

# CONGRÈS FRANÇAIS d'HÉMOSTASE

Sous l'égide de la



10 -12  
MAI  
2023

BOOK  
DES ABSTRACTS



SAINT-MALO Palais des Congrès  
Le Grand Large

[congres-hemostase.com](http://congres-hemostase.com)

# EXPLOREZ LA SCIENCE

## DERRIÈRE LA THÉRAPIE GÉNIQUE



# HaemEvolution

Les traitements de l'hémophilie sont sans cesse en évolution pour améliorer la qualité de vie des patients et de leurs aidants.

Ce site vous permettra d'en savoir plus sur l'hémophilie, les traitements actuels et de vous informer sur la thérapie génique.



Flashez ce code pour vous  
connecter au nouveau site  
**HaemEvolution.fr**

# SOMMAIRE

## Communications orales

### Jeudi 11 mai 2023 – 14h00 à 15h30

- Session « Communications orales : Prix CFH » Page 04

### Vendredi 12 mai 2023 – 08h30 à 10h00

- Session « Thrombose » Page 09
- Session « Hémorragie » Page 13

## Posters Commentés

### Mercredi 10 mai – 18h00 à 19h30

- Session « Posters Commentés : Recherche fondamentale » Page 18

### Mercredi 10 mai – 18h00 à 19h30

- Session « Posters Commentés : Clinique » Page 20

## Posters

Page 24

**Jeudi 11 mai 2023 – 14h00 à 15h30**  
**Session « Communications orales : Prix CFH »**

**CO 01 - Les intégrines  $\beta 1$  et  $\beta 3$  plaquettaires jouent un rôle clé en hémostase, en thrombose artérielle et dans les métastases tumorales**

E. Janus-Bell<sup>1</sup>, A. Yakusheva<sup>1</sup>, C. Mouriaux<sup>1</sup>, C. Bourdon<sup>1</sup>, C. Liboni<sup>2</sup>, M. Garcia-Leon<sup>2</sup>, O. Lefebvre<sup>2</sup>, J.G. Goetz<sup>2</sup>, P. Mangin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université de Strasbourg, Inserm, EFS Grand Est, BPPS UMR-S1255, FMTS, F-67065 - Strasbourg (France),

<sup>2</sup>Inserm UMR\_S1109, Tumor Biomechanics Lab, Université de Strasbourg, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg (FMTS) - Strasbourg (France)

**Introduction :** Les plaquettes jouent un rôle majeur en hémostase, en thrombose artérielle et contribuent à des fonctions non hémostatiques comme la métastase tumorale. Les intégrines  $\alpha 2\beta 1$ ,  $\alpha 5\beta 1$ ,  $\alpha 6\beta 1$ ,  $\alpha v\beta 3$  et  $\alpha IIb\beta 3$  sont impliquées dans l'adhérence stable des plaquettes, et  $\alpha IIb\beta 3$  assure également l'agrégation plaquettaire. A ce jour, la conséquence d'une déficience combinée de toutes les intégrines sur les fonctions plaquettaires, l'hémostase, la thrombose artérielle et la métastase tumorale n'a jamais été évaluée.

**Objectif :** Caractériser les fonctions plaquettaires, l'hémostase, la thrombose et la formation de métastases tumorales en absence d'intégrines plaquettaires.

**Matériels et Méthodes :** Nous avons généré une lignée de souris n'exprimant pas les intégrines plaquettaires grâce à un système de recombinaison PF4Cre/lox (PF4Cre- $\beta 1^{-/-}/\beta 3^{-/-}$ ). Un système de flux *in vitro* a été utilisé pour monitorer l'adhérence des plaquettes et la formation d'un thrombus sur différentes surfaces. La thrombose artérielle *in vivo* a été évaluée dans deux modèles, le premier dans lequel la lésion est induite par application de chlorure de fer et le deuxième par pincement du vaisseau. L'hémostase a été évaluée dans un modèle de temps de saignement à la queue. Enfin, des modèles syngéniques de tumorigénèse et de métastase expérimentale de carcinomes mammaires (cellules AT3), ont été utilisés pour évaluer la contribution de ces intégrines plaquettaires dans la croissance tumorale et la formation de métastases.

**Résultats :** Chez les souris PF4Cre- $\beta 1^{-/-}/\beta 3^{-/-}$ , l'expression des principaux récepteurs de surface plaquettaire est normale (GPIIb, GPV, GPIX, GPVI), sauf pour les intégrines  $\alpha 2\beta 1$ ,  $\alpha 5\beta 1$ ,  $\alpha 6\beta 1$ ,  $\alpha v\beta 3$  et  $\alpha IIb\beta 3$ , pour lesquelles l'expression est largement réduite. La liaison au fibrinogène est totalement inhibée et la liaison à l'annexine V est réduite en réponse à plusieurs agonistes solubles dont l'ADP, le PAR-4 et la convulxine. L'adhérence des plaquettes PF4Cre- $\beta 1^{-/-}/\beta 3^{-/-}$  en conditions de flux n'est pas modifiée sur vWF mais est complètement inhibée sur une surface de fibrinogène et de fibronectine fibrillaire. Les souris PF4Cre- $\beta 1^{-/-}/\beta 3^{-/-}$  présentent un temps de saignement à la queue augmenté. La formation de thrombi est largement impactée en flux *in vitro* sur une surface de collagène et dans deux modèles expérimentaux de thrombose artérielle *in vivo*. La croissance de carcinomes mammaires implantés de manière orthotopique et la formation de métastases pulmonaires sont largement réduites chez les souris PF4Cre- $\beta 1^{-/-}/\beta 3^{-/-}$ .

**Conclusion :** Ces résultats mettent en évidence un rôle central des intégrines dans les fonctions hémostatiques des plaquettes, dans la thrombose expérimentale et montrent leur rôle majeur dans la formation de métastases pulmonaires.

**CO 02 - Réponse à la desmopressine dans la maladie de Willebrand de type 2N : étude d'une cohorte de 121 patients**

M. Daniel<sup>1</sup>, A. Rauch<sup>1</sup>, F. Volot<sup>2</sup>, K. Pouymayou<sup>3</sup>, B. Pan-Petes<sup>4</sup>, S. Castet<sup>5</sup>, N. Itzhar<sup>6</sup>, Y. Repesse<sup>7</sup>, C. Ternisien<sup>8</sup>, E. Jeanpierre<sup>1</sup>, C. Paris<sup>1</sup>, C. Zawadzki<sup>1</sup>, A. Dupont<sup>1</sup>, J. Goudemand<sup>1</sup>, S. Susen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut Hématologie-Transfusion, Centre Hospitalier Universitaire de Lille - Lille (France),

<sup>2</sup>Centre d'hémostase Clinique, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon - Dijon (France),

<sup>3</sup>Centre d'hémostase Clinique, Assistance Publique Hôpitaux de Marseille - Marseille (France),

<sup>4</sup>Centre d'hémostase Clinique, Centre Hospitalier Universitaire de Brest - Brest (France),

<sup>5</sup>Centre d'hémostase Clinique, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux - Bordeaux (France),

<sup>6</sup>Laboratoire d'hémostase, Centre Hospitalier Lariboisière, Assistance Publique Hôpitaux de Paris - Paris (France),

<sup>7</sup>Laboratoire d'hémostase, Centre Hospitalier Universitaire de Caen - Caen (France),

<sup>8</sup>Centre d'hémostase Clinique, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes - Nantes (France)

**Introduction :** La maladie de Willebrand de type 2N est associée le plus fréquemment au variant p.Arg854Gln (R854Q). Cependant une grande proportion de patients sont porteurs d'un autre variant que celui-ci, que ça soit de manière homozygote ou hétérozygote. La desmopressine est le traitement de 1ère intention dans la MW2N. L'impact des différents variants responsables de MW2N sur la réponse à la desmopressine n'est pas clairement établie. Le but de cette étude était d'évaluer le lien entre génotype et phénotype des patients avec MW2N, et plus particulièrement la réponse à la desmopressine.

**Matériels et Méthodes :** Tous les patients avec MW2N caractérisés sur le plan génotypique et phénotypique (activité coagulante du FVIII [FVIII:C], taux de VWF antigène [VWF:Ag] et activité [VWF:Act]) par le centre de référence de la maladie de Willebrand (CRMW) étaient éligibles. Le score hémorragique (Tosetto) ainsi que les résultats du test à la desmopressine ont été recueillis.

**Résultats :** Au total 121 patients, issus de 108 familles distinctes, ont été inclus dans l'étude. L'âge médian (écart interquartile) était de 23 ans (9-41) et 45 patients (37%) étaient des hommes. Le variant R854Q était présent (R854Q Pos) chez 112 patients dont 55 étaient homozygotes pour R854Q (R854Q Hmz), 46 hétérozygotes composites pour R854Q et un allèle nul (R854Q/3) et 11 hétérozygotes pour R854Q et un autre variant 2N (R854Q/2N). Les 9 autres patients étaient hétérozygotes composites ou homozygotes pour d'autres variants 2N (R854Q Neg).

Le score hémorragique est plus élevé chez les patients R854Q Neg par rapport au groupe R854Q Pos avec un score médian de 14 et 4 respectivement (p<0.001).

Le taux basal médian de FVIII :C (Figure 1) était modérément diminué à 23 UI/dL [16-30] pour le groupe R854Q Pos alors qu'un déficit significativement plus sévère étant présent dans le groupe R854Q Neg avec une médiane à 4 UI/dL [2-7] (p<0,001).

Lors du test à la desmopressine, la cinétique d'augmentation des taux de VWF: Ag ne semble pas impactée par le génotype, en particulier par la présence ou l'absence du variant R854Q. En revanche, la cinétique des taux de FVIII est variable selon le génotype. Bien que tous les patients présentent une augmentation initiale du taux de FVIII après injection de desmopressine, on constate des différences notables sur l'évolution de ces taux au cours du temps.

Chez les patients R854Q Neg, le déficit en FVIII se corrige initialement après administration de desmopressine mais est à nouveau présent dès la 2e heure post-injection. Chez les patients R854Q Pos, la réponse à la desmopressine est plus stable, y compris dans le groupe R854Q/3 (Figure 2) malgré un taux basal de VWF significativement plus bas comparé au groupe R854Q Hmz (VWF:Ag=51% vs 88%, p<0.01).

Les patients avec un taux basal de FVIII :C>15 UI/dL avaient tous une bonne réponse à la desmopressine (FVIII :C> 50UI/dL 2 heures post-injection) et correspondaient aux patients du groupe R854QPos.

**Conclusion :** La réponse à la desmopressine des patients avec maladie de Willebrand de type 2N varie selon le génotype avec notamment une mauvaise réponse en l'absence du variant R854Q. En l'absence des données de l'analyse moléculaire, un taux basal de FVIII:C supérieur à 15 UI/dL semble être prédictif d'une bonne réponse à la desmopressine.

Figure 1

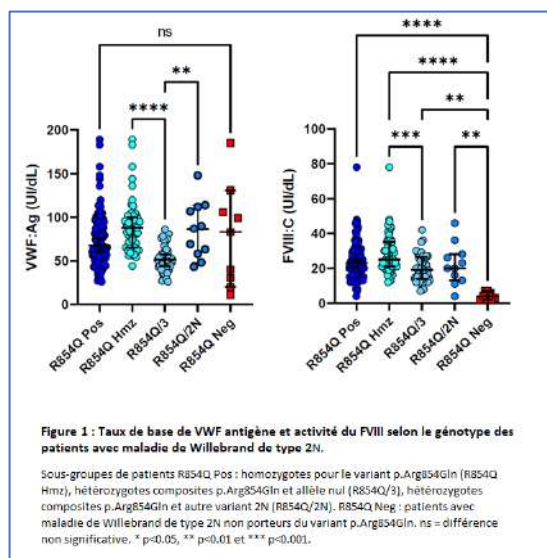
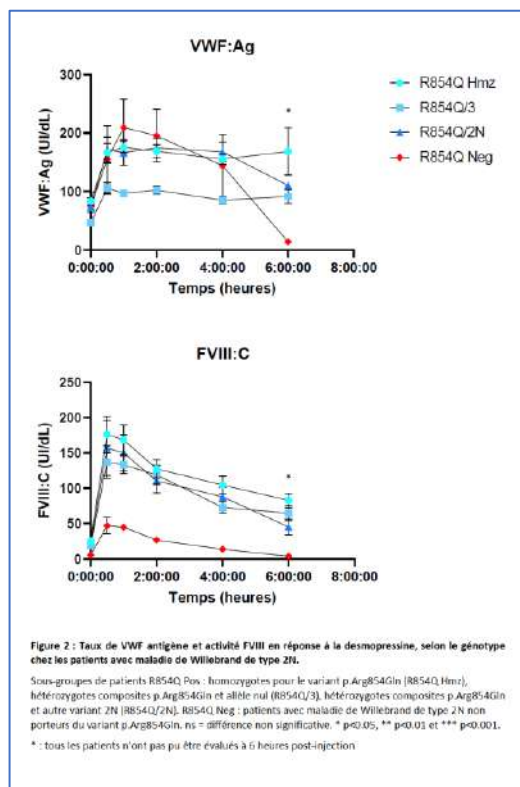


Figure 2



### CO 03 - Caractérisation des interactions entre les plaquettes et les souches de Escherichia coli

L. Camoin-Jau<sup>1</sup>, A. Mariotti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>AP-HM - Marseille (France)

**Introduction :** Outre leur rôle dans l'hémostase, les plaquettes sont des acteurs majeurs dans la réponse anti-infectieuse et dans la régulation de la réponse inflammatoire (1). Bien que certaines souches d'Escherichia coli soient identifiées en pathologie humaine dans des infections sévères notamment le sepsis, très peu d'études se sont intéressées aux conséquences des interactions entre E.coli et les plaquettes.

Notre objectif est d'étudier la relation bidirectionnelle entre les souches d'E.coli et les plaquettes, à savoir la capacité bactéricide des plaquettes sur les souches et la capacité des souches à induire une activation et une agrégation plaquettaire.

**Matériels et Méthodes :** Dix souches d'E.coli, cinq provenant d'isolats cliniques et cinq souches de référence ont été utilisées. Les plaquettes lavées ont été obtenues à partir de plasma riche en plaquettes (PRP) de donneurs sains selon les recommandations de l'ISTH (2). La capacité bactéricide des plaquettes a été quantifiée après ensemencement sur gélose COS. L'activation plaquettaire a été mesurée par cytométrie de flux. La capacité des souches à induire une agrégation plaquettaire a été mesurée par agrégométrie ainsi qu'en immunofluorescence (IF) par microscopie confocale. L'ultrastructure des souches d'E.coli et l'aspect des agrégats plaquettes-E.coli ont été analysés par microscopie électronique (SEM et TEM). L'effet des antiplaquettaires et d'un inhibiteur du cytosquelette (cytochalasine D) a été étudié afin de déterminer leur effet sur l'agrégation plaquettaire.

**Résultats :** L'incubation entre les plaquettes lavées et les souches d'E.coli induit une diminution significative de la croissance bactérienne avec trois souches et une augmentation significative de la croissance bactérienne pour 5 autres souches testées (Figure 1). Une corrélation négative a été obtenue entre l'agrégation plaquettaire induite par les souches et la croissance bactérienne (Figure 2). L'étude de la formation des agrégats par microscopie confocale montre une structure différentes des agrégats plaquettes-bactéries en fonction des souches (Figure 3). L'étude par SEM et TEM des mélanges plaquettes-E.coli confirme cette hétérogénéité de structure. Certaines souches induisent des agrégats plaquettaires au sein desquels les bactéries vont être piégées et à l'inverse, d'autres souches n'induisent pas d'activation plaquettaire significative (Figure 4). L'étude de l'ultrastructure des bactéries met en évidence une variation importante de l'épaisseur de la membrane externe des souches, ce qui permettrait de comprendre ces différences de comportements (Figure 5). L'utilisation d'antiplaquettaires diminue significativement l'agrégation induite par la souche J53, qui entraînait l'agrégation plaquettaire la plus forte, avec un effet plus important du ticagrelor sur l'aspirine, et sans avantage d'une bithérapie par les deux molécules (Figure 6). Ce processus semble être secondaire à un réarrangement du squelette d'actine étant donné qu'un pré-traitement par cytochalasine D inhibe l'agrégation plaquettaire.

**Conclusion :** Notre étude montre des profils de réponse plaquettaire spécifiques en fonction des souches, au niveau de leur capacité ou non à s'activer, de l'activité bactéricide plaquettaire ou de la structure des agrégats. Le mécanisme semble être dépendant d'une modification du cytosquelette d'actine et impliquerait une dégranulation des plaquettes, libérant du CD40L capable d'activer la GpIIb/IIIa (1, 3-5).

#### Bibliographie

1. Mariotti A, Ezzraimi AE, Camoin-Jau L. Effect of antiplatelet agents on Escherichia coli sepsis mechanisms: A review. Front Microbiol. 2022 Dec 9;13:1043334. doi: 10.3389/fmicb.2022.1043334. PMID: 36569083; PMCID: PMC9780297.

- Cattaneo, M., Cerletti, C., Harrison, P., Hayward, C.P.M., Kenny, D., Nugent, D., Nurden, P., Rao, A.K., Schmaier, A.H., Watson, S.P., Lussana, F., Pugliano, M.T., Michelson, A.D., 2013. Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. *J. Thromb. Haemost. JTH*. <https://doi.org/10.1111/jth.12231>
- Ezzeroug Ezzraïmi A, Hannachi N, Mariotti A, Rolain JM, Camoin-Jau L. Platelets and *Escherichia coli*: A Complex Interaction. *Biomedicines*. 2022 Jul 7;10(7):1636. doi: 10.3390/biomedicines10071636. PMID: 35884941; PMCID: PMC9313189.
- Ezzeroug Ezzraïmi A, Hannachi N, Mariotti A, Rolland C, Levasseur A, Baron SA, Rolain JM, Camoin-Jau L. The Antibacterial Effect of Platelets on *Escherichia coli* Strains. *Biomedicines*. 2022 Jun 28;10(7):1533. doi: 10.3390/biomedicines10071533. PMID: 35884840; PMCID: PMC931323
- Ezzeroug Ezzraïmi A, Baudoin JP, Mariotti A, Camoin-Jau L. Microscopic Description of Platelet Aggregates Induced by *Escherichia coli* Strains. *Cells*. 2022 Nov 4;11(21):3495. doi: 10.3390/cells11213495. PMID: 36359892; PMCID: PMC9659130.

Figure 1 : Effet des plaquettes sur la croissance bactérienne

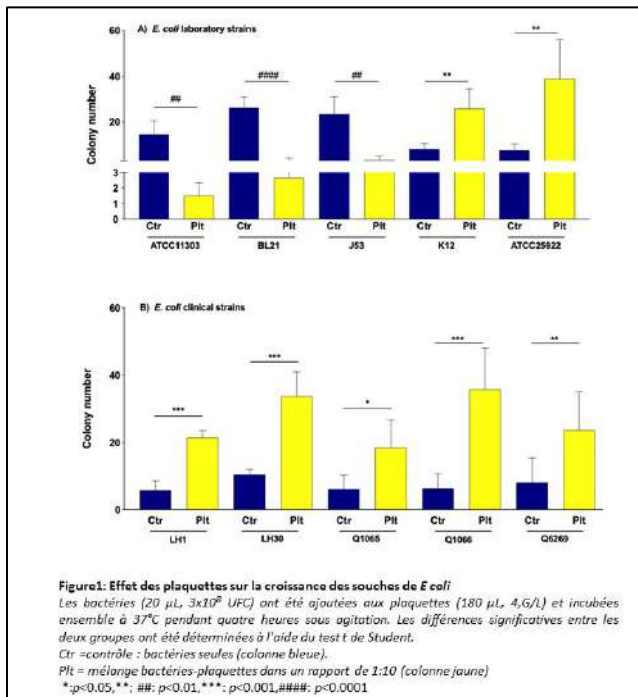


Figure 2 : Evaluation du profil d'agrégation des souches d'Escherichia coli par agrégométrie

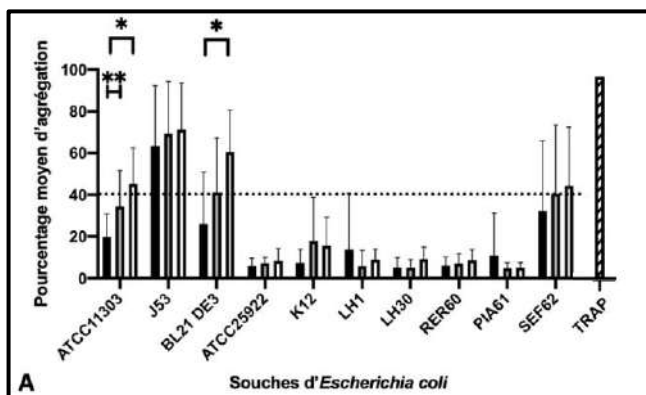


Figure 3 : Etude de la structure des agrégats au cours du temps par IF

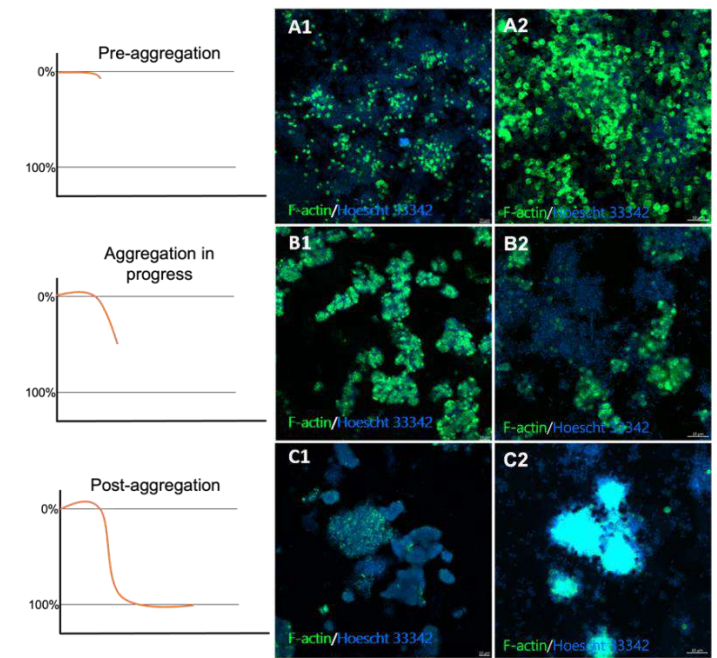


Figure 4 : Etude par SEM des agrégats plaquettes-Escherichia coli

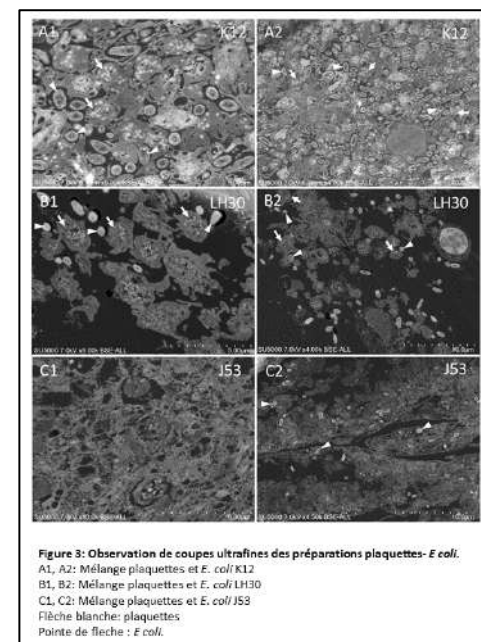


Figure 5 : Etude par SEM de l'ultrastructure d'Escherichia coli.

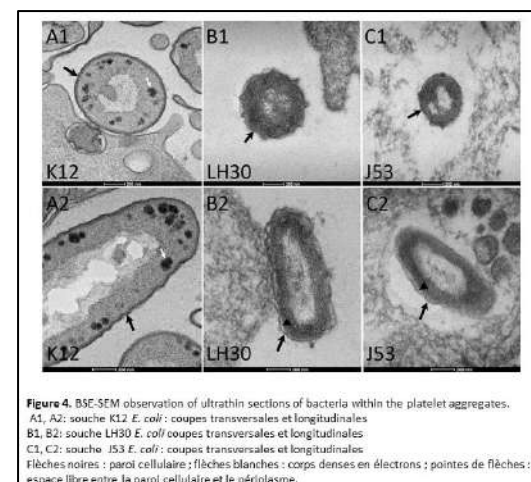
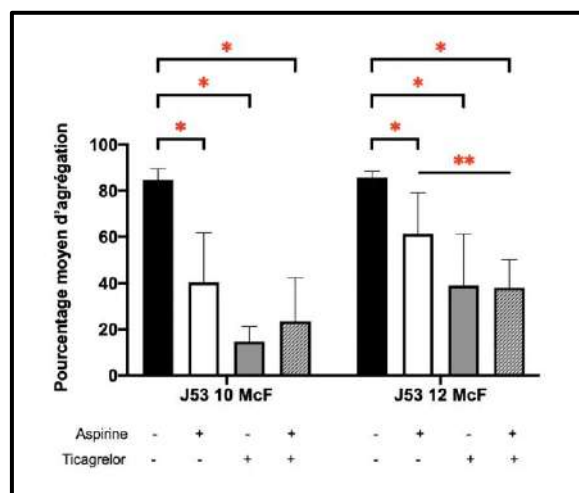


Figure 6 : Effet des antiplaquettaires sur l'agrégation médiée par la souche J53



### CO 04 - P2Y12 receptor expression on monocytes, monocytes-derived macrophages and dendritic cells and modulation by ticagrelor

A. Pontis<sup>1</sup>, A. Lescoat<sup>2</sup>, M. Lelong<sup>3</sup>, O. Fardel<sup>3</sup>, I. Gouin-Thibault<sup>1</sup>, V. Lecreur<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hématologie-Hémostase Bioclinique, Pontchaillou, CHU de Rennes ; Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, Ehesp, Irset (Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail) - UMR\_S 1085 - Rennes (France),

<sup>2</sup>Médecine Interne et Immunologie Clinique, CHU de Rennes, Univ Rennes, Chu Rennes, Inserm, Ehesp, Irset (institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail) - UMR\_S 1085 - Rennes (France),

<sup>3</sup>Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, Ehesp, Irset (Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail) - UMR\_S 1085 - Rennes (France)

P2Y12, a transmembrane receptor to ADP mainly expressed on platelets, is also found on immune cells, suggesting a role in inflammation. However, its profile of expression on these cells and the modulation by P2Y12R inhibitors are poorly understood.

The aims of this work are to characterize the expression of P2Y12R on monocytes, monocyte-derived macrophages (MDM) and dendritic cells (DC) and its modulation by ticagrelor.

**Matériels et Méthodes :** Peripheral blood mononuclear cells were collected from buffy coats (healthy donors, French Blood Establishment). Monocytes were differentiated into MDMs or DCs (M-CSF or GM-CSF + IL-4 respectively) during 6 days. MDMs were then polarized for 24 or 48 hours into MDM-M1 (LPS + IFN $\gamma$ ), MDM-M2a (IL-4 + IL-13), MDM-M2c (IL-10) or MDM-M2dex (IL-10 + dexamethasone) and DCs into immature (DCi) or mature (DCm, by addition of LPS for 24h), in presence or not of ticagrelor (0.5 or 1.5  $\mu$ M) in the culture medium.

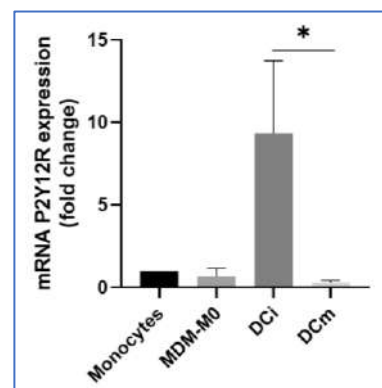
After mRNA extraction (TRIzol™) and reverse transcription, quantitative PCRs were performed.

P2Y12R expression was determined using flow cytometric direct immunofluorescence (FC) with the PE-anti-P2Y12 antibody.

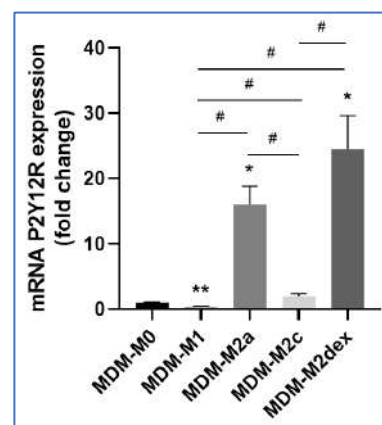
**Résultats :** P2Y12R mRNA expression was found similar in monocytes and in non-polarized MDM (MDM-M0) whereas its expression was significantly induced during the differentiation of monocytes into DCi (mean fold change=9.3 +/- 8.8 versus monocytes) and in MDM-M2a (mean fold change=16.1 +/- 6.8), showing an IL-4-dependance to P2RY12 expression. Moreover, P2RY12 expression was repressed in DCm versus DCi (mean fold change=0.30 +/- 0.24) and in MDM-M1, in favor of a suppressive effect of LPS (Figure 1). It was also significantly induced in MDM-M2dex (mean fold change=24.5 +/- 12.5), in favor of an enhancing effect of glucocorticoids (Figure 2).

**Conclusion :** This original work revealed that P2Y12R expression was different according to the MDM-polarization profile and more specifically dependent on IL-4 and glucocorticoids and repressed by LPS.

#### P2Y12 mRNA expression and monocyte differentiation



#### P2Y12 mRNA expression during MDM polarization



### CO 05 - KB-V13A12, a novel nanobody-based therapeutic molecule for the treatment of von Willebrand disease

I. Peyron<sup>1</sup>, C. Casari<sup>1</sup>, O.D. Christophe<sup>1</sup>, P.J. Lenting<sup>1</sup>, C.V. Denis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inserm U1176, Hémostase Inflammation et Thrombose (HITH) - Le Kremlin-Bicêtre Cedex (France)

**Introduction :** Von Willebrand disease (VWD) is an inherited bleeding disorder characterized by quantitative or qualitative defects of von Willebrand factor (VWF). Replacement therapies with VWF-concentrates are limited by the short half-life of VWF (10-15 hours). Here, we aimed to develop a novel drug candidate that prolongs the half-life of VWF by bridging circulating VWF with albumin.

**Matériels et Méthodes :** A bi-functional molecule was generated combining the variable fragments of two single-domain antibodies: one targeting VWF (KB-VWF-013) and one targeting both human and murine albumins (OptiAlb-12). Binding of this molecule (designated KB-V13A12) to both VWF and albumin was tested in vitro. A mouse model for VWD-type 1 was used to evaluate its effect on VWF levels following subcutaneous administration. Blood samples were taken before injection, and at day 1, 3, 7, 10 and 14. In addition, a tail-clip procedure was performed to determine the potency of KB-V13A12 to restore hemostasis.

**Résultats :** Interaction of KB-V13A12 with both albumin and VWF was validated in static binding assays. In vivo, subcutaneous administration of KB-V13A12 increased VWF plasma levels in a

sustained fashion between  $1.9 \pm 0.4$  fold ( $p < 0.0001$ ) at day 1 and  $2.1 \pm 0.6$  fold ( $p < 0.0001$ ) at day 10 compared to  $t=0$ . In a tail-clip assay, blood loss was significantly increased in VWD-type 1 mice compared to wild-type mice ( $102 \pm 123$   $\mu$ l versus  $19 \pm 37$   $\mu$ l respectively;  $p = 0.0251$ ). However, VWD-type 1 mice receiving KB-V13A12 had similar blood loss compared to that of wild-type mice ( $47 \pm 49$   $\mu$ l;  $p = 0.711$ ).

**Conclusion** : Our results show that KB-V13A12 efficiently bridges VWF to albumin. In vivo experiments demonstrated that a single subcutaneous injection of KB-V13A12 elevates VWF levels for up to 10 days and restores functional hemostasis in a mouse model of VWD-type 1. KB-V13A12 seems a promising candidate for further development as treatment option for patients with reduced levels of VWF.

## CO 06 - Platelet-educated Cancer cells overexpress Fibronectin as well as different glycosyltransferases

M. Langiu<sup>1</sup>, L. Crescence<sup>2</sup>, C. Dubois<sup>2</sup>, L. Panicot-Dubois<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aix Marseille University, Inserm 1263, Inrae 1260, C2VN - Marseille (France),

<sup>2</sup>Aix Marseille University, Inserm 1263, Inrae 1260, C2VN ; Aix Marseille University, PIVMI (plateforme d'imagerie Vasculaire et de Microscopie Intravitale), C2VN - Marseille (France)

**Introduction** : Cancer-associated thrombosis, also known as Trousseau's syndrome, is the second most common cause of death among cancer patients, after the disease itself. Indeed, venous thrombosis is 4 to 7 times more common in these patients. Many factors contribute to this hypercoagulable state, but one of them is the ability of tumor cells to activate platelets and induce their aggregation (TCIPA). This phenomenon of cancer cell-educated platelets is associated with higher metastatic potential. Nevertheless, our team demonstrated the opposite concept in 2019 in which platelets educate cancer cells by transferring material to them. In this study, we aim to better understand how platelets facilitate metastasis formation during their interaction with tumor cells.

**Matériels et Méthodes** : Changes in the expression of 43 glycosyltransferases (GT) families as well as 160 genes involved in inflammation and metastasis were analyzed by RT-qPCR in digestive cancer cell lines following their interaction with platelets. Functional tests (transwell migration and invasion assay, wound healing assay, ...) and holo-tomographic microscopy were used to understand the role of the identified genes of interest in glycosylation and formation of metastasis.

**Résultats** : As platelets have been previously shown to initiate and extend glycosylation of extracellular molecules, we thought they could modify the glycosylation of cancer-cell expressed proteins during their interaction. We first demonstrated, however, that platelets by themselves express very few glycosyltransferases with limited functional activities. Using holo-tomographic microscopy we observed that tumor cells that interacted with platelets have a higher dry mass than before their interaction. This may reflect a transfer of material in a process described as platelet-educated cancer cells. Platelet-educated cancer cells are also able to proliferate significantly more than cancer cells, indicating a selective advantage in the transfer of material from platelets to the cancer cells. We screened 43 different GT families in tumor cells educated or not by platelets. Three families of GT were overexpressed (B3GNT, GCNT, C1GALTC1) respectively by 200, 100 and 60% in tumor cells after their interaction with platelets. These GT significantly increased the potential glycosylation of proteins in cancer cells. Interestingly, we also found that out of 160 genes involved in inflammation and metastasis, mRNA coding for the

glycoprotein fibronectin (FN1) was overexpressed by 160% in platelet-educated tumor cells. In tumor cells, knocking down FN1 significantly affects the migration and proliferation of the cells.

**Conclusion** : We concluded that the interaction between tumor cells and platelets can induce the over-expression of different glycosyltransferases and FN1 in tumor cells. This education may have an impact on cancer development and metastasis.



## Vendredi 12 mai 2023 – 08h30 à 10h00

## Session « Thrombose »

**CO 07 - Fibrin plays a central role in avoiding an excessive hemostatic response at site of vessel injury**

A. Yakusheva<sup>1</sup>, U. Muhammad<sup>1</sup>, C. Bourdon<sup>1</sup>, C. Fauth<sup>1</sup>, M. Flick<sup>2</sup>, M. Pantelev<sup>3</sup>, P. Mangin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université de Strasbourg, Inserm, EFS Grand Est, BPPS UMR-S1255, FMTS, F-67065 Strasbourg - Strasbourg (France),

<sup>2</sup>Division of Experimental Hematology and Cancer Biology, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Oh - Cincinnati (United States),

<sup>3</sup>Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Moscow 119991, Russia - Moscou (Russian Federation)

**Introduction :** An injury of a healthy vessel initiates an hemostatic response which is subdivided in three steps with: i) a rapid growth of a sub-occlusive plug, ii) its embolization, iii) a stabilization of a remaining patch. While the mechanism allowing the platelet plug formation is very well characterized, the one switching off the continual platelet recruitment is still unclear. The aim of this work was to define the role of fibrin in dampening thrombus formation to avoid an excessive response that could lead to vessel occlusion.

**Matériels et Méthodes :** We used WT mice and FibAEK mice with no capacity for thrombin-mediated proteolysis of fibrinogen. Intravital microscopy was used to visualize thrombus dynamics in experimental models of vascular injury based on FeCl<sub>3</sub>-, needle- and pinching-injuries. A tail-clip bleeding assay allowed to evaluate the bleeding time and the frequency of rebleeds. An in vitro flow based-assay was used to monitor platelet adhesion and thrombus formation.

**Résultats :** An arrest of platelet accumulation in three models of vascular injury appears several minutes after thrombus embolization and coincides with the time at which fibrin occupies the maximal area within the plug, suggesting a role for fibrin in this process. In vivo experiments with rtPA injection after patch stabilization, to lyse fibrin, lead to thrombus re-growth that repeated many times. In agreement, mechanical removal of a thrombus containing a small amount of fibrin resulted in continuous re-growth which stopped only when fibrin reached its maximal level within the thrombus, indicating that platelet recruitment only stops when the fibrin level is elevated in the thrombus. Moreover, the dynamic of thrombus formation in FibAEK mice, which are unable to form fibrin, was prolonged compared to a control with successive growth and embolization phases. Concerning the mechanism, we identified an important role of thrombin in this process, since combining hirudin with rtPA prevented the regrowth process. In addition, using a flow-based assay, we provided evidence that a fibrin-rich thrombus limited platelet recruitment compared to a fibrin-poor thrombus, highlighting a passivating effect of fibrin.

**Conclusion :** In addition to well-established role of fibrin in clot stabilization, these findings identify a novel role of fibrin in prevention of the excessive response by limiting platelet adhesion to the plug after thrombus embolization.

**CO 08 - Utilisation d'un panel NGS de 24 gènes pour l'identification de variations rares associées à la maladie thromboembolique veineuse**

P. Suchon<sup>1</sup>, C. Bernard<sup>1</sup>, N. Saut<sup>2</sup>, M.-C. Alessi<sup>1</sup>, D.A. Tréguët<sup>3</sup>, P.E. Morange<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Aix Marseille Univ, Inserm, Inrae, C2VN - Marseille (France),

<sup>2</sup>Service d'hématologie Biologique, Hôpital de La Timone - Marseille (France),

<sup>3</sup>Inserm UMR 1219, Bordeaux Population Health Research Center, University of Bordeaux - Bordeaux (France)

**Introduction :** Le bilan de thrombophilie constitutionnelle ne permet d'expliquer qu'une faible part des épisodes de maladie thromboembolique veineuse (MTEV). Toutefois, ce bilan se limite à la recherche de 5 anomalies biologiques (déficits en antithrombine, protéine C, protéine S, facteur V Leiden, variation G20210A du gène de la prothrombine). L'objectif de notre étude est d'évaluer l'apport du séquençage haut débit pour l'identification de variations potentiellement responsables de MTEV chez des patients présentant un bilan de thrombophilie négatif.

**Matériels et Méthodes :** Les patients sélectionnés ont bénéficié du séquençage d'un panel de 24 gènes précédemment décrits comme associés au risque de MTEV : F2, F3, F5, F7, F8, F9, F10, F11, F12, F13A1, F13B, FGA, FGB, FGG, KNG1, PROC, PROCR, PROS1, SERPINC1, SERPINE1, SLC44A2, TFPI, THBD, VWF. Toute variation (régions codantes/régulatrices) identifiée et présentant une fréquence allélique dans la population générale inférieure à 0,1% a été classée selon les recommandations de l'American College of Medical Genetics. Seules les variations de classe 3 (signification indéterminée), 4 (potentiellement délétères) et 5 (pathogènes) ont été recensées.

**Résultats :** 139 patients ont été étudiés. Le sexe ratio était de 1. L'âge moyen au 1er épisode de MTEV était de 35 ans ; 68% des patients présentaient un antécédent au 1er degré de MTEV. 56 variations ont été identifiées chez 51 patients. Les variations étaient majoritairement de classe 3 (n = 35 ; 62%). 22 variations étaient situées sur les gènes SERPINC1, PROC et PROS1 codant pour l'antithrombine, la protéine C et la protéine S. Parmi elles, nous avons observé 3 variations récurrentes : 3 patients présentaient la variation Dublin et 2 patients la variation Cambridge II situées sur SERPINC1 ; 5 patients étaient porteurs de la variation Heerlen située sur PROS1. Parmi ces 22 variations, 19 ont été identifiées chez des patients présentant des taux plasmatiques normaux pour la protéine concernée. Les 3 autres variations ont été mises en évidence chez des patients sous traitement anticoagulant. Parmi les autres gènes évalués, le gène F2 présentait le plus grand nombre de variations de classe 4. Deux des 3 variations de classe 4 mises en évidence sur F2 n'étaient pas présentes dans les bases de données de population générale. La première, p.R541W, a déjà été décrite dans la littérature (PMID 31582550, 32194638). Nous l'avons identifiée chez 2 patients non apparentés. Il pourrait s'agir d'une variation récurrente chez les patients symptomatiques. La seconde variation, p.R425L, n'est pas rapportée dans la littérature. Elle a également été identifiée chez 2 patients non apparentés. Les 2 variations identifiées ségrégent avec le phénotype thrombotique dans les familles explorées.

**Conclusion :** Cette étude a permis l'identification de variations potentiellement responsables d'épisodes de MTEV malgré un bilan de thrombophilie négatif. Le taux d'identification de variations potentiellement pathogènes était de 14%. En prenant en compte les variations de classe 3, ce taux était de 37%. Le séquençage des gènes des inhibiteurs de la coagulation pourrait permettre d'identifier des variations potentiellement délétères en l'absence de déficit plasmatique. Il est nécessaire d'effectuer des études fonctionnelles pour valider le rôle des variations nouvellement identifiées.

Gènes identifiés

Nombre de variations identifiées				
Gène	Variations récurrentes	Classe 4	Classe 3	Jamais rapportées [classe 4/classe 3]
SERPINC1	Dublin : n = 3 Cambridge II : n = 2	1	3	1 [0/1]
PROS1	Heerlen : n = 5	0	5	1 [0/1]
PROC		2	1	1 [0/0]
F2		3	1	2 [2/0]
F3		0	1	0
F5	Cambridge : n = 1	0	6	2 [0/2]
F7		0	1	1 [0/1]
F8		0	3	0
F9		0	0	0
F10		1	1	1 [1/0]
F11		0	1	0
F12		0	1	0
F13A1		0	3	0
F13B		0	1	0
FGA		1	1	1 [0/1]
FGB		0	0	0
FGG		0	2	0
KNG1		0	0	0
PROCR		0	0	0
SERPINE1		0	0	0
SLC44A2		0	0	0
TFPI		0	1	1 [0/1]
THBD		0	1	1 [0/1]
VWF		0	1	0

CO 09 - A single-domain antibody enhancing protein S activity reduces vaso-occlusion in a murine model of sickle cell disease

C. Auditeau<sup>1</sup>, T. Maciel<sup>2</sup>, J.C. Sedzro<sup>1</sup>, C. Roussel<sup>3</sup>, A. Fricot-Monsinjon<sup>3</sup>, M. Khamari<sup>1</sup>, I. Peyron<sup>1</sup>, O. Christophe<sup>1</sup>, L. Peter<sup>1</sup>, D. Cécile<sup>1</sup>, B. Delphine<sup>1</sup>, S. François<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR\_S 1176 Inserm, Université Paris-Saclay - Le Kremlin-Bicêtre (France),  
<sup>2</sup>Institut Imagine, Inserm U1163, Université Paris Cité, Laboratory of Excellence Gr-Ex - Paris (France),  
<sup>3</sup>Biologie Intégrée du Globule Rouge, Université de Paris Cité - Paris (France)

**Introduction :** Ongoing coagulation activation is involved in sickle cell disease (SCD). Moreover, SCD patients have lower Protein S (PS) levels than healthy volunteers, with a further reduction during vaso-occlusive crises (VOC). PS003biv is the dimeric form of a recently described anti-PS single-domain antibody (sdAb) enhancing the activated protein C-cofactor activity of PS and exerting an antithrombotic effect in vivo, which makes it potentially relevant in SCD.

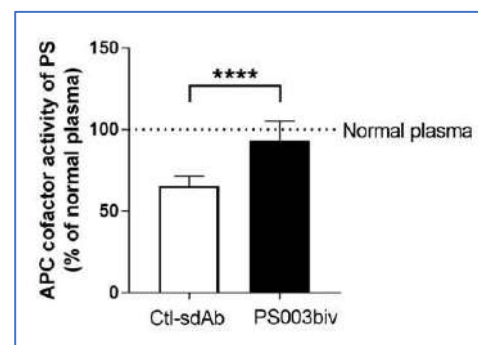
**Matériels et Méthodes :** PS003biv effect on PS activity in SCD patients was assessed with a clotting-based assay in plasma. We tested PS003biv effect on VOC in SCD Townes mice by intravenously injecting PS003biv at 10 mg/kg before triggering VOC with a hypoxia/reoxygenation injury model. Vaso-occlusion was quantified by Ter-119 immunofluorescence staining of red blood cells (RBC) congesting vessels in the liver and spleen. Bilirubin, heme, and thrombin-antithrombin complexes (TAT) were measured in plasma.

**Résultats :** PS003biv increased PS activity in SCD patients (control sdAb 65.5±2.3% versus PS003biv 93.5±4.5%, p<0.0001). PS003biv decreased RBC accumulation and vaso-occlusion, as evidenced by a reduced Ter-119 staining in the liver and spleen (liver control: 13.6±1.5x10<sup>6</sup> versus PS003biv 7.3±0.4x10<sup>6</sup> AU p<0.05; spleen control 5.6±0.2x10<sup>7</sup> versus PS003biv 5.0±0.1x10<sup>7</sup> AU, p<0.05).

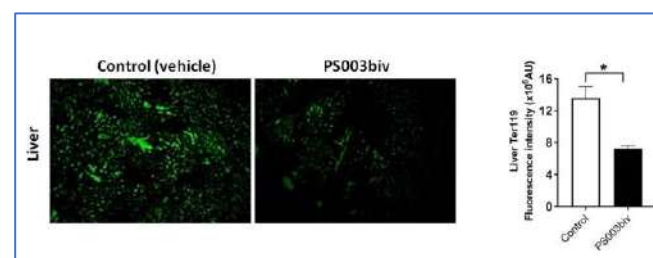
PS003biv-treated mice displayed lower levels of hemolysis biomarkers (bilirubin control 6.9±0.2 versus PS003biv 4.9±0.6mg/dL p<0.05; heme control 133.0±10.4 versus PS003biv 77.5±5.3µM p<0.05); and reduced coagulation activation (TAT control: 10.1±0.7 versus PS003biv 7.5±0.3ng/mL, p<0.05).

**Conclusion :** PS003biv significantly enhanced the activated protein C-cofactor activity of PS in SCD patients and reduced vaso-occlusion, hemolysis, as well as coagulation activation in a hypoxia/reoxygenation injury model of VOC in SCD mice. The precise mechanism of action of PS003biv remains to be determined.

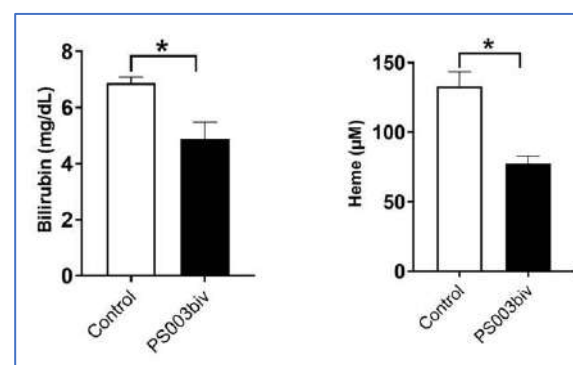
PS003biv effect on PS activity in SCD patients



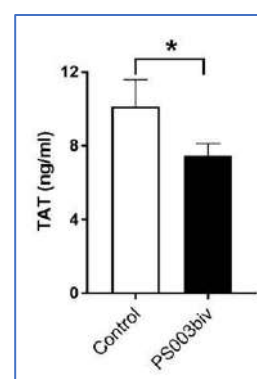
PS003biv decreased VOC in the liver of SCD mice



PS003biv reduced hemolysis in SCD mice



PS003biv lowered coagulation activation in SCD mice



### CO 10 - Coopération fonctionnelle entre différents anticorps anti-FP4 : un nouveau mécanisme physiopathologique dans la TIH ?

S. Billy<sup>1</sup>, C. Vayne<sup>2</sup>, N. Charuel<sup>1</sup>, C. Lois<sup>1</sup>, M. Atsouawe<sup>1</sup>, C. Pouplard<sup>2</sup>, Y. Gruel<sup>2</sup>, J. Rollin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Université de Tours, EA4245 Transplantation, Immunologie et Inflammation - Tours (France),

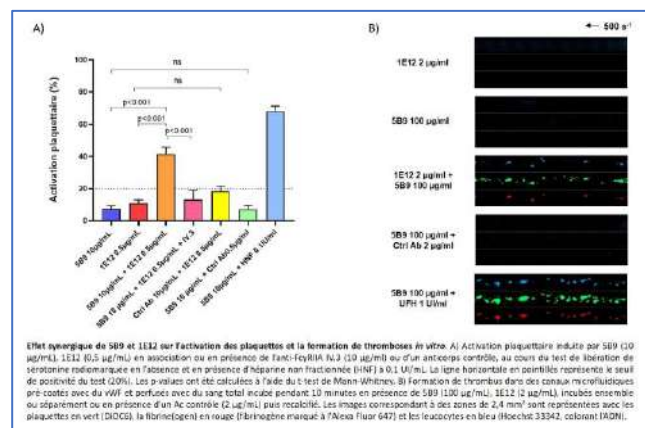
<sup>2</sup>Centre Hospitalier Régional de Tours, Service d'hématologie-Hémostase et Université de Tours, EA4245 Transplantation, Immunologie et Inflammation - Tours (France)

**Introduction :** La thrombopénie induite par l'héparine (TIH) est une complication rare mais grave des traitements hépariniques, fréquemment associée à des thromboses. Les anticorps (Ac) d'isotype IgG dirigés contre le facteur plaquettaire 4 modifié par l'héparine (anti-FP4/H) jouent un rôle central dans la TIH, en activant les plaquettes et les leucocytes via le récepteur FcγRIIA. Certains patients développent simultanément des Ac d'isotype IgG dirigés contre le FP4 natif (anti-FP4) mais leur implication dans la physiopathologie des TIH reste peu connue. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude a été d'évaluer l'impact de la présence conjointe des 2 types d'Ac, anti-FP4/H et anti-FP4, sur l'activation cellulaire et la formation de thromboses.

**Matériels et Méthodes :** La fixation à la surface des plaquettes de deux Ac monoclonaux chimériques, anti-FP4/H (5B9) ou anti-FP4 seul (1E12), mimant ceux présents chez les patients atteints de TIH, a été évaluée par cytométrie en flux (CMF). De plus, l'activation et l'agrégation des plaquettes induites par ces Ac testés seuls ou incubés ensemble ont été étudiées. Enfin, la formation de thromboses in vitro a été évaluée en conditions de flux veineux.

**Résultats :** 5B9 (20 µg/mL) induit typiquement une activation des plaquettes uniquement en présence de concentrations thérapeutiques d'héparine. Mais lorsqu'il est co-incubé avec une très faible concentration d'1E12 (0,5 µg/mL), une activation plaquettaire significative en l'absence d'héparine est observée (figure A). Cette coopération fonctionnelle entre ces deux Ac est Fc-dépendante puisqu'elle est inhibée par IV.3, Ac qui bloque le FcγRIIA. Cette activation n'est pas observée si les fragments Fab'2 de 1E12 et 5B9 sont testés. Cette coopération pourrait résulter d'une augmentation significative de la fixation de 5B9 à la surface des plaquettes en présence de 1E12 (0,5 µg/ml), comme nous l'avons montré en CMF. De plus, 5B9 augmente aussi la fixation de 1E12 à la surface des plaquettes. Dans un modèle de thrombose en conditions de flux veineux, lorsque du sang total est incubé sans héparine avec 5B9 (100 µg/mL) et une faible concentration de 1E12 (2 µg/mL), de nombreux agrégats leuco-plaquettaires riches en fibrine sont observés, et sont similaires à ceux obtenus lorsque 5B9 est incubé seul en présence d'héparine (1 UI/mL) (figure B).

**Conclusion :** Pour la première fois, nous avons démontré l'existence d'une coopération fonctionnelle entre des anticorps anti-FP4 de spécificité différente. Bien que les mécanismes moléculaires à la base de cette synergie soient encore inconnus, nos résultats soulignent le rôle majeur des fragments Fc des deux types d'anticorps. Ces résultats suggèrent que la présence conjointe d'IgG anti-FP4 et anti-FP4/H pourrait favoriser l'activation plaquettaire et le risque de thromboses au cours de la TIH, même après arrêt de l'héparine.



### CO 11 - Prise en charge du PTT acquis par le caplacizumab : retour d'expérience en vie réelle d'un centre de référence régional

J. Pérotte<sup>1</sup>, E. Martin<sup>2</sup>, M. Desvages<sup>1</sup>, C. Zawadzki<sup>1</sup>, E. Jeanpierre<sup>1</sup>, A. Tournoy<sup>1</sup>, A. Dupont<sup>1</sup>, S. Susen<sup>1</sup>, F. Provôt<sup>3</sup>, A. Bauters<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CHU Lille, Institut d'hématologie-Transfusion - Lille (France),

<sup>2</sup>CHU Lille, Pharmacie Centrale - Lille (France),

<sup>3</sup>CHU Lille, Service de Néphrologie - Lille (France)

**Introduction :** Le purpura thrombotique thrombocytopenique acquis (PTT-a) est une pathologie grave et rare provoquée par l'accumulation de multimères de facteur Willebrand (VWF) de haut poids moléculaire (HPM) secondaire à un déficit acquis en protéase de clivage ADAMTS13. La fixation des plaquettes sur ces multimères de HPM est responsable de la formation de microthrombi et des atteintes d'organes. Le caplacizumab est un nanobody inhibiteur de la liaison plaquettes-VWF. Nous rapportons rétrospectivement les données du centre lillois sur la prise en charge de 30 patients atteints de PTT-a traités par caplacizumab.

**Matériels et Méthodes :** En cas de suspicion de PTT, le dosage de l'ADAMTS13 (TECHNOZYM® ADAMTS13 Activity) et la recherche des anticorps anti-ADAMTS13 (TECHNOZYM® ADAMTS13 INH) sont réalisés en moins de 48h. Depuis 2019, 30 patients atteints d'un PTT-a (ADAMTS13 < 10%) ont ainsi bénéficié du protocole de prise en charge thérapeutique associant caplacizumab, échanges plasmatiques et traitements immunosuppresseurs (corticoïdes et rituximab). Ces patients ont ensuite été suivis régulièrement en consultation à l'issue desquelles est réalisé un bilan biologique afin de dépister une rechute éventuelle.

**Résultats :** Les caractéristiques démographiques et biologiques au diagnostic sont résumées dans le tableau 1.

Les données d'évolution des patients issues de cette étude monocentrique en vie réelle avec prise en charge protocolisée confirment l'efficacité du caplacizumab en termes de délai de normalisation des plaquettes (médiane = 4 jours, IQR 4 – 6), de réduction du nombre d'échanges plasmatiques (médiane = 4 échanges, IQR 4 – 6) et de durée d'hospitalisation (médiane = 10 jours, IQR 7 – 13) par rapport aux données de la littérature<sup>1</sup>. Deux événements hémorragiques modérés ont été observés. Un décès est survenu à J14. Il n'a pas été observé de forme réfractaire. Un patient a présenté une exacerbation suite à l'arrêt à J30 du caplacizumab malgré une activité ADAMTS13 toujours < 20%. En revanche, 27% (n = 8) des patients ont rechuté (dont 5 uniquement sur critères biologiques) dans un délai de 373 jours (IQR 169 – 787) au cours d'un suivi de 920 jours (IQR 831 – 1164). Comparativement, le délai de suivi des patients n'ayant pas rechuté est de 676 jours (IQR 175 – 849).

Aucun facteur de risque de rechute n'a été identifié concernant les données biologiques au diagnostic ou les données d'évolution clinique.

**Conclusion :** Ces résultats confirment que le caplacizumab améliore la réponse initiale au traitement et réduit le nombre d'exacerbations et de cas réfractaires. Nous avons par contre observé un nombre de rechutes important, déjà souligné par d'autres équipes 2,3. Des études complémentaires sont nécessaires afin de mesurer les conséquences éventuelles de la modification de la prise en charge thérapeutique par le caplacizumab sur le risque de rechute.

**Tableau 1 : Caractéristiques démographiques et biologiques des 33 patients atteints de PTT-a au diagnostic**

	Unité	n (%) / médiane (IQR)
Sexe féminin		22 (73%)
Âge lors du premier épisode traité par Caplacizumab	Années	37 (24 - 53)
Hémoglobine	g/dL	8,5 (6,5 - 9,5)
Plaquettes	G/L	10 (8 - 22)
LDH	UI/mL	1244 (862 - 1836)
Créatinine	mg/dL	11 (8 - 13)
Activité ADAMTS13	%	0 (0 - 0)
IgG anti-ADAMTS13	U/mL	64 (40 - 240)

## CO 12 - TLN1 et RAB38 : potentiels acteurs moléculaires au cours de l'atteinte plaquettaire liée à des mutations de FLI1

E. Gabinaud<sup>1</sup>, M. Veneziano Broccia<sup>2</sup>, L. Hannouche<sup>1</sup>, T. Bigot<sup>1</sup>, E. Andersen<sup>1</sup>, D. Bastelica<sup>1</sup>, M. Ibrahim<sup>1</sup>, A. Bauters<sup>1</sup>, P. Saultier<sup>1</sup>, M.C. Alessi<sup>1</sup>, M. Poggi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>C2VN - Marseille (France),

<sup>2</sup>Aix-Marseille Université - Marseille (France)

**Introduction :** Des variations ponctuelles dans le gène codant le facteur de transcription FLI1 sont responsables de thrombopénies non syndromiques de transmission autosomique dominante associées à un défaut d'agrégation plaquettaire, un déficit en granules denses et la présence de granules alpha géants. Bien que les études menées jusqu'à présent aient fourni des informations sur le rôle joué par FLI1 dans la mégacaryopoïèse et la formation des plaquettes, les mécanismes moléculaires qui sous-tendent cette maladie ne sont pas connus. Notre objectif est d'identifier les dérégulations transcriptionnelles, causées par les mutations de FLI1, dans les mégacaryocytes (MKs).

**Matériels et Méthodes :** Les MKs ont été différenciés in vitro à partir de cellules circulantes CD34+ d'un porteur du variant R337Q et de deux sujets contrôles. Les profils transcriptomiques ont été analysés par single-cell RNA-seq. Les plaquettes issues de 5 porteurs de deux mutations préalablement décrites (Arg337Gln, Lys345Glu) (Saultier et al., Haematologica 2017) et de deux mutations nouvelles (Gly307Arg et Arg340Cys) ont été phénotypées (numération, agrégation, étude granulaire, expression protéique).

**Résultats :** Les variants Gly307Arg et Arg340Cys ont été identifiés respectivement chez une patiente atteinte de thrombopénie modérée et chez un garçon présentant des antécédents hémorragiques, associés dans les 2 cas à des granules alpha géants. Comme pour les variants déjà caractérisés, les nouveaux variants surexpriment la protéine MYH10 dans les plaquettes et les protéines FLI1 mutées présentent un défaut de localisation nucléaire et une perte d'activité transcriptionnelle.

Les MK Arg337Gln présentent un profil transcriptomique très différent de celui des cellules contrôles : 119 gènes sont différentiellement exprimés (Fold change >1.5, Padj<0.05): 89 gènes « up » et 30 gènes « down » régulés dans les MKs mutés. Parmi le top 5 des voies dérégulées, deux sont fortement

réprimées : la voie de l'agrégation et de la dégranulation plaquettaire. La diminution de l'expression du gène de la taline, impliquée dans l'activation de l'intégrine  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  a été confirmée au niveau protéique dans des HEL transduites par deux des variants étudiés et dans les plaquettes (87% de diminution (5 patients vs 9 contrôles),  $p < 0.001$ ). Des données de ChipSeq indiquent 4 sites de fixation de FLI1 sur le gène de la taline (Tijssen et al., Developmental Cell 2011). Ces régions régulatrices sont en cours de validation fonctionnelle. La mise en évidence d'une forte augmentation de la quantité intra plaquettaire du marqueur d'immaturité granulaire Rab38 (56% d'augmentation (5 patients vs 9 contrôles),  $p < 0.01$ ) suggère une perturbation du trafic vésiculaire endosomal.

