




GESTION PRATIQUE ET BIOLOGIQUE D'UNE THROMBOPÉNIE MAJEURE



Dr Caren Brumpt, Dr Emily Ronez
Service d'Hématologie biologique du Pr Drouet
Hôpital Lariboisière, Paris

Introduction

- Le rôle des plaquettes (plq) dans l'hémostase primaire rend compte du risque hémorragique des thrombopénies.
- La prise en charge d'une **thrombopénie sévère est une urgence** diagnostique et thérapeutique.
- Elle est **multidisciplinaire simultanément clinique et biologique.**
- Elle doit préciser :
 - La réalité de la thrombopénie
 - L'appréciation du risque hémorragique immédiat
 - Le caractère central ou périphérique
 - Le diagnostic étiologique à envisager.

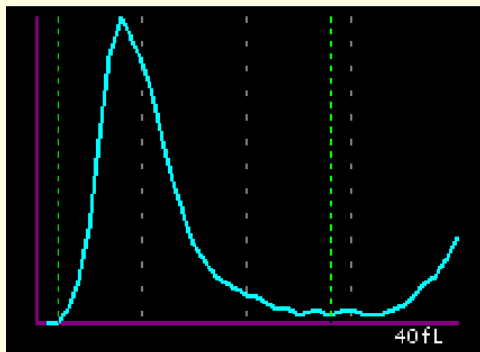
Appréciation du risque hémorragique

- Définition : thrombopénie : plq < 150 G/L sévère <25G/L
- La sévérité de la thrombopénie n'est pas toujours corrélée au risque hémorragique (terrain , médicaments, contexte médico-chirurgical)
- Risque hémorragique thrombopénie centrale sévère > périphérique

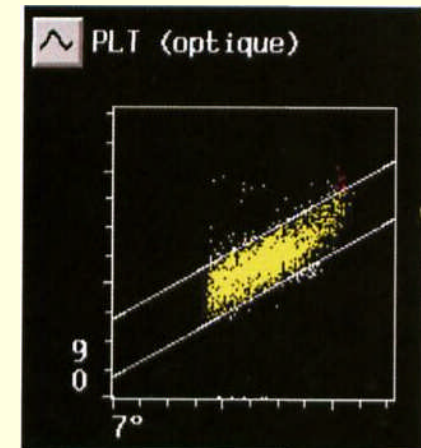
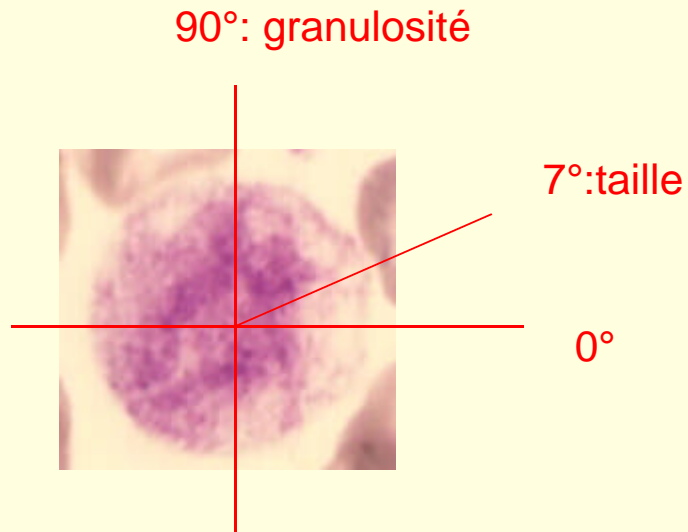
Plq > 80 G/L	■ Risque hémorragique nul
Plq entre 50 et 80 G/L	■ Le plus souvent asymptomatique ■ Purpura, ecchymose, saignements cutanéomuqueux provoqués
Plq < 50 G/L Sévères : plq <25G/L	■ Possiblement asymptomatique ■ <u>Eléments de gravité</u> : purpura extensif, bulles hémorragiques buccales, hémorragies internes, hémorragies au fond d'œil, céphalées

Exactitude de la thrombopénie : les automates d'Hématologie cellulaire en première ligne

- Utilisation de 2 technologies :
- Impédance : mesure la capacité d'un objet à s'opposer au mouvement d'une charge électrique. Elle sert à dénombrer et à déterminer le volume des plq
- Optique : mesure par cytométrie en flux couplée à la diffraction laser (Taille et contenu cellulaire)

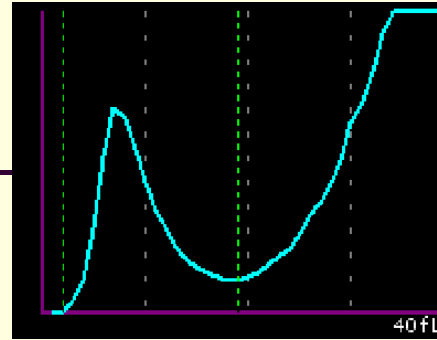
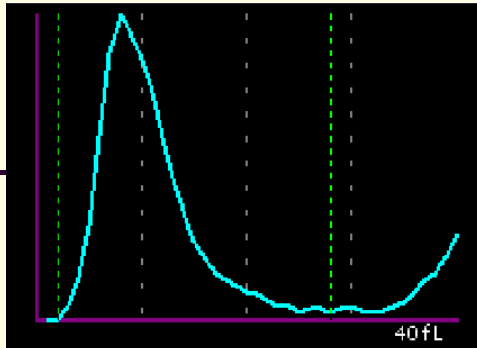


Plq impédance



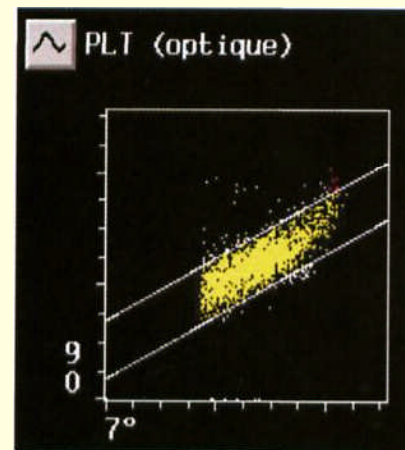
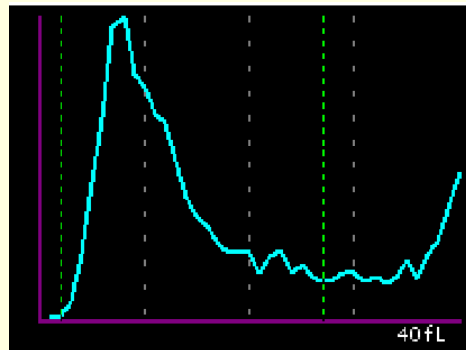
Plq optique

Exemples d'histogrammes plaquettaires



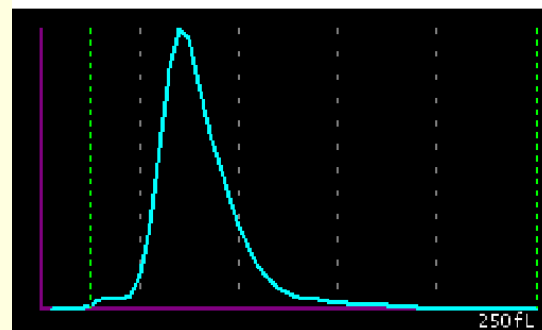
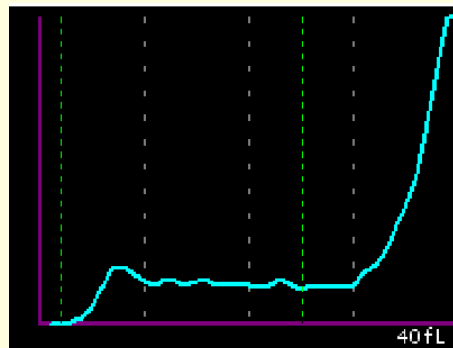
Correct :

=>décompte des plq exact
quelque soit la thrombopénie



Anormal (saccadé ans la pente descendante) :

=> préférer le décompte optique

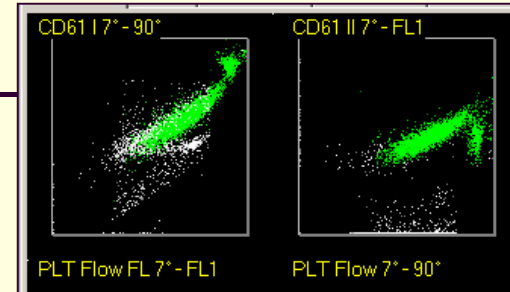


Faux : absence de vallée et petit décroché en amont sur graphe des GR :

=>décompte optique

=>voire CD61

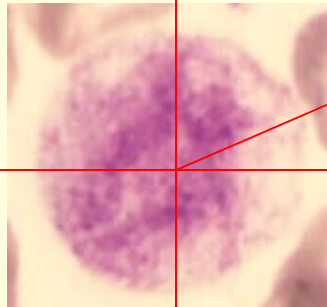
Numération plaquettaire : apport de l'anticorps monoclonal CD61(gpIIb/IIIa)



- Chaîne $\beta 3$ de la famille des intégrines
- Glycoprotéine transmembranaire, forme la molécule gpIIb/IIIa en association avec le CD41
- Rôle dans la liaison du fibrinogène, du facteur von Willebrand...
- Anticorps monoclonal marqué à l'isothiocyanate de fluorescéine (Clone RUU-PL 7F12 classe IgG1)
- Mesures à 7°, à 90° et de FL1 permettent une identification :
 - des petites et grandes plaquettes
 - Séparation des fragments cellulaires

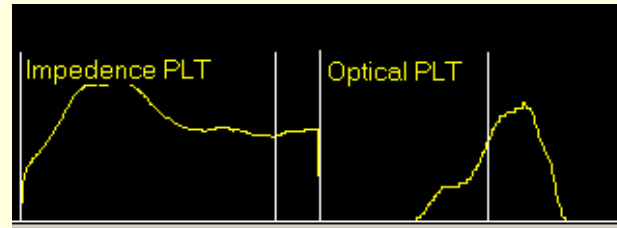
Apport de l'anticorps monoclonal CD61(gpIIIa)

90°:
granulosité



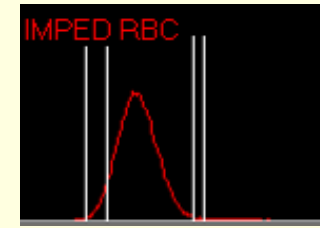
7°:taille

0°



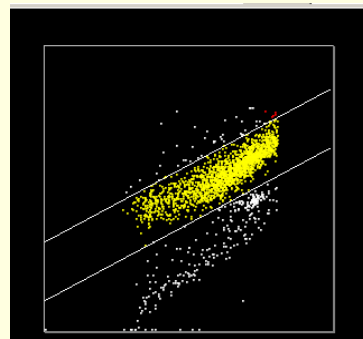
Plq impédance impédance

Plq optique



Erythrocytes

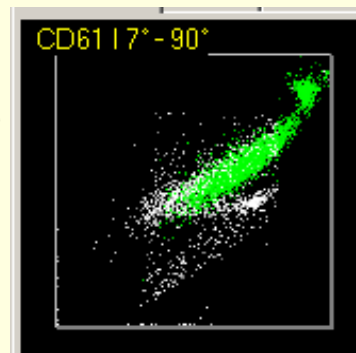
90°



7°

Plq optique

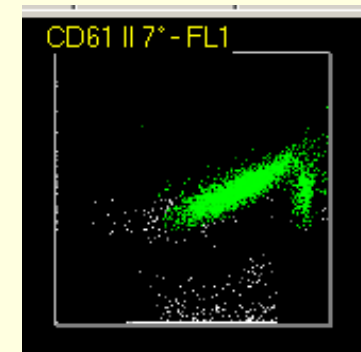
90°



7°

Plq marquage CD61 +

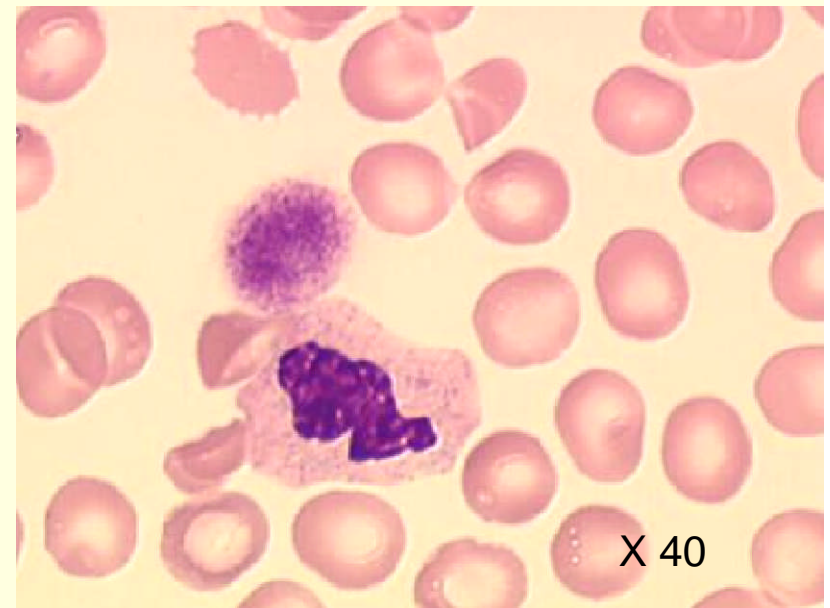
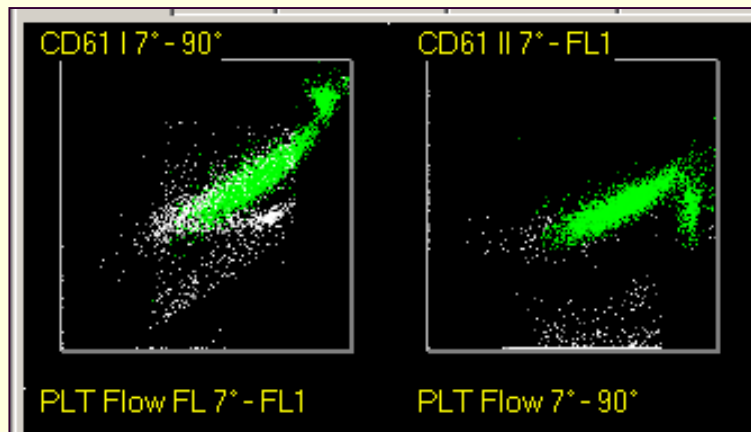
FL1



7°

Apport de l'anticorps monoclonal CD61(gpIIIa) :

- Plaquettes géantes (volume supérieur au seuil discriminant avec les GR) :
 - message d'alerte des automates variables : « agrégats plq », « grandes plq »
 - volume plaquettaire moyen élevé (25-30 fL)
 - plq optiques préférables,
 - CD61 méthode de choix
 - Frottis sanguin



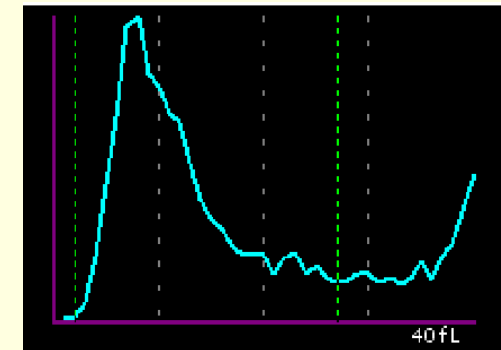
Vérifications de la réalité de la thrombopénie

- Les erreurs de laboratoire sont toujours possibles, très rares actuellement : triple contrôle (automate, technicien, biologiste)
- Le biologiste se doit de douter des résultats et de les confirmer
- Les causes préanalytiques sont les plus fréquentes :
 - Prélèvement partiellement coagulé
 - Prélèvement difficile, insuffisant
 - Ponction diluée (en aval d'une perfusion)
 - Echantillon sanguin trop âgé (>1-2 jours), température du laboratoire trop élevée

Réalité de la thrombopénie : agrégations plaquettaires messages d'alerte des automates d'Hématologie cellulaire

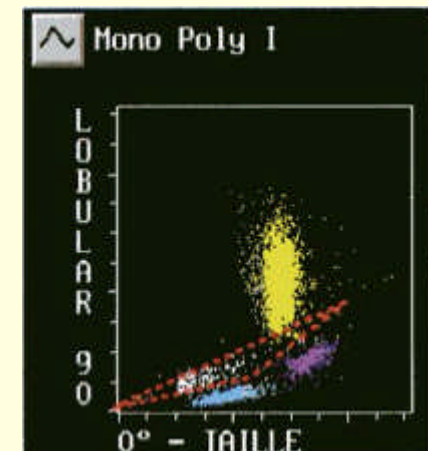
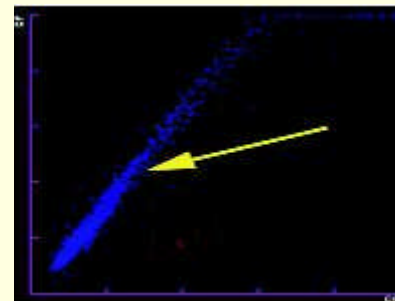
■ Agrégation modérée :

- Séparation plaquettes /GR difficile
- excès d'éléments de grande taille
- Messages d'alerte : grandes plq, plq géantes, suspicion agrégats plq



■ Agrégation importante :

