Poitevin[1]
[1]*Hervi Ea3801 - Reims (France)*

Introduction
La leucémie aigüe lymphoblastique (LAL) de l'enfant est associée à un risque thrombotique élevé. L'hypothèse d'une thrombogénicité des blastes ou de vésicules extracellulaires (VEC) d'origine blastique est évoquée. La stratégie thérapeutique actuelle repose sur une stratification en groupes de risque, définis par des caractéristiques cliniques et biologiques. La prévention du risque thrombotique est systématiquement envisagée. Il existe peu de données concernant la génération de VEC par les blastes lymphoïdes au cours du traitement d'induction des LAL de l'enfant et aucune sur leur potentielle valeur pronostique. Dans une étude récente, nous avons montré que des VEC étaient générées lors de la phase d'induction et que ces VEC étaient de différentes origines cellulaires avec un rôle potentiel dans la thrombogénicité (*Pluchart et al;JTT2021*). L'objectif de ce travail est d'étudier les VEC d'origine blastique et de les analyser en fonction des critères de bon et mauvais pronostic.

Matériels et Méthodes : Vingt-quatre enfants, âgés de 1 à 18 ans, ayant une LAL traitée dans le service d'hématologie-oncologie du CHU de Reims ont été inclus dans cette étude. Des échantillons de sang ont été prélevés pendant l'induction à J0, J8, J15, J25 et J36. Le nombre et l'origine des VEC totales et blastiques ont été étudiés en cytométrie en flux : marquage à l'Annexine V, positivité CD3+ (origine lymphoblastique T) CD19+CD20+ (origine lymphoblastique B). La génération de thrombine et la concentration d'antithrombine (AT) ont été mesurées. Analyse statistique univariée (Wilcoxon) et multivariée par régression linéaire (distribution normale) et par régression gamma (distribution asymétrique).

Résultats : Des VEC sont identifiées chez les enfants présentant une LAL. Le nombre de VEC augmente significativement au cours de l'induction. Ces VEC sont majoritairement d'origine plaquettaire mais des VEC d'origine endothéliale et blastique sont également observées. En analyse univariée, les paramètres associés à un taux de VEC blastiques significativement plus élevés sont : l'âge inférieur à 10 ans ($p<0.01$), le phénotype B ($p=0.01$), les anomalies cytogénétiques favorables ($p<0.01$) et le groupe de traitement de risque standard ($p<0.01$). Le nombre médian de VEC d'origine blastique tend à être plus élevé en cas d'hyperdiploidie ($p=0.08$) ou de transcrit TEL-AML1 ($p=0.06$). En analyse multivariée, un taux de VEC blastique élevé est significativement associé avec l'âge inférieur à 10 ans ($p=0.013$) et le phénotype B ($p=0.01$).

Conclusion : Les blastes lymphoïdes libèrent des VEC au cours du traitement d'induction des LAL de l'enfant. Les VEC jouant un rôle dans l'hypercoagulabilité développée par les enfants traités semblent liés aux VEC d'origine plaquettaire. En revanche, les VEC d'origine blastique pourraient avoir une valeur pronostique dans la LAL de l'enfant.

Posters
Laboratoire / Pharmacie clinique : accréditation, évaluation des pratiques, aspects pharmaco-économiques, éducation thérapeutique

00004 - Evaluation de l'adhésion thérapeutique des patients hémophiles A traités par emicizumab

M. Netala[1], D. Desprez Flor[1], O. Feugeas[1], A.C. Gerout[2]

[1]CRC-MHC, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Strasbourg - Strasbourg (France),
[2]Service de Pharmacie-Stérilisation, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France)

Introduction : En complément du travail effectué en 2021 évaluant l'efficacité d'emicizumab suite à son initiation chez 16 patients hémophiles A sévères, une analyse des dispensations hospitalières et officinales d'emicizumab a été réalisée dans le but d'évaluer l'adhésion thérapeutique des patients, suite à la mise à disposition en ville de ce traitement.

Matériels et Méthodes : L'analyse des dispensations a été réalisée dans notre cohorte de 17 patients dont le traitement par facteur VIII a été remplacé par l'emicizumab. Les données recueillies avant et après l'initiation de ce traitement, grâce aux historiques de dispensations et à un questionnaire complété lors d'entretiens téléphoniques avec le pharmacien de ville et avec le patient, sont les dates de dispensation, le nombre de boîtes/unités internationales dispensées et le recours ou non à des doses d'urgence de facteur VIII.

Résultats : Le nombre de doses d'urgence que les patients se sont injectées a diminué de 78% après l'initiation d'emicizumab (n=55 avant et n=12 après) et le nombre de patients ayant eu recours à au moins une dose d'urgence a diminué de 42% (n=12 avant et n=7 après). Les quantités de traitement délivrées correspondent aux posologies prescrites pour 15 patients avant le changement de thérapeutique et pour 16 patients après, ce qui suggère que les patients n'ont pas de difficulté à chercher leur traitement en ville. La quantité délivrée ne correspond pas pour un patient ; cela était lié à une communication non optimale au sein de l'officine. 41% des patients (n=7) ont eu un retard lors de la dispensation de leur traitement en ville avec une moyenne de cinq jours de retard et une médiane de quatre jours, en excluant un retard de 28 jours pour un patient non-observant. Le retard est minime pour trois patients et est supérieur à une semaine pour quatre patients. Parmi ceux-ci, trois patients ont eu un retard supérieur à six jours au moment de l'injection (rattrapage possible jusqu'à la veille de la dose suivante) ; il s'agit d'un retard à l'administration de 24 jours pour le patient non-observant mentionné ci-dessus et de sept jours pour les deux autres patients. Aucun des retards n'a eu de conséquences cliniques.

Conclusion : La diminution du nombre d'injections de doses d'urgence de facteur VIII après initiation d'emicizumab témoigne d'une amélioration de l'efficacité clinique et d'une bonne adhésion thérapeutique. Le schéma posologique simplifié, la dispensation en ville et l'augmentation de l'efficacité sont à l'origine d'une amélioration de la qualité de vie des patients. Des retards ont cependant été constatés, ce qui souligne la nécessité d'une bonne coordination ville-hôpital afin d'accompagner tous les intervenants autour du patient dans le changement de thérapeutique et l'importance d'un suivi rapproché des patients par tous les professionnels concernés. Dans ce but, les pharmaciens de ville ont été incités à faire une autoformation et sont conviés à des réunions en visioconférence.

00025 - Optimised evaluation of accuracy of measurement by bivariate z-score analysis of ECAT D-Dimer survey results

F. Sobas[1], P. Meijer[2], P. Tsiamyrtzis[3]

[1] (France),
[2] (Netherlands),
[3] (Greece)

Introduction : The original application of statistical monitoring external quality assessment (EQA) result according to the ISO 17043 standard involves the evaluation of the deviation of the measured result from the assigned value. In the ECAT EQA program this is done by the calculation of the Z-score, which represents the deviation as a measure of how many times the standard deviation the result deviates from the assigned value [Z-score = (result – assigned value)/standard deviation]. The calculated Z-score is evaluated against ± k z-score limits, where k = 2 or 3, corresponds to a 95% or 99.7% respectively, confidence interval on each EQA sample. However, when testing EQA control samples, laboratories will typically test the two samples at the same time. It is expected that this will result a correlation between EQA control results, which will transfer to their respective z-score results within an analytical run. The usually provided pathological and non-pathological samples are typically related because they are affected by the same sources of inaccuracy at the same time. On the other hand, a quantitative method is intended to discriminate between analyte levels of two different samples. This concept of discriminatory power (1), close to clinical decisions limits in medical laboratories, imposes an evaluation of the accuracy on the range defined by the assigned value of each ECAT sample and not specifically on each ECAT sample. The accuracy on the range has to be evaluated by a bivariate z-score analysis as optimised as possible with the example of an ECAT D-Dimer survey.