**Conclusion :** Cette étude caractérise deux nouveaux variants de FLI1. Les résultats identifient deux biomarqueurs potentiels de la thrombopénie liée à FLI1 et soulignent son rôle dans la régulation de l'expression de la taline et de Rab38 pouvant avoir des conséquences au niveau plaquettaire.

## Vendredi 12 mai 2023 – 08h30 à 10h00

## Session « Hémorragie »

**CO 13 - Emicizumab ameliorates haemostasis in a von Willebrand Disease-type 3 murine model**

G. McCluskey<sup>1</sup>, E. Bocquet<sup>1</sup>, O.D. Christophe<sup>1</sup>, P.J. Lenting<sup>1</sup>, C.V. Denis<sup>1</sup>, C. Casari<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inserm U1176 - Kremlin-Bicêtre (France)

**Introduction :** Von Willebrand Disease (VWD)-type 3 is characterised by severe quantitative defects of von Willebrand Factor (VWF) and a secondary factor VIII (FVIII) deficiency. Emicizumab is a bispecific antibody used to treat hemophilia A patients, and has been successfully used off-label in a few VWD-type 3 patients. This re-ignited the question whether restoring FVIII-like activity improves the bleeding phenotype in these patients. The aim was to assess the effects of emicizumab on haemostasis parameters in a VWD-type 3 mouse model.

**Matériels et Méthodes :** Thrombin generation assays (TGA) were performed on VWF-deficient (vwf<sup>-/-</sup>) plasma supplemented with emicizumab (55µg/ml), human factors IX (FIX) and X (FX), or FVIII (10%). Collagen-coated parallel-plate flow chambers were perfused with whole blood in presence or absence of emicizumab. In vivo, a tail-vein-transection (TVT) bleeding assay was performed in mice receiving emicizumab (5mg/kg) in conjunction with FIX and FX, FVIII (10%) or vehicle.

**Résultats :** In vitro, global coagulation was significantly improved in VWD-type 3 plasma in the presence of emicizumab compared to vehicle conditions (peak of thrombin generation was 81.4±7.7nM versus 36.8±7.1nM respectively, p=0.002). In perfusion assays, in vitro thrombus formation was significantly increased in presence of emicizumab, with a 1.8-fold increase in platelet adhesion (14.5±2.2% versus 8.1±1.8%, p=0.004) and a 1.3-fold increase in thrombus size (412.2±68.4AU versus 308±20.2AU, p=0.02). Mirroring in vitro results, emicizumab improved haemostasis in a TVT assay. Upon injury, bleeding ceased within 5min in 5 out of 7 mice receiving emicizumab, whereas none of the vehicle-treated mice arrested bleeding (p=0.03). Accordingly, the amount of blood lost within 30min was decreased 2.2-fold in emicizumab-treated mice compared to vehicles (248.4±242µl versus 537.2±123.3µl, p=0.042). Interestingly, FVIII was unable to significantly ameliorate haemostasis in this model.

**Conclusion :** Consistent with clinical observations, emicizumab mitigated the bleeding phenotypes in a mouse model of VWD-type 3, suggesting that emicizumab assists in restoring primary clot formation by improving the coagulation potential and platelet-dependent thrombogenic capacity. The efficacy of emicizumab in VWD-type 3 patients should be assessed in appropriate clinical trials. Further studies are necessary to determine whether emicizumab could be useful in patients with other VWD types.

**CO 14 - Suspicion de traumatismes infligés de l'enfant : quel bilan ? dans quelle situation ?**

C. Nougier<sup>1</sup>, L. Krebs<sup>2</sup>, A. Harroche<sup>3</sup>, M. Granjon<sup>4</sup>, F. Nedelec<sup>5</sup>, F. Paysant<sup>2</sup>, M. Balencon<sup>6</sup>, S. Meunier<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Centre de Biologie et Pathologie Est, Laboratoire d'hématologie, Hospices Civils de Lyon - Bron (France),

<sup>2</sup>Service de Médecine Légale Clinique, CHU Grenoble Alpes, - La Tronche (France),

<sup>3</sup>Service d'hématologie Clinique Centre de Traitement de l'hémophilie, Hôpital Necker AP-HP - Paris (France),

<sup>4</sup>UAPED, CHU Morvan - Brest (France),

<sup>5</sup>Laboratoire d'hématologie-Hémostase, CHU Rennes-Hôpital Pontchaillou - Rennes (France),

<sup>6</sup>CASED, CHU Rennes Hôpital Sud 16 Boulevard de Bulgarie - Rennes (France),

<sup>7</sup>Centre de Référence de l'hémophilie et Maladies Hémorragiques Constitutionnelles Rares ; Unité d'hémostase, Groupement Hospitalier Est-HCL - Bron (France)

**Introduction :** Dans l'objectif de définir un bilan biologique consensuel indispensable dans les situations de suspicion de traumatismes infligés de l'enfant, nous avons souhaité recenser les pratiques de prescriptions des bilans biologiques dans 3 situations :

- Devant des lésions hémorragiques d'allure traumatiques (ecchymoses, hématomes, purpura...) chez un enfant non déambulant (<9 mois)
- Devant un cas de saignement intracrânien de l'enfant non déambulant
- Devant des lésions hémorragiques d'allure traumatiques (ecchymoses, hématomes, purpura...) chez le jeune enfant après l'acquisition de la marche

Pour chacune de ces situations, les bilans biologiques de première et deuxième intention ont été recensés.

**Matériels et Méthodes :** Un questionnaire en ligne (Survey Monkey) a été adressé via les sociétés savantes de pédiatrie (SFP), de médecine légale (SFMLEM) et de pédiatrie médicolegale (SFPML, de réanimation et d'urgences pédiatrique (GFRUP), d'hémostase (CoMETH, GFHT) et de pédiatrie ambulatoire (AFPA). Les réponses ont été collectées du 21 mars 2022 au 20 mai 2022.

**Résultats :** 432 professionnels ont répondu, en provenance de la France métropolitaine et outre-mer, dont 72% de pédiatres, 13% de biologistes, 9% de médecins légistes (pédiatres ou non). Les professionnels exerçaient en CHU (53,5%), en CHG (19,5 %) ou hors structures hospitalières (27% - cabinet, établissements de la petite enfance). Hormis la numération plaquettaire et le bilan de coagulation (>70% des réponses) qui font partie du bilan de première intention, il n'existe pas de consensus sur un bilan biologique complémentaire, les réponses dépendant des catégories professionnelles et/ou du type d'établissement d'exercice. Plus de 20% des professionnels de santé ayant répondu ne sollicitent aucun bilan de seconde intention ou d'avis si les résultats du bilan initial sont normaux. Lorsqu'un bilan de 2nde intention est sollicité il n'existe pas de consensus dans les situations 1, 2 ou 3 respectivement : exploration du VWF (23%, 15% et 15% des cas), dosages des facteurs VIII, IX, XI (21%, 10%, 13% des cas), agrégation plaquettaire (12%, 10% et 11% des cas), dosage de FXIII (22%, 12% et 15%). Dans 58% des réponses, aucune justification n'est donnée concernant le choix des prescriptions. Lorsque la prescription est justifiée (plusieurs réponses possibles) : dans 61% des cas le choix des examens prescrits est basé sur l'expérience personnelle, dans 45% des cas sur les recommandations de l'HAS, 32% des cas sur un consensus d'expert local, dans 17% des cas sur les préconisations des sociétés savantes et dans 6% des réponses sur les données de la littérature.

**Conclusion :** Lors de situations de suspicion de traumatismes infligés, quel que soit l'âge ou la spécialité du praticien, la majorité des prescriptions ou l'analyse de la pertinence des données biologiques contenues dans les dossiers restent basées sur l'expérience personnelle. Ces données sont confortées par l'absence de recommandation suffisamment partagée pour être appliquée de tous. Ce constat d'hétérogénéité, confirme la nécessité d'harmoniser nos recommandations dans ces situations, sur le modèle récemment publié par les anglais en 2022 (Biss T et al. Br J Haematol. 2022 Oct;199(1):45-53).

## CO 15 - Poor FcRn-mediated recycling accounts for the limited increase in FVIIIc half-life

A. Reyes Ruiz<sup>1</sup>, S. Delignat<sup>1</sup>, V. Davenport<sup>1</sup>, O.D. Christophe<sup>2</sup>, C.V. Denis<sup>2</sup>, J.D. Dimitrov<sup>1</sup>, S. Lacroix-Desmazes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Centre de Recherche des Cordeliers, CNRS, Sorbonne Université, Université de Paris, F-75006 Paris, France - Paris (France),

<sup>2</sup>Laboratory for Hemostasis, Inflammation & Thrombosis, Unité Mixte de Recherche 1176, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Université Paris-Saclay, 94276 Le Kremlin-Bicêtre, France - Paris (France)

**Introduction :** Recombinant Fc-fused FVIII (FVIIIc) is used to correct bleeding in hemophilia A patients. The 1.5-fold increase in half-life achieved upon fusing FVIII to the Fc fragment is disappointing as compared to the gain obtained for FIXFc (3-fold). Such a limited increase in half-life is explained by the binding of the FVIII moiety of FVIIIc to its chaperon, von Willebrand factor (VWF). Indeed, while binding of FVIII to VWF increases its half-life from 20 min to 12-15 hr, it favors the catabolism of the FVIII/VWF complex by VWF-specific receptors. This is highlighted by the 30-40 hr half-life of BIVV001, a Fc-fused heterodimer wherein the FVIII light chain is shielded by a recombinant D'D3 protein and cannot interact with endogenous VWF.

The recycling of Fc-fused proteins involves the binding, following endocytosis, of their Fc fragment to the neonatal Fc receptor (FcRn) at acidic pH. The protein is thus rescued from lysosomal degradation, recycled at the cell surface and release from FcRn at neutral pH. Interestingly, positive charges in the variable regions of some human monoclonal IgG were shown to affect the recycling of the IgG by favoring interaction with the FcRn at neutral pH, thus preventing extracellular release and fostering lysosomal degradation. Because the FVIII C1 and C2 domains contain positively charged residues, we hypothesized that, in addition to endogenous VWF-mediated catabolism, binding of FVIII to the FcRn may play a role in its poor recycling and hence short half-life.

**Matériels et Méthodes :** FVIIIc, FIXFc, FVIIIIR2090A/K2092A/F2093A/R2215AFc (FVIIIIC1C2Fc) and a human monoclonal IgG were used. Binding to the human (h) and mouse (m) FcRn was studied by surface plasmon resonance at pH6 and 7.4 using a Biacore. Lysosomal routing was studied with human placental BeWo cells by confocal microscopy. Half-lives were evaluated in VWF-KO mice.

**Résultats :** At pH6, the binding affinities of FVIIIc, FIXFc and hIgG were similar both for mFcRn (KD= 0.23-1.03 nM) and for hFcRn (KD= 1.31-8.37 nM). At pH7.4, FVIIIc bound both mFcRn and hFcRn, while FIXFc and hIgG did not. Masking the C1 or C2 domains of FVIII using F(ab')<sub>2</sub> fragments from specific monoclonal IgG reduced the binding of FVIIIc to FcRn at neutral pH. Anti-A2 F(ab')<sub>2</sub> fragments had no effect. A FVIIIIC1C2Fc mutant bound normally to FcRn at pH6 and marginally at pH7.4. In contrast to FVIIIc, FVIIIIC1C2Fc did not colocalize with dextran-AF555, suggesting rescue from lysosomal degradation. Accordingly, FVIIIIC1C2Fc showed a longer half-life than FVIIIc in VWF-KO mice.

**Conclusion :** Our results suggest that binding to FcRn of the C1 and C2 domains of Fc-fused FVIII at neutral pH favours FVIIIc routing towards lysosomes: mutations in C1 and C2 prevented FVIIIc binding to FcRn at neutral pH, decreased its intracellular degradation and increased its half-life in vivo. We hypothesize that binding to endogenous VWF is not the only reason for a poor gain in half-life of therapeutic FVIIIc.

## CO 16 - Hypofibrinogénémie du péri-partum : causes et conséquences cliniques associées

G. Maurel<sup>1</sup>, A. Le Gouez<sup>1</sup>, C. Desconclois<sup>1</sup>, A. Vivanti<sup>1</sup>, F. Mercier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hôpital Antoine Béchère - Clamart (France)

**Introduction :** Le fibrinogène, protéine plasmatique synthétisée par le foie jouant un rôle central dans l'hémostase, augmente physiologiquement au cours de la grossesse. Ainsi, Huissoud et al. (1), en étudiant 4022 patientes, ont décrit le premier percentile du taux de fibrinogène à partir de 30 semaines d'aménorrhée (SA) à 2,9 g/l. L'hypofibrinogénémie du péripartum a, jusqu'à présent, été principalement étudiée sous l'angle de l'hémorragie du postpartum (HPP ; 2,3). Cependant, l'étude FIDEL (4) ayant montré que la supplémentation systématique et précoce en concentrés de fibrinogène dans un contexte d'HPP n'apportait pas de bénéfice en termes de pertes sanguines, il paraît nécessaire d'approfondir les connaissances sur les facteurs de risque d'hypofibrinogénémie au cours du péripartum, et sur les conséquences cliniques associées.

**Matériels et Méthodes :** Nous avons mené une étude rétrospective monocentrique sur 133 patientes à plus de 30 SA ayant présenté une hypofibrinogénémie  $\leq 2,9$  g/l dans le péripartum, entre 1 mois avant l'accouchement et 72h après. L'objectif principal était de déterminer la répartition des complications obstétricales associées à une hypofibrinogénémie inférieure ou égale au premier percentile.

**Résultats :** Nous avons étudié la répartition de différentes complications obstétricales associées à cette hypofibrinogénémie (tableau 1). L'hypofibrinogénémie était associée dans 99% des cas à au moins une pathologie obstétricale. 107 patientes (80%) ont présenté une HPP (pertes sanguines  $\geq 500$  ml), sévère dans 66% des cas (pertes sanguines  $\geq 1000$  ml (5)). Nous avons également constaté que certaines pathologies avaient tendance à être associées à une fibrinogénémie plus basse, comme l'embolie amniotique, avec une médiane à 1 g/l (intervalle interquartile [0,5 ; 1,6]), l'hématome rétro-placentaire (HRP : 1,7 g/l [1,5 ; 2,5]), ou le sepsis (1,9 g/l [1,5 ; 2,5]), par rapport à l'ensemble des patientes ayant développé une HPP (2,6 g/l [2,0 ; 2,8]). Le taux de fibrinogène avant supplémentation était linéairement lié à la sévérité des pertes sanguines ( $p = 3.10^{-6}$ ). 31 patientes (23% de la cohorte) avaient une hypofibrinogénémie diagnostiquée avant l'accouchement, parmi lesquelles 23 (74%) présentaient une prééclampsie. Ces 31 patientes ont développé une hémorragie du post-partum dans 45% des cas.

**Conclusion :** Une hypofibrinogénémie inférieure au premier percentile au cours du péripartum est associée à une complication obstétricale dans 99% des cas. La diminution du taux de fibrinogène au cours du péripartum est le plus fréquemment liée à une hémorragie du postpartum, et sa diminution précoce dans ce contexte est associée à la sévérité des pertes sanguines. En outre, certaines pathologies comme l'HRP, l'embolie amniotique, ou le sepsis, doivent amener à dépister précocement une hypofibrinogénémie. Enfin, la signification clinique de l'hypofibrinogénémie dans un contexte de prééclampsie, diagnostiquée avant l'accouchement, reste à préciser.

**Complications associées à une hypofibrinogénémie**

Hémorragie du post-partum	107 (80%)
Dont :	
Atonie utérine	46 (42%)
Complications chirurgicales de la césarienne	21 (20%)
Rétention placentaire	14 (13%)
Plaie de la filière génitale	14 (13%)
Placenta prævia	7 (7%)
Placenta accreta	4 (4%)
Rupture utérine	2 (2%)
HRP	12 (9%)
Prééclampsie	46 (35%)
HELLP syndrome	22 (17%)
Embolie amniotique	4 (3%)
MFIU	5 (4%)
IMG	2 (2%)
Sepsis	3 (2%)
COVID-19	2 (2%)
Cause d'hypofibrinogénémie inconnue	1 (1%)

**Bibliographie**

- Huissoud C. Rôle et évolution du fibrinogène chez la femme enceinte : analyses en sang total par thrombo-élastométrie et implications pour les hémorragies de la délivrance. Lyon 1; 2011. Disponible sur: <http://www.theses.fr/2011LY010320>
- Charbit B, Mandelbrot L, Samain E, Baron G, Haddaoui B, Keita H, et al. The decrease of fibrinogen is an early predictor of the severity of postpartum hemorrhage. *J Thromb Haemost*. 2007;5(2):266-73.
- Cortet M, Deneux-Tharoux C, Dupont C, Colin C, Rudigoz RC, Bouvier-Colle IMH, et al. Association between fibrinogen level and severity of postpartum haemorrhage: secondary analysis of a prospective trial. *Br J Anaesth*. juin 2012;108(6):984-9.
- Ducloy-Bouthors AS, Mercier FJ, Grouin JM, Bayoumeu F, Corouge J, Le Gouez A, et al. Early and systematic administration of fibrinogen concentrate in postpartum haemorrhage following vaginal delivery: the FIDEL randomised controlled trial. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. oct. 2021;128(11):1814-23.
- Sentilhes L, Vayssières C, Deneux-Tharoux C, Aya AG, Bayoumeu F, Bonnet MP, Djoudi R, Dolley P, Dreyfus M, Ducroux-Schouwey C, Dupont C, François A, Gallot D, Haumonté JB, Huissoud C, Kayem G, Keita H, Langer B, Mignon A, Morel O, Parant O, Pelage JP, Phan E, Rossignol M, Tessier V, Mercier FJ, Goffinet F. Postpartum hemorrhage: guidelines for clinical practice from the French College of Gynaecologists and Obstetricians (CNGOF): in collaboration with the French Society of Anesthesiology and Intensive Care (SFAR). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016 Mar;198:12-21.

**CO 17 - Impact du déficit en FII, FVIII ou FIX sur le défaut de minéralisation osseuse sur un modèle animal (Zebrafish)**

B. Tardy<sup>1</sup>, L. Fontenille<sup>2</sup>, N. Do Khoa<sup>2</sup>, K. Kissa<sup>3</sup>, A. Montmartin<sup>4</sup>, P. Damien<sup>5</sup>, B. Tardy<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Université Jean Monnet Saint-Étienne, CHU Saint-Étienne, Centre de Traitement de l'hémophilie, Mines Saint-Etienne, Inserm, Sainbiose U1059, F-42023 Saint-Étienne, France. Inserm CIC 1408, Saint-Etienne University Hospital Center, Saint-Etienne, Rhône-Alpes, France - Saint-Etienne (France),  
<sup>2</sup>Azelead, 377 rue du Pr Blayac - Montpellier (France),  
<sup>3</sup>Azelead, 377 rue du Pr Blayac, Montpellier, France. Vbic, Inserm U1047, Université de Montpellier - Montpellier (France),  
<sup>4</sup>Université Jean Monnet Saint-Étienne, Mines Saint-Etienne, Inserm, Sainbiose U1059, F-42023 - Saint-Etienne (France),  
<sup>5</sup>Université Jean Monnet Saint-Étienne, CHU Saint-Étienne, Mines Saint-Etienne, Inserm, Sainbiose U1059, F-42023 Saint-Étienne, France. Inserm CIC 1408, Saint-Etienne University Hospital Center, Saint-Etienne, Rhône-Alpes, France - Saint-Etienne (France)

**Introduction :** Le mécanisme physiopathologique sous-jacent de la perte osseuse chez le patient hémophile est considéré comme multifactoriel et pourrait être en partie lié au déficit en facteur VIII (FVIII) ou en facteur IX (FIX). Les déficits en FVIII et en FIX pourraient affecter le métabolisme osseux directement et/ou indirectement par le biais d'une diminution de la génération de thrombine.

**Matériels et Méthodes :** Le Zebrafish est un excellent modèle pour explorer les maladies osseuses comme l'ostéoporose. Chez le Zebrafish, le système hémostatique (incluant les FII, FVIII et FIX) est hautement conservé aussi bien au niveau du génome qu'au niveau de l'activité des protéines correspondantes. Compte tenu de la facilité à inactiver l'expression des gènes chez le Zebrafish, celui-ci nous a paru être un modèle adapté à l'exploration du rôle des FII, FVIII et FIX sur le métabolisme osseux. Pour inactiver de manière réversible, l'expression des gènes fii, fviii et fix, nous avons utilisé

des morpholinos (MO) (oligonucléotides antisens ciblant l'ARN) spécifiques de ces gènes. Le cartilage et les os ont été colorés et observés chez des embryons MO ainsi que chez des embryons témoins à 6, 10 et 20 jours post fécondation (jpf).

**Résultats :** L'inactivation de l'expression des gènes fii, fviii et fix a entraîné une létalité embryonnaire partielle. Certains embryons survivants ont développé une dysmorphologie faciale (faces plus aplaties ou plus pointues que les embryons témoins). A 6 jpf, nous n'avons montré aucune différence sur les structures cartilagineuses entre les embryons MO et les embryons témoins. A 10 jpf, aucun des embryons MO fviii ne présentait une matrice osseuse calcifiée et 10% des embryons MO fii et fix avaient développé une fine matrice calcifiée. A 20 jpf, alors que les MO ont perdu leur fonction neutralisante sur l'ARN, le cartilage s'est différencié en os chez 100% des embryons MO et des embryons témoins.

**Conclusion :** L'inactivation réversible de l'expression des gènes fii, fviii ou fix est responsable d'une perte réversible de densité osseuse chez les embryons MO.

**CO 18 - HOPE-B adults with haemophilia B experience a stable increased factor IX activity and durable bleeding protection over 24 months**

M. Coppens<sup>1</sup>, S.W. Pipe<sup>2</sup>, W. Miesbach<sup>3</sup>, J. Astermark<sup>4</sup>, M. Recht<sup>5</sup>, B. Ewenstein<sup>6</sup>, K. Pinachyan<sup>7</sup>, S. Le Quellec<sup>7</sup>, P.E. Monahan<sup>6</sup>, F.W.G. Leebeek<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Department of Vascular Medicine, Amsterdam Cardiovascular Sciences, Amsterdam UMC, University of Amsterdam - Amsterdam (Netherlands),  
<sup>2</sup>University of Michigan - Ann Arbor (United States),  
<sup>3</sup>University Hospital Frankfurt - Frankfurt (Germany),  
<sup>4</sup>Center For Thrombosis and Haemostasis, Lund University, Skåne University Hospital - Malmö (Sweden),  
<sup>5</sup>Yale University School of Medicine - New Haven (United States),  
<sup>6</sup>CSL Behring - King of Prussia (United States),  
<sup>7</sup>CSL Behring Europe - Hattersheim Am Main (Germany),  
<sup>8</sup>Erasmus Mc, University Medical Center Rotterdam - Rotterdam (Netherlands)

**Introduction :** The Phase 3 HOPE-B trial (NCT03569891) assesses etranacogene dezaparovec, an investigational gene therapy for haemophilia B (HB) comprising an adeno-associated virus 5 (AAV5) vector and codon-optimised factor IX (FIX) Padua R338L transgene under the control of a liver-specific promoter.

**Matériels et Méthodes :** Adult male participants (n=54) with severe or moderately severe HB (FIX ≤2%), with (n=33) or without (n=21) pre-existing AAV5 neutralizing antibodies (NABs), were treated in the Phase 3, open-label, single-dose, single-arm, pivotal HOPE-B trial (NCT03569891) with 2x10<sup>13</sup> gc/kg etranacogene dezaparovec, following a ≥6-month lead-in period of FIX prophylaxis. FIX activity, annualised bleeding rate (ABR) and FIX infusions were assessed and adverse events (AEs) were recorded.

**Résultats :** Of 54 participants dosed, 53 received full dose and 52 completed 24 months' follow-up. Of 54 participants, 52 (96.3%) discontinued and remained free of continuous FIX prophylaxis from Day 21 to Months 7–24, including 20 with baseline AAV5 NAB titres ≤1:678. One participant with a higher AAV5 NAB titre (1:3212) and one who received partial dose did not express FIX Padua nor discontinue FIX prophylaxis.

Mean FIX activity was 36.9 IU/dL (standard deviation ±21.4; min-max 4.5 - 122.9) at Month 18 (n=50) and 36.7 IU/dL (±19.0; 4.7–99.2) at Month 24 post-treatment (n=50). Compared with lead-in (mean ABR 4.18), mean ABR for all bleeds during Months 7–24 post-treatment was significantly reduced by 64% (mean ABR 1.51; p=0.0002). Mean unadjusted annualised FIX consumption reduced by 97% from lead-in to Months 7–24 (257,339 vs 8946 IU/year/participant; p<0.0001).

FIX activity levels expressed were sustained at 24 months both in patients with or without pre-existing antibodies (median [min–max] NAb+  $\leq$ 1:678: 33.5% [9.1–88.3] and NAb-: 35.4% [4.7–99.2]). Over 24 months post-dose, 38 participants (70.4%) had 93 treatment-related AEs. There were no treatment-related serious AEs, one serious AE of hepatocellular carcinoma (previously reported) was determined by independent molecular genomic and integration analysis to be unrelated to treatment. Eleven HOPE-B study subjects had 12 reported adverse events of ALT elevation with a mean ( $\pm$ SD) time to first elevated ALT of 44.1 ( $\pm$ 28.6) days (earliest 22, latest 120 days), and mean elevated ALT duration of 33.0 ( $\pm$ 27.6) days. Nine subjects received oral corticosteroids per protocol, without reported serious adverse events, during a mean ( $\pm$ SD) of 81.4 ( $\pm$ 28.6) days range 51-130, at a mean ( $\pm$ SD) dose of 27.6 ( $\pm$ 5.35) mg/day. All subjects discontinued corticosteroids between days 85–170 after gene therapy.

**Conclusion :** Over 24 months' follow-up, single-dose etranacogene dezaparvovec resulted in stable FIX expression in participants with AAV5 NAbS undetected or  $\leq$ 1:678 titre; reduction in ABR remained durable and superior to FIX prophylaxis.





# Kovaltry®

Facteur VIII de coagulation humain (octocog alfa)



Traitement et prophylaxie des épisodes hémorragiques chez les patients présentant une hémophilie A (déficit congénital en Facteur VIII). Kovaltry® peut être administré à tous les groupes d'âge <sup>(1)</sup>.

Traitement de première intention chez les patients hémophiles A préalablement traités et chez les patients atteints d'une forme mineure ou modérée d'hémophilie non préalablement traités (PUPs) ; de dernière intention chez les patients atteints d'hémophilie A sévère non préalablement traités <sup>(2)</sup>.

## DE L'EXPÉRIENCE NAÎT LA CONFIANCE

- Plus de 25 000 patients à travers le monde sont traités par Kovaltry® dans la prise en charge de leur hémophilie A <sup>(3)</sup>
- Une longue expérience a démontré son efficacité et sa tolérance en prophylaxie\* avec 2 à 3 injections par semaine quel que soit l'âge des patients hémophiles A (patients ≥ 50 JCPA) <sup>(1)</sup>

Pour une information complète, vous pouvez consulter le Résumé des Caractéristiques du Produit en flashant le QR code ou directement sur la base de données publique des médicaments (<http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr>) et sur le site Bayer (<http://www.bayer.fr>)

\* En prophylaxie la posologie usuelle chez les patients adolescents (âgés de 12 ans et plus) et adultes est de 20 à 40 UI par kg de poids corporel, administrée deux à trois fois par semaine. Dans certains cas, surtout chez le sujet jeune, des intervalles plus rapprochés entre les doses ou des doses plus élevées peuvent être nécessaires. Patients ≥ 50 JCPA.

(1) Résumé des caractéristiques du produit Kovaltry®. (2) Avis de la Commission de la Transparence Kovaltry®. (3) Données PSUR : exposition cumulée au 31 août 2021.



### Conditions de prescription et délivrance :

LISTE I. Médicaments soumis à une prescription initiale hospitalière de six mois. La délivrance est réservée aux pharmacies à usage intérieur des établissements de santé. Agréé Coll. Inscrit sur la liste de rétrocession avec prise en charge à 100%. Inscrit sur la liste des spécialités prises en charge en sus de la T2A.

**Mercredi 10 mai 2023 – 18h00 à 19h30**  
**Session « Posters Commentés : Recherche fondamentale »**

**PC 01 - The IgG-degrading enzyme IdeS as an antidote to emicizumab in experimental hemophilia A**

M. Bou Jaoudeh<sup>1</sup>, A. Mimoun<sup>1</sup>, S. Delignat<sup>1</sup>, I. Peyron<sup>2</sup>, V. Daventure<sup>1</sup>, C. Deligne<sup>1</sup>, J.D. Dimitrov<sup>1</sup>, O.D. Christophe<sup>2</sup>, C.V. Denis<sup>2</sup>, P.J. Lenting<sup>2</sup>, V. Proulle<sup>3</sup>, S. Lacroix-Desmazes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Centre de Recherche des Cordeliers, CNRS, Sorbonne Université, Université Paris Cité - Paris (France),

<sup>2</sup>Laboratory for Hemostasis, Inflammation & Thrombosis, Unité Mixte de Recherche 1176, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Université Paris-Saclay - Le Kremlin-Bicêtre (France),

<sup>3</sup>Service d'hématologie Biologique et Unité Fonctionnelle d'hémostase, Hôpital Cochin, AP-HP, centre, Université Paris Cité - Paris (France)

**Introduction :** Emicizumab, a bispecific chimeric humanized IgG4, mimics the procoagulant activity of factor VIII (FVIII). Its long half-life and subcutaneous injection route have been life-changing in treating hemophilia A patients with and without FVIII inhibitors. However, emicizumab only partially mimics FVIII activity and is inefficient in treating acute bleeds. Emergency management is particularly complicated in patients with FVIII inhibitors under emicizumab prophylaxis, wherein therapeutic FVIII is inefficient and high-dose bypassing agents are associated with thrombotic risk. Thus, temporarily eliminating emicizumab for better emergency management is of clinical interest. Imlifidase, a cysteine protease derived from the IgG-degrading enzyme of *Streptococcus pyogenes* (IdeS), was used to eliminate pathogenic IgG in patients undergoing organ transplant, in preclinical models of alloimmune responses to drugs, autoimmune diseases and gene therapy hampered by the presence of preexisting immunity to adeno-associated viruses. Here, we investigated the potential of IdeS to quickly remove emicizumab from the circulation of FVIII-deficient mice.

**Matériels et Méthodes :** IdeS was incubated with emicizumab at different doses and for different periods. Cleavage into F(ab')<sub>2</sub> and Fc fragments was assessed in vitro by SDS-PAGE, Western blot and ELISA. The hydrolysis kinetics of emicizumab were compared to those of a recombinant human monoclonal anti-FVIII IgG4, BO2C11. Then, FVIII-deficient mice were passively immunized with emicizumab and treated with different doses of IdeS. In vivo cleavage was assessed by Western blot, ELISA, and a functional procoagulant assay.

**Résultats :** IdeS hydrolyzed emicizumab in vitro and in vivo, albeit at slower rates than BO2C11 IgG4. The persistence for several days in mice blood of low amounts of the single-cleaved intermediate IgG was compensated by the rapid clearance of the F(ab')<sub>2</sub> fragments and, hence, rapid loss of emicizumab procoagulant activity.

**Conclusion :** We propose that IdeS could be administered to hemophilia A patients to rapidly eliminate emicizumab in cases of trauma or surgical emergencies. This would allow for controlling acute bleeds using high-dose bypassing agents without exposing the patients to major thrombotic risk. In inhibitor-positive patients, the concomitant elimination of IdeS of anti-FVIII IgG would restore the therapeutic efficacy of FVIII.

**PC 03 - ADP-dependent platelet activation is important in the development of venous thrombosis during a long-distance flight**

J. Tourn<sup>1</sup>, E. Carminita<sup>1</sup>, L. Crescence<sup>2</sup>, L. Bruzzese<sup>3</sup>, N. Adjriou<sup>2</sup>, R. Guieu<sup>4</sup>, C. Dubois<sup>2</sup>, L. Panicot-Dubois<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aix Marseille University, Inserm 1263, Institut National de la Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) 1260, Center for Cardiovascular and Nutrition Research (C2VN) - Marseille (France),

<sup>2</sup>Aix Marseille University, Inserm 1263, Institut National de la Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) 1260, Center for Cardiovascular and Nutrition Research ; Aix Marseille University, Plateforme d'Imagerie Vasculaire et de Microscopie Intravital, C2VN - Marseille (France),

<sup>3</sup>Aix Marseille University, Inserm 1263, Institut National de la Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) 1260, Center for Cardiovascular and Nutrition Research - Marseille (France),

<sup>4</sup>Aix Marseille University, Inserm 1263, Institut National de la Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE) 1260, Center for Cardiovascular and Nutrition Research ; Aix Marseille University, APHM, CHU Hôpital La Timone, Laboratory of Biochemistry - Marseille (France)

**Introduction :** The incidence of high altitude in venous thrombosis embolism (VTE) has been intensively documented. Prolonged exposure to hypobaric hypoxia triggers several mechanisms including coagulation disorders. Clinical studies show a correlation between long-distance flight and the development of deep vein thrombosis (DVT). Aircraft manufacturers create pressurized environments for the cabin with atmospheric gas partial pressures equivalent to altitudes of 1981 m to 2440 m.

**Matériels et Méthodes :** To investigate the effect of a long-distance flight in VTE, we performed 24 hours of DVT in mice exposed to 6 hours of hypobaric hypoxia ("flight") or normobaric normoxia (control) conditions. These "flight" conditions simulate a 6 hours airline cabin environment.

**Résultats :** We observed that thrombi were significantly bigger and heavier in mice exposed to flight conditions than the control group. The composition of the thrombi in the two groups was also different. Thrombi from the flight group of mice contained significantly more neutrophils and fibrin fibers than the control ones. Consistently, a significant decrease in the concentration of circulating leukocytes -and neutrophils - was observed in mice exposed to hypobaric hypoxia conditions. Interestingly, no difference was observed in the quantity of NETs, CitH3 positive, NE-positive and Fibrin positive neutrophils in the thrombi in the two groups of mice, indicating that neutrophils/NETs may not be involved in the development of venous thrombosis during a flight. ADP has been previously described as a key mediator produced during hypobaric and hypoxia. We then compared the development of venous thrombosis in wild-type and P2RY12 deficient mice. Although no difference was observed in the "control" conditions between the two group of mice, the development of thrombi obtained in the P2RY12<sup>-/-</sup> mice were not affected by the changes in the atmospheric gas partial pressures to mimic the flight conditions.

**Conclusion :** Taken together, these data indicate that ADP-dependent activation of platelets is playing an important role in the development of DVT under hypobaric hypoxia conditions. Targeting activation of platelets rather than the coagulation factors may thus constitute a new strategy to prevent DVT during long flight.

**PC 04 - Intronic exploration of PROC in patients with unexplained protein C deficiencies**

C. Rial<sup>1</sup>, S. Gandrille<sup>2</sup>, D. Helly<sup>1</sup>, I. Presot<sup>3</sup>, S. Bertil<sup>3</sup>, P. De Mazancourt<sup>4</sup>, L. Mauge<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service d'hématologie Biologique, AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, F-75015, Université Paris Cité, Inserm, Parcc, F-75015 - Paris (France),

<sup>2</sup>Service d'hématologie Biologique, AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, F-75015, Université Paris Cité, Inserm, F-75015 - Paris (France),

<sup>3</sup>Service d'hématologie Biologique, AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, F-75015 - Paris (France),

<sup>4</sup>Laboratoire de Biologie Moléculaire, AP-HP, Hôpital Ambroise Paré, F-92100, Université Paris Saclay, Inserm, UMR 1179, F-92100 - Boulogne-Billancourt (France)

**Introduction** : Inherited protein C deficiency (PCD) is associated with a 7-fold risk of first venous thromboembolism (VTE). More than 300 exonic and flanking variants of protein C (PC) coding gene, PROC, impacting PC function or synthesis, have been described (Human gene mutation database). However, PCD remains genetically unexplained in 5-10% of patients. The aim of this work is to study PROC introns in patients with PCD not explained by exonic or flanking variants or variants in the 5'-, 3'-UTR or gene promoter.

**Matériels et Méthodes** : This retrospective study included patients with PC clot activity below 70% not explained by conditions inducing acquired PCD (abnormal hepatic function, coagulation activation), interferences (FV Leiden, high FVIII level), variant in PROC exonic or flanking regions (including the first 30 nucleotides) or variant in the 5'-, 3'-UTR or gene promoter region. All patients gave informed consent to genetic exploration of PCD. NGS using Illumina Technology was performed with a MiSeq sequencer and bioinformatic analysis with Polydiag. Pathogenicity was predicted using ACMG recommendations and Fruitfly, SpliceAI, NetGene, Exon-Skipping and RNAfold softwares.

**Résultats** : PROC gene was analyzed with NGS in 53 patients (39, IQR[28.5-48] years old; 36% men; 58% IQR[44-62] PC clot activity), 64% of them had a personal history of VTE. We found class 3 intronic variants for 9 patients. Among them, 6 had an intronic variant that could induce a possible change in splicing either by creating acceptor/donor site (3 variants in 4 patients) or by modifying RNA secondary structure (2 variants).

**Conclusion** : We report here 5 intronic variants in 6 patients that could explain PCD. A segregation study in family members if available or a functional study by minigen assay is necessary to confirm the pathogenicity of these variants. Intronic exploration of PROC can be proposed in severe PCD not explained by exonic and flanking region analysis.

**Mercredi 10 mai 2023 – 18h00 à 19h30**  
**Session « Posters Commentés : Clinique »**

**PC 05 - Influence du diplotype ABO sur le taux de VWF chez les transmetteurs de la maladie de Willebrand de type 3, issus du Centre de Référence de la Maladie de Willebrand (CRMW)**

C. Kite<sup>1</sup>, E. Jeanpierre<sup>1</sup>, P. Boisseau<sup>2</sup>, C. Ternisien<sup>3</sup>, M. Desvages<sup>1</sup>, A. Rauch<sup>1</sup>, C. Paris<sup>4</sup>, M. Daniel<sup>4</sup>, S. Geffroy<sup>5</sup>, N. Duployez<sup>5</sup>, J. Goudemand<sup>6</sup>, P. Morange<sup>7</sup>, C. Zawadzki<sup>4</sup>, S. Susen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hémostase, Pôle de Biologie Pathologie Génétique Médicale, CHU Lille, F-59000 Lille, France ; Univ. Lille Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1011-EGID, F-59000 Lille, France ; Centre de Référence de la Maladie De Von Willebrand (CRMW), France - Lille (France),

<sup>2</sup>CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France ; Centre de Référence de La Maladie de von Willebrand (CRMW), France - Nantes (France),

<sup>3</sup>Centre d'hémostase Clinique, Université de Nantes, CHU de Nantes, France ; Centre de Référence de la Maladie de von Willebrand (CRMW), France - Nantes (France),

<sup>4</sup>Laboratoire d'hémostase, Pôle de Biologie Pathologie Génétique Médicale, CHU Lille, F-59000 Lille, France ; Centre de Référence de la Maladie de von Willebrand (CRMW), France - Lille (France),

<sup>5</sup>Laboratoire d'hématologie, Pôle de Biologie Pathologie Génétique Médicale, CHU de Lille, F-59000 Lille - Lille (France),

<sup>6</sup>Centre de Référence de la Maladie de von Willebrand (CRMW), France - Lille (France),

<sup>7</sup>Aix-Marseille Univ, INSERM, INRAE C2VN, Laboratoire d'hématologie, Hôpitaux de Marseille, Marseille, France - Marseille (France)

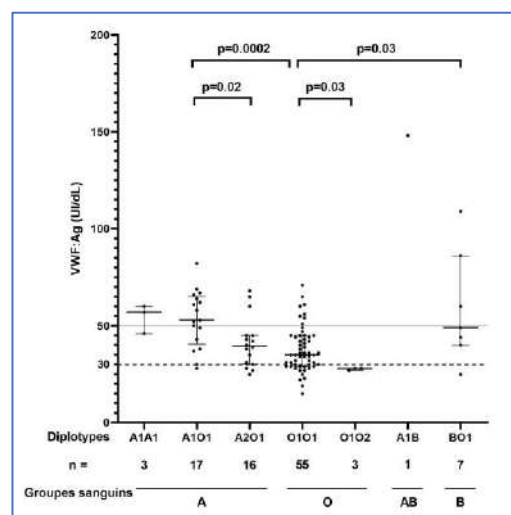
**Introduction :** Le facteur Willebrand (VWF) est un acteur essentiel de l'hémostase primaire et de protection du facteur VIII (FVIII). La régulation de son expression plasmatique est génétique avec de nombreux variants décrits dans le gène VWF mais est aussi le fait de mécanismes de glycosylation impactant son activité biologique. Le groupe sanguin ABO est connu pour influencer l'expression plasmatique du VWF et du FVIII. Il a été récemment décrit dans la thrombose veineuse que les sous-groupes A2 et O2 correspondant à un niveau de glycosylation réduit de VWF, étaient associés à des niveaux plasmatiques plus faibles de VWF que A1 et O1 respectivement. L'influence des diplotypes ABO sur le taux de VWF n'a jamais été étudiée chez une population de patients atteints de Maladie de Willebrand (VWD). Chez les transmetteurs de la maladie de Willebrand de type 3 (TVWD3), la même anomalie causale du gène VWF peut être associée à des taux de VWF et une symptomatologie hémorragique hétérogène conduisant parfois à des diagnostics différents, notamment TVWD3 ou VWD1, chez les membres d'une même famille. L'objectif de cette étude était d'étudier l'impact du diplotype ABO sur le taux plasmatique de FVIII et VWF dans une population de patients TVWD3.

**Matériels et Méthodes :** Cent-deux TVWD3 (d'âge moyen 25±14ans) inclus au Centre de Référence de la Maladie de Willebrand (CRMW) ont été génotypés par NGS afin de déterminer l'anomalie de leur gène VWF mais également leur diplotype ABO.

**Résultats :** Les TVWD3 présentaient des taux d'antigène VWF (VWF:Ag) significativement plus bas dans le groupe O que dans les groupes A et B ( $p<0.001$ ) et significativement plus bas pour le diplotype A2O1 que A1O1 ( $p=0.02$ ) et O1O2 que O1O1 ( $p=0.03$ ) (Figure). Il n'y avait pas de différence entre A2O1 et O1O1. L'âge moyen n'était pas significativement différent entre les diplotypes. Vingt-cinq pour cent des O1O1 et 19 % des A2O1 avaient un FVW:Ag<30IU/dL alors que seulement 6 % des A1O1 et aucun des A1A1 diplotypes avaient un FVW:Ag<30IU/dL. Les mêmes différences ont été observées pour le FVIII mais pas pour l'activité VWF:Act.

**Conclusion :** Cette étude démontre que les sous-groupes ABO jouent un effet délétère additionnel à celui du variant moléculaire du gène VWF sur l'expression du VWF chez des patients TVWD3. La détermination moléculaire du diplotype ABO plutôt que sérologique est intéressante pour expliquer l'hétérogénéité d'expression du VWF chez ces patients TVWD3 et son bénéfice dans d'autres types de VWD pourrait également être évalué.

Comparaison du taux d'antigène VWF selon le diplotype ABO chez les patients TVWD3



**PC 06 - Le taux de facteur VIII augmente avec l'âge chez les patients avec hémophilie A mineure. Les résultats de l'étude FEVMHA**

T. Sharaiha<sup>1</sup>, S. Bayart<sup>2</sup>, F. Nedelec-Gac<sup>3</sup>, A. Pontis<sup>1</sup>, B. Guillet<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CRC-MHC de Rennes, Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, EHESP, IRSET (institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail) - UMR\_S 1085 - Rennes (France),

<sup>2</sup>CRC-MHC de Rennes, CHU de Rennes - Rennes (France),

<sup>3</sup>Laboratoire d'hémostase, CHU de Rennes - Rennes (France)

**Introduction :** Le taux de facteur VIII chez les patients avec hémophilie A mineure (PHAM) est influencé par plusieurs facteurs environnementaux et génétiques. Leur étude est importante pour optimiser la prise en charge médicale. Dans de rares études, l'âge pouvait être un tel facteur influençant, mais elles ne prenaient pas en compte d'autres facteurs confondants potentiels. L'étude FEVMHA (Factor Eight Variation in mild hemophilia A) a pour objectif principal l'étude en détails de cet effet lié à l'âge chez les PHAM en lien avec d'autres facteurs.

**Matériels et Méthodes :** Les taux d'activité facteur VIII chromométrique (FVIII) dosés au cours des 20 dernières années en bilans de suivi au CRC-MHC de Rennes ont été rétrospectivement recueillis. Etaient inclus les PHAM de tout âge ayant un variant F8 hot spot ( $\geq 8$  cas connus au CRC-MHC) et un déficit quantitatif en FVIII sans discordance des dosages chromométrique/chromogénique. Les autres éléments recueillis étaient le variant F8, le taux de facteur Willebrand antigène (VWF), le groupe sanguin, et les co-morbidités, en excluant les situations inflammatoires, chirurgicales et thrombotiques aigues.

**Résultats** : 195 patients ont été inclus, d'âge médian 22 ans (0-90), porteurs de 10 variants F8 différents, et ayant eu un total de 937 dosages FVIII (nombre/patient médian : 4 [2-18]). Le FVIII médian était 21% (2-70) pour un VWF médian de 90% (45-268). Le FVIII était fortement dépendant des variants F8 ( $p < 0.0001$ ). Pour le seul variant fréquent p.S2030N (n: 78), le FVIII évoluait significativement avec l'âge ( $p < 0.0001$ ), mais cet effet n'était observable qu'à partir de 40 ans ( $r^2$  avant/après : 0.01/0.21). Le même âge seuil était significativement observé pour l'ensemble de la population avec le ratio FVIII/FVIII médian de chaque variant (FVIII<sub>med</sub>) ( $p < 0.0001$ ) et confirmé par l'analyse ROC fixant la valeur FVIII<sub>med</sub> à 1,6 (AUC 0.74; sensibilité 70.5; spécificité 70.2;  $p < 0.0001$ ). Cet effet entraînait une normalisation du FVIII (>50%) chez 10/65 (15,4%) PHAM d'âge >50 ans. Le VWF augmentait aussi significativement avec l'âge ( $p < 0.0001$ ) mais en continu depuis l'enfance de +0,6%/an sans âge seuil évident. Le FVIII reste fortement corrélé au VWF à tous les âges ( $p < 0.0001$ ). Cependant, le ratio FVIII/VWF augmentait significativement avec l'âge à partir de 40 ans ( $p < 0.0001$ ) suggérant une relation du FVIII avec l'âge également indépendante du VWF. Alors que l'influence du groupe sanguin (O vs non-O) sur le VWF reste en permanence forte quelque soit l'âge ( $p < 0.0001$ ), celle-ci existe également pour le FVIII jusqu'à 60 ans ( $p$ : 0,022) puis disparaît totalement. Une pathologie cardiovasculaire ischémique (CVI) était connue chez 11/65 (16,9%) PHAM de plus de 50 ans. Leurs FVIII<sub>med</sub> et VWF étaient similaires à ceux des autres du même âge.

**Conclusion** : Après l'âge de 40 ans, le FVIII augmente progressivement, se normalisant chez certains PHAM. Le suivi hématologique chez ces patients reste indispensable pour l'adaptation des traitements procoagulants.

#### PC 07 - Étude BOOST : caractérisation des sous-populations monocytaires d'une cohorte de patients avec suspicion d'AVC aigu

E. Heng<sup>1</sup>, M. Neuwirth<sup>1</sup>, F. Mas<sup>2</sup>, G. Contant<sup>3</sup>, M. Mazighi<sup>4</sup>, B. Montpellier<sup>2</sup>, G. Jourdi<sup>1</sup>, C. Brumpt<sup>5</sup>, E. Curis<sup>6</sup>, V. Siguret<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inserm UMR-S-1140, Université Paris Cité ; Hématologie Biologique, Hôpital Lariboisière (AP-HP), Université Paris Cité - Paris (France),

<sup>2</sup>Biocytex - Marseille (France),

<sup>3</sup>Recherche Prospective, Stago - Gennevilliers (France),

<sup>4</sup>Unité Neuro-Vasculaire, Hôpital Lariboisière, APHP Nord - Paris (France),

<sup>5</sup>Hématologie Biologique, Hôpital Lariboisière (AP-HP), Université Paris Cité - Paris (France),

<sup>6</sup>UR 7537 Biostm (biostatistics), Faculté de Pharmacie de Paris, Université Paris Cité - Paris (France)

**Introduction** : Les outils d'identification rapide et fiable des patients ayant un accident vasculaire cérébral (AVC) aigu, préférablement avant l'imagerie, sont d'un intérêt indéniable. Ils permettraient d'orienter les patients présentant un AVC ischémique, particulièrement ceux atteints d'une occlusion des gros vaisseaux intracrâniens (LVO) vers la structure médicale la plus appropriée (réalisant ou non la thrombectomie mécanique). Dans ce contexte, l'analyse par cytométrie en flux (CMF) des sous-populations monocytaires périphériques — classiques (Mon1), intermédiaires (Mon2) et non classiques (Mon3) — pourrait contribuer à cette identification. Notre travail a porté sur la caractérisation des sous-populations monocytaires périphériques chez les patients admis aux urgences pour une suspicion d'AVC aigu.

**Matériels et Méthodes** : L'étude BOOST (Biomarkers algorithm for stroke diagnosis and Treatment resistance prediction, NCT04726839), exploratoire prospective multicentrique non interventionnelle, inclut, après consentement éclairé, des patients âgés de 18 ans ou plus présentant des symptômes suggérant un

AVC aigu dans les dernières 24 heures. Quatre mL de sang sont prélevés sur tube EDTA lors de l'admission aux urgences, avant l'imagerie cérébrale. Les sous-populations monocytaires sont déterminées par CMF sur du sang frais (cytomètre FACS Canto II six couleurs de Becton-Dickinson® et logiciel d'analyse FlowJo). En l'absence de consensus pour la séparation des sous-populations monocytaires par CMF, nous avons développé une stratégie originale fondée sur l'utilisation des marqueurs CD45, CD14, CD16, CD91 (pan-monocytaire), HLA-DR ainsi que CD62L, CD11b, CD86, CCR2, ICAM-1, CX3CR1 et facteur tissulaire (TF). Les caractéristiques des patients ont été comparées selon qu'ils présentaient, ou non, un AVC avec LVO, en utilisant des modèles linéaires à effets mixtes.

**Résultats** : Parmi les 296 patients étudiés, 58 (19,6%) ont eu un AVC ischémique LVO, 67 (22,6%) un autre AVC ischémique, 18 une hémorragie intracrânienne, 2 une thrombose veineuse cérébrale et 151 n'avaient pas d'AVC. L'âge moyen était de  $61,2 \pm 19,9$  ans et le NIHSS moyen à l'admission, de  $7,5 \pm 7,3$ . Les patients ayant un AVC ischémique LVO présentaient une proportion significativement plus faible de Mon3 que les autres (-40%,  $p = 0,019$ ), ainsi qu'une expression significativement plus faible de CD86 ( $p = 0,0069$  pour Mon2,  $p = 0,0031$  pour Mon3). La modification d'expression d'HLA-DR et d'ICAM-1 chez ces patients dépend, elle, du type de monocyte (Mon1, Mon2, Mon3 — termes d'interactions significatifs).

**Conclusion** : Cette étude a permis de mettre en évidence des modifications des sous-populations de monocytes chez les patients ayant un AVC ischémique LVO dans les 24 heures suivant l'apparition des symptômes. Ces résultats encouragent à évaluer la place de la caractérisation des sous-populations monocytaires dans les algorithmes de diagnostic précoce de l'AVC.

#### PC 08 - Surveillance de l'héparine pendant l'oxygénation par membrane extracorporelle : l'effet du dextrans sur l'activité anti-Xa

E. Hammami<sup>1</sup>, L. Stiel<sup>1</sup>, C. Palpacuer<sup>1</sup>, I. Harzallah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Groupe Hospitalier Mulhouse et Sud Alsace - Mulhouse (France)

**Introduction** : L'oxygénation par membrane extracorporelle (ECMO) est un système d'assistance circulatoire utilisé comme traitement de secours dans les lésions pulmonaires aiguës (ECMO veino-veineuse) et dans les chocs cardiogéniques réfractaires (ECMO veino-artérielle). L'ECMO est associée à un risque important de complications thrombotiques et hémorragiques.

Une anticoagulation par héparine non fractionnée (HNF) est recommandée par l'ESLO (Extracorporeal Life Support Organization) [1]. Cependant l'utilisation de l'HNF peut exposer à un risque hémorragique du fait de sa fenêtre thérapeutique étroite et d'une grande variabilité de réponse inter- et intra-individuelle. La surveillance biologique de cette anticoagulation est donc primordiale. Néanmoins, celle-ci n'est pas encore standardisée. Le test biologique recommandé est l'activité anti-Xa. La plupart des réactifs anti-Xa contiennent du sulfate de dextrans (DXS) qui empêche l'héparine de se lier à une protéine autre que l'antithrombine, tel que le facteur 4 plaquettaire (PF4) dont l'expression est augmentée durant l'ECMO.

Cette étude visait à comparer la concordance de l'activité anti-Xa entre deux réactifs, l'un avec (D-Anti Xa) et l'autre sans dextrans (ND-Anti Xa), pendant l'ECMO.

**Matériels et Méthodes** : L'étude a été menée rétrospectivement entre mai 2020 et novembre 2021 dans le service de réanimation de l'hôpital de Mulhouse. Les patients sous ECMO veino-artérielle et veino-veineuse traités par HNF ont été surveillés à la fois par D-

Anti Xa et ND-Anti Xa. Les plasmas ont été recueillis sur des tubes de citrate 0,109 M selon les recommandations du Groupe Français d'Hémostase et de Thrombose [2].

**Résultats :** Au cours de l'étude, 177 paires de dosages d'anti-Xa provenant de 13 patients ont été réalisées. Les valeurs d'anti-Xa des patients sous HNF mesurées avec le dosage D-anti Xa étaient plus élevées que celles mesurées avec le dosage ND-anti Xa avec un "biais moyen" du graphique de Bland et Altman de +0,062 UI/mL [IC=95% [0.034;0.090]. La valeur médiane de l'anti-Xa était de 0,41 UI/mL pour le D-anti-Xa contre 0,32 UI/mL pour le test ND-anti Xa. La fourchette thérapeutique attribuée aux valeurs des tests anti-Xa était fixée à 0,2 à 0,5 UI/ml. Quarante-quatre paires de dosage discordantes (24,9% des tests) ont été observées (Tableau 1). Neuf patients ont présenté des saignements (dont trois étaient majeurs) et cinq des événements thrombotiques.

**Conclusion :** Malgré les efforts déployés pour standardiser les dosages de l'anti-Xa, il existe encore divers facteurs influençant les différences entre les résultats. Notre étude met en exergue l'impact de la présence de DXS sur l'activité anti-Xa suggère une surestimation de celle-ci en cas de présence de DXS. Un ajustement inapproprié de la dose d'HNF (du fait d'une sous ou surestimation de l'activité anti-Xa) peut entraîner des complications thrombotiques ou hémorragiques graves en particulier chez les patients en réanimation. Cliniciens et biologistes doivent être conscients de l'impact de la différence des réactifs sur l'interprétation de l'activité anti-Xa, notamment la présence ou non de DXS.

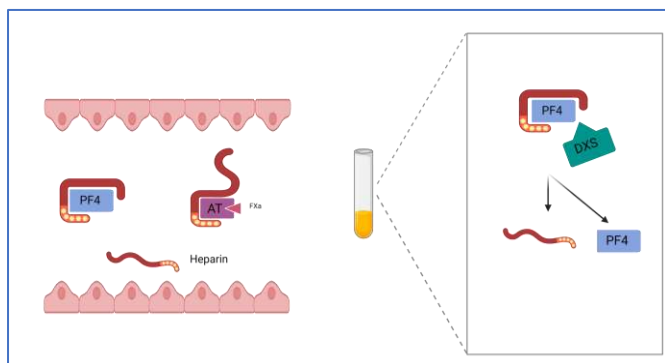
1. McMichael ABV, Ryerson LM, Ratano D, Fan E, Faraoni D, Annich GM. 2021 ELSO Adult and Pediatric Anticoagulation Guidelines. ASAIO J. 2022 Mar;68(3):303–10.

2. [https://site.geht.org/app/uploads/2016/12/Normes\\_acceptables\\_hemostase\\_GEHT2014.pdf](https://site.geht.org/app/uploads/2016/12/Normes_acceptables_hemostase_GEHT2014.pdf).

Tableau 1 : Différence des valeurs d'anti-Xa entre

D-anti Xa	ND-Anti Xa			Total
	< 0.2	[0.2 - 0.5]	> 0.5	
< 0.2	13	2	0	15
[0.2 - 0.5]	23	91	4	118
> 0.5	0	15	29	44
Total	36	108	33	177

Figure 1 : Graphique de Bland Altman





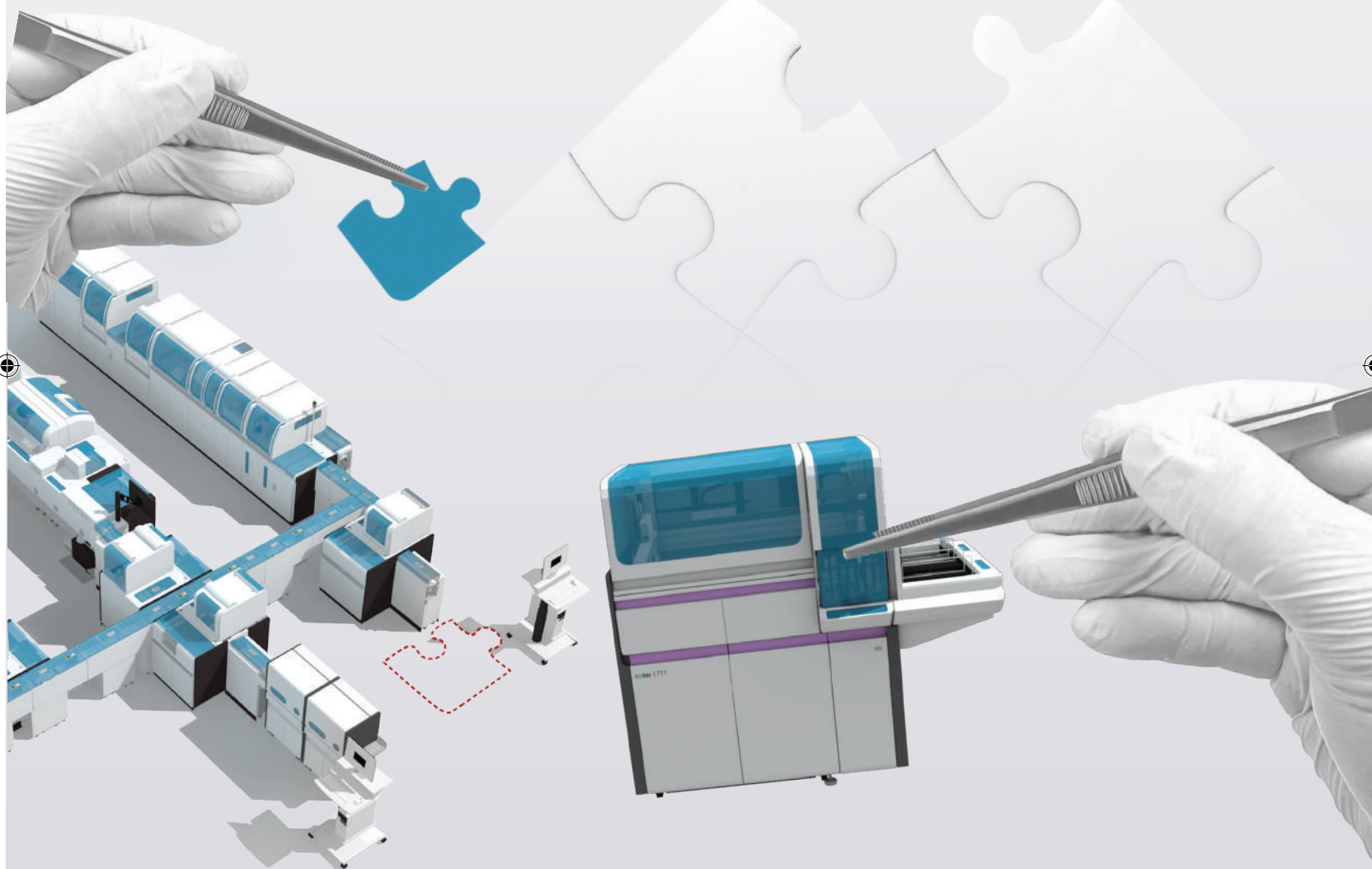
# cobas<sup>®</sup> t 511/711



*Intégrez l'innovation en hémostase*

Toute la technologie **cobas<sup>®</sup>** appliquée à l'hémostase pour une intégration optimale dans votre laboratoire.