- amas volumineux visibles
- Messages d'alertes clairs

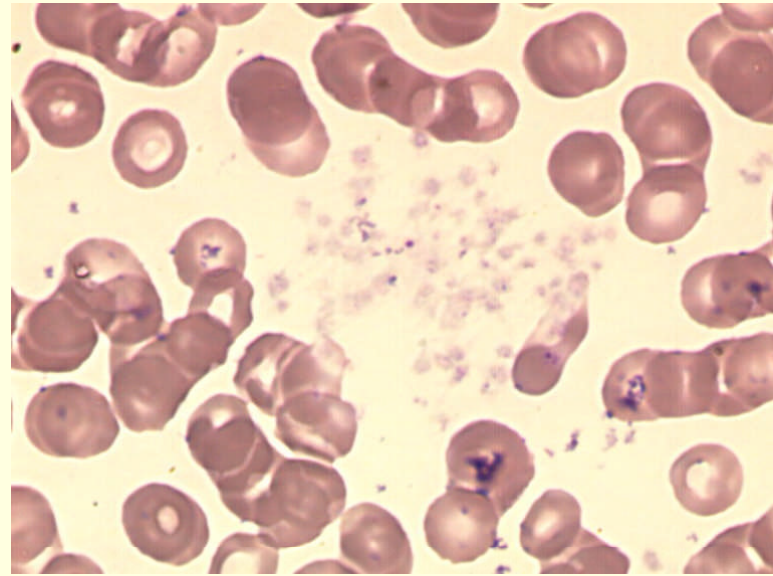
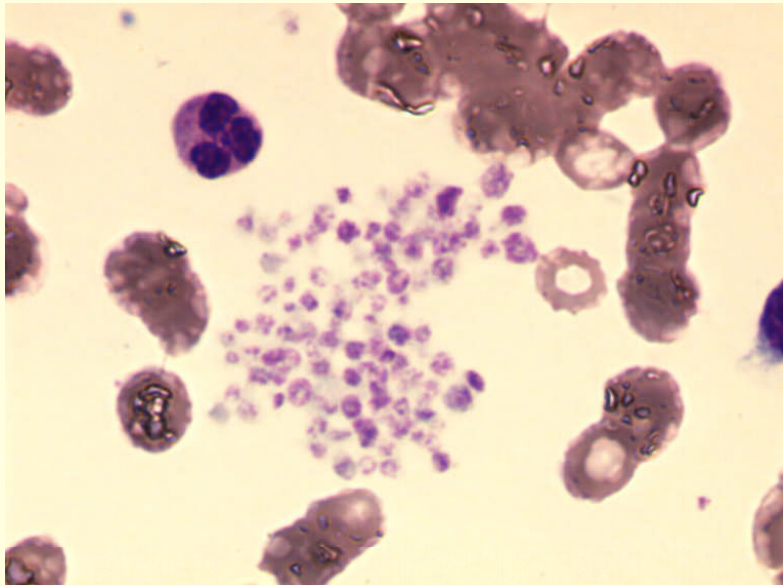


Réalité de la thrombopénie : agrégation plaquettaire induite in vitro en présence d'EDTA

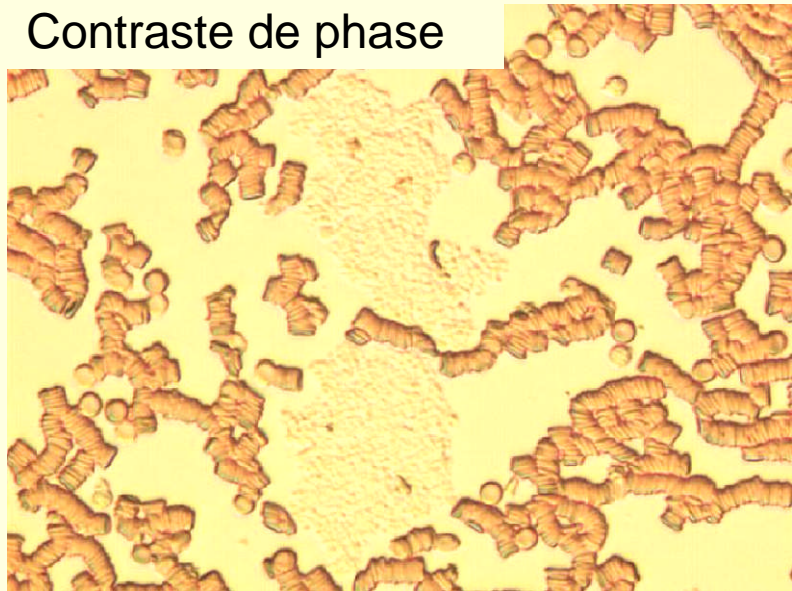
Situation préanalytique la plus fréquente :

- 0.1% de la population générale, 2% des patients hospitalisés
- Mécanisme : modification d'un site antigénique cryptique de la gpIIb/IIIa en présence d'EDTA entraîne une agrégation des plaquettes entre elles
 - Auto-anticorps naturels ou anticorps acquis
 - Parfois concomitant d'une pathologie (sepsis, pathologies auto-immunes..)
- Messages d'alerte : « agrégats plaquettaires? »
- Diagnostic : frottis sanguin coloré au MGG
- Contrôle de la thrombopénie sur tube citraté
- Prélèvement de sang capillaire en cas d'agrégats plaquettaires également sur citrate (système Unopette® ,Thrombo-TIC®...)

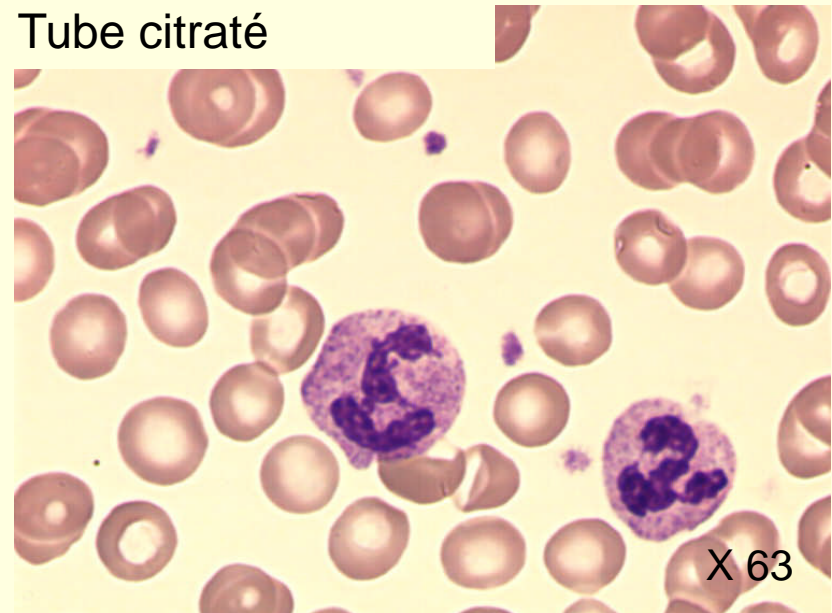
Agrégation plaquettaire induite in vitro en présence d'EDTA



Contraste de phase



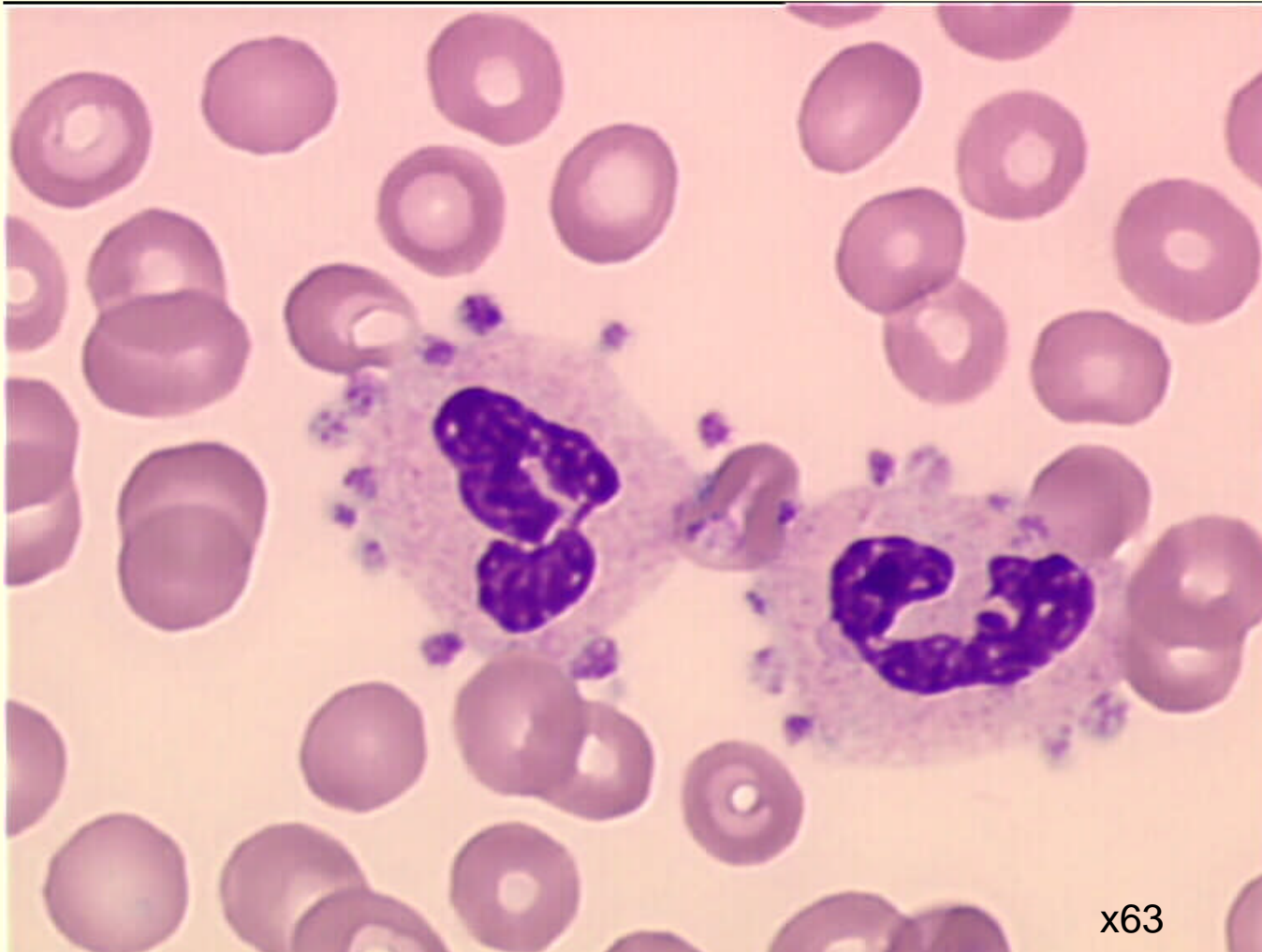
Tube citraté



Réalité de la thrombopénie : satellitisme plaquettaire autour des polynucléaires neutrophiles (PNN)

- Très rare (1/10.000 prélèvements)
- Adhésion des plq à la membrane des PNN en présence d'EDTA
- Mécanisme : AutoAc IgG dirigé contre un Ag cryptique commun à la gpIIb/IIIa et au CD16 (Fc γ RIII) des PNN démasqué par l'EDTA (Bizzaro N.Clin.Pathol.1995)
- Messages d'alerte variables : « agrégats plaquettaires? » « immature granuleux ? »
- Diagnostic : frottis sanguin coloré au MGG
- Contrôle de la thrombopénie sur tube citraté ou à 37°C

Satellitisme plaquettaire autour des PNN



Démarche étiologique devant une thrombopénie sévère :

Diminution de production

1-défaillance médullaire :

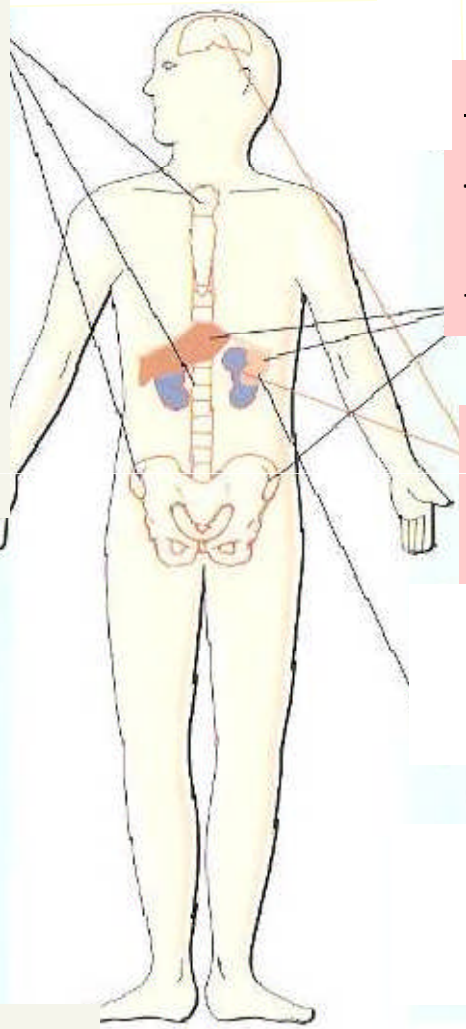
aplasie médullaire,
myélodysplasie,
myélofibrose
leucémie aiguë, infiltration
médullaire
-traitements cytotoxiques,
--médicaments
- syndrome d'activation
macrophagique

2-Diminution des mégacaryocytes :

-médicaments
-Infection congénitale
(CMV, rubéole)
- Absence congénitale de
mégacaryocytes

3- autres :

-anémie mégaloblastique
-HIV et autres infections virales



Augmentation de la destruction

1-Immunologiques :

- auto-immunes (PTI et
Thrombopénies immunes secondaires)
- non auto-immunes (médicaments, post
transfusionnelle)

2- Microangiopathies thrombotiques

-Purpura thrombotique
thrombocytopénique
-Syndrome hémolytique et urémique
-MAT secondaires (chimiothérapies
cancers, HTA malignes ,HELLP sd)

3- Modification de la répartition

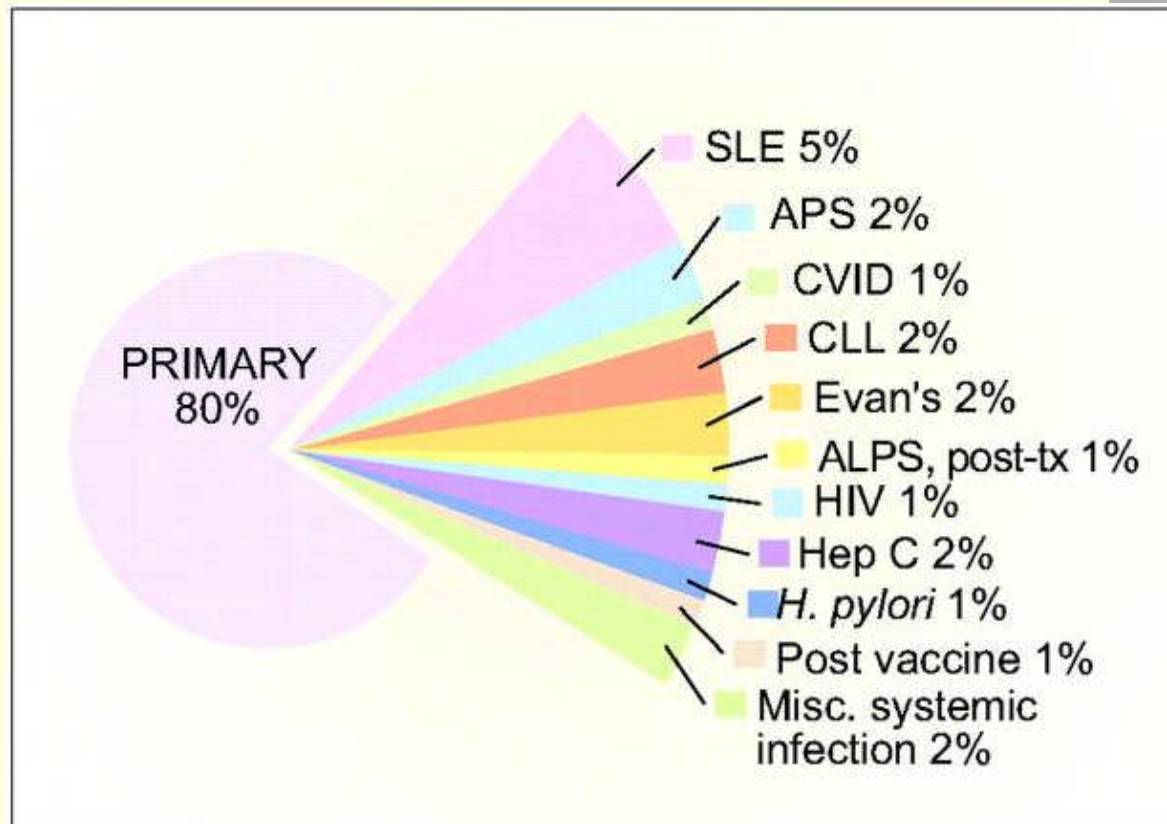
plaquettaire : splénomégalie,
transfusions massives, hémangiomes
4- consommation mécanique (CEC...)