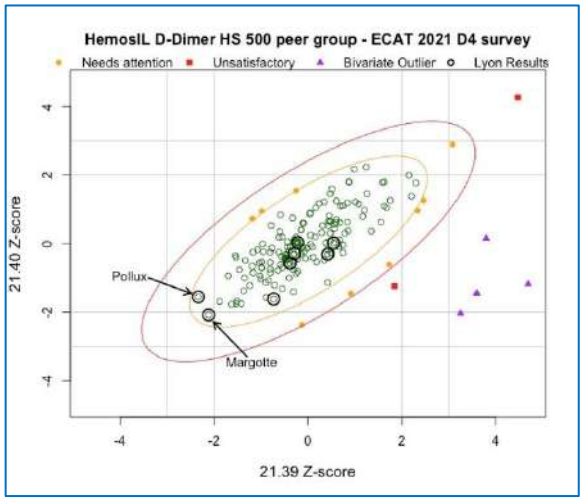
Matériels et Méthodes : D-Dimer is measured with the HemosIL D-Dimer HS 500 assay on a ACLTOP 750 analyser (Instrumentation Laboratory, Bedford, Massachusets, USA).
ECAT Foundation provided a slightly elevated D-Dimer level 21.39 (assigned value = 520 ng/ml FEU) and a plasma with an elevated D-Dimer level 21.40 (assigned value = 680 ng/ml FEU) both close to the deep venous thrombosis exclusion cut off (500 ng/ml FEU); For the bivariate evaluation of the Z-scores the Hotelling's T2 statistic was utilized. In multisite Lyon hospital medical laboratories there are eight ACLTOP 750 automates used to measure D-Dimers levels for deep venous thrombosis exclusion (2, 3).

Résultats : The table (see table) show the univariate Z-scores for one of the Lyon medical centers :
Univariate approach: two automates have orange cards
Optimised bivariate approach: for Margotte and Pollux the status of the bivariate points (see figure) is in conformance i.e. the pair of Z-scores lies within the inner ellipse (green region). On this survey, there is no difference between these two automates and the others in terms of accuracy on the D-Dimers range 520 – 680 ng/ml FEU

Conclusion : The bivariate approach provides a more precise control region for continuous quantitative measurements in the case of correlated measurements. The evaluation of accuracy of measurement by bivariate z-score analysis takes into account both statistical and clinical aspects, which is not the case with the pure statistical univariate approach considering the EQA organizer provides couples of samples close to medical decision-making cut off.

(1) Montgomery CD Introduction to statistical quality control 7th Ed New York : Wiley , 2012.
(2) Oude Elferink et al Clinical evaluation of eight different D-Dimer tests for the exclusion of deep venous thrombosis in primary care patients Scand J Clin Invest 2015 May; 75 (3) : 230-8.
(3) Johnson ED, Schell JC, Rodgers GM, The D-Dimer assay Am J Hematol 2019 ; 94 : 833-839.

	sample 21.39	Sample 21.40
Assigned value (ng/ml FEU)	520	680
N	168	168
Automate Margotte Z-score	-2.12	-2.10
Automate Pollux Z-score	-2.34	-1.57



00029 - Évaluation de l'activité du Facteur VIII en présence de Mim8 par dosage chromogénique

J. Bovet[1], W. Pickering[2], M. Robinson[2], C. Cogswell[2], W. Clausen[3], M. Ezban[3]

[1]Novo Nordisk - Paris (France),
[2]Laboratory Corporation of America Holdings - Englewood (United States),
[3]Novo Nordisk A/s - Maaloev (Denmark)

Introduction : Mim8 est un anticorps bispécifique (BiAb) anti-facteur IXa/facteur X (FIXa/FX) qui présente des propriétés hémostatiques supérieures in vitro et dans des modèles hémorragiques de souris hémophiles A (HA) comparativement à l'émicizumab. Les patients atteints d'HA sans inhibiteurs traités avec un BiAb peuvent nécessiter l'administration concomitante de facteur VIII (FVIII). Une évaluation exacte de l'activité du FVIII en présence d'un BiAb n'est pas possible à l'aide de tests basés sur la coagulation en raison d'une interférence qui n'est pas observée avec les tests sur substrats chromogéniques du FVIII. Dans cette étude, six tests sur substrats chromogéniques différents ont été évalués pour identifier quelle association de réactifs permettrait de surveiller le FVIII en présence de Mim8.

Matériels et Méthodes : Du plasma d'HA sévère additionné de FVIII et de Mim8 à des concentrations de 0, 5, 20 et 100 UI/dl et 0, 3, 6 et 12 µg/ml, respectivement, a été utilisé pour étudier l'interférence provoquée par Mim8. L'activité du FVIII a été mesurée par six méthodes de tests sur substrats chromogéniques utilisant des sources différentes de FIXa et de FX (bovine [COATEST®SP4, COAMATIC® et SIEMENS AG] ; humaine [BIOPHEN™] ; mixte humaine/bovine [CRYOcheck™ et Rossix]). L'interférence de Mim8 sur l'activité du FVIII a été déterminée comme étant la différence en pourcentage normalisée de chaque mélange de FVIII/Mim8, comparativement à l'échantillon correspondant sans Mim8 (activité attribuée de 100 %). Une augmentation ≥1,2 fois a été considérée comme une interférence.

Résultats : Le test sur substrat chromogénique humain a montré des niveaux élevés d'interférence par Mim8 indépendamment des concentrations de FVIII, résultant de la liaison de Mim8 au FIXa et au FX humains. La concentration de 5 UI/dl de FVIII a montré une augmentation dépendante de la dose de Mim8 de 2,0 à 4,0 fois de l'activité du FVIII pour les tests sur substrats chromogéniques bovins/humains. Une augmentation plus faible a été observée pour les tests sur substrats chromogéniques bovins à des concentrations élevées de Mim8 lorsque du plasma déficient en FVIII a été utilisé comme diluant pour les courbes d'étalonnage basses. Ceci peut être évité avec l'utilisation d'un tampon issu d'un kit. À des concentrations de FVIII de 20 UI/dl, l'augmentation de l'activité du FVIII pour les tests sur substrats chromogéniques bovins a été de 1,0 à 1,1 fois, et pour les tests sur substrats chromogéniques bovins/humains de 1,2 à 1,5 fois pour la concentration maximale de Mim8. À des concentrations de FVIII de 100 UI/dl, l'augmentation de l'activité du FVIII pour les tests sur substrats chromogéniques bovins et bovins/humains a été de 1,0 à 1,1 fois.

Conclusion : Aucune interférence de Mim8 n'a été observée avec les tests sur substrats chromogéniques bovins pour toutes les concentrations de FVIII lorsqu'un tampon issu d'un kit a été utilisé pour la dilution. Cependant, on ne peut pas utiliser les tests sur substrats chromogéniques humains pour mesurer le FVIII dans des échantillons contenant Mim8. Avec les tests sur substrats chromogéniques bovins/humains, l'interférence observée à des concentrations élevées de Mim8 a diminué parallèlement à l'augmentation des concentrations de FVIII et l'interférence a disparu à 100 UI/dl.

00031 - Etude lyonnaise d'une centrifugation rapide à 4000G/4min sur le bilan de coagulation standard, les D-Dimères, les facteurs V, VII et VIII et sur l'antithrombine

E. Comte[1], L. Cousin[1], M.O. Geay-Baillat[1]

[1]Hospices Civils De Lyon - Lyon (France)

Introduction : Dans le cadre d'un projet d'harmonisation des plateaux techniques au sein des Hospices civils de Lyon, nous nous sommes intéressés à certaines modalités pré-anaytiques en hémostase et notamment aux conditions de centrifugation. Actuellement les conditions de centrifugation recommandées par le CLSI ou le GFHT sont respectivement de 1500 à 2000 G pendant au moins 15 minutes ou 2000 à 2500G pendant au moins 10 minutes. Cependant, dans certaines situations d'urgence, le rendu d'un bilan d'hémostase doit être effectué dans un délai de 20 à 60 minutes, selon le contexte, comme le préconise la SFBC.
Dans ce contexte, nous avons donc voulu évaluer l'impact d'une centrifugation rapide à 4000G pendant 4 minutes sur les paramètres d'hémostase standard mais aussi sur certains paramètres d'hémostase spécialisée.