*Quand un nouvel élément  
s'intègre parfaitement*



*Les cobas t 511 et t 711 coagulation analyzer sont des analyseurs de coagulation autonomes, entièrement automatisés, destinés à la détermination qualitative et quantitative in vitro des analytes de coagulation dans le plasma humain citraté et dont les résultats aident à diagnostiquer les anomalies de coagulation et à suivre les traitements anticoagulants.*

*Dispositif médical de diagnostic in vitro.*

*Fabricant : Roche Diagnostics GmbH (Allemagne) - Distributeur : Roche Diagnostics France*

*Lire attentivement les instructions figurant dans le manuel d'utilisation.*

*Version du manuel : V4.0 - Mai 2021*



**cobas<sup>®</sup>**

MC-FR-01468 04/2022



## Posters

### P 002 - In vitro characterization of rare anti- $\alpha$ IIb $\beta$ 3 isoantibodies produced by Glanzmann thrombasthenia patients that completely block fibrinogen binding to the integrin and generate procoagulant platelets via complement activation

M. Fiore<sup>1</sup>, Y. Huguenin<sup>1</sup>, V. Chen<sup>2</sup>, C. Lee<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CHU de Bordeaux - Pessac (France),

<sup>2</sup>Anzac Research Institute - Sydney (Australia)

**Introduction** : Glanzmann thrombasthenia is a rare bleeding disorder caused by inherited defects of the platelet  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 integrin. Platelet transfusions can be followed by an immune response that can block integrin function by interfering with fibrinogen binding. In this study, we aimed to determine the prevalence of such isoantibodies and better characterize their pathogenic properties.

**Matériels et Méthodes** : Twelve GT patients were evaluated for anti- $\alpha$ IIb $\beta$ 3 isoantibodies. Sera from GT patients containing, or not, anti- $\alpha$ IIb $\beta$ 3 isoantibodies were then used to study their in vitro effect on platelets from healthy donors. We used several approaches (incubation with control platelets, IgG purification, immunofluorescence staining, inhibition of signaling pathways by different drugs, microchip flow chamber assay) to characterize the pathogenic properties of the anti- $\alpha$ IIb $\beta$ 3 isoantibodies.

**Résultats** : Only two of positive samples were able to completely block integrin function. We observed that these two sera caused a reduction of platelet size similar to that observed when platelets become procoagulant. Mixing control platelets with patients' sera or purified IgGs allowed to generate microvesiculation, expose phosphatidylserine, and induce calcium influx. This was associated with an increase in procoagulant platelets. Pore formation and calcium entry were produced by complement activation leading to the constitution of a membrane attack complex (MAC) with enhanced C5b-9 deposition at the platelet surface. This process was inhibited by the C5 inhibitor Eculizumab or reduced by polyvalent human immunoglobulins.

**Conclusion** : All these results suggest that complement activation induced by rare blocking anti- $\alpha$ IIb $\beta$ 3 isoantibodies may lead to the formation of a MAC with subsequent pore formation, resulting in Ca<sup>2+</sup> influx and procoagulant phenotype.

### P 003 - Prophylaxie des hémorragies sous assistance circulatoire mono-ventriculaire par injection d'un concentré de facteur Willebrand: résultats de l'essai cas-témoin randomisé PHAM

A. Rauch<sup>1</sup>, G. Lebreton<sup>2</sup>, E. Jeanpierre<sup>1</sup>, N. Ajzenberg<sup>3</sup>, Y. Repessé<sup>4</sup>, E. De Maistre<sup>5</sup>, E. Boissier<sup>6</sup>, D. Smadja<sup>7</sup>, M. Fiore<sup>8</sup>, I. Gouin-Thibault<sup>9</sup>, S. Voisin<sup>10</sup>, M. Moussa<sup>11</sup>, V. André<sup>12</sup>, O. Boucho<sup>13</sup>, E. Flecher<sup>14</sup>, L. Barandon<sup>15</sup>, C. Dambrin<sup>16</sup>, B. Rozec<sup>17</sup>, J. Labreuche<sup>18</sup>, S. Susen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hématologie-Transfusion, Univ. Lille, Inserm, Chu Lille, Institut Pasteur De Lille, U1011, Egid, F-59000 - Lille (France),

<sup>2</sup>Groupe Hospitalier La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, 55577, Service De Médecine Intensive-Réanimation, Institut De Cardiologie, Paris, France - Paris (France),

<sup>3</sup>Laboratoire d'hématologie, AP-HP, Hôpital Bichat Claude-Bernard - Paris (France),

<sup>4</sup>Laboratoire d'hématologie, Université De Normandie - Caen (France),

<sup>5</sup>Laboratoire d'hématologie, CHU Dijon - Dijon (France),

<sup>6</sup>Laboratoire d'hématologie, Hôpital Laënnec, CHU de Nantes - Nantes (France),

<sup>7</sup>Laboratoire d'hématologie, AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou - Paris (France),

<sup>8</sup>Laboratoire d'hématologie, Hôpital Cardiologique du Haut-Lévêque, CHU de Bordeaux - Bordeaux (France),

<sup>9</sup>Hématologie Biologique, Hopital Pontchaillou - Rennes (France),

<sup>10</sup>Laboratoire d'hématologie, Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse - Toulouse (France),

<sup>11</sup>Département d'anesthésie, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1011, Egid, F-59000 - Lille (France),

<sup>12</sup>Chirurgie Cardiaque, CHU Lille - Lille (France),

<sup>13</sup>Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Pontchaillou University Hospital, University of Rennes 1, Signal and Image Treatment Laboratory (Itsi), INSERM U1099, Rennes, France. - Dijon (France),

<sup>14</sup>Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Pontchaillou University Hospital, University of Rennes 1, Signal and Image Treatment Laboratory (Itsi), INSERM U1099, Rennes, France. - Rennes (France),

<sup>15</sup>Cardiovascular Surgery Department, Haut-Lévêque Hospital, Chu Bordeaux, Pessac, France - Bordeaux (France),

<sup>16</sup>Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Rangueil University Hospital, Toulouse, France - Toulouse (France),

<sup>17</sup>Cardiothoracic and Cardiovascular Intensive Care Unit, Laennec University Hospital, Saint-Herblain, France - Nantes (France),

<sup>18</sup>Département de Biostatistiques, CHU Lille, F59000 - Lille (France)

**Introduction** : Une incidence élevée de complications hémorragiques est observée chez les patients bénéficiant d'une assistance cardiaque mono-ventriculaire gauche (LVAD, Left Ventricular Assist Device). Les forces de cisaillement élevées générées par ce type de pompe cardiaque induisent une protéolyse des formes les plus multimérisées du facteur von Willebrand (VWF) présentes dans le compartiment sanguin et qui jouent un rôle important dans l'hémostase primaire et l'angiogenèse. L'impact d'une prophylaxie par concentré de facteur Willebrand sur la réduction du risque hémorragique dans un contexte de LVAD n'a jamais été évaluée.

**Matériels et Méthodes** : L'étude PHAM (NCT02488525) a consisté en un essai clinique multicentrique (n=9 centres) contrôlé randomisé en ouvert évaluant l'efficacité, la sécurité d'emploi et la pharmacocinétique d'une prophylaxie par concentré de facteur Willebrand purifié (Wilfactin®) dans les 3 mois suivant l'implantation d'un LVAD chez des patients majeurs. Après confirmation biologique du déficit en VWF, les participants étaient randomisés entre 4 et 7 jours après l'implantation du LVAD soit dans le groupe « prophylaxie VWF » (injection de 50 U/kg de Wilfactin® deux fois par semaine) soit dans le groupe contrôle. Le critère de jugement principal était la différence du taux de saignement (selon définitions ISTH : tout événement, hémorragie cliniquement significative ou hémorragie sévère) entre les deux bras. La survenue ou non d'évènements hémorragiques ou thrombotiques était recueillie au 7e puis au 14e jour post-randomisation et ensuite tous les 14 jours jusqu'à la fin du suivi. L'essai a dû être interrompu prématurément en raison d'un défaut d'inclusions et de tensions d'approvisionnement en Wilfactin®. Les données disponibles sont présentées ici. L'incidence cumulée des saignements dans chaque bras a été évaluée en prenant en compte les sorties prématurées d'étude (décès, transplantation cardiaque...) comme risque compétitif.

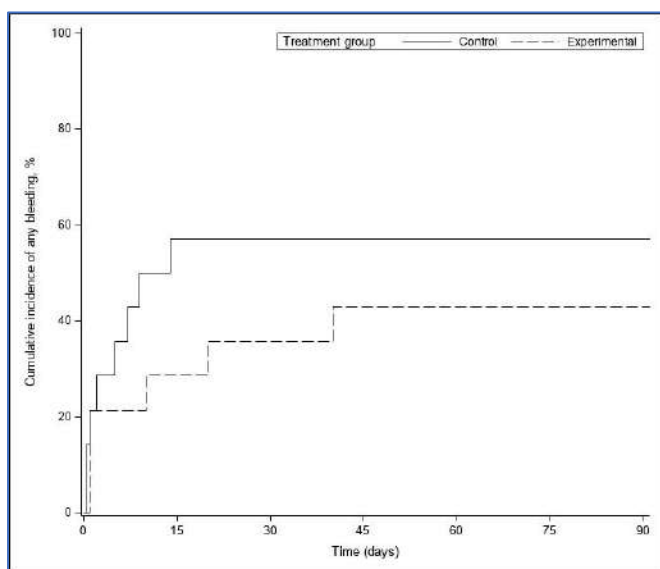
**Résultats** : Trente patients ont été randomisés. Une réduction non significative de 55% du risque relatif de saignement (tout évènement hémorragique) a été observée dans le bras "prophylaxie VWF" comparé au bras contrôle (risque relatif, 0.45; IC95%, 0.18 to 1.04; p=0.062; Figure). Une tendance similaire a été observée dans le bras "prophylaxie VWF" concernant les hémorragies cliniquement significatives, les hémorragies sévères et



les besoins transfusionnels (Table). Les évènements indésirables sévères étaient similaires dans les bras VWF et contrôle notamment concernant les décès (2 et 4 respectivement) et les évènements thrombotiques (2 chaque, considérés comme potentiellement relié au traitement dans le bras VWF). Dans l'étude pharmacocinétique réalisée chez 9 patients du bras VWF, une clairance rapide du Wilfactin® a été observée dans les 24 heures suivant la 1ère injection.

**Conclusion :** Une approche substitutive par concentré de facteur VWF (hors AMM) ne permet au mieux qu'une réduction modeste et transitoire du risque hémorragique sous LVAD.

Incidence cumulée des saignements toutes causes



Évènements hémorragiques post-randomisation

Bleeding outcomes <sup>1</sup>	Control (n=14)	Experimental (n=15)	Risk ratio (95%CI)	P-Value
Any bleeding	2.1 (1.3 to 3.3), n=21	1.0 (0.4 to 1.9), n=11	0.45 (0.18 to 1.04)	0.062
Significant bleeding	1.7 (0.9 to 2.8), n=17	0.9 (0.3 to 1.7), n=8	0.50 (0.18 to 1.22)	0.14
Major bleeding	1.2 (0.6 to 2.2), n=12	0.7 (0.3 to 1.6), n=7	0.62 (0.20 to 1.71)	0.43

Values are incidence per 100 patient-days (95% confidence interval) and number of events (n)  
<sup>1</sup>Bleeding outcomes were categorized according to ISTH criteria

**P 004 - Chromogenic FVIII activity assay using bovine reagent in acquired haemophilia A in a patient with hematological disease treated by emicizumab: a case study**

A. Mairesse<sup>1</sup>, J. Vanleemputten<sup>1</sup>, J. Hotton<sup>1</sup>, M.A. Van Dievoet<sup>2</sup>, C. Hermans<sup>2</sup>, N. Miller<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine, Europe Hospitals - Brussels (Belgium),  
<sup>2</sup>Département des Laboratoires Cliniques, Cliniques Universitaires Saint-Luc - Brussels (Belgium)

**Introduction :** Acquired haemophilia A (AHA) is a rare disease, with an incidence of 1 to 6 cases per million per year (1), caused by autoantibodies against endogenous factor VIII (FVIII), and associated with bleeding and high morbidity and mortality rate (2). AHA is commonly associated with malignancy, auto-immune disease, or pregnancy (3). In addition to immunosuppressive drugs (4), bypassing agents aid for bleeding control (5). Here, we describe an alternative prophylactic treatment based on emicizumab (6-7), a bispecific humanized recombinant antibody designed to mimic the cofactor function of FVIII, in an hematological patient with bleeding symptoms.

**Matériels et Méthodes :** A 76-year-old female patient with a history of hematological disease (myelodysplasia and smouldering

multiple myeloma (SMM)) was admitted to hospital with redness and pain on the forearm. She described no fever or other symptoms. Physical examination revealed multiple ecchymoses and large hematoma at the injection site of SARS-CoV-2 mRNA vaccine administered 7 days before. Laboratory tests revealed normocytic anaemia (10.9 g/dL) and prolonged activated partial thromboplastin time (APTT).

FVIII coagulation activity (FVIII:C) was measured with a one-stage clotting assay (OSCA), using Synthasil reagent and a FVIII-deficient plasma from Werfen (Barcelona, Spain). FVIII inhibitor titers were quantified with the Nijmegen Bethesda method using the OSCA. After start of emicizumab, FVIII activity and the Nijmegen Bethesda assays were performed using chromogenic FVIII bovine reagents (Coamatic, Chromogenix, Werfen; FVIII:b). All tests were performed on ACL TOP 750 analyzer (Werfen).

**Résultats :** FVIII was undetectable with the OSCA at presentation (<1 IU/dL) and a high FVIII inhibitor titer (24.8 Bethesda units [BU]/mL) was measured. Acquired hemophilia A was diagnosed and weekly emicizumab, 270 mg subcutaneously, started. Bleeding stopped and ecchymoses decreased.

Emicizumab, a bispecific antibody that interacts with human FIXa and FX, impacts laboratory testing involving these proteins. APTT, and other APTT-based assays, may be artificially shortened due to direct activation of the intrinsic pathway and may remain affected for up to 6 months after treatment discontinuation. FVIII assays, including OSCA and chromogenic assays (CSA) that use human FIXa and FX are impacted. FVIII levels should be measured by a chromogenic FVIII activity assay using bovine FIXa and FX components which detects the patient's own FVIII but is insensitive to emicizumab. Measurement of FVIII inhibitors with Nijmegen Bethesda assay is also affected and should be measured using bovine components (8).

**Conclusion :** We underline the importance to include AHA in our differential diagnosis in patients with recent abnormal bleeding and isolated prolongation of APTT. Immunity modifications can predispose or be associated with the development of anti-FVIII inhibitors. SMM and vaccination are two possible hypotheses for triggering the development of AHA. A couple of cases of AHA developed after receiving mRNA derived COVID-19 vaccines (Pfizer-BioNTech SARS-CoV-2 mRNA vaccine and Moderna mRNA vaccines) have been reported. However, in this case bleeding symptoms were already presents before vaccination and AHA was interpreted to be secondary to SMM.

**P 006 - Endothelial P2X7 promotes venous thromboembolism**

E.L. Ollivier<sup>1</sup>, V. Gourdou-Latyszenok<sup>1</sup>, F. Couturaud<sup>1</sup>, C.A. Lemarié<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inserm, Univ Brest, CHRU Brest, UMR 1304, GETBO - Brest (France)

**Introduction :** Venous thromboembolism (VTE) affects 117 people per 100,000 each year and is an important cause of morbidity and mortality. VTE can lead to 1) death through pulmonary embolism, 2) the post-thrombotic syndrome, or 3) pulmonary sequelae that dramatically impair quality of life. Thrombosis has long been characterized by the Virchow's triad encompassing hypercoagulability, venous stasis and vascular wall damage. However, inflammatory pathways are now well recognized mechanisms involved in the physiopathology of venous thromboembolism. Endothelial cells play critical roles in regulating immune functions in response to PAMPs and DAMPs. During inflammation, adenosine triphosphate (ATP) is released in the extracellular compartment and is recognized as a danger signal by endothelial cells. ATP can interact with the CD39/CD73 system involved in the metabolism of ATP into AMP. Recent data indicated

that the CD39/CD73 system might protect against venous thrombosis by downregulating the NLRP3 inflammasome. ATP can also interact with the P2X7 receptor involved in a wide range of responses including NLRP3 inflammasome activation leading to IL1 $\beta$  production. However, the role of P2X7 receptor in VTE is unknown. Thus, we hypothesized that endothelial P2X7 receptor contributes to venous thromboembolism.

**Matériels et Méthodes :** After pretreatment with TNF $\alpha$ , HUVECs were incubated with BzATP alone or with thrombin. Immunofluorescence, western blot and real-time quantitative PCR analyses were used to study P2X7 expression in endothelial cells, activation of p38 and NF $\kappa$ B signaling pathways and gene expression, respectively.

**Résultats :** We confirmed that HUVECs expressed P2X7 in vitro and in vivo after induction of venous thrombosis in an experimental model. BzATP and thrombin induced the activation of p38 and NF $\kappa$ B signaling pathways. Interestingly, this was associated with inflammasome assembly and increased IL1 $\beta$  expression. In addition, ICAM-1 and VCAM-1 expression was increased, while thrombomodulin expression was decreased.

**Conclusion :** Our data suggest that ATP released in the extracellular space during venous thrombosis induced inflammasome activation in endothelial cell through P2X7 activation. P2X7 might have a pro-thrombotic role exacerbating venous thromboembolism.

**P 007 - Utility of Thrombin Generation Assay for inherited thrombophilia screening**

M. Lecomte<sup>1</sup>, L. Mauge<sup>2</sup>, T. Quemeneur<sup>1</sup>, C. Rousselin<sup>1</sup>, S. Gandrille<sup>2</sup>, J. Onraed<sup>1</sup>, C. Hémar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CH de Valenciennes - Valenciennes (France),  
<sup>2</sup>Hôpital Européen Georges Pompidou - Paris (France)

**Introduction :** The thrombin generation assay (TGA) is a global dynamic test exploring the ability of a plasma sample to generate and inhibit thrombin over time. Various studies support the link between TGA results and the presence of laboratory thrombophilia risk factors. But these studies were conducted using analyzers in non-standardized conditions.

The ST-Genesia<sup>®</sup> is a fully automated and standardized system for the measurement of thrombin generation. The STG<sup>®</sup>-Thromboscreen kit is intended for the evaluation of thrombotic phenotype. We aim at evaluating the STG<sup>®</sup>-ThromboScreen kit on ST-Genesia<sup>®</sup> as a global screening test for the main inherited thrombophilia risk factors: antithrombin (AT), protein C (PC) and protein S (PS) deficiencies genetically characterized, factor V Leiden or F2c, \*97G>A variants.

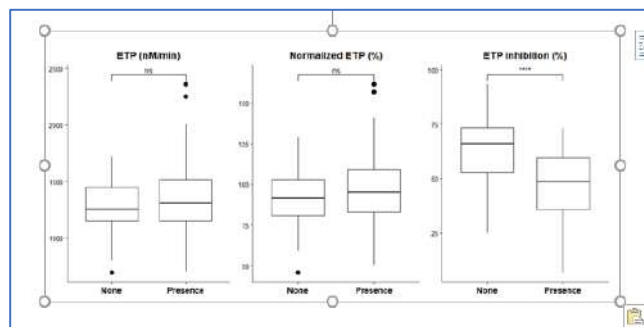
**Matériels et Méthodes :** Platelet-poor citrated plasma samples of 90 patients with thrombophilia screening were studied. Several TGA parameters were studied including endogenous thrombin potential (ETP, nmol.min), normalized ETP (%), and ETP inhibition (%) (= (ETP without thrombomodulin - ETP with thrombomodulin)/(ETP without thrombomodulin)). The wilcoxon rank-sum test was used to compare the TGA parameters in the different groups. The receiver operator characteristic (ROC) was used to determine the optimal threshold for thrombophilia laboratory risk factor detection.

**Résultats :** ETP and normalized ETP were similar for patients with (n=53) and without (n=37) inherited thrombophilia (p $\geq$ 0.05). There was neither statistically significant difference between ETP inhibition in the group with AT deficiency (n=5) and ETP inhibition

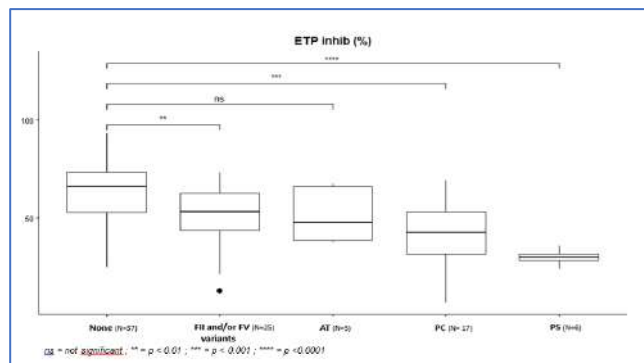
in the group without risk factors. In contrast, ETP inhibition was significantly lower (p<0.01) in the groups with Factor V Leiden and/or F2c.\*97G>A variants (n=25), PC deficiency (n=17) or PS deficiency (n=6) compared with the group without risk factors. In particular, an inherited PS deficiency can be excluded if ETP inhibition was > 37% (sensitivity 100%, specificity 96.1%, AUC = 0.976).

**Conclusion :** The STG<sup>®</sup>-Thromboscreen used on the ST Genesia<sup>®</sup> analyzer is able to discriminate patients with factor V Leiden and/or F2c,\*97G>A variants, PC deficiency and PS deficiency from patients without principal inherited thrombophilia. In particular thrombomodulin-induced ETP inhibition on the ST-Genesia<sup>®</sup> could be an additional tool before PROS 1 gene analysis for patients with moderate protein S deficiency in the absence of relevant thrombosis history. However, these data need to be confirmed with a larger number of patients.

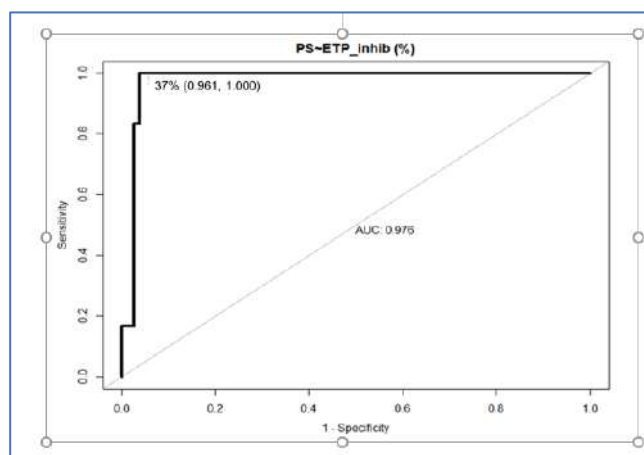
Comparison of TGA parameters



Distribution of ETP inhibition values



ROC curve in patients with PS deficiency



**P 008 - Amélioration du bon usage des facteurs de la coagulation dans les services de soins au CHU de Brest : exemple du Feiba**

C. Guégou<sup>1</sup>, A. Tapon<sup>1</sup>, V. Cogulet<sup>1</sup>, B. Pan-Petes<sup>2</sup>, F. Lemarié<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pharmacie - Brest (France),  
<sup>2</sup>Hémostase - Brest (France),  
<sup>3</sup>Hématologie - Brest (France)

**Introduction :** Le Feiba® est un complexe prothrombique activé indiqué au CHU de Brest dans la prise en charge de l'hémophilie A acquise. Son utilisation nécessite des précautions d'emplois particulières et sa prescription est réservée à un médecin spécialiste. Mais il peut être administré dans tous les services de l'hôpital hébergeant le patient. Plusieurs incidents ont été signalés au sein de différents services de soin du CHU de Brest malgré des consignes d'administration données par voie orale et écrite dans la prescription. C'est dans ce contexte qu'il nous est apparu important d'améliorer le bon usage de ce médicament.

L'objectif de ce travail est de proposer un outil d'aide à l'administration efficient et de promouvoir le bon usage du médicament afin de sécuriser la prise en charge des patients.

**Matériels et Méthodes :** Recherche bibliographique : RCP, contact laboratoire, sociétés savantes...  
 Etat des lieux des outils déjà disponibles au CHU (logiciel de prescriptions et d'administration)  
 Analyse des erreurs avec l'équipe médicale  
 Rencontre avec des professionnels de santé (Pharmacie / service de soins) pour connaître leurs problématiques et leurs attentes  
 Proposition de nouveaux outils  
 Diffusion auprès des équipes

**Résultats :** A l'aide de différentes ressources (RCP, laboratoire, et...), nous avons pu décrire les bonnes pratiques de reconstitution et d'administration du médicament. Ainsi les étapes les plus à risque ont pu être identifiées. Au CHU, la transmission orale ainsi que des notes des prescripteurs dans un plan de soin souvent chargé ne permettent pas toujours d'éviter les erreurs. Plusieurs mésusages ont été relevés comme des reconstitutions anticipées, la dilution du produit, un montage de perfusion trop long, autant d'erreurs provoquant un sous dosage et donc une perte de chances pour le patient.

Les rencontres avec les différents acteurs de soin nous ont permis de comprendre les problématiques de chacun. Suite à cette analyse nous avons proposé une fiche d'aide à la reconstitution et l'administration du Feiba®. Dispensée en même temps que le médicament, elle permet tout d'abord d'interpeller le soignant mais également de rappeler les bonnes pratiques d'administration.

**Conclusion :** Les interventions dans les services de soins nous ont permis de cerner les problématiques des différents acteurs participants aux soins. L'essai en conditions réelles de ce nouveau support et l'intervention du pharmacien dans le service lors de la dernière instauration de traitement nous a permis d'apprécier l'utilité de ce nouvel outil. La réalisation de ce dernier avec l'aide des services nous a permis de cibler les informations pertinentes et de diminuer le risque d'erreur. La formation des internes en Pharmacie au bon usage pour intervenir dans les services. Enfin, des fiches d'aide au bon usage pour les autres facteurs de coagulation sont en cours de réflexion.

**P 012 - Comparaison de deux méthodes de dosage des D-dimères dans l'exclusion de l'embolie pulmonaire : VIDAS® et STA®-Liatest® D-Di Plus**

S. Jaouen<sup>1</sup>, F. Mingant<sup>1</sup>, E. Lippert<sup>1</sup>, H. Galinat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service d'Hématologie Biologique, CHU Brest - Brest (France)

**Introduction :** Le dosage des D-dimères occupe une place incontournable dans le diagnostic d'exclusion de la maladie veineuse thromboembolique chez les patients présentant un score clinique faible ou intermédiaire. La méthode bioMérieux VIDAS® est considérée depuis de nombreuses années comme une méthode de référence pour l'exclusion de la maladie veineuse thromboembolique. Néanmoins, certaines autres méthodes automatisées, dont la méthode STAGO STA®-Liatest® D-Di Plus, ont fait l'objet d'améliorations ces dernières années et se positionnent favorablement dans cette indication. C'est dans ce cadre que nous avons souhaité comparer ces deux méthodes dans l'indication de l'exclusion de l'embolie pulmonaire (EP).

**Matériels et Méthodes :** Cette comparaison de méthodes a été réalisée dans le cadre d'une étude observationnelle prospective (NCT03972839), monocentrique réalisée sur une durée de 1 an. Pour chaque prescription de dosage de D-dimères VIDAS® D-Dimer Exclusion™ II (bioMérieux, Marcy L'Etoile, France) au service des Urgences, un dosage de D-dimères STA®-Liatest® D-Di Plus (Diagnostica Stago, Asnières, France) était ajouté sur le même prélèvement et au même instant (prélèvement « frais » ne subissant ainsi aucun cycle de congélation-décongélation).

Le dossier patient informatisé a ensuite été consulté pour confirmer ou infirmer la présence d'une EP (résultats d'imagerie et/ou suivi à 3 mois).

Nous avons utilisé la méthode ROC (Receiver Operating Characteristics) pour comparer les performances diagnostiques des différentes méthodes de dosage des D-dimères. Les sensibilités (Se), spécificités (Sp) et valeurs prédictives négatives (VPN) ont été calculées à partir des courbes ROC au seuil fixe conventionnel de 0,5 µg/mL et au seuil adapté à l'âge selon Douma *et al.* (seuil fixe à 0,5 µg/mL si âge < 50 ans ou variable, correspondant à l'âge × 0,01 µg/mL à partir de 50 ans). Elles ont été comparées en utilisant le test exact de Fisher.

**Résultats :** 2 530 patients ont été inclus. Une EP a été objectivée chez 91 (3,6%) patients. Au seuil fixe conventionnel, il n'y a pas de différence significative de Se ou VPN entre les deux méthodes de dosage, en revanche la Sp est significativement supérieure (p<0,01) pour la technique STA®-Liatest® D-Di Plus à 57,1% (IC<sub>95%</sub> 55,1-59,1%) contre 53,2% (IC<sub>95%</sub> 51,2-55,2%) pour la méthode VIDAS®. Au seuil adapté à l'âge, il n'y a pas de différence significative de Se, Sp ou VPN pour les deux méthodes de dosage.

**Conclusion :** Cette étude montre que les deux méthodes de dosage des D-dimères VIDAS® D-Dimer Exclusion™ II et STA®-Liatest® D-Di Plus sont équivalentes dans l'indication de l'exclusion de l'EP lorsqu'on utilise le seuil ajusté à l'âge selon Douma *et al.* En revanche, si l'on utilise le seuil fixe conventionnel de 0,5 µg/mL la méthode STA®-Liatest® D-Di Plus présente une spécificité supérieure à la méthode VIDAS® D-Dimer Exclusion™ II, pour une sensibilité et une VPN identiques.

Se, Sp et VPN des tests en fonction des seuils

Seuil	Sensibilité, % (IC <sub>95%</sub> )			Spécificité, % (IC <sub>95%</sub> )			Valeur prédictive négative, % (IC <sub>95%</sub> )		
	D-dimères VIDAS	D-dimères STA-Liatest	p-value	D-dimères VIDAS	D-dimères STA-Liatest	p-value	D-dimères VIDAS	D-dimères STA-Liatest	p-value
Seuil conventionnel à 0,5 µg/mL	98,9 94,0-100	98,8 94,0-100	> 0,99	53,2 52,2-55,2	57,1 55,1-59,1	< 0,01	99,9 99,6-100	99,9 99,6-100	> 0,99
Seuil ajusté à l'âge d'après Douma <i>et al.</i>	98,9 94,0-100	95,6 89,2-98,3	0,37	63,4 61,5-65,3	65,1 63,2-66,9	0,23	99,9 99,6-100	99,7 99,4-99,9	0,37

### P 014 - Angiopoietin-2 binds to multiple interactive sites within von Willebrand factor

A. Texier<sup>1</sup>, P. Lenting<sup>1</sup>, C. Denis<sup>1</sup>, O. Christophe<sup>1</sup>

<sup>1</sup>U1176 - Le Kremlin Bicêtre (France)

**Introduction :** Biosynthesis of von Willebrand factor (VWF) in endothelial cells drives the formation of storage-organelles known as Weibel-Palade bodies (WPBs). WPBs also contain several other proteins, including angiopoietin-2 (Ang-2). At present, the molecular basis of the VWF-Ang-2 interaction is unknown.

**Matériels et Méthodes :** Here, we used immunosorbent-binding assays and specific recombinant VWF-fragments to analyze VWF-Ang-2 interactions. To further explore the relevance of the D'D3-region for Ang-2 binding, both full-length VWF and VWF/D1D2-D'D3 were co-expressed with Ang-2 in HEK293-cells and immunofluorescence analysis was performed. Finally, reciprocal immunoprecipitation experiments were performed to examine if Ang-2 remains associated with VWF after its secretion.

**Résultats :** First, we found that VWF bound to immobilized Ang-2 most efficiently (half-maximal binding at  $0.5 \pm 0.1$  microgram/ml) under conditions of high CaCl<sub>2</sub> (10 mM) and slightly acidic pH (6.4-7.0). Interestingly, several isolated recombinant VWF-domains (A1/Fc, A2/Fc, D4/Fc and D'D3-HPC4) displayed dose-dependent binding to immobilized Ang-2. Binding appeared specific, as antibodies against D'D3, A1 and A2 significantly reduced binding of these domains to Ang-2. Noteworthy, also FVIII interfered with binding of D'D3-HPC4 to Ang-2, suggesting that their binding sites may overlap. Immunofluorescence analysis revealed that both VWF variants (full-length VWF and VWF/D1D2-D'D3) were able to form WPB-like organelles, and that at least part of the Ang-2 population was incorporated into these organelles. Reciprocal immunoprecipitation experiments showed the presence of VWF-Ang-2 complexes in plasma.

**Conclusion :** Altogether, our data show that VWF contains several interactive sites for Ang-2, which may contribute to the incorporation of Ang-2 into the WPBs, allowing the formation of VWF-Ang-2 complexes that can be secreted into the circulation upon endothelial stimulation.

### P 015 - Déficit en sérotonine plaquettaire expérience strasbourgeoise et bordelaise

D. Desprez<sup>1</sup>, M. Fiore<sup>2</sup>, P. Laeuffer<sup>3</sup>, O. Feugeas<sup>1</sup>, A. Dupuis<sup>3</sup>

<sup>1</sup>CRC MHC - Strasbourg (France),

<sup>2</sup>CRC MHC - Bordeaux (France),

<sup>3</sup>EFS - Strasbourg (France)

**Introduction :** Dans la majorité des cas, les déficits en sérotonine plaquettaire sont iatrogènes, mais peuvent s'inscrire dans des thrombopathies sécrétoires constitutionnelles. Les répercussions d'un déficit en sérotonine sur la fonction plaquettaire sont variables, alors qu'il est classiquement admis qu'ils augmentent le risque hémorragique.

Les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine semblent d'avantage augmenter le risque hémorragique que les inhibiteurs non sélectifs.

La sérotonine plaquettaire est stockée dans les granules denses (GD) des plaquettes. Un déficit en sérotonine peut être suspecté soit en cas de déficit qualitatif ou quantitatif, soit en cas d'anomalie de sécrétion de ces granules. Le test d'incorporation de sérotonine radio marquée reste la méthode de référence pour l'évaluation de la sécrétion des GD. En parallèle le dosage de la sérotonine

plaquettaire peut être réalisé par HPLC ou par ELISA et permet de mettre en évidence un déficit en sérotonine isolé ou associé à un déficit en nucléotides.

**Matériels et Méthodes :** A Strasbourg, sur 209 dosages par ELISA, 35 déficits ont été individualisés au cours des 2 dernières années. L'âge médian au diagnostic était de 54 ans (6-87) avec un sexe ratio de 1,4. Leur score hémorragique selon Toselto était de 5 (0-13). 14 patients avaient des scores supérieurs à la normale (3/4 pour homme, 5/6 pour femme) Alors que le chiffre médian plaquettaire était de 216000/mm<sup>3</sup> (42000-388000) ; 4 patients étaient thrombopéniques. Pour 25 patients, l'étude des fonctions plaquettaires en agrégométrie a été réalisé sur des plaquettes lavées. Des anomalies orientant vers une anomalie des GD plaquettaires ont été mis en évidence chez 16 patients sur les tracés d'agrégation. Le taux médian de sérotonine était de 112 (5-283) pour de valeurs normales supérieures à 400 ng/ml/109 plaquettes. Aucune différence significative n'a été établi entre les femmes et les hommes. Des rapports ATP/ADP supérieur à 2.5 ont été retrouvés chez 12 sur 24 patients ainsi que 4 anomalies du test à la mécaprine sur les 5 patients bordelais testés.

**Résultats :** Une prise d'antidépresseur type inhibiteur de la capture de la sérotonine a été retrouvé chez 7 patients (escitlopram 28%, vortioxetine 28 %, sertraline 28% paroxistine 14 %) avec des taux médians de sérotonine à 27 (4.5-54) et une prise d'antidépresseur inhibiteur de la sérotonine et noradrénaline chez 3 patients (venlafaxine 67% et duloxitine 33%) avec des taux médians de sérotonine à 78 (4.5-54). Une myéłodysplasie a été individualisé chez un patient. Chez 4 patients, le déficit en sérotonine s'est intégré dans un syndrome d'Hermansky pudlak et dans 2 syndromes de Noonan.

**Conclusion :** Afin d'évaluer le risque hémorragique réel, il apparait pertinent d'associer un dosage de la sérotonine intra plaquettaire aux tests fonctionnels en l'agrégation chez les patients ayant des antécédents de troubles de l'hémostase et bénéficiant un traitement par un inhibiteur de la recapture de la sérotonine.

### P 016 - Activité physique adaptée : expérience du CRC – MHC de Strasbourg

D. Desprez<sup>1</sup>, O. Blouet<sup>1</sup>, S. Geneton<sup>2</sup>, T. Colin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CRC MHC - Strasbourg (France)

<sup>2</sup>Rhumatologie - Strasbourg (France)

**Introduction :** L'activité physique adaptée (APA) fait partie intégrante du traitement de nombreuses maladies chroniques et dispensées par des professionnels spécifiquement formés.

Un enseignant en APA (E-APA) a rejoint l'équipe du CRC-MHC de Strasbourg depuis 1 an.

**Matériels et Méthodes :** Des séances ont été proposé aux patients pressentis par le médecin coordinateur, ces patients pouvant être atteint indifféremment de MHC ou de pathologie thrombotique l'objectif étant principalement le renforcement musculaire, l'assouplissement articulaire, l'amélioration des capacités cardiovasculaires et la perte de poids.

**Résultats :** Les séances ont été précédées par une évaluation physique (test d'endurance (TM6'), tests d'équilibre, de souplesse et de force musculaires, recueil des données anthropométriques) et des questionnaires sur douleur fatigue et qualité de vie. Le niveau de sédentarité était sans surprise élevé pour l'ensemble des patients quel que soit leur âge.

Des séances hebdomadaires ou bihebdomadaires d'une heure en présentiel et /ou en distanciel individuelles ou collectives pour ont été dispensées aux patients.

L'E-APA a travaillé en étroite collaboration avec le kinésithérapeute du CRC -MHC.

Les séances collectives ont grandement participé à la socialisation des patients mise à mal par la pandémie. La totalité des patients s'est déclaré satisfait du travail accompli, une amélioration allant jusqu'au triplement des performances a été observé au fil du temps avec une perte médiane de 6 kg pour la totalité des patients.

**Conclusion :** L'APA est sans nul doute un moyen motivant d'inscrire la pratique d'une activité sportive sur la durée, *bénéfique* pour les patients avec pathologie chroniques suivis au CRC-MHC. L'intégration d'un poste en E-APA aux équipes représenterait un énorme avantage, mais se heurte comme souvent à des difficultés financières.

### P 017 - L'utilité de l'activité anti-Xa dans le monitoring de l'héparine non fractionnée

E. Anane<sup>1</sup>, J. Belil<sup>1</sup>, H. Baccouche<sup>1</sup>, A. Chakroun<sup>1</sup>, S. Mahjoub<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hopital La Rabta - Tunis (Tunisia)

**Introduction :** Le temps de céphaline et activateur (TCA) est utilisé comme une méthode de référence pour le monitoring de l'héparine non fractionnée (HNF) sauf qu'il est associé à une variabilité intra et interindividuelle non liée à l'HNF. Plusieurs études ont comparé l'utilisation du TCA et de l'activité anti-Xa avec une remise en question sur l'usage du TCA seul.

L'objectif de notre étude était de voir la corrélation entre le TCA et l'anti-Xa chez les patients traités par HNF.

**Matériels et Méthodes :** C'est une étude rétrospective menée sur 5ans (2018-2022). Une mesure simultanée du TCA et de l'activité anti-Xa au laboratoire d'hématologie ont étaient réalisés sur des prélèvements d'hémostase des patients traités par HNF. Le dosage était réalisé sur l'automate STA compact MAX de STAGO en utilisant le réactif STA-PTT-Automate (Diagnostica Stago) pour le TCA et le liquide anti-Xa (Diagnostica Stago) avec un étalon HNF pour le dosage de l'activité anti-Xa.

La dose administrée d'HNF était considérée dans l'intervalle thérapeutique si TCA Ratio était entre 2 et 3 et/ou activité antiXa entre 0.3 et 0.7 UI/ml.

**Résultats :** Soixante-six prélèvements ont été recueillis à partir de 35 patients mis sous HNF. L'âge moyen était de 48 ans avec un sex ratio à 1.3. La majorité des patients (84%) étaient admis au service de réanimation.

Les principales indications de la mise sous HNF étaient l'embolie pulmonaire dans 43% des cas et la thrombose veineuse dans 27% des cas.

Lorsque le TCA ratio était dans l'intervalle thérapeutique, 52% des résultats étaient concordants avec une activité antiXa dans l'intervalle thérapeutique, 35% avaient une activité antiXa infra thérapeutique et 12% avaient une activité antiXa supra thérapeutique. Le coefficient de corrélation calculé  $r=0.39$  indiquait une corrélation positive mais faible.

**Conclusion :** La surveillance de l'HNF reste complexe. La faible corrélation entre le TCA et l'activité anti-Xa avec une concordance dans seulement 1/2 des cas montre que le TCA seul reste insuffisant. Ce dernier est un moyen rapide pour ajuster la dose d'HNF pour la majorité des patients, mais les deux tests doivent être utilisés pour guider le traitement par HNF dans des cas spécifiques.

### P 018 - Les anomalies de l'apolipoprotéine B : une cause rare d'hypovitaminose K

A. Herb<sup>1</sup>, J. Wimmer<sup>1</sup>, L. Sattler<sup>1</sup>, O. Feugeas<sup>2</sup>, D. Desprez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hématologie et d'hémostase, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France),

<sup>2</sup>Centre de Ressources et Compétences - Maladies Hémostatiques Constitutionnelles - Strasbourg (France)

**Introduction :** L'abêtalipoprotéinémie et l'hypobêtalipoprotéinémie (HBL) sont des maladies génétiques autosomiques récessives rares, entraînant une baisse ou une absence de l'apolipoprotéine B (Apo B). En raison de la malabsorption des graisses qui en découle, les patients présentent souvent un déficit en vitamines A, D, E et K.

**Matériels et Méthodes :** Nous rapportons ici deux cas d'anomalie de l'Apo B découverts sur un tableau d'hypovitaminose K associée à une diathèse hémorragique.

**Résultats :** Cas n°1 : un nourrisson de 3 mois et demi a été admis aux Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS) pour suspicion de maltraitance. Il présentait des hématomes sous-duraux et rachidien, ainsi que des hémorragies rétinienne. On notait par ailleurs un retard de croissance, une hépatomégalie avec cytolyse et une stéatorrhée. Il était issu d'un mariage consanguin : ses deux grands-mères maternelles étaient sœurs, et on retrouvait une notion d'hypocholestérolémie chez les deux. Le bilan biologique a révélé une anémie à 6 g/dL ainsi qu'une hémostase très perturbée, compatible avec une franche hypovitaminose K (facteurs II, VII et X <2%, facteur V 84%), qui s'était normalisé après injection de vitamine K. Le bilan lipidique était également anormal (LDL <0,03 g/L, triglycérides 0,04 g/L), et l'apo B n'était pas mesurable (< 0,20 g/L) avec une diminution des vitamines A, D, E et K. L'étude génétique familiale a retrouvé la même mutation d'APOB présente de manière hétérozygote chez les deux parents et homozygote chez l'enfant, expliquant ce tableau d'HBL sévère.

Cas n°2 : une patiente de 23 ans a été adressée au Centre Régional de Traitement des maladies Hémostatiques (CRTH) des HUS pour syndrome hémorragique ; elle présentait en effet d'importantes ménorragies avec une hypovitaminose K, avec épisodes d'épistaxis dans l'enfance. Il existait également une notion de consanguinité chez cette patiente.

Dans ses antécédents, on notait une intervention chirurgicale pour fracture du tibia trois mois auparavant. Elle avait ensuite été hospitalisée, trois semaines plus tard, dans une unité de médecine interne d'une clinique privée pour anémie à 7,7 g/dL d'hémoglobine. A son admission, elle présentait une diminution spontanée du TP à 26% compatible avec une hypovitaminose K (facteur II 20%, facteur V 65%, facteur VII 26%, facteur X 9%) sans notion de traitement par AVK. La vitamine K était alors < 100 ng/mL. Le TP s'était normalisé après administration de vitamine K.

Lors de sa consultation au CRTH, un mois après, le bilan lipidique retrouvait des triglycérides < 0,02 g/L et un cholestérol LDL non mesurable, tandis que les vitamines A, D et E étaient fortement diminuées, le tout compatible avec une anomalie de l'Apo B. Les explorations sont actuellement en cours.

**Conclusion :** Ces deux cas mettent en exergue la nécessité d'évoquer, devant une hypovitaminose K sans étiologie évidente associée à des perturbations franches du bilan lipidique, une possible anomalie de l'Apo B.

## P 021 - Prise en charge des différentes interventions chirurgicales indiquées chez les patients atteints de Thrombasténie de Glanzmann

Z. Nadia<sup>1</sup>, Z.D.N.N.A. Meriem<sup>1</sup>, Z.D.N.N.A. Nawel<sup>1</sup>, Z.D.N.N.A. Mahdia<sup>1</sup>, Z.D.N.N.A. Belkis<sup>1</sup>, Z.D.N.N.A. Ilhem<sup>1</sup>, Z.D.N.N.A. Sihem<sup>1</sup>, Z.D.N.N.A. Hanane<sup>1</sup>, Z.D.N.N.A. Salim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hopital Beni Messous - Alger (Algeria)

**Introduction :** La thrombasténie de Glanzmann (TG) est un trouble hémorragique héréditaire rare, caractérisée par la survenue d'épisodes hémorragiques récurrents souvent gravissimes. Une intervention chirurgicale peut-être indiquée dans le cadre de l'urgence ou être programmée suite à une situation particulière et nécessite une planification. L'objectif de ce travail est de recenser les différentes situations chirurgicales urgentes ou programmées chez les patients (pts) atteints de TG et préciser les particularités de prise en charge en per et post opératoire.

**Matériels et Méthodes :** Nous avons mené une étude rétrospective incluant tous les pts atteints de TG pris en charge au centre d'hémophilie du CHU Beni Messous. Nous avons recensé tous les actes chirurgicaux qui ont été réalisés. Les données ont été relevées à partir des dossiers des pts. Les paramètres analysés sont l'âge, le type de chirurgie urgente ou programmée, les incidents, le TRT appliqué et l'évolution.

**Résultats :** Nous avons colligé 47 pts atteints de TG. Treize ont subi une chirurgie dont 05 hommes et 08 femmes. L'âge moyen actuel est de 31 ans (19-45). L'âge moyen au moment de l'intervention est 22 ans (1.5 – 45). Plus de 50% des pts ont présenté un tableau hémorragique grave dans les antécédents et ont été transfusés. Nous avons recensé 16 interventions chirurgicales avec 56.2% des cas d'hospitalisation. Deux gestes ont été réalisés dans le cadre de l'urgence. Une complication hémorragique a été notée dans 37.5% des cas. La prise en charge thérapeutique a nécessité l'association d'une transfusion de plaquettes, de culots globulaires et du facteur VII activé dans 37.5% des cas.

**Conclusion :** La TG est une maladie grave comme le montre les ATCDS hémorragiques ainsi que les complications en per ou post opératoires notés chez nos pts (37,5% des cas dans notre étude). La prise en charge opératoire a nécessité une hospitalisation dans plus d'un tiers des cas. Un tiers des gestes ont nécessité une trithérapie.

Chez les pts atteints de TG l'acte chirurgical en dehors de l'urgence ne doit être indiqué que dans des situations bien particulières vu le risque hémorragique important pouvant mettre en jeu le pronostic vital. La chirurgie même mineure nécessite une prise en charge thérapeutique lourde et couteuse. Quel que soit le geste chirurgical, il nécessite une préparation et une collaboration multidisciplinaire.

## P 022 - Le récepteur PAR4 initie la voie SERCA3/NAADP qui potentialise l'activation des plaquettes en réponse à la thrombine

R. Bobe<sup>1</sup>, M. Feng<sup>1</sup>, F. Adam<sup>1</sup>, A. Kauskot<sup>1</sup>, C. Denis<sup>1</sup>, J.P. Rosa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>U1176 - Le Kremlin-Bicetre (France)

**Introduction :** Cette étude avait pour but d'identifier les récepteurs de la thrombine (récepteurs PAR1 ou/et PAR4 activés par la protéinase) impliqués dans l'amplification de la sécrétion plaquettaire mise en place par la voie de mobilisation du Ca<sup>2+</sup> des réserves SERCA3 par le NAADP en réponse à une faible concentration de thrombine.

**Matériels et Méthodes :** Le rôle des récepteurs de la thrombine a été examiné en utilisant l'activation directe de PAR1 ou de PAR4 par leur peptide d'activation (respectivement, SFLLRN et AYPGKF) et d'inhibiteurs pharmacologiques de la voie SERCA3/NAADP tels que le NED-19; antagoniste du récepteur NAADP ou AR-C69931MX; antagoniste de P2Y12 L'étude a été menée sur des plaquettes de souris, qui n'expriment que PAR4, et les résultats ont été comparés à ceux obtenus sur des plaquettes humaines qui expriment à la fois PAR1 et PAR4.

**Résultats :** Nous avons observé sans surprise que la mobilisation des réserves de SERCA3 est déclenchée par PAR4, tant dans les plaquettes de souris. Par contre, il semble que PAR4, mais étonnamment pas PAR1, soit aussi responsable de la mobilisation des réserves SERCA3 dans les plaquettes humaines. Le blocage pharmacologique du NAADP a conduit à une inhibition marquée de la sécrétion d'ADP après stimulation des plaquettes par le peptide activateur de PAR4. De plus, dans les plaquettes humaines, l'inhibition pharmacologique de P2Y12 modifie l'amplification de la sécrétion déclenchée par PAR4 par la mobilisation des réserves de SERCA2b.

**Conclusion :** L'ensemble de ces résultats suggère que la libération précoce d'ADP dépendante de SERCA3 est uniquement déclenchée par PAR4 et non par PAR1. Ils suggèrent également l'existence d'une certaine interaction entre P2Y12 et PAR4.

## P 023 - Usefulness of 1E12, a monoclonal anti-PF4 antibody to improve diagnosis of vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia

J. Rollin<sup>1</sup>, C. Vayne<sup>1</sup>, R. Clare<sup>2</sup>, M. Atsouawe<sup>1</sup>, C. Cordonnier<sup>3</sup>, S. Lemoine<sup>4</sup>, A. Godon<sup>4</sup>, S. Susen<sup>5</sup>, I. Nazy<sup>2</sup>, Y. Gruel<sup>1</sup>, C. Couplard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hémostase CHU Tours - Tours (France),

<sup>2</sup>McMaster University - Hamilton (Canada),

<sup>3</sup>CHU Lille; University of Lille, U1172-Lilncog – Lille Neuroscience & Cognition - Lille (France),

<sup>4</sup>University Hospital Centre Angers, Haematology, University of Angers, Inserm, CNRS, CRCl2NA - Angers (France),

<sup>5</sup>CHU Lille, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1011-Egid - Lille (France)

**Introduction :** Vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia (VITT) is a rare complication of adenovirus-based SARS-COV-2 vaccines due to anti-PF4 antibodies, which strongly activate platelets. In some patients receiving heparin to distinguish VITT from heparin-induced thrombocytopenia (HIT) can be challenging. In this context, we evaluated whether a competitive enzyme immunoassay (EIA) using monoclonal antibodies mimicking human VITT and HIT anti-PF4 antibodies may facilitate VITT diagnosis.

**Matériels et Méthodes :** The ability of Fab'2 fragments of 1E12, 1C12 and 2E1, three chimeric monoclonal anti-PF4 antibodies, to inhibit the binding of human VITT or HIT antibodies to modified PF4 was evaluated using an EIA. Alanine scanning mutagenesis was performed on PF4 to define amino acids (AA) involved in the interactions between these three monoclonals and human patient antibodies with PF4.

**Résultats :** A strong inhibition of VITT IgG binding to PF4 was measured with 1E12 Fab'2 (median of inhibition: 93%, n=8), whereas it had no effect on the binding of HIT antibodies (median of inhibition: 6%, n=8). In contrast, the Fab'2 of 1C12 and 2E1 similarly inhibited the binding of VITT (median of inhibition: 74 and 76%, respectively) and HIT antibodies (median of inhibition: 68 and 53%, respectively) to PF4. 1E12 Fab'2 was therefore tested in competitive EIA with 19 additional VITT plasma samples, and we

confirmed it strongly inhibited IgG binding to PF4, except for one patient, who had actually developed HIT according to his clinical history. Finally, epitope mapping showed that 1E12 interacts with 5 AA on PF4, of which 4 are also required in the binding of human VIT antibodies, whereas none are involved for HIT antibody binding. This result probably explains the selective inhibitory effect of 1E12 on VIT antibody binding to PF4.

**Conclusion :** A competition EIA with 1E12 Fab'2 can distinguish VIT from HIT antibodies in specific patients when both diagnoses are possible.

**P 024 - Diagnostic biologique d'un Willebrand acquis de type 2B**

S. Jaouen<sup>1</sup>, F. Mingant<sup>1</sup>, B. Pan-Petesht<sup>2</sup>, L. Civi<sup>2</sup>, S. Robin<sup>3</sup>, J.C. Ianotto<sup>2</sup>, E. Lippert<sup>1</sup>, E. Jeanpierre<sup>4</sup>, H. Galinat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service d'Hématologie Biologique, CHU Brest - Brest (France),

<sup>2</sup>Service d'Hématologie Clinique, CHU Brest - Brest (France),

<sup>3</sup>Service de Médecine Interne, CHU Brest - Brest (France),

<sup>4</sup>Institut d'Hématologie Transfusion, CHU Lille - Lille (France)

**Introduction :** Un homme de 64 ans est suivi depuis 2010 pour une thrombopénie isolée et fluctuante chronique entre 50 et 80 G/L, avec parfois des amas plaquettaires, étiquetée initialement purpura thrombopénique immunologique (PTI) mais sans réponse aux corticoïdes ni aux immunoglobulines humaines polyvalentes (IgV). Le patient a 3 antécédents chirurgicaux sans complication hémorragique, mais présente depuis 2007 des ecchymoses inhabituelles pour une thrombopénie modérée. Par ailleurs, on ne note aucun antécédent thrombopénique ou hémorragique familial. Ce patient a été adressé au CHU de Brest pour réévaluation de la thrombopénie avant la réalisation d'une biopsie prostatique.

**Matériels et Méthodes :** Les dosages du facteur Willebrand antigène (VWF:Ag) et activité (VWF:Ac) ont été réalisés respectivement avec les kits STA®-Liatest® VWF:Ag (Stago) et INNOVANCE® VWF:GPIbM (Siemens). Les tests RIPA (*Ristocetin Induced Platelet Aggregation*) ont été réalisés avec le thromboagrégomètre TA-4V (SD Medical). La déplétion en IgG a été réalisée par billes magnétiques anti-IgG humaines (RayBiotech). Une posologie de 50 UI/kg a été utilisée pour étudier la réponse au Vonicog Alfa (VEYVONDI®).

**Résultats :** A l'électrophorèse des protéines sériques, une IgG monoclonale λ (6 g/L) est découverte. Les tests de routine d'hémostase sont sans particularité, le dosage du FVIII est à 152%, mais on retrouve : VWF:Ag à 111%, VWF:Ac abaissé à 31% et ratio VWF:Ac/VWF:Ag diminué à 0,28. Le test RIPA montre la présence d'une agrégation paradoxale aux faibles doses de ristocétine [Figure 1]. L'étude des gènes du VWF et du GP1BA ne montre pas de variation de séquence délétère. Le profil multimérique du VWF montre une réduction significative du pourcentage des formes de haut poids moléculaire [Figure 2]. Le test ELISA de liaison du VWF à la GPIbα recombinante ne montre pas d'hyperfixation aux faibles concentrations de ristocétine. Les tests croisés RIPA (plasma pauvre en plaquettes -PPP- patient + plasma riche en plaquettes -PRP- témoin), positifs à faible dose de ristocétine (0,5 mg/mL) sont en faveur d'une maladie de Willebrand de type 2B (VWD 2B). Après chauffage du PPP patient à 58°C, ces tests restent positifs [Figure 3] mais se négativent lorsque le PPP patient est déplété en IgG [Figure 4]. Ceci suggère une implication de l'IgG monoclonale dans le caractère acquis de ce VWD 2B. A l'inverse des IgIV, l'utilisation de Vonicog Alfa permet d'atteindre des niveaux d'activité Willebrand suffisants dans le cadre d'une intervention [Figure 5].

**Conclusion :** Le diagnostic de VWD 2B acquis en lien avec une immunoglobuline monoclonale (IgG λ) qui modifierait la conformation du facteur Willebrand en le rendant hyperaffin pour

la GPIb plaquettaire est retenu. Deux cas de VWD 2B acquis sont décrits dans la littérature (Karger *et al.*, 2011 ; Scepansky *et al.*, 2014). La prise en charge des chirurgies ou des épisodes hémorragiques reposerait sur un traitement par Vonicog Alfa.

Figure 1 : Tests RIPA à faibles doses

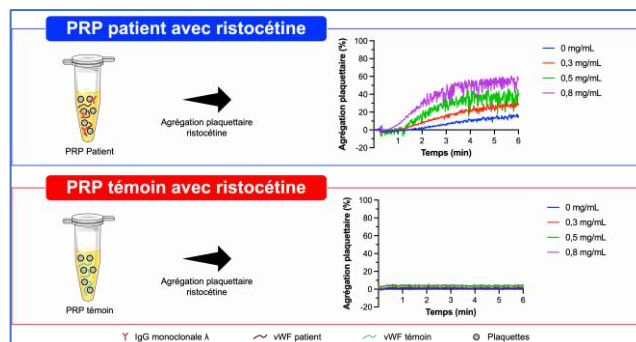


Figure 2 : Étude des multimères du facteur Willebrand

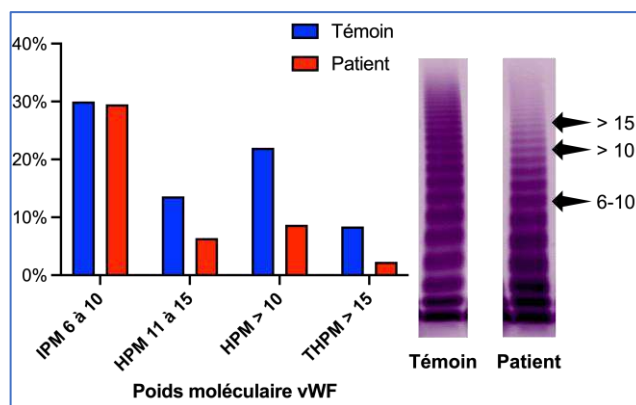


Figure 3 : RIPA (0,5 mg/mL) après chauffage à 58°C du PPP

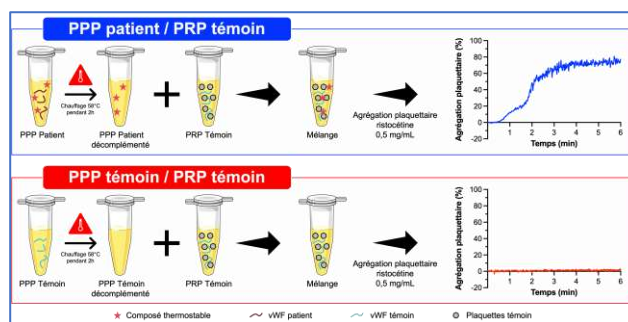


Figure 4 : RIPA (0,5 mg/mL) avant/après déplétion des IgG

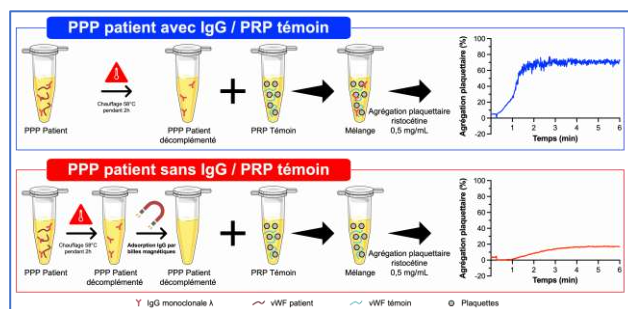
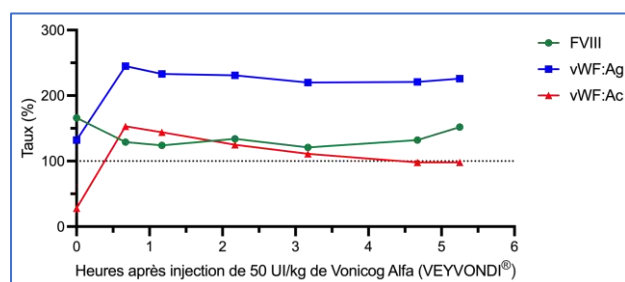


Figure 5 : Évolution du taux de FVIII et vWF après injection



## P 025 - Dosage de l'activité anti-Xa HBPM : un état des lieux

J. Bellil<sup>1</sup>, E. Anane<sup>1</sup>, M.H. Jlassi<sup>1</sup>, A. Chakroun<sup>1</sup>, H. Baccouche<sup>1</sup>, S. Mahjoub<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hopital La Rabta - Tunis (Tunisia)

**Introduction :** L'évaluation de l'effet anticoagulant n'est généralement pas préconisée en routine avec les des Héparines à Bas Poids Moléculaires du fait des propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques prévisibles en dehors de quelques situations comme poids extrêmes (<40kg et >100kg), enfant, insuffisance rénale et âge avancé.