5- Coagulation intravasculaire disséminée

Destruction immunologique des plaquettes : les thrombocytopénies immunes

- Les thrombocytopénies immunes sont caractérisées par une destruction immune des plaquettes et une atteinte de la thrombopoïèse qui favorisent les saignements
- Les recommandations internationales séparent les thrombopénies immunes :
 - primaire : diagnostic d'exclusion, en absence d'étiologie retrouvée
 - secondaire à une pathologie, un traitement (20% des cas)

Proportions estimées des différentes formes de thrombopénies immunes chez l'adulte



SLE, lupus érythémateux disséminé; APS, syndrome des antiphospholipides; CVID, déficit immunitaire commun variable ; CLL, leucémie lymphoïde chronique; Evan's anémie hémolytique+ thrombopénie auto-immune ; APLS, sd lymphoprolifératif auto-immun; post-tx, post-btransplantation médullaire ou d'organe

Thrombopénies immunes : le purpura thrombopénique immunologique (PTI)

- Incidence 1.6-3.9 pour 100.000 personnes /an
- Pathogénèse :
 - Autoanticorps dirigés contre les glycopt plq (gpIIb/IIIa>gpIbIX) entraînant une destruction cellulaire accélérée des plaquettes (quelques heures)
 - Suppression immune du développement des mégacaryocytes et des plaquettes (Cuker A. Hematology 2010)
- Le biologiste participe au diagnostic et au suivi

Recommandations actuelles pour l'évaluation initiale d'une thrombopénie immune de l'adulte

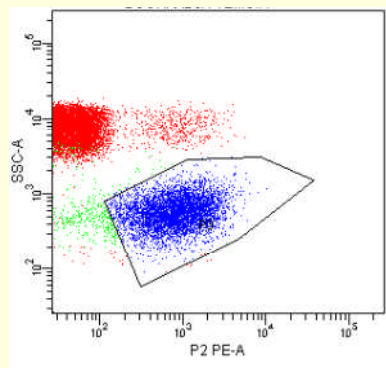
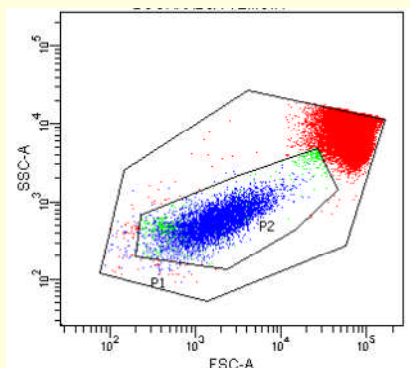
Evaluation de base	Utilité potentielle	Tests avec bénéfices non prouvés ou incertains
ATCD personnels/familiaux	Anticorps antinucléaires	Temps saignement
Examen clinique	Anticorps antiphospholipides	Plq réticulées
NFS réticulocytes	Anticorps antithyroïdiens	Plq associated IgG
Frottis sanguin	Fonction thyroïdienne	Durée vie plq
Dosage quantitatif des Ig	Anticorps antiglycoprotéines plq	Thrombopoïétine
Myélogramme *		Dosage du complément
Groupe Rh	PCR parvovirus et CMV	
Coombs		
HIV , HCV	Test de grossesse	
H.Pylori		

* Patients >60ans , symptômes systémiques, signes cliniques suspects, avant splénectomie.

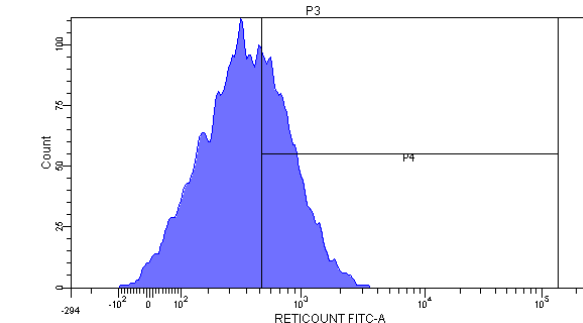
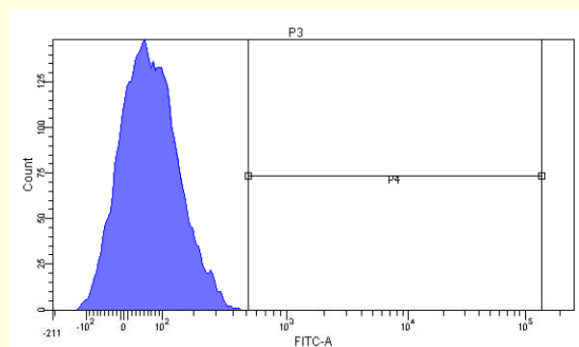
Numération des plq réticulées : une aide au diagnostic de thrombopénie périphérique

- NFS résultat immédiat du volume plq moyen (VMP)
 - Valeurs usuelles : 7-10 fL
 - Grandes plq (immatures ?) >11 fL
- Plq réticulées sont l'équivalent des réticulocytes pour les hématies et peuvent être un reflet de la thrombopoïèse
- Les valeurs usuelles sont technique-dépendantes :
 - Ex : 1.2 à 6.1% de l'ensemble des plq (*Briggs et al, BJH 2004*)
- Intérêt diagnostique lorsqu'elles sont augmentées :
 - orientation vers une thrombopénie périphérique
 - prédictif de la remontée des plaquettes après chimiothérapie

Les plaquettes réticulées par cytométrie en flux (CMF): une technique simple mais non standardisée



Marquage gpIIb/IIIa CD61 PE
Rétic-COUNT® (thiazole orange)



Population	#Events	%Parent
All Events	31,089	###
P1	31,089	100.0
P2	5,878	18.9
P3	5,114	16.4
P4	6	0.1

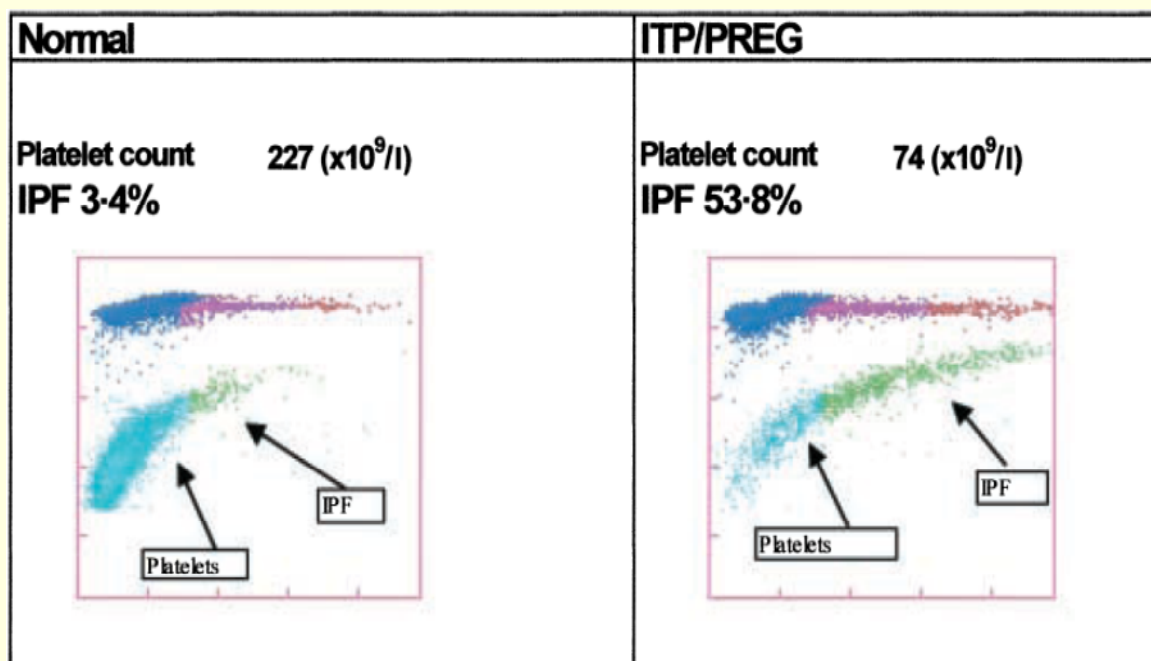
Population	#Events	%Parent
All Events	40,272	###
P1	40,272	100.0
P2	8,554	21.2
P3	5,107	13.6
P4	1,974	35.9

Tube 1 : contrôle (autofluorescence)

Tube 2 : 36% de plq réticulées

Mesure des plaquettes réticulées avec les automates d'hématologie cellulaire

- Sapphire (Abbott®): dérivé du thiazole orange
- Sysmex XE-2100 (Roche®): colorant fluorescent (polyméthine et oxazine) se fixant à l'ARN

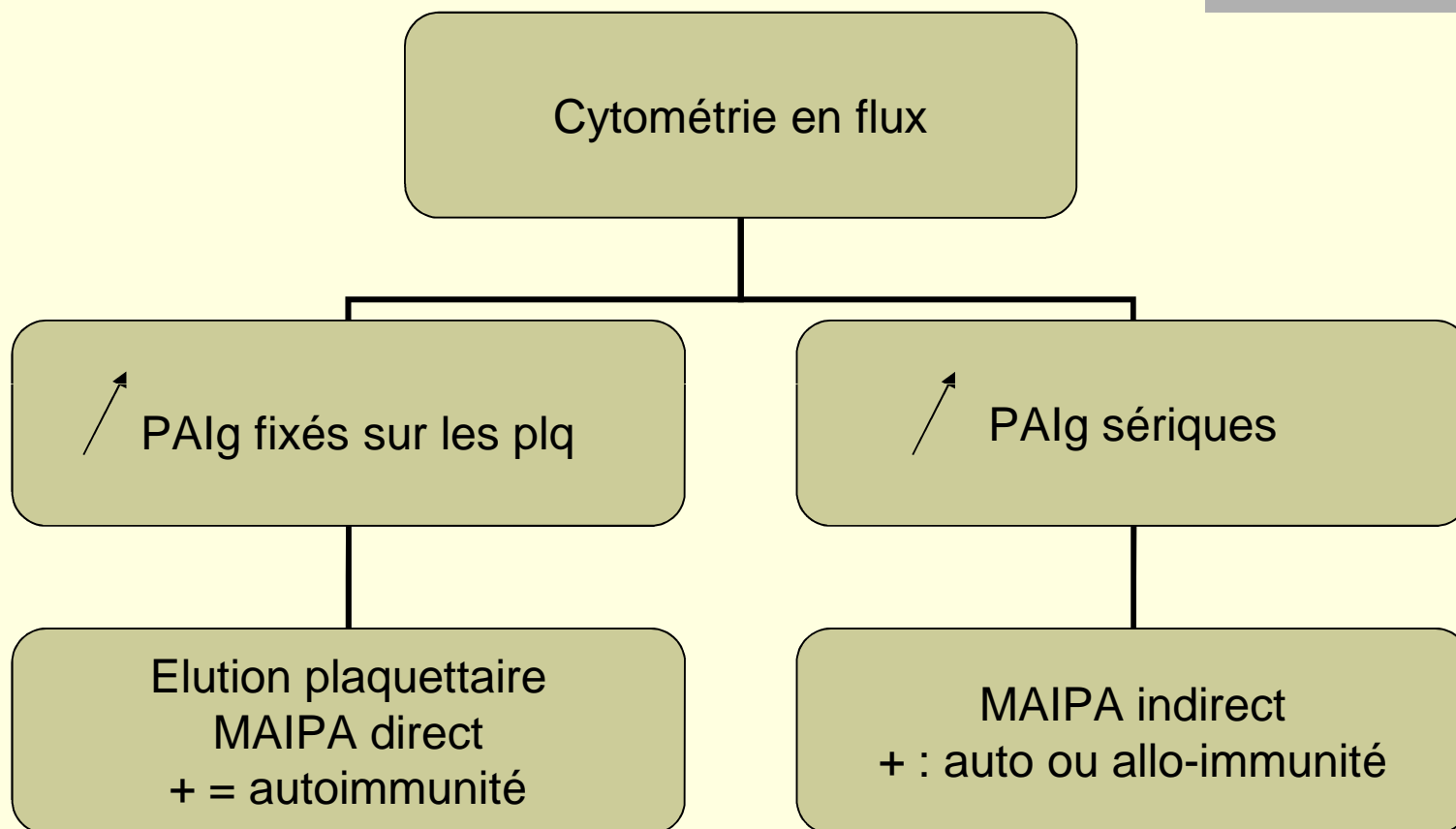


Scattergrammes des plaquettes optiques chez 2 patients
IPF : index de plq fluorescentes

La recherche des anticorps antiplq peut être une aide au diagnostic de thrombopénie immune

- Test de dépistage : détection par cytométrie en flux d'une augmentation des Ac antiplq à la surface de plq témoin (Ac sériques) et des plq du patient (Ac fixés) (Bodensteiner MD, 1986)
- Distinction thrombopénies immunes- non immunologiques
 - 90% des cas de thrombocytopénies immunes
 - 10% de faux positifs (sepsis)
 - Faux négatifs difficile à quantifier (surtout PTI chroniques)
- Augmentation de la sensibilité par l'étude simultanée :
 - Des plq et du sérum du patient
 - Des IgM et des IgG
- Confirmation par MAIPA (monoclonal antibody specific immobilization of platelet antigen)

La recherche des anticorps antiplaquettes peut être une aide au diagnostic de thrombopénie immune



PAIg : Immunoglobulines associées aux plq

MAIPA : monoclonal antibody specific immobilization of platelet antigen

Thrombopénies médicamenteuses

■ Toxique

- Mécanisme central
- Peut toucher tous les sujets exposés
- Dépend de la dose administrée et des modalités d'administration
- Apparaît le plus souvent de façon progressive et récupère lentement

***Antimitotiques,
antiviraux, thiazidiques***

■ Immunoallergique sont les plus fréquentes

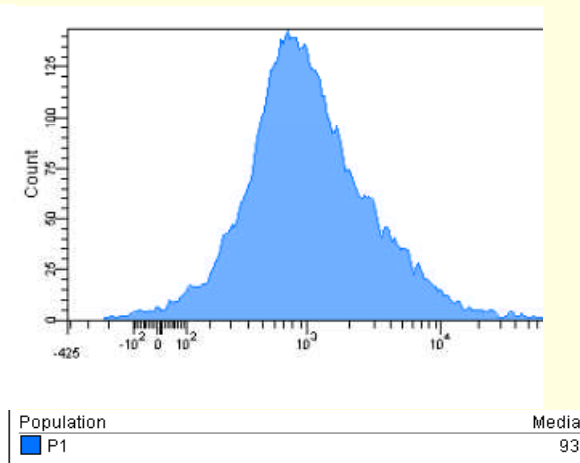
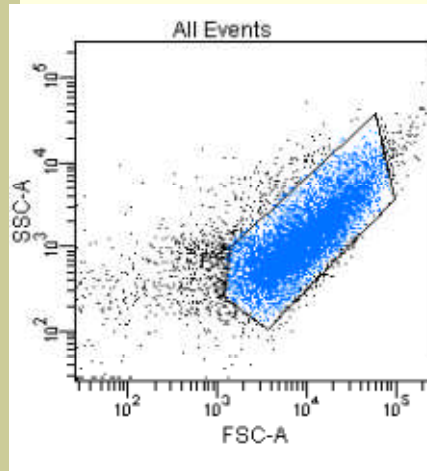
- Mécanisme périphérique
- Touche des sujets préalablement sensibilisés (prise intermittentes)
- Indépendante de la dose administrée
- Apparaît de façon brutale (délai moyen = 10 jours)
- Saignements majeurs possibles
- Récupère dans des délais variables (5 à 10 jours après suppression de la molécule)

Destruction immunologique des plq dues aux médicaments : intérêt de la recherche d'Ac sériques antiplq en présence de médicament

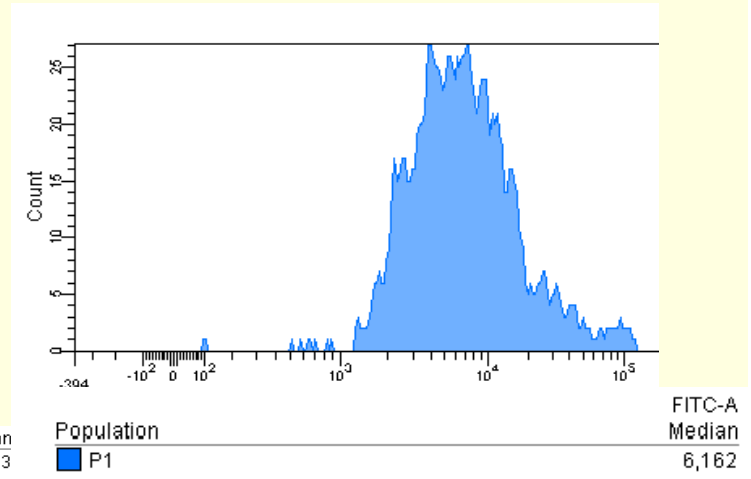
- pas de diagnostic biologique fiable
- Étude du sérum du patient (P) avec des plq normales de groupe O en présence ou non du médicament incriminé.
- La réaction Ag-Ac est détectée par cytométrie en flux
- Expression des résultats en ratio de fluorescence (RFI) :
 - $RFI = \frac{MFI \text{ sérum } P + plq \text{ T} + \text{médicament}}{MFI \text{ sérum } T + plq \text{ T} + \text{médicament}}$: positif si >2
 - Négativité du sérum P par rapport aux plq T en absence de médicament

MFI : médiane de fluorescence canal par rapport auquel on a 50% de fluorescence à droite et à gauche

Exemple cas de paludisme chez une femme enceinte avec une thrombopénie sévère ne remontant pas sous quinine IV



PlqT + sérum T + médicT



Plq T + sérum P+ médicT

Expression des résultats en ratio de fluorescence (RFI)

- ici $RFI = 6162/933 = 6 \gg 2$
- Présence d'anticorps sériques qui se fixent sur des plaquettes témoins uniquement en présence de quinimax en faveur d'une responsabilité du médicament dans la thrombopénie