Matériels et Méthodes : 2 tubes citratés à 3.2% de 2.7 mL (tube Vacutainer BD) ont été prélevés chez 30 témoins volontaires du laboratoire du Centre Hospitalier de Lyon Sud (HCL). Le premier tube est considéré comme le tube Témoin (tube T) a été centrifugé selon nos conditions de centrifugation habituelle au laboratoire à 2250G/10min. Le deuxième tube (tube C) a bénéficié d'une centrifugation rapide à 4000G/4min. L'ensemble des tubes ont été centrifugés dans des appareils HETTICH Rotina 420R.
Le taux de plaquettes post centrifugation a été vérifié sur nos automates Sysmex XN-9000, via le module PLT-F en technique de fluorescence. L'ensemble des examens d'hémostase a été effectué sur un de nos ACL-TOP 750 (Werfen), les réactifs et contrôles de qualité utilisé sont résumés dans le tableau 1, correspondant aux différents paramètres testés.
Le traitement des données statistiques a été effectué à l'aide du logiciel R et nous avons effectué des tests non paramétriques de Wilcoxon en rang signé, échantillons appariés.

Résultats : Aucune différence statistique significative n'a été trouvée sur le taux de plaquettes obtenu avec les deux programmes de centrifugation testés (2250G/10min VS 4000G/4min) (p-value >0.1).
Une seule différence statistique significative est observée entre les moyennes de fibrinogène obtenu après centrifugation standard VS centrifugation rapide (tableau 3) (p-value<0.1). Mais aucune différence analytique n'a été retrouvée sur ce paramètre après comparaison de moyenne via les limites de fidélité intermédiaire de l'automate (2,8 SdFI). Pour tous les autres paramètres, aucune différence statistique significative n'a été retrouvée après comparaison des moyennes obtenues entre le programme de centrifugation standard (2250G/10min) VS centrifugation rapide (4000G/4min). (p-value>0.1)

Conclusion : L'utilisation d'une centrifugation rapide à 4000G/4min est un avantage non négligeable dans le délai de rendu des résultats d'hémostase surtout dans les contextes d'urgence. Le CLSI et le GFHT précisent que la durée de centrifugation peut être raccourcie (moins de 10 min) et que des vitesses plus élevées de centrifugation (supérieure à 1500G) peuvent être utlisées pour les paramètres d'hémostase générale (TP, TCA, Fibrinogène et D-dimères). Nos résultats sont en accord avec ces recommandations.
Peu d'études se sont intéressées à la centrifugation rapide sur d'autres paramètres d'hémostase. Ici, nous ne trouvons pas de différence statistique significative sur le dosage des facteurs V, VII, VIII et sur l'antithrombine.
L'utilisation d'une centrifugation rapide pourrait être donc une solution efficace pour raccourcir le délai de rendu des résultats d'hémostase dans des contextes d'urgence. Il convient cependant d'effectuer des études complémentaires sur une population dite "pathologique" pour valider notre hypothèse.

Réactifs et contrôles de qualité utilisés

Analyse	Réactifs utilisés	CIQ utilisés
Temps de céphaline + Activateur (TCA)	HemosIL SynthAsIl	- Normal control ASSAYED - Low abnormal control ASSAYED
Temps de Quick (TQ)	HemosIL recombiplastine 2G	- Normal control ASSAYED - Low abnormal control ASSAYED
Fibrinogène	QFA Thrombine	- Normal control ASSAYED - Low abnormal control ASSAYED
Facteur V	- HemosIL recombiplastine 2G - Factor V deficient plasma	- Normal control ASSAYED - Special Test control Level 2
Facteur VII	- HemosIL recombiplastine 2G - Factor VII deficient plasma	- Normal control ASSAYED - Special Test control Level 2
Facteur VIII	- HemosIL SynthAsIl - Factor VIII deficient plasma	- Normal control ASSAYED - Special Test control Level 2
D-Dimères	D-Dimer HS 500	D-Dimer HS 500 controls Level 1 et Level 2
Antithrombine	Liquid Antithrombin	- Normal control ASSAYED - Low abnormal control ASSAYED

Taux de plaquettes obtenus post centrifugation

Analyses	TUBE T Centrifugation standard 2250G/10min			TUBE C Centrifugation rapide 4000G/4min			p-value
	Moyenne	Extrêmes	sd	Moyenne	Extrêmes	sd	
Plaquettes (G/L)	12,1	5-32	5,9	14,3	1-37	9,9	0,44

Résultats des différents paramètres testés obtenus

Analyses	Centrifugation standard 2250G/10min		Centrifugation rapide 4000G/4min		p-value
	Moyenne	Extrêmes	Moyenne	Extrêmes	
TCA (Ratio)	1,0	0,62-1,21	1,0	0,79-1,20	**0,97**
TP (%)	101,8	88-121	101,8	91-123	**0,76**
Fibrinogène (g/L)	3,1	2,19-5,13	3,0	2,14-4,95	**0.07**
Facteur V (%)	94,4	56-124	94,9	53-132	**0.47**
Facteur VII (%)	95,2	59-127	95,1	58-131	**0.96**
Facteur VIII (%)	127,7	83-150	127,1	81-150	**0.78**
D-dimères (µg/L)	241,7	215-514	246,8	215-568	**0.31**
Antithrombine (%)	111,6	86-139	112,0	79-132	**0,42**

00032 - Impact sur les résultats d'hémostase à T+4 heures entre un tube conservé bouché et un tube conservé débouché : étude lyonnaise

E. Comte[1], L. Cousin[1], M.O. Geay-Baillat[1]

[1]*Hospices Civils De Lyon - Lyon (France)*

Introduction : L'un des paramètres critiques en hémostase est la stabilité des paramètres de coagulation dans le temps. Très peu d'études s'intéressent aux conditions de conservation des tubes en hémostase : en 2014, Mauge et al. ont effectué une revue de la littérature et seulement 11 publications ont étudié les paramètres de stabilité et de conservation des tubes, en plus des recommandations fournies par les sociétés savantes (GHFT et CLSI).
Avec l'évolution des plateaux techniques et notamment les installations de chaîne automatisée, certains fournisseurs d'automates d'hémostase proposent de travailler sur des tubes débouchés. Le CLSI recommande de travailler sur tube bouché, nous nous sommes donc intéressés à l'impact du débouchage des tubes sur la stabilité à 4 heures des paramètres d'hémostase.

Matériels et Méthodes : 2 tubes citratés à 3.2% de 2.7 mL (tube Vacutainer BD) ont été prélevés chez 30 témoins volontaires du laboratoire du Centre Hospitalier de Lyon Sud (HCL). Les 2 tubes ont bénéficié d'une centrifugation à 2250G/10min sur les appareils HETTICH Rotina 420R et nous avons effectué un panel d'examen à T0 sur nos automates ACL TOP 750 (Werfen). Le tube témoin (tube T) a été conservé bouché pendant 4 heures alors que le tube D a été conservé débouché pendant 4h. Puis nous avons ré-effectué le même panel d'examens au bout de 4 heures. L'ensemble des différents éléments testés est résumé dans le tableau 1.
Le traitement des données statistiques a été effectué à l'aide du logiciel R et nous avons effectué des tests non paramétriques de Wilcoxon en rang signé, échantillons appariés.

Résultats : L'ensemble des résultats obtenus à T+4h sur tube T, conservé bouché et sur tube D, conservé débouché est résumé dans le Tableau 2.
Une seule différence statistique significative a été trouvée (p-value <0.1) sur le dosage de l'antithrombine entre conservation des tubes bouchés ou débouchés. Cependant, aucune différence analytique n'a été trouvée sur ce paramètre entre les deux modes de conservation après comparaison de moyenne via les limites de fidélité intermédiaire de l'automate à 2.8sdFI.
Pour tous les autres paramètres, aucune différence statistique significative n'a été trouvée sur les résultats à T+4h entre les deux modes de conservation (bouché VS débouché) (p-value >0.1).

Conclusion : D'après notre revue bibliographique, aucune étude ne s'est intéressée à l'impact du débouchage des tubes citratés sur la stabilité et la conservation des échantillons dans le temps. Bien que certains paramètres d'hémostase soient labiles dans le temps (Facteur V et VIII notamment), conserver les tubes citratés débouchés ne semble pas impacter les résultats d'hémostase sur des plasmas normaux, sur les différents paramètres testés (Bilan de coagulation standard, D-dimères, facteurs V, VII et VIII et antithrombine). Il conviendrait de réitérer cette étude sur une population dite "pathologique" afin de confirmer ce premier travail.