Notre objectif était de déterminer l'impact du résultat de l'activité anti-Xa sur la prise en charge du patient traités par HBPM.

**Matériels et Méthodes :** Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive de janvier 2018 à décembre 2022. Nous avons collecté toutes les demandes de dosage de l'activité anti-Xa pour HBPM. Le prélèvement a été réalisé 4 heures après la prise de l'HBPM. Le dosage a été réalisé sur automate type STA Compact Max 3<sup>®</sup> de STAGO en utilisant le réactif LiquidAnti-Xa (Stago) étalonné avec MULTIHRP CALIBRATOR (STAGO) L'intervalle thérapeutique à but curatif était entre 0,5 et 1 UI/ml.

**Résultats :** Cinquante demandes d'activité anti-Xa HBPM ont été reçues à notre service pour des patients traités à dose curative (100 UI/kg \*2/j). Les indications de l'énoxaparine était : thromboses veineuses profondes(n=31), artérielles(n=6), mixtes(n=1) et thromboses intra-cardiaque (n=5). La localisation veineuse qui prédominait, était cérébrale (11/31).

La majorité des demandes provenait du service de pédiatrie (29/50) dont l'indication du dosage de l'activité anti-Xa était le jeune âge et le faible poids. Dans les autres cas, les indications était à type de : âge avancé (n=7), vérification d'une anticoagulation efficace devant la gravité de la thrombose(n=6), grossesse (n=3), saignement (n=3), sujet maigre(n=1), obésité morbide(n=1).

L'activité anti-Xa était dans l'intervalle thérapeutique dans 50% des cas. Le résultat était infra-thérapeutique dans 46% des cas et supra-thérapeutique dans 4% des cas.

**Conclusion :** Dans notre série, la moitié des patients était traités à dose infra- ou supra-thérapeutique nécessitant un ajustement thérapeutique. D'autres études sont nécessaires pour étudier l'impact clinique du changement de la dose.

## P 027 - Effects of prophylactic corticosteroid treatment on AAV-mediated gene therapy and potential mechanisms of action

K. Legendre<sup>1</sup>, S.L. Harris<sup>1</sup>, B. Handyside<sup>2</sup>, L. Zhang<sup>2</sup>, B. Yates<sup>2</sup>, L. Xie<sup>2</sup>, C.R. Sinh<sup>2</sup>, R. Murphy<sup>2</sup>, T. Bouwman<sup>2</sup>, B. Baridon<sup>2</sup>, C. Su<sup>2</sup>, S. Bullens<sup>2</sup>, A.M. Ismail<sup>2</sup>, S. Bunting<sup>2</sup>, S. Fong<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Biomarin Pharmaceutical Inc. - Londres (United Kingdom),

<sup>2</sup>Biomarin Pharmaceutical Inc. - Novato, Ca (United States)

**Introduction :** Adeno-associated virus (AAV)-based gene therapy can initiate host-immune responses to the AAV vector components or the transgenic protein product, which could reduce AAV-mediated expression. Data from preclinical studies suggest that corticosteroid treatment may limit these immune responses and improve gene therapy outcomes.

**Matériels et Méthodes :** In an earlier study, prednisolone treatment initiated one week after valoctocogene roxaparvovec (AAV5-hFVIII-SQ) administration had no impact on FVIII expression in mice. In a subsequent study we investigated if corticosteroid treatment initiated before AAV administration could improve transgene expression in mice. Mice were dosed daily for 4 weeks with prednisolone (2 mg/kg) or water starting 1 day or 2 hours before administration of 6x10<sup>13</sup> vg/kg of an AAV5-HLP-hA1AT vector expressing human  $\alpha$ 1-antitrypsin (hA1AT) as a reporter.

**Résultats :** Prednisolone-treated mice had significantly higher serum hA1AT protein levels (1.5- to 2.2-fold) starting 6 weeks after AAV dosing and through study end at 12 weeks. Furthermore, mice treated with prednisolone had a higher percentage of hepatocytes stained positive for vector DNA as well as higher liver full-length vector genome DNA and transgene RNA compared with the non-prednisolone-treated groups. This demonstrates that corticosteroid treatment before AAV administration can improve liver-directed AAV5 expression in mice.

To better understand potential mechanisms involved in this beneficial effect of prophylactic steroid treatment on AAV transduction we further investigated early events after AAV5 dosing in mice with or without prophylactic corticosteroid treatment. RNAseq analyses of liver samples were performed to evaluate differential expression 2h and 24h following AAV5-HLP-hA1AT administration in mice treated with and without prophylactic prednisolone. These analyses showed that prophylactic steroid treatment reduces acute innate immune responses to AAV. For example, serum IL-1b protein levels were increased 2h and 24h after AAV administration, which were suppressed with prednisolone treatment.

Moreover, RNAseq showed an upregulation of the AAV5 cell surface co-receptor, PDGFR $\alpha$ , and downregulation of its competitive ligand PDGF $\alpha$  2 hours after AAV administration in prednisolone treated mice compared with mice not treated with prednisolone. This suggests that prophylactic corticosteroid treatment may increase AAV5 capsid uptake by upregulation of the receptor and downregulation of the ligand.

**Conclusion :** In summary, prophylactic corticosteroid treatment before AAV5 administration improved transgene expression potentially through multiple mechanisms, including suppression of the innate immune response and increased AAV uptake by cells.

## P 028 - Non-Clinical Assessment of Prophylactic Immune Modulation Prior to Gene Therapy Dose Administration in C57BL/6 Mice

K. Legendre<sup>1</sup>, B. Long<sup>2</sup>, S.L. Harris<sup>1</sup>, B. Handyside<sup>2</sup>, T. Seitel<sup>2</sup>, R. Boyer<sup>2</sup>, C. Wilson<sup>2</sup>, K. Obrochta<sup>2</sup>, A. Van Tuyll<sup>2</sup>, J. Arens<sup>2</sup>, K. Lau<sup>2</sup>, S. Gupta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Biomarin Pharmaceutical Inc. - Londres (United Kingdom),

<sup>2</sup>Biomarin Pharmaceutical Inc. - Novato, Ca (United States)

**Introduction :** The investigation of AAV vectored gene therapies has increased exponentially over the past decade for the treatment of monogenic disorders such as hemophilia. Many clinical programs have adopted the use of corticosteroids or other immune modulatory therapies to prevent or treat inflammatory responses



and preserve transgene expression following gene therapy dose administration; however, there is no clear consensus across sponsors on the optimal immunosuppressive regimen. In the current study, we evaluated the pharmacodynamic and immunomodulatory effects of seven different immunosuppressive agents administered prophylactically prior to gene therapy dose administration and continued for four weeks after.

**Matériels et Méthodes** : Prednisolone, Mycophenolate (MMF), Rapamycin, Tacrolimus, Dimethyl Fumarate (DMF), Fingolimod (FTY720), and anti-IL6R antibody were administered to C57BL/6 mice starting either 1 or 3 days prior to gene therapy dosing and continued through Day 29. Mice were treated with an AAV5 vector delivering human alpha-1-antitrypsin transgene driven by a liver-selective promoter (AAV5-HLP-hA1AT) on Day 1 and followed for 12 weeks and were evaluated at regular intervals for plasma protein concentrations of hA1AT, anti-AAV5 total binding antibody (AAV5 TAB), and inflammatory biomarkers. Liver tissue collected at termination was evaluated for vector genome copy number and RNA expression.

**Résultats** : No plasma inflammatory biomarkers were significantly changed from baseline in the reference group following AAV5-HLP-hA1AT administration; however, prophylactic immune modulation did alter some cytokine and chemokine expression profiles. Overall, prophylactic administration of Prednisolone resulted in a statistically significant increase (~1.5 fold) in hA1AT plasma protein concentrations over the reference control, and IP administration of Rapamycin resulted in a transient reduction (~1 log titer reduction) in AAV5 TAB titer. Though there were trends of increased transgene expression with Tacrolimus, Mycophenolate, and IL-6R antagonist, the rest of the immune modulatory reagents did not show any statistically significant benefit over control with respect to either plasma hA1AT or suppression of AAV5 TAB.

**Conclusion** : This study demonstrates that prophylactic immune modulation prior to AAV administration can improve liver-directed transgene expression in mice.

### P 029 - Le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) : nouvel acteur sexe-dépendant de la réactivité plaquettaire chez le rat

G. Jourdi<sup>1</sup>, M. Welman<sup>2</sup>, M. Lordkipanidzé<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Université Paris Cité, INSERM Innovations Thérapeutiques en Hémostase ; Service d'hématologie Biologique, Hôpital Lariboisière APHP Nord ; Centre de Recherche, Institut de Cardiologie de Montréal ; Faculté de Pharmacie, Université de Montréal - Paris (France),

<sup>2</sup>Centre de Recherche, Institut de Cardiologie de Montréal - Paris (France),

<sup>3</sup>Centre de Recherche, Institut de Cardiologie de Montréal et Faculté de Pharmacie, Université de Montréal - Paris (France)

**Introduction** : Le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) induit l'agrégation et la sécrétion plaquettaire chez les humains tout en favorisant la lyse du caillot de fibrine in vitro. Son rôle dans le maintien de l'hémostase in vivo demeure méconnu. Contrairement à l'homme, les plaquettes de souris sont naturellement dépourvues de BDNF. Or, le rat exprime cette neurotrophine en circulation, ce qui en fait un modèle intéressant pour étudier le rôle physiopathologique du BDNF dans le système circulatoire et vasculaire. L'objectif de notre étude était d'explorer le rôle du BDNF dans la réactivité plaquettaire chez les rats.

**Matériels et Méthodes** : La présence de BDNF, de son précurseur le proBDNF, et de leurs récepteurs respectifs, TrkB et p75NTR, a été évaluée par cytométrie en flux, immunobuvardage et microscopie confocale. L'expression de la P-sélectine a été évaluée par cytométrie en flux avant et après activation plaquettaire. Les

agrégations plaquettaires ont été mesurées par agrégométrie optique en plaquettes lavées, en réponse au collagène, ADP, PAR4-AP et BDNF. Les concentrations plasmatiques et sériques ainsi que la sécrétion du BDNF/proBDNF suite à l'activation plaquettaire ont été mesurées par ELISA. Les caractéristiques viscoélastométriques du caillot en présence ou absence de BDNF ont été mesurées par ROTEM. Les temps de saignement et volume de sang perdu au niveau de la queue ont été évalués suite à l'administration intraveineuse d'un anticorps monoclonal anti-BDNF (Mab#9).

**Résultats** : 66 rats Sprague-Dawley (50% femelles), âgés de 12,6 ± 1,4 semaines et pesant 347 ± 103 g ont été inclus. Le BDNF et pro-BDNF, ainsi que leurs récepteurs TrkB et p75NTR étaient présents aussi bien à la surface des plaquettes que dans le compartiment intracellulaire. Alors que le proBDNF était 8 fois plus concentré que le BDNF dans le plasma ( $p < 0,0001$ ), il l'était 3 fois dans le sérum ( $p < 0,0001$ ) dû à la libération des réserves intraplaquettaire de BDNF au cours de la formation du caillot. Les plaquettes ont agrégé de manière biphasique et irréversible au BDNF, sans différence entre les 2 sexes ( $p > 0,99$ ). A faible concentration, le BDNF a sensibilisé les plaquettes, aboutissant à un effet synergique sur les agrégations plaquettaires induites par le collagène et le PAR4-AP uniquement chez les femelles. L'expression de la P-sélectine est augmentée suite à l'activation plaquettaire par le PAR4-AP et le BDNF, et ce de manière plus significative chez les femelles que chez les mâles ( $p = 0,007$  et  $p = 0,01$  respectivement). À l'opposé, le BDNF a diminué la fermeté du caillot fibrinoplaquettaire en sang total uniquement chez les femelles ( $p = 0,01$ ). La neutralisation in vivo du BDNF n'a pas modifié le saignement chez les deux sexes.

**Conclusion** : Le BDNF semble contribuer à la biologie plaquettaire chez les rats avec un effet plus prononcé chez les femelles.

### P 030 - L'alpha-2-macroglobuline inhibe l'agrégation plaquettaire induite par le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF)

G. Jourdi<sup>1</sup>, I. Boukhatem<sup>2</sup>, P.F. Barcelona<sup>3</sup>, S. Fleury<sup>2</sup>, M. Welman<sup>4</sup>, U. Saragovi<sup>5</sup>, S. Pasquali<sup>6</sup>, M. Lordkipanidzé<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Université Paris Cité, Inserm Innovations Thérapeutiques en Hémostase ; Service d'hématologie Biologique, Hôpital Lariboisière Aphp. Nord ; Centre de Recherche, Institut de Cardiologie de Montréal ; Faculté de Pharmacie, Université de Montréal - Paris (France),

<sup>2</sup>Centre de Recherche, Institut de Cardiologie de Montréal ; Faculté de Pharmacie, Université de Montréal - Montréal (Canada),

<sup>3</sup>Département de Biochimie Clinique, Centre des Investigations en Biochimie Clinique et Immunologie (cibici-Conicet), Université Nationale de Córdoba - Cordoba (Argentina),

<sup>4</sup>Centre de Recherche, Institut de Cardiologie de Montréal - Montréal (Canada),

<sup>5</sup>Institut Lady Davis de Recherches Médicales ; Département de Pharmacologie et Thérapeutiques, Université de McGill - Montréal (Canada),

<sup>6</sup>Université Paris Cité, CNRS UMR 8038, Laboratoire Cibles Thérapeutiques et Conception De Médicaments ; Université Paris Cité, CNRS UMR 8251, Laboratoire Biologie Fonctionnelle e Adaptative - Paris (France)

**Introduction** : Le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) appartient à la famille des neurotrophines qui promeuvent la survie, la croissance et la plasticité des neurones. En circulation, les plaquettes constituent le réservoir principal avec une quantité de 100 à 1000 fois supérieure à celle du cerveau. Il a récemment été montré que le BDNF induit l'activation, la sécrétion et l'agrégation plaquettaire en plaquettes lavées. Or le BDNF est présent en quantité non négligeable dans le plasma. Son effet activateur plaquettaire est alors inhibé en périphérie. Notre objectif était d'étudier le mécanisme régulant la biodisponibilité du BDNF dans le sang.

**Matériels et Méthodes** : Les interactions protéine-protéine sont étudiées par une analyse in silico par mimétisme moléculaire et par

immunoprécipitation suivie d'immunobuvardage. Les agrégations plaquettaires sont évaluées par mesure de la transmission optique. Elles sont induites par les agonistes standards (collagène, ADP, acide arachidonique ou TRAP6) ou par le BDNF en l'absence ou en présence d' $\alpha 2$ -macroglobuline ( $\alpha 2M$ ) sous sa forme native ou activée, en plaquettes lavées ou en plasma riche en plaquettes provenant de volontaires sains. La signalisation intraplaquettaire induite par le BDNF est évaluée par des phospho-blots.

**Résultats :** L'analyse in silico a révélé que le BDNF peut interagir avec les formes native et activée de l' $\alpha 2M$  selon deux agencements principaux : parallèles et perpendiculaires. Le complexe BDNF- $\alpha 2M$  ne semble pas pouvoir se lier au récepteur de forte affinité pour le BDNF, le TrkB (tropomyosin receptor kinase B). Expérimentalement, le BDNF forme des complexes stables avec les formes native et activée de l' $\alpha 2M$ . Contrairement au BDNF libre, le complexe BDNF- $\alpha 2M$  empêche l'activation de la signalisation intraplaquettaire, notamment la phosphorylation de la protéine STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3). Les deux formes de l' $\alpha 2M$  inhibent l'agrégation plaquettaire induite par le BDNF de manière concentration-dépendante avec des concentrations inhibitrices médianes comparables (CI50  $\approx$  125-150 nM). Les agrégations plaquettaires induites par les agonistes standards ne sont pas affectées par l' $\alpha 2M$  activée ou non rendant cet effet inhibiteur spécifique du BDNF. L'agrégation plaquettaire induite par le BDNF est complètement inhibée par aussi peu que 25 % de plasma autologue confirmant ainsi cet effet inhibiteur.

**Conclusion :** L' $\alpha 2M$  semble jouer un rôle physiologique essentiel dans la régulation de la biodisponibilité du BDNF en circulation, limitant ainsi son effet pro-activateur plaquettaire au site de lésion vasculaire.

**P 031 - Évaluation globale de la fibrinolyse : répétabilité et reproductibilité d'un test semi-automatisé**

M. Danguy Des Déserts<sup>1,2</sup>, C. De Moreuil<sup>1,3</sup>, L. Gourhant<sup>1</sup>, R. Le Corre<sup>1</sup>, B. Espinasse<sup>1,3</sup>, C. Lemarié<sup>1</sup>, F. Couturaud<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Univ Brest, Inserm, UMR 1304, CHRU Brest, GETBO - Brest (France)  
<sup>2</sup>Pôle Bloc Anesthésie Réanimation Urgences, HIA Clermont-Tonnerre - Brest (France)  
<sup>3</sup>Département de Médecine Vasculaire, Médecine Interne et Pneumologie, CHU La Cavale Blanche - Brest (France)

**Introduction :** La fibrinolyse succède à la coagulation et permet la dégradation du caillot de fibrine. Contrairement à la coagulation, la fibrinolyse est peu explorée en pratique clinique, notamment en raison du manque de reproductibilité des tests de fibrinolyse (Pieters et al. JTH 2012). Un des paramètres de fibrinolyse le plus étudié est le Clot Lysis Time (CLT) (Larsen et al. MPS 2020). L'objectif de ce travail est d'évaluer la répétabilité et la reproductibilité d'une technique d'évaluation de la fibrinolyse : le Clot and Lysis Assay (CLA), semi-automatisé, pour mesurer le paramètre CLT.

**Matériels et Méthodes :** Cinq volontaires sains ont été inclus pour constituer un pool de plasma témoin selon les recommandations du Groupe Français d'études sur l'Hémostase et la Thrombose. Le CLA a été réalisé au sein du laboratoire de l'UMR 1304-GETBO. Ce test consiste à reproduire in vitro la formation d'un caillot de fibrine, puis à le dégrader via l'adjonction de tPA, tout en mesurant au fil du temps la densité optique (DO) des plasmas étudiés. Pour cela, 75  $\mu$ L de plasma par puits sont déposés dans une plaque 96 puits. Une solution d'activation est préparée comme décrit par Posch et al. (Transl. Res. 2020) avec un mélange de phospholipides (Phospholipid-TGT, Rossix, 4  $\mu$ M), de facteur tissulaire (Dade Innovin, Siemens Healthineers, 1.375 pM), de calcium (20 mM) et de tPA (Calbiochem, Sigma-Aldrich, 333 ng/mL) dans une solution tampon HBSA (HEPES 20 mM, sodium 150 mM, Bovine Serum

Albumin 1%, pH 7.4). 75  $\mu$ L de cette solution sont ajoutés dans chaque puit par l'injecteur lecteur de DO (Varioskan Flash, ThermoFisher). La réaction est effectuée à 37°C ; la DO des puits est mesurée à une longueur d'onde de 405 nm toutes les 20 secondes pendant 2 heures, permettant de générer une courbe de turbidité. Les paramètres de coagulation et de fibrinolyse sont calculés à partir des DO mesurées à l'aide d'un outil/logiciel validé disponible en ligne (Longstaff et al. JTH 2017). La figure 1 illustre les différents paramètres calculés à partir de la courbe de turbidimétrie.

**Résultats :** Onze séries de CLA ont été réalisées entre le 08/12/2022 et le 14/02/2023.

La répétabilité a été évaluée à l'aide du coefficient de variation (CV en % = écart-type/moyenne\*100) des différents paramètres calculés lors de la première série de 60 répliques (CF figure 2).

La reproductibilité intra-opérateur a été évaluée avec le CV des paramètres calculés sur les deux premiers répliques de 10 différentes séries par un même opérateur (CF figure 2).

La reproductibilité inter-opérateur a été estimée en appliquant la méthode de Bland et Altman sur les paramètres calculés de deux expérimentations de 24 répliques par deux opérateurs différents (CF figure 3).

**Conclusion :** Le test de CLA a été mis en place avec succès au sein de l'UMR 1304. L'injection de la solution d'activation par le Varioskan Flash permet d'obtenir une reproductibilité inter-opérateur satisfaisante en diminuant le nombre de manipulations et d'injections. Cette technique pourrait permettre d'évaluer globalement la coagulation et la fibrinolyse sur des plasmas de patients à risque hémorragique ou à risque thrombotique.

Figure 1 : Exemple de courbe de turbidimétrie

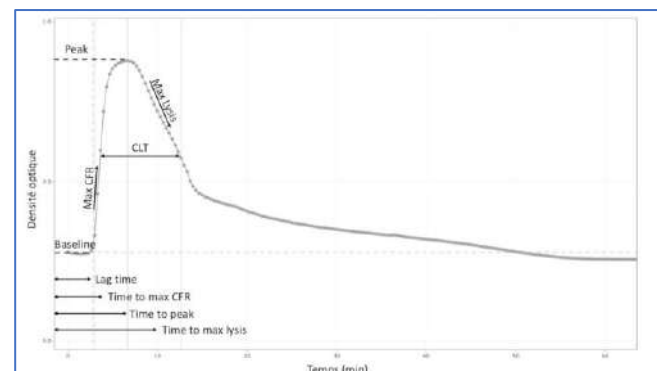
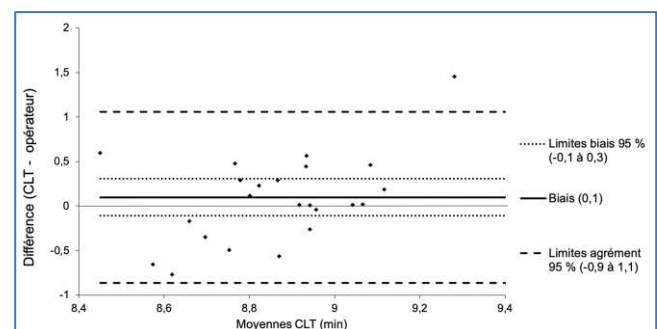


Figure 2 : CLA : moyennes, reproductibilités

	Baseline (DO)	Peak (DO)	Lag Time (sec)	Time to Peak (sec)	Clot Lysis Time (min)	Max CFR (DO/min)	Max Lysis (DO/min)	Time to max CFR (sec)	Time to max Lysis (min)
Moyennes (ET)	0,278 (0,005)	0,890 (0,022)	285 (12)	482 (16)	8,94 (0,40)	0,361 (0,025)	0,072 (0,006)	268 (31)	10,47 (1,20)
CV intra-essai (%)	2,41	2,61	6,41	3,66	4,55	4,74	5,36	6,47	10,38
CV inter-essai (%)	4,05	8,47	11,25	5,49	12,13	7,97	10,52	12,87	6,64

Figure 3 : CLT : reproductibilité interopérateur



**P 032 - Etude de l'intérêt des monomères de fibrine chez la femme enceinte dans le diagnostic de coagulation intravasculaire disséminée**

A. Launois<sup>1</sup>, E. Molina<sup>1</sup>, C. Bigot-Massoni<sup>1</sup>, I. Martin-Toutain<sup>1</sup>, C. Flaujac<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre Hospitalier de Versailles - Le Chesnay (France)

**Introduction :** La grossesse s'accompagne d'une d'hypercoagulabilité physiologique liée à l'augmentation de facteurs de coagulation, à la baisse d'inhibiteurs physiologiques et à la diminution de l'activité fibrinolytique. Des états pathologiques, comme la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) peuvent mettre en péril le pronostic vital de la mère et de l'enfant. Le diagnostic de CIVD est complexe et utilise des scores d'aide au diagnostic tels que celui proposé par l'ISTH1 en 2001. Ce score inclut : le Temps de Quick, la numération plaquettaire, le fibrinogène et un marqueur relatif à la fibrine comme les monomères de fibrine (MF) et/ou les D-Dimères (DDi). Le laboratoire d'hématologie du CHRU de Brest a proposé un ratio MF/DDi comme aide au diagnostic de la CIVD dans 2 cas cliniques de complications obstétricales<sup>2</sup>. Le but de notre étude a été d'évaluer l'intérêt de ce ratio chez la femme enceinte.

**Matériels et Méthodes :** Nous avons mené une étude monocentrique rétrospective au Centre Hospitalier de Versailles, pour comparer l'intérêt du ratio MF/DDi (seuil proposé à 7) et le score de CIVD de l'ISTH. Entre janvier 2020 et décembre 2022, 74 patientes enceintes ont bénéficié d'un dosage conjoint de DDi (STA®-Liatest® D-Di Plus (Stago)) et de MF (STA®-Liatest® FM (Stago)), sur un automate STAR MAX (Stago), soit 123 prélèvements. Le diagnostic de CIVD a été fait selon le score ISTH avec des bornes établies dans notre laboratoire (>20 µg/mL pour les MF et >1 µg/ml pour les DDi chez la femme enceinte).

**Résultats :** Parmi les 74 patientes ayant eu une suspicion de CIVD, 34 ont eu un diagnostic positif de CIVD, soit 45,9% (n=63/123 prélèvements positifs). Notre étude retrouve une excellente sensibilité (Se) des marqueurs MF et DDi pour le diagnostic de CIVD avec une Se=98,4% pour les DDi à un seuil de 1 µg/mL et une Se=100,0% pour les MF à un seuil de 20 µg/mL. Comme attendu, la spécificité (Spé) des MF est très bonne (Spé=98,4%). Les DDi ont quant à eux une mauvaise spécificité au seuil de 1 µg/mL (Spé=25,8%) mais meilleure Spé au seuil de 4 µg/mL (Spé=72,6%). Au seuil de 10µg/mL utilisé dans la littérature les performances des MF sont les suivantes : Se=100,0%, Spé=62,9%, valeur prédictive positive (VPP)=73,3% et valeur prédictive négative (VPN)=100,0%. L'utilisation, dans notre cohorte, du ratio MF/DDi au seuil de 7 montre une Spé=69,4% et une Se=69,8%.

**Conclusion :** Nos résultats confirment ceux de l'équipe de Brest sur l'importance d'une utilisation conjointe des MF aux DDi afin de pallier au manque de spécificité de ces derniers, notamment chez la femme enceinte qui présente une hypercoagulabilité physiologique. Le ratio MF/DDi à 7 ne semble pas suffisamment discriminant dans notre étude rétrospective. Il mérite probablement d'être validé dans une étude prospective et peut être dans une population de femmes enceintes sélectionnées avec des DDi >1 µg/mL.

Tableau 1

	Seuils	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
DDi	1 µg/mL	98,4	25,8	57,4	94,1
MF	20 µg/mL	100	98,4	98,4	100
Ratio MF/DDi	7	69,8	69,4	69,8	69,4

Tableau 1 : seuils, sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive (VPP), valeur prédictive négative (VPN) des MF, DDi et du ratio MF/DDi.

**Références**

1. Taylor FB, et al. *Thromb.Haemost.* 2001 Nov;86(5):1327–30.
2. F.Mingant et al. *Ann Biol Clin* 2022 ; 80(2) : 183-89.

**P 034 - Morbi-mortalité de la cohorte strasbourgeoise des maladies hémorragiques constitutionnelles au cours de la dernière décennie**

D. Desprez<sup>1</sup>, L. Sattler<sup>2</sup>, O. Feugeas<sup>2</sup>, A. Herb<sup>2</sup>, J. Wimmer<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CRC MHC - Strasbourg (France),

<sup>2</sup>Laboratoire d'Hématologie - Strasbourg (France)

**Introduction :** L'espérance de vie des patients atteints de maladies hémorragiques constitutionnelles (MHC) se rapproche de celle de la population générale. Néanmoins, outre les comorbidités inhérentes à leur pathologie, des comorbidités en rapport avec l'avancement en âge telles que les maladies cardiovasculaires (CV), rénales (MR), les cancers et les maladies neuropsychiatriques (NP) compliquent leur prise en charge.

**Matériels et Méthodes :** Il existe des données à l'échelle nationale concernant les populations de patients atteints d'hémophilie contrairement aux autres MHC. Par conséquent, il est apparu intéressant de colliger les causes de décès ainsi que les comorbidités « communes » de la cohorte des MHC suivies durant la dernière décennie au Centre de Référence et Compétence des MHC des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg. Cette cohorte est composée de patients atteints d'hémophilie (H) (n=216), de maladie de Willebrand (MW) (n=267) avec une activité du facteur von Willebrand inférieure à 30 %, de thrombopathies sévères (TS) (n=110) ou de déficits factoriels (DF) (n=83) avec une activité inférieure à 30 %, pour un total de 676 patients. L'âge médian de notre cohorte est de 40 ans (6-89) sans différences significative entre les différentes MHC et avec un sexe ratio (F/H) de 0.6.

**Résultats :** Nous avons recensé 19 décès (tableau 1) à un âge médian de 62 ans (30-88). Il a également été relevé 12 cas féminins de cancers avec une majorité de tumeur du sein ainsi que 20 cas masculins dont une majorité de tumeur de la prostate ou du foie dans un contexte d'hépatite C. Trois cas d'hémopathies ont été enregistrés mais sans lien avec une infection par le VIH. Parmi ces 32 patients, 11 sont décédés (6 H et 5 MW). Soixante-quatorze patients présentent des facteurs de risque CV avec une proportion significativement plus importante au sein du groupe des TS : 7 patients ont présenté un infarctus du myocarde et 10 une fibrillation atriale pour lesquels l'Apixaban fut l'anticoagulant le plus fréquemment prescrit. Sur le plan des MR, il est à noter une maladie de Berger (H), une glomérulopathie (TS), 2 cas de polykystose ainsi qu'un cas de syndrome néphrotique impur (MW). De plus, sur le plan NP, 18 patients bénéficient d'un traitement antidépresseur au long cours.

**Conclusion :** Le programme de dépistage des comorbidités mené en collaboration avec les médecins traitants des patients semble efficace pour les patients MHC, mais nécessite quelques axes d'améliorations.

Tableau 1

Causes de décès	Hémophilie/ Déficit factoriel	Maladie de Willebrand	Thrombopathie sévère
Suicide	1		
Meurtre	1		
Sepsis	1	1	
Syndrome de glissement	1		
Hémorragie	1		
Cancer	6	5	
Maladies cardiovasculaires	1	1	

Tableau 2

Cancer	Hémophilie/ Déficit factoriel	Maladie de Willebrand	Thrombopathie sévère
Hémopathie	2		1
Système nerveux central		2	
ORL	2	1	1
Côlon	2	3	1
Hépatoblastome	4		
Gynécologique	3	2	1
Mélanome	1	3	
Prostate	3		

Tableau 3

Maladies cardiovasculaires	Hémophilie/ Déficit factoriel	Maladie de Willebrand	Thrombopathie sévère
Maladies cardiovasculaires	25	13	36
Maladies rénales	1	3	1
Troubles neuropsychiatriques	10	6	2

**P 036 - Ajout de facteur 4 plaquettaire dans le test HIPA pour le diagnostic de TIH : résultats d'une étude rétrospective monocentrique**

D. Faille<sup>1</sup>, F. Perez<sup>1</sup>, M.C. Bourrienne<sup>1</sup>, J. Gay<sup>1</sup>, Y. Baudouin<sup>1</sup>, C. Clément<sup>1</sup>, I. Ferreira Da Silva<sup>1</sup>, L. Urruty<sup>1</sup>, A. Perrier-Cornet<sup>1</sup>, N. Aizenberg<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hématologie - CHU Bichat - Paris Cedex 18 (France)

**Introduction :** La thrombopénie induite à l'héparine (TIH) est une complication rare mais grave du traitement par héparine. Son diagnostic biologique repose sur des tests fonctionnels détectant les anticorps anti-PF4/héparine pathogènes capables d'activer les plaquettes en présence d'héparine. Les tests fonctionnels utilisant des plaquettes lavées, comme le test d'activation plaquettaire induite par l'héparine (HIPA), ont une bonne spécificité (> 99%). L'ajout de facteur 4 plaquettaire (F4P) exogène dans la suspension de plaquettes lavées pourrait améliorer sa capacité à détecter de faibles niveaux d'anticorps anti-PF4/héparine pathogènes et ainsi augmenter leur sensibilité.

Les objectifs de cette étude étaient : 1/ de déterminer si la supplémentation en F4P augmente la sensibilité du test HIPA 2/ de mieux caractériser les patients pour lesquels l'ajout de F4P est utile.

**Matériels et Méthodes :** Les résultats d'HIPAs des patients avec une suspicion clinique de TIH et des anticorps anti-PF4/héparine (Zymutest HIA IgG, Hyphen Biomed) positifs ont été revus de

manière rétrospective. L'HIPAs a été réalisé avec ou sans ajout de F4P humain purifié (Hyphen Biomed, concentration finale 10 µg/mL) dans le mélange réactionnel contenant 0,2 ou 50 UI/mL d'héparine non fractionnée.

**Résultats :** Entre 2019 et 2021, 131 patients ont été inclus, dont 59 (45%) en post-chirurgie cardiaque. Considérant que le plasma des patients a été testé sur au moins 2 donneurs de plaquettes, les résultats de 546 conditions avec ou sans F4P ont pu être comparés. Parmi 265 résultats d'HIPAs négatifs, 30 (11,3%) sont devenus positifs après ajout de F4P (tableau 1). Concernant la conclusion globale du test HIPAs, parmi 48 patients pour lesquels la TIH n'a pas pu être confirmée par l'HIPAs conventionnel, la supplémentation en F4P a permis de reconsidérer le diagnostic de TIH comme positif chez 5 (10,4%) patients (tableau 2) dont 3 patients de chirurgie cardiaque. Ces patients avaient des taux plasmatiques d'anticorps anti-PF4/héparine significativement inférieurs à ceux des patients positifs avec l'HIPAs conventionnel (moyenne 1536 ± 317 vs 2174 ± 562 mU.DO, p = 0,02, Figure 1). À l'inverse, parmi les 257 résultats positifs en HIPAs conventionnel, 29 (11,3%) sont devenus négatifs après ajout de F4P (tableau 1), ce qui aurait pu conduire à classer à tort 3/68 (4,4%) patients comme négatifs si seul l'HIPAs avec F4P avait été pris en compte (tableau 2).

**Conclusion :** Notre étude montre que l'ajout de F4P exogène ne doit pas être systématique dans le test HIPAs mais doit être réservé aux patients ayant des taux intermédiaires d'IgG anti-PF4/héparine (entre 1000 et 2000 mU.DO), une forte suspicion clinique de TIH mais des résultats négatifs en HIPAs conventionnel.

Tableau 1

Tableau 1 : Comparaison de l'ensemble des résultats d'HIPAs (plusieurs donneurs par patient) en fonction de l'ajout de F4P

	HIPAs avec ajout de F4P (HIPAs-F4P)				Total	
	Positif	Douteux	Négatif	Non spécifique		
HIPAs conventionnel	Positif	209	15	29	4	257
	Douteux	2	2	4	1	9
	Négatif	30	10	220	5	265
	Non spécifique	1	0	0	9	10
	Total	242	27	253	19	541

Positif : agrégation plaquettaire et éclaircissement du milieu réactionnel à 0,2 mais pas à 50 UI/mL d'héparine non fractionnée (HNF)  
 Doubteux : faible positif  
 Négatif : absence d'agrégation plaquettaire et d'éclaircissement du milieu réactionnel quelle que soit la concentration d'HNF  
 Non spécifique : agrégation plaquettaire et éclaircissement du milieu réactionnel à 0,2 et 50 UI/mL d'HNF

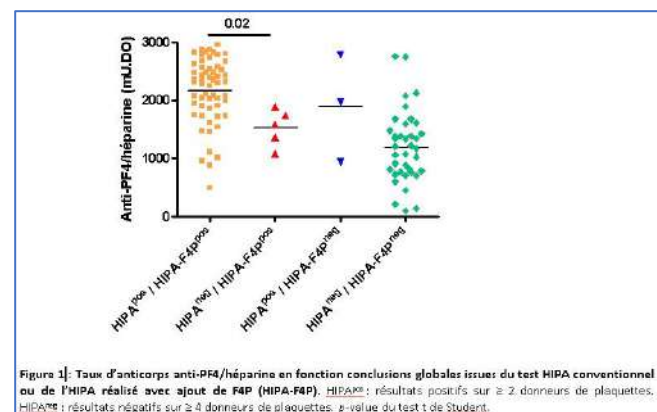
Tableau 2

Tableau 2 : Comparaison des conclusions globales du test HIPAs (par patient) en fonction de l'ajout de F4P

	HIPAs avec ajout de F4P (HIPAs-F4P)				Total	
	Positif	Douteux	Négatif	Non spécifique		
HIPAs conventionnel	Positif	57	8	3	0	68
	Douteux	5	5	2	0	12
	Négatif	5	6	38	0	49
	Non spécifique	0	0	0	2	2
	Total	67	19	43	2	131

Positif : résultats positifs sur ≥ 2 donneurs de plaquettes  
 Doubteux : résultats positifs sur 1 donneur ou douteux sur ≥ 1 donneur de plaquettes  
 Négatif : résultats négatifs sur ≥ 4 donneurs de plaquettes  
 Non spécifique : résultats non spécifiques sur ≥ 2 donneurs de plaquettes

Figure 1



### P 037 - Monitoring biologique d'un traitement prolongé par FVIII porcin recombinant dans un contexte d'hémophilie acquise compliquée de syndrome des loges avec 3 chirurgies itératives

M. Daniel<sup>1</sup>, E. Jeanpierre<sup>1</sup>, M. Desvages<sup>1</sup>, L. Terriou<sup>2</sup>, E. Toguyeni<sup>3</sup>, A. Dupont<sup>1</sup>, S. Susen<sup>1</sup>, A. Rauch<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut Hématologie-Transfusion, Centre Hospitalier Universitaire de Lille - Lille (France),

<sup>2</sup>Médecin Interne, Centre Hospitalier Universitaire de Lille - Lille (France),

<sup>3</sup>Pharmacie Centrale, Centre Hospitalier Universitaire de Lille - Lille (France)

**Introduction :** Le rpFVIII dispose d'une AMM dans l'hémophilie acquise (HA) ce qui en fait une alternative aux traitements by-passants habituels notamment en l'absence de réactivité croisée des auto-anticorps anti-FVIII humain avec le FVIII porcin. Le rpFVIII présente l'avantage de permettre un suivi biologique par la mesure d'un taux de FVIII mais les données disponibles concernant les modalités de traitement après un bolus initial de 200 UI/kg et de suivi biologique sont limitées. Nous rapportons ici le cas d'un homme de 72 ans qui a nécessité 3 chirurgies itératives sous rpFVIII dans un contexte d'HA compliquée d'un syndrome des loges de la face antérieure de l'avant-bras.

**Matériels et Méthodes :** Les 3 chirurgies consistaient en : (1/ un drainage d'hématome avec aponévrotomie (J1 rpFVIII), 2/ une nécrosectomie (J7 rpFVIII), 3/ et une amputation de membre (J8 rpFVIII)). Conformément au RCP, après un bolus initial de 200 UI/kg, la posologie et la fréquence des injections de rpFVIII ont été adaptées au taux plasmatique de FVIII déterminé par méthode chronométrique (réactif TriniClot aPTT HS Stago®/ automate CS2400/Sysmex) avec emploi d'une calibration spécifique au rpFVIII (FVIII:Cp). En parallèle, d'autres dosages par méthode chronométrique ou chromogénique avec emploi d'un calibrant spécifique ou standard (SHP, Siemens®) ont été effectués pour comparaison (cf Tableau 1 pour détails).

**Résultats :** L'auto-anticorps anti-FVIII humain ne présentait pas de réactivité croisée avec le FVIII porcin. Le traitement par rpFVIII a été administré sur un total de 11 jours. Avant chaque intervention, un bolus initial de 200 UI/kg suivi d'injections de 150 UI/kg toutes les 5 heures a permis d'assurer un taux de FVIII > 50% jusqu'au 10e jour de traitement par rpFVIII où une perte partielle d'efficacité a été observée, avant la détection d'un inhibiteur anti-FVIII porcin par méthode Nijmegen-Bethesda motivant un relais par Novoseven à J11. Il n'y a pas eu de complications hémorragiques ni de transfusion en CGR sous rpFVIII ou dans les 2 semaines suivant son arrêt.

Les différentes méthodes de dosage ont pu être comparées sur un total de 27 prélèvements sanguins en utilisant comme référence le taux de FVIII:Cp. En l'absence de calibration spécifique, le taux de FVIII est surestimé de 1.3 à 2.2 fois en méthode chronométrique (Figure 1) alors qu'il est sous-estimé de moitié environ en méthode chromogénique (Figure 2). Le dosage par technique chromogénique avec calibration spécifique tend à surestimer le taux de rpFVIII d'un coefficient 1.1 à 1.4 (Figure 2).

**Conclusion :** Ce cas souligne l'importance d'un suivi biologique étroit reposant en 1ère intention sur un dosage chronométrique avec emploi d'un calibrant spécifique lorsqu'un traitement par rpFVIII est envisagé, y compris en l'absence de réactivité croisée de l'auto-anticorps anti-FVIII humain.

Tableau 1

Technique	Chronométrique			Chromogénique	
	FVIII:C	FVIII:Cp	FBACC	FVIII:AB	FVIII:ABp
Dosage					
Réactif	TriniClot APTT HS, T Coag (Stago®)		Actin FS (Siemens®)	FVIII Chromogenic (Siemens®)	
Déficient	Déficient FVIII (Siemens®)				
Calibrant	Standard Human Plasma (Siemens®)	susocog alpha (Obizur, Takeda®)	Standard Human Plasma (Siemens®)	Standard Human Plasma (Siemens®)	susocog alpha (Obizur, Takeda®)

Tableau 1 : méthodes de dosage du susocog alpha utilisées sur automate CS 2400 (Sysmex®)

Figure 1

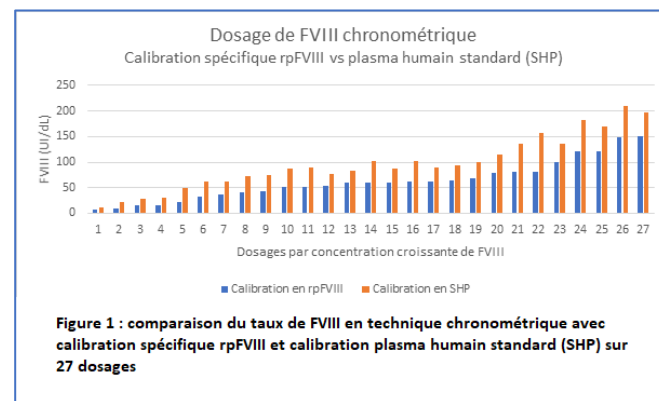


Figure 1 : comparaison du taux de FVIII en technique chronométrique avec calibration spécifique rpFVIII et calibration plasma humain standard (SHP) sur 27 dosages

Figure 2

Dosages	FVIII:Cp	FVIII:C	FBACC	FVIII:AB	FVIII:ABp
1	6,3	11 (x1,7)	-	3,9 (x0,6)	-
2	121	183 (x1,5)	-	60 (x0,5)	-
3	59	84 (x1,4)	71 (x1,2)	-	66 (x1,1)
4	54	77 (x1,4)	64 (x1,2)	-	76 (x1,4)

Figure 2 : comparaison des techniques de dosage du FVIII par rapport au dosage chronométrique avec calibration en rpFVIII (FVIII :Cp). Résultats exprimés en UI/dL (coefficient multiplicateur par rapport au FVIII :Cp).

### P 039 - Étude de doses ascendantes multiples de Mim8 chez des patients hémophiles A sévère avec et sans inhibiteurs du facteur VIII

H. Schneid<sup>1</sup>, S.R. Lentz<sup>2</sup>, P. Chowdary<sup>3</sup>, F.J. Lopez Jaime<sup>4</sup>, J. Mahlangu<sup>5</sup>, I. Matysina<sup>6</sup>, A.L. Nielsen<sup>7</sup>, J. Windyga<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Novo Nordisk - Puteaux (France),

<sup>2</sup>Université de l'Iowa - Iowa City (United States),

<sup>3</sup>Royal Free Hospital - Londres (United Kingdom),

<sup>4</sup>Universitario Regional de Málaga - Malaga (Spain),

<sup>5</sup>Université du Witwatersrand - Johannesburg (South Africa),

<sup>6</sup>Novo Nordisk A/s - Soborg (Denmark),

<sup>7</sup>Novo Nordisk A/s - Aalborg (Denmark),

<sup>8</sup>Institut d'hématologie et de Médecine Transfusionnelle - Varsovie (Poland)

**Introduction :** Mim8, anticorps bispécifique mimétique du facteur VIII activé (FVIIIa) en voie sous-cutanée, relie les facteurs IXa et X, en développement pour les patients hémophiles A avec ou sans inhibiteurs (HA/HAWI). Les données précliniques suggèrent une efficacité hémostatique de Mim8 avec puissance supérieure à un analogue à emicizumab. FRONTIER 1 (NCT04204408), étude de phase 1/2 de Mim8, a une partie avec dose ascendante unique (DAU) et une avec doses ascendantes multiples (DAM) respectivement chez des sujets sains et des patients HA/HAWI. Les résultats sur 5 cohortes de la partie DAM sont sur la sécurité, la tolérance, la pharmacocinétique (PK) et la pharmacodynamie (PD).

**Matériels et Méthodes :** Des DAM de Mim8 chez des HA/HAWI sur 12 semaines, ciblaient des concentrations plasmatiques moyennes

de 1 µg/ml (cohorte C1, 1fois/ sem. [QW]), 3 µg/ml (cohorte C2, QW), 9 µg/ml (cohorte C3, QW ; cohorte C4, toutes les 4 sem. [Q4W]) ou 20 µg/ml (cohorte C5, QW) avec randomisation 1:1 entre C 3 et C4. Les événements indésirables (EI) graves et d'intérêt particulier étaient suivis. Les évaluations PK et PD à l'état d'équilibre étaient réalisées aux jours 57-64 (QW) et 57-85 (Q4W). L'efficacité a été évaluée par le nombre d'épisodes hémorragiques traités en 12 sem. de traitement.

**Résultats :** 42 patients ont été inclus dans les 5 cohortes (C 1, n=7 ; C2, n=9 ; C, n=8 ; C4, n=8, C5, n=10). 4 patients (9,5 %) avaient des inhibiteurs au FVIII. Les patients ≥ 12 ans étaient d'âge moyen 34 ± 13 ans. Mim8 a été bien toléré, sans signe d'effet de dose sur les Els. Les réactions au site d'injection étaient <1 % (4 légères / 4 patients [9,5 %]) et aucun anticorps anti-Mim8 n'a été observé. Il y a eu 1 EI grave (douleur thoracique modérée non cardiaque) jugé non lié à Mim8. Un patient est sorti d'étude pour hypersensibilité, sans manque d'efficacité du traitement et disparition des symptômes après arrêt du traitement. Les taux médians à l'état d'équilibre des fragments 1+2 de prothrombine étaient dose-dépendant (C1, 93 pmol/l ; C2, 159 pmol/l ; C3, 372 pmol/l ; C 4, 346 pmol/l ; C5, 460 pmol/l), sans modification dose-dépendante entre l'état initial et la sem. 12 pour d'autres paramètres de la coagulation. L'aire sous la courbe et la conc. max. de Mim8 à l'état d'équilibre ont augmenté avec la dose confirmant la proportionnalité à la dose. Les PK ont été similaires entre les HA et HAWI. Les concentrations PK moyennes à l'état d'équilibre ont été comparables quand administré QW (C3) et Q4W (C4), ciblant des conc. plasmatiques similaires de Mim8. La PD était surveillée à l'état d'équilibre par test de génération de thrombine. Le pic de thrombine a augmenté avec la dose, comparable entre les C3 et C4. Des hémorragies traitées ont été rapportées chez 6 / 7 patients de la C1 et peu de patients ont eu des hémorragies traitées dans les cohortes de doses plus élevées. Toutes les hémorragies rapportées dans les C2 à C4 ont été traumatiques et non articulaires.

**Conclusion :** Ces données de DAM de FRONTIER 1 démontrent la preuve du concept et un bon profil de sécurité en faveur de la poursuite du développement de Mim8 pour les patients HA/HAWI. Aucun événement thrombotique ni développement d'anticorps n'ont été observés. Les propriétés PK et PD ont confirmé la proportionnalité à la dose en faveur de la posologie QW et Q4W. L'étude apporte des données encourageantes sur l'efficacité de Mim8, avec peu de patients ayant des hémorragies au-delà de la cohorte à la dose la plus basse. L'étude s'est poursuivie avec une phase d'extension.

#### P 040 - Douleurs musculo-articulaires disséminées intenses – un effet secondaire rare de l'emicizumab ?

A. Rauch<sup>1</sup>, D. Quon<sup>2</sup>, J.D. Wang<sup>3</sup>, M. Wang<sup>4</sup>, D. Pepperell<sup>5</sup>, Y.S. Park<sup>6</sup>, G. Kenet<sup>7</sup>, J. Mahlangu<sup>8</sup>, T.L. Khoo<sup>9</sup>, T.M. Robinson<sup>10</sup>, K.M. Chavele<sup>10</sup>, S.W. Pipe<sup>11</sup>

<sup>1</sup>Institut Hématologie Transfusion, CHU Lille, F59000 - Lille (France),

<sup>2</sup>Orthopaedic Hemophilia Treatment Center - Los Angeles (United States),

<sup>3</sup>Center for Rare Disease and Hemophilia, Taichung Veterans General Hospital - Taichung (Taiwan, Republic of China),

<sup>4</sup>Hemophilia And Thrombosis Center, University of Colorado Anschutz Medical Campus - Aurora (United States),

<sup>5</sup>Department of Haematology, Fiona Stanley Hospital - Murdoch (Australia),

<sup>6</sup>Kyung Hee University Hospital at Gangdong - Seoul (Korea, Republic of),

<sup>7</sup>National Hemophilia Center, and Amalia Biron Research Institute of Thrombosis and Hemostasis, Sheba Medical Center, Tel Hashomer, Tel Aviv University - Tel Aviv (Israel),

<sup>8</sup>Hemophilia Comprehensive Care Center, Charlotte Maxeke Johannesburg Academic Hospital, University of the Witwatersrand and Nhl's - Johannesburg (South Africa),

<sup>9</sup>Haematology Department, Haemophilia Treatment Center, The Royal Prince Alfred Hospital - Sydney (Australia),

<sup>10</sup>Jomarin Pharmaceutical Inc. - Novato (United States),

<sup>11</sup>Departments of Pediatrics and Pathology, University of Michigan - Ann Arbor (United States)

**Introduction :** GENER8-1 (NCT03370913) est une étude de thérapie génique de phase 3 évaluant l'efficacité et la tolérance du valoctocogène roxaparvovec, permettant une production endogène de facteur VIII (FVIII) chez les adultes atteints d'hémophilie A (HA) sévère. Une diminution des besoins en concentrés de FVIII en cas de procédure invasive ou de chirurgie est susceptible d'être observée chez les patients bon répondeurs au valoctocogène roxaparvovec en fonction du taux de FVIII endogène au moment de l'intervention.

**Matériels et Méthodes :** Dans l'étude GENER8-1, 134 hémophiles A sévères ≥18 ans précédemment sous prophylaxie par concentré de FVIII (population en intention de traitement [ITT]) ont reçu une injection de 6x10<sup>13</sup> vg/kg de valoctocogène roxaparvovec. Ce travail porte sur les gestes invasifs ou interventions chirurgicales survenus dans les 2 années suivant l'injection de thérapie génique. Conformément au protocole, la réalisation ou non d'un traitement substitutif par concentré de FVIII en cas de procédure invasive ainsi que ses modalités était à la discrétion de chaque investigateur. Les procédures invasives ont été catégorisées comme majeure ou mineure. Les saignements survenus en post-opératoires ont été catégorisés selon qu'ils aient été traités ou non. Biologiquement, l'activité du FVIII endogène (mesure la plus proche en amont de chaque procédure invasive) était évaluée par test chromogénique.

**Résultats :** Au terme des 2 premières années de suivi, 111 procédures invasives ont été réalisées chez 77 participants. Parmi ces 111 procédures invasives, 44 ont nécessité un traitement additionnel par concentré de FVIII et 67 ont été réalisées sans traitement. Parmi les 44 procédures réalisées sous FVIII, 11 étaient majeures et 33 étaient mineures. Les 67 procédures réalisées sans traitement additionnel par FVIII étaient toutes mineures.

Dans la population ITT, l'activité FVIII moyenne (ET) aux semaines 52 et 104 étaient de 42.4 (45.3) IU/dL et 22.7 (32.8) IU/dL, respectivement. Lors de la mesure la plus rapprochée de l'acte invasif, les taux moyens (min-max) de FVIII endogène étaient de 16.2 (<3-93.2) IU/dL pour les participants ayant nécessité un traitement par FVIII et 50.5 (<3-255.7) IU/dL pour ceux qui n'en ont pas eu besoin. Les 6 participants ayant requis 11 procédures majeures ont tous reçu des injections de FVIII indépendamment de leur taux de FVIII endogène et ont aussi nécessité en moyenne (min-max) plus d'unités de FVIII (dose cumulée de 255.4 [102.8-538.2] IU/kg). Au total, 18 procédures chez 14 participants ont été compliquées d'un saignement avec nécessité d'un traitement complémentaire par FVIII pour 13 d'entre-elles. Le taux de FVIII moyen (min-max) à ce moment-là était de 60.4 (14.1-117.9) IU/dL pour les procédures n'ayant pas nécessité de traitement et de 11.0 (<3-45.2) IU/dL pour celles ayant nécessité un traitement.

**Conclusion :** Dans l'étude GENER8-1, 67 des 111 procédures invasives réalisées dans les 2 premières années de suivi n'ont nécessité aucun traitement additionnel par concentré de FVIII. Il s'agissait exclusivement de procédures mineures. L'utilisation de FVIII lors des autres procédures mineures était associée à une expression résiduelle plus basse du transgène.

#### P 041 - Corrélation génotype-phénotype des déficits constitutionnels en protéine C dans le Nord de la France

C. Zawadzki<sup>1</sup>, M. Desvages<sup>1</sup>, M. Daniel<sup>1</sup>, C. Kitel<sup>1</sup>, A. Bauters<sup>1</sup>, N. Trillot<sup>1</sup>, L. Mauge<sup>2</sup>, S. Gandrille<sup>2</sup>, J. Onraed<sup>3</sup>, P.E. Morange<sup>4</sup>, S. Susen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut d'hématologie-Transfusion, CHU de Lille - Lille (France),

<sup>2</sup>Laboratoire d'hématologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, HEGP - Paris (France),

<sup>3</sup>Laboratoire d'hématologie, Centre Hospitalier de Valenciennes - Valenciennes (France),

<sup>4</sup>Laboratoire d'hématologie, Hôpital de La Timone - Marseille (France)

**Introduction :** La protéine C est un régulateur majeur de la cascade de la coagulation en association avec la protéine S. Son déficit augmente significativement le risque de maladie thromboembolique veineuse (MTEV). De nombreuses variations génétiques du gène PROC sont associées au déficit constitutionnel en protéine C, qui peut être quantitatif (type I) ou qualitatif (diminution des activités anticoagulantes et chromogéniques dans le type IIa et seulement diminution de l'activité anticoagulante dans le type IIb). Nous avons comparé le génotype et le phénotype de patients du Nord de la France présentant un déficit en protéine C.

**Matériels et Méthodes :** Nous avons étudié les propositus appartenant à 149 familles différentes du Nord de la France présentant un déficit en protéine C (activité anticoagulante de la protéine C <70 %), diagnostiqués dans le service d'hémostase clinique du CHU de Lille. Tous les patients ont été génotypés par séquençage NGS ou Sanger (gène PROC, NM\_00312.3) et leurs taux de protéine C chromogénique et antigénique ont été mesurés.

**Résultats :** Les patients étaient âgés de 48+/-23 ans (moyenne+/-écart-type) avec un sexe ratio de 63M/86F. Le pourcentage de MTEV était de 91,3 % (n = 136) et de 4 % (n = 6) avec des événements artériels supplémentaires. Des facteurs de risque majeurs de MTEV ont été retrouvés chez 59,7 % des patients (n=89). Le déficit de type I était le plus fréquent (81,9 %, n = 122), suivi du type IIb (9,4 %, n = 14) et du type IIa (8,7 %, n = 13). Nous avons détecté 65 variants différents et 11 n'ont jamais été décrits dans la littérature ou les bases de données (score ACMG ≥ 3). La plupart d'entre eux sont situés dans le domaine catalytique de la protéine. Neuf d'entre eux ont été retrouvés chez 75 patients principalement avec un déficit de type I et un effet fondateur peut être suspecté pour les plus fréquents (p.(Leu265Phe) n=29, p.(Arg220Gln) n=10 et p.(Arg272Cys) n=9). Les variants faux-sens étaient les plus fréquents (84,6 %, n = 55), suivis des non-sens (7,7 %, n = 5), des anomalies d'épissage (4,6 %, n = 3) et des insdel entraînant un décalage du cadre de lecture (3,1 %, n = 2). Tous les déficits de type II étaient associés à une variation faux-sens. Six patients étaient hétérozygotes composites avec 2 anomalies identifiées et des taux significativement plus bas de protéine C.

**Conclusion :** De nombreux variants différents du gène PROC sont associés au déficit constitutionnel en protéine C dans le Nord de la France, soulignant sa grande diversité génétique. Neuf variations expliquent à elles seules la moitié des déficits observés qui sont les plus souvent quantitatifs. Un effet fondateur pourrait être à l'origine de la surreprésentation régionale des plus fréquents d'entre eux.

**P 042 - Intérêt de l'ultracentrifugation des plasmas lipémiques pour le monitoring des traitements anticoagulants**

A. Herb<sup>1</sup>, J. Wimmer<sup>1</sup>, D. Desprez<sup>2</sup>, O. Feugeas<sup>2</sup>, L. Sattler<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hématologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg - Strasbourg (France),

<sup>2</sup>Centre de Ressources et Compétences - Maladies Hémostatiques Constitutionnelles - Strasbourg (France)

**Introduction :** Les plasmas lipémiques peuvent être à l'origine de difficultés de mesure pour les techniques d'hémostase à détection optique. Il a été démontré dans plusieurs études précédentes que l'ultracentrifugation pendant une dizaine de minutes permettait de séparer la fraction lipidique du reste du plasma, et, après soustraction de cette dernière contenue dans le surnageant, de

procéder aux analyses à détection optique. Toutefois, aucune n'a abordé les conséquences de ce procédé sur les traitements anticoagulants.