Thrombopénie immunes iatrogènes

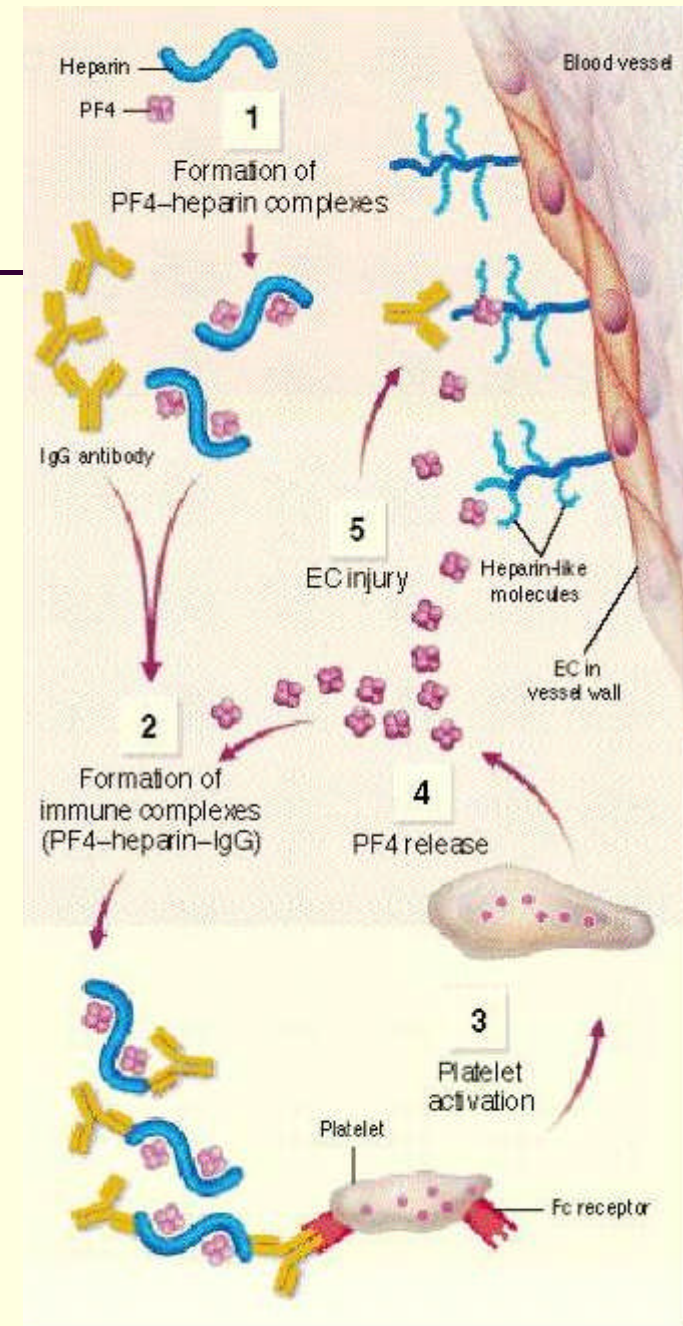
cardiologie	Hépto-gastro-entérologie	infectiologie	neurologie	rhumatologie
<ul style="list-style-type: none">• Quinidine, Quinine• Digoxine• Ticlopidine• Hydrochlorothiazid• Antagonistes des récepteurs gpIIb/IIIa• Héparine (TIH)	<ul style="list-style-type: none">• Cimetidine• Omeprazole	<ul style="list-style-type: none">• QuinineCephalosporines• Cefalotine• Sulfamides• Trimethoprime-Sulfamethroazole• Rifampicine• Vancomycine• Pentamidine	<ul style="list-style-type: none">• Ac Valproïque• Diphenylhydantoin• Carbamazepine• Clonazepam	<ul style="list-style-type: none">• Sels d'or• Phenylbutazone

Thrombopénies immunologiques induites par l'héparine (TIH type II)

- Cause fréquente de thrombopénie sévère chez le patient hospitalisé :
 - Plus fréquent en milieu chirurgical (3%), qu'en milieu médical (1%)
 - 0.2 -0.5% des patients traités
 - Moins souvent avec HBPM (0.1%) qu'avec HNF
 - Fatale si le diagnostic n'est pas effectué rapidement
- Diagnostic :
 - Parfois difficile, le clinicien est aidé par le score « des 4 T »
 - Détection d'anticorps anti complexe PF4/héparine : dépistage rapide sur gel (Diamed) avec un contrôle par ELISA
 - Tests fonctionnels de confirmation : agrégation plq en présence d'héparine , libération de sérotonine marquée

Mécanisme physiopathologique de la thrombopénie induite par l'héparine

- 1- plq activées à l'état basal libèrent du facteur 4 plaquettaire (PF4)
formation de complexes héparine – PF4
- 2- reconnaissance de ce complexe par des auto-anticorps de type IgG
- 3- fixation du complexe à la surface des plq et activation plaquettaire (récepteur Fc γ IIa)
- 4- libération de particules pro-coagulantes responsables de thromboses et de PF4 amplifiant le phénomène
- 5- altération et activation de l'endothélium vasculaire participant au mécanisme de thromboses



Le pré-test de probabilité de TIH : la règle des 4 T

Score	2	1	0
Thrombopénie	Chute > 50% Nadir 20-100 G/L	Chute de 30-50% Nadir 10-19 G/L	Chute < 30% Nadir < 10 G/L
Time = Délai	Entre 5-10 jours Dès J1 si exposition préalable <100j	Compatible mais pas clair, données absentes Après J10	Immédiat
Thrombose	Thrombose de novo Nécrose cutanée Réaction aiguë au bolus	Extension de thrombose ou Thrombose suspectée, non prouvée. Lésions cutanées	Aucune
Autre cause de thrombopénie	Aucune autre cause évidente	Autre cause possible	Autre cause présente
Pretest de probabilité 6-8 = élevé ; 4-5= intermédiaire ; 0-3 = bas			

Thrombopénies aiguës causée par les inhibiteurs des glycoprotéines plaquettaires IIb-IIIa

- Agent antithrombotique inhibant l'étape finale de l'agrégation plaquettaire en bloquant la liaison de la gpIIb/IIIa au fibrinogène
- 0.1-2% des patients ont une thrombopénie sévère dès la 1^o exposition : nadir entre 2 et 31h (parfois plus tardive)
- 12% ont une thrombopénie après une seconde exposition à l'abciximab (Réopro[®])
- Mécanisme immunologique non connu :
 - Ac naturels reconnaissant les épitopes murins de l'abciximab
 - Ac reconnaissant les changements structuraux de la gpIIb/IIIa causés par la liaison avec la drogue
- Thrombopénie
 - Sévère : <100 G/l (<50 dans 25 % des cas), plus sévères si réadministration (<20 dans 9 % cas).
 - Touche 3 à 4 % des patients sous Réopro[®] (abciximab), plus rare sous Agrastat[®] (tirofiban) et Intégrilin[®] (eptifibatide)
- Complications hémorragiques exceptionnelles

Thrombopénie allo-immune (purpura post transfusionnel)

- Terrain : femme d'âge moyen (rares cas décrits chez des hommes ou des sujets jeunes)
- Antécédents :
 - immunisation ancienne : grossesses , autres transfusions (3 -30 ans de latence entre la première phase d'immunisation et l'accident)
 - épisode transfusionnel 5 à 10 jours avant l'apparition du purpura, parfois mal toléré (fièvre, frissons).
- Transfusions incriminées : sang total, culots globulaires non déplaquettés, plasma.
- Cliniquement : Purpura gravissime avec risque vital majeur
- Mécanisme : alloimmunisation antiplaquettaire : le sérum du patient contient un alloAnticorps dirigé contre un Antigène spécifique des plq (groupe HPA Human Platelet Antigen)
 - Diagnostic biologique : centres de référence

Thrombopénies périphériques : modification de la répartition plaquettaire

- Thrombopénies post transfusion massives, hémodilution :
 - Déperditions sanguines massives, des circulations extracorporelles, perfusion de solutés et transfusions de concentrés érythrocytaires (plus de 10 unités en 24h)
 - NFS : thrombopénie d'intensité variable

- Séquestration splénique :
 - 30% masse plq est séquestrée dans la rate à l'état normal et jusqu'à 50-90% en cas de splénomégalie.
 - Diagnostic clinico-biologique :
 - NFS thrombopénie +/- anémie, neutropénie
 - Hémostase : si normale, pas de risque hémorragique

Coagulation intra-vasculaire disséminée

- Syndrome acquis caractérisé par l'activation intra-vasculaire et non focalisée de la coagulation et répondant à des causes diverses.
- La thrombopénie est souvent un signe révélateur qui doit inciter le biologiste à rechercher cette activation de la coagulation:
- critères biologiques classiques:
 - élévation des D-dimères
 - baisse du TP
 - chute du fibrinogène (Fg)
 - chute de tous les co-facteurs dont le facteur V
 - présence de complexes solubles

Critères diagnostiques biologiques de CIVD (conférence de consensus de la Société de Réanimation de Langue Française, 2003)

Critères de consommation chez l'adulte :

- **D-dimères augmentés** ($> 500 \mu\text{g/L}$) et:
 - un critère majeur ou
 - deux critères mineurs de consommation.

paramètres	majeur	mineur
numération plq (G/L)	< 50	50 - 100
TP (%)	< 50	50 -65
Fg (g/L)		< 1

Causes et conséquences des CIVD

causes

1- Infections : Méningite, septicémie, paludisme sévère

2- Tumoral : carcinome disséminé, LAM3

3- Obstétrique : avortement septique, rétention utérine, embolie amniotique

4- Autres : hépatite fulminante; traumatisme, brûlures, choc anaphylactique

conséquences

Saignements/Thromboses

1- Syndrome de détresse respiratoire

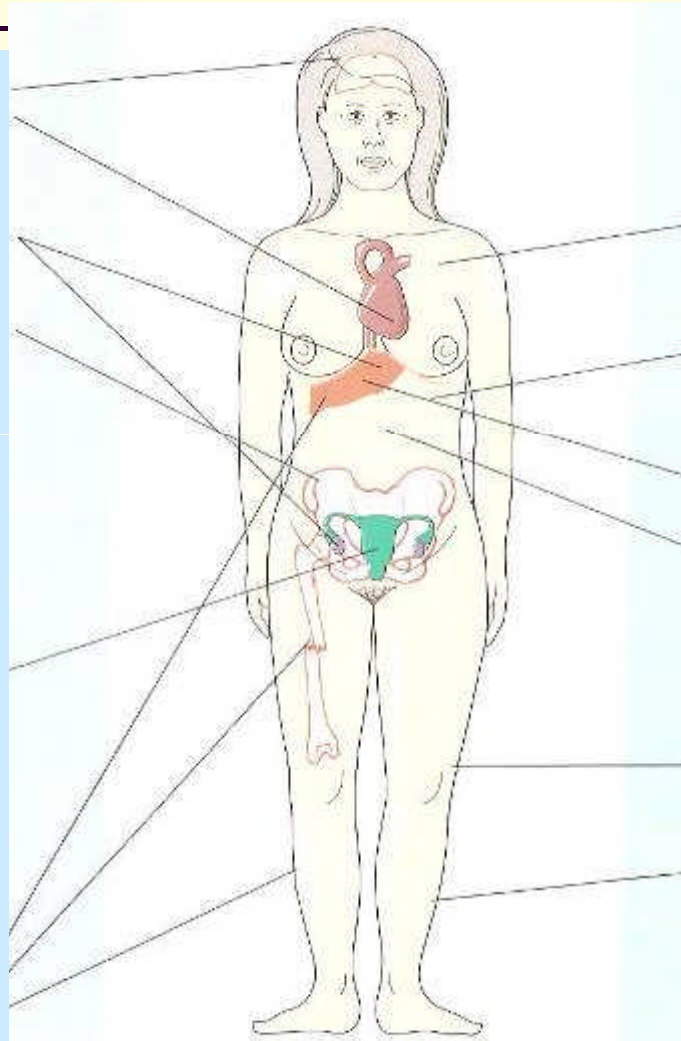
2- Défaillance rénale, nécrose des surrénales

3- Défaillance hépatique

4- Hémorragies viscérales

5- Ecchymoses cutanées purpura

6- Thromboembolies



D'après Hoffbrand V . Haematology at a glance 2009

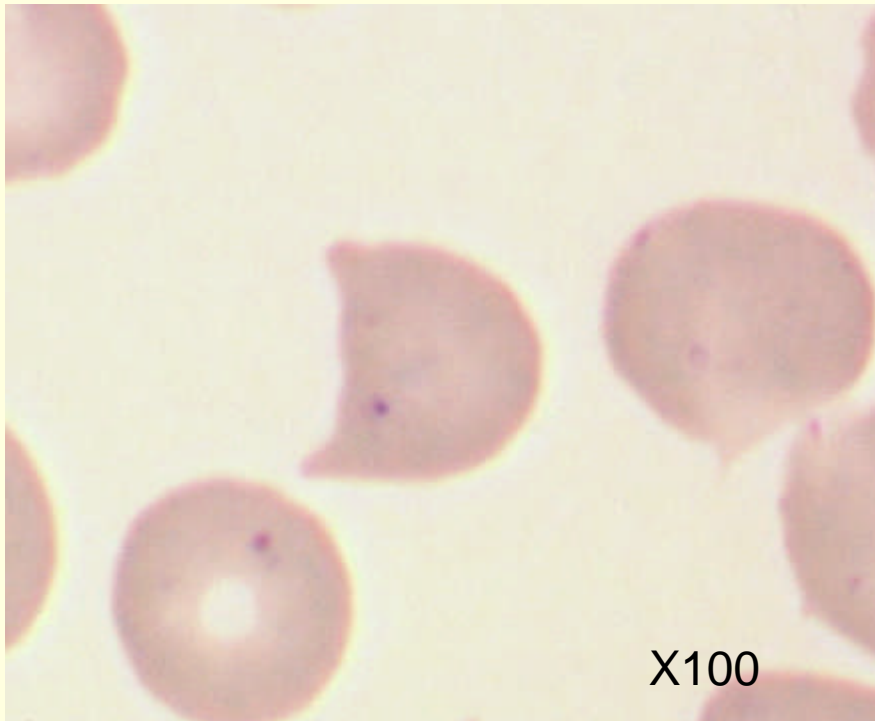
Micro-angiopathies thrombotiques

- Trois formes clinico-biologiques principales :
 - Purpura thrombotique thrombocytopénique
 - Syndrome hémolytique et urémique
 - MAT secondaires

- Leur mécanisme est commun avec :
 - une dysfonction endothéliale
 - aboutissant à la thrombose des petits vaisseaux
 - avec thrombopénie de consommation
 - avec **hémolyse mécanique** et présence de schizocytes

- Tableau **gravissime** engageant le pronostic vital

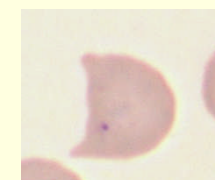
Micro-angiopathies thrombotiques : importance du diagnostic biologique



Schizocytes : frottis sanguin coloré au MGG et en microscopie électronique

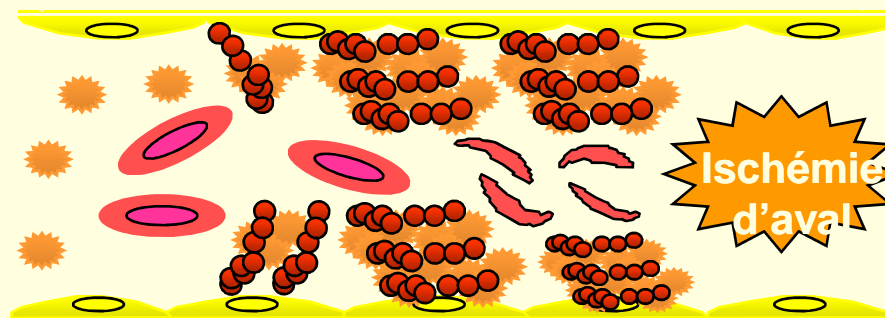
Purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) ou syndrome de Moschcowitz

- Incidence # 4 cas/million d'habitants/an
- 3 femmes / 2 hommes, entre 30 et 40 ans
- Clinique :
 - Début brutal
 - Fièvre, atteinte neurologique, atteinte rénale
 - Manifestations auto-immunes associées
- Biologie :
 - Anémie hémolytique, thrombopénie
 - Insuffisance rénale aiguë



Purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) ou syndrome de Moschcowitz

- Biologie :
 - Anémie hémolytique, thrombopénie
 - Insuffisance rénale aiguë
- Déficit en **ADAMST-13**: métallo-protéinase clivant les multimères de haut poids moléculaire de facteur von Willebrand
- Deux formes:
 - Acquis : présence d'une **IgG** inhibant ADAMST-13 , association à des pathologies auto-immunes
 - Héritaire (exceptionnelle) : mutation du gène codant pour ADAMST-13, autosomique récessive, ADAMST-13 < 5%

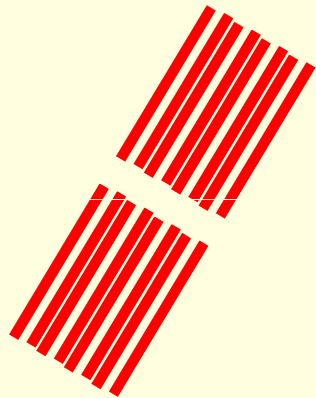


Facteur Willebrand et PTT

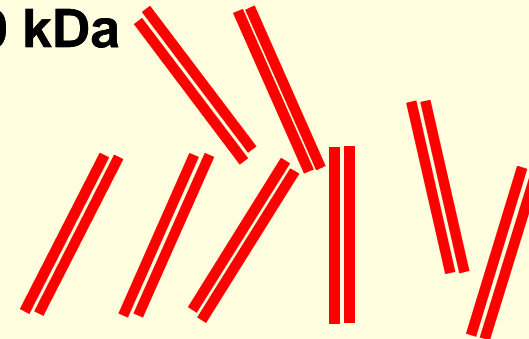
Furlan et al., Blood, 1996
Tsai et al., Blood, 1996

500 à 20000 kDa

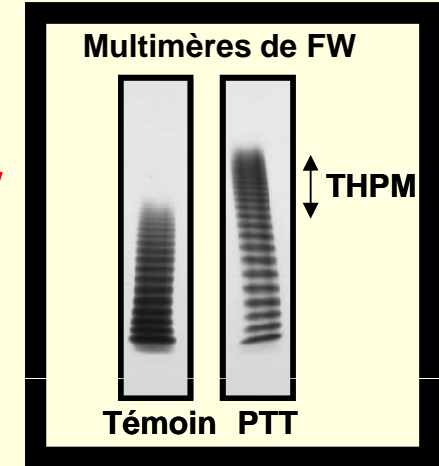
500 kDa



ADAMTS
13
Normal



FW de BPM



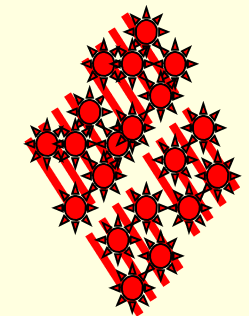
PTT
?