		Tube T	Tube D
	Centrifugation	2250G/10min	2250G/10min
A T0	Panel d'examens effectués	TP, TCA, Fibrinogène, D-Dimères, Facteurs V, VII, VIII Antithrombine	
	Conservation du tube pendant 4 heures	Bouché	Débouché
A T+4h	Panel d'examens effectués	TP, TCA, Fibrinogène, D-Dimères, Facteurs V, VII, VIII Antithrombine	

Analyses à T +4h	Tube bouché = Témoin		Tube débouché		p-value
	Moyenne	Extrêmes	Moyenne	Extrêmes	
TCA (Ratio)	1,0	0,64-1,16	1,0	0,81-1,17	0,85
TP (%)	104,4	93-123	104,4	95-130	0,82
Fibrinogène (g/L)	2,9	1,96-3,92	2,9	2,01-3,92	0,12
Facteur V (%)	97,1	54-132	97,4	63-135	0,71
Facteur VII (%)	96,7	61-138	97,2	64-132	0,53
Facteur VIII (%)	119,2	78-150	121,1	75-150	0,75
D-dimères (µg/L)	248,4	215-471	245,3	215-498	0,61
Antithrombine (%)	110,2	84-134	113,5	88-133	<0,01

00039 - Contribution du groupe BIMHO à l'accréditation des laboratoires : mise en place de 2 Comparaison Inter-Laboratoires

E. Jeanpierre[1], V. Le Cam-Duchez[2]

[1]CHU Lille, Institut d'hématologie Transfusion, Institut Pasteur de Lille, Umr1011-Egid, Lille, 59000 France pour le Groupe Bimho - Lille (France),
[2]Normandie Univ, Unirouen Inserm U 1096-Envi, CHU de Rouen, Service d'hématologie Biologique F76 000 Rouen pour le Groupe Bimho - Rouen (France)

Introduction : La norme ISO 15189 demande, pour pouvoir valider une méthode et accréditer une analyse, de disposer d'une Evaluation Externe de la Qualité (EEQ). En hémostase pour de nombreux paramètres, il existe des EEQ « industriels ». S'il n'existe aucun programme d'EEQ, il est alors possible de les remplacer par des Comparaisons inter-Laboratoires (CIL). Au cours de ces dernières années, deux CIL ont été mises en place par le groupe BIMHO pour la liaison VIII-Willebrand (VWF : FVIIIB) et le Temps de Lyse des Euglobulines ou Von Kaulla.

Matériels et Méthodes
VWF : FVIIIB : Après un essai en 2017, la première CIL VWF : FVIIIB a été programmée en 2020 ; 2 plasmas ont été préparés par le laboratoire d'hémostase de Lille et envoyés à 10 laboratoires identifiés de manière aléatoire 1 à 10 ; 4 laboratoires utilisent une méthode manuelle et 6 une méthode commerciale (Stago). Les laboratoires envoient leurs résultats au laboratoire d'hémostase de Lille qui les analyse et renvoie un compte rendu complet à tous les participants et son numéro de laboratoire à chacun. Les données quantitatives (% fixation), sont analysées en moyenne, ET et CV par méthode et toutes méthodes, avec calcul d'un z-score. Les données qualitatives (une interprétation codée (4 réponses-types) et un diagnostic (texte libre)) sont analysées en réponse conforme, non conforme mais sans impact pour le patient ou non conforme avec impact pour le patient. Pour l'exercice 2020, tous les laboratoires ont des Z-score < à 3. Un laboratoire présente un Z-score >2 pour l'échantillon normal, sans impact sur l'interprétation. Concernant l'interprétation, 2 laboratoires ont rendu « très diminuée » alors que la réponse attendue était « nulle »; cela ne change pas le diagnostic. Chaque année, un laboratoire différent (Lyon en 2021) prépare et envoie les 2 échantillons à tester mais l'analyse est toujours faite par Lille.
Von Kaulla : Deux campagnes ont été programmées en 2020 et 2021. En 2020, 7 laboratoires ont participé et 9 en 2021. Pour chaque campagne le laboratoire d'hémostase de Rouen prépare des aliquotes de 600µL sur deux niveaux de temps de lyse des euglobulines : un normal et un pathologique (temps raccourci témoignant d'une hyperfibrinolyse). A réception des aliquotes chaque laboratoire réalise les analyses selon sa méthode habituelle et donne une réponse quantitative en minutes et une réponse qualitative de type : Allongé, Normal ou Raccourci en précisant ses valeurs de références. Les résultats sont renvoyés au laboratoire de Rouen qui réalise l'analyse des résultats quantitatifs et qualitatifs, rédige un rapport général en attribuant à chaque laboratoire participant de façon aléatoire un numéro. Le rapport est ensuite envoyé à tous les participants et à part, à chaque participant, le numéro de son laboratoire. En 2020, tous les résultats sauf 1 étaient conformes ; en 2022 8 étaient conformes et 1 acceptable.

Conclusion : Le groupe BIMHO a mis en place 2 CIL aidant ainsi différents centres dans leur démarche d'accréditation.

00049 - Analyse des recherches de thrombopénie induite par l'héparine sur 4 ans au CHU de Nantes

M. Fouassier[1], M. Beauvais[1], N. Drillaud[1], A. Babuty[1], M. Sigaud[1], E. Boissier[1], C. Ternisien[1], M. Trossaërt[1]

[1]Chu Nantes - Nantes (France)

Introduction : La thrombopénie induite par l'héparine (TIH) est une atteinte pro-thrombotique immunologique d'origine médicamenteuse. C'est une affection fréquente et potentiellement grave, pour laquelle une méthode dépistage sensible et spécifique est indispensable.

Matériels et Méthodes : Nous avons analysé de façon rétrospective les recherches de TIH réalisées entre Juillet 2018 et Mars 2022 pour lesquelles ont été réalisé un test immunologique de recherche d'anticorps anti facteur IV plaquettaire-héparine puis, selon les cas, un test fonctionnel par agrégométrie sur plasma riche en plaquettes. Lorsque la situation l'exigeait, un test de relargage de la sérotonine (SRA) a été réalisé.

Résultats : Parmi nos 605 recherches de TIH, 12,5% des demandes sont positives et 87,5% sont négatives. 95 recherches d'anticorps anti PF4-heparine par test ELISA sont revenus avec une DO > 1 (15,7%). 112 AGP ont été réalisées, et 50 prélèvements ont nécessité une confirmation par SRA.
Concernant les recherches rendues positives, le score des 4T était compris entre 0 et 3 dans 1,4% des cas, entre 4 et 5 dans 44% des cas et entre 6 et 9 dans 20% des cas, avec un score non calculable dans 37,4% des cas (circulation extracorporelle majoritairement).
L'analyse des résultats de recherche d'Ac anti PF4-H montre que 100% des recherches sont revenues positives pour une DO > 21 au test ELISA de dépistage, et 98,3% sont revenues positives pour une DO > 8. Toutes les recherches avec une DO<1 se sont avérées négatives. Parmi les 38 recherches ayant montré des DO comprises entre 1 et 8 au test ELISA, 21% sont positives au test d'AGP, 39,5% sont négatives et 26,3% montrent une réaction non spécifique.
Un test AGP a été réalisé pour 100% des recherches avec un test ELISA ayant rendu une DO > 1. Parmi ces recherches, ce test a confirmé la positivité dans 50,5% des cas. Dans 49,5% des cas, l'AGP est revenue négative ou a montré une réaction non spécifique et a nécessité un envoi en SRA. Celui-ci est revenu positif dans 60,0% des cas, et négatif dans 37,8% des cas (1 résultat non spécifique).

Conclusion : 98,3% des recherches ayant montré une DO > 8 sont positives (VPP = 98,3%) et 100% pour une DO > 21. Le test d'agrégation plaquettaire permet de conclure dans 50,5% des cas si le test ELISA est positif, et le SRA permet de conclure dans 97,8% des cas où les tests discordent.
Nos résultats suggèrent qu'une DO > 8 peut permettre de porter le diagnostic de TIH sans test complémentaire avec un taux de faux positif acceptable (environ 1.5%), tandis qu'une DO < 1 semble exclure formellement ce diagnostic mais nous n'avons réalisé qu'un nombre limité de test fonctionnel chez de patients avec une DO<1 et un score des 4T élevé.