Cette étude vise à s'assurer que l'ultra centrifugation et la soustraction du surnageant ne présentent pas d'impact sur la mesure des traitements anticoagulants à activité anti-Xa.

**Matériels et Méthodes :** Des échantillons non lipémiques de patients anticoagulés par anti-Xa (HBPM, HNF, danaparoïde, rivaroxaban, apixaban) ont été inclus. Les prélèvements ont été réalisés sur tube Vacutest (Kima) anticoagulé par citrate de sodium 0,109M.

Du plasma a été obtenu par simple centrifugation (10 minutes à 2500g). Puis, un aliquot d'environ 1mL de ce plasma a subi une ultra-centrifugation (10 minutes à 11 000g). Enfin, après ultracentrifugation, environ 200 µL de surnageant - correspondant à la potentielle fraction lipémique - ont été retirés du plasma.

L'activité anti Xa spécifique a été mesurée sur un automate STA-R Max à l'aide du réactif Liquid anti Xa (Diagnostica Stago) avant et après ultracentrifugation-soustraction du surnageant.

Des tests de Wilcoxon sur échantillons appariés ont été effectués afin de comparer la mesure de l'activité anti-Xa avant et après ultracentrifugation et soustraction du surnageant. Une valeur p ≤ 0,05 était considérée comme statistiquement significative.

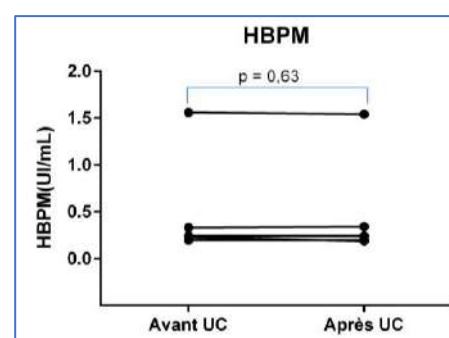
**Résultats :** Trente échantillons ont été inclus.

Cinq patients étaient traités par HBPM (0,2 - 1,56 UI/mL), 8 par HNF (0,13 - 2 UI/mL), 8 par apixaban (35-130 ng/mL), 4 par rivaroxaban (28 - 118 ng /mL) et 3 par danaparoïde (0,51 - 0,79 UI/mL).

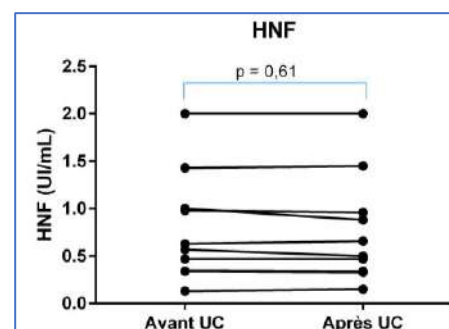
Aucune différence significative (p > 0,05) n'a été mise en évidence avant et après ultra-centrifugation et soustraction du surnageant dans chaque groupe.

**Conclusion :** Ces résultats ne mettent pas en évidence d'impact du procédé d'ultracentrifugation - soustraction de surnageant sur la mesure de l'activité anti-Xa de l'HNF, de l'HBPM, du rivaroxaban, de l'apixaban ou du danaparoïde. Cette méthode pourrait ainsi permettre de monitorer ces traitements chez les patients dont les échantillons présentent une lipémie trop importante. Ces résultats nécessitent toutefois d'être confirmés sur de plus grands effectifs.

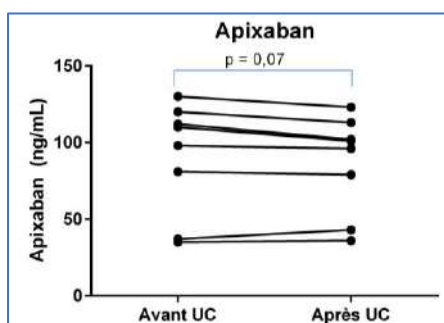
Activité HBPM avant/après ultracentrifugation



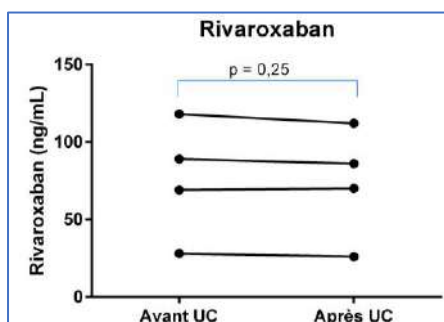
Activité HNF avant/après ultracentrifugation



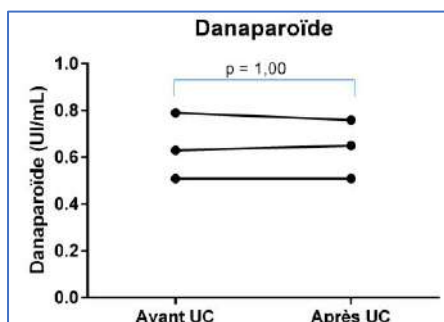
Activité apixaban avant/après ultracentrifugation



Activité rivaroxaban avant/après ultracentri



Activité danaparoïde avant/après ultracentri



**P 044 - Expérience du traitement chez des patients hémophiles avec et sans inhibiteurs sous concizumab en prophylaxie : résultats d'Hemo-TEM des études de phase 2 explorer 4 et 5**

J. Bovet<sup>1</sup>, M. Mancuso<sup>2</sup>, J. Skov Neergaard<sup>3</sup>, K. Cepo<sup>3</sup>, T. Porstmann<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Novo Nordisk - Puteaux (France),

<sup>2</sup>IRCCS Humanitas Research Hospital - Milan (Italy),

<sup>3</sup>Novo Nordisk - Soborg (Denmark),

<sup>4</sup>Novo Nordisk - Zurich (Switzerland)

**Introduction :** L'hémophilie est associée à un fardeau du traitement significatif. Concizumab, anticorps anti-inhibiteur de la voie de facteur tissulaire en cours de développement clinique comme traitement prophylactique sous-cutané, vise à améliorer l'expérience des patients en réduisant le fardeau du traitement. Les études Explorer4 et Explorer5 (NCT03196284/NCT03196297) ont étudié concizumab en prophylaxie quotidienne chez des patients hémophiles A/B avec inhibiteurs (HAWl/HBwl) et d'HA sévère, respectivement. Le questionnaire Hemo-TEM (mesure de l'expérience du traitement de l'hémophilie), questionnaire à 26 items répartis dans cinq domaines, développé pour mesurer le fardeau du traitement chez les patients hémophiles, a été utilisé pour étudier la valeur de concizumab sous-cutanée en prophylaxie. L'objectif était d'évaluer l'impact de concizumab sous-cutanée en prophylaxie sur le fardeau thérapeutique.

**Matériels et Méthodes :** Les études Explorer4 et 5 comprenaient une partie principale (≤ 24 semaines) et des parties d'extension (≤ 94 et ≤ 102 semaines, respectivement). Dans Explorer4, des patients HAWl/HBwl ont été randomisés selon un ratio de 2:1 dans un groupe sous concizumab en prophylaxie ou agent by-passant à la demande. Les patients du groupe à la demande sont passés sous concizumab en prophylaxie dans la partie d'extension. Dans Explorer5, tous les patients ont reçu le concizumab Le questionnaire Hemo-TEM a été administré à l'état initial, à 24 et à ≥ 76 semaines. Les scores sont compris entre 0 et 100 ; des scores bas représentent un fardeau faible du traitement. Les scores par domaine et les scores totaux sont calculés. Le développement et la validation du questionnaire Hemo-TEM sont présentés séparément.

**Résultats :** 25 et 29 patients ont terminé l'étude Explorer4 et 5, respectivement. Dans Explorer4, les scores totaux Hemo-TEM moyens à l'état initial étaient similaires entre les groupes concizumab (25,0) et traitement à la demande (26,2). Après 24 semaines de traitement, une modification du score Hemo-TEM total moyen comparativement à l'état initial de -15,3 a été observée dans le groupe sous concizumab, indiquant un fardeau du traitement plus faible qu'à l'état initial, sans modification dans le groupe de traitement à la demande. De manière similaire, la modification du score Hemo-TEM total moyen depuis l'état initial (21,9) a été de -12,8 pour les patients d'Explorer5 après 24 semaines. Une amélioration des scores a été observée pour tous les domaines Hemo-TEM, avec des améliorations maintenues lors de la dernière visite observationnelle dans les deux études.

**Conclusion :** Les scores Hemo-TEM ont été améliorés après au moins 24 semaines sous concizumab sous-cutanée en prophylaxie au cours d'Explorer4 et Explorer5, chez des patients avec et sans inhibiteurs, ce qui illustre la valeur potentielle du concizumab dans la réduction du fardeau thérapeutique.

**P 045 - FRONTIER1 : étude de phase 1/2 d'escalade de dose d'un nouvel anticorps bispécifique mimétique du FVIIIa, Mim8, afin d'évaluer la sécurité, la pharmacocinétique et l'efficacité**

J. Bovet<sup>1</sup>, P. Chowdary<sup>2</sup>, F. Jaime<sup>3</sup>, J. Mahlangu<sup>4</sup>, C. Eskelund<sup>5</sup>, R. Meldgaard<sup>5</sup>, P. Persson<sup>5</sup>, J. Windyga<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Novo Nordisk - Puteaux (France),

<sup>2</sup>Royal Free Hospital - Londres (United Kingdom),

<sup>3</sup>Hospital Universitario Regional de Málaga - Malaga (Spain),

<sup>4</sup>University of The Witwatersrand and Nhls - Johannesburg (South Africa),

<sup>5</sup>Novo Nordisk - Soborg (Denmark),

<sup>6</sup>Institut d'hématologie et de Médecine Transfusionnelle - Varsovie (Poland)

**Introduction :** Mim8 est un nouvel anticorps bispécifique facteur IXa/X d'administration sous-cutanée, en développement pour les patients hémophiles A avec (HAWl) ou sans inhibiteurs (HA), dont l'efficacité hémostatique a été démontrée dans des études non cliniques. L'étude FRONTIER1 (EudraCT 2019-000465-20 ; NCT04204408) a pour but d'étudier la sécurité, la tolérance, la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de Mim8 à doses uniques croissantes (DUC) chez des sujets sains, et à doses multiples croissantes (DMC) chez des patients HA et HAWl. De plus, l'étude vise à fournir des données pour la détermination de la dose lors d'études FRONTIER ultérieures.

**Matériels et Méthodes :** Les sujets sains ont reçu des doses uniques croissantes de Mim8 (avec comme cible des expositions plasmatiques de 0,05 à 3 µg/ml) ou de placebo. Les patients HA/HAWl ont reçu plusieurs doses croissantes de Mim8 avec comme cible une exposition plasmatique moyenne de 1 µg/ml (cohorte 1, administration hebdomadaire (hebdo.)), 3 µg/ml



(cohorte 2, administration hebdo.) ou 9 µg/ml (cohorte 3, administration hebdo. et cohorte 4, administration mensuelle). Le consentement éclairé des patients et l'accord du comité d'éthique ont été obtenus.

**Résultats** : Mim8 a été bien toléré aussi bien en administration unique que multiple et aucun événement thrombo-embolique ni événement indésirable grave liés au médicament n'a été rapporté. Aucune survenue d'anticorps anti-Mim8 n'a été signalée. Les augmentations de l'AUC (aire sous la courbe) et de la Cmax parallèlement à la dose étaient compatibles avec la proportionnalité à la dose. Les données avec une administration unique suggèrent une T1/2 de 30,4 jours et un Tmax de 9,1 jours. Pendant la période d'observation de 12 semaines, 15 hémorragies traitées ont été rapportées chez 8 patients, dont 13 hémorragies (9 traumatiques) observées chez 6 patients de la cohorte avec la dose la plus faible. Les 2 hémorragies chez les patients des cohortes 2 et 3 étaient traumatiques ; ainsi, aucune hémorragie sur une articulation traitée ni hémorragie spontanée n'a été observée au-delà de la cohorte 1.

**Conclusion** : Les propriétés pharmacocinétiques confirment la proportionnalité à la dose et sont en faveur les approches d'administration hebdomadaire et mensuelle. Mim8 a été bien toléré et aucune survenue d'anticorps anti-Mim8 n'a été signalée. L'étude FRONTIER1 apporte des données encourageantes pour la poursuite du développement clinique.

#### P 046 - Mim8 est associé à une amélioration de la génération de thrombine comparativement à l'emicizumab chez les patients atteints d'hémophilie A, avec et sans inhibiteurs

J. Bovet<sup>1</sup>, P. Windyga<sup>2</sup>, F. Chowdary<sup>3</sup>, J. Jaime<sup>4</sup>, C. Eskelund<sup>5</sup>, R. Jørgensen<sup>5</sup>, K. Kreilgaard<sup>5</sup>, J. Mahlangu<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Novo Nordisk - Puteaux (France),

<sup>2</sup>Institut d'hématologie et de Médecine Transfusionnelle - Varsovie (Pologne),

<sup>3</sup>Royal Free Hospital - Londres (United Kingdom),

<sup>4</sup>Hospital Universitario Regional de Málaga - Malaga (Spain),

<sup>5</sup>Novo Nordisk - Soborg (Denmark),

<sup>6</sup>University of the Witwatersrand and Nhls - Johannesburg (South Africa)

**Introduction** : Le concentré de facteur VIII (FVIII) est le traitement standard des patients atteints d'hémophilie A (HA). Mim8 est un anticorps bispécifique reliant le facteur IXa et le facteur X (FIXa/FX) doté de propriétés hémostatiques améliorées, comparativement à l'emicizumab. FRONTIER1 (NCT04204408) est une étude de phase 1/2 portant sur la sécurité d'emploi, la tolérance, la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de Mim8 administré en sous-cutané chez des participants sains et des patients atteints d'HA sévère, indépendamment du statut d'inhibiteurs au FVIII. Nous présentons ici les résultats de la génération de thrombine et des paramètres biologiques en réponse à Mim8 ou à l'emicizumab.

**Matériels et Méthodes** : La partie de phase 2 de FRONTIER1 est une étude ouverte, Mim8 étant administré en sous-cutané pendant 12 semaines dans quatre cohortes de doses ascendantes multiples avec pour objectif une exposition plasmatique moyenne de 1 à 9 µg/ml, en administration hebdomadaire (cohortes 1–3) ou toutes les 4 semaines (cohorte 4), les cohortes 3/4 ciblaient la même exposition plasmatique. L'étude FRONTIER1 est en cours avec une cinquième cohorte de doses ascendantes. Une cohorte supplémentaire de patients traités par emicizumab a été incluse pour réaliser des comparaisons. Le consentement éclairé des patients et l'accord du comité d'éthique ont été obtenus.

**Résultats** : 32 patients recevant Mim8 (cohortes 1 [n = 7], 2 [n = 9], 3 [n = 8], et 4 [n = 8]) et 10 patients sous emicizumab ont été inclus.

Les mêmes pics de thrombine ont été observés avec Mim8 à des concentrations plasmatiques plus faibles qu'avec l'emicizumab, indiquant une puissance supérieure de Mim8. Les pics moyens de thrombine ont été comparables entre les patients sous emicizumab et ceux sous Mim8, dans la cohorte 2. Aucune modification dose-dépendante de D-dimère, de fibrinogène, de plaquettes ni de taux d'antigène au FIXa/FX n'a été observée, la plupart des valeurs sont restées dans la plage normale. Une augmentation relative des fragments de prothrombine 1 et 2, avec stabilisation à l'état d'équilibre, a été observée pour les patients traités par Mim8 et par emicizumab, en corrélation avec l'augmentation respective du pic de thrombine.

**Conclusion** : Une augmentation dose-dépendante de la génération de thrombine a été observée chez les patients traités par Mim8, atteignant un pic de thrombine plus élevé que chez les patients sous emicizumab. Les paramètres biologiques n'ont pas montré de signes d'une coagulation excessive.

#### P 047 - Fardeau du traitement et préférence des patients chez des patients atteints d'hémophilie A ou B avec inhibiteurs sous concizumab en prophylaxie : résultats de l'étude de phase 3 explorer7

J. Bovet<sup>1</sup>, K. Hampton<sup>2</sup>, J. Odgaard-Jensen<sup>3</sup>, P. Knoebel<sup>4</sup>, O. Stasyshyn<sup>5</sup>, J.J. Thaug Zaw<sup>3</sup>, J. Skov Neergaard<sup>3</sup>, B. Zulfikar<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Novo Nordisk - Puteaux (France),

<sup>2</sup>Département de Science Cardiovasculaire, Université de Sheffield - Sheffield (United Kingdom),

<sup>3</sup>Novo Nordisk - Soborg (Denmark),

<sup>4</sup>Division Hématologie et Hémostase, Université de Médecine de Vienne - Vienne (Austria),

<sup>5</sup>Académie des Sciences Médicales d'Ukraine - Lviv (Ukraine),

<sup>6</sup>Institut d'oncologie de l'université d'Istanbul - Istanbul (Turkey)

**Introduction** : Le concizumab est un anticorps monoclonal recombinant humanisé qui agit en inhibant l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire pour améliorer la coagulation. Les patients atteints d'hémophilie A ou B avec inhibiteurs (HAWI/HBWI) ont reçu le concizumab en traitement prophylactique sous-cutané une fois par jour dans l'étude de phase 3 explorer7 (NCT01083781). L'administration sous-cutanée du concizumab avec un stylo pourrait contribuer à réduire le fardeau du traitement comparativement à un traitement de substitution de facteur par voie intraveineuse. Nous présentons ici les données concernant le fardeau du traitement rapporté par les patients et les préférences des patients pour des patients atteints d'HAWI/HBWI traités par le concizumab dans l'essai explorer7.

**Matériels et Méthodes** : Au total 133 patients ≥12 ans ont été soit randomisés selon un ratio de 2:1 dans un groupe prophylaxie par concizumab (groupe 2 ; n=33) ou dans un groupe sans prophylaxie (groupe 1 ; n=19) ou affectés dans un groupe de traitement par concizumab en prophylaxie sans randomisation (groupes 3 ou 4 ; n=81) sur la base du traitement qu'ils recevaient avant d'entrer dans l'étude. On a demandé aux patients de répondre au questionnaire Hemo-TEM (Hemophilia Treatment Experience Measure ; Brod et al., abstract présenté à l'ISTH 2022 [BP0654]) à l'état initial (semaine 0) et à la semaine 24. De plus, il a été demandé aux patients de répondre au questionnaire sur les préférences des patients atteints d'hémophilie (H-PPQ) à la semaine 24.

**Résultats** : Le score total Hemo-TEM a été amélioré chez les patients sous concizumab en prophylaxie (n=19) entre l'état initial et la semaine 24 (estimation moyenne -17,0 points [IC 95 % : -23,7 ; -10,3]), alors que les patients sans prophylaxie (n=6) n'ont pas eu d'amélioration (estimation moyenne 3,0 points [IC 95 % : -9,4 ;

15,3]). La différence entre traitements estimée pour le score total Hemo-TEM entre les deux groupes était statistiquement significative (19,9 points [IC 95 % : -34,3 ; -5,6 ; p=0,009 ; Figure 1). Des améliorations ont été observées dans tous les domaines Hemo-TEM pour les patients sous concizumab en prophylaxie, avec des améliorations significatives pour les domaines « difficultés liées à l'injection », « interférence » et « impact émotionnel ». Au total, 99 patients ont répondu au questionnaire H-PPQ ; 77 (78 %) ont indiqué préférer le concizumab à leur traitement précédent, tandis que 1 seul patient (1 %) a préféré le traitement précédent (16 patients n'ont pas répondu et 5 patients n'avaient pas de préférence). Sur les 83 patients qui ont répondu, 93 % préféraient le concizumab à leur traitement précédent. Les trois causes principales de leur préférence étaient « moins d'hémorragies » (75 %), « demande moins de temps » (43 %) et « moins douloureux à injecter » (33 %).

**Conclusion :** Un fardeau thérapeutique plus faible a été observé avec le concizumab en prophylaxie quotidienne, les patients rapportant généralement de meilleurs scores total et par domaine au questionnaire Hemo-TEM. La plupart des patients ayant répondu au questionnaire H-PPQ a préféré le concizumab en prophylaxie au traitement précédent.

**P 049 - Une efficacité remarquable du tacrolimus dans le traitement de l'hémophilie acquise durant la grossesse**

N. Belhomme<sup>1,2</sup>, H. Isly<sup>3</sup>, B. Cador<sup>1</sup>, P. Branchu<sup>4</sup>, S. Bayart<sup>5,6</sup>, F. Nedelec-Gac<sup>5,6</sup>, A. Lescoat<sup>1,2</sup>, B. Guillet<sup>2,5,6</sup>

<sup>1</sup>Service de Médecine interne et immunologie clinique, CHU de Rennes, France

<sup>2</sup>Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de recherche en santé, environnement et travail) - UMR\_S 1085, F-35000 Rennes, France

<sup>3</sup>Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU de Rennes, France

<sup>4</sup>Service d'anesthésie, maternité, Hôpital Sud, CHU de Rennes, France

<sup>5</sup>Centre de ressource et de compétence des maladies hémorragiques chroniques (CRC-MHC), CHU de Rennes, France

<sup>6</sup>Laboratoire d'hémostase, CHU de Rennes, France

L'hémophilie acquise liée à la grossesse (HAcq-G), lorsqu'elle est présente avant l'accouchement, expose la mère et le fœtus/nouveau-né à des complications hémorragiques potentiellement graves. Nous rapportons ici la prise en charge d'une telle HAcq-G chez une jeune patiente.

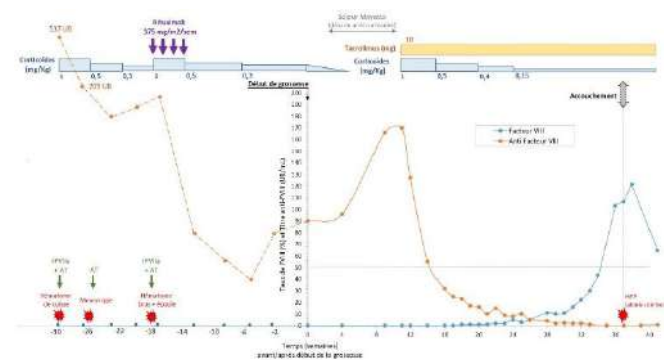
Neuf mois après avoir accouché sans complication, une HAcq-G est diagnostiquée chez une patiente de 22 ans devant un hématome de cuisse, une ecchymose étendue d'un membre inférieur et un TCA allongé (ratio malade/témoin: 2,7) avec taux de facteur VIII (FVIII) <1% facteur Willebrand à 210% et titre anti-FVIII à 537 UB. L'exploration étiologique ne retrouvait que l'HAcq-G. L'hématome a été rapidement et efficacement traité par facteur VII activé recombinant (rFVIIa). Une corticothérapie (CS) per os 1mg/kg/jr a été rapidement débutée, sans autre immunosuppresseur (IS) en raison du désir d'autres grossesses (voir Figure, partie gauche). L'efficacité initiale était très bonne avec réduction du titre à 170 UB en 2 mois. Mais celui-ci, cortico-dépendant, est remonté en diminuant les CS à 0,3 mg/Kg/jr. Le Rituximab (RTX) a donc été introduit à 375 mg/m2/semaineX4 associé aux CS 1mg/Kg/jr. Après nouvelle baisse importante du titre, celui-ci est encore remonté à partir de 0,3 mg/Kg/jr de CS. Cependant, cette dose n'est pas modifiée du fait du refus de la patiente.

Après arrêt de sa contraception oestro-progestative contre avis médical, une nouvelle grossesse a débuté. Le Tacrolimus a alors été prescrit 10 mg/jr avec CS à 1mg/Kg/jr mais son démarrage a dû attendre la 11<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée (SA) en raison d'un séjour prolongé à Mayotte (voir Figure, partie droite). Dès l'introduction de cet IS, le titre a rapidement diminué permettant le 1<sup>er</sup> FVIII dosable à 1% à la 22<sup>ème</sup> SA. Sa normalisation est survenue à la 35<sup>ème</sup>

SA avec négativation du titre anti-FVIII, qui a persisté jusqu'en fin de grossesse. La patiente n'a présenté aucune complication infectieuse ni hémorragique pendant sa grossesse. L'accouchement aura lieu 1 mois après soumission de l'abstract; il sera décrit au congrès ainsi que la prise en charge du nouveau-né.

La patiente a accouché spontanément à 37+3SA d'une fille pesant 3120g. Le facteur VIII est alors normalisé à 102%, l'antiFVIII indosable, autorisant la pose d'une analgésie péridurale. Le post-partum immédiat a été marqué par une hémorragie de la délivrance de 1200cc, traitée par révision utérine avec évacuation d'un thrombus vaginal. L'hémorragie n'a pas récidivé sous exacyl. Le facteur VIII était normal chez l'enfant, sans antiFVIII détectable. Près de 70% des patientes porteuses d'HAcq-G nécessitent le recours à un traitement immunosuppresseur complémentaire à la corticothérapie, reposant en première intention sur le RTX ou le cyclophosphamide<sup>3,4,5</sup>. Chez notre patiente, la réponse seulement partielle au RTX a conduit à une alternative thérapeutique IS efficace et sûre par Tacrolimus au cours de sa 2<sup>ème</sup> grossesse, afin de mettre la patiente et le fœtus à l'abri de complications hémorragiques. Quelques données suggèrent l'efficacité du tacrolimus dans le traitement de l'HAcq en dehors de la grossesse<sup>3</sup>. Chez notre patiente, cet IS a permis une diminution très rapide du titre avec une très bonne tolérance foeto-maternelle permettant une normalisation du FVIII à l'accouchement. Le tacrolimus semble donc une option thérapeutique efficace pour l'HAcq-G réfractaire aux corticoïdes.

**Figure : Evolution du titre anti-facteur VIII et du taux de facteur VIII d'une hémophilie acquise liée à la grossesse avant/après nouvelle grossesse et avant/après Tacrolimus**



AT : acide tranexamique ; FVIII : facteur VIII ; rFVIIa : facteur VII activé recombinant

**Références**

1. Lévesque H, Guillet B, Benhamou Y. [Acquired hemophilia and pregnancy: A necessarily multidisciplinary approach]. *Rev Med Interne*. 2022;43(8):494-7.
2. Dewarrat N, Gavillet M, Angelillo-Scherrer A, Naveiras O, Grandoni F, Tsakiris DA, et al. Acquired haemophilia A in the postpartum and risk of relapse in subsequent pregnancies: A systematic literature review. *Haemophilia*. 2021;27(2):199-210.
3. Collins P, Macartney N, Davies R, Lees S, Giddings J, Majer R. A population based, unselected, consecutive cohort of patients with acquired haemophilia A. *Br J Haematol*. 2004;124(1):86-90.
4. Delgado J, Jimenez-Yuste V, Hernandez-Navarro F, Villar A. Acquired haemophilia: review and meta-analysis focused on therapy and prognostic factors. *Br J Haematol*. 2003;121(1):21-35.
5. Tiede A, Collins P, Knoebl P, Teitel J, Kessler C, Shima M, et al. International recommendations on the diagnosis and treatment of acquired hemophilia A. *Haematologica*. 2020;105(7):1791-801.

**P 050 - Thrombin generation on vascular cells in the presence of factor VIII and/or emicizumab**

S. Atsou<sup>1</sup>, C. Schellenberg<sup>2</sup>, J. Lagrange<sup>2</sup>, P. Lacolley<sup>2</sup>, P.J. Lenting<sup>1</sup>, C.V. Denis<sup>1</sup>, O.D. Christophe<sup>1</sup>, V. Regnault<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Inserm 1176 - Kremlin-Bicêtre (France),  
<sup>2</sup>UMR 1116 - Vandœuvre-Lès-Nancy (France)

**Introduction :** The effect of factor VIII (FVIII) or emicizumab on thrombin generation (TG) is usually assessed in in vitro assays using synthetic phospholipids. Here, we assessed TG at the surface of human vascular cells (human aortic endothelial cells (hAECs) and aortic human vascular smooth muscle cells (hVSMCs)). To explore the capacity of hVSMCs and hAECs (resting or tumor necrosis factor alpha (TNF)-stimulated) to support TG by FVIII or emicizumab.

**Matériels et Méthodes :** Primary hVSMCs and hAECs were incubated with FVIII-deficient plasma spiked with FVIII (1 U/ml), emicizumab (0.05 mg/ml), activated prothrombin complex (aPCC) (1 U/ml) or combinations thereof. Cells were also analyzed for the presence of tissue factor (TF)-activity, phosphatidylserine (PS)-exposure, tissue factor pathway inhibitor (TFPI)-content and thrombomodulin (TM) expression. Data represent mean±SD of at least 6 independent measurements.

**Résultats :** hVSMCs displayed 2-fold higher TF-activity compared to non- or TNF-stimulated hAECs, whereas PS-exposure was 4 and 15-fold higher in TNF-stimulated hAECs compared to non-stimulated hAECs and hVSMCs, respectively. TM-expression and TFPI content were increased 1.5-fold in TNF-stimulated hAECs compared to their non-stimulated counterparts, while they were virtually absent in hVSMCs. Surprisingly, FVIII-induced TG was significantly lower in TNF-stimulated hAECs compared to non-stimulated hAECs or hVSMCs (ETP= 794±108 nM versus 1085±187nM and 1197±58nM; p<0.0001). As for emicizumab, TG was lower on non- and TNF-stimulated hAECs compared to hVSMCs (ETP=686±195nM, 262±59nM and 900±38nM; for non-stimulated hAECs, TNF-stimulated hAECs and hVSMCs, respectively; p=0.014 and p<0.0001). Of note, combining FVIII and emicizumab did not result in increased TG. In line with previous findings, the addition of aPCC to emicizumab resulted in exaggerated TG under all conditions (ETP>2100nM).

**Conclusion :** TNF-stimulation of hAECs increases both pro- and anti-coagulant activity. Unexpectedly, the increased anti-coagulant activity is sufficient to reduce both FVIII- and emicizumab-induced thrombin generation. This protective effect disappears when emicizumab is combined with aPCC.

**P 051 - Surgery in people with hemophilia A receiving emicizumab prophylaxis: experience from a French Reference Center of Hemophilia**

C. Brakta<sup>1</sup>, N. Stieljes<sup>2</sup>, S. Combe<sup>2</sup>, N. Ounnoughene<sup>2</sup>, L. Capdevila<sup>1</sup>, L. Goubeau<sup>1</sup>, J. Duchemin<sup>1</sup>, M. Fontenay<sup>1</sup>, V. Rousset-Robert<sup>2</sup>, V. Proulle<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service Hématologie Biologique et Hémostase Clinique, Hôpital Cochin AP-HP.Centre - Paris (France),  
<sup>2</sup>Centre de Ressources et de Compétences Maladies Hémostatiques Constitutionnelles, Hôpital Cochin AP-HP.Centre - Paris (France)

**Introduction :** Emicizumab has revolutionized prophylaxis in people with severe hemophilia A (PwHA). However, detailed management of surgical procedures in PwHA receiving emicizumab remain scarce in the literature. It may vary between hemophilia comprehensive centers due to the lack of evidence-based data. We report the 3-

year experience from a single French Hemophilia Centre (CRC-MHC). This study aims to describe the management and outcome of surgical procedures performed in PwHA receiving emicizumab prophylaxis at the CRC-MHC in Cochin hospital, Paris, France.

**Matériels et Méthodes :** Data from procedures performed between 2020 and 2022 were collected retrospectively. Major bleeds were defined according to the ISTH Control of Anticoagulation Subcommittee recommendations<sup>1</sup>. Procedures were classified as major or minor as previously defined by Santagostino et al<sup>2</sup>. All patients gave their informed consent.

**Résultats :** 41 procedures, 31 minor and 10 major, were performed in 18 PwHA receiving emicizumab for an average of 12 months. No patient received thromboprophylaxis. The PwHA received 76+/-126 or 882+/-687 (IU/kg) cumulative dose of rFVIII during 2.7+/-5.3 or 26.1+/-22.6 days for minor or major surgeries respectively. 24 minor surgeries were treated with rFVIII only pre-operatively, 5 with pre- and postoperative treatment, and one surgery was performed without supplementation. All 10 major surgeries were supported by rFVIII supplementation before and after surgery. FVIII was monitored peri-operatively using bovine chromogenic assay to adjust dosage according to usual practice. A single bleeding complication (hematoma requiring surgery and transfusion) occurred 13 days after a knee prosthesis during physical therapy.

**Conclusion :** We report one of the largest real-world experience of surgeries carried out in PwHA treated with emicizumab in a single French CRC-MHC. Hemostatic treatment approach, biological and clinical follow-up, as well as clinical outcomes do not seem to be different from those before emicizumab prophylaxis. Our data provide new evidence on the safety of performing surgeries in PwHA while on emicizumab prophylaxis.

*Patient and treatment information*

	Minor surgeries	Major surgeries	Total
Patients n,(%)	19 (79.2)	5 (20.8)	24 (100)
Procedures n,(%)	31 (75.6)	10 (24.4)	41 (100)
Age years mean,[range]	44.6 [28.0-59.0]	50.3 [28.0-71.0]	47.5 [27.0-71.0]
<b>Time on Emicizumab (month)</b>			
Mean +/- SD*, [range]	11.9+/-8.5 [1.0-33.0]	13.0+/-9.4 [1.0-27.0]	12.2+/-8.8 [1.0-33.0]
<b>rFVIII treatment n,(%)</b>			
No	2 (6.5)	0	2 (5.0)
Yes	29 (93.5)	10 (100)	39 (95.0)
<b>Administration of rFVIII n,(%)</b>			
Pre operative only	23 (79.3)	0	23 (59.0)
Pre and post operative	6 (20.7)	10 (100)	16 (41.0)
<b>rFVIII dose IU/Kg</b>			
Mean +/- SD, [range]	76+/-126 [14-572]	882+/-687 [392-2724]	272 +/- 491 [14-2724]
<b>Duration of rFVIII treatment (days)</b>			
Mean +/- SD, [range]	2.7+/-5.3 [1.0-25.0]	26.1+/-22.6 [10.0-88.0]	8.4 +/- 15.5 [1.0-88.0]
<b>Bleeding episode</b>			
No	31 (100)	9 (90.0)	40 (97.6)
Yes	0	1 (10.0)	1 (2.4)

**P 052 - Emicizumab chez les nourrissons hémophiles A sévères sans inhibiteur : résultats de l'analyse intermédiaire de l'étude HAVEN 7**

A. Harroche<sup>1</sup> au nom de S. Pipe<sup>2</sup>, P. Collins<sup>3</sup>, C. Dhalluin<sup>4</sup>, G. Kenet<sup>5</sup>, C. Schmitt<sup>4</sup>, M. Buri<sup>4</sup>, V. Jimenez-Yuste<sup>6</sup>, F. Peyvandi<sup>7</sup>, G. Young<sup>8</sup>, J. Oldenburg<sup>9</sup>, M.E. Mancuso<sup>10</sup>, A. Kiialainen<sup>4</sup>, T. Chang<sup>11</sup>, M. Lehle<sup>4</sup>, K. Fijnvandraat<sup>12</sup>

<sup>1</sup>Hôpital Necker-Enfants malades (pour Les Auteurs) - Paris (France),  
<sup>2</sup>University of Michigan - Ann Arbor (United States),  
<sup>3</sup>School of medicine, Cardiff university - Cardiff (United Kingdom),  
<sup>4</sup>F. Hoffmann-La Roche Ltd - Bâle (Switzerland),  
<sup>5</sup>Sheba medical center, Ramat Gan, Israel / Tel Aviv university - Tel Aviv (Israel),  
<sup>6</sup>La Paz university hospital, Autónoma university - Madrid (Spain),  
<sup>7</sup>Fondazione IRCCS Ca' granda ospedale maggiore policlinico, Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia / Thrombosis center and università degli studi di Milano - Milan (Italy),  
<sup>8</sup>Children's hospital Los Angeles, California - Los Angeles (United States),  
<sup>9</sup>University of Bonn - Bonn (Germany),  
<sup>10</sup>IRCCS Humanitas research hospital - Rozzano (Italy),  
<sup>11</sup>Spark therapeutics, Inc. - San Francisco (United States),  
<sup>12</sup>University of Amsterdam - Amsterdam (Netherlands)

**Introduction :** Emicizumab peut être initié dès le diagnostic de l'hémophilie A (HA), réduisant ainsi le risque de saignement chez les nourrissons atteints d'HA (NHA). Cette analyse intermédiaire de HAVEN 7 (NCT04431726) évalue l'efficacité, la tolérance et la pharmacocinétique (PK) d'emicizumab chez les NHA sévère.

**Matériels et Méthodes :** HAVEN 7 est une étude de phase IIIb, en ouvert, évaluant emicizumab chez les NHA ≤12 mois sans inhibiteur anti FVIII. Les NHA reçoivent emicizumab à 3 mg/kg par semaine (S) pendant 4 S, puis 3 mg/kg toutes les 2 S pendant 52 S ; cette dose peut ensuite être maintenue ou changée à 1,5 mg/kg/S ou 6 mg/kg toutes les 4 S durant les 7 ans de suivi. Les critères d'évaluation incluent : l'efficacité (les saignements traités ; tous les saignements ; les saignements spontanés traités ; les saignements articulaires traités) ; la tolérance ; la pharmacocinétique ; et les anticorps anti-emicizumab (ADAs). Les taux de saignements annualisés (ABR) sont estimés par un modèle de régression binomiale négative.

**Résultats :** À la date de cut-off de l'analyse intermédiaire (31 mars 2022), 54 NHA (55,6 % ≥3 - ≤12 mois ; 44,4 % <3 mois ; tous des garçons) avaient reçu ≥1 dose d'emicizumab ; âge médian (min-max) : 4,5 (0-11) mois à la signature du consentement éclairé ; 16 (1-26) mois à la date de cut-off. Patients ayant reçu un traitement minimal (≤5 jours d'exposition au FVIII) : 55,6 % ; patients non précédemment traités : 44,4%. Durée médiane (min-max) du traitement : 42,1 (1-60) S.

Au total, 77 saignements sont survenus chez 31 NHA : 88,3 % traumatiques ; 5,2 % lors de gestes invasifs ; 6,5 % spontanés. Un NHA a présenté 12 saignements (tous traumatiques ; aucun articulaire/musculaire ; aucun traité). Au total, 14 saignements traités, tous traumatiques, ont été rapportés chez 12 NHA. Aucun n'a eu >2 saignements traités. Les ABR moyens estimés (intervalle de confiance [IC] à 95 %) pour les saignements traités, tous les saignements et les saignements articulaires traités étaient respectivement de 0,4 (0,23-0,65), 1,9 (1,35-2,68) et 0,1 (0,01-0,22). Au total, 77,8% des NHA n'ont eu aucun saignement traité, et 42,6% n'ont eu aucun saignement. 92,6 % ont présenté ≥1 événement indésirable (EI) ; 16,7 % des EI étaient des réactions au site d'injection liées à emicizumab. Aucun EI n'a entraîné de modification ou d'arrêt d'emicizumab. 12 EI graves ont été rapportés chez 8 NHA ; aucun n'a été considéré comme lié à emicizumab. Aucun décès/événement thrombotique/microangiopathie thrombotique n'a été signalé. Aucun des 48 NHA évaluables pour l'immunogénicité n'a été positif pour les ADA. Les données pharmacocinétiques évaluables chez 52 NHA ont montré que les concentrations minimales moyennes d'emicizumab ont augmenté pendant la période de charge et se sont maintenues par la suite légèrement au-dessus de 60µg/mL.

**Conclusion :** Cette analyse intermédiaire suggère qu'emicizumab est efficace et bien toléré chez les NHA sans inhibiteur anti FVIII.

#### P 054 - Expérience française en vie réelle sur l'utilisation de rIX-FP (Idelvion®) chez les patients avec hémophilie B

S. Castet<sup>1</sup>, F. Volot<sup>2</sup>, A. Fournel<sup>3</sup>, D. Desprez<sup>4</sup>, A. Hassoun<sup>5</sup>, B. Pan Petesch<sup>6</sup>, B. Frotscher<sup>7</sup>, C. Biron-Andreani<sup>8</sup>, Y. Repessé<sup>9</sup>, B. Tardy<sup>10</sup>, B. Guillet<sup>11</sup>, S. Susen<sup>12</sup>, P. Chamouni<sup>13</sup>, A. Lebreton<sup>14</sup>, V. Cussac<sup>15</sup>, C. Berger<sup>16</sup>, C. Reynes<sup>17</sup>, R. d'Oiron<sup>18</sup>, A. Harroche<sup>19</sup>, H. Catovic<sup>20</sup>, C. Martin<sup>20</sup>, Y. Dargaud<sup>21</sup>

<sup>1</sup>CRC-MHC, Hôpital Pellegrin - Bordeaux (France),

<sup>2</sup>CRC-MHC, CHU Dijon Bourgogne-Hôpital François Mitterrand - Dijon (France),

<sup>3</sup>CRC-MHC, Hôpital Jean Minjot - Besançon (France),

<sup>4</sup>CRC-MHC, CHU de Strasbourg - Hôpital de Haute-pierre - Strasbourg (France),

<sup>5</sup>CT-MHC, Hôpital Simone Veil, GH Eaubonne-Montmorency - Eaubonne (France),

<sup>6</sup>CRC-MHC, CHRU Brest Morvan - Brest (France),

<sup>7</sup>CRC-MHC, CHRU de Nancy - Hôpital Brabois - Nancy (France),

<sup>8</sup>CRC-MHC, CHU Saint Eloi - Montpellier (France),

<sup>9</sup>Hématologie Biologique et CRC-MHC, Centre Hospitalier Universitaire de Caen - Caen (France),

<sup>10</sup>CRC-MHC, CHU Saint-Etienne - Hôpital Nord ; Laboratoire d'hématologie-Inserm CIC 1408, CHU Saint-Etienne - Saint-Etienne (France),

<sup>11</sup>CRC-MHC, CHU de Rennes-Hôpital De Pontchaillou-Université de Rennes, CHU de Rennes ; Inserm, Ehesp, IRSET-UMR\_S 1085 - Rennes (France),

<sup>12</sup>CRC-MHC, CRMW, CHU de Lille - Lille (France),

<sup>13</sup>CRC-MHC, Service d'hématologie Biologique - CHU Charles Nicolle - Rouen (France),

<sup>14</sup>CRC-MHC, CHU Estaing - Service D'hématologie - Clermont-Ferrand (France),

<sup>15</sup>CTH, CH Le Mans - Le Mans (France),

<sup>16</sup>CRC-MHC, CHU Saint-Etienne - Hôpital Nord - Laboratoire d'hématologie ; Inserm U 1059 - Sainbiose, Université Jean Monnet - Saint-Etienne (France),

<sup>17</sup>CT-MHC, CH Annecy-Service d'hématologie - Annecy (France),

<sup>18</sup>CRH, CRC-MHC, Hôpital Bicêtre, AP-HP, Université Paris-Saclay ; Hith, UMR\_S1176, Inserm, Université Paris-Saclay - Le Kremlin Bicêtre (France),

<sup>19</sup>CRC-MHC, Département d'hématologie-Hôpital Necker Enfants Malades - Paris (France),

<sup>20</sup>CSL Behring - Paris (France),

<sup>21</sup>CRH, CRC-MHC, Unité d'hémostase Clinique-Hôpital Louis Pradel ; UR 4609 Hémostase et Thrombose, Université Claude Bernard - Lyon (France)

**Introduction :** rIX-FP (Idelvion®) est un facteur de coagulation humain recombinant IX (FIX) à demi-vie allongée, fusionné à de l'albumine humaine recombinante. Dans les essais cliniques, le rIX-FP a démontré une excellente efficacité et un profil de sécurité favorable chez les patients adultes et pédiatriques. Cette étude de surveillance post-commercialisation (OrPHEe ; NCT05086575) vise à recueillir des données de vie réelle sur l'efficacité et l'innocuité de l'utilisation du rIX-FP en prophylaxie chez les patients atteints d'hémophilie B.

**Matériels et Méthodes :** Les patients atteints d'hémophilie B recevant du rIX-FP, ont été recrutés dans les Centres français de Traitement de l'Hémophilie (CTH). La fréquence d'administration, la consommation hebdomadaire et les paramètres pharmacocinétiques (calculés par les méthodes pharmacocinétiques habituelles utilisées par chaque CTH) avant et après le passage au rIX-FP ont été collectés. Les résultats sont présentés sous forme de médiane (min-max). Les différences de consommation de facteurs avant et après le passage au rIX-FP ont été comparées statistiquement.

**Résultats :** Cette analyse intermédiaire comprenait les données recueillies entre octobre 2021 et août 2022. Soixante patients ont été inclus, 43 ont reçu une prophylaxie et 17 ont été traités à la demande avec rIX-FP. Les patients recevant une prophylaxie étaient âgés de 20 (1-66) ans, cinq d'entre eux étaient précédemment traités à la demande et 38 étaient précédemment traités en prophylaxie avec un autre concentré de FIX (rFIXFc : n=31 ; rFIX : n=6 ; FIX dérivé du plasma : n=1). Cette analyse se concentre sur cette dernière population (n=38). L'analyse pharmacocinétique a démontré que les patients adultes traités par rIX-FP avaient une récupération de 1,2 (0,8-1,7 ; n=11) UI/dL par UI/kg et une demi-vie de 120 (93-126 ; n=5) heures.

Après le passage au rIX-FP, 13/31 (42 %) patients précédemment traités par rFIXFc et 6/7 (86 %) patients précédemment traités par un concentré FIX à demi-vie standard (SHL) ont pu diminuer leur fréquence d'administration. La fréquence d'administration était d'une injection tous les 3,5 (2,3-7), 7 (3,5-14) et 10 (7-14) jours, respectivement pour les SHL FIX, rFIXFc et rIX-FP. La consommation hebdomadaire de rIX-FP était également réduite par rapport à celle du rFIXFc (39 [24-96] vs. 51 [25-162]) UI/kg/semaine respectivement ; p<0,0001 ; n=30) et au FIX SHL (45 [29-53] vs. 113 [60-143] UI/kg/semaine respectivement ; p<0,05 ; n=7).

Tous les investigateurs ont évalué l'efficacité de la prophylaxie par rIX-FP comme étant "excellente" ou "bonne". De même, tous ceux ayant évalué la sécurité d'emploi du rIX-FP l'ont défini comme "bonne" et aucun événement indésirable n'a été signalé au moment du gel de base.

**Conclusion :** Ces données de vie réelle démontrent que les patients qui passent d'une prophylaxie par rFIXFc ou FIX SHL à une prophylaxie par rIX-FP sont capables de réduire la fréquence de leurs injections et leur consommation de FIX.

### P 056 - Variabilité inter-opérateurs d'identification des sous-populations monocytaires par cytométrie en flux chez des patients avec suspicion d'AVC

E. Heng<sup>1</sup>, M. Neuwirth<sup>1</sup>, F. Mas<sup>2</sup>, G. Contant<sup>3</sup>, M. Mazighi<sup>4</sup>, B. Montpellier<sup>2</sup>, G. Jourdi<sup>1</sup>, C. Brumpt<sup>5</sup>, E. Curis<sup>6</sup>, V. Siguret<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inserm UMR-S-1140, Université Paris Cité ; Hématologie Biologique, Hôpital Lariboisière (AP-HP), Université Paris Cité - Paris (France),

<sup>2</sup>Biocytex - Marseille (France),

<sup>3</sup>Recherche Prospective, Stago - Gennevilliers (France),

<sup>4</sup>Unité Neuro-Vasculaire, Hôpital Lariboisière, APHP Nord - Paris (France),

<sup>5</sup>Hématologie Biologique, Hôpital Lariboisière (AP-HP), Université Paris Cité - Paris (France),

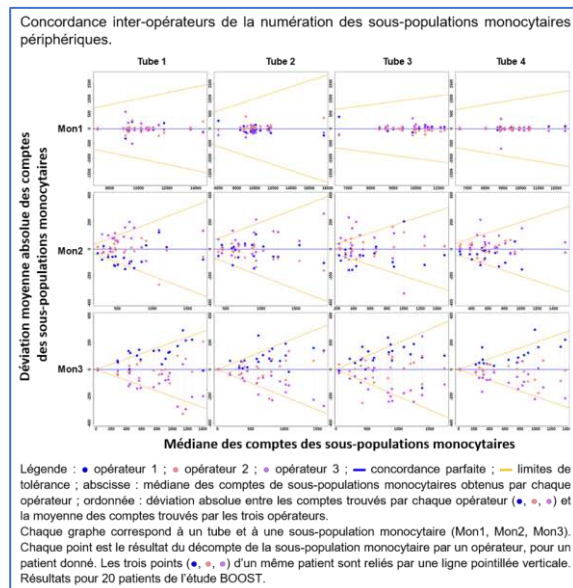
<sup>6</sup>UR 7537 Biostat (Biostatistics), Faculté de Pharmacie de Paris, Université Paris Cité - Paris (France)

**Introduction :** L'analyse par cytométrie en flux (CMF) des sous-populations monocytaires — classiques (Mon1), intermédiaires (Mon2) et non classiques (Mon3) — et l'étude de l'expression des marqueurs d'activation associés ont un intérêt particulier dans de nombreuses pathologies cardiovasculaires. Étant donné la complexité de discrimination des sous-populations monocytaires par CMF et le caractère manuel du fenêtrage, nous avons évalué l'importance de la variabilité inter-opérateurs dans la séparation des Mon1, Mon2 et Mon3 lors de leur fenêtrage.

**Matériels et Méthodes :** L'étude BOOST (Biomarkers algorithm for stroke diagnosis and treatment resistance prediction, NCT04726839) est une étude exploratoire prospective multicentrique non interventionnelle. Elle inclut, après consentement éclairé, des patients âgés de 18 ans ou plus présentant des symptômes suggérant un accident vasculaire cérébral (AVC) aigu dans les dernières 24 heures. Quatre mL de sang ont été prélevés sur tube EDTA lors de l'admission aux urgences, avant l'imagerie cérébrale. L'analyse des sous-populations monocytaires par CMF a été effectuée sur du sang frais en utilisant le cytomètre FACS Canto II à six couleurs de Becton-Dickinson® et le logiciel d'analyse FlowJo. Pour l'étude de concordance, les échantillons de 20 patients consécutifs ont été analysés par trois opérateurs expérimentés. Nous avons exploré la concordance inter-opérateurs en représentant la distribution des mesures et en calculant, pour chaque patient, le coefficient de variation (CV). Les limites de tolérance ont été spécifiées à partir des recommandations du CLSI : 10 % pour les numérations de Mon1, 20 % pour celles de Mon2 et Mon3 et 15 % pour les intensités médianes de fluorescence.

**Résultats :** Une stratégie fondée sur l'utilisation des marqueurs CD45, CD14, CD16, CD91 (pan-monocytaire), HLA-DR ainsi que CD62L, CD11b, CD86, CCR2, ICAM-1, CX3CR1 et facteur tissulaire (FT) a été utilisée. Les CV médians étaient inférieurs aux limites de tolérance pré-spécifiées (Figure) ; toutefois, un effet opérateur a été observé. Exprimées en fractions du nombre de monocytes, les différences entre les sous-populations de monocytes d'un opérateur à l'autre étaient inférieures à 3 %.

**Conclusion :** Notre stratégie a permis de discriminer les sous-populations monocytaires avec une variabilité inter-opérateurs acceptable. L'effet inter-opérateur, lorsqu'il est présent, doit être pris en compte dans l'analyse des données.



### P 058 - Interférences du facteur VIII et des anticoagulants lupiques sur le dosage de l'emicizumab

H. Capucine<sup>1</sup>, A. Claire<sup>1</sup>, B. Adeline<sup>2</sup>, L.B. Cécile<sup>2</sup>, H. Annie<sup>3</sup>, B. Cécile<sup>3</sup>, F. Laurent<sup>3</sup>, B. Delphine<sup>1</sup>, L. Dominique<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hôpital Necker, AP-HP, Laboratoire d'hématologie Générale - Paris (France),

<sup>2</sup>Hôpital Bicêtre, AP-HP, Laboratoire d'hématologie - Paris (France),

<sup>3</sup>Hôpital Necker, AP-HP, Centre de Traitement de l'hémophilie - Paris (France)

**Introduction :** La mesure de la concentration d'emicizumab est requise dans certaines situations, notamment hémorragiques, pouvant alerter sur un défaut d'observance ou l'apparition d'un anticorps dirigé contre l'emicizumab (1). Elle repose sur le principe du dosage chromométrique du facteur (F) VIII. Dans ce travail, nous avons étudié deux interférences liées à ce principe de dosage : le taux de FVIII (chez le patient ayant reçu une perfusion de FVIII ou chez l'hémophile modéré ou mineur) et les anticoagulants lupiques (LA).

**Matériels et Méthodes :** La concentration d'emicizumab est déterminée à partir de la mesure d'un temps de coagulation (temps de céphaline avec activateur) d'un mélange à volume égal du plasma du malade dilué au 1/10 et d'un plasma déficient en FVIII (Synthasyl, déficient FVIII, Werfen) en se référant à une courbe de calibration réalisée avec un calibrant spécifique de l'emicizumab (r2 Diagnostics). L'interférence du FVIII a été étudiée en ajoutant de l'emicizumab (10 ou 50 µg/mL final) à 18 plasmas avec un FVIII entre 2,9 et 91,5%. L'interférence d'un LA a été étudiée sur 5 plasmas de patients avec un test de dépistage basé sur un TCA positif (LA+) (index d'anticoagulant circulant : 41 à 82 %, valeur de référence < 15%) et 5 plasmas avec un test négatif (LA-). Après chauffage des plasmas 30 min à 58°C pour dégrader le FVIII et ajout de 10 ou 50 µg/mL d'emicizumab, la concentration de l'emicizumab a été mesurée sur différentes dilutions (1/10 à 1/160). Le coefficient de variation (CV) a été calculé pour les 3 premières dilutions comme recommandé pour le dosage du FVIII (2).

**Résultats :** La présence de FVIII entraîne une surestimation de la concentration d'emicizumab qui augmente avec le taux de FVIII et qui est d'autant plus importante que la concentration d'emicizumab est faible (Figure 1).

Les concentrations d'emicizumab sont plus basses dans les plasmas LA+ vs. LA- ( $3,1 \pm 2,2$  vs.  $9,6 \pm 0,3$ ,  $p=0,0002$  et  $15,0 \pm 8,5$  vs.  $41,0 \pm 0,7$  µg/mL,  $p=0,0009$  après ajout respectivement de 10 ou 50 µg/mL d'emicizumab) et augmentent avec des dilutions croissantes du plasma. Contrairement aux plasmas LA-, le CV des résultats des 3

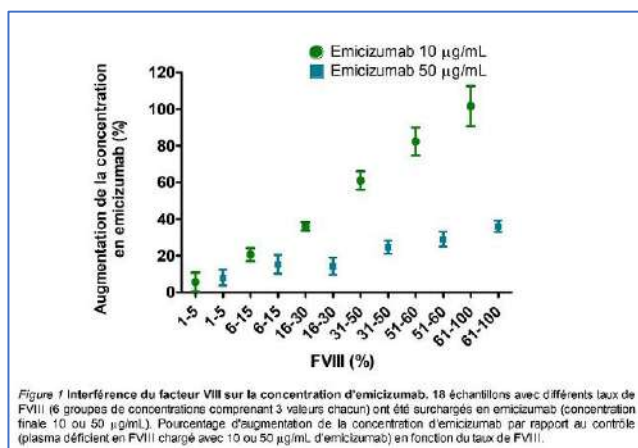
premières dilutions est > 15% pour tous les plasmas LA+ (Figure 2). Le parallélisme entre les droites de calibration et des plasmas LA+ (temps de coagulation en fonction de la dilution) n'est pas respecté, entraînant une sous-estimation de la concentration d'emicizumab si une seule dilution est testée.

**Conclusion :** Les concentrations d'emicizumab peuvent être surestimées par la présence de FVIII et masquer une diminution de concentration d'emicizumab. A l'inverse, un LA peut entraîner une sous-estimation de la concentration d'emicizumab. Comme pour les dosages des facteurs de la coagulation utilisant des réactifs sensibles aux LA, la réalisation de plusieurs dilutions est nécessaire devant une concentration faible d'emicizumab (2) ; le seuil à partir duquel cette interférence doit être recherchée reste à déterminer.

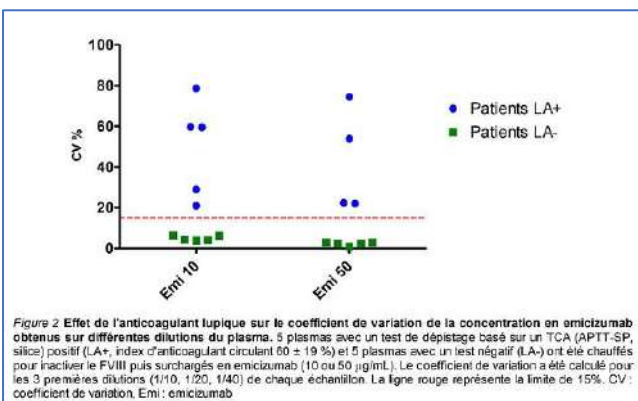
**Bibliographie**

1. Susen S, Gruel Y, Godier A, Harroche A, Chambost H, Lasne D, et al. *Management of bleeding and invasive procedures in haemophilia A patients with inhibitor treated with emicizumab (Hemlibra®): Proposals from the French network on inherited bleeding disorders (MHEMO), the French Reference Centre on Haemophilia, in collaboration with the French Working Group on Perioperative Haemostasis (GIHP). Haemophilia. 2019 Sep;25(5):731–7.*
2. Guy S, Shepherd MF, Bowyer AE, Kitchen S. *How to assess parallelism in factor assays: coefficient of variation of results with different dilutions or slope ratio? Int J Lab Hematol. 2022 Dec 9*

Interférence du FVIII sur l'emicizumab



Effet du LA sur l'emicizumab



**P 061 - Caractérisation des plasmas de contrôles frais congelés Cryocheck pour la détection et la confirmation de la présence de lupus anticoagulants sur les automates ; STA-R® (Stago) et le CS-2400 (Sysmex)**

C. Kawecki<sup>1</sup>, T. Carpentier<sup>1</sup>, N. Benattar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pepredep - La Roche-Posay (France)

**Introduction :** Le syndrome des antiphospholipides est une maladie auto-immune, provoquant des thrombopénies, des thromboses, des AVC ou des accidents obstétricaux. Elle est due à la présence d'immunoglobulines hétérogènes qui se lient aux phospholipides et protéines plasmatiques liant les phospholipides, nommée Lupus anticoagulant (LA). Ces anticorps induisent un état d'hypercoagulabilité. La détermination de la présence de LA dans le plasma est basée principalement sur des tests de coagulation dépendants des phospholipides. Ces tests sont le dRVVT (diluted Russell's viper venom time), le temps de céphaline activée (TCA) spécial sensible aux lupus, le test du mélange ou les tests intégrés qui regroupent tests de détection et de confirmation. L'utilisation de contrôles pour valider l'ensemble des résultats est un prérequis obligatoire qu'importe la technique ou l'automate utilisés. C'est dans ce but, que nous avons caractérisé 3 contrôles de plasmas congelés présentant ou non des LA.

**Matériels et Méthodes :** Différents lots de plasmas frais congelés de la société Precision Biologic Inc (PBI, Canada) possédant des LA en forte concentration (CCLP), faible concentration (CCWLP) ou sans LA (CCLN) sont caractérisés sur les automates STA-R® Evolution (Stago, France) et CS-2400 (Sysmex, France). L'ensemble des tests recommandés par l'ISTH pour standardiser la détection des LA ont été testés sur les 2 plasmas positifs et comparés au contrôle négatif CCLN.

**Résultats :** Les résultats sur la détection de la présence de LA par dRVVT sur le STA-R® montrent de façon très significative une excellente discrimination entre le contrôle négatif comparé aux contrôles positifs (38,02s ± 1,712s pour le CCLN vs 63,12s ± 3,387s le contrôle positif faible (CCWLP) et 79,85s ± 7,343s pour le contrôle positif fort (CCLP)). De la même manière, les résultats du TCA montrent une excellente distinction des 3 contrôles qu'importe les lots utilisés (35,18s ± 5,348 pour le CCLN vs 66,32s ± 4,553s pour le CCWLP et 87,87s ± 6,794s pour le CCLP). La confirmation de la présence de LA en test indépendant, utilise un lysat plaquettaire ((PNP), PBI, canada) comme source de phospholipides. Les résultats montrent indépendamment du réactif TCA sensible aux lupus et du lot de PNP utilisés, un ratio de temps qui augmente selon si le contrôle positif est faible ou fort comparé au contrôle négatif (- 5,92s ± 0,9998s (CCLN) vs 1,912s ± 0,5668s (CCWLP) et 9,888s ± 2,391s (CCLP)). L'ensemble des expériences ont également été réalisées sur le Sysmex CS-2400 et montrent des résultats similaires.