FW de THPM

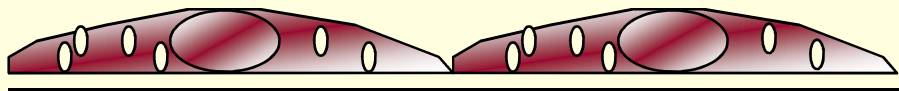
ADAMTS
13



FW de THPM



Hyperagrégabilité
plaquettaire



Moake et al., N Engl J Med, 1982 - J Clin Invest, 1986

Syndrome hémolytique et urémique (SHU)

- Deux formes cliniques
 - SHU typique : épidémique, le plus souvent pédiatrique
 - SHU atypique sporadique : le plus souvent chez l'adulte
- Clinique:
 - Atteinte rénale prépondérante
 - Gastro-entérite avec diarrhée sanglante (forme épidémique)
 - manifestations neurologiques possibles
- Biologie : anémie hémolytique mécanique avec schizocytes, thrombopénie, insuffisance rénale prédominante

Syndrome hémolytique et urémique

SHU post-diarrhéique
= épidémique

(enfant: > 90% des cas)

- Escherichia coli
- Souche O157:H7 +++

SHU sans diarrhée
= atypique

● **Adulte**

● **Enfant**

Pathologies associées: (< 10% des cas)

Infection VIH

Cancer

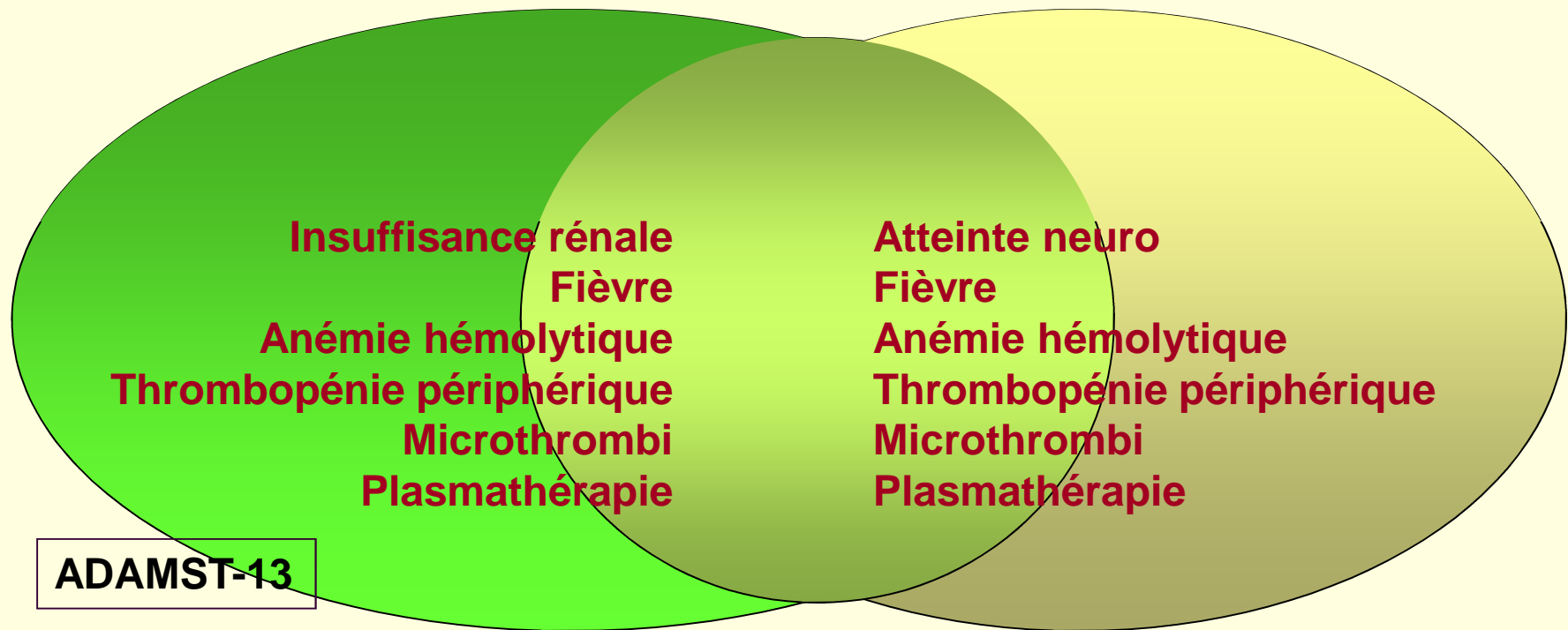
Lupus érythémateux

Médicaments

Greffe...

Idiopathique

Micro-angiopathies thrombotiques :PTT et SHU: même entité à expression clinique variable ?



Circonstance multifactorielle de thrombopénies à l'hôpital : le sepsis grave

- Thrombopénie = signe précoce d'infection
- Plusieurs mécanismes :
 - CIVD
 - Destruction immunologique
 - Action directe des bactéries ou des toxines sur les plaquettes ⇒ agrégation
 - Syndrome d'Activation Macrophagique (SAM) : fréquent si sepsis associé à une défaillance multiviscérale.
- La thrombopénie est aussi un signe précoce en faveur d'un paludisme :
- Elle est également multifactorielle : hypersplénisme, immunologique, SAM, CIVD rare mais non exceptionnelle

Le biologiste a un rôle diagnostique et de suivi primordial

Cas particulier de la femme enceinte

- Thrombopénie gestationnelle retrouvée chez 5% des femmes enceintes toujours modérée $>100\text{G/L}$
 - régresse après l'accouchement
 - remise en question quand $\text{plq} < 70\text{G/L}$
- PTI : incidence 1/1000 ($<5\%$ des thrombopénies de la grossesse)
 - Diagnostic d'exclusion
- Syndromes vasculo-rénaux :
 - Prééclampsie : HTA et protéinurie
 - HELLP syndrome (hemolysis elevated liver function tests and low platelets)
 - Microangiopathie thrombotique (PTT)

Syndromes vasculo-rénaux

2- Prééclampsie et HELLP syndrome

■ Prééclampsie :

- 1° cause de mortalité associée à la grossesse
- Facteurs de risque : primipare (6% des 1° grossesses), âge <20ans ou >30ans, indice de masse corporel élevé, insulino-résistance, HTA
- Critères diagnostiques sont essentiellement cliniques :
 - Cliniques : HTA avec TA >140mmHg systolique, >95mmHg diastolique après 20 SA,
 - Biologiques : protéinurie >0.3g/24h, thrombopénie dans 50% des cas : peut être inaugurale et sa profondeur est un indicateur de gravité

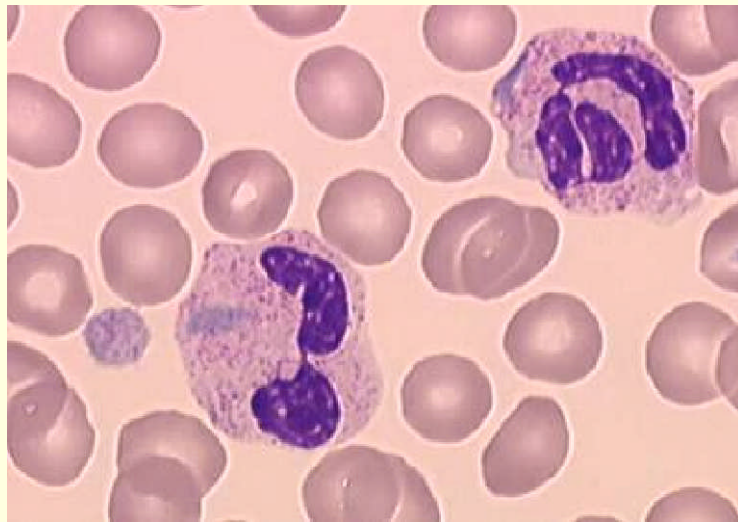
HELLP Syndrome (hemolysis elevated liver function tests and low platelets)

- Incidence : 0.5 à 0.9% des grossesses et 10% des patientes ayant une prééclampsie
- Facteurs de risques : ATCD prééclampsie, HELLP
- Critères diagnostiques sont biologiques :
 - anémie hémolytique avec microangiopathie
 - LDH >600 U/mL
 - ASAT >40-70 U/mL
 - Thrombopénie <100 G/L
 - Protéinurie (75% cas),
- Clinique peu spécifique :
 - 70% diagnostic avant terme, 30% après la délivrance
 - douleurs abdominales, malaises, HTA 50-60% des cas

Les thrombopénies centrales constitutionnelles

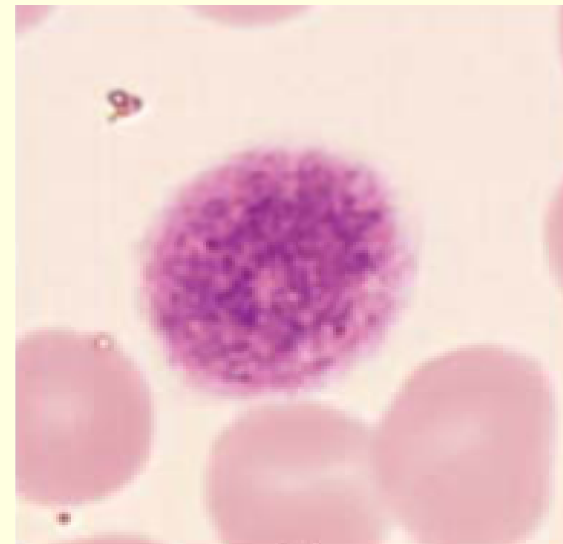
- Elles sont rares et de révélation précoce. L'histoire familiale a valeur d'orientation, parfois dans un contexte polymalformatif ou un déficit immunitaire
(Nurden P. Thromb.Haemost 2008)
- Le biologiste peut orienter le diagnostic grâce à des anomalies cytologiques spécifiques

Les thrombopénies centrales constitutionnelles



Anomalie de May-Hegglin:

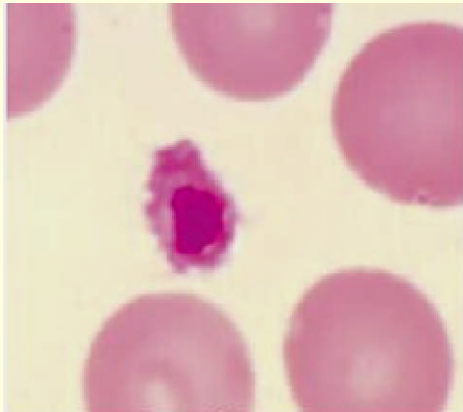
- macroplaquettes
- corps de Döhle dans les PNN



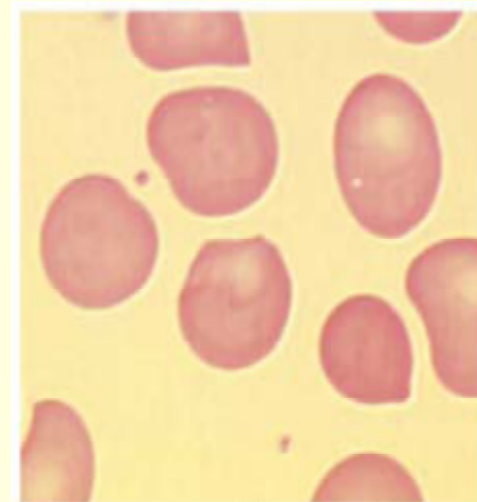
Dystrophie hémorragipare de Bernard et Soulier:

- macroplaquettes
- déficit en GPIb-IX

Les thrombopénies centrales constitutionnelles



Thrombopénie de Paris-Trousseau:
- granule alpha géant au sein de la plaquette
- associée à un syndrome polymalformatif



Syndrome de Wiskott-Aldrich:
- plaquettes de très petite taille
- associé à un déficit immunitaire et un eczéma

Thrombopénies centrales dans le cadre d'hémopathies

- Thrombopénie en général non isolée:

- +/- Anémie arégénérative

- +/- Neutropénie

- +/- Cellules anormales circulantes

- Causes:

- Aplasie médullaire

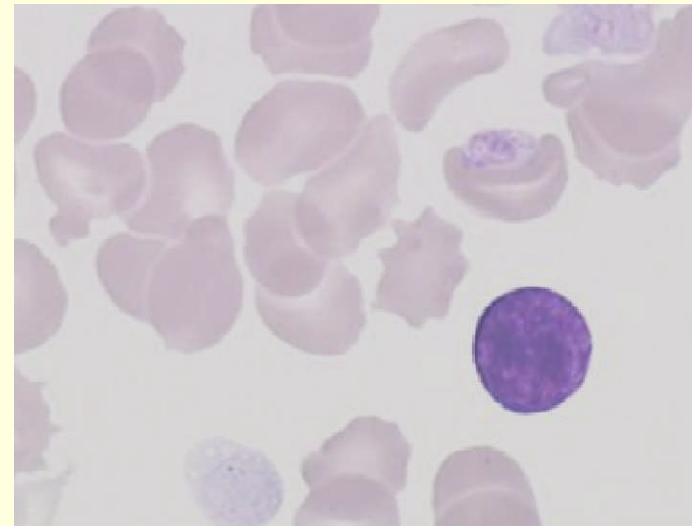
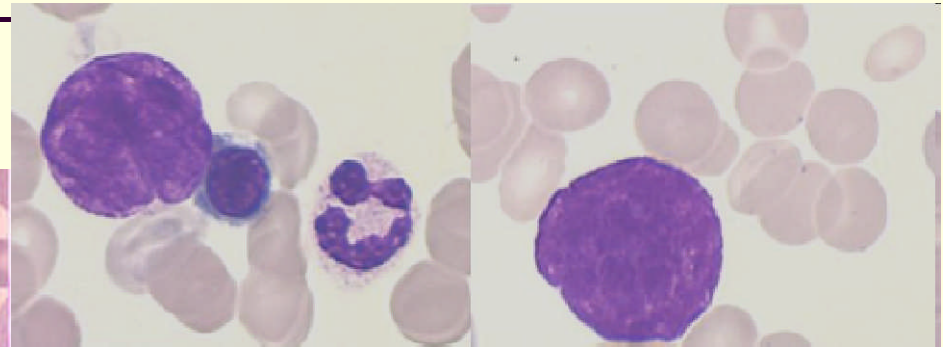
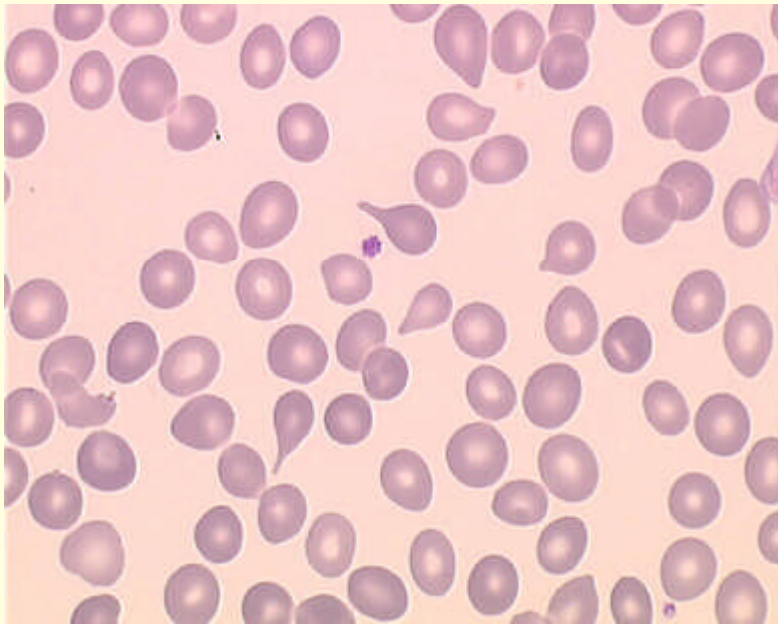
- Myélofibrose: présence de dacryocytes, de micromégacaryocytes