00062 - Etude de sensibilité (anticoagulants circulants et déficits en facteurs VIII, IX, XI) de 2 céphalines : SynthASil® - SynthAFax®

E. Jousselme[1], E. Imberton[1], S. Marin[1], C. Nougier[1]

[1] (France)

Introduction : La présence d'un anticoagulant circulant de type lupique (ACC) ou le déficit en un facteur de la coagulation (FVIII,

Hémophilie A (HA); FIX, Hémophilie B (HB); FXI) sont habituellement suspectés devant un allongement isolé du TCA (Temps de céphaline avec Activateur). Secondairement, la mesure spécifique du taux facteur permet d'établir la sévérité de la maladie ou l'évaluation des taux post-substitution. La sensibilité aux déficits en facteur des réactifs de TCA sont variables et doivent être pris en compte lors du choix du réactif. L'objectif de cette étude a été de comparer la sensibilité de deux céphalines : HemosIL SynthASil® (silice colloïdale) (SL) et SynthAFax® (acide ellagique) (SX) (Instrumentation Laboratory®, Werfen®).

Matériels et Méthodes : Nous avons sélectionnés des plasmas de patients triples positifs pour un ACC (n=10), déficitaires génotypés non traités (n=17 HA, 15 HB, 5 FXI), ou traités (n=15 ELOCTA®, 6 NUWIQ®, 16 NOVOEIGHT®, 25 ADVATE®, 7 BENEFIX®, 6 ALPROLIX®). Les mesures en TCA et taux de facteur ont été réalisés sur les aliquots une fois décongelés. L'analyse des données s'est basée sur le diagramme des différence (Bland-Altman) et d'autres tests statistiques ($p<0.05$) (logiciel GraphPad Prism®).

Résultats : Pour la recherche d'ACC, la concordance est négligeable (coefficient Kappa = 0.091), le réactif SX montrant une faible sensibilité aux ACC (SX : n=7/10 ratio TCA<1.20).
Pour les déficits, le biais (SL-SX) en ratio TCA est de 0.18, 0.22, -0.19 et de -2.1%, -4.5%, -2.8% en FVIII, FIX, FXI sans différence statistiques par rapport à 0 (0 compris dans l'intervalle de confiance à 95%). Les résultats sont statiquement corrélés (FXI non calculable, effectif trop faible). Pour le FIX, le biais augmente avec le taux de manière significative. Seuls 1 HA et 1 HB sortent des limites d'agrément à 95% (Bland-Altman) tout en restant dans les limites des biais maximum tolérés (GFHT). En termes de sévérité, 1/17 HA et 6/15 HB serait mal classés avec le SX.
Pour le suivi des traitements substitutifs en FVIII, les techniques sont statistiquement corrélées (NUWIQ® non calculables) et les biais faibles (0,1 à 1,7%). Pour les FIX, les effectifs sont insuffisants pour établir une corrélation et les biais importants (-16.2% BENEFIX®, -9% ALPROLIX®). Pour deux molécules, le biais augmente de manière statistique avec le taux (ADVATE®, ALPROLIX®).

Conclusion : Cette étude préliminaire sur des effectifs faibles nécessite d'être complétée en multicentrique sur un nombre d'échantillons plus importants. Néanmoins, nous retrouvons la faible sensibilité aux ACC connue pour les céphalines à base d'acide ellagique. Les sensibilités aux déficits en VIII et XI sont équivalentes mais il semble exister une discordance en FIX pouvant impacter la classification des HB. Pour le suivi des traitements substitutifs, les résultats semblent équivalents en FVIII avec des biais non négligeables pour les molécules de FIX.

00074 - Première étape vers une revue de prescription des bilans de thrombophilie constitutionnelle et acquise

M. Reynaud[1], C. Ternisien[1], A. Babuty[1], M. Fouassier[1], M. Sigaud[1], M. Trossaërt[1], N. Drillaud[1]

[1]*Centre d'hemostase Clinique - Nantes (France)*

Introduction : Le bilan de thrombophilie constitutionnelle (antithrombine, protéine C, protéine S, facteur V Leiden, mutation du facteur II) permet d'identifier des facteurs de risque de maladie thrombo-embolique veineuse. Il est généralement associé à la recherche de SAPL qui est également un facteur de risque de thrombose artérielle. En 2009, la Société Française de Maladie Vasculaire et le Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose ont proposé des recommandations de bonnes pratiques concernant sa prescription. Une des missions du biologiste est d'évaluer la pertinence des examens de biologie médicale, ce qui n'est à ce jour pas réalisé au laboratoire de Nantes pour ces analyses. Devant la recrudescence des prescriptions de ce bilan nous avons évalué l'intérêt d'une revue de prescription et l'impact médico-économique engendré.

Matériels et Méthodes : A partir du système informatique du laboratoire, nous avons extrait tous les bilans de thrombophilie prescrits en octobre 2021 au CHU de Nantes. L'indication a été évaluée rétrospectivement à partir des courriers médicaux du prescripteur. Le contexte clinique a été confronté aux recommandations de 2009 de la SFMV et du GEHT puis la demande a été classée en 3 catégories : bilan indiqué ; bilan non indiqué ou données cliniques insuffisantes pour conclure. L'impact médico-économique des bilans non indiqués a été ensuite évalué sur la base de la Nomenclature des Actes de Biologie médicale : antithrombine B40 (10,8€), protéine C B50 (13,5€), protéine S B50 (13,5€), recherche d'anticoagulant circulant B200 (54€), anticorps anticardiolipides (IgG + IgM) B134 (36,18€), anticorps anti-B2GP1 (IgG + IgM) B134 (36,18€), recherche de la mutation facteur V Leiden B100 (27€) et de la mutation G20210A du facteur II B100 (27€) pour B=0,27€.

Résultats : Sur 31 jours, nous avons recensé 315 prescriptions de bilan de thrombophilie dont 251 recherches de SAPL et 64 bilans de thrombophilie acquise et constitutionnelle.
Parmi les 315 bilans, 58 (18,41%) bilans étaient considérés comme non indiqués, dont 23 (7,30%) bilans étaient prescris chez des patients de plus de 60 ans, 23 (7,30%) dans des contextes médicaux qui ne nécessitaient pas de bilans de thrombophilie et 12 (3.81%) étaient redondants. L'intégralité de ces 315 bilans a représenté une somme totale de 33 578€ dont 5 454€ pour les 58 bilans non indiqués.

Conclusion : Une prescription non adaptée du bilan de thrombophilie peut être source de retard à la prise en charge du patient et peu parfois mener à un mauvais choix thérapeutique. Par ailleurs, une revue de prescription de ces analyses spécialisées d'hémostase aurait pu faire économiser 5 454€ sur seulement un mois et dans un seul centre. De plus, certaines recommandations estiment que ce bilan ne devrait plus être prescrit après 50 ans, ce qui augmenterait encore plus cette somme. Dans ce contexte il semble cohérent de proposer une revue systématique des bilans de thrombophilie par le laboratoire. Des nouvelles recommandations françaises permettraient d'actualiser et d'uniformiser les pratiques d'un praticien à l'autre.

00081 - Comment s'affranchir de l'interférence de l'Argatroban sur le dosage du Fibrinogène Clauss sur ACL-TOP 750 (Werfen) ?

C. Legendre[1], A. Faurel[1], M. Delolme[1], P. Noyel[1]

[1]*Laboratoire d'hématologie - Saint-Etienne (France)*

Introduction : Le dosage du fibrinogène reposant sur la mesure d'un temps de coagulation en présence de thrombine, est réalisé dans le bilan de coagulation standard. Nous avons mis en évidence une interférence du traitement Argatroban (Arganova®), anti-IIa utilisé dans les thrombopénies induites par l'héparine (TIH), sur le dosage du fibrinogène avec le réactif HemosIL® Fibrinogen-C. Dans un contexte de TIH, il est important de connaitre de façon précise le taux de fibrinogène afin de détecter une possible consommation. L'objectif de cette étude est de proposer deux approches permettant de pallier à cette interférence : par dilution du plasma, en s'inspirant de la méthode utilisée pour lever l'interférence d'un anticoagulant circulant ou par utilisation d'un réactif de concentration plus importante de thrombine.