**Conclusion :** Ces résultats prouvent que les 3 contrôles LA de plasmas frais congelés sont de très bons candidats pour la validation des méthodes de détection et de confirmation de la présence de lupus dans le plasma des patients. De plus, l'absence de reconstitution des plasmas, l'utilisation immédiate des contrôles après décongélation et la pertinence des résultats entre les lots ajoutent une plus-value non négligeable à l'utilisation de ces plasmas en tant que contrôles pour la détection des lupus dans la validation des tests de coagulation.

### P 062 - Traitement des hémarthroses sur articulations cibles et non-cibles par eptacog beta chez les patients hémophiles A ou B avec inhibiteurs : une sous-analyse de PERSEPT 1

A. Harroche<sup>1</sup>, M.E. Mancuso<sup>2</sup>, M.T. Álvarez-Román<sup>3</sup>, C. Biron-Andreani<sup>4</sup>, A.S. Majluf-Cruz<sup>5</sup>, P. Maes<sup>6</sup>, U. Nowak-Göttl<sup>7</sup>, D. Bonzo<sup>8</sup>, T. Wilkinson<sup>9</sup>, J. Windyga<sup>10</sup>

<sup>1</sup>Service d'hématologie Clinique Centre de Traitement de l'hémophilie Hôpital Necker Enfants Malades - Paris (France),

<sup>2</sup>Centre de Thrombose et des Maladies Hémostatiques, IRCCS Humanitas Hôpital de Recherche Scientifique - Milan (Italy),

<sup>3</sup>Département d'hématologie et d'hémothérapie, Hôpital Universitaire La Paz, Autónoma University - Madrid (Spain),

<sup>4</sup>Centre de Ressources et de Compétences Maladies Hémostatiques Constitutionnelles-Département d'hématologie Biologique CHU Saint-Eloi - Montpellier (France),

<sup>5</sup>Unité de Recherche Médicale sur la Thrombose et l'hémostase, Institut Mexicain de Sécurité Sociale - Mexico City (Mexico),

<sup>6</sup>Département d'hématologie et d'oncologie Pédiatrique, Hôpital Universitaire de Antwerp - Antwerp (Belgium),

<sup>7</sup>Centre de Traitement de la Thrombose et de l'hémostase, Hôpital Universitaire, - Kiel-Lübeck (Germany),

<sup>8</sup>LFB-USA, Inc. - Framingham, Ma (United States),

<sup>9</sup>Gloval Llc - Monterey Park, Ca (United States),

<sup>10</sup>Département des Troubles de l'hémostase et de Médecine Interne, Laboratoire d'analyse des Troubles de l'hémostase et des Maladies Métaboliques, Institut d'hématologie et de Médecine Transfusionnelle - Warsaw (Poland)

**Introduction :** La résolution précoce des épisodes hémorragiques (EH) sur une articulation cible est cruciale pour prévenir l'arthropathie chez les personnes atteintes d'hémophilie A ou B avec inhibiteurs (PwHABI).

Eptacog beta (EB) (CEVENFACTA® ; LFB Biomédicaments), rFVIIa humain, est approuvé en Europe pour le traitement des EH et dans la prévention des hémorragies survenant lors de chirurgies chez les PwHABI âgés de 12 ans et plus. L'efficacité observée à 12h (critère primaire) dans l'étude PERSEPT 1 est de 81% et 90,3% pour les régimes de doses initiaux (RDI) de 75 et 225µg/kg, respectivement. Cette analyse de PERSEPT 1 évalue l'efficacité d'EB lors du traitement des EH articulaires cibles et non-cibles à 12 et 24h post-perfusion initiale par EB.

**Matériels et Méthodes :** PERSEPT 1 (NCT02020369), un essai croisé prospectif randomisé ouvert, évaluait l'efficacité hémostatique de 2 schémas posologiques (RDI 225 ou 75µg/kg) d'EB traitant des EH légers à sévères de PwHABI (Fig.1).

Le succès hémostatique d'EB était défini par une évaluation de l'hémostase sur une échelle en 4 points : 'excellente', 'bonne', 'modéré' et 'nulle'. Une réponse 'excellente' ou 'bonne' était considérée comme un succès.

Une articulation cible était définie par une articulation avec saignements récurrents ≥4 au cours des 6 derniers mois ou avec un historique de 20 EH.

**Résultats :** Parmi les 27 PwHABI inclus, 17 présentaient des articulations cibles. Sur les 397 EH articulaires légers à sévères traités, 135 concernaient des articulations cibles (15 sujets) et 262 des articulations non-cibles (25 sujets).

Le succès hémostatique à 12h post-perfusion initiale sur les EH légers à modérés des articulations cibles était de 82% (IC 95% [63%, 100%]) et de 93% (IC 95% [82%, 100%]) pour les RDI de 75 et 225µg/kg respectivement ; et pour les articulations non-cibles de 86% (IC 95% [75%, 97%]) et 95% (IC 95% [90%, 100%]), respectivement. Une différence statistiquement significative entre le RDI 225 vs 75µg/kg était observée pour les groupes articulaires cibles et non-cibles (p<0,05) à 12h. La différence de succès hémostatique observée entre les groupes articulaires cibles et non-cibles pour un même RDI n'était pas statistiquement significative.

Quasiment tous les EH des articulations cibles et non-cibles ont été traités avec succès 24h après perfusion initiale d'EB pour chaque RDI (Tab.1).

Parmi les 3 EH sévères traités, 1 seul était un saignement articulaire (non-cible) dont l'hémostase a été obtenue à 12h et maintenue à 24h.

**Conclusion :** Le RDI 225µg/kg a montré une amélioration statistiquement significative de l'efficacité hémostatique à 12h en comparaison au RDI 75µg/kg. La supériorité hémostatique observée à 12h sur les EH articulaires cibles et non-cibles du RDI 225 vs 75µg/kg, est cohérente avec une génération de thrombine dose-dépendante conduisant à la formation d'un caillot sur la brèche vasculaire. Avec une efficacité élevée observée à 24h, EB représente une option thérapeutique importante dans la prise en charge des EH articulaires cibles et non-cibles chez les PwHABI.

Figure 1

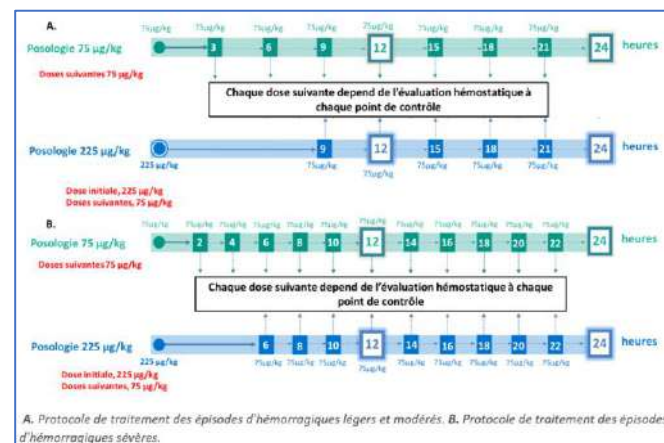


Tableau 1

	Articulations cibles		Articulations non-cibles		
	75 µg/kg (N=14, EH=77)	225 µg/kg (N=12, EH=58)	75 µg/kg (N=22, EH=137)	225 µg/kg (N=23, EH=124)	
12 heures	Nombre (%) de succès	58 (75,3%)	49 (84,5%)	114 (83,2%)	116 (93,5%)
	Nombre (%) d'échecs / réponses manquantes	13 (16,9%) / 6 (7,8%)	4 (6,9%) / 5 (8,6%)	19 (13,9%) / 4 (2,9%)	6 (4,8%) / 2 (1,6%)
	Proportion de succès [IC 95%]	81,7% [62,6%, 100%]	92,5% [82,4%, 100%]	85,7% [74,6%, 96,8%]	95,1% [90,3%, 99,9%]
	p-valeur	0,013		0,009	
		NS		NS	
24 heures	Nombre (%) de succès	71 (92,2%)	52 (89,7%)	131 (95,6%)	120 (96,8%)
	Nombre (%) d'échecs / réponses manquantes	2 (2,6%) / 4 (5,2%)	0 (0,0%) / 6 (10,3%)	5 (3,6%) / 4 (3,2%)	0 (0,0%) / 4 (3,2%)
	Proportion de succès [IC 95%]	97,3% [93,6%, 100%]	100% [100%, 100%]	96,3% [91,1%, 100%]	100% [100%, 100%]
	p-valeur	NS		NS	
		NS		NS	

*Proportion d'épisodes hémorragiques légers ou modérés survenus dans les articulations cibles et non-cibles, traités avec succès à 12 et 24h après la perfusion initiale d'eptacog beta pour les RDI de 75 et 225µg/kg (étude PERSEPT 1). Le nombre d'épisodes hémorragiques pour chaque sous-groupe est indiqué. P-valeur : comparaison des proportions de succès dans le traitement des EHs articulaires cibles et non-cibles pour les deux RDI, à 12 et 24h. Une différence statistiquement significative est observée si p<0,05.*

*EH, épisodes hémorragiques ; IC, Intervalle de confiance ; NS, non significatif.*

### P 064 - Expérience française en vie réelle évaluant l'efficacité et la tolérance d'un concentré VWF/FVIII en chirurgie

B. Guillet<sup>1</sup>, V. Proulle<sup>2</sup>, A. Fournel<sup>3</sup>, S. Castet<sup>4</sup>, L. Rugeri<sup>5</sup>, A. Harroche<sup>6</sup>, E. De Raucourt<sup>7</sup>, R. D'Oiron<sup>8</sup>, D. Desprez<sup>9</sup>, A. Hassoun<sup>10</sup>, B. Pan-Petes<sup>11</sup>, Y. Repessé<sup>12</sup>, N. Itzhar-Baikian<sup>13</sup>, P. Chamouni<sup>14</sup>, B. Frotscher<sup>15</sup>, H. Catovic<sup>16</sup>, C. Martin<sup>16</sup>, M. Trossaert<sup>17</sup>

- <sup>1</sup>CRC-MHC, CHU de Rennes-Hôpital de Pontchaillou ; Université de Rennes, CHU de Rennes, Inserm, Ehesp, Irset-UMR\_S 1085 - Rennes (France),
- <sup>2</sup>Service d'hématologie Biologique et Unité Fonctionnelle d'hémostase, Hôpital Cochin, AP-HP ; Inserm UMR 1138, Centre de Recherche des Cordeliers, CNRS, Université Paris Cité - Paris (France),
- <sup>3</sup>CRC-MHC, Hôpital Jean Minjot - Besançon (France),
- <sup>4</sup>CRC-MHC, Hôpital Pellegrin - Bordeaux (France),
- <sup>5</sup>CRH, CRC-MHC, Unité d'hémostase Clinique-Hôpital Louis Pradel - Lyon (France),
- <sup>6</sup>CRC-MHC, Département d'hématologie-Hôpital Necker Enfants Malades - Paris (France),
- <sup>7</sup>Service d'hématologie Biologique, Hôpital Beaujon, Paris ; CRC-MHC, CH de Versailles, Hôpital Mignot - Le Chesnay (France),
- <sup>8</sup>CRH, CRC-MHC, Hôpital Bicêtre, AP-HP, Université Paris-Saclay ; Hith, UMR\_S1176, Inserm, Université Paris-Saclay - Le Kremlin Bicêtre (France),
- <sup>9</sup>CRC-MHC, CHU de Strasbourg - Hôpital de Hautepierre - Strasbourg (France),
- <sup>10</sup>CT-MHC, Hôpital Simone Veil, GH Eaubonne-Montmorency - Eaubonne (France),
- <sup>11</sup>CRC-MHC, CHRU Brest Morvan - Brest (France),
- <sup>12</sup>Hématologie Biologique et CRC-MHC, Centre Hospitalier Universitaire de Caen - Caen (France),
- <sup>13</sup>Service d'hématologie Biologique, CRMR Maladie de Willebrand, GH Nord Université Paris Cité, Hôpital Lariboisière - Paris (France),
- <sup>14</sup>CRC-MHC, Service d'hématologie Biologique – CHU Charles Nicolle - Rouen (France),
- <sup>15</sup>CRC-MHC, CHRU de Nancy – Hôpital Brabois - Nancy (France),
- <sup>16</sup>CSL Behring - Paris (France),
- <sup>17</sup>CRH, CRC-MHC, CHU Hôtel-Dieu - Nantes (France)

**Introduction :** L'étude OPALE est une étude observationnelle française évaluant l'utilisation en conditions réelles d'un concentré de facteur Willebrand (VWF)/facteur VIII (FVIII) humain (ratio 2,4:1 ; Voncento®) pour prévenir et traiter les épisodes hémorragiques chez les patients atteints de maladie de Willebrand héréditaire (VWD).

L'objectif est d'évaluer l'efficacité et la sécurité du concentré Voncento® dans un contexte chirurgical.

**Matériels et Méthodes :** Les données ont été recueillies entre mai 2016 et décembre 2022 auprès de patients traités par Voncento® dans le cadre de prises en charge chirurgicales, dans 16 centres français. Toutes les données sont présentées sous forme de médiane (Q1-Q3). Les dosages de VWF sont exprimés en UI VWF:RCo.

**Résultats :** Un total de 165 patients a été inclus dans l'étude OPALE. Parmi ces patients, 103 (62%) ont eu une chirurgie, dont 65% de femmes (67/103). L'âge médian (min-max) était de 45 (3-86) ans, incluant 13 enfants. La majorité des patients (61/103, 57%) avait une VWD de type 2, 32 % de type 1 et 10 % de type 3. Au total, 168 chirurgies ont été réalisées avec Voncento® dont 111 (66%) à risque hémorragique mineur et 57 (34%) à risque majeur.

Les chirurgies à risque mineur étaient des chirurgies dentaires (32%), digestives (23%) ou ORL (10%). Les taux de VWF et FVIII préopératoires étaient respectivement de 15 (11-32) et 35 (25-60) UI/dL. La dose totale de Voncento® préopératoire était de 44 (35-56) UI VWF/kg, permettant d'obtenir des taux de VWF et FVIII au pic respectivement de 81 (67-103) et 90 (69-104) UI/dL. La consommation totale de Voncento® était de 82 (42-144) UI VWF/kg, répartie sur une durée d'hospitalisation de 1 (0-2) jour, durant laquelle les taux de FVIII médian post-opératoires sont toujours restés <200 UI/dL.

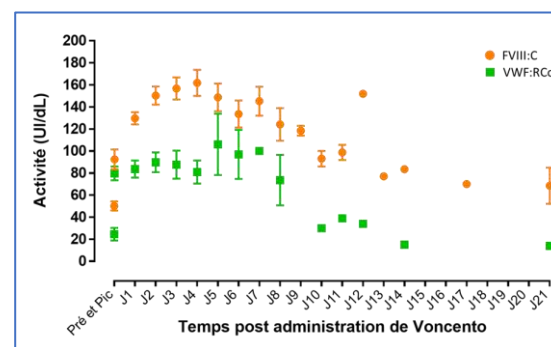
Les chirurgies majeures comprenaient des chirurgies orthopédiques (42%), gynécologiques (18%) et urologiques (12%). Avant la chirurgie, les taux de VWF et FVIII préopératoires étaient respectivement de 16 (10-24) et 43 (35-57) UI/dL. La dose totale de Voncento® préopératoire était de 46 (40-56) UI VWF/kg, permettant d'obtenir des taux de VWF et FVIII au pic respectivement de 78 (61-91) et 79 (66-94) UI/dL. La consommation totale de Voncento® était de 180 (89-284) UI VWF/kg, répartie sur une durée d'hospitalisation de 5 (3-7) jours, durant laquelle aucun des taux de FVIII post-opératoires n'a

dépassé 200 UI/dL avec des taux médians de FVIII restant toujours <170 UI/dL (Figure 1).

L'efficacité de Voncento® a été évaluée par les investigateurs comme « excellente » ou « bonne » dans 97% des cas. La tolérance a été évaluée comme « bonne » dans 98% des cas, avec un total de 6 événements indésirables déclarés dont aucun n'a été imputé à Voncento®.

**Conclusion :** Cette nouvelle analyse intermédiaire confirme l'efficacité et la bonne tolérance de Voncento® dans la prévention des saignements chirurgicaux en cas de chirurgie à risque mineur ou majeur, chez l'adulte et l'enfant, quel que soit le type de VWD.

Suivi du taux de VWF:RCo et FVIII:C



**P 065 - Hémophilie A Acquisée, le traitement par Emicizumab peut relayer les agents by-passant : à propos d'un cas**

I. Martin Toutain<sup>1</sup>, A. Launois<sup>2</sup>, F. Devaux<sup>2</sup>, J. Lambert<sup>3</sup>, T. Longval<sup>3</sup>, F. Mérabet<sup>3</sup>, R. Jaidi<sup>3</sup>, S. Le Doré<sup>1</sup>, E. Ferré<sup>1</sup>, E. De Raucourt<sup>1</sup>, C. Flaujac<sup>2</sup>

- <sup>1</sup>Centre de Ressources et Compétences Maladies Hémorragiques, Centre Hospitalier de Versailles. - Le Chesnay (France),
- <sup>2</sup>Laboratoire de Biologie Médicale, Secteur Hémostase, Centre Hospitalier de Versailles. - Le Chesnay (France),
- <sup>3</sup>Service d'hématologie Clinique, Centre Hospitalier de Versailles. - Le Chesnay (France)

**Introduction :** L'hémophilie A acquise (AHA) est une maladie auto-immune rare et grave causée par des autoanticorps anti-facteur VIII (FVIII). En cas de manifestations hémorragiques sévères, un traitement hémostatique doit être débuté en urgence par des agents by-passant. Récemment, des études cliniques ont suggéré que l'emicizumab, un anticorps bispécifique mimant l'action du FVIII, pourrait être un traitement hémostatique alternatif dans les AHAs. Nous rapportons ici un cas d'AHA traité par emicizumab ainsi que son suivi biologique.

**Matériels et Méthodes :** Un patient de 78 ans, avec un lymphome lymphocytaire est adressé aux urgences pour un hématome spontané du psoas et une anémie symptomatique. Le patient n'a pas d'antécédent hémorragique connu. À l'admission, le bilan montre un TCK isolément allongé avec un déficit en FVIII <1%. Le titre d'anti-FVIII est élevé à 246 UB/mL. Un traitement hémostatique par du facteur VII recombinant (rFVIIa) est instauré ainsi qu'un traitement immunosuppresseur par corticoïdes et rituximab. Cinq semaines plus tard, le FVIII est toujours indétectable et l'anti-FVIII est à 120 UB/mL. Les saignements récidivent à chaque tentative d'arrêt du rFVIIa. Nous décidons d'arrêter le rFVIIa et de débuter l'emicizumab à la dose hebdomadaire de 3 mg/kg, hebdomadaire pour 5 doses consécutives.

Avant l'introduction de l'emicizumab, l'activité de FVIII est mesurée par un test chromométrique avec le réactif Actin FS® sur ATELLICA



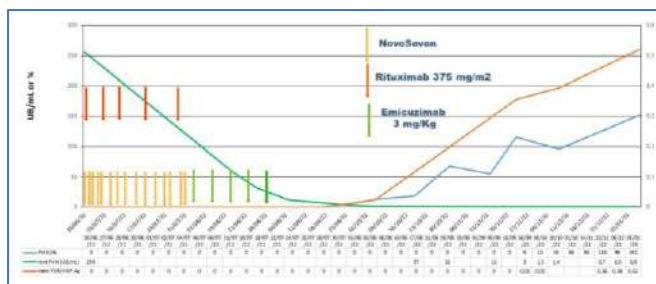
COAG 360 (Siemens) ainsi qu'en parallèle par méthode chromogénique (réactif Siemens) sur STAR MAX (Stago). Le titrage de l'anti-FVIII est effectué avec la méthode Bethesda modifiée. Après l'introduction de l'emicizumab, le FVIII et le titrage de l'anti-FVIII sont uniquement dosés par la méthode chromogénique. La concentration spécifique de l'emicizumab ( $\mu\text{g/ml}$ ) est mesurée avec le réactif CK-Prest® (Stago) et le calibrateur spécifique (r2diagnostics) sur un STAR MAX.

**Résultats** : Dès la première dose d'emicizumab, le TCA s'est normalisé et nous avons obtenu un arrêt du syndrome hémorragique. Le patient a pu sortir de l'hôpital. Deux semaines plus tard, il a présenté une pneumonie sévère à pneumocystose nécessitant une réhospitalisation. Une fibroscopie bronchique a pu être réalisée sans adjonction d'un autre agent hémostatique et sans complication hémorragique, bien que le FVIII soit toujours indétectable.

Seize semaines après le début du traitement par immunosuppresseur, le taux de FVIII a commencé à augmenter. Six mois après l'instauration de l'emicizumab, celui-ci est toujours détectable à 12 ng/mL (après déduction de l'interférence du FVIII), le FVIII est à 88%, le ratio FVIII/FvW:Ag à 0.37 et l'anti-FVIII à 0.5 UB/mL (figure 1).

**Conclusion** : L'emicizumab est donc une alternative intéressante dans la prise en charge de l'AHA avec l'avantage d'être un traitement sous-cutané. Il a permis la réalisation d'une procédure invasive et un retour à domicile. Il pourrait également réduire les effets secondaires du traitement immunosuppresseur comme la morbidité et la mortalité élevées.

Evolution des paramètres



**P 066 - A National Analysis of von Willebrand Disease in France: Preliminary results on replacement treatment patterns from the FORvWARD study**

C. Biron Andréani<sup>1</sup>, M. Trossaert<sup>2</sup>, C. Marant Micallef<sup>3</sup>, V. Nerich<sup>4</sup>, C. Lefèvre<sup>5</sup>, M. Née<sup>3</sup>, M. Belhassen<sup>3</sup>, F. Favre-Besse<sup>5</sup>, C. Chatelanaz<sup>5</sup>, G. De Pourville<sup>6</sup>, J. Beoletto<sup>5</sup>, B. Polack<sup>7</sup>

<sup>1</sup>CHU Montpellier - Montpellier (France),  
<sup>2</sup>CHU Nantes - Nantes (France),  
<sup>3</sup>Pelyon - Lyon (France),  
<sup>4</sup>CHU Besançon - Besançon (France),  
<sup>5</sup>Takeda France SAS - Paris (France),  
<sup>6</sup>Essec Business School - Cergy-Pontoise (France),  
<sup>7</sup>Timc Laboratory, CNRS - Grenoble (France)

**Introduction** : Von Willebrand disease (VWD) is a genetic disorder caused by missing or defective von Willebrand factor (VWF), inducing increased risk of bleeding. Replacement treatments (RT), i.e., treatments containing VWF +/- factor VIII, are key in VWD management. The FORvWARD study aims to describe treatment patterns, healthcare resource use (HRU) and costs in VWD treated patients France. Here, we focus on the first part of the study, which aims to develop an algorithm to identify patterns of RT use, i.e. to distinguish regular from occasional VWF users.

**Matériels et Méthodes** : Using the French national healthcare claims database (SNDS), this study included patients with at least one reimbursement for a RT between 2017/01/01 and 2021/09/30. Patients with hemophilia diagnoses but no VWD diagnoses were excluded. The index date was the first evidence of a RT in the database during the inclusion period. Patients were followed-up from index date until the end of the study period (2021/12/31), lost to follow-up, or death. Descriptive statistics were used to describe patient and treatment characteristics (age, gender, first reimbursed treatment, number of patients with at least one out-of-hospital/in-hospital RT dispensing); for each type of dispensing e.g.: number of dispensings, time between two dispensings, proportion of days covered by RT over the follow-up period, dose (IU) per patient.

**Résultats** : A total of 3,354 patients with at least one delivery of RT were identified, with a median follow-up time of 2.7 years. Median age was 45 years, with 55% of patients being females. Among them, 30% had at least one out-of-hospital RT dispensing (median: 0.8/year), and 93% at least one in-hospital RT dispensing (median: 0.6/year); 23% had at least one dispensing of each type. Based on Willebrand French treatment guidelines (PNDS), we assumed that regular users were defined by 1) presence of at least one out-of-hospital dispensing, and 2) at least 80% of days covered by over a follow-up period of at least one year. This allowed to the identification of 63 patients (1.9% of the study population) with regular treatment. These patients had a median of 99.9% of days covered by RT, with an annual median number of out-of-hospital dispensing of 12.2, and 28.8 days between two dispensing; 84.1% had at least one in-hospital dispensing over their follow-up; their median annual dose was 337,470 IU per patient. By exclusion, 3,291 patients were identified as RT occasional users. Occasional users had a median of 0.8% of days covered by RT, with an annual median number of in-hospital administrations of 1.1, a median annual dose of 4,509 IU per patient; and 28.7% of them had at least one out-hospital dispensing over the follow-up.

**Conclusion** : These first results of this large-scale real-world evidence study in a treated population with VWD allowed for the identification of detailed patterns of RT use. This is a key step before conducting further HRU/cost analysis within this treated patient population. The elaborated algorithm to identify occasional and regular VWF users allowed to identify two different profiles of users and could be valuable for future studies.

**P 067 - Le PAI-1, inhibiteur de type 1 des activateurs du plasminogène, un marqueur précoce de la sévérité du COVID-19 chez les patients avec un score Fib-4 élevé : étude d'une cohorte de 1 178 patients**

A. Dupont<sup>1</sup>, M. Rosa<sup>1</sup>, C. Martin<sup>2</sup>, C. Kitel<sup>1</sup>, J. Labreuche<sup>2</sup>, A. Rauch<sup>1</sup>, E. Vallez<sup>1</sup>, D. Garrigue<sup>3</sup>, J. Poissy<sup>4</sup>, E. Kipnis<sup>5</sup>, D. Dombrowicz<sup>1</sup>, A. Tailleux<sup>1</sup>, B. Staels<sup>1</sup>, S. Susen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1011-Egid - Lille (France),  
<sup>2</sup>Univ. Lille, CHU Lille, ULR 2694-Metrics : Évaluation des Technologies de Santé et des Pratiques Médicales - Lille (France),  
<sup>3</sup>CHU Lille, Surgical Critical Care, Department of Anesthesiology and Critical Care - Lille (France),  
<sup>4</sup>Univ. Lille, Inserm U1285, CHU Lille, CNRS, UMR 8576-UGSF-Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle - Lille (France),  
<sup>5</sup>Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019-Umr 9017-CIL- Center for Infection and Immunity of Lille - Lille (France)

**Introduction** : L'infection à SARS-CoV-2 peut rapidement évoluer vers une forme sévère mettant en jeu le pronostic vital. L'identification précoce des patients à haut risque de COVID-19 défavorable est un enjeu majeur pour optimiser la prise en charge des patients. Le score FIB-4, test simple pour prédire la fibrose dans

les maladies hépatiques, semble significativement associé à la sévérité du COVID-19, indépendamment d'une maladie hépatique préexistante. L'objectif de cette étude est d'identifier, à l'admission à l'hôpital, dans une large cohorte et selon le score Fib-4, les facteurs circulants liés à l'inflammation, l'endothéliopathie, l'hépatopathie et une dyslipidémie associée aux formes sévères du COVID-19.

**Matériels et Méthodes :** Nous avons inclus de façon consécutive les patients avec un diagnostic de COVID-19 admis aux urgences du CHU de Lille entre le 5 mars 2020 et le 28 février 2021. Les marqueurs circulants d'inflammation, d'endothéliopathie, d'hépatopathie et de dyslipidémie ont été dosés dans des échantillons plasmatiques prélevés à l'admission. Le score Fib-4 a été calculé à l'admission selon la formule (âge (années) × ASAT (U/L)/plaquettes (PLT) (109/L) × vALAT (U/L)). L'infection sévère a été définie par un critère composite incluant le décès et/ou le transfert en réanimation dans les 28 jours suivant l'admission à l'hôpital.

**Résultats :** Au total, 1 178 patients ont été inclus (57% d'hommes, âge moyen : 59,7 ans). L'évolution vers une forme sévère a concerné 412 patients (35%). Trois cent six patients (26%) avaient un score Fib-4 élevé (> 3,25) et 422 patients (36%) un score Fib-4 bas (<1,45). Les patients avec un score Fib-4 élevé présentaient un risque plus élevé de développer une forme sévère de la COVID-19 par rapport aux patients avec un score Fib-4 bas (41 versus 17 %, p<0,0001). Après ajustement sur l'âge, le sexe, l'indice de masse corporelle, le diabète et l'hypertension, chez les patients avec un score Fib-4 élevé, la sévérité du COVID-19 était associée à des facteurs d'inflammation (interleukine (IL)-2RA, IL-6, TNF $\alpha$ ), d'endothéliopathie (facteur Willebrand, syndécan, antithrombine, PAI-1), de lésions hépatiques (amyloïde sérique A (SAA), ferritine, M30) et de dyslipidémie (HDL-cholestérol, LDL-cholestérol, triglycérides, apolipoprotéines D et E). Une analyse multivariée a révélé que chez ces patients, les concentrations élevées de PAI-1 (OR = 2,14 (IC95%= 1,11-4,14)) et de SAA (OR = 1,59 (IC95%= 1,08-2,34)) et les concentrations faibles d'HDL-cholestérol (OR = 0,41 (IC 95% : 0,19-0,86)) étaient des facteurs de risque indépendants de COVID-19 sévère.

**Conclusion :** Cette étude démontre dans une large cohorte de patients COVID-19 que le PAI-1, régulateur important de la fibrinolyse et des processus de fibrose et d'inflammation, pourrait aider à stratifier précocement la sévérité du COVID-19 dans une population à haut risque et être une cible utile pour de futures stratégies thérapeutiques.

## P 068 - WiSH-QoL Study: Prospective Non-Interventional Quality of Life Assessment in French Patients With von Willebrand Disease

A. Borel-Derlon<sup>1</sup>, J. Goudemand<sup>2</sup>, S. Susen<sup>2</sup>, Y. Repessé<sup>1</sup>, N. Itzhar-Baïkian<sup>3</sup>, D. Desprez<sup>4</sup>, M. Barthez-Toullec<sup>5</sup>, C. Berger<sup>6</sup>, F. Volot<sup>7</sup>, H. Chambost<sup>8</sup>, S. Bayart<sup>9</sup>, L. Ardillon<sup>10</sup>, B. Pan-Petesht<sup>11</sup>, M.H. André-Bonnet<sup>5</sup>, S. Von Mackensen<sup>12</sup>

<sup>1</sup>CHU de Caen-Centre de Traitement de l'hémophilie-CRMW - Caen (France),

<sup>2</sup>CHRU de Lille-Unité d'hématologie-CRMW - Lille (France),

<sup>3</sup>Hôpital Lariboisière-CRMW-Unité d'hématologie - Paris (France),

<sup>4</sup>Hôpital de Haute-pierre-CRTH - Strasbourg (France),

<sup>5</sup>LFB - Les Ulis (France),

<sup>6</sup>CHU de Saint Etienne - Saint-Etienne (France),

<sup>7</sup>Hôpital François Mitterrand - Dijon (France),

<sup>8</sup>Hôpital de La Timone - Marseille (France),

<sup>9</sup>Hôpital Pontchaillou - Rennes (France),

<sup>10</sup>Hôpital Trousseau-CHRU de Tours - Tours (France),

<sup>11</sup>CHU de Brest-Service d'hématologie Clinique - Brest (France),

<sup>12</sup>Université de Hambourg - Hambourg (Germany)

**Introduction :** Bleeding episodes secondary to von Willebrand disease (VWD) affect not only the patients' physical condition but also their daily lives (and their families'), as well as their psychological and emotional wellbeing. Few studies have assessed the quality of life (QoL) in these patients [1-4] and no such QoL evaluation has yet been conducted in France. The main objective was thus to analyze French VWD patients' QoL to fill this data gap and improve their medical journey.

**Matériels et Méthodes :** The study was proposed to all VWD treatment centres in France. Inclusion criteria were as follows: Male or female patients of any age, with hereditary VWD, whatever the phenotype, and for type 1 restricted to those with basal VWF:Ag < 30%.

QoL was measured twice, using both generic and specific instruments, at the inclusion and at 21-30 months, depending on the patient's follow up (no preplanned visit). Regarding generic tools, SF-36 was administered in adults, while FABEL [5] (for parents) and DISABKIDS Short Form or smiley measure [1] (child and proxy, for <4 years old (only parents), 4-7yo and 8-17yo) were used in children. Moreover, the specific VWD QoL questionnaire [6] was utilized in all aforementioned populations (child up to 4yo and proxy if minor) including the treatment satisfaction form. Analyses were performed for the global cohort and particular subgroups (type 2, type 3, gastrointestinal bleeding, hemarthrosis, menstruating teenage girls, women of childbearing potential, elderly, ongoing prophylaxis).

**Résultats :** 28 centers included 354 (median = 11 [1-56]) patients, first patient in October 2014, last patient out in May 2020. 13 patients were secondarily excluded (Inclusion criteria not met). 251 patients completed the 24-month visit. 217 patients (63.6%) were female, 224 (65.7%) adults, 69 (20.2%) type 1, 231 (67.8%) type 2, 29 (8.5%) type 3, 12 (3.5%) type unknown. 323 patients (94.7%) were on-demand and 18 (5.3%) under prophylaxis (LTP) at onset. In adults, mental/emotional health, social and physical functioning were significantly decreased vs the French general population (Figure 1). The impact was more substantial in type 3 and LTP patients in the study cohort (Table 1). Type 3 (but not LTP) patients were less satisfied with their treatment (for simplicity and burden, not for efficacy).

In children aged 8-17, total QoL score was lower in parents' assessment than in kids', physical health and impact on parents/siblings was worse in type 3 vs type 1/2, and LTP kids (3) felt more socially excluded than their peers. Treatment satisfaction was found equivalent in all groups.

In children aged 4-7, QoL was assessed as reduced by parents (but not children) in case of type 2 or LTP. Type 3 kids had a more negative perception about VWD, and LTP kids (2) reported more adverse events (but not their parents in both cases).

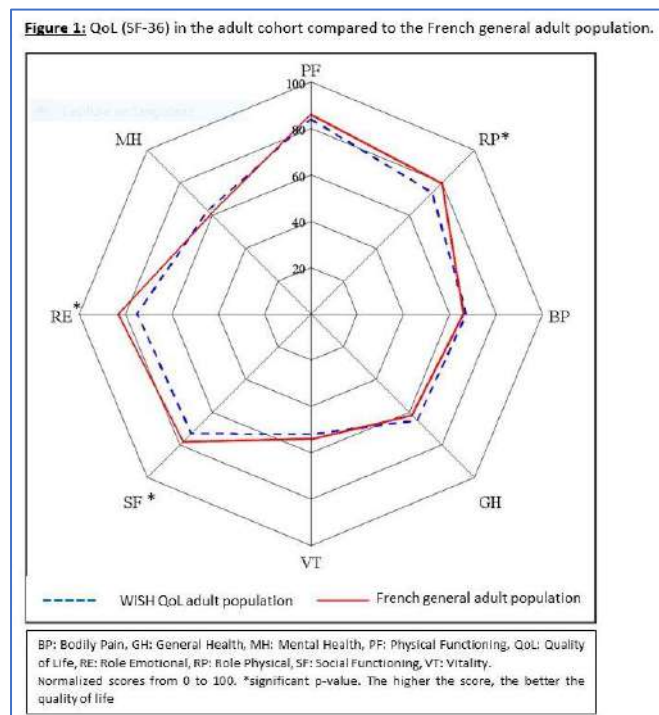
**Conclusion :** This study confirms the disease impact on QoL, regarding both mental and physical health, especially in type 3 and LTP patients.

## References

- McLaughlin JM, Munn JE, Anderson TL, et al. Predictors of quality of life among adolescents and young adults with a bleeding disorder. *Health Qual Life Outcomes*. 2017 Apr 7;15(1):67The DISABKIDS Group Europe. (2006). *The DISABKIDS questionnaires: Quality of life questionnaires for children with chronic conditions - Handbook*. Lengerich: Pabst Science Publishers.
- Rae C, Furlong W, Horsman J et al. Bleeding disorders, menorrhagia and iron deficiency: impacts on health-related quality of life. *Haemophilia*. 2013 May;19(3):385-91.
- von Galen KPM, Sanders YV, Vojinovic U et al. Joint bleeds in von Willebrand disease patients have significant impact on quality of life and joint integrity: a cross-sectional study. *Haemophilia*. 2015 May;21(3):e185-e192.

4. van Hoorn EV, Houwing ME, Al Arashi W et al. Patient-reported outcomes in autosomal inherited bleeding disorders: A systematic literature review. *Haemophilia*. 2022 Mar;28(2):197-214.
5. Ravens-Sieberer U, Morfeld M, Stein RE, et al. [The testing and validation of the German version of the impact on family scale in families with children with disabilities]. *Psychother Psychosom Med Psychol*. 2001 Sep-Oct;51(9-10):384-93.
6. Von Mackensen S. Quality of life in women with bleeding disorders. *Haemophilia*. 2011 Jul;17 Suppl 1:33-7.

**SF-36 in adults compared to the French population**



**Generic QoL scores according to age group**

**Table 1:** Generic QoL scores available at baseline according to the therapeutic strategy, phenotype and age group at study onset.

	Adults (SF36 V2)		Children and Adolescents [7-18 yo] (Disabkids)			Children [3-7 yo] (Disabkids)
	PCS*	MCS*	Physical domain**	Mental Domain**	Social Domain**	
<b>Mean (SD) [Number of patients]</b>						Composite Score
<b>Type 1</b>	51.3 (9.3) [43]	44.8 (10.9) [43]	94.9 (5.3) [9]	81.3 (20.0) [9]	85.4 (14.0) [9]	100 [1]
<b>Type 2</b>	52.8 (7.9) [120]	44.5 (10.2) [122]	81.4 (17.9) [41]	85.5 (16.7) [41]	88.1 (12.9) [41]	72.9 (13.9) [8]
<b>Type 3</b>	42.7 (14.5) [14]	42.7 (11.4) [14]	77.5 (13.7) [5] p=0.042	73.8 (29.8) [5]	86.3 (21.8) [5]	83.3 (16.7) [5]
<b>LTP at inclusion</b>	39.6 (13.4) [11] p=0.002	37.6 (11.7) [11] p=0.039	66.7 (3.6) [3]	58.3 (29.5) [3]	66.7 (15.7) [3] p=0.024	93.8 (2.9) [2]
<b>Whole population</b>	51.5 (9.2) [184]	44.4 (10.5) [186]	82.8 (17.1) [56]	83.6 (18.4) [56]	87.5 (13.6) [56]	77.6 (15.1) [16]

\* SF-36 Standardized scores, i.e. calibrated to a mean=50 ± 10: PCS (Physical Component Summary) & MCS (Mental Component Summary)  
 \*\* Disabkids: normalized scores from 0 to 100 (the higher the score is, the better the QoL)  
 LTP : Long Term Prophylaxis, QoL: Quality of Life, yo: years old

**P 069 - Ex vivo effect of hydroxyethyl starch on Covid-19 associated hypofibrinolytic state**

H. Rezigue<sup>1</sup>, C. Nougier<sup>1</sup>, Y. Dargaud<sup>1</sup>, M. Hanss<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hémostase, HCL - Lyon (France)

**Introduction :** Despite systematic thromboprophylaxis, 30% of the Covid-19 patients in intensive care units develop thrombosis. This occurrence is associated with a hypofibrinolytic state measured by thromboelastometry when adding t-PA to citrated whole blood further run for Extem® (ROTEM®). In this modified test, the clot firmness at 30 minutes can be considered as evaluating induced fibrinolysis. The noticed hypofibrinolysis is independent from the main plasma fibrinolytic components, and can point towards a fibrin defect. Because hydroxyethyl starch (HES) affect fibrin polymerization, we have assessed its potential effect on ex vivo t-PA induced fibrinolysis.

**Matériels et Méthodes :** Fifteen successive patients from the local intensive care units were selected for t-PA resistance occurrence. HES was added to whole blood samples with proportion similar to the pharmacological recommendations (28/100 vol/vol). Samples were run for Extem® on a ROTEM® delta device after further addition of t-PA. Paired controls were whole blood samples added with the same saline volume.AX.

**Résultats :** Clot firmness at 5 minutes was decreased in presence of HES (27±2.5 mm) as compared to saline (48.7±2.1), and to untreated samples (51±2.3). Comparable differences were obtained at 30 minutes (respectively 12.3±6.1, 43.8±9.8 and 56.1±8.9 mm). Statistical significance was reached for both parameters (Wilcoxon test, p<0.01 for HES vs saline, and HES vs untreated).

**Conclusion :** These results indicates that HES increased apparent ex vivo t-PA induced fibrinolysis in case of severe Covid-19 disease. A direct defective fibrin polymerization may account for this effect as well as through a decreased thrombin generation evaluated by 5 minutes clot firmness. Use of this plasma volume expander may translate as a potential help against Covid-19 induced thrombosis occurrence.

**P 073 - Management of surgeries and dental procedures in haemophilia B patients treated with gene therapy etranacogene dezaparvovec**

N. O'Connell<sup>1</sup>, P. Van Der Valk<sup>2</sup>, E. Gomez<sup>3</sup>, P.E. Monahan<sup>4</sup>, S. Le Quellec<sup>5</sup>, P. Kampmann<sup>6</sup>

- <sup>1</sup>National Coagulation Centre, St. James's Hospital - Dublin (Ireland),
- <sup>2</sup>Van Creveldkliniek, Department of Benign Hematology, University Medical Center Utrecht, Utrecht University, - Utrecht (Netherlands),
- <sup>3</sup>The Center for Inherited Blood Disorders - Orange (United States),
- <sup>4</sup>CSL Behring - King of Prussia (United States),
- <sup>5</sup>CSL Behring Europe - Hattersheim Am Main (Germany),
- <sup>6</sup>Department of Hematology, Rigshospitalet - Copenhagen (Denmark)

**Introduction :** Etranacogene dezaparvovec is a gene therapy that provides sustained near normal/normal mean factor IX (FIX) activity levels (FIX:C) over 3 years post-dosing and is efficient in preventing bleeds in people with haemophilia B (PWHB). Since gene therapy for haemophilia is an innovative treatment approach, little is known about the management of surgery, a situation that can be challenging, in this context. Here we report surgeries that were managed in the Phase 2b (NCT03489291) and Phase 3 HOPE-B (NCT03569891) trials of etranacogene dezaparvovec gene therapy.

**Matériels et Méthodes** : Adult males with severe or moderately severe haemophilia B received etranacogene dezaparavec (2x1013 gc/kg) in the phase 2b (N=3) and phase 3 HOPE-B (N=54) clinical trials. On-study dental procedures and surgeries, as well as exogenous FIX prophylaxis used to manage these procedures were collected and are reported using descriptive statistical analyses.

**Résultats** : At 3- and 2-years post-dosing of etranacogene dezaparavec in phase 2b and phase 3 HOPE-B trials, mean (SD) one-stage FIX activity levels (central lab) were sustained at 36.9 IU/dl (6.5; n=3) and 36.7 IU/dl (19.0; n=50) respectively. To date, 33/57 (58%) participants had undergone a total of 18 dental procedures and 40 surgeries; 18/40 (45%) were minor surgeries, and 22/40 (55%) were major surgeries. Major joint surgeries (ie. joint replacement) comprised just over half of major surgeries (12/22; 55%). No exogenous FIX prophylaxis was used for the perioperative management of 13/18 (72%) dental procedures (including tooth extraction/implantation), 11/18 (61%) minor surgeries, and 2/22 (9%) major surgeries. Either standard half-life or extended half-life FIX products were used in the remaining procedures; only a single dose FIX was used for 4/5 (80%) dental procedures and 6/7 (86%) minor surgeries. No safety concerns were raised; no inhibitors developed, and no thrombotic events were reported.

**Conclusion** : After administration of etranacogene dezaparavec, most participants achieved sustained FIX activity levels sufficient to undergo dental procedures and minor surgeries without the need for additional exogenous FIX. The management of surgeries post-dosing of etranacogene dezaparavec was as expected, comparable with people with mild haemophilia B, with no or low exogenous FIX consumption and no new safety concerns.

#### P 075 - Idarucizumab et échec de réversion du dabigatran : revue systématique et méta – analyse de cas

S. Melicene<sup>1</sup>, P. Billoir<sup>2</sup>, D. Faille<sup>3</sup>, N. Ajzenberg<sup>3</sup>, D.M. Smadja<sup>1</sup>, N. Gendron<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service d'hématologie Biologique, AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, F-75015 Paris (France),

<sup>2</sup>Unité d'hémostase Vasculaire, Unirouen, Inserm U1096, Normandie Univ, Hôpital Universitaire Rouen, F 76000 Rouen (France),

<sup>3</sup>Laboratoire d'hématologie, AP-HP, Hôpital Bichat Claude-Bernard, Paris (France)

**Introduction** : L'idarucizumab est un agent d'antagonisation spécifique du dabigatran indiqué chez les patients traités par dabigatran qui doivent bénéficier d'une procédure invasive urgente ou en cas de saignements graves ou incontrôlés. Bien que les résultats de l'étude REVERSE-AD aient confirmé son efficacité à antagoniser l'activité anticoagulante du dabigatran dans les 4h après administration, plusieurs échecs d'antagonisation de l'idarucizumab ont été décrits. L'objectif de cette étude est de reporter tous les cas publiés dans la littérature où l'on a pu mettre en évidence un échec de réversion complète après un traitement par idarucizumab.

**Matériels et Méthodes** : Une revue systématique de la littérature a été effectuée sur la période de janvier 2015 à décembre 2022 grâce à une recherche PubMed et sur la base des termes « dabigatran reversal ». Les critères d'inclusion comprennent notamment l'utilisation d'idarucizumab en pratique réelle, un échec de réversion après une administration d'une dose complète d'idarucizumab (2.5g x2) et la disponibilité des données clinico-biologiques individuelles. L'échec d'antagonisation par l'idarucizumab correspond à une concentration plasmatique de dabigatran supérieure à 20 ng/mL après antagonisation. Le dosage

devant être réalisé par un test de coagulation à l'écarine ou par la mesure du temps de thrombine dilué.

**Résultats** : A partir de 623 articles identifiés durant la période d'étude. Un total, de 6 articles correspondant aux critères d'inclusion pour un total de 7 patients inclus dans la méta – analyse. L'âge médian des patients étaient de 76.5 ans et tous les patients présentaient une insuffisance rénale à l'admission avec une créatininémie médiane de 354 µmol/L (151–1030). Par ailleurs, tous les patients, à l'exception d'un, avaient une concentration initiale de dabigatran supérieure à 1000 ng/mL dont le taux de dabigatran médian était de 1456 ng/mL (IQR 5th-95th 555–3337) avant antagonisation. Le délai médian entre l'administration d'idarucizumab et la mesure du dabigatran post-antagonisation était de 1.0 heure (0.75 - 16). Après réversion, la concentration médiane était de 73 ng/mL (46 – 1440) et l'ensemble des patients pour lesquels les données étaient disponibles ont présenté un rebond de concentration en dabigatran dans les 48 heures après réversion. Trois patients (42,9%) sont décédés des suites de saignements incontrôlés ou d'un choc circulatoire.

**Conclusion** : Les patients présentant un surdosage important (>1000 ng/mL) en dabigatran sont à haut risque de présenter un échec d'antagonisation par la dose standard d'idarucizumab de 2.5g x2 et une dose supplémentaire d'idarucizumab pourrait être proposée. De plus une surveillance biologique rapprochée du taux de dabigatran pourrait être nécessaire afin de surveiller le risque de rebond en dabigatran et de diminuer ainsi le risque hémorragique lié au surdosage.

#### P 076 - Modulation de la sécrétion et de la clairance du facteur Willebrand au cours de la maladie de Waldenström : rôle de l'inflammation et du statut mutationnel

A. Dupont<sup>1</sup>, E. Jeanpierre<sup>1</sup>, M. Nudel<sup>2</sup>, B. Onraed<sup>3</sup>, S. Schraen<sup>3</sup>, A. Lucas<sup>4</sup>, E. Menrath<sup>4</sup>, J.B. Weyenbergh<sup>5</sup>, C. Roumier<sup>5</sup>, A. Rauch<sup>1</sup>, M. Daniel<sup>6</sup>, S. Susen<sup>1</sup>, S. Poulain<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Univ. Lille, Inserm, Chu Lille, Institut Pasteur De Lille, U1011-Egid - Lille (France),

<sup>2</sup>Service Des Maladies Du Sang, Centre Hospitalier Universitaire De Lille - Lille (France),

<sup>3</sup>Chu Lille, Laboratoire De Biochimie, Biologie Prédictive - Lille (France),

<sup>4</sup>Chu Lille, Institut D'hématologie, Centre De Biologie Pathologie - Lille (France),

<sup>5</sup>Laboratory Of Hematology, Biology Pathology Center, Chu Of Lille, Inserm Umr-S 1177, Team 4, Cancer Research Institute, Univ. Lille - Lille (France),

<sup>6</sup>Hemostasis And Transfusion Department, Biology Pathology Center, University Hospital Of Lille - Lille (France)

**Introduction** : La maladie de Waldenström (MW) est une hémopathie lymphoïde chronique B rare qui se caractérise par la présence de la mutation MYD88L265P dans 90% des cas. Des mutations récurrentes de CXCR4 ont également été identifiées chez 20 à 30% des patients. La présence d'un syndrome inflammatoire serait associée à un pronostic péjoratif. Une dualité des profils d'expression du facteur Willebrand (VWF) a été rapportée dans la MW. En effet, une fréquence élevée de déficit acquis en VWF, parfois associé à un syndrome hémorragique, est mis en évidence dans la MW et d'autre part, des taux élevés de VWF, de pronostic défavorable, sont observés chez environ 50% des patients. L'objectif de cette étude est d'identifier les mécanismes modulant les taux de VWF dans la MW et de comprendre les liens entre le taux de VWF, le contexte inflammatoire et le statut mutationnel de la MW.

**Matériels et Méthodes** : Les taux de VWF (VWF:Ag), de propeptide du VWF (VWFpp) et de 2 protéines de l'inflammation, la CRP et l'orosomucoïde ont été dosés dans une cohorte de 51 patients

atteints de MW (33 hommes (65%), moyenne d'âge : 69 ans). Les résultats de ces dosages ont été confrontés aux données moléculaires analysées en séquençage nouvelle génération.

**Résultats :** Une grande hétérogénéité du VWF:Ag (médiane: 112 (8-358) U/dL) chez les patients avec une MW est observée. Cinq patients (10%) présentent un déficit acquis en VWF tandis que 26 (51%) ont des taux élevés de VWF:Ag (> 110U/dL). Nous observons également une grande variabilité interindividuelle du VWFpp (médiane : 79 (43-302) U/dL), reflet de la sécrétion du VWF, et du ratio VWFpp/VWF:Ag (médiane : 0,8 (0,3-5,4), reflet de la clairance du VWF. Une CRP >5 mg/L est présente chez 33 patients (64%), toutefois aucune corrélation n'est mise en évidence entre le taux de CRP et les paramètres du VWF. Par contre, 19 patients (37%) ont des taux élevés d'orosomucoïde (>1,25 g/L). De plus, les taux d'orosomucoïde sont plus élevés chez les patients avec des taux élevés de VWF:Ag et de VWFpp et chez les patients avec un ratio VWFpp/VWF:Ag diminué. Ainsi, les taux élevés d'orosomucoïde sont associés à un excès de synthèse et un défaut de clairance du VWF chez les patients avec MW. Concernant le profil mutationnel des patients, 65 ont une mutation MYD88 (90%) et 7 dans CXCR4 (16%). La présence d'une mutation dans MYD88 n'est pas associée aux paramètres du VWF explorés. En revanche, le ratio VWFpp/VWF:Ag est plus élevé chez les patients mutés CXCR4 comparés aux patients non mutés (p=0,004), ce qui est en faveur d'un excès de clairance chez les patients mutés. Aucune différence selon le statut mutationnel de CXCR4 n'est observée pour les taux de VWF:Ag et VWFpp.

**Conclusion :** Cette étude suggère que l'inflammation et le statut mutationnel CXCR4 sont associés au niveau de sécrétion et de clairance du VWF dans la MW. Des explorations complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes impliqués alors que les inhibiteurs de BTK émergent comme nouveaux standards de traitement dans la MW.

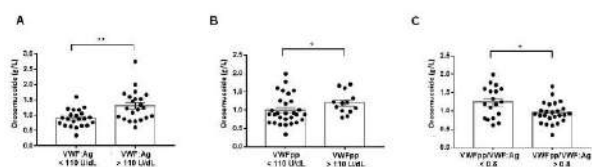


Figure : Taux d'orosomucoïde selon le A) VWF:Ag, B) VWFpp et C) ratio VWFpp/VWF:Ag dans une série de 51 patients avec MW (\*p<0,05, \*\*p<0,01).

### P078 - Grossesse et déficit constitutionnel en antithrombine

E. Peynaud-Debayle<sup>1</sup>, A. Zounmenou<sup>1</sup>, J. Debus<sup>1</sup>, B. Dumont<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service Hématologie Biologique & Transfusion, CHU Louis-Mourier, APHP Nord - Colombes (France)

**Introduction :** Le déficit constitutionnel en antithrombine (AT) est un facteur de risque majeur de maladie thromboembolique veineuse (MTEV) et présente 2 particularités : une possible résistance au traitement héparinique et l'existence d'un concentré d'AT. La grossesse (γ) pour une patiente déficitaire (♀) est une période à très haut risque de MTEV.

**Matériels et Méthodes :** Nous rapportons ici notre expérience concernant 4 patientes et 7 γ

- Patiente 1 (2 γ) : ♀ de 36 ans, déficit quantitatif (64%) découvert au décours d'une enquête familiale, sans antécédents (ATCD) personnels de MTEV. Les 2 γ sont menées sous prophylaxie HBPM dès le 1er trimestre et jusqu'à 6 semaines en post-partum (PP) sans complications thrombotiques.
- Patiente 2 (2 γ) : ♀ de 27 ans, déficit qualitatif (66%) découvert au cours d'une enquête familiale, sans ATCD personnels de

MTEV. Première γ menée avec collants de contention uniquement, sans complications. Au cours du 1er trimestre de la seconde γ, absence du port de collants de contention, thrombose veineuse profonde (TVP) traitée par HBPM curatif jusqu'à 6 semaines PP.

- Patiente 3 (2 γ) : ♀ de 25 ans, ayant présenté une embolie pulmonaire (EP) en PP d'une première γ faisant découvrir le déficit (40%). La seconde γ est menée sous HBPM curatif (Tinzaparine, 1 injection/jour, dose à 130 %/poids), accouchement par voie basse avec concentrés d'AT. La reprise du traitement anticoagulant curatif (HBPM puis AVK) est réalisée dans les 24 heures après la délivrance.
- Patiente 4 (1 γ) : ♀ de 31 ans ayant présenté une EP 10 ans auparavant (AT 55%), sous traitement AVK au long cours remplacé de façon inappropriée par Enoxaparine à dose prophylactique au début de la 1ère γ. La patiente développe une EP et TVP extensive dès le 1er trimestre, s'étendant sous HBPM curatif (Tinzaparine puis Enoxaparine en 2 injections/j) malgré l'augmentation des doses (130 %) et nécessite la perfusion répétée de concentrés d'AT pour obtenir une amélioration clinique et une activité anti-Xa (aXa) efficace. Accouchement par voie basse avec perfusion de concentrés d'AT et reprise rapide d'une héparinothérapie curative.

**Résultats :** Une prise en charge précoce et multidisciplinaire est nécessaire afin de (1) rechercher les autres facteurs de risques de thromboses, (2) caractériser le déficit pour mieux évaluer le niveau de thrombogénicité, (3) décider des modalités du traitement HBPM et du suivi au cours de la γ (posologie ? schéma en 1 ou 2 injections/jour ? dosage aXa ?) et (4) décider de la prise en charge au moment de l'accouchement (concentré d'AT ? Modalité d'arrêt de l'HBPM ? Voie basse ou césarienne ? Anesthésie péridurale autorisée ou non ?).

**Conclusion :** Les éléments à retenir : (1) une patiente sous traitement anticoagulant au long cours AVANT une γ doit bénéficier d'un traitement HBPM à dose curative PENDANT sa γ ; (2) le déficit en AT peut justifier d'une augmentation des doses curatives recommandées ; (3) une prise en charge par un médecin spécialiste de l'hémostase est recommandée dès le début de la γ ; (4) la prescription de concentrés d'AT au cours de la γ ou au moment de l'accouchement est décidée au cas par cas.

### P 079 - Interférence des molécules à activité anti-IIa : une neutralisation par le charbon est-elle possible ?

A. Dericquebourg<sup>1</sup>, H. Rezigue<sup>1</sup>, S. Trichard<sup>1</sup>, C. Nougier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service d'hématologie Biologique, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, France - Lyon (France)

**Introduction :** Les molécules à activité anti-IIa peuvent interférer sur les tests de routine (TP, TCA, dosages des facteurs). La neutralisation des AOD anti-Xa par le charbon activé est désormais bien validée, mais peu de données existent pour les molécules à activité anti-IIa (dabigatran ou argatroban) en particulier pour des taux plasmatiques élevés de médicament et pour les dosages des facteurs. Les objectifs de ce travail ont été d'évaluer les propriétés neutralisantes du charbon vis-à-vis de ces médicaments et de définir la meilleure conduite à tenir pour le dosage des facteurs (prétraitement par charbon ou dilution du plasma) pour s'affranchir de l'activité anti-IIa.

**Matériels et Méthodes :** 48 plasmas de patients traités par arganova et 13 plasmas de patients traités par dabigatran ont été testés. Le traitement par charbon a été réalisé avec le kit DOAC-Remove™ (5-Diagnostics AG) selon les instructions du fabricant données pour la neutralisation des molécules AOD anti-Xa.

De façon appariée, ont été comparé les activités anti-IIa et le dosage du facteur V (FV) avant et après traitement par charbon sur tous les plasmas. Parallèlement, le dosage du facteur V, sur des dilutions successives allant du 1/5ème au 1/80ème, a été réalisé sur ACLTOP 750 (Werfen). Les résultats ont été analysés statistiquement à l'aide du test de Wilcoxon. Une p-value < 0,05 est considérée comme significative.

**Résultats :** Concernant l'argatroban, l'activité anti-IIa moyenne avant charbon a été de 0,87 µg/mL contre 0,09 µg/mL après prétraitement par charbon. Pour le dabigatran il a été mesuré une activité anti-IIa moyenne à 272,8 ng/mL avant charbon contre < 20 ng/mL (limite de détection) après charbon.

Le pourcentage de neutralisation de l'activité anti-IIa a été de 95% en moyenne rendant significative la différence d'activité anti-IIa avant et après traitement par charbon (p<0,0001).

Les taux de facteur V avant charbon moyens étaient de 49%. Après dilution au 1/80ème, les taux moyens étaient de 58%. Après traitement par charbon, il a été retrouvé des taux moyens de facteur V à 66%. De façon systématique, le taux mesuré après charbon est supérieur à celui obtenu par dilution au 1/80ème.

Seule la dilution au 1/80ème du plasma et l'utilisation de charbon ont permis une augmentation significative du taux de FV pour tous les plasmas testés (p<0,0001). La différence entre le taux de FV obtenu sur dilution au 1/80ème et celui après traitement par le charbon est significative (p<0,0001).

**Conclusion :** L'utilisation du kit DOAC-Remove™ semble efficace pour neutraliser l'activité anti-IIa de l'argatroban et du dabigatran et permet de lever l'interférence du traitement sur les dosages des facteurs du TP. Il est toutefois conseillé de doser l'activité anti-IIa après charbon pour s'assurer de sa neutralisation correcte. Lorsqu'il n'est pas disponible, une dilution au 1/80ème du plasma pourrait être envisagée mais ne permet de lever que partiellement l'interférence.