- Hémoglobinurie Paroxystique Nocturne

- Myélodysplasies: anomalies morphologiques sur le frottis

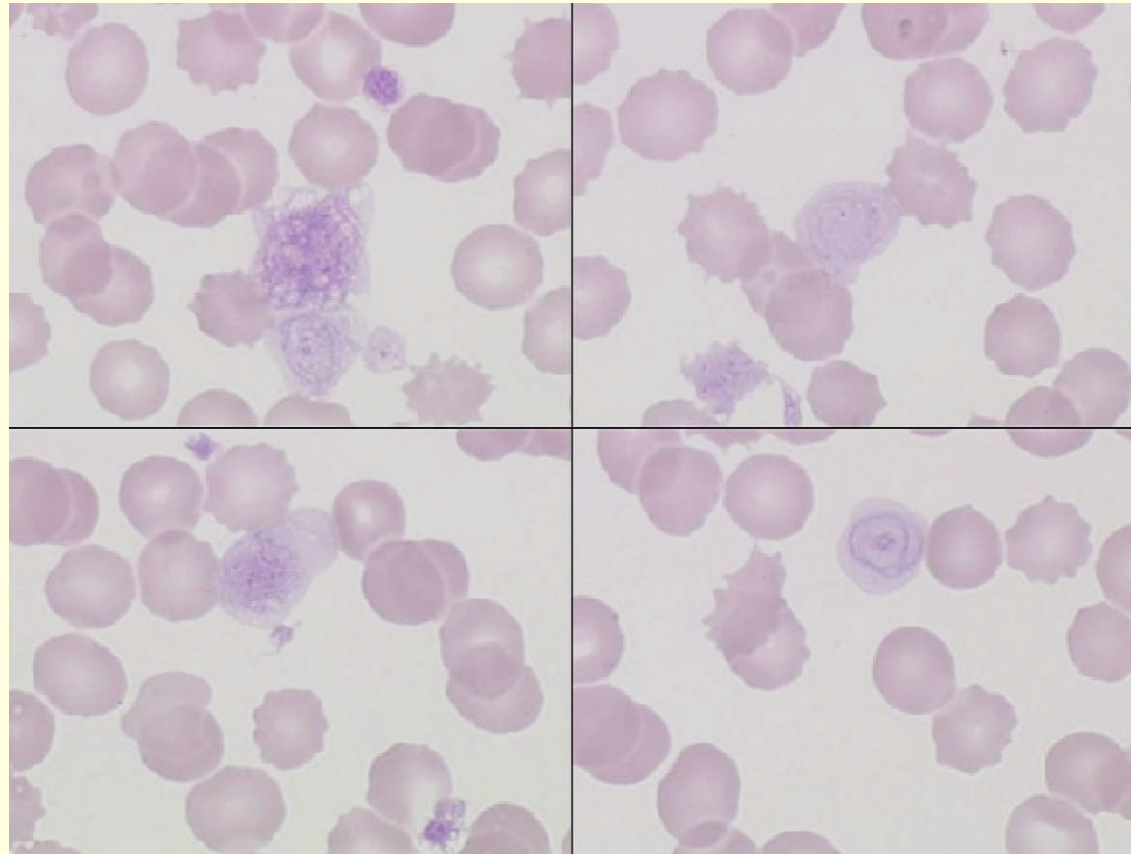
- Infiltrations médullaires : leucémies aiguës, myélome, syndromes lymphoprolifératifs, métastases médullaires...

Thrombopénies dans le cadre d'hémopathies



Dacryocytes et micromégacaryocytes circulants dans le cadre d'une myélofibrose

Thrombopénies dans le cadre d'hémopathies



Dysplasie plaquettaire et poïkilocytose
dans le cadre d'une myélodysplasie

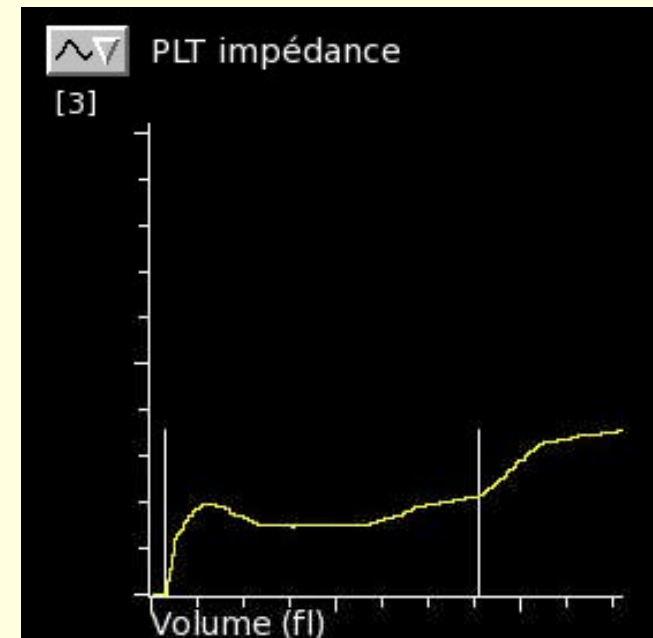
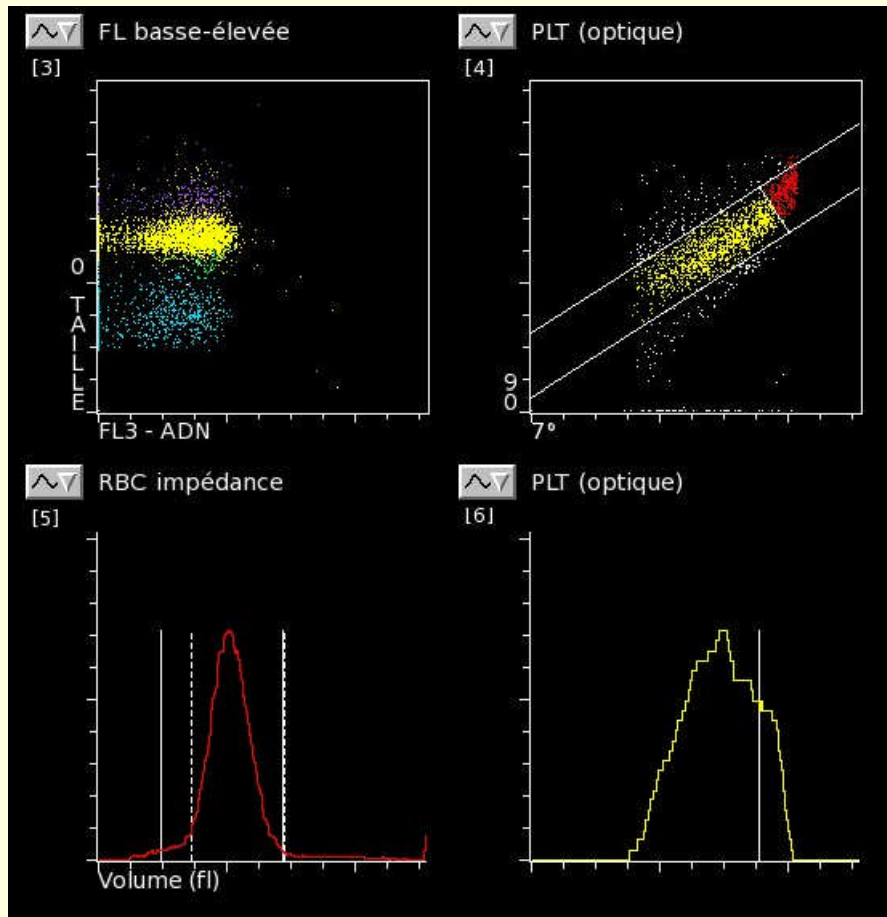
Conclusion

- La prise en charge d'une thrombopénie sévère est une urgence qui nécessite une coopération multidisciplinaire où le biologiste joue un rôle diagnostique important :
 - En affirmant la profondeur de la thrombopénie
 - En participant à la recherche étiologique qui conditionnera la prise en charge spécifique
 - En participant à l'évaluation du risque hémorragique qui permettra d'optimiser la prise en charge thérapeutique immédiate
 - En optimisant le suivi biologique

Atelier pratique : Cas clinique n°1

- Patient de 56 ans
- Hospitalisé pour prise en charge d'un carcinome hépatocellulaire
- NFS:
 - Leucocytes = 9.6 G/L
 - Hb = 7 g/dL
 - VGM = 84 fL
 - Plq = alarme sur les graphes
 - En optique: 13 G/L
 - En impédance: 38 G/L
 - Réticulocytes = 220 G/L
- Bilan biochimique:
 - Bilirubine totale = 34 μ mol/L
 - Bilirubine conjuguée = 8 μ mol/L
 - LDH = 4137 UI/L
 - Haptoglobine < 0.06 g/L

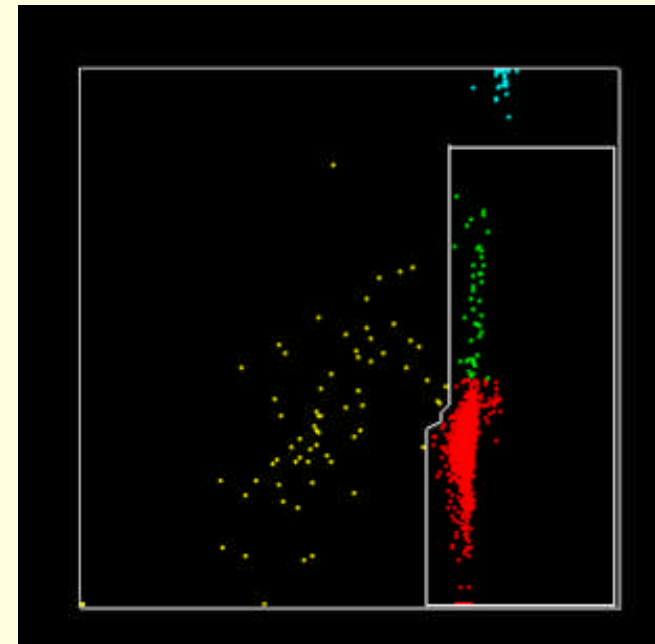
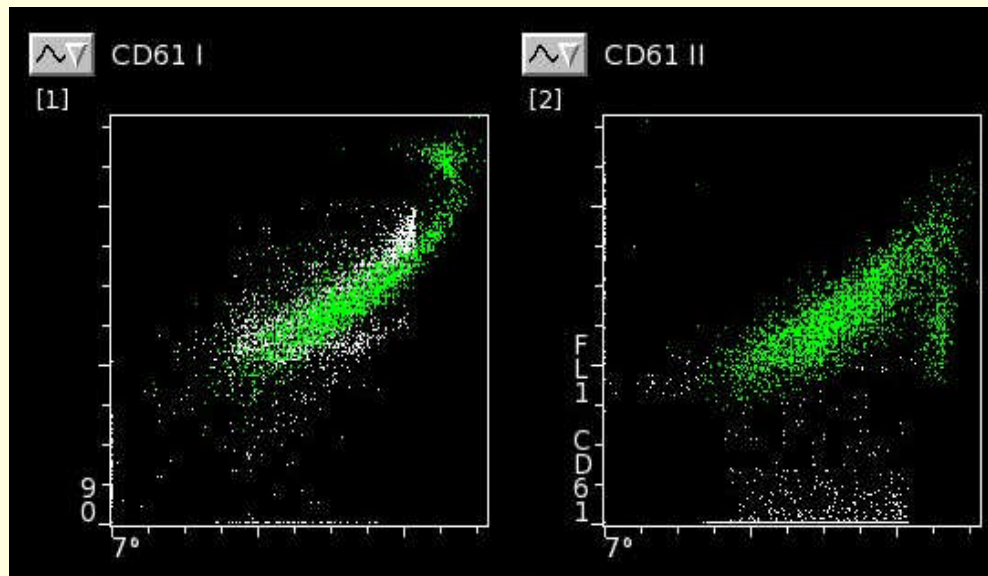
Cas clinique n°1



Graphes plaquettaires non validables
en optique et en impédance:
problème de séparation des plaquettes

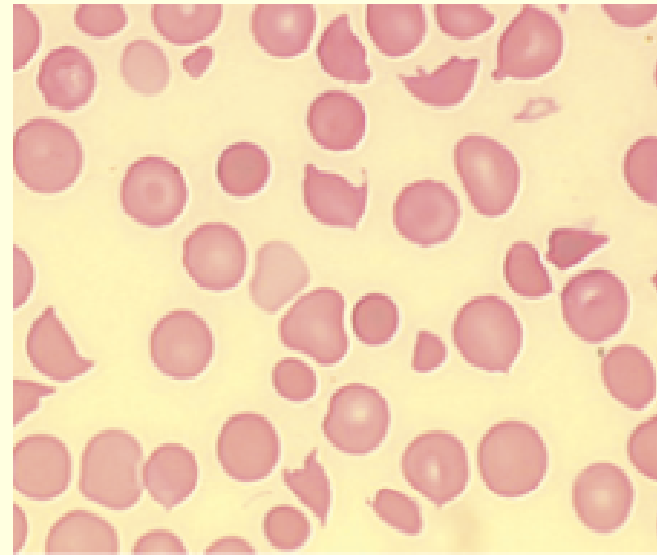
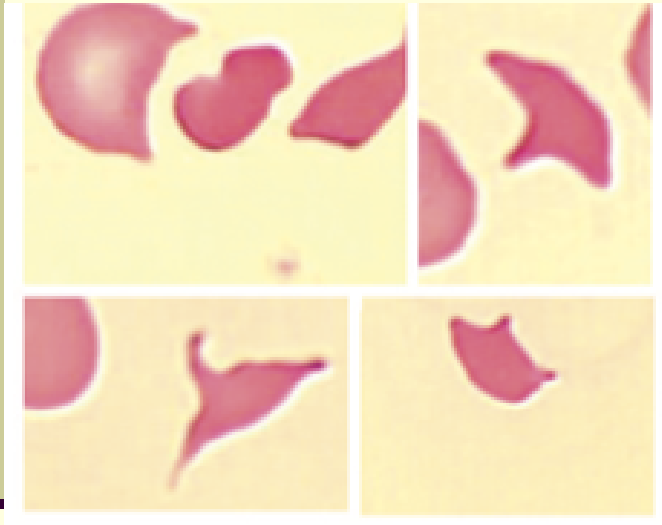
Cas clinique n°1

- Nécessité de quantifier les plaquettes par méthode immunologique (CD61):
- plaquettes = 16 G/L
- Taux de plq réticulées = 20%



Cas clinique n°1

Frottis sanguin

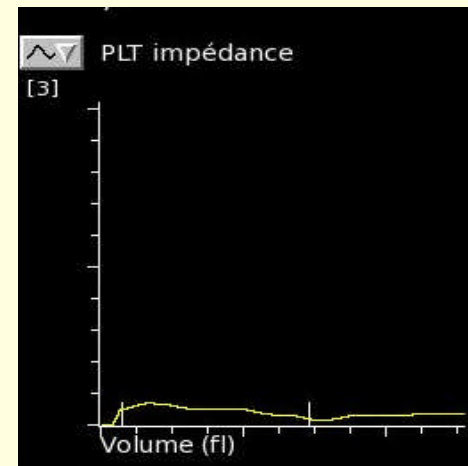
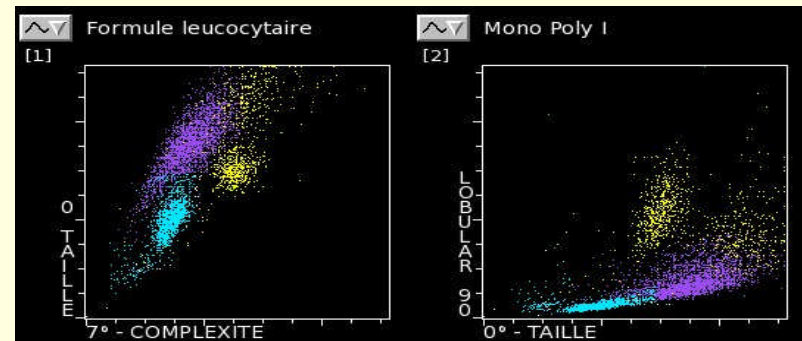
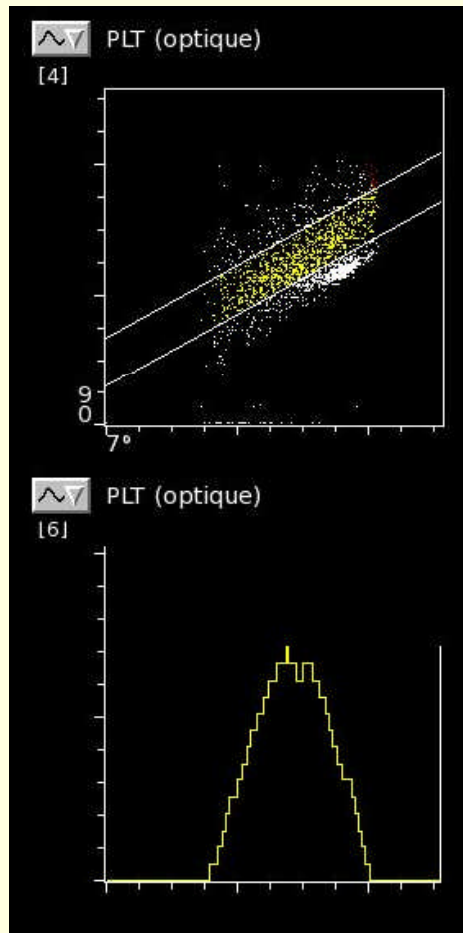


Schizocytes 7%: tableau de **microangiopathie thrombotique** compliquant une néoplasie

Cas clinique n°2

- Patient de 63 ans
 - Consulte pour apparition d'un purpura
 - NFS:
 - Leucocytes = 4 G/L dont PNN = 0.7 G/L
 - Hb = 10.7 g/dL
 - VGM = 85 fL
 - Plaquettes: alarmes
 - En impédance: numération impossible
 - En optique: 4 G/L
 - Bilan d'hémostase:
 - TP = 49%
 - Facteur V = 57%
 - Fibrinogène = 0.98 g/L
 - D-dimères = 2300 ng/mL
 - Complexes solubles +++
- tableau de **CIVD**