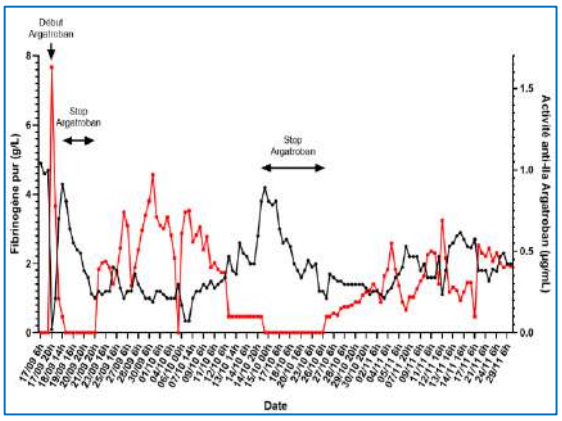
Matériels et Méthodes : Cette étude a été réalisée sur des échantillons sanguins provenant de patients hospitalisés à Saint Etienne sur la période juillet 2021-février 2022. Tous les dosages ont été effectués sur ACL TOP 750 LAS (Werfen, Le Pré Saint Gervais, France). Le taux de fibrinogène a été mesuré sur 179 plasmas issus de 8 patients traités par Argatroban (0.5-2µg/kg/min). Le dosage de fibrinogène a été réalisé avec le réactif Fibrinogen-C® (Concentration en thrombine (C)=35 UNIH/mL, Werfen). L'activité anti-IIa Argatroban a été dosée avec le réactif HemoSIL Direct Thrombin Inhibitor (Werfen). 66 plasmas ont fait l'objet d'un second dosage de fibrinogène après une pré-dilution manuelle au 1/4 ou au 1/10 dans du factor diluent (Werfen). Enfin, les résultats ont été comparés avec ceux obtenus avec un réactif contenant une concentration de thrombine plus élevée ; HemosIL

Q.F.A Thrombin (C=100 UNIH/mL, Werfen). Les résultats obtenus ont été analysés sur PrismGraphPad® et les données comparées via les tests statistiques de régression linéaire et t-test apparié.

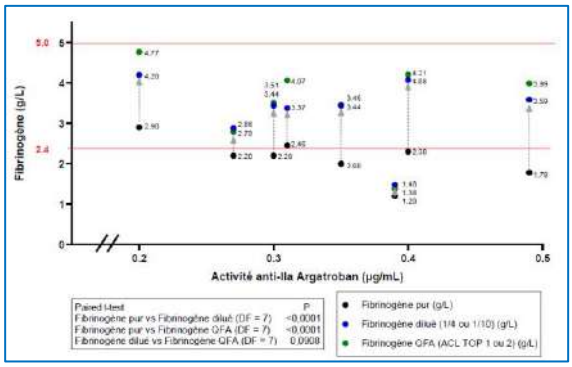
Résultats : Cette étude met en évidence l'interférence du traitement par Argatroban sur le dosage du fibrinogène utilisant le réactif Fibrinogen-C® (Figure 1) ; d'autant plus prononcée, que l'activité anti-IIa est élevée. Après avoir confirmé qu'une pré-dilution du plasma n'affectait pas le taux de fibrinogène chez les patients sans Argatroban, nous avons mis en évidence une correction de l'effet de l'Argatroban sur le dosage du fibrinogène chez les patients traités. Ces résultats sont corrélés avec ceux obtenus en utilisant le réactif QFA, plus concentré en thrombine (Figure 2).

Conclusion : En conclusion, chez les patients sous Argatroban, il est possible de doser le fibrinogène de manière fiable, sur un plasma dilué ; solution simple et peu couteuse bien que chronophage, ou en utilisant un réactif de concentration en thrombine plus élevée comme le Q.F.A Thrombin. Ainsi, ces deux stratégies permettent de s'affranchir de l'interférence de l'Argatroban sur le dosage du fibrinogène. Cependant, ces résultats sont à confirmer sur un plus grand nombre de patients.

Interférence de l'Argatroban sur le fibrinogen-C



Méthodes palliant à l'interférence de l'Argatroban



00105 - Gestion d'un relais Argatroban/Coumadine à l'aide du DOAC StopTM

C. Delassasseigne[1], C. Derray[1], C. Mouton[1]

[1]*Laboratoire Hématologie CHU Bordeaux - Bordeaux (France)*

Introduction : La Thrombopénie Induite à l'Héparine (TIH) impose un switch immédiat vers un anticoagulant de substitution : Danaparoïde ou Argatroban. Ce traitement substitutif, donné durant la phase aigüe de la TIH, est ultérieurement relayé par un anticoagulant oral.
Dans le cas du relais Argatroban/Coumadine, les RCP indiquent l'effet additif du produit par interférence sur le Temps de quick (TQ) et recommandent l'administration concomitante des 2 anticoagulants pendant au minimum 5J avec une surveillance quotidienne de l'INR. On note que pour des doses jusqu'à 2 microgrammes/kg/min, l'Argatroban peut être arrêté lorsque l'INR aura atteint la valeur de 4 sous traitement concomitant et ce, 2 jours consécutifs. Il faut ensuite répéter l'INR après arrêt de l'Argatroban au moins 4 heures et reprendre la perfusion si l'INR n'est pas dans la fourchette pour l'indication. Cette gestion du relais est compliquée pour les équipes de soins, pas toujours comprise en regard de l'interférence, et potentiellement iatrogène chez des patients souvent à haut risque thrombotique.
Les pastilles de charbon actif (DOAC StopTM) servant à neutraliser in vitro les effets des AOD, de part leur mécanisme d'action, sont efficaces sur l'Argatroban (1).
Nous rapportons un cas de gestion de l'INR sous Argatroban/Coumadine avec neutralisation in vitro de l'arganova.

Matériels et Méthodes : Madame L, née en 1969, suivie pour un Syndrome des anti-phospholipides (SAPL), porteuse de 2 valves mécaniques (post endocardite infectieuse), aux antécédents lourds, notamment d'AVC ischémiques, est hospitalisée en avril 2021 pour une nouvelle endocardite. L'hospitalisation est compliquée d'un accident hémorragique, avec hématomes sous – duraux bilatéraux avec effet de masse. Au décours de la prise en charge et de la réintroduction de l'héparine, une TIH est diagnostiquée. La patiente est mise sous Argatroban en raison du risque hémorragique. Elle présentera une dégradation rénale majeure, de type néphropathie glomérulaire nécessitant des échanges plasmatiques et sera laissée sous Argatroban jusqu'au relai par Coumadine. Le traitement par Argatroban aura duré plus de 3 mois.La Coumadine est introduite le 20/09/21. La surveillance du relais Arganova/AVK avec le DOAC StopTM est réalisée sur chaque échantillon envoyé au laboratoire à partir de J3.

Résultats :
Le DOAC StopTM a permis :
- d'absorber l'Argatroban de l'échantillon : un TT normal prouve que l'Argatroban a été neutralisé
- de rendre un INR qui n'est plus le reflet que du traitement par AVK

Conclusion : Le relais Argatroban/AVK est complexe à gérer. Les indications des RCP sont compliquées et l'INR proposé sous Argatroban pas finement adapté à l'ISI du réactif et aux concentrations plasmatiques de l'Argatroban. Le DOAC StopTM représente une bonne alternative pour rendre un « vrai » INR et ainsi optimiser une thérapeutique couteuse sans prise de risque pour le patient.

Bibliographie :
(1) Effect of an activated charcoal product (DOAC Stop™) intended for extracting DOACs on various other APTT-prolonging anticoagulants. Thomas Exner and al. Clin Chem Lab med 2019 Apr 24; 57(5):690-696.
- *A case report of successful transition from argatroban to warfarin using DOAC-stop in heparin induced thrombocytopenia (HIT). Karan Makhija and al. Pathology. 2021 Oct;53(6):800-802*
- *Résumé des Caractéristiques du Produit Argatroban*
- *Heparin-induced thrombocytopenia: pathophysiology, diagnosis and treatment. Anne-Mette Hvas and al. Expert Rev Hematol. 2021 Apr;14(4):335-346*
- *Argatroban. K McKeage and al. Drugs. 2001;61(4):515-22*

Résultats de Mme L.