**P 081 - Emicizumab chez les personnes avec hémophilie A modérée ou mineure sans inhibiteur : Résultats de l'analyse primaire HAVEN 6**

R. d'Oiron<sup>1</sup>, C. Hermans<sup>2</sup>, C. Negrier<sup>3</sup>, M. Lehle<sup>4</sup>, P. Chowdary<sup>5</sup>, O. Catalani<sup>4</sup>, V. Jiménez-Yuste<sup>6</sup>, B.M. Beckermann<sup>4</sup>, C. Schmitt<sup>4</sup>, G. Ventriglia<sup>4</sup>, J. Windyga<sup>7</sup>, A. Kiialainen<sup>4</sup>, P. Moorehead<sup>8</sup>, S. Koparkar<sup>9</sup>, V. Teodoro<sup>4</sup>, A.D. Shapiro<sup>10</sup>, J. Oldenburg<sup>11</sup>

<sup>1</sup>Centre d'hémophilie et des Maladies Hémostatiques Constitutionnelles Rares, AP-HP, Hôpital Bicêtre, Université Paris-Saclay et Inserm UMR S1176 - Kremlin Bicêtre (France),

<sup>2</sup>Cliniques Universitaires Saint-Luc - Bruxelles (France),

<sup>3</sup>Université Claude Bernard Lyon 1 - Lyon (France),

<sup>4</sup>F. Hoffmann-La Roche Ltd - Bâle (Switzerland),

<sup>5</sup>Kd Haemophilia and Thrombosis Centre, Royal Free Hospital - Londres (United Kingdom),

<sup>6</sup>Hospital Universitario La Paz, Autónoma University - Madrid (Spain),

<sup>7</sup>Institute of Hematology and Transfusion Medicine - Varsovie (Poland),

<sup>8</sup>Memorial University of Newfoundland - St John's, NL (Canada),

<sup>9</sup>Genentech - San Francisco, CA (United States),

<sup>10</sup>Indiana Hemophilia and Thrombosis Center - Indianapolis, IN (United States),

<sup>11</sup>University of Bonn - Bonn (Germany)

**Introduction :** Emicizumab est un anticorps monoclonal bispécifique qui se substitue au facteur (F)VIII activé manquant chez les personnes avec une hémophilie A (HA). L'analyse primaire de l'étude HAVEN6 (NCT04158648) évalue la sécurité et l'efficacité de la prophylaxie par emicizumab chez les personnes avec une HA non sévère sans inhibiteur.

**Matériels et Méthodes :** HAVEN 6 est une étude de phase III, en ouvert, évaluant emicizumab chez les personnes avec une HA modérée ou mineure sans inhibiteur du FVIII qui requièrent une

prophylaxie selon l'évaluation de l'investigateur. Le consentement éclairé et l'approbation éthique ont été obtenus. Les participants ont reçu emicizumab par voie sous-cutanée à raison de 3 mg/kg par semaine pendant 4 semaines, puis 1,5 mg/kg par semaine, 3 mg/kg toutes les 2 semaines ou 6 mg/kg toutes les 4 semaines. Les critères d'évaluation de la tolérance comprennent les événements indésirables (EI), les EI graves et les EI d'intérêt particulier, notamment les événements thromboemboliques (ET) et les microangiopathies thrombotiques (MAT). Les critères d'efficacité comprennent les estimations par régression binomiale négative des taux annualisés de saignements (ABRs).

**Résultats :** Au 30 octobre 2021, 72 participants (70,8% [n=51] HA modérés ; 29,2% [n=21] HA mineurs ; 95,8% [n=69] hommes ; 4,2% [n=3] femmes) ont reçu emicizumab. Le suivi médian était de 55,6 semaines. À l'inclusion, 37 participants (51,4 %) étaient sous prophylaxie FVIII ; 24 (33,3 %) avaient des articulations cibles. Dans les 24 semaines avant l'entrée dans l'étude, les participants avaient eu une médiane (min-max) de 2,0 (0-96) saignements et un ABR estimé (IC 95 %) de 10,1 (6,93-14,76). Soixante participants (83,3 %) ont présenté ≥1 EI et 15 (20,8 %) ont présenté ≥1 EI lié à emicizumab ; aucun EI n'a conduit à un retrait de consentement ou modification/arrêt de traitement (tableau 1). Dix EI graves ont été rapportés pour huit participants (11,1 %), aucun lié à emicizumab. Il n'y a pas eu de décès ni de MAT. Un participant a présenté une hémorroïde thrombosée de grade 1 non liée à emicizumab, classée comme un ET. Les ABRs estimés (IC 95 %) étaient de 0,9 (0,55-1,52) pour les saignements traités et de 2,3 (1,67-3,12) pour tous les saignements (tableau 2). Quarante-huit participants (66,7 %) n'ont eu aucun saignement traité.

**Conclusion :** Ces données montrent une bonne efficacité et un profil de tolérance favorable d'emicizumab chez les personnes avec une HA non sévère sans inhibiteur du FVIII qui requièrent une prophylaxie.

**Tableau 1 : Synthèse des données de tolérance**

Tableau 1. Synthèse des données de tolérance	
EI	Participants (N=72)
Nombre total d'EI, n	248
Participants avec ≥1 EI, n (%)	
Tout EI	60 (83,3)
EI avec une issue fatale	0 (0)
EI conduisant au retrait du consentement/sortie de l'étude	0 (0)
EI conduisant à une modification/interruption du traitement	0 (0)
EI de Grade ≥3	4 (5,6)
EI lié au traitement*	15 (20,8)
Réaction au site d'injection	12 (16,7)
Nombre total d'EI graves† n	10
Participants avec ≥1 EI grave, n (%)	8 (11,1)
EI d'intérêt particulier, n (%)	
Hypersensibilité systémique/ réaction anaphylactique/ anaphylactoïde	0 (0)
Événement thromboembolique‡	1 (1,4)
Microangiopathie thrombotique	0 (0)

Date de cut-off: 30 octobre, 2021. Suivi médian (min-max) : 55,6 (8,7-89,9) semaines.  
 \*La majorité des EI liés au traitement étaient des réactions au site d'injection. †Les EI graves comprennent un cas chacun de COVID-19, diverticulite, dyspnée, commotion, contusion, corps étranger dans le tractus gastro-intestinal, douleur abdominale, syndrome de Mallory-Weiss, hyperglycémie et colique néphrétique. ‡Un cas d'hémorroïde thrombosée de grade 1, classé comme un ET selon le système MedDRA.  
 EI, événement indésirable.

**Tableau 2 : Synthèse des données d'efficacité\***

	Participants traités (N=72)				Tous saignements
	Saignements traités	Saignements articulaires traités	Saignements spontanés traités	Saignements des articulations cibles traités	
ABR moyen estimé (IC 95%)	0,9 (0,55-1,52)	0,2 (0,00-0,57)	0,2 (0,11-0,33)	0,1 (0,00-0,40)	2,3 (1,67-3,12)
ABR moyen calculé (IC 95%)	0,9 (0,62-1,48)	0,2 (0,00-0,41)	0,3 (0,00-0,75)	0,1 (0,00-0,39)	2,3 (0,35-7,75)
ABR médian calculé (IQR)	0,0 (0,00-0,98)	0,0 (0,00-0,00)	0,0 (0,00-0,00)	0,0 (0,00-0,00)	1,0 (0,00-3,11)
ABR calculé, min-max	0,00-7,05	0,00-3,03	0,00-0,05	0,00-3,21	0,00-21,04
Participants avec 0 saignement, n (%) †	46 (66,7)	64 (88,9)	59 (81,9)	58 (84,4)	24 (33,3)

Date de cut-off: 30 octobre 2021. Suivi médian (min-max) : 55,6 (8,7-89,9) semaines.  
 \* Un participant (1,4 %) a eu <24 semaines de suivi, et 57 participants (79,2 %) ont eu ≥52 semaines de suivi. †En comparaison, lors de l'analyse intermédiaire (date médiane de suivi de 27,5 semaines), les participants ayant eu de saignements élaient : saignements traités 80,3 % (n=57) ; tous les saignements 40,5 % (n=31) ; saignements articulaires traités 90,1 % (n=64) ; saignements spontanés traités 55,6 % (n=69) ; saignements articulations cibles traités 94,4 % (n=67) ; Stables, et al. Blood (2021) 138 (Suppl. 1) : 343J.  
 ABR, taux annualisé de saignement ; IC, intervalle de confiance ; IQR, intervalle interquartile.

## P 082 - Le risque thrombotique dans le syndrome néphrotique de l'enfant en Abidjan : aspects biologiques

A. N'draman Épouse Donou<sup>1</sup>, A.R. N'guessan-Blao<sup>2</sup>, A.E. Adjambri<sup>3</sup>, T. Kamagaté<sup>4</sup>, M. Yayo-Ayé<sup>5</sup>, H. Kassi-Kablan<sup>5</sup>, M. Sangaré-Bamba<sup>6</sup>, E. Bouah-Kamon<sup>7</sup>, M. Ehilé-Kacou<sup>7</sup>, G. Diarrassouba<sup>7</sup>, E. Lasme-Guillao<sup>8</sup>, D. Sawadogo<sup>9</sup>

<sup>1</sup>Maître Assistant en Hématologie au Département d'hématologie-Immunologie-Biologie Générale, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, UFHB, Cocody et Pharmacien Biologiste à l'Unité de Néphrologie Pédiatrique, Centre Hospitalier et Universitaire de Yopougon - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>2</sup>Maître Assistant en Hématologie au Département d'hématologie-Immunologie-Biologie Générale, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, UFHB, Cocody et Pharmacien Biologiste au laboratoire de l'INSP d'Adjamé - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>3</sup>Maître de Conférences Agrégé en Hématologie au Département d'hématologie-Immunologie-Biologie Générale, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, UFHB, Cocody et Pharmacien Biologiste au Laboratoire Longchamps du Plateau - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>4</sup>Assistant Chef de Clinique en Hématologie au Département d'hématologie-Immunologie-Biologie Générale, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, UFHB, Cocody - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>5</sup>Maître Assistant en Hématologie au Département d'hématologie-Immunologie-Biologie Générale, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, UFHB, Cocody - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>6</sup>Maître de Conférences Agrégé en Hématologie au Département d'hématologie-Immunologie-Biologie Générale, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, UFHB, Cocody - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>7</sup>Assistant Chef de Clinique à l'Unité de Néphrologie Pédiatrique, Centre Hospitalier et Universitaire de Yopougon - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>8</sup>Maître de Conférences Agrégé en Pédiatrie à l'Unité de Néphrologie Pédiatrique, Centre Hospitalier et Universitaire de Yopougon - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>9</sup>Professeur Titulaire en Hématologie au Département d'hématologie-Immunologie-Biologie Générale, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, UFHB, Cocody - Abidjan (Côte d'Ivoire)

**Introduction :** Le syndrome néphrotique (SN) peut se compliquer d'une thrombose. Aucune étude n'a été menée en Côte d'Ivoire pour évaluer ce risque thrombotique chez l'enfant.

**Objectif :** évaluer le risque thrombotique de l'enfant atteint de SN à l'unité de néphrologie pédiatrique (UNP) du Centre Hospitalier et Universitaire (CHU) de Yopougon.

**Matériels et Méthodes :** Nous avons réalisé une étude transversale qui s'est déroulée à l'UNP du CHU de Yopougon de Janvier 2021 à Avril 2022 sur des enfants de 1 à 180 mois, atteints de SN. Le protocole de recherche de cette étude a bénéficié de l'autorisation du Comité National d'Éthique des Sciences de la Vie et de la Santé (CNESVS) de Côte d'Ivoire. Des prélèvements sanguins ont été réalisés sur tubes à bouchon rouge, bleu et violet pour chaque enfant. L'hémogramme a été réalisé sur le Sysmex XT 2000i. L'albuminémie a été déterminée grâce au Cobas C311. Le fibrinogène, les d-dimères et l'antithrombine III (ATIII) ont été dosés sur le Sysmex CS1600. Le risque thrombotique était défini devant une hyperplaquetose > 500 000/mm<sup>3</sup>, une albuminémie <20g/l, une fibrinémie > 6g/l, des d-dimères >1000ng/ml ou l'ATIII <70%.

**Résultats :** Sur 52 patients colligés, une prédominance masculine a été notée avec un sex-ratio de 1,7. Les enfants de 60-119 mois étaient les plus nombreux (42,31%). Les signes fonctionnels non spécifiques de thrombose étaient représentés par le visage bouffi avec 44,23% et la prise de poids avec 15,38%. Un seul enfant (1,92%) a présenté des signes fonctionnels spécifiques de thrombose. Les signes physiques lors de la consultation étaient majorés par les œdèmes au visage chez 44,23% des enfants et des œdèmes des membres inférieurs chez 40,38%. Une hyperplaquetose a été retrouvée chez 14(26,92%). Une hypoalbuminémie <20g/l, une hyperfibrinémie > 6g/l, des d-

dimères >1000ng/ml et un déficit en ATIII (<70%) ont été retrouvés respectivement chez 14(26,92%), 19(36,54%), 17(32,69%) et 11(21,15%) enfants. Ces différentes perturbations étaient toutes présentes chez 8(15,38%) enfants et parmi ceux-ci 6(75%) avaient une albuminémie <15g/l. Il existe une corrélation positive entre l'albuminémie <20 g/l et les autres paramètres permettant d'évaluer le risque thrombotique.

**Conclusion :** Il existe un risque de thrombose chez l'enfant atteint de SN qui doit être recherché systématiquement devant une albuminémie < 20g/l.

## P 083 - Première évaluation externe avec 5B9 de la qualité des tests fonctionnels de diagnostic de TIH : Etude pilote franco-belge

J. Rollin<sup>1</sup>, C. Vayne<sup>1</sup>, A. Carlo<sup>2</sup>, Y. Gruel<sup>1</sup>, C. Pouplard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hémostase CHU Tours - Tours (France),

<sup>2</sup>Stago - Asnières-Sur-Seine (France)

**Introduction :** Le diagnostic biologique des thrombopénies induites par l'héparine (TIH) repose sur 2 types de tests, immunologiques qui détectent les anticorps anti-PF4 et fonctionnels qui démontrent l'aptitude de ces Ac à activer les plaquettes en présence d'héparine. Ces tests fonctionnels sont très différents en termes de méthodes utilisées, de sensibilité/spécificité, et sont peu standardisés, reposant fréquemment sur des techniques « maison ». La qualité et la sécurité des résultats obtenus sont toutefois essentielles pour garantir une prise en charge adéquate des patients et un contrôle externe de qualité (EEQ) pourrait nous permettre de s'assurer de leur validité. Notre objectif a donc été avec la société STAGO dans le cadre d'une étude multicentrique d'évaluer en vie réelle l'utilisation comme EEQ de 5B9, anticorps monoclonal chimérique (IgG) anti-FP4 modifié avec un fragment Fc humain, pour la réalisation des tests fonctionnels de diagnostic de TIH.

**Matériels et Méthodes :** L'anticorps 5B9 a été ajouté à du plasma citraté normal à deux concentrations (10 et 400 µg/ml). Les échantillons ont été lyophilisés et distribués à 19 laboratoires en France et en Belgique via le programme EEQ Qualiris (Stago). Chaque centre a reçu 4 flacons anonymisés EEQ1 et EEQ4 avec 10µg/mL de 5B9 (contrôle négatif), EEQ2 et EEQ3 avec 5B9 400µg/mL (contrôle positif). Deux campagnes distinctes évaluant EEQ1 et EEQ2, puis EEQ3 et EEQ4 ont été réalisées. Les résultats, y compris les détails sur les méthodologies utilisées, ont été soumis par voie électronique sur la plateforme Qualiris.

**Résultats :** Les méthodes d'agrégation plaquettaire (TAP) sur plasma riche en plaquettes (PRP), d'impédancemétrie en sang total (HIMEA), de cytométrie en flux sur plaquettes lavées (CMF), d'agrégation sur plaquettes lavées (HIPA) et de libération de sérotonine radiomarquée ont été réalisées respectivement dans 16, 1, 1, 1 et 2 centres. A noter que 2 centres ont réalisé 2 techniques différentes (SRA + TAP ou SRA + CMF). Les résultats globaux sont présentés dans la table 1.

Comme attendu, les résultats des EEQ 2 et EEQ 3 étaient positifs dans respectivement 85 et 100% des cas quelle que soit la méthode. Lors du premier exercice, 3 laboratoires réalisant le TAP n'ont pas rendu de résultat en raison d'une agrégation non spécifique. Concernant les EEQ1 et EEQ4, la conclusion attendue a été exprimée par 55% et 73% des laboratoires, respectivement. Un résultat faussement positif a été obtenu uniquement en TAP dans 25% et 15% des cas.

**Conclusion :** Le TAP est la technique la plus utilisée mais contrairement aux autres méthodes, le risque de résultats faussement positifs semble plus élevé. L'amélioration des résultats

entre les deux campagnes montre l'importance de s'approprier ce tout nouvel EEQ.

**Table 1**

	TAP	HIMEA	CMF	HIPA	SRA	Analyse Globale
EEQ1 (C1)	Neg 6/15 Pos 5/15 NS 4/15 NT: 1	Neg 1/1	Neg 1/1	Neg 1/1	Neg 2/2	Neg 11/20 Pos 5/20 NS 4/20
EEQ2 (C1)	Pos 12/15 NS 3/15 NT: 1	Pos 1/1	Pos 1/1	Pos 1/1	Pos 2/2	Pos 17/20 NS 3/20
EEQ3 (C2)	Pos 14/14 NT: 2	Pos 1/1	Pos 1/1	Pos 1/1	Pos 2/2	Pos 19/19
EEQ4 (C2)	Neg 10/14 Pos 3/14 NS 1/14 NT: 2	Neg 1/1	Neg 1/1	Neg 1/1	Neg 1/2 NS 1/2	Neg 14/19 Pos 3/19 NS 2/19
Légende : C1 : campagne 1 ; C2 campagne 2 ; Neg : négatif ; Pos : positif ; NS : non spécifique ; NT : non testé						

### P 084 - The glycoprotein VI - platelet factor 4 axis plays a detrimental role in lung fibrosis

Y. Boulaftali<sup>1</sup>, J. Salfati<sup>1</sup>, R. Martos<sup>1</sup>, E. Pascal<sup>1</sup>, H. Lebas<sup>1</sup>, C. Casari<sup>2</sup>, R. Fuentes<sup>3</sup>, P. Conley<sup>4</sup>, B. Crestani<sup>5</sup>, M. Jandrot-Perrus<sup>1</sup>, M.C. Bouton<sup>1</sup>, V. Arocas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inserm U1148 - Paris (France),

<sup>2</sup>UMRS1176, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, - Le Kremlin-Bicêtre (France),

<sup>3</sup>UNC McAllister Heart Institute - Chapel Hill (United States),

<sup>4</sup>Portola Pharmaceutical - San Francisco (United States),

<sup>5</sup>Hopital Bichat - Paris (France)

**Introduction** : Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a chronic, progressive and irreversible disease that in most cases leads to death within 2 to 5 years of diagnosis. Its pathogenesis remains poorly understood. Despite recently approved treatments, IPF remains a high-risk disease area for drug development. It is characterized by excess proteins of extracellular matrix (ECM) that accumulates in the lung such as collagen, elastin, or proteoglycans. These proteins are directly involved in the repair process leading to fibrosis when the scarring process becomes uncontrolled and deregulated. Many forms of the disease are induced, at least initially by a strong inflammatory response mediated by several cytokines including the transforming growth factor  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), a master profibrotic cytokine. Previous reports showed platelet sequestration within the lungs in particular within pulmonary alveoli, in a mouse model of lung fibrosis, supporting a role for platelets in lung injury. In addition, a study showed that platelets are in a preactivated state in patients during IPF. However, these studies do not establish a direct link between platelet activation and development of IPF. We hypothesize that platelets play a critical role in lung pathophysiology.

**Matériels et Méthodes** : We addressed this question by using the most widely used experimental pulmonary fibrosis model in mice, which consists in the administration of intratracheal bleomycin. Thanks to a collaboration with Pr Bruno Crestani at the pulmonology department of Bichat hospital, we obtained lung biopsies from IPF patients and control.

**Résultats** : We showed that platelets are sequestered in the lungs of patients with IPF and bleomycin-treated mice. Moreover, in bleomycin-treated mice, we showed by flow cytometry that platelets are in a preactivated state. Using the bleomycin model, we demonstrated that platelet adhesion mediated by the GPIIb/IIIa/VWF axis plays a protective role in lung fibrosis with an exacerbated inflammation and collagen deposition in the lung. We

also showed that platelet aggregation mediated by the integrin  $\beta 3$  is dispensable during lung fibrosis. Unlike the ADP receptor P2Y<sub>12</sub>, we uncovered that activation of the collagen receptor GPVI plays a critical role in bleomycin-induced mortality. Interestingly, the platelet chemokine, platelet factor 4 (PF4), was undetected in the GPVI<sup>-/-</sup> lung lavage whereas TGF $\beta$  level was similar to the wild-type mice. In addition, we observed that PF4<sup>-/-</sup> mice display no mortality after bleomycin instillation compared to wild-type mice. Consistently, in vitro culture of lung fibroblasts stimulated with PF4 shows an increase of fibroblast differentiation and collagen gene expression.

**Conclusion** : Our work show for the first time that the GPVI and PF4 axis significantly contributes to lung fibrosis by fueling the proinflammatory lung environment.

### P 086 - Variabilité du phénotype plaquettaire chez les porteurs de variants SLFN14

M. Ibrahim-Kosta<sup>1</sup>, E. Gabinaud<sup>2</sup>, L. Hannouche<sup>2</sup>, V. Sbarra<sup>2</sup>, C. Falaise<sup>3</sup>, M. Scavino<sup>2</sup>, J. Van Agthoven<sup>4</sup>, P. Saultier<sup>1</sup>, M.C. Alessi<sup>1</sup>, M. Poggi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aix Marseille Univ, Inserm 1263, Inrae 1260, C2VN, Aphm, National Reference Center on Constitutional Platelet Disorders (CRPP) - Marseille (France),

<sup>2</sup>Aix Marseille Univ, Inserm 1263, Inrae 1260, C2VN - Marseille (France),

<sup>3</sup>APHM, National Reference Center on Constitutional Platelet Disorders (CRPP) - Marseille (France),

<sup>4</sup>Structural Biology Program, Division of Nephrology/department of Medicine, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Charlestown, Ma, Usa - Massachusetts (United States)

**Introduction** : L'endoribonucléase Schlafen14 (SLFN14) est associée à un défaut de maturation des mégacaryocytes (MK) et de formation des proplaquettes. Seuls 4 variants hétérozygotes du gène SLFN14, situés dans le domaine ATPase-AAA, ont été associés à une thrombopénie modérée, des saignements excessifs et un déficit de sécrétion en granules denses. L'agrégation plaquettaire, lorsqu'elle a été réalisée (3 sur 4), montre un défaut de réponse à l'ADP, au collagène et au PAR1-AP.

Les objectifs de ce travail sont de décrire les tableaux clinico-biologiques de 2 nouveaux variants (V) du gène SLFN14 (V1 : p.V262E et V2 : p.H209R) situés dans le domaine ATPase-AAA et de caractériser leurs effets fonctionnels.

**Matériels et Méthodes** : Le compte, les fonctions et le contenu en SLFN14 plaquettaires ont été évalués. La structure des variants a été modélisée (modèle issu du serveur AlphaFold, structure 3D (Pymol), stabilité (Dynamut2)). Les profils transcriptomiques des MK différenciés in vitro à partir de cellules CD34<sup>+</sup> circulantes ont été analysés par single-cell RNA-seq pour le variant V262E.

**Résultats** : Les 2 variants étudiés sont absents des bases de données de populations générales et, comme les variants publiés, sont prédits pathogènes par les logiciels Polyphen, et ClinPred avec des scores CADD à 25,5 (V1) et 22,1 (V2). L'expression de SLFN14 est réduite dans les plaquettes (V1: -56% et V2:-85%).

Le variant V262E a été identifié chez une patiente de 20 ans. Le profil clinico-biologique est comparable aux 4 variants décrits dans la littérature. Un déficit partiel en granules denses (réduction du nombre et de la sérotonine intra-plaquettaire) a été observé.

Le variant H209R a été identifié chez une patiente de 42 ans présentant des ménorragies, un saignement prolongé après extraction dentaire avec un compte plaquettaire fluctuant (130-170 x10<sup>9</sup>/L). L'exploration des fonctions plaquettaires (agrégation, glycoprotéines et étude granulaire) était normale.

L'étude structurale de tous les variants montre que ceux en position H209R (-1.11), K218E (-0.35), V220D (-1.58), R223W (-0.09), et V262E (-1.38) déstabilisent et celui en position K219N



(+0.56) stabilise SLFN14. Les différences d'énergie libre (Kcal/mol) au cours du repliement entre les formes mutée et sauvage sont indiquées entre parenthèses. Les résidus mutés, exposés aux solvants, pourraient contribuer à l'élimination des hétéro-oligomères formés avec le SLFN14 sauvage (effet dominant négatif).

Le profil transcriptomique des MK V262E diffère de celui des MK contrôles (n=2). L'analyse des bases de données KEGG et GO montre que plusieurs voies impliquées dans le contrôle de qualité des protéines sont réprimées ainsi que la voie de la dégranulation impliquant FLNA, CD9, THBS et PF4.

**Conclusion :** Nous rapportons 2 nouveaux variants pathogènes SLFN14 associés à un phénotype et des conséquences structurales variables. L'étude des voies dérégulées identifiées permettra d'avancer sur la compréhension des mécanismes de la thrombopénie liée à SLFN14.

**P 088 - Evaluation d'un nouveau coffret pour la mesure quantitative de l'activité anti-Xa de l'héparine non fractionnée (HNF) et des héparines de bas poids moléculaire (HBPM), l'ACTICHROME Heparin Anti-Xa™ (HORIBA Medical)**

C. Wahl<sup>1</sup>, C. Pelé<sup>1</sup>, L. Poulet<sup>1</sup>, E. Lesteven<sup>1</sup>, C. Frere<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Assistance Publique Hôpitaux de Paris - Paris (France)

**Introduction :** La mesure de l'activité anti-Xa par méthode chromogénique automatisée est couramment utilisée pour la surveillance biologique des traitements par héparine non fractionnée (HNF) et par héparines de bas poids moléculaire (HBPM). La société HORIBA Medical propose un nouveau coffret pour la mesure de l'activité anti-Xa de l'HNF et des HBPM, le coffret ACTICHROME Heparin Anti-Xa™ (Horiba Medical). Nous avons évalué ses performances analytiques sur automate Yuzimen G800 (HORIBA Medical), et nous l'avons comparé au coffret couramment utilisé dans notre laboratoire pour la mesure de l'activité anti-Xa, le STA-Liquid Anti-Xa® (Stago, Asnières, France) sur système STA R Max® 2 (Stago).

**Matériels et Méthodes :** Ce travail s'est déroulé au sein du service d'Hématologie biologique de l'Hôpital Pitié-Salpêtrière (Paris, France), entre novembre et décembre 2022. La fidélité intra-essai (répétabilité) a été évaluée à partir de plasmas contrôle commerciaux (2 niveaux de valeurs) utilisés en tant que contrôles de qualité interne (CQI), sur un minimum de 30 valeurs. La fidélité intermédiaire (reproductibilité) été évaluée à partir de 25 valeurs de CIQ obtenues pour chaque niveau de contrôle sur une période de 15 jours. Les comparaisons de méthodes (régression de Passing et Bablok, et graphique de Bland Altman) ont été effectuées à partir de 102 plasmas de patients traités par HNF (n=51) ou HBPM (n=51). Chaque échantillon a été analysé en parallèle avec les 2 méthodes (ACTICHROME Heparin Anti-Xa™ sur Yuzimen G800 et STA-Liquid Anti-Xa® sur STAR-Max®2). Tous les dosages ont été réalisés sur des fonds de tube. Aucun prélèvement supplémentaire n'a été effectué dans le cadre de cette étude.

**Résultats :** Les données de fidélité intra-essai et de fidélité intermédiaire sont présentées dans la Figure 1. Les coefficients de variation (CV) de répétabilité, pour les 2 niveaux de valeurs, sont inférieurs à 7%. Les CV de fidélité intermédiaire, pour les 2 niveaux de valeurs, sont inférieurs à 10,5%, et conformes aux valeurs préconisées par le fabricant. Aucune contamination inter-échantillons n'a été observée dans les conditions de l'étude. La corrélation entre les résultats obtenus avec les coffrets ACTICHROME Heparin Anti-Xa™ sur automate Yuzimen G800 et ceux obtenus avec le coffret STA-Liquid Anti-Xa® sur automate

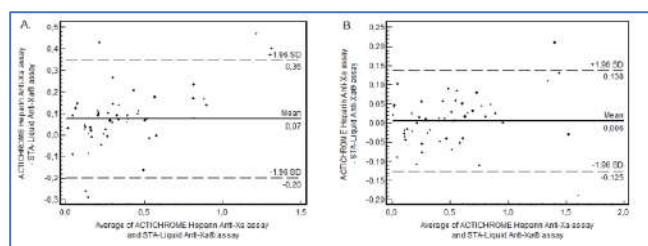
STAR-Max®2 est excellente (r=0,921 pour les patients traités par HNF et r=0,987 pour les patients traités par HBPM). L'agrément entre ces 2 méthodes, apprécié par le graphique de Bland et Altman, est également excellent (Figure 2A [HNF] et 2B [HBPM]).

**Conclusion :** Le coffret ACTICHROME Heparin Anti-Xa™ pour la mesure de l'activité anti-Xa de l'HNF et des HBPM présente des performances analytiques robustes, tout à fait comparables à celles du coffret STA-Liquid Anti-Xa®, et conformes aux recommandations des sociétés savantes. Il est donc parfaitement adapté pour une utilisation en pratique quotidienne.

CV de répétabilité et de reproductibilité

		N	Valeur moyenne (UI/ml)	Ecart type (UI/ml)	Coefficient de variation (%)
<b>Répétabilité</b>	ACTICHROME HNF Contrôle haut	32	0.730	0.023	3.25
	ACTICHROME HNF Contrôle bas	32	0.260	0.017	6.65
	ACTICHROME HBPM Contrôle haut	32	0.720	0.019	2.75
	ACTICHROME HBPM Contrôle bas	32	0.350	0.018	5.25
<b>Reproductibilité</b>	ACTICHROME HNF Contrôle haut	25	0.673	0.028	4.27
	ACTICHROME HNF Contrôle bas	25	0.272	0.028	10.47
	ACTICHROME HBPM Contrôle haut	25	0.687	0.026	3.8
	ACTICHROME HBPM Contrôle bas	25	0.326	0.016	4.92

Graphique de Bland et Altman



**P 089 - Suivi biologique du traitement par cangrelor en neurologie interventionnelle : à propos de 2 cas**

L. Weinmann<sup>1</sup>, M. Fiore<sup>1</sup>, J. Potvin<sup>2</sup>, G. Marnat<sup>3</sup>, H. De Courson<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hématologie, CHU de Bordeaux - Bordeaux (France),

<sup>2</sup>Service de Neuro-Réanimation - Bordeaux (France),

<sup>3</sup>Service de Neuro-Imagerie Diagnostique et Thérapeutique - Bordeaux (France)

**Introduction :** L'utilisation d'antiagrégants plaquettaires en neuroradiologie interventionnelle est recommandée pour prévenir les évènements thromboemboliques après la pose de stents intracrâniens notamment dans la prise en charge des anévrismes rompus. Chez ces patients à haut risque thrombotique, pris en charge à la phase aiguë d'une hémorragie intracrânienne et présentant un risque de recours à une intervention chirurgicale, l'utilisation du cangrelor est prometteuse. Il s'agit d'un antagoniste direct, sélectif et réversible du récepteur P2Y12 à l'ADP. Sa demi-vie étant très courte, l'arrêt de la perfusion permet de normaliser les fonctions plaquettaires en 1h.

Cependant, la posologie optimale du cangrelor dans cette indication reste mal définie, nécessitant un compromis entre une efficacité suffisante pour éviter la thrombose du dispositif et une posologie minimale afin de réduire le risque d'évènement hémorragique et d'optimiser le coût d'utilisation de cette molécule onéreuse. Plusieurs publications ont montré qu'il était possible de quantifier l'inhibition plaquettaire par des tests biologiques fonctionnels chez les patients sous cangrelor, afin d'en ajuster la posologie.

**Matériels et Méthodes :** Deux patients traités par cangrelor suite au déploiement d'un stent intracrânien ont bénéficié d'une surveillance du traitement par Multiplate® (Roche). Le débit de perfusion a été adapté en fonction des résultats de l'ADPtest. L'objectif d'inhibition plaquettaire (190-390 AU.min) a été déterminé sur la base des normes de l'ADPtest établies au laboratoire ainsi que de données de la littérature corrélant le résultat des tests biologiques au risque hémorragique et thrombotique.

**Résultats :** Le débit de perfusion, le résultat de l'ADPtest, et que le taux de plaquettes sont représentés sur les figures 1 et 2. L'objectif d'inhibition plaquettaire est représenté sur fond bleu clair.

Pour les deux patients, le suivi par Multiplate a permis de réduire rapidement (<48h) le débit de perfusion en dessous de 1 µg/kg/min en conservant une inhibition plaquettaire efficace. Chez ces patients traités plusieurs jours par cangrelor, cette stratégie est intéressante notamment pour réduire les coûts.

**Patient 1 :** à partir du 05/02 apparaît une thrombocytose, induisant une augmentation de la réactivité plaquettaire avec la nécessité d'augmenter le débit de perfusion progressivement jusqu'à 3 µg/kg/min afin de conserver une inhibition plaquettaire satisfaisante.

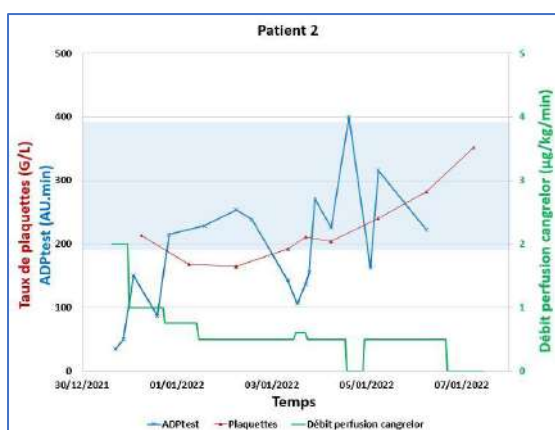
**Patient 2 :** le cangrelor a été arrêté le 05/01 en vue d'un geste. Un contrôle biologique 1h après l'arrêt de la perfusion a montré la normalisation des fonctions plaquettaires et a permis la réalisation du geste, sans complication.

**Conclusion :** Dans ces situations où la balance hémostatique est complexe, ces deux cas illustrent l'intérêt de mesurer l'efficacité du traitement par cangrelor afin d'ajuster la posologie permettant de réduire la survenue d'évènements hémorragiques et thrombotiques et d'optimiser le coût du traitement.

Suivi biologique patient 1



Suivi biologique patient 2



**P 091 - Monocyte-dependent antithrombotic effect of tranexamic acid**

N. Wohner<sup>1</sup>, K. Kalman<sup>1</sup>, A. Raska<sup>1</sup>, C. Petra<sup>1</sup>, K. Krasimir<sup>1</sup>

**Introduction :** Tranexamic acid (TXA) is a widespread antifibrinolytic drug that effectively decreases bleeding. Its usage is common in surgical, obstetrical and gynecological procedures, as well as in hematological conditions with a risk of bleeding. Despite being an antifibrinolytic agent, TXA does not increase the risk for thrombosis, and according to some clinical studies, it reduces the prevalence of myocardial infarction. In our work we were assessing the effects of TXA on thrombus formation in vivo and blood coagulation in vitro.

**Matériels et Méthodes :** Thrombus formation was induced with inferior vena cava (IVC) stenosis in C57BL/6J mice. After 48-or 72-hours thrombi were retrieved and their weight and length determined. Some mice received 20 µg TXA intramuscularly 24 and 48 hours after IVC stenosis. Na-citrate anticoagulated blood was collected from the retroorbital plexus when thrombi were retrieved. Thrombin generation was measured in diluted whole blood, whereas von Willebrand factor antigen (VWF:Ag) and monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) concentrations were measured in plasma samples.

**Résultats :** Thrombus weight was 14.6[9.5; 19]mg at 48 hours and 25.9[14.75; 31.25]mg at 72 hours, whereas their length was 4.9[4;6]mm and 7.22[6;9.5] mm, (median[bottom;top quartile],n=10), respectively. Thrombi were observed in 79% of untreated mice and in 27% of TXA-treated animals. Plasma MCP-1 was 157.3±46.6 pg/mL after IVC stenosis without TXA treatment and 29.8±9.3 pg/mL in TXA-treated mice (mean±SD, n=15), whereas the baseline MCP-1 level was 22.1±5.6 pg/mL in mice not exposed to IVC stenosis. TXA treatment did not result in any significant difference in plasma VWF:Ag levels (97.6±36.1% vs. 120.7±18.6% in control). TXA-treatment after IVC stenosis significantly suppressed thrombin generation in diluted whole blood (2.7±1.5 RU/s vs. 15.1±2.2 RU/s in the absence of TXA-treatment).

**Conclusion :** TXA attenuates the formation of IVC stenosis-thrombi in mice. Our in vitro results suggest that this unusual effect of TXA may be caused by the inhibition of monocyte-dependent thrombin generation.

**P 093 - Acquired Von Willebrand Syndrome and use of Vonicog alpha: a case-report**

C. Lavenu-Bombled<sup>1</sup>, A. Blandinieres<sup>1</sup>, S. Combe<sup>2</sup>, N. Chanson<sup>3</sup>, O. Lambotte<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Service d'hématologie Biologique CHU Bicêtre APHP; UMR-S1176 - Le Kremlin Bicêtre (France),

<sup>2</sup>Service d'hématologie Biologique CHU Bicêtre APHP - Le Kremlin Bicêtre (France),

<sup>3</sup>Service de Médecine Interne et d'immunologie Clinique - Le Kremlin Bicêtre (France)

**Introduction :** Acquired Von Willebrand Syndrome (AVWS) can be secondary to many underlying disorders among solid and haematological cancers, auto-immune or cardiovascular disorders. However, it is mostly associated with lymphoproliferative diseases such as monoclonal gammopathy of undetermined significance or less frequently Waldenström macroglobulinemia (WM). WM is a B-cell neoplasm resulting from the accumulation of clonal lymphoplasmacytic cells secreting a monoclonal immunoglobulin (Ig) M protein. Therapeutic management of AVWS can be challenging, particularly in cases of AVWS associated with

monoclonal IgM such as WM where several therapeutic options may be ineffective.

**Matériels et Méthodes :** We describe the case of an 88-year-old patient who developed AVWS during follow-up for WM.

**Résultats :** Hemostasis blood tests on admission showed a severe deficit in VWF: VWF: Ag 17%, VWF: RCo <11%, FVIII: C 17%. The presence of a severe bleeding symptomatology, notably a large dissecting hematoma of the forearm, not controlled by several therapies (plasma derived Von Willebrand factor, plasmapheresis) led us to introduce a supplementation with recombinant Von Willebrand factor (rVWF), vonicog alpha, starting at a dose of 50 IU/kg/d. This supplementation allowed clinical (no further bleeding) and biological (hemoglobin level, Von Willebrand factors parameters) improvement. Residual hemostasis blood tests (48 hours after injection) were as follows: VWF: Ag 50%, VWF: GPIbM 52%, FVIII: C 58%. Because of persistent skin lesions at risk of bleeding due to a squamous cell carcinoma, the treatment was maintained at a prophylactic dose (20UI/kg 3 times a week), without recurrence of bleeding events.

**Conclusion :** In this case, the poor response to treatment of the underlying disease and the persistence of major risk factors of bleeding led us to continue treatment with rVWF while progressively evolving towards a prophylactic regimen. This allowed the control of the hemorrhagic symptomatology. rVWF represents a potential therapeutic option in patients with AVWS for the treatment as well as prevention of bleeding episode. However, additional data are needed to confirm these observations.

**P 094 - Association cangrelor-héparine pour l'anticoagulation per-opératoire des patients avec thrombopénie induite par l'héparine aiguë devant subir une chirurgie sous circulation extracorporelle**

E. Bonanno<sup>1</sup>, E. Lesteven<sup>1</sup>, M. Niculesco<sup>1</sup>, G. Coutance<sup>1</sup>, M. Pineton De Chambrun<sup>1</sup>, O. Saura<sup>1</sup>, D. Levy<sup>1</sup>, G. Hekimian<sup>1</sup>, C. Frere<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Assistance Publique Hôpitaux de Paris - Paris (France)

**Introduction :** L'héparine non fractionnée (HNF) demeure l'anticoagulant de choix en cas de chirurgie cardiaque sous circulation extracorporelle (CEC). L'anticoagulation per-opératoire d'un patient avec thrombopénie induite par l'héparine (TIH) aiguë devant subir une chirurgie cardiaque sous CEC en urgence s'avère donc particulièrement complexe. Une stratégie possible consiste à inhiber les plaquettes (« anesthésie plaquettaire ») avant d'administrer de l'héparine, de sorte que les complexes anticorps-FP4-héparine ne puissent pas induire d'agrégation plaquettaire et la formation de thrombi. Le cangrelor est un antagoniste direct et réversible des récepteurs plaquettaires P2Y12 administrable par voie intraveineuse (IV). Son délai d'action est rapide (2 minutes) et sa demi-vie plasmatique est courte (3 à 6 minutes). L'inhibition plaquettaire obtenue est stable durant la perfusion, et il peut être administré en cas d'insuffisance rénale ou hépatique. Son utilisation en cas de CEC chez les patients avec TIH aiguë demeure à ce jour peu documentée. Nous rapportons ici les cas de 3 patients avec TIH aiguë ayant reçu une anticoagulation per-opératoire par héparine en association avec du cangrelor au cours d'une transplantation cardiaque sous CEC en urgence.

**Matériels et Méthodes :** Les données démographiques, cliniques et biologiques des patients ont été collectées rétrospectivement à partir des dossiers patients informatisés.

**Résultats :** Entre septembre et décembre 2022, 3 transplantations cardiaques sous CEC ont été réalisées en urgence dans notre

établissement en utilisant l'association cangrelor-héparine pour l'anticoagulation per-opératoire des patients. Les principales caractéristiques des 3 patients sont décrites dans le tableau 1. Les indications de la transplantation cardiaque étaient un choc cardiogénique sur cardiomyopathie dilatée pour 2 patients et un choc cardiogénique compliquant un infarctus du myocarde aigu pour 1 patient. Les 3 patients avaient une TIH aiguë documentée. L'héparine avait été remplacée par de l'argatroban après confirmation du diagnostic de TIH. La perfusion d'argatroban a été arrêtée lors de l'appel au bloc opératoire. Le protocole utilisé pour la CEC a été le suivant : 10 minutes avant l'administration d'héparine, un bolus IV de 30 µg/kg de cangrelor a été réalisé, immédiatement suivi par une perfusion IV de 4 µg/kg/min. Cette perfusion a été interrompue 5 min avant l'arrêt de la CEC. L'héparine a été neutralisée par protamine en fin de CEC selon les modalités habituelles. Un monitoring des fonctions plaquettaires a été réalisé à l'aide du Multiplate® Analyzer. Une anticoagulation post-opératoire par fondaparinux à dose préventive (1 patient) ou par argatroban à dose curative a été débutée à la 6ème heure postopératoire. Il n'y a pas eu de complication hémorragique postopératoire. Un seul patient a présenté un accident vasculaire cérébral ischémique au 1er jour postopératoire.

**Conclusion :** L'association cangrelor-héparine constitue une alternative possible à l'utilisation d'un inhibiteur de la thrombine injectable pour l'anticoagulation per-opératoire des patients avec TIH aiguë devant subir une chirurgie cardiaque sous CEC en urgence.

*Caractéristiques des Patients*

	Cas n°1	Cas n°2	Cas n°3
Sexe	Homme	Femme	Femme
Âge	59 ans	38 ans	42 ans
Motif d'admission	Choc cardiogénique sur cardiomyopathie dilatée	Choc cardiogénique sur cardiomyopathie dilatée	Choc cardiogénique sur infarctus du myocarde aigu
Comorbidités	Insuffisance rénale aigüe, insuffisance hépatique	Insuffisance rénale aigüe, insuffisance hépatique aigüe	Insuffisance rénale aigüe
Assistance circulatoire mécanique avant transplantation cardiaque	ECMO-VA	ECMO-VA	ECMO-VA
Durée d'exposition à l'héparine avant le diagnostic de TIH	14 jours	10 jours	17 jours
Complications thrombotiques au diagnostic de TIH	Non	Non	Thrombose de l'oculogénèse à membrane
Score AT	0	2	0
Numération plaquettaire au diagnostic de TIH	30 G/L	37 G/L	37 G/L
Anticorps anti-FP4/héparine	+++	+++	+++
Facteur de dérivation du système coagulationnel	+	+	Non réalisé
Anticoagulant de substitution utilisé après le diagnostic de TIH	Argatroban	Argatroban	Argatroban
Numération plaquettaire post-opératoire	56 G/L	200 G/L	83 G/L
Phase de la TIH au moment de la CEC	Aiguë	Aiguë	Aiguë
Type de chirurgie	Transplantation cardiaque	Transplantation cardiaque	Transplantation cardiaque
Numération plaquettaire post-opératoire	117 G/L	190 G/L	63 G/L
Anticoagulation post-opératoire	Fondaparinux	Argatroban	Argatroban
Complications post-opératoires	Infection sur plaie	Thrombose de la veine cave inférieure au recul des cathètes d'ECMO	Accident vasculaire cérébral ischémique à J1 post-opératoire
Durée de séjour en soins intensifs	18 jours	25 jours	13 jours

**P 095 - Produit de contraste iodé : un coupable parfait**

M. Tuffigo<sup>1</sup>, S. Le Gallic<sup>1</sup>, O. Blanchet<sup>1</sup>, M. Laloi<sup>1</sup>, A. Godon<sup>1</sup>, V. Ugo<sup>1</sup>, S. Lemoine<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire Hématologie CHU Angers - Angers (France),  
<sup>2</sup>Laboratoire Hématologie CHU Orléans - Orléans (France)

**Introduction :** Même s'il est admis que les produits de contraste interfèrent avec les tests de laboratoire (1), cela reste un piège analytique insuffisamment décrit, notamment sur les tests d'hémostase. Nous rapportons deux cas de patients ayant présenté un bilan de coagulation très perturbé sans explication évidente et réalisé après l'injection de produit de contraste iodé.

**Matériel et Méthodes :** Il s'agit de deux patients admis aux urgences du CHU d'Angers. Le 1<sup>er</sup> patient est un homme de 41 ans, admis à la suite d'un accident de la voie publique, rapportant des cervicalgies, l'examen clinique était sans particularité. Le 2<sup>ème</sup> patient est un homme de 58 ans, admis dans un contexte de suspicion d'accident vasculaire cérébral. Dans ces contextes, ils ont relevé d'un scanner avec injection de produit de contraste iodé (Iobitridol) et d'un bilan de coagulation standard.

Les analyses des bilans de coagulation ont été réalisées sur automate STAR-Max, comprenant un TP (Neoptimal®), un TCA (PTT-Automate®) et un dosage du fibrinogène (Liquid Fib®).

**Résultats :** Les critères pré-analytiques des prélèvements étaient corrects (remplissage suffisant, prélèvement de moins de 4 heures, absence de caillot). Cependant, chacun des tubes présentait un problème de sédimentation du culot globulaire malgré plusieurs centrifugations successives. Il persistait un gradient de globules rouges associé à une hémolyse dans le plasma.

Les résultats du bilan de coagulation montraient des perturbations nettes (tableau 1) sans pouvoir être expliquées par la situation clinique (fonction hépatique normale, absence de signes de CIVD) et thérapeutique des deux patients. Pour chacun, les résultats ont été rendus sous réserve d'un problème pré-analytique et un bilan de contrôle a été demandé.

Le premier patient n'avait pas reçu de traitement anticoagulant et le second avait reçu une injection en sous-cutané de 4000UI d'Enoxaparine 1 heure avant le bilan. Un caillot retiré du tube avant acheminement au laboratoire restait possible mais ne permettait pas d'expliquer le problème de centrifugation.

Le problème de sédimentation des globules rouges et les perturbations du bilan de coagulation évoquaient la présence d'une substance interférente dans le tube. Après analyse approfondie des dossiers, les prélèvements avaient été réalisés respectivement 30 minutes et 3h30 après l'injection de produit de contraste iodé (Iobitridol). Dans la littérature, ce produit est connu pour entraîner des allongements importants des temps de coagulation(2) et une modification de la densité entraînant une mauvaise séparation plasma – culot globulaire(3,4,5).

Le premier patient est rentré à domicile sans contrôle du bilan de coagulation devant l'examen clinique rassurant et l'absence d'anomalie scanographique, tandis que le deuxième patient a bénéficié d'un prélèvement de contrôle réalisé 8h après le premier avec une normalisation complète des résultats (TP : 102%, ratio TCA : 1.04, fibrinogène : 4,0 g/L).

**Conclusion :** La présentation atypique des résultats combinée au problème de sédimentation du culot globulaire nous ont permis d'évoquer la présence d'une substance interférente, qui après analyse du dossier clinique semble être l'Ioditribol. Ce produit de contraste iodé est en effet capable d'expliquer ces perturbations. Ces deux cas reflètent la multitude d'interférence à connaître devant un bilan perturbé.

## Références

- Lippi G et al. Interference of medical contrast media on laboratory testing. *Biochem Med.* 2014; 24:80-8.
- Idée J-M & Corot C. Thrombotic risk associated with the use of iodinated contrast media in interventional cardiology: pathophysiology and clinical aspects.. *Fundam Clin Pharmacol.* 1999;13:613-23.
- Gerk U et al. Effect of radiographic contrast media (Iodixanol, Iobitridol) on hemolysis. *J. Cell Biotech* 1 (2015/2016) 179-182.
- Spititus et al. Iodinated contrast media interfere with gel barrier formation in Plasma and serum separator tubes. *Clin Chem* 2003;49:1187-9.
- Cornes M.P. Exogenous sample contamination : Sources and interference. *Clin Biochem* 2016;49:1340-5.

## Résultats des bilans de coagulation

	TP (%)	ratioTCA	Fib (g/L)	FII (%)	FV (%)	FVII (%)	FX (%)
Patient 1	24	2.16	1.14	48	36	36	48
Patient 2	26	//	1.83	53	53	59	57

## P 098 - Un train peut en cacher un autre : inefficacité biologique du danaparoïde liée à un déficit acquis en antithrombine

C. Farkh<sup>1</sup>, P.H. Wicky<sup>2</sup>, H.D. Phung<sup>1</sup>, M.C. Bourrienne<sup>1</sup>, J. Gay<sup>1</sup>, V. Andrieu<sup>1</sup>, A. Perrier-Cornet<sup>1</sup>, C. Depondt<sup>2</sup>, M. Koskas<sup>3</sup>, N. Ajzenberg<sup>1</sup>, D. Faille<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hématologie APHP Hôpital Bichat Claude-Bernard - Paris (France),

<sup>2</sup>Service d'anesthésie Réanimation APHP Hôpital Bichat Claude-Bernard - Paris (France),

<sup>3</sup>Service de Gynécologie Obstétrique APHP Hôpital Bichat Claude-Bernard - Paris (France)

**Introduction :** Le danaparoïde sodique (Orgaran®) est un anticoagulant utilisé en phase aigüe de la thrombopénie induite par l'héparine (TIH) dont l'activité anticoagulante s'exerce via l'antithrombine. Nous rapportons le cas d'une patiente de 45 ans sans antécédent médical, présentant une embolie pulmonaire et une thrombose de la veine fémorale profonde dans le cadre d'une masse utérine suspecte. A l'admission, la patiente présente des signes biologiques de coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) : monomères de fibrine >150mg/ml, fibrinogène 1,10g/L, TP 48%, plaquettes 150G/L. Elle est traitée par héparine non fractionnée avec une anticoagulation efficace, relayée par héparine de bas poids moléculaire (HBPM). Les évolutions clinique et biologique sont initialement favorables. Neuf jours après l'introduction d'héparine, elle présente une chute des plaquettes de 278G/L à 128G/L, faisant suspecter une TIH. L'anticoagulation par HBPM est arrêtée et un relais par danaparoïde est mis en place avec un bolus initial de 2500UI (poids 88kg) et une dose d'entretien de 200UI/h en intra-veineux. L'évolution est marquée par une dégradation clinique avec une majoration du volume de la masse utérine. Une hystérectomie est indiquée mais reportée dans le contexte de TIH.

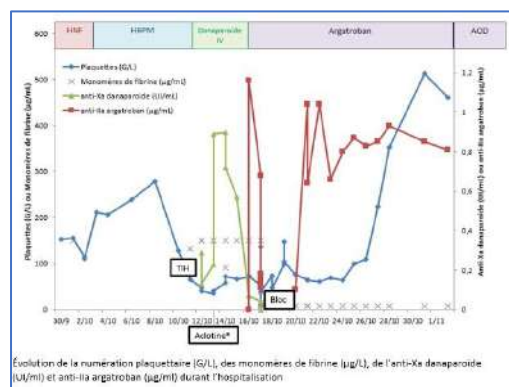
**Matériels et Méthodes :** Les anticorps anti-PF4/héparine sont recherchés par un test immunologique de type ELISA (Zymutest HIA IgG, Hyphen Biomed). Les tests fonctionnels réalisés sont le test d'agrégation plaquettaire en présence d'héparine (HIPA) et le test de libération de sérotonine radiomarquée (SRA). L'activité anti-Xa danaparoïde est mesurée par technique chromogénique (Heparin LRT Hyphen Biomed). L'antithrombine est mesurée par méthode chromogénique de l'activité anti-IIa (STACHROM ATIII Diagnostica Stago).

**Résultats :** Les anticorps anti-PF4/héparine sont positifs à 2451mU.DO (seuil >500mU.DO), et la TIH est confirmée par les tests fonctionnels. Malgré une majoration des doses de danaparoïde jusqu'à 300UI/h et l'injection d'un bolus supplémentaire de 2500UI, l'activité anti-Xa danaparoïde reste inférieure à la zone thérapeutique (anti-Xa maximum 0,32UI/mL) et la CIVD s'aggrave. Un dosage d'antithrombine réalisé en urgence met en évidence un déficit à 22% très probablement lié à la consommation. L'Acloline® est administrée (≈ 30 UI/kg soit 2500UI) ce qui permet de rétablir une anticoagulation efficace à 200UI/h de danaparoïde (Figure 1). L'évolution est marquée par une instabilité hémodynamique, un coma et une aggravation de la CIVD nécessitant une hystérectomie en urgence. Un relais vers argatroban est effectué avec un arrêt de la perfusion 2h avant la chirurgie. L'hystérectomie se complique d'un choc hémorragique en lien avec la CIVD, des pertes sanguines estimées à 10L ayant nécessité la transfusion de 15 culots globulaires, 9 plasmas frais congelés et 6g de fibrinogène. En post opératoire, on note la disparition progressive de la CIVD biologique et clinique.

**Conclusion :** Ce cas clinique souligne l'importance de la surveillance biologique de l'activité anticoagulante du danaparoïde en cas de

CIVD et de la recherche d'un déficit en antithrombine en cas d'inefficacité biologique du danaparoiide.

Figure 1



significativement modifiés. Pour des concentrations supérieures à 500ng/ml d'AOD, nos données montrent, qu'en moyenne le TP est mesuré : à 39% en présence d'Apixaban, à 26% en présence de Rivaroxaban et à 22% en présence de Dabigatran ; le ratio TCA est mesuré à 1.38 en présence d'Apixaban, à 1.57 en présence de Xarelto, à 3.22 en présence de Dabigatran.

**Conclusion :** Ces résultats nous ont permis de proposer au sein du laboratoire un algorithme décisionnel de validation et de rajout d'analyse évitant de méconnaître un surdosage ou une coagulopathie sous-jacente.

Figure 1 : TP en fonction de la concentration d'AOD

### P 100 - Réel impact des anticoagulants oraux directs sur les tests de coagulation de routine

S. Lemoine<sup>1</sup>, I. Morin<sup>2</sup>, A. Godon<sup>2</sup>, V. Ugo<sup>2</sup>, M. Tuffigo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Service d'hématologie Biologique-CHU d'Orléans - Orléans (France),

<sup>2</sup>Laboratoire d'hématologie-CHU d'Angers - Angers (France)

**Introduction :** Malgré les recommandations selon lesquelles un bilan d'hémostase est ininterprétable chez un patient avec un traitement par anticoagulant oral direct (AOD), des bilans sont réalisés chaque jour au laboratoire d'Hématologie. Lors de la validation, se pose la question de l'importance de l'effet des AOD sur les tests standards (TP, TCA et fibrinogène) et dans quelle mesure ils peuvent être interprétables. Il est établi que les anti-Xa directs (Apixaban et Rivaroxaban) impactent préférentiellement le TP et que l'anti-IIa directe (Dabigatran) impacte plutôt le TCA, pour autant il est difficile de savoir dans quelle mesure une anomalie du bilan doit faire suspecter un surdosage ou bien amener à réaliser un bilan complémentaire à la recherche d'une coagulopathie. C'est pourquoi nous avons colligé les dosages d'activité spécifique des AOD associés à un bilan de coagulation réalisés au laboratoire d'Hématologie du CHU d'Angers pendant 4 ans afin d'établir des algorithmes décisionnels de validation et de rajout de tests dans ce contexte.

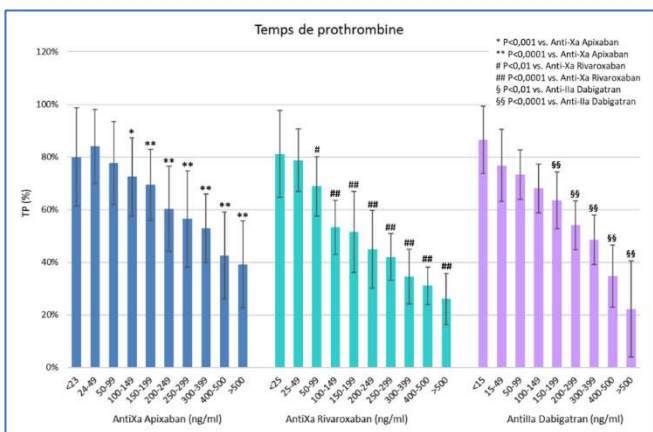
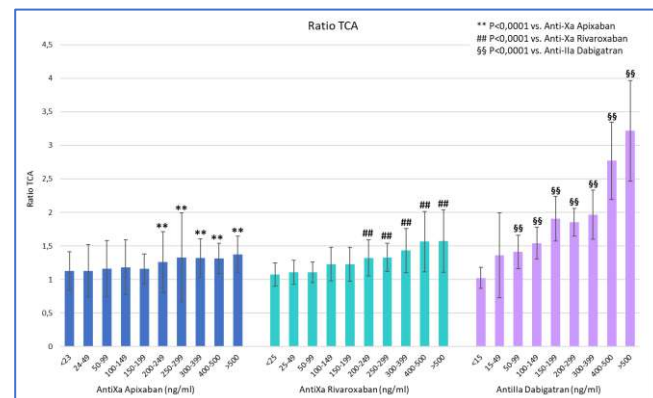


Figure 2 : TCA en fonction de la concentration d'AOD

**Matériel et Méthodes :** Nous avons réalisé une extraction de janvier 2019 à octobre 2022 (à partir du logiciel de résultats biologiques du CHU d'Angers) des dosages spécifiques d'AOD. 3017 dosages d'activités spécifiques ont été réalisés (349 AntiIIa-Dabigatran, 1663 AntiXa-Apixaban et 1005 AntiXa-Rivaroxaban). 1805 bilans ont été inclus dans cette étude (critères d'inclusion : bilan de coagulation standard complet associé au dosage de l'AOD, absence d'autres causes de perturbation du bilan). Les dosages ont été effectués avec des réactifs STAGO® sur STAR Max. L'analyse statistique a été effectuée par une analyse de variance (Kruskal Wallis) et un test à posteriori de Dunns.