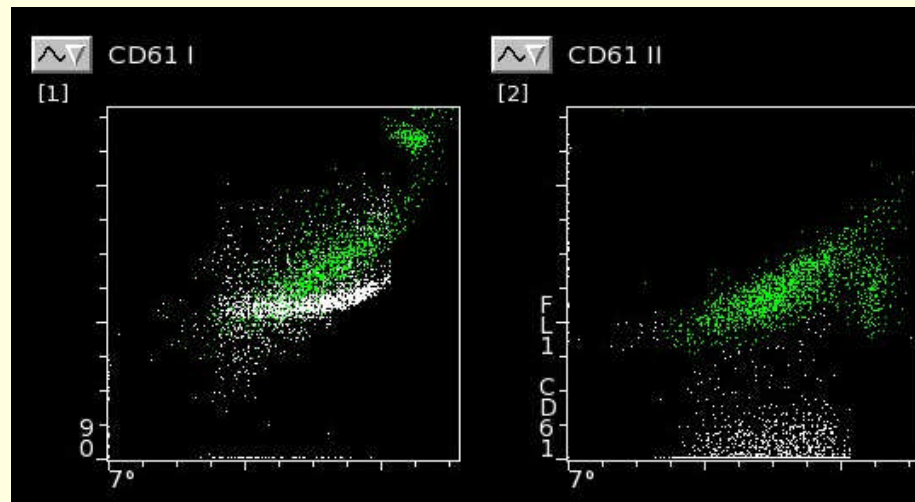
Cas clinique n°2



Alarmes : blastes , décompte impossible des plq

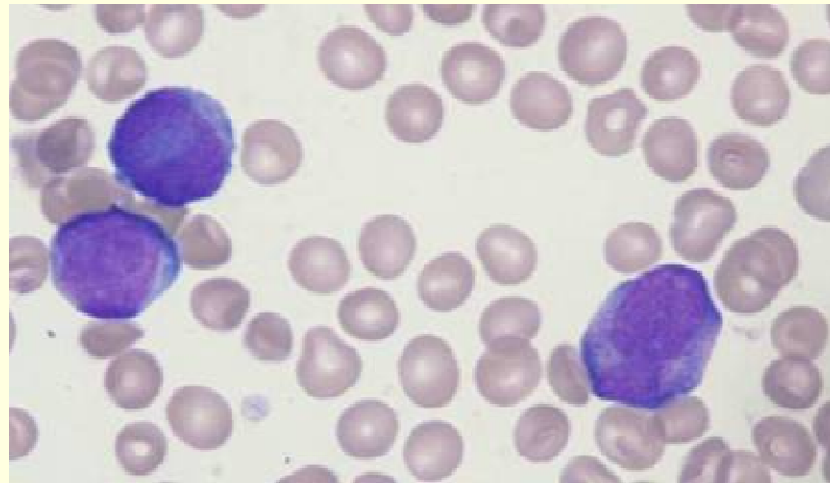
Cas clinique n°2

- Nécessité de quantifier les plaquettes par méthode immunologique (CD61):
- plaquettes = 7 G/L



Cas clinique n°2

- Examen du frottis sanguin

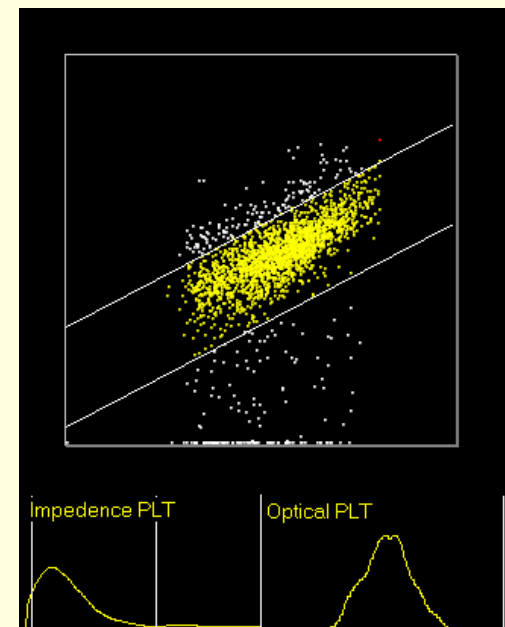


Présence de cellules blastiques au noyau en « ailes de papillon » évoquant une **leucémie aiguë promyélocytaire**

Cas clinique n°3

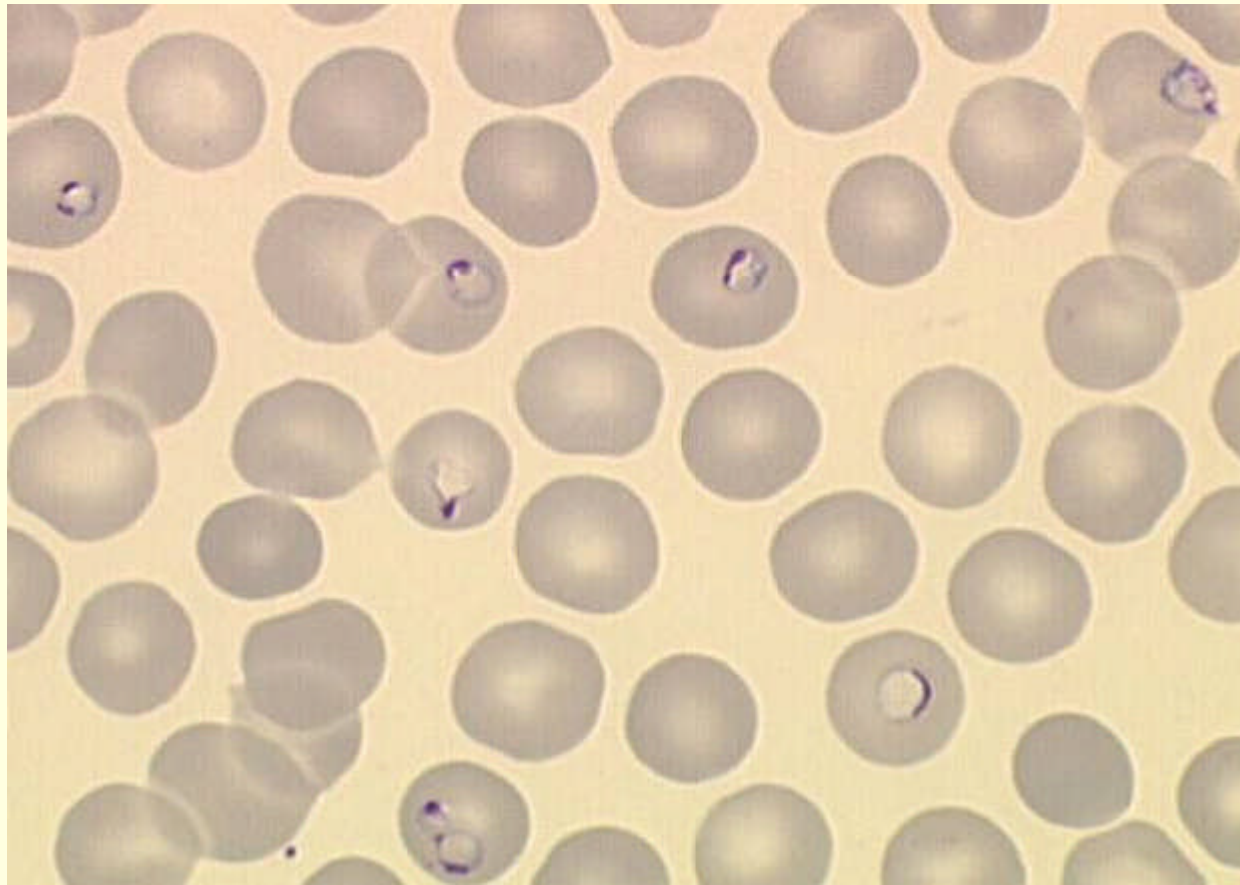
- Patient de 49 ans
- Origine Sénégalaise
- Amené aux urgences troubles de la conscience
- NFS:
 - Hb = 11.5 g/dL
 - VGM = 80 fL
 - Leucocytes = 3.6 G/L
 - Plq impédance = 39 G/L
 - Plq optiques = 38 G/L

- Hémostase :
 - TP = 83%
 - rTCA = 0.97



Cas clinique n°3

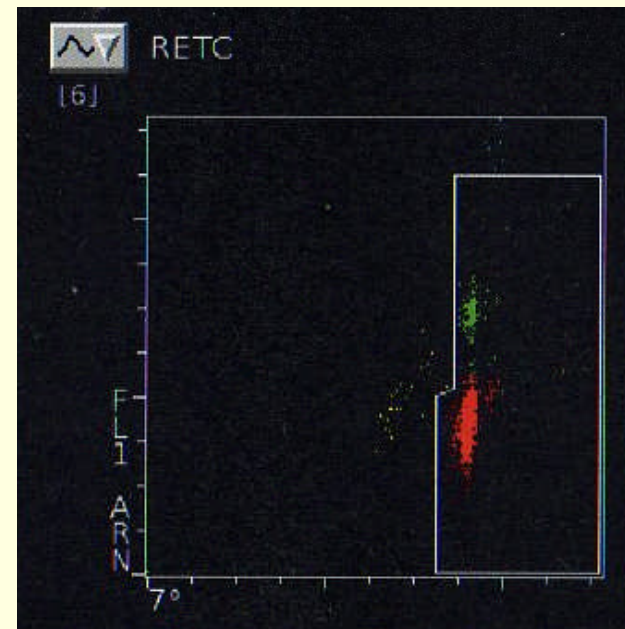
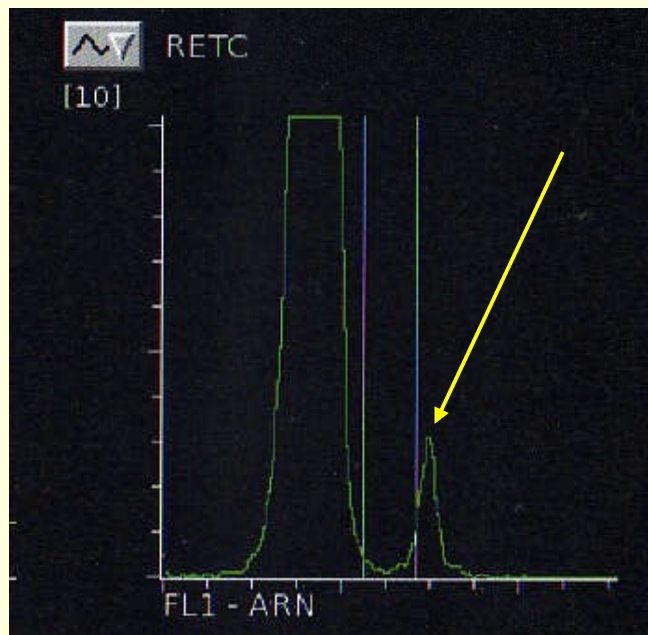
- Examen du frottis sanguin:



Plasmodium falciparum: parasitémie 7%

Cas clinique n°3

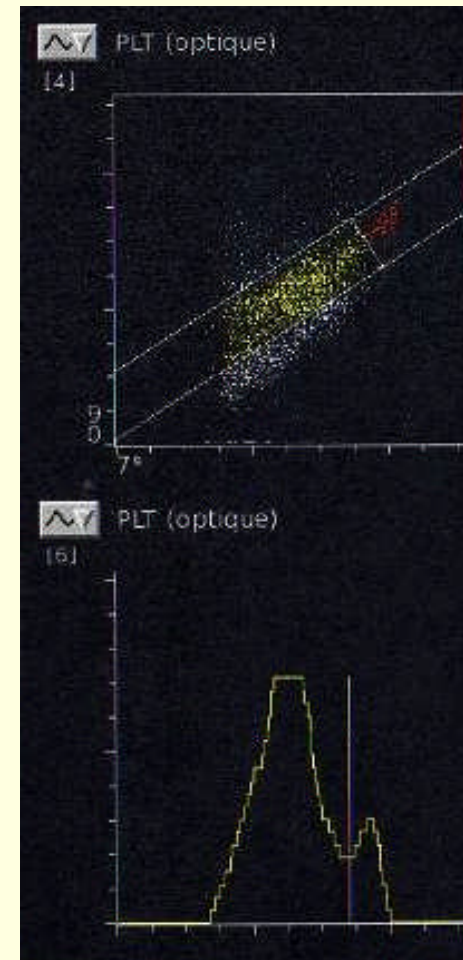
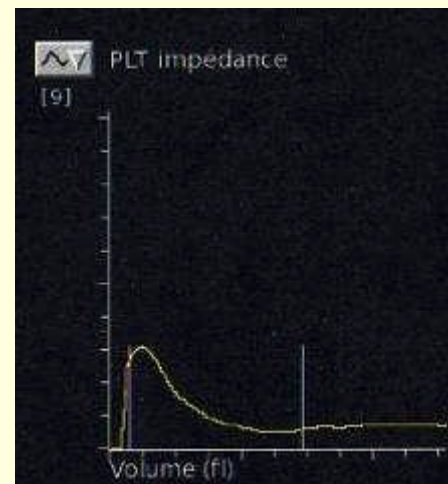
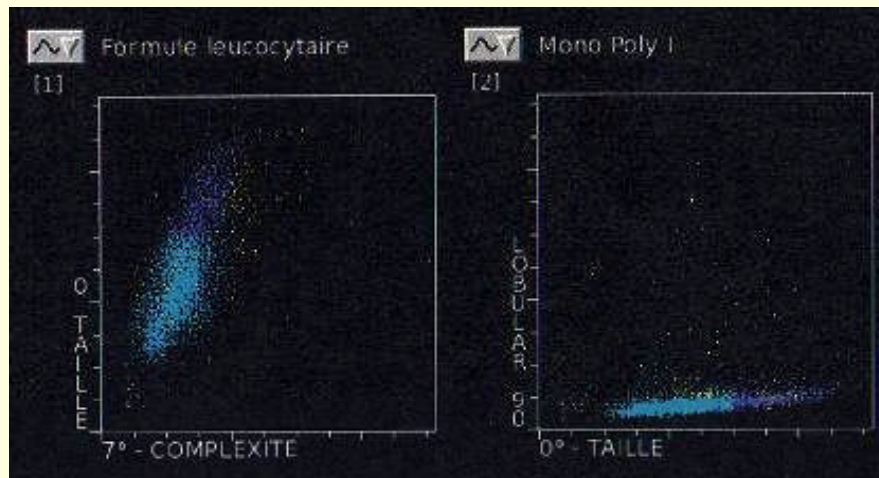
Attention: mesure des réticulocytes ininterprétable lors des fortes parasitemies: pic de fluorescence correspondant aux hématies parasitées



Cas clinique n°4

- Patient de 36 ans
- Connu pour une leucémie myéloïde chronique
- Acutisation rapide en leucémie aiguë lymphoblastique
- NFS
 - Leucocytes = 70 G/L
 - Hb = 6g/dL
 - VGM = 88 fL
 - Plaquettes:
 - Impédance = 25 G/L
 - Optique = 9 G/L

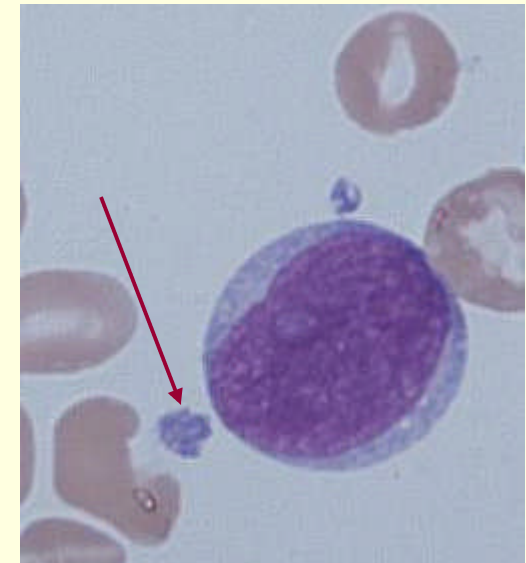
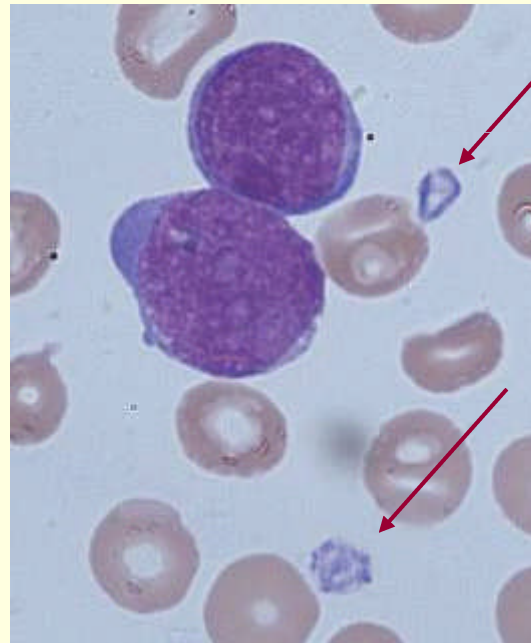
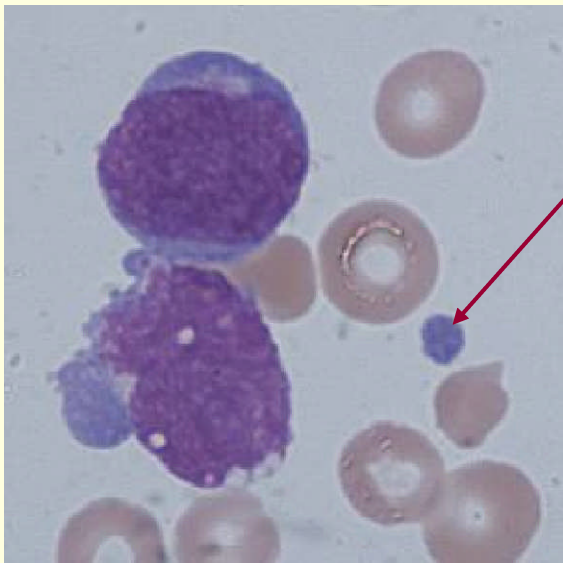
Cas clinique n°4