Date		Activité anti-IIa (ng/mL) *	TQ (sec) **	INR	TT (sec) ***
23/09/2021		1,29	45.1	3.75	>60
	DOAC StopTM			1,63	19
25/09/2021		1,23	33.9	2,74	>60
	DOAC StopTM			1,74	19
26/09/2021		1,40	56.4	4,73	>60
	DOAC StopTM			2,09	15
27/09/2021		1,40	27.5	5,85	>60
	DOAC StopTM			2,29	19
28/09/2021	Diminution de la posologie d'Arganova	1,21	27.3	5,11	>60
	DOAC StopTM			2,27	18
29/09/2021	Arrêt Argatroban	0,1	30.8	2,86	35
	DOAC StopTM			2,57	17
30/09/2021		-	32.7	2.71	
01/10/21	INR cible		41.4	3.44	

* Hemoclot Thrombin Inhibitor, Sysmex ** Readiplastin, Werfen *** STA Thrombin, STAGO

00106 - Etude de performance du TriniCHROM Factor VIII : C sur STA-R Max pour le dosage de l'activité du facteur VIII chromogénique

J. Rose[1], C. Giot[1], C. Guénot[1], V. Cussac[1]

[1]*Centre Hospitalier - Le Mans (France)*

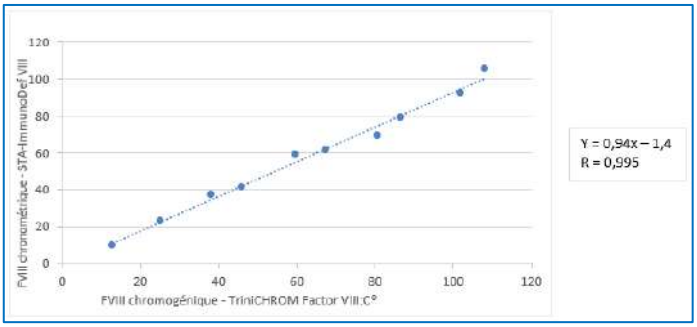
Introduction : Le dosage de l'activité du facteur VIII (FVIII:C) par méthode chromogénique se positionne comme une technique de plus en plus utilisée, voire indispensable pour les laboratoires qui suivent des patients hémophiles. Cette technique présente de nombreux intérêts par rapport à la méthode chronométrique : suivi biologique des patients hémophiles A sous emicizumab, suivi biologique de référence des hémophiles A substitués, insensibilité aux anticoagulants de type lupique, meilleure corrélation avec le phénotype hémorragique des patients hémophiles A. Dans cette étude, nous avons évalué les performances du réactif TriniCHROM® Factor VIII:C pour le dosage chromogénique du FVIII:C.

Matériels et Méthodes : Le dosage de FVIII:C par méthode chromogénique a été réalisé avec le réactif TriniCHROM® Factor VIII:C (Stago) et le dosage de FVIII:C par méthode chronométrique avec le réactif STA®-ImmunoDef VIII (Stago) sur STA-R Max®. La calibration de ces deux tests a été effectuée avec STA®-Unicalibrator (Stago). La répétabilité et la fidélité intermédiaire ont été déterminées par le calcul des moyennes, écarts-type et coefficients de variation (CV) à partir des contrôles internes de qualité (CIQ) STA®-System Control N et P testés purs et dilués à différentes dilutions pour couvrir la zone de mesure. Les données ont été analysées par une régression linéaire simple. La stabilité à bord des réactifs a été analysée par le calcul des moyennes, écarts-type et coefficients de variation (CV) à partir de dosages réalisés sur 3 temps différents, en début de série et après 1 heure et 4 heures à partir de 5 contrôles de qualité et 6 plasmas de patients hémophiles différents.

Résultats : Les résultats de répétabilité et fidélité intermédiaire obtenus sont présentés dans la figure 1. La régression linéaire déterminée à partir des valeurs de CIQ obtenues avec les deux techniques de dosage chromogénique et chronométrique de FVIII:C est présentée dans la figure 2. Les résultats de stabilité du réactif TriniCHROM® FVIII:C conservé à bord du STA-R Max® sont présentés dans la figure 3.

Conclusion : En conclusion, l'analyse des CV de répétabilité et de fidélité intermédiaire dans notre laboratoire montrent une bonne performance du réactif TriniCHROM® Factor VIII:C sur STA-R Max® pour le dosage du FVIII:C par méthode chromogénique. La comparaison avec la méthode chronométrique est excellente. Les résultats de stabilité du réactif conservé à bord de l'automate ont été jugés acceptables. L'ensemble de ces résultats nous ont confortés dans l'utilisation du kit TriniCHROM® Factor VIII:C pour le suivi biologique des patients hémophiles A de notre centre.

n = 12	Répétabilité intra-série		Fidélité intermédiaire	
valeurs	STA System Control N	STA System Control P	STA System Control N	STA System Control P
Moyenne (%)	100,1	59,2	90,7	50,2
Ecart-type	2,22	1,23	7,48	6,17
CV (%)	2,2	2,1	8,25	12,3



Echantillons	Résultats (%) à H0	Résultats (%) à H1	Résultats (%) à H4	Moyenne (%)	Ecart-type	CV (%)
CQ 1	88,1	96,5	88,6	91,1	4,712	5,2
CQ 2	46,5	46,8	43,2	45,5	1,997	4,4
CQ 3	6,8	6,2	8,6	7,2	1,249	17,3
CQ 4	47	49,5	46,5	47,7	1,607	3,4
CQ 5	113,6	102,1	99,6	105,1	7,467	7,1
Patient 1	1,4	1,1	0,7	1,1	0,351	32,9
Patient 2	9,7	11	8	9,6	1,504	15,7
Patient 3	127,8	133,2	130,7	130,6	2,702	2,1
Patient 4	4,6	4,6	5,1	4,8	0,289	6,1
Patient 5	21,9	23,5	20	21,8	1,752	8,0
Patient 6	17,5	15,3	14,1	15,6	1,724	11,0

00117 - Etude des effets in vitro de l'hémolyse sur le test d'agrégation plaquettaire

M. Ibrahim-Kosta[1], G. Zirka[1], K. Carriere[2], P. Ohlmann[2], M. Alessi[1]

[1]*Aix Marseille Univ, Inserm 1263, Inrae 1260, C2vn, Aphm, National Reference Center on Constitutional Platelet Disorders (CRPP), Marseille, France - Marseille (France),*
[2]*Société Agrobio Diagnostica Stago - Asnières-sur-Seine (France)*

Introduction : L'ISTH recommande de ne pas réaliser d'agrégation plaquettaire en cas d'hémolyse. Cependant, il existe peu de données de la littérature qui documentent précisément les effets de l'hémolyse sur l'agrégation plaquettaire.
L'objectif de cette étude est de révéler les effets in vitro d'un hémolysat de globules rouges (HGR) sur l'agrégation de plasmas riches en plaquettes (PRP) issus de volontaires sains ou de sujets présentant une agrégation plaquettaire normale.

Matériels et Méthodes : Les effets de doses croissantes d'un HGR (0 ; 0,3 ; 0,6 ; 2 et 5 g/L d'hémoglobine) sur l'intensité maximale (IM) et la vélocité (VEL) de l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP 5µM ou le collagène 2µg/mL ont été étudiés. Ces effets ont été évalués immédiatement après la préparation du mélange PRP-HGR, après incubation de ce mélange pendant 20 minutes à 37°C sous agitation et en présence d'apyrase 0,2 UI/mL. Les réactifs, l'agrégomètre (TAV-8) et l'apyrase ont été fournis par la société Agrobio-Stago. Le test de Friedman a été utilisé pour les analyses statistiques.

Résultats : Quand le mélange PRP-HGR a été testé immédiatement, une agrégation spontanée de faible amplitude (min-max : IM : 11-36%, p=0,028 ; VEL : 12-30%, p=0,0001) a été observée à la plus forte concentration d'hémoglobine (5g/L) chez 5 des 11 échantillons testés. Celle-ci disparait en présence d'apyrase 0,2 UI/mL. L'IM induite par l'ADP (n=6) et le collagène (n=5) n'est pas affectée quelle que soit la concentration d'hémoglobine (p=0,22 et p=0,16 respectivement). Cependant, la VEL en réponse au collagène diminue de façon significative : de 166±63%/min pour la concentration 0g/L à 94±24%/min pour la concentration 5g/L d'hémoglobine (p=0.03).
L'incubation des PRP avec l'HGR ne majore pas l'agrégation spontanée (17±13% à 5g/L). En revanche, une diminution franche de l'IM et de la VEL (90±7,8% et 136±32%/min pour la condition 0g/L versus 26±10% et 41±14%/min pour la concentration 5g/L d'hémoglobine respectivement) a été observée dès la concentration de 0,6g/L (IM : p=0,016 et VEL : p=0,0041) en réponse à l'ADP 5µM. Des expérimentations en cours montrent que l'ajout d'apyrase 0,2UI/mL prévient la diminution de l'IM. L'incubation préalable du PRP avec l'HRG n'affecte pas l'IM en réponse au collagène. En revanche, une réduction significative de la VEL a été observée (0 versus 5g/L : 144±29 vs 91±33%/min, p=0,003).

Conclusion : L'HGR affecte l'agrégation plaquettaire. Les effets varient en fonction de l'activateur utilisé. Peu marquées avec le collagène, les conséquences se majorent en présence d'ADP notamment lorsque les plaquettes ont été préincubées avec l'HGR. D'autres agonistes sont en cours d'évaluation. Les résultats globaux devront permettre de mieux préciser les critères d'acceptabilité d'un prélèvement hémolysé et le choix des activateurs à utiliser.

00122 - Evaluation des performances d'un nouvel automate : ACLTOP970CL®

C. Nougier[1], H. Rezigue[1], F. Sobas[1], O. Latour[1], E. Jousselme[1]

[1]*Centre de Biologie et Pathologie Est, Laboratoire d'hématologie, HCL - Bron (France)*

Introduction : ACLTOP970CL® (Werfen, Bedford, MA, Etats-Unis) est un nouvel automate (en distribution limitée) permettant de réaliser des tests d'hémostase en technique chronométrique, technique chromogénique, technique immuno-turbidimétrique et en chimiluminescence. L'objectif de ce travail a été de comparer les performances analytiques de ce nouvel automate à l'ACLTOP700® sur les dosages de protéine S, protéine C et la détermination des anticoagulants circulants lupiques (ACC) en utilisant les tests dRVVT et SCT.

Matériels et Méthodes :
La comparaison des résultats a été réalisée sur :
- 30 échantillons pour la protéine S libre Ag et la protéine C chromogénique en utilisant les réactifs : HemosIL® Protein C et HemosIL® Free Protein S
- 15 échantillons pour l'activité chronométrique de la protéine C et la protéine S en utilisant les réactifs : HemosIL® ProClot et HemosIL® Protein S Activity
- 30 échantillons pour les ACC en utilisant les réactifs : HemosIL® Silica Clotting Time (screen et confirm) et HemosIL® dRVVT (screen et confirm)

L'analyse des données pour protéine S et C a été réalisée, pour chacun des tests, en utilisant la corrélation et le diagramme des différence (Bland-Altman).
Pour les ACC, les seuils de positivité ont été déterminés selon les recommandations de l'ISTH sur le 99th percentile d'échantillons de plasmas d'une population témoin équilibrée (n=30) (Cryopep®). Le coefficient kappa, pour évaluer la concordance a été calculé. Des tests de cadence ont été également réalisés pour comparer les 2 automates pour la mesure d'ACC (n=10).

Résultats : Les résultats de corrélation et de comparaison de méthodes sont résumés dans le tableau 1 pour les dosages de protéine C et protéine S. Les seuils de positivité sur l'ACLTOP970CL ont été calculés à 1.12 et 1.19 en ratio normalisé pour le dRVVT et SCT respectivement. La cadence entre les 2 automates est comparable (23 minutes vs 28minutes) pour l'ACLTOP700 et l'ACLTOP970CL respectivement. La concordance en ratio normalisé pour les ACC est représentée dans le tableau 1, montrant une parfaite concordance entre les 2 automates (coefficient kappa=1).

Conclusion : L'étude de comparaison des méthodes montre un parfait agrément entre les 2 automates pour la mesure des inhibiteurs de la coagulation et une bonne concordance pour la détection des ACC. A terme, le bilan de thrombophilie complet (ACC, anti-cardiolipines, antiB2GPI, Protéine S, protéine C, antithrombine) pourra être réalisé sur un seul échantillon et un seul automate permettant une optimisation des processus pré-analytiques (un seul aliquot de plasma au lieu de 4 actuellement) et analytique (un seul automate pour l'ensemble des paramètres du bilan phénotypique de thrombophilie).

Tableau 1 : Résultats de comparaison/concordance

	Coefficient de corrélation (R^2)	nombre de discordants par rapport au limite de suivi (Bland Altmann)
Protéine S libre Ag	0.96	0
Protéine S chronométrique	0.99	0
Protéine C chromogénique	0.93	0
Protéine C chronométrique	0.99	0

	ACL970CL					
	SCT	positif	negatif	dRVVT	positif	negatif
ACL700	positif	4	0	positif	18	0
	negatif	0	26	negatif	0	12

00134 - Audit sur l'impact d'un switch massif d'un traitement en hémophilie

J. Jouglen[1], S. Voisin[2], M. Piel-Julian[3], S. Gérard[3], V. Labat[1], B. Caurier[4], S. Claeyssens[3], L. Boy[5], F. Fort[6], B. De Labriffe[7]

[1]*Pharmacie-CHU Toulouse - Toulouse (France),*
[2]*Laboratoire Biologie-Hématologie-CHU Toulouse - Toulouse (France),*
[3]*CRC MHC-CHU Toulouse - Toulouse (France),*
[4]*Pédiatrie-CH Rodez - Rodez (France),*
[5]*Pharmacie-CH Cahors - Cahors (France),*
[6]*AFH - Toulouse (France),* [7]*Société Glik&co - Paris (France)*

Introduction : Un appel d'offre concurrentiel permet de réaliser un gain achat et de rationaliser les spécialités référencées. Pour les facteurs de l'hémophilie, un changement de thérapeutique impacte non seulement le patient mais nécessite un accompagnement important par les professionnels de santé. L'objectif est de réaliser un panorama qualitatif de la charge de travail lié à un changement de médicament en hémophilie pour l'ensemble des acteurs concernés afin d'identifier des recommandations pour de futurs cas.

Matériels et Méthodes : L'étude a été menée sous forme d'interviews par une structure d'audit extérieure : Glik&Co®. Après avoir listé tous les acteurs concernés par ce switch, des entretiens individuels se sont tenus avec chacun d'entre eux en septembre 2021. Les interviewés ont été questionnés dans le cadre d'une discussion ouverte, sur l'impact d'un switch dans leur activité. Par exemple : Qu'est-ce qu'un switch génère dans votre activité en termes logistique ? technique ? administratif ? communication ? formation ?... Les items observés concernent notamment le temps humain mais s'intéressent aussi à l'aspect logistique, technique et sur la communication intra et extrahospitalière. Après avoir dressé un constat, des points de vigilance par acteur et des points d'amélioration ont pu être mis en lumière.

Résultats : Trois médecins, 3 pharmaciens, 1 biologiste, 1 infirmière et 1 patient ont été interrogés. Les médecins hospitaliers (2 experts et 1 non expert) identifient un travail de coordination en interne et de formation des autres services (anesthésistes et service des urgences notamment) ainsi qu'un temps important dédié au patient et aux tests pharmacocinétiques. Pour les pharmaciens, une charge administrative et logistique importante et incompressible est nécessaire (délai trop important et insuffisamment anticipé pour le changement de tous les patients). Pour les biologistes, un changement est extrêmement coûteux en temps et en argent. Il nécessite un équipement en réactifs et en automates, une refonte des paramétrages des bilans et une formation des biologistes. Pour l'infirmière, un switch nécessite la mise en place de formations dédiées auprès des patients et collègues libérales. Pour les patients, la présence d'un psychologue pour accompagner les changements semble nécessaire.

Conclusion : De ces différents constats, des recommandations organisationnelles, administratives et logistiques visant à optimiser et à faciliter un switch de médicament d'une même classe thérapeutique en hémophilie ont pu être identifiées. Il apparait clairement qu'une prise de décision collective incluant l'ensemble des professionnels concernés et une anticipation importante des contraintes de chacun est nécessaire pour rendre un changement pertinent. Par exemple, la mise en place dynamique de l'avancée des étapes avec chaque patient, une consultation conjointe avec un psychologue sont des mesures qui sembles indispensables pour réussir ces changements.