Alarmes: blastes, interférences dans le décompte plaquettaire

Cas clinique n°4

- Plaquettes en CD61 = 6 G/L
- Frottis sanguin:

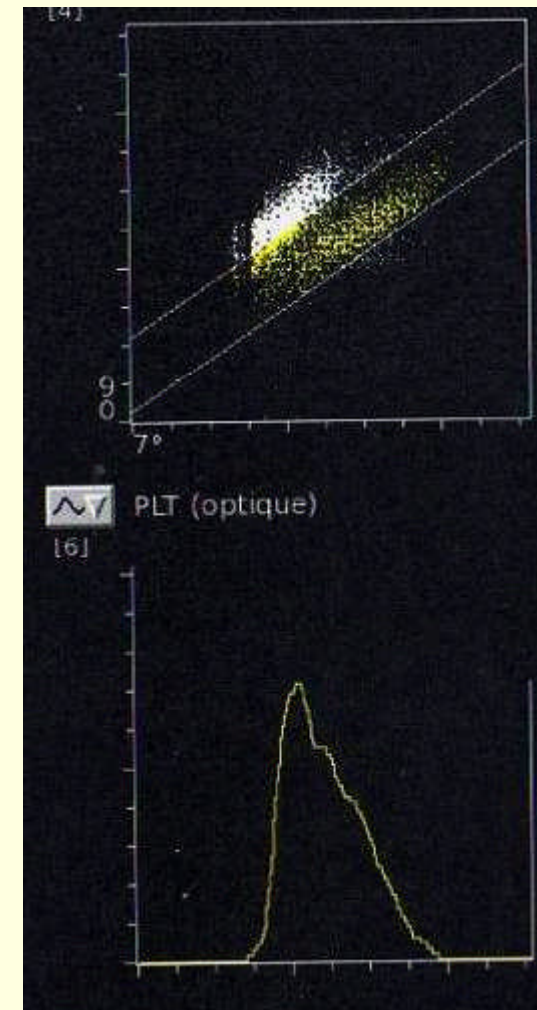
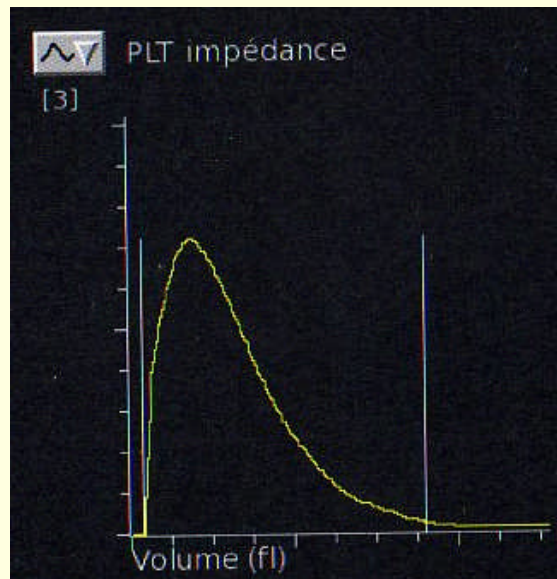


Fragments cytoplasmiques des blastes comptés comme des plq par l'automate

Cas clinique n°5

- Femme de 50 ans
- Connue pour une hépatite C
- NFS:
 - Leucocytes = 3 G/L dont PNN = 1.4 G/L
 - Hb = 9.6 g/dL
 - VGM = 88 fL
 - CCMH 32g/dL
 - Réticulocytes = 75 G/L
 - Plaquettes:
 - Impédance = 199 G/L
 - Optique = 28 G/L

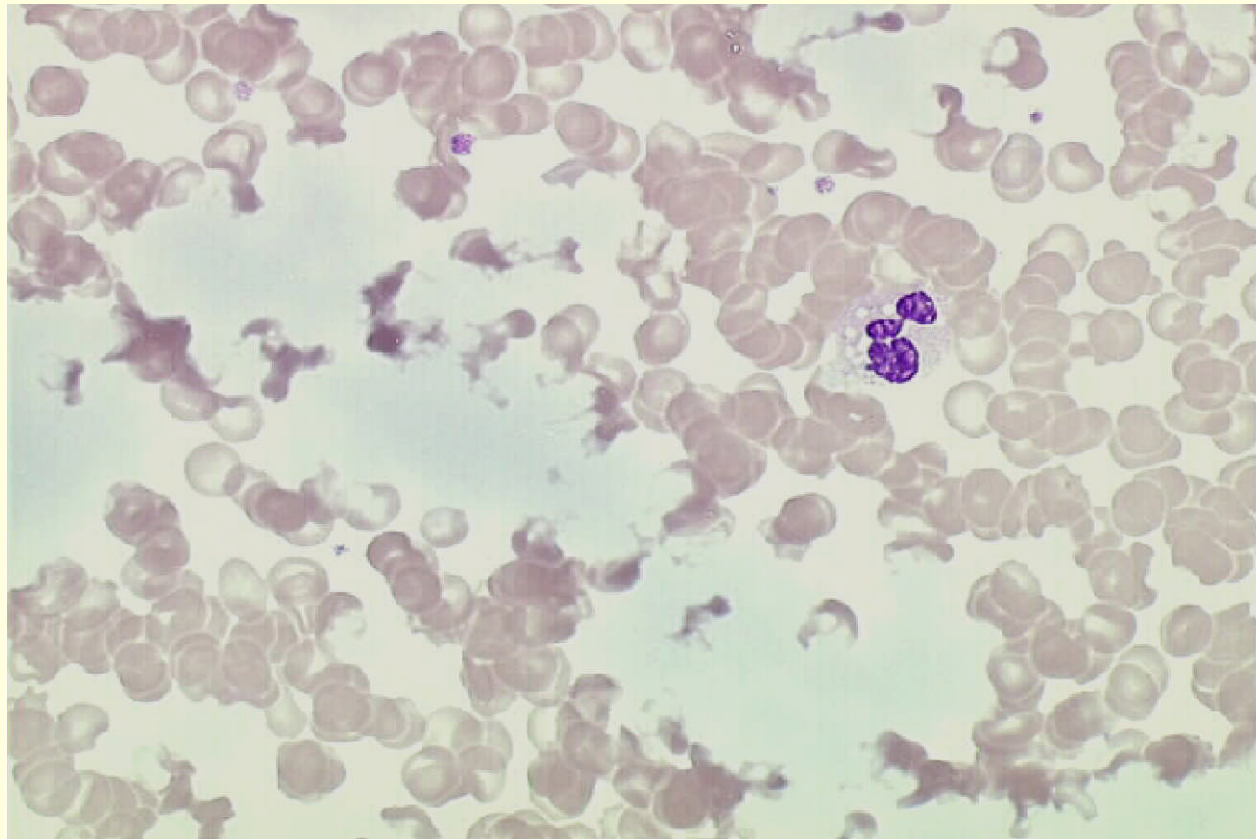
Cas clinique n°5



Graphe en impédance correct mais graphe optique non validable et discordance impédance / optique

Cas clinique n°5

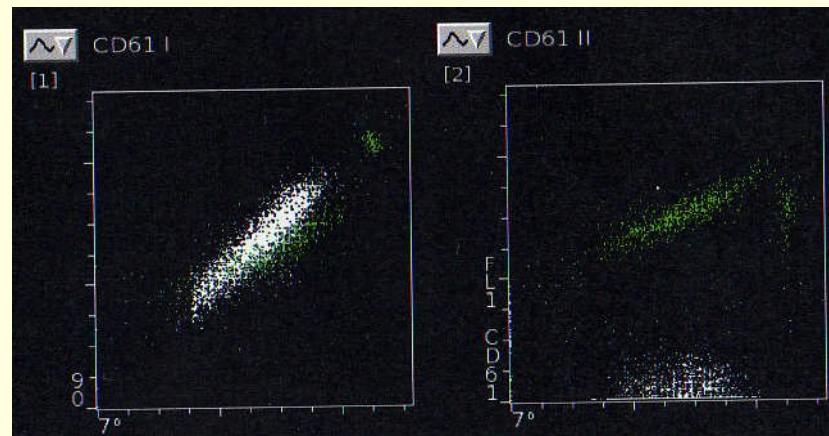
■ Frottis sanguin:



Agrégats incolores déformant les hématies et leur conférant un aspect mité: **cryoglobuline**

Cas clinique n°5

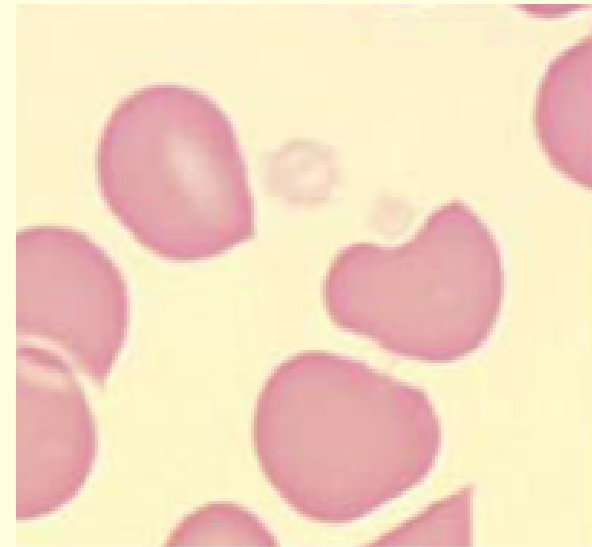
- Plaquettes en CD61 = 40 G/L



- Interférence de la cryoglobuline sur les graphes optique et impédance avec surestimation du chiffre de plq

5- Maladie des plaquettes grises

- Anomalie des granules α
- Agrégation plaquettaire habituellement normale
- Plaquettes agranulaires sur le frottis sanguin



Calcul de la probabilité post-test

- La probabilité du diagnostic peut être calculée si la probabilité pré-test et les performances du test sont connues
- Likelihood ratio (LR):
 - LR +: taux des vrais positifs / taux des faux positifs
= sensibilité / (1 – spécificité)
 - LR - : taux des faux négatifs / taux des vrais positifs
= (1 – sensibilité) / spécificité

Exemple pour le test de dépistage Diamed®:

LR + = 11.4

LR - = 0.05

Normogramme de Fagan

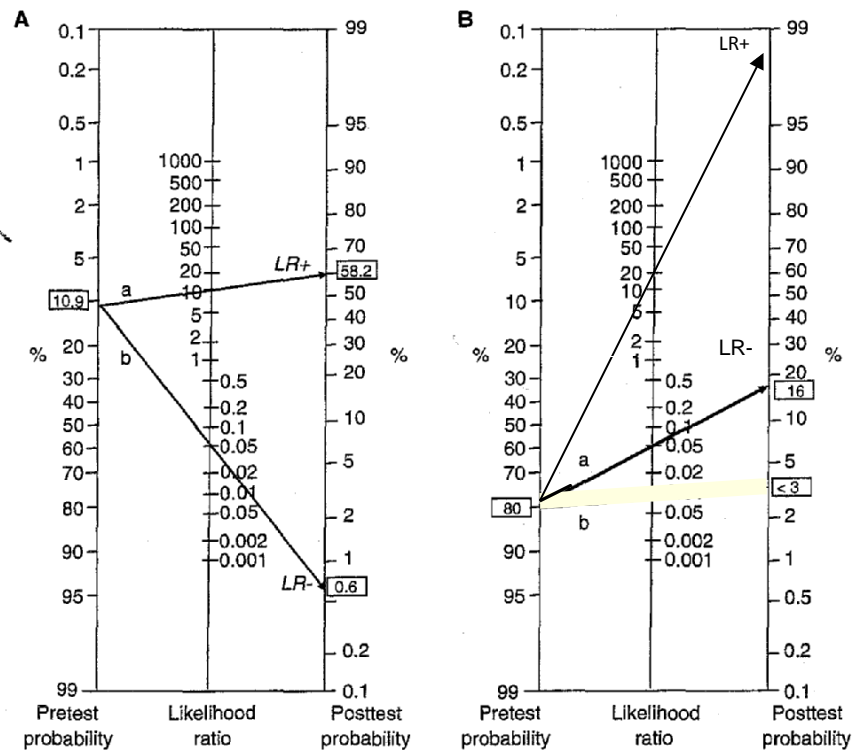
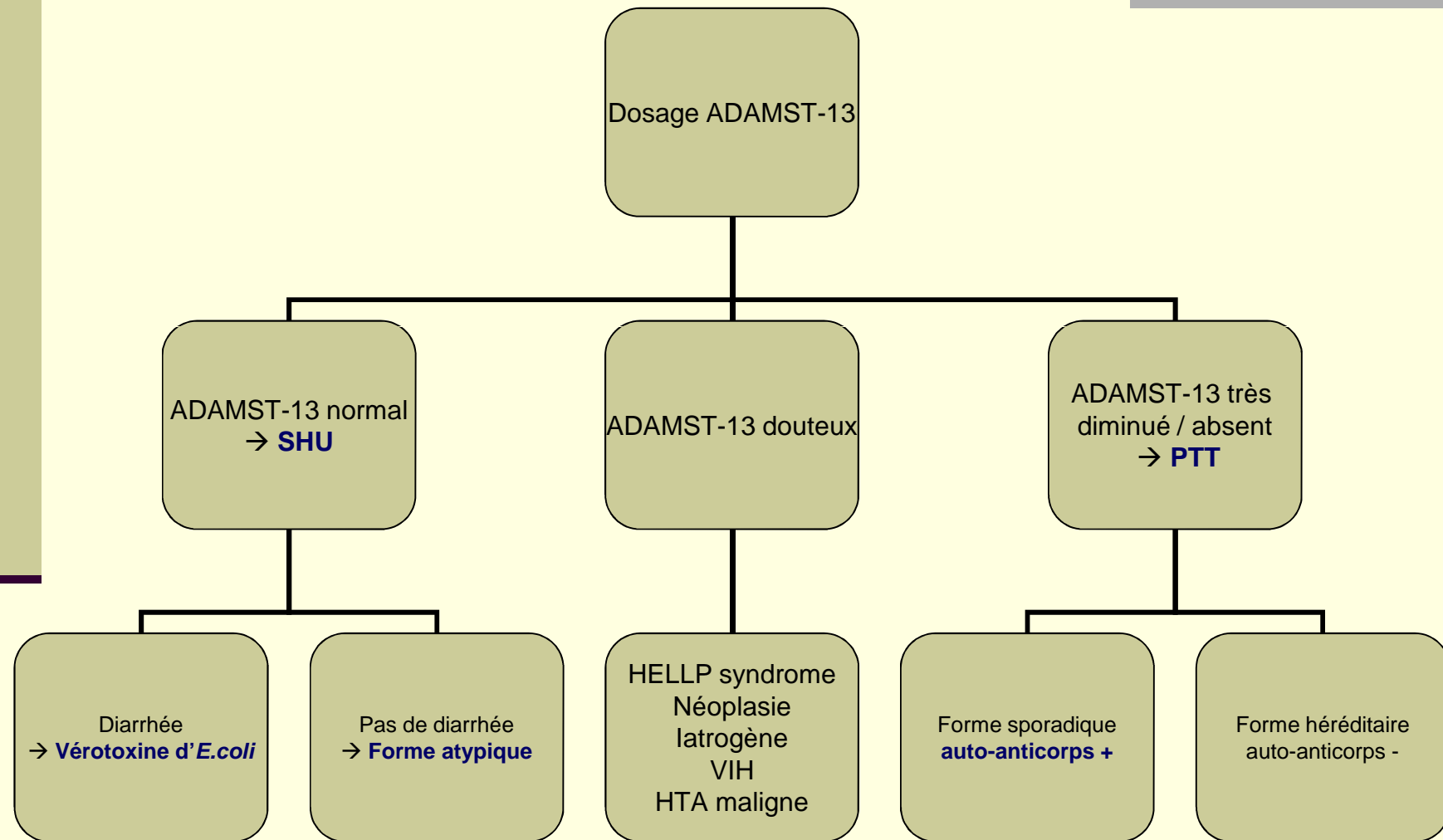


Fig. 1. Normograms for probabilities and likelihood ratios (LRs). (A) Straight edges applied for pretest probability of 10.9% – patients with intermediate risk of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). The post-test probability is (a) 58.2% if H/PF4 PaGIA[®] is positive (LR+ = 11.4) or (b) 0.6% if PaGIA is negative (LR- = 0.05). (B) Straight edges applied for pretest probability of 80% – patients with high risk of HIT. The post-test probability is 16% if (a) H/PF4 PaGIA[®] is negative (LR- = 0.05) or < 3% or (b) if PVS/PF4 ELISA is negative (LR- = <0.01).

Micro-angiopathies thrombotiques



Les plaquettes réticulées par cytométrie en flux (CMF)

Une technique simple mais non standardisée

- Tube EDTA
- Préparer 2 tubes avec :
 - 2.5 μ L de gpIIb/IIIa CD61 PE
 - 5 μ L de sang total
- Incubation 15 mn obscurité
 - Tube 1 : 1.8 mL Isoton (liquide de gainage)
 - Tube 2 : 1 mL de Rétic-COUNT® (thiazole orange) et 0.8ml Isoton
- Incubation 45 mn à obscurité
- Lecture au cytomètre
- Expression des résultats : en % de positivité