**Résultats :** Nos données montrent que, par rapport au groupe où la concentration est considérée comme indétectable (<23ng/ml pour l'Apixaban, <25ng/ml pour le Rivaroxaban et <15ng/ml pour le Dabigatran) : le TP est significativement diminué par l'Apixaban à partir d'une concentration >100ng/ml, par le Xarelto à partir d'une concentration >50ng/ml et par le Dabigatran à partir d'une concentration >100ng/ml (Figure 1). Le ratioTCA est significativement augmenté par l'Apixaban et par le Rivaroxaban à partir d'une concentration >200ng/ml, et par le Dabigatran à partir d'une concentration >50ng/ml (Figure 2). Pour une concentration d'AOD <50ng/ml quel que soit l'AOD, les TP et TCA ne sont pas

### P 102 - Impact de la pandémie de COVID-19 sur les analyses d'hémostase en France : retour sur les 9 dernières années de données

N. Bentoumes<sup>1</sup>, R. Chocron<sup>2</sup>, A. Philippe<sup>1</sup>, D. Smadja<sup>3</sup>, N. Gendron<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University Paris Cité, Innovative Therapies in Haemostasis, Inserm, 75006 Paris, France, Hematology Department and Biosurgical Research Lab (Carpentier Foundation), Assistance Publique Hôpitaux de Paris. Centre-Université de Paris (APHP.CUP), 20 rue Leblanc, 75015, Paris (France),

<sup>2</sup>Emergency Department, Assistance Publique Hôpitaux de Paris. Centre-Université de Paris (APHP.CUP), 20 rue Leblanc, 75015, Paris, France ; University Paris Cité, PARCC, Inserm, 75015, Paris (France),

<sup>3</sup>University Paris Cité, Innovative Therapies in Haemostasis, Inserm, 75006 Paris, France, Hematology Department and Biosurgical Research Lab (carpentier Foundation), Assistance Publique Hôpitaux de Paris. Centre-Université de Paris (APHP.CUP), 20 rue Leblanc, 75015, Paris, France ; F-Crin Innovat, SA - Paris (France)

**Introduction :** Au cours de la pandémie de COVID-19, la France a fait face à une crise sanitaire et économique. Les analyses de biologie médicale occupent une place centrale dans la prise en charge des patients puisqu'elles interviennent dans 70% des

diagnostics médicaux. L'objectif de cette étude est de représenter l'évolution des prescriptions des tests biologiques en hémostase au cours des 9 dernières années en France et d'évaluer l'impact de la COVID-19 sur ces analyses.

**Matériels et Méthodes :** Nous avons collecté pour chaque année, entre 2013 et 2021, à partir des données de l'assurance maladie, le nombre d'analyses remboursées (hors établissements à but non lucratif) en France : hémogramme, temps de céphaline activée (TCA), temps de prothrombine (TP), international normalized ratio (INR), fibrinogène, activité anti-Xa, D-dimères et anticorps anti-facteur 4-plaquettaire/héparine (anti-PF4/H). Nous avons calculé le nombre total de tests par personnes-années à l'aide des données démographiques de l'INSEE afin de réaliser une analyse des tendances.

**Résultats :** Entre 2013 et 2021, nous avons observé une baisse des prescriptions d'INR (-42%,  $p < 0.01$ ) et de TCA (-3%,  $p < 0.05$ ), alors que les autres tests d'hémostase ont vu leur prescription augmenter. Quant à eux, les prescriptions d'activités anti-Xa et d'anticorps anti PF4/héparine restent stables sur cette période ( $p > 0.05$  pour chacun).

En 2020, le nombre d'analyses prescrites en hémostase a chuté pour tous les tests sauf les D-dimères (+19%), avec la baisse la plus marquante pour les INR (-18%).

Le nombre de prescription de D-dimères n'a fait qu'augmenter entre 2013 et 2021 (+247%,  $p = 0.001$ ) avec une augmentation franche des prescriptions en 2020 mais aussi en 2021.

Enfin en 2021, nous observons une augmentation du nombre d'hémogrammes (+7%) et de D-dimères (+19%) et des dosages d'anticorps anti-PF4/H (+34 %) comparée à 2020.

**Conclusion :** Sur la dernière décennie, la diminution des prescriptions des INR reflète l'arrivée sur le marché des anticoagulants oraux directs et leur utilisation en pratique courante. La chute importante des INR durant l'année 2020 suggère qu'un nombre non négligeable de patients sous antivitamine K n'ont pas réalisé leur suivi d'INR en ville.

Hormis pour les D-dimères, la pandémie de COVID-19 a entraîné en 2020 une chute des prescriptions des analyses d'hémostase en lien avec les différents confinements successifs, la réorganisation du système de santé et la diminution notamment des actes de chirurgie. L'année 2021 est marquée par une sur-prescription d'analyses reflétant les inquiétudes et la désinformation concernant le risque thrombotique lié aux vaccins COVID-19.

### P 103 - Surveillance au laboratoire du traitement par héparine non fractionnée dans différents groupes de patients (étude DEXHEP) : impact du FP4 sur la mesure de l'activité anti-Xa

P. Savard<sup>1</sup>, E. Curis<sup>2</sup>, I. Gouin-Thibault<sup>3</sup>, M. Toussaint-Hacquard<sup>4</sup>, C. Delassasseigne<sup>5</sup>, A. Bateurs<sup>6</sup>, C. Flaujac<sup>7</sup>, V. Eschwege<sup>4</sup>, C. Mouton<sup>5</sup>, T. Lecompte<sup>8</sup>, E. De Maistre<sup>1</sup>, D. Lasne<sup>9</sup>, V. Siguret<sup>10</sup>

<sup>1</sup>CHU Dijon - Dijon (France),

<sup>2</sup>UR 7537 BioSTM Université Paris Cité & Hôpital Lariboisière - Paris (France),

<sup>3</sup>CHU Rennes - Rennes (France),

<sup>4</sup>CHRU Nancy - Nancy (France),

<sup>5</sup>CHU Bordeaux - Bordeaux (France),

<sup>6</sup>CHU Lille - Lille (France),

<sup>7</sup>CH Versailles - Versailles (France),

<sup>8</sup>Faculté de Médecine, Université de Lorraine & Université de Namur - Nancy (France),

<sup>9</sup>Hôpital Necker, AP-HP - Paris (France),

<sup>10</sup>Hôpital Lariboisière, AP-HP - Paris (France)

**Introduction :** Dans l'étude DEXHEP incluant 165 patients à qui de l'héparine non fractionnée (HNF) était administrée, nous avons mis

en évidence des niveaux plasmatiques d'HNF en anti-Xa plus élevés lorsque mesurées avec un réactif contenant du sulfate de dextran par rapport à des réactifs n'en contenant pas. Le sulfate de dextran dissocie les complexes entre HNF et protéines neutralisantes (telles que le facteur plaquettaire 4 [FP4]). Néanmoins, l'impact du FP4 sur la variabilité des niveaux d'HNF en anti-Xa mesurés avec ou sans sulfate de dextran et selon le type de tube de prélèvement employé (citrate ou CTAD) est inconnu. Le but de ce travail était de mesurer les concentrations de FP4 dans des échantillons de plasmas Citrate et CTAD chez des patients recevant de l'HNF dans des contextes cliniques différents et d'évaluer l'association entre les niveaux en anti-Xa et les concentrations plasmatiques de FP4.

**Matériels et Méthodes :** Le sang était prélevé dans des tubes Citrate et CTAD chez des patients répartis en 4 groupes (Groupe 1, 5-10 min après circulation extracorporelle [CEC] ; Groupe 2, réanimation chirurgicale après CEC ; Groupe 3, réanimation médicale ; Groupe 4, patients en service de médecine). Les mesures anti-Xa étaient réalisées avec 7 combinaisons de réactifs et de coagulomètres. Les concentrations de FP4 étaient mesurées avec la trousse Zymutest<sup>TM</sup> PF4 (Hyphen-Biomed).

**Résultats :** Les échantillons (plasma Citrate et CTAD) de 144 patients ont été analysés. Les concentrations de FP4 sont plus élevées dans les échantillons Citrate (+351 % [+301 ; +406],  $p < 10^{-4}$  ; figure 1) malgré des temps pré-analytiques courts (88 % des tubes centrifugés dans les 2 h). L'acheminement par pneumatique augmente la concentration de FP4 de manière plus importante dans les tubes CTAD (+87 %,  $p < 10^{-4}$ ) que dans les tubes Citrate (+32 %,  $p = 0,003$ ). Néanmoins, l'effet du pneumatique sur les niveaux anti-Xa est moindre et dépend du groupe de patients. Enfin, dans les tubes CTAD, les niveaux anti-Xa sont plus élevés (de +8 à +24 % suivant le groupe,  $p < 10^{-4}$ ) que dans les tubes Citrate.

La différence d'activité de niveau anti-Xa entre les tubes Citrate et CTAD s'accroît lorsque les différences de concentrations de FP4 augmentent, surtout au-delà de 200 ng/mL (figure 2). Cette différence ne s'explique pas par la présence ou non du sulfate de dextran dans les réactifs étudiés.

**Conclusion :** Le tube CTAD minimise la libération *ex-vivo* du FP4 mais n'est pas suffisant pour la prévenir complètement. La libération de FP4 est augmentée par l'acheminement par pneumatique. La présence de FP4 peut affecter la mesure de l'activité anti-Xa mais n'explique pas à elle seule les différences observées entre les réactifs contenant du sulfate de dextran et ceux n'en contenant pas.

Figure 1

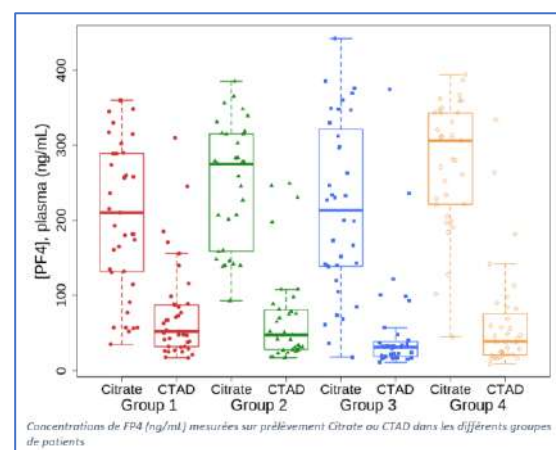
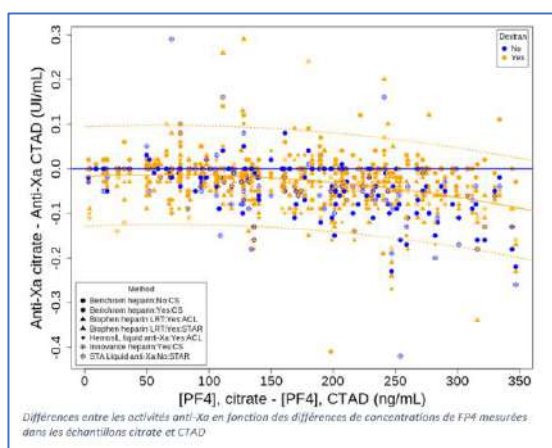


Figure 2



**P 104 - Fardeaux des traitements dans l'hémophilie A et B : une étude qualitative**

M. Mangez<sup>1</sup>, S. Susen<sup>2</sup>, S. Delienne<sup>3</sup>, J. Bovet<sup>4</sup>, N. Giraud<sup>5</sup>, M. Trossaert<sup>6</sup>, M. Basquin<sup>1</sup>

- <sup>1</sup>Société Unknowns - Paris (France),
- <sup>2</sup>CRC-MHC Lille - Lille (France),
- <sup>3</sup>CRC-MHC Dijon - Dijon (France),
- <sup>4</sup>Novo Nordisk - Puteaux (France),
- <sup>5</sup>Association Française des Hémophiles - Paris (France),
- <sup>6</sup>CRC-MHC Nantes - Nantes (France)

**Introduction :** Si les fardeaux de la maladie ont été documentés, les fardeaux des traitements apparaissent peu explorés dans l'hémophilie A et B. Alors que le paysage thérapeutique connaît d'importantes évolutions, mieux connaître l'impact des traitements dans la vie des patients permettrait d'améliorer la prise en charge.

**Matériels et Méthodes :** Une étude qualitative a été réalisée auprès de 12 patients atteints d'hémophilie A et B sévères (inclus par diversité de profils cliniques), 2 aidants et 12 professionnels de santé (PDS) : 7 hématologues, 1 pharmacienne, 4 IDE. Les entretiens semi-directifs ont été conduits par une anthropologue, enregistrés et retranscrits. Leur analyse a été faite selon la méthode de la Grounded Theory.

**Résultats :** Patients et PDS rapportent un important allègement du fardeau de l'hémophilie depuis l'arrivée de la prophylaxie, puis des facteurs à demi-vie allongée dans l'hémophilie B et des anticorps monoclonaux dans l'hémophilie A. Toutefois, différents fardeaux associés aux traitements sont encore rapportés par les patients. 1) un fardeau physique : douleur à l'injection (avec le traitement sous-cutané), marquages corporels (veines nécrosées suite à des injections intraveineuses répétées). 2) Des fardeaux logistiques sont aussi rapportés, le traitement impliquant de multiples tâches : accès, conservation, transport, préparation du produit et injection, gestion des déchets. 3) Un fardeau social : en rendant la maladie visible, le traitement peut renforcer le stigmate social associé à l'hémophilie. Enfin, 4) le traitement vient également rappeler au patient lui-même sa maladie, ce qui génère alors un fardeau psychologique. Ces divers fardeaux sont cependant perçus de façon différente en fonction de l'âge du patient, son mode de vie, ainsi que sa trajectoire dans la maladie et son parcours de traitement.

**Conclusion :** Les innovations thérapeutiques n'ont pas supprimé tous les fardeaux liés aux traitements. En effet, même si l'apparition de nouveaux traitements a permis à certains patients de mieux vivre avec leur maladie, les traitements comportent néanmoins différents types de fardeaux, susceptibles de peser sur la vie sociale (stigmate social associé à la maladie), émotionnelle (se vivre soi-

même comme malade), professionnelle (choix de la profession) ou plus généralement les projets de vie (par exemple la mobilité) des patients. Prendre en compte ces fardeaux est important pour adapter la prise en charge et améliorer l'adhésion des patients aux traitements.

**P 105 - Occupational integration of adults with severe haemophilia (INTHEMO): a study based on the FranceCoag registry**

N. Nguyen<sup>1</sup>, P. Auquier<sup>1</sup>, A. Beltran Anzola<sup>1</sup>, R. D'Oiron<sup>2</sup>, C. Biron-Andréani<sup>3</sup>, A. Lienhart<sup>4</sup>, A. Rauch<sup>5</sup>, K. Baumstarck<sup>1</sup>, M. Boucekine<sup>1</sup>, V. Milien<sup>6</sup>, N. Rosso-Delsemme<sup>6</sup>, C. Tabele<sup>6</sup>, N. Giraud<sup>7</sup>, T. Sannié<sup>7</sup>, H. Chambost<sup>6</sup>, N. Resseguier<sup>1</sup>, The INTHEMO Study Group<sup>8</sup>

- <sup>1</sup>Ceress – Health Services and Quality of Life Research, Aix Marseille University - Marseille (France),
- <sup>2</sup>Haemophilia Treatment Centre, Bicêtre Hospital, University Hospital of Paris (APHU) - Le Kremlin-Bicêtre (France),
- <sup>3</sup>Haemophilia Treatment Centre, University Hospital of Montpellier - Montpellier (France),
- <sup>4</sup>Haemophilia Treatment Centre, Hospital Edouard Herriot, University Hospital of Lyon - Bron (France),
- <sup>5</sup>Haemophilia Treatment Centre, University Regional Hospital of Lille - Lille (France),
- <sup>6</sup>Haemophilia Treatment Centre, Timone Hospital, University Hospital of Marseille (APHM) - Marseille (France),
- <sup>7</sup>French Patients' Association for People with Haemophilia (AFH) - Paris (France),
- <sup>8</sup>Haemophilia Treatment Centres - France

**Introduction :** ACLTOP970CL® (Werfen, Bedford, MA, Etats-Unis) **Introduction :** Haemophilia is a rare and inherited disorder affecting mainly men, characterised by bleeding due to a deficiency in clotting factors. Untreated severe haemophilia is marked by serious haemorrhagic events (e.g., intracranial haemorrhage, intraspinal haemorrhage, hemoperitoneum, hemarthrosis). However, improvements in haemophilia care, such as substitutive therapies, allow people with severe haemophilia (PwSH) to have a near-normal life expectancy, so they can reach adulthood and live with a chronic disease. This gives them more opportunities in occupational integration.

The primary objective was to assess the occupational integration of PwSH and to compare it with the reference values from the French general population (age- and sex-matched data). The secondary objective was to study the association between individual characteristics (sociodemographic, clinical, psycho-behavioural) and occupational integration of PwSH.

**Matériels et Méthodes :** A multicentre, observational, cross-sectional study was conducted in 2018–2020 on PwSH, aged over 18 and under 65 years, and included in the FranceCoag registry. Measurements included indicators of occupational integration, sociodemographic, clinical and psycho-behavioural characteristics. The indicators of occupational integration were compared with those of the French general population using indirect standardization. The data of the general population were available from the National Institute of Statistics and Economic Studies (INSEE). Determinants of occupational integration were explored using structural equation modelling.

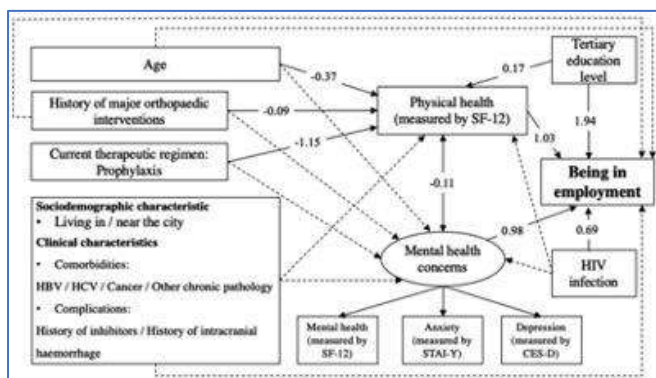
**Résultats :** In total, there were 588 participants. Most of them were men (99.3% of all participants) and the mean (SD) age was 41.1 (12.9) years.

Occupational integration of PwSH compared to the general population: The observed employment rate of PwSH was 61.6%, which was lower compared to the general population (standardized ratio (SR)=0.85; 95%CI=0.77-0.94). The rate of PwSH having no diploma or with primary/secondary education level was lower compared to the general population (SR=0.44; 95%CI=0.32-0.60),

while the rate of university graduates was higher (SR=1.38; 95%CI=1.17-1.61). PwSH chose to do intellectual work more often than the general population (SR=1.79; 95%CI=1.49-2.14). Determinants of occupational integration in PwSH (Figure 1): PwSH with tertiary education level and PwSH with better physical health were more likely to be in employment (odds ratio (OR)=1.94; 95%CI=1.49–2.53 and OR=1.03; 95%CI=1.02–1.04, respectively), while PwSH with more mental health concerns and PwSH living with HIV were less likely to be in employment (OR=0.98; 95%CI=0.97–0.99 and OR=0.69; 95%CI=0.50–0.94, respectively). Current use of prophylaxis did not have direct effect on occupational integration, but it had a negative indirect effect through physical health and mental health concerns (OR=0.91; 95%CI=0.84–0.99).

**Conclusion :** The employment rate of PwSH was lower compared to the general population, whereas their education level was higher than expected. Deterioration in physical and mental health, as well as HIV infection, could be associated with difficult occupational integration and a decrease in employability. Health and high educational attainment are key factors to job opportunities for PwSH. More support programs targeting the determinants of employment are necessary to help PwSH overcome difficulties in occupational integration.

Figure 1 : Outcomes of structural equation modelling



**P 106 - Mutation c.1611C>A (p.Cys537X) du gène de la thrombomoduline : phénotype d’une famille et évolution au cours de la grossesse**

V. Ernest<sup>1</sup>, C. Grosdidier<sup>1</sup>, C. Falaise<sup>1</sup>, N. Hezard<sup>1</sup>, C. Pouymayou<sup>1</sup>, P. Suchon<sup>2</sup>, M. Ibrahim<sup>2</sup>, P.E. Morange<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hématologie, CHU La Timone - Marseille (France), <sup>2</sup>Laboratoire d'hématologie, CHU La Timone ; Aix Marseille Univ, Inserm, Inrae, C2VN - Marseille (France)

**Introduction :** La thrombomoduline (TM) est une glycoprotéine membranaire présente à la surface des cellules endothéliales qui, en se liant à la thrombine, active la protéine C et inhibe l’action des facteurs Va et VIIIa. La mutation c.1611C>A (p.Cys537X) du gène THBD aboutit à une levée d’inhibition de la TM et entraîne une maladie hémorragique constitutionnelle rare de transmission autosomique dominante déjà rapportée au sein de deux familles. Nous rapportons les caractéristiques clinico-biologiques d’une troisième famille au niveau mondial présentant cette mutation ainsi que l’évolution des paramètres biologiques au cours d’une grossesse.

**Résultats :** Le diagnostic est posé chez une jeune femme de 22 ans devant une hémorragie avec déglobulisation après une avulsion dentaire. Son père a présenté une hémorragie après amygdalectomie nécessitant une transfusion de CGR. Son grand-père a présenté une hémorragie après avulsion dentaire, une hémorragie après fracture de la rotule, ayant nécessité transfusion

de CGR et reprise chirurgicale. Ce contexte familial évoque donc une transmission autosomique dominante.

La consommation de la prothrombine est réduite chez le grand-père, le père, le propositus et son fils (dosage du facteur II résiduel: 49%, 58%, 78%, 64% respectivement, N<30%). Le profil du test de génération de thrombine (TGT) présente une diminution du TGT avec une inhibition plus marquée sur PPP que sur PRP en comparaison avec un apparenté sain. Le dosage de la TM circulante est fortement augmenté (152 ng/mL, 159 ng/mL, 276 ng/mL, et 317 ng/mL respectivement, N<5.1ng/mL).

Le premier accouchement du propositus s’est compliqué d’une hémorragie gynécologique à six jours, après un arrêt prématuré de l’acide tranexamique, nécessitant l’administration de facteur VII activé recombinant (rFVIIa) pendant 48 heures. L’exploration de l’enfant confirme un phénotype biologique comparable et la présence de la mutation mutation. Âgé de 4 ans, il n’a jamais présenté de manifestation hémorragique. Nous la suivons au cours de sa deuxième grossesse dont le terme est prévu le 20/03/2023. Le taux de TM soluble augmente chez la patiente pendant la grossesse, mais ceci s’accompagne d’une augmentation de la génération de thrombine et de la consommation de la prothrombine (Tableau 1, Figure 1A, Figure 1B).

**Conclusion :** Du fait de sa rareté, la maladie hémorragique par mutation p.Cys537X de la TM est mal connue et son traitement est mal codifié, bien que des travaux in vitro aient suggéré l'utilisation de CCP, de transfusion plaquettaire ou l’association de plaquettes et de facteur VIII recombinant. Elle est responsable de manifestations hémorragiques provoquées. L’augmentation de la génération de thrombine étant connue en cours de grossesse, nous avons suivi le TGT en parallèle des taux de TM et de facteur II résiduel. Nous évaluerons l’effet de la prise en charge thérapeutique de l’accouchement sur le TGT (rFVIIa en cas de complication hémorragique).

Tableau 1 : suivi biologique en cours de grossesse

	Facteur II résiduel (N < 30 %)	Thrombomoduline circulante (N < 5,1 ng/mL)
Avant la grossesse	84 %	222 ng/mL
4e mois	71 %	245 ng/mL
6e mois	69 %	288 ng/mL
Apparenté sain	2 %	4 ng/mL

Figure 1A : TGT chez le propositus (FT 1 pM, PPP)

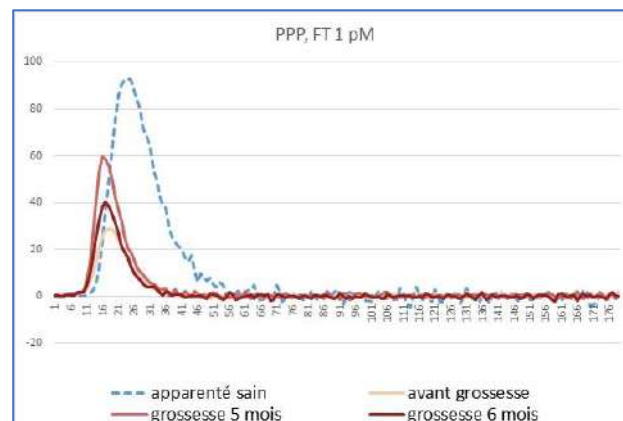
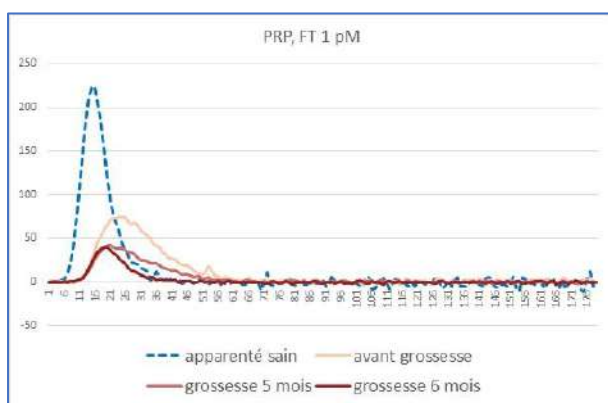




Figure 1B : TGT chez le propositus (FT 1 pM, PRP)



**P 107 - Suivi des patients de cardiologie avec l'activité anti-Xa HNF : problème ou solution ?**

C. Delassasseigne<sup>1</sup>, L. Weinmann<sup>1</sup>, V.E. Brett<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CHU Bordeaux - Bordeaux (France)

**Introduction :** L'activité anti-Xa HNF est utilisé quotidiennement par les cliniciens pour le suivi et l'adaptation des traitements par Héparine Standard. Les bornes attestant d'une activité anticoagulante curative doivent être établies par chaque laboratoire mais majoritairement définies entre 0.3 et 0.7 UI/mL. La question récurrente en cas de « sous-dosage » est donc : mon patient est-il suffisamment anti coagulé ?

Les résultats d'EEQ sont assez clairs et de nombreuses publications font effet d'une différence significative entre les réactifs existant sur le marché, notamment dans leur composition (avec ou sans Dextran, avec ou sans Antithrombine). Pour illustrer cette différence, des dosages ont été réalisés en double sur une population de patients sous HNF.

**Matériels et Méthodes :** 101 échantillons de patients provenant de services de cardiologie ont été étudiés. Les tubes ont été prélevés sur des tubes citratés 3.2% et dosés dans les 2h suivant le prélèvement. Les échantillons d'EEQ sont des échantillons lyophilisés reconstitués juste avant passage sur l'automate. Les 2 réactifs comparés sont l'HemosIL® Liquid Anti-Xa et le STA®-Liquid Anti-Xa.

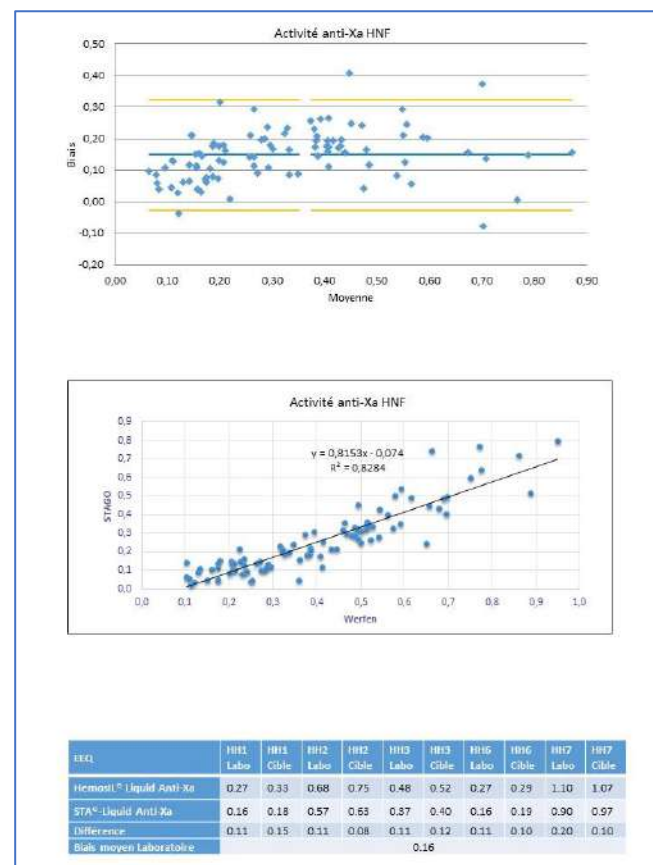
Les dosages sont tous réalisés sur ACL TOP 550 CTS Werfen®. La corrélation des activités anti-Xa entre les deux réactifs a été évaluée par un test de régression linéaire. Le biais moyen a été apprécié par un test de Bland-Altman.

**Résultats :** Une corrélation acceptable ( $R^2 = 0.83$ ) est retrouvée entre les résultats de patients avec les réactifs d'anti-Xa HNF STAGO et Werfen. Cependant, des résultats systématiquement plus élevés sont observés pour le réactif de Werfen comparé à celui de STAGO, quelle que soit la valeur de l'anti-Xa mesurée. Ce biais persistant moyen de 0.15 UI/mL obtenu chez les patients (Min-0.08 Max0.41) est confirmé par les résultats obtenus sur les échantillons d'évaluations externes de qualité (Probioqual 2022) passés au même moment.

**Conclusion :** Les recommandations de suivi des traitements anticoagulants par HNF préconisent l'utilisation de l'activité anti-Xa plutôt qu'un test global comme le TCA. Nos résultats confirment la différence significative existant entre les réactifs Werfen et STAGO concernant ce dosage et ce, indépendamment des valeurs obtenues (entre 0.1 et 0.87 UI/mL). Ce biais semble être plus systématique que proportionnel ( $R^2$  acceptable). Plusieurs paramètres peuvent rentrer en compte comme la présence de Dextran (qui déplace la liaison de l'héparine au PF4) ou la stabilité

au regard des délais de la phase pré-analytique. Pour évaluer l'efficacité de l'anticoagulation, le biologiste doit absolument connaître la sensibilité à l'héparine de son réactif de TCA et définir des bornes d'anti-Xa adaptées à son réactif. Le contexte clinico biologique (inflammation, taux d'antithrombine) est également primordial pour interpréter les résultats. Cette gestion reste complexe ; le lien entre le laboratoire et le clinicien est donc essentiel pour une prise en charge efficiente du patient.

**Comparaison Axa HNF patients et EEQ**



**P 108 - Le rôle des innovations thérapeutiques dans la création de "référentiels" de vécus avec l'hémophilie - une étude qualitative**

M. Mangez<sup>1</sup>, S. Susen<sup>2</sup>, S. Delienne<sup>3</sup>, J. Bovet<sup>4</sup>, N. Giraud<sup>5</sup>, M. Trossaert<sup>6</sup>, M. Basquin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Société Unknowns - Paris (France),

<sup>2</sup>CRC-MHC Lille - Lille (France),

<sup>3</sup>CRC-MHC Dijon - Dijon (France),

<sup>4</sup>Novo Nordisk - Puteaux (France),

<sup>5</sup>Association Française des Hémophiles - Paris (France),

<sup>6</sup>CRC-MHC Nantes - Nantes (France)

**Introduction :** Les fardeaux des traitements dans l'hémophilie A et B restent peu documentés. Cette étude qualitative vise à comprendre si ces fardeaux sont également vécus selon les profils et les caractéristiques des patients, afin d'appuyer l'individualisation de la prise en charge.

**Matériels et Méthodes :** Une étude qualitative a été réalisée auprès de 12 patients atteints d'hémophilie A et B sévères (inclus par diversité de profils cliniques), 2 aidants et 12 professionnels de santé (PDS) : 7 hématologues, 1 pharmacienne, 4 IDE). Les entretiens semi-directifs ont été conduits par une anthropologue, enregistrés et retranscrits. Leur analyse a été faite selon la méthode de la Grounded Theory.

**Résultats :** Les patients hémophiles A et B rapportent différents types de fardeaux générés par les traitements : physique, logistique, social, psychologique. Un même fardeau est cependant perçu de façon très différente selon les individus. Cette perception dépend de l'âge du patient, de son mode de vie, de sa trajectoire dans la maladie et de son parcours de traitement. Chaque patient compare en effet son expérience présente de la maladie et du traitement à son expérience passée. Il rapporte ainsi son expérience depuis un "référentiel" qui lui est propre, c'est-à-dire des représentations de la maladie et du traitement.

Le référentiel dépend donc de la génération et du type d'hémophilie. Pour un même traitement, les patients plus âgés ont tendance à rapporter des fardeaux moins importants que les patients les plus jeunes. Dans l'hémophilie A, l'arrivée des anticorps monoclonaux a fait émerger de nouveaux référentiels. Les patients sous anticorps monoclonaux rapportent un vécu de la maladie et du traitement différent de celui des patients sous facteur VIII. En revanche, les hémophiles B, tous traités sous FIX à demi-vie allongée, décrivent des fardeaux similaires. De fait, l'adoption d'un nouveau traitement conduit à un changement de référentiel.

**Conclusion :** L'intensité vécue du fardeau du traitement semble dépendre des "référentiels" propres à chaque patient. Les innovations thérapeutiques ne semblent donc pas supprimer les fardeaux du traitement, car ceux-ci sont constamment réévalués. Des fardeaux autrefois perçus comme mineurs peuvent ainsi représenter une contrainte croissante pour les plus jeunes générations de patients. Alors que l'efficacité des nouveaux traitements permet aux patients de réaliser davantage d'activités, certaines caractéristiques des traitements (telles que la conservation au froid) peuvent en effet constituer une entrave à cette nouvelle vie. Prendre en compte cette dimension subjective des fardeaux du traitement permettrait, dès lors, d'individualiser davantage la prise en charge, en proposant le traitement le mieux adapté au référentiel de chaque patient.

**P 109 - Evaluation de quatre céphalines pour le dosage de l'IDELVION® (Albutrépénocog alfa)**

L. Nougarede<sup>1</sup>, L. Seyve<sup>1</sup>, B. Bulabois<sup>1</sup>, C. Barro<sup>1</sup>, R. Marlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hémostase, Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes - Grenoble (France)

**Introduction :** Les traitements de l'hémophilie B par facteur IX recombinant à longue durée d'action, comme l'IDELVION®, FIX fusionné à l'albumine (FIX-FP) et l'ALPROLIX® (FIX-Fc), sont une avancée majeure dans la prise en charge des patients. Le dosage biologique de ces FIX est parfois nécessaire pour adapter leur posologie ou la fréquence d'administration. Le Facteur IX peut être dosé par des méthodes chronométriques ou chromogéniques. Les dosages chronométriques sont les plus répandus. Selon les réactifs utilisés, il est rapporté des différences importantes entre le taux mesuré et le taux théorique. Le couple réactif/automate a aussi son importance dans le dosage.

**Matériels et Méthodes :** Nous avons dosé en triplicat le taux de facteur IX d'un plasma d'hémophilie B sévère commercial (Cryopep) surchargé in vitro avec de l'IDELVION® sur un automate STA-R Max<sup>3</sup> (STAGO) avec quatre céphalines : STA®-C.K. PREST® (STAGO), STA®-PTTA (STAGO), TRINICLOT®-aPTT (T COAG) et ACTIN® (SIEMENS) ; et le réactif STA® IMMUNODEF IX (STAGO). La calibration a été réalisée avec le même calibrant pour toutes les céphalines : STA®-UNICALIBRATOR (STAGO). Six points de concentration cible à 80, 40, 20, 10, 5 et 2.5 UI/dL ont été préparés. Un dosage sur plasma sans IDELVION® a également été fait pour chaque céphaline.

**Résultats :** On retrouve une corrélation linéaire entre le taux de FIX mesuré et le taux de FIX théorique avec un coefficient de détermination R<sup>2</sup> compris entre 0.996 et 0.998 pour toutes les céphalines testées.

Pour les concentrations théoriques de 80, 40, 20, 10, 5, 2.5 UI/dL, les taux moyens de FIX sont respectivement de 38.9, 20.3, 10.9, 5.7, 3.6, 2.0 UI/dL avec le STA®-C.K. PREST®, de 59.7, 32.9, 18.1, 9.1, 5.5, 3.5 UI/dL avec le STA®-PTTA, de 68.7, 38.3, 21.9, 10.8, 6.8, 3.7 UI/dL avec le TRINICLOT®-aPTT et de 97.5, 54.7, 31.7, 16.6, 9.1, 5.3 UI/dL avec l'ACTIN®.

Le STA®-CK-PREST® sous-estime la concentration d'IDELVION® pour toutes les concentrations étudiées. Pour le TRINICLOT®-aPTT, on obtient des résultats proches de la valeur théorique. Avec l'ACTIN®, on observe une surestimation des concentrations de facteur IX par rapport aux concentrations cibles.

**Conclusion :** Le TRINICLOT®-aPTT donne les valeurs les plus proches de la valeur théorique et semble la céphaline la plus appropriée pour doser l'IDELVION® sur l'automate STA-R Max<sup>3</sup>.

Tableau 1 : Dosage du taux de facteur IX pour quatre céphaline selon la concentration théorique en IDELVION en UI/dL.

		[IDELVION] théorique (UI/dL)	0	2,5	5	10	20	40	80	R <sup>2</sup>
Facteur IX (UI/dL)	Céphalines									
	STA®-C.K. PREST®	Moyenne	0	2,0	3,6	5,7	10,9	20,3	38,9	0,998
		Ecart-type		0,1	0,2	0,4	0,7	1,4	1,7	
	STA®-PTTA	Moyenne	0	3,5	5,5	9,1	18,1	32,9	59,7	0,996
		Ecart-type		0,1	0,2	0,4	0,7	1,6	6,3	
	TRINICLOT®	Moyenne	0,9	3,7	6,8	10,8	21,9	38,3	68,7	0,996
		Ecart-type		0,1	0,1	0,3	0,8	2,9	3,9	
	ACTIN®	Moyenne	1,9	5,3	9,1	16,6	31,7	54,7	97,5	0,096
		Ecart-type		0,1	0,3	0,3	1,2	1,9	4,5	

**P 111 - Syndrome de plaquettes grises avec une mutation NBEAL2 associé à une dysimmunité**

B. Frotscher<sup>1</sup>, M. Martin<sup>1</sup>, M. Toussaint<sup>2</sup>, J.F. Lesesve<sup>3</sup>

<sup>1</sup>CRC-MHC CHRU Nancy - Nancy (France),

<sup>2</sup>Service d'hématologie Biologique CRHU Nancy - Nancy (France),

<sup>3</sup>Service d'hématologie Biologique, CHRU Nancy - Nancy (France)

**Introduction :** Le syndrome de plaquettes grises est une pathologie plaquettaire rare de transmission autosomique récessive, caractérisée par une macrothrombocytopenie modérée et un aspect grisâtre des plaquettes sur le frottis sanguin causé par la diminution ou l'absence de granules alpha. Les défauts moléculaires sous-jacents sont des mutations du gène NBEAL2 sur le chromosome 3p21. Les patients présentent des symptômes hémorragiques souvent modérés et certains patients peuvent développer une splénomégalie et une fibrose médullaire. Des études ont récemment révélé que cette pathologie peut également affecter la réponse immunitaire innée et adaptative par des défauts de granules dans les polynucléaires neutrophiles (PNN).

**Matériels et Méthodes :** Nous présentons un cas d'une jeune femme de 21 ans chez laquelle une thrombopénie à macroplaquettes et plaquettes géantes a été découverte de manière fortuite lors d'une hospitalisation pour une gastro-entérite à l'âge de 3 ans (plaquettes : +/- 50 G/L). L'exploration de cette thrombopénie a permis de diagnostiquer un syndrome de plaquettes grises. La recherche d'une mutation met en évidence la mutation : NM\_015175.2c.6515G>A,pArg2172His dans l'exon 40 du gène NBEAL2 à l'état homozygote (mutation délétère, non décrite actuellement, mais fortement suspectée comme responsable du syndrome de plaquettes grises). Cette mutation est trouvée à l'état hétérozygote chez les 2 parents, sans consanguinité connue. L'héмограмme est normal par ailleurs hormis parfois une

légère neutropénie avec des PNN < 1.5 mais > 1 G/L). Présence d'une augmentation de la vitamine B9 et B12. Le phénotype hémorragique chez cette patiente est modéré, essentiellement des épistaxis, gingivorragies, ecchymoses et des règles abondantes. Elle ne présente pas d'antécédent chirurgical hormis l'extraction de 3 dents temporaires sans complication hémorragique. Présence d'une splénomégalie modérée à l'échographie en 2018.

**Résultats** : A l'âge de 17 ans, une hypothyroïdie auto-immune est diagnostiquée (anticorps-anti TPO +++ ) qui est actuellement bien stabilisée par la prise du Lévothyrox 75µg/j. Récemment, à l'âge de 21 ans, la patiente a développé une inflammation non douloureuse des gencives, non typique pour une gingivite, en diminution mais persistante depuis plusieurs mois. Par ailleurs, la patiente présente des verrues plantaires au niveau des 2 pieds résistantes à tout traitement local depuis quelques années.

**Conclusion** : La patiente présente donc un syndrome de plaquettes grises associé à une altération très probable de la réponse immunitaire. Des recherches futures seront nécessaires pour élucider davantage les effets de la fonction du gène NBEAL2 dans les cellules sanguines, en particulier dans les leucocytes avec l'espoir de développer des thérapies appropriées pour ces patients.

### P 113 - Acquired von Willebrand syndrome associated with IgM gammopathy: a case of successful intravenous immunoglobulin treatment

J. Carré<sup>1</sup>, A. Ramassamy<sup>2</sup>, S. Moyrand<sup>3</sup>, M. Puyade<sup>2</sup>, F. Grand<sup>3</sup>, V. Baunin<sup>4</sup>, C. Maillochon<sup>5</sup>, C. Roul<sup>5</sup>, A. Corby<sup>5</sup>, L. Macchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service d'hématologie Biologique, Centre de Ressources et de Compétences des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles, Irmetist Inserm U1313, Université et CHU de Poitiers - 86000 Poitiers (France),

<sup>2</sup>Service de Médecine Interne et Centre de Ressources et de Compétences des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles, CHU de Poitiers - 86000 Poitiers (France),

<sup>3</sup>Service d'hématologie Biologique, CHU de Poitiers - 86000 Poitiers (France),

<sup>4</sup>Service d'hématologie Biologique, Groupe Hospitalier La Rochelle-Ré-Aunis - 17019 La Rochelle (France),

<sup>5</sup>Service d'oncologie Médicale et Hématologie, Groupe Hospitalier La Rochelle-Ré-Aunis - 17019 La Rochelle (France)

**Introduction** : Acquired von Willebrand syndrome (AVWS) is a rare bleeding disorder with low plasma level of von Willebrand factor, which occurs in patients with no previous history of bleeding event. AVWS is often associated with underlying disorders including lymphoproliferative disorders. This syndrome represents a therapeutic challenge as desmopressin and factor concentrates may be ineffective, or because underlying disorder to treat is not always identified. High dose intravenous immunoglobulin (IVIg) are an alternative therapeutic but until now their use is reserved to few cases, mainly when related to IgG monoclonal gammopathy of undetermined significance (IgG-MGUS). They are said to be ineffective in IgM hematological malignancies and there is limited literature on this topic.

**Matériels et Méthodes** : We report a patient with IgM-MGUS and AVWS, who has been referred to our reference center for hemorrhagic diseases between 2014 and 2022.

**Résultats** : A 75-year-old woman was addressed to our center for a recent history of gastrointestinal and gingival bleedings. She had no previous personal history of bleeding. Laboratory testing showed low levels of von Willebrand factor (vWF:Act 4% ; vWF:Ag 22% ; Act/Ag ratio 0.18) and factor VIII (FVIII 10%), associated to a IgM-kappa MGUS. Clinical and biological features were consistent with the diagnosis of AVWS and IgM-MGUS. Von Willebrand factor concentrates and chemotherapy (rituximab and bendamustine)

were ineffective on von Willebrand levels whereas high dose IVIG provided delayed but sustained biological response (vWF:Ag 149% ; vWF:Act 85% ; FVIII 101% on day 28 after IVIG). Due to recurrent gastro-intestinal bleedings requiring red-cell pack transfusions and hospitalisations, IVIG prophylaxis every 4 weeks was started without occurrence of any new bleeding.

**Conclusion** : Despite the lack of literature data, treatment with IVIG is only proposed in AVWS associated to IgG gammopathies and their inefficiency in IgM gammopathies is a widely accepted belief. Here, we report the case of a long-term successful treatment of AVWS associated to IgM-MGUS by IVIG and suggest that IVIG treatment should be tested even in IgM gammopathies.

### P 114 - Réel intérêt d'une double centrifugation versus simple centrifugation pour le dosage des inhibiteurs de la coagulation

S. Lemoine<sup>1</sup>, P. Cannet<sup>1</sup>, T. Boulain<sup>2</sup>, M. Cointeaux<sup>1</sup>, L. Baala<sup>1</sup>, J. Decker<sup>1</sup>, E. Legac<sup>1</sup>, T. Brungs<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service d'hématologie Biologique-CHU Orléans - Orléans (France),

<sup>2</sup>Médecine Intensive et Réanimation-CHU Orléans - Orléans (France)

**Introduction** : Selon les recommandations actuelles, les dosages des inhibiteurs de la coagulation (Antithrombine, Protéine C, Protéine S) doivent être réalisés sur du plasma obtenu après double centrifugation, afin d'obtenir un taux plaquettaire inférieur à 10 G/L. Le but de cette étude était d'évaluer s'il existait une différence significative (incluant l'impact clinique) des résultats des dosages d'inhibiteurs effectués sur un plasma double centrifugé par comparaison à une simple centrifugation.

**Matériel et Méthodes** : Etude comparative de deux méthodes utilisant des « fonds de tubes ». Les critères d'inclusion étaient les suivants : patients hospitalisés au CHU d'Orléans, âge > 18 ans, absence de traitement par anticoagulants oraux directs. A réception des prélèvements sanguins veineux sur un tube citraté, les critères pré-analytiques étaient systématiquement vérifiés (remplissage suffisant, prélèvement de moins de 4 heures, absence de caillot mise en évidence). Une première centrifugation (2250g pendant 10 minutes) était effectuée, un aliquot de plasma était conservé (C1) et un deuxième aliquot était à nouveau centrifugé (C2). Les analyses ont été réalisées sur CS-2400 et CS-5100 (Sysmex), comprenant : l'activité de l'antithrombine (AT) (Biophen AT anti-Xa LRT ; Hyphen Biomed), l'AT antigène (Liaphen AT ; Hyphen Biomed), la protéine C (PC) chromométrique (Hemoclot Protein C ; Hyphen Biomed), la PC chromogénique (Biophen protein C LRT ; Hyphen Biomed), l'activité de la protéine S (PS) (Hemoclot Protein S ; Hyphen Biomed) et la PS antigène (INNOVANCE free PS Ag ; Siemens). Chaque analyse a été réalisée sur les plasmas C1 et C2, issus du même prélèvement. Les paramètres statistiques utilisés étaient le coefficient de corrélation et l'analyse graphique de Bland-Altman.

**Résultats** : Trente patients ont été inclus dans l'étude. La numération plaquettaire était supérieure dans les plasmas C1 (17 G/L [15-103]) versus C2 (2 G/L [0-19]). Les différences observées entre les analyses effectuées sur plasma avec centrifugation simple (C1) versus double centrifugation (C2) sont dans les limites acceptables d'après les analyses de Bland-Altman et présentent un excellent coefficient de corrélation (R2) : AT activité (C1 : 81% [15-126] ; C2 : 83% [15-120], R2=0.984 ; fig.1) ; AT antigène (C1 : 80% [18-125] ; C2 : 80% [17-122] ; R2=0.997 ; fig.2) ; PC chromométrique (C1 : 49% [3-137] ; C2 : 53% [2-149] ; R2=0.989 ; fig.3) ; PC chromogénique (C1 : 54% [23-140] ; C2 : 54% [23-141] ; R2=0.998 ; fig.4) ; PS chromométrique (C1 : 55% [11-200] ; C2 : 60% [14-200] ; R2=0.979 ; fig.5) ; PS antigène (C1 : 52% [18-111] ; C2 : 52% [18-111] ; R2=0.997 ; fig.6).

**Conclusion :** Basée sur cette étude préliminaire, il n'existe pas de bénéfice à une deuxième centrifugation des plasmas pour le dosage des inhibiteurs de la coagulation. Ces données posent la question de l'intérêt de la double centrifugation pour ces analyses.

Figure 1 : Graphique de Bland-Altman AT chromogénique

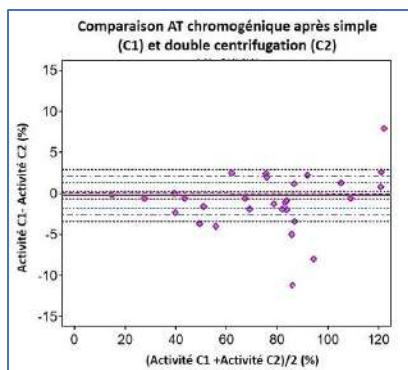


Figure 2 : Graphique de Bland-Altman AT antigène

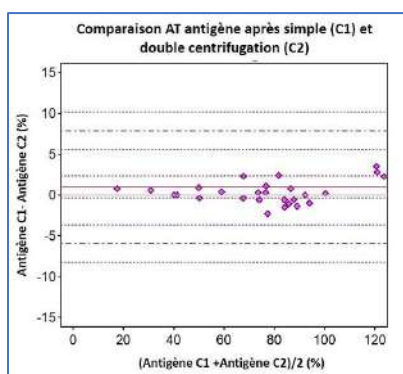


Figure 3 : Graphique de Bland-Altman PC chromométrique

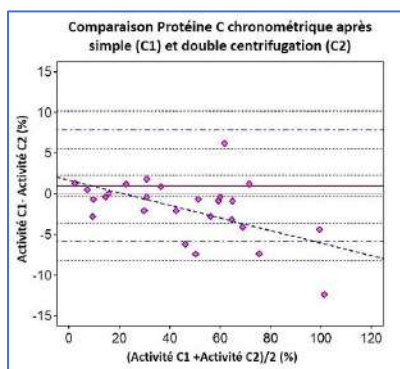


Figure 4 : Graphique de Bland-Altman PC chromogénique

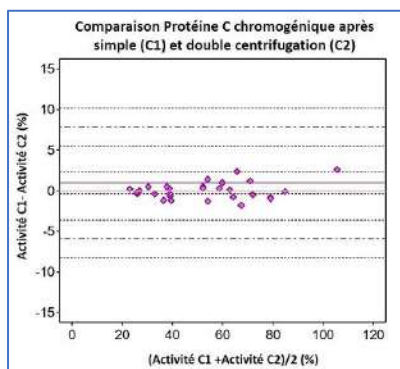


Figure 5 : Graphique de Bland-Altman PS chromométrique

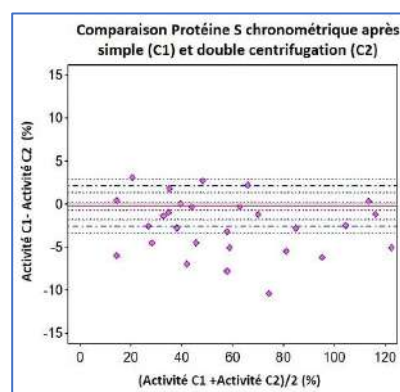
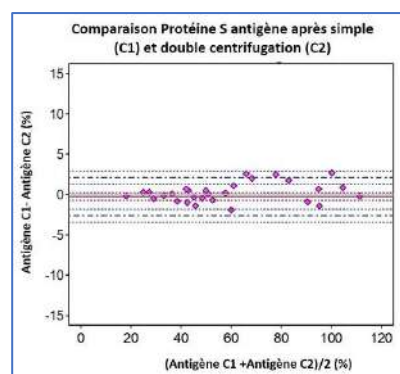


Figure 6 : Graphique de Bland-Altman PS antigène



**P 115 - Evaluation of the INNOVANCE Antithrombin assay on the ACL-TOP 750 analyzer**

M. Pouplard<sup>1</sup>, H. Bardani<sup>1</sup>, C. Gavard<sup>1</sup>, C. Lambert<sup>2</sup>, C. Hermans<sup>2</sup>, M-A van Dievoet<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hematology Department of Laboratory Medicine, Saint-Luc University Hospital - Brussels (Belgium),

<sup>2</sup>Haemostasis and Thrombosis Unit/ Haemophilia Treatment Centre/ Division of Haematology, Cliniques Universitaires Saint-Luc - Brussels (Belgium)

**Introduction :** Determination of antithrombin (AT) activity plays a central role in the diagnosis of congenital and acquired AT deficiency. AT, a serine protease inhibitor, is a major natural anticoagulant, mostly due to the inhibition of thrombin (FIIa) and factor Xa (FXa) (1, 2). Congenital deficiency of AT is a rare autosomal dominant disorder affecting 0,02-0,17% of the general population (3, 4). Acquired deficiency is caused by several pathological conditions or treatments: liver dysfunction, disseminated intravascular coagulation, thrombosis, surgery, therapy with heparin, estrogen or L-asparaginase (5).

The aim of this study is to evaluate the analytical performance of the Innovance Antithrombin kit (Siemens®, Marburg, Germany), a FXa-based AT assay on the ACL-TOP 750 analyzer (Werfen®, Barcelona, Spain). This commercial assay showed excellent sensitivity for all subtypes of congenital AT deficiencies compared to other FXa-based and FIIa-based assays (3).

**Matériels et Méthodes :** The Innovance® Antithrombin kit (Siemens) was evaluated in parallel with the established method in our laboratory: the HemosIL® Liquid Antithrombin assay (Werfen). Both methods are based on the measurement of residual activity of FXa with a chromogenic substrate. The difference between the assays is the origin of FXa: bovine reagent for the HemosIL method compared to human reagent for the Innovance method. Precision of the Innovance method was assessed by internal quality control

(QC) of both manufacturers (normal level and abnormal level) on the ACL-TOP 750 analyzer according to EP15-A2 (CLSI).

**Résultats :** The coefficients of variation (CV) of the Innovance method for different QC levels are given in Table 1. We obtained within-lab precision CVs inferior to those obtained in the Merz et al. study (6,9%) (6) which evaluated the precision of the Innovance method on different CA systems (Sysmex®, Kobe, Japan). Our repeatability was however higher than those presented in this study (3,2%). This could be due to the difference in reagent-analyzer combination. We collected 25 samples representing a clinical population evaluated for AT deficiency including patients with acquired deficiency (n=5). Figure 1 shows a good correlation between both methods with a CV comparable to those obtained in other studies (6, 7). Figure 2 demonstrates a small bias with systematically higher results for the Innovance method.

**Conclusion :** Innovance Antithrombin shows acceptable precision and consistency with the HemosIL® assay on the ACL-TOP 750 analyzer. The small analytical bias demonstrated did not result in clinical discrepancies between methods. The major advantage of the Innovance assay is its ability to detect AT deficiencies with SERPINC1 mutations not detected by other methods (3). As samples tested in this study included only acquired deficiencies, it should be interesting to do a large comparison including different types of congenital deficiencies.

Figure 1

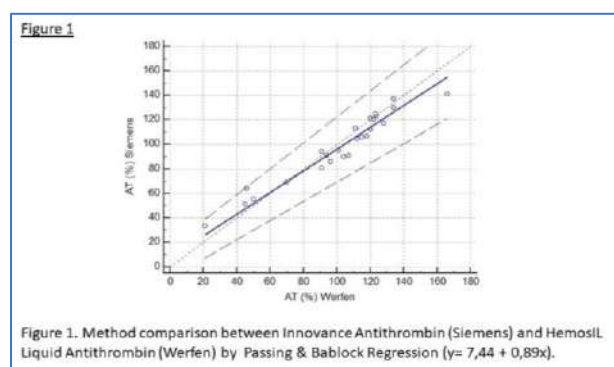


Figure 2

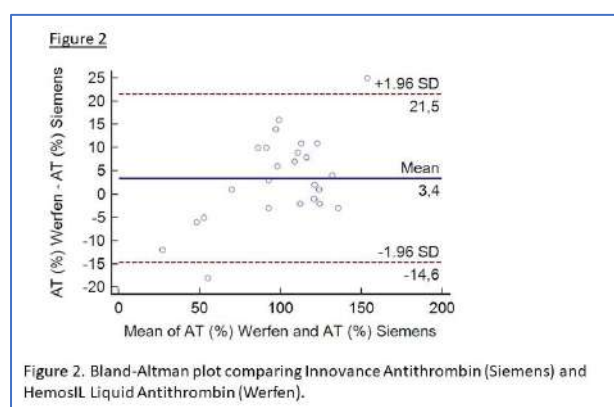


Table 1

	QC Siemens Low	QC Siemens High	QC Werfen Low	QC Werfen High
Repeatability; CV (%)	4,00	5,42	5,82	5,55
Within-lab precision; CV (%)	5,06	6,93	6,28	6,89

Table 1. Precision of the Innovance Antithrombin method evaluated by EP15-A2 (CLSI) with 2 different types of quality control material: Siemens Control N (target: 86 ; range: 85-105%), Siemens Control P (target: 29; 29-37%), Werfen Normal Control (target: 101; range: 97-109%), Werfen Abnormal Control (target: 27 ; range: 20-30%).

References

References

1. Maclean PS, Tait RC. Hereditary and acquired antithrombin deficiency: epidemiology, pathogenesis and treatment options. *Drugs*. 2007;67(10):1429-40.
2. Englisch C, Königsbrügge O, Nopp S, Moik F, Quehenberger P, Preusser M, et al. Antithrombin Activity and Association with Risk of Thrombosis and Mortality in Patients with Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(24):15770.
3. Orlando C, Heylen O, Lissens W, Jochmans K. Antithrombin heparin binding site deficiency: A challenging diagnosis of a not so benign thrombophilia. *Thromb Res*. 2015;135(6):1179-85.
4. Khor B, Van Cott EM. Laboratory tests for antithrombin deficiency. *Am J Hematol*. 2010;85(12):947-50.
5. Van Cott EM, Orlando C, Moore GW, Cooper PC, Meijer P, Mariar R, et al. Recommendations for clinical laboratory testing for antithrombin deficiency; Communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2020;18(1):17-22.
6. Merz M, Böhm-Weigert M, Braun S, Cooper PC, Fischer R, Hickey K, et al. Clinical multicenter evaluation of a new FXa-based Antithrombin assay. *Int J Lab Hematol*. 2011;33(5):498-506.
7. Favalaro EJ, Mohammed S, Vong R, Chapman K, Swanepoel P, Kershaw G, et al. A multi-laboratory assessment of congenital thrombophilia assays performed on the ACL TOP 50 family for harmonisation of thrombophilia testing in a large laboratory network. *Clin Chem Lab Med*. 2021;59(10):1709-18.

**P 116 - HAEVie : Hémophilie A sévère sans inhibiteur sous Emicizumab : analyse qualitative de la Vie au quotidien des patients**

B. Guillet<sup>1</sup>, F. Volot<sup>2</sup>, T. Lambert<sup>3</sup>, A. Harroche<sup>4</sup>, A. Borel Derlon<sup>5</sup>, N. Guérin<sup>6</sup>, S. Castet<sup>7</sup>, F. Hadim<sup>8</sup>, A. Gaude<sup>9</sup>, B. Tugaut<sup>10</sup>, A.S. Michel<sup>10</sup>

<sup>1</sup>Centre Régional de Traitement des Maladies Hémostatiques, Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, Ehesp, Irset (institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail)-UMR\_S 1085 - Rennes (France),

<sup>2</sup>Centre de Ressources et de Compétences – Maladies Hémostatiques Constitutionnelles de Dijon, CHU Dijon - Dijon (France),

<sup>3</sup>Centre de Référence de l'hémophilie et Autres Déficiences Constitutionnelles en Protéines de la Coagulation Hôpital Bicêtre, AP-HP - Le Kremlin Bicêtre (France),

<sup>4</sup>Centre de Ressources et de Compétences – Maladies Hémostatiques Constitutionnelles, Hôpital Universitaire Necker Enfants Malades - Paris (France),

<sup>5</sup>Laboratoire d'hématologie, CHU de Caen - Caen (France),

<sup>6</sup>Centre de Ressources et de Compétences – Maladies Hémostatiques Constitutionnelles de Caen CHU Caen - Caen (France),

<sup>7</sup>Centre de Ressources et de Compétences – Maladies Hémostatiques Constitutionnelles, CHU Bordeaux Pellegrin - Bordeaux (France),

<sup>8</sup>Roche - Boulogne-Billancourt (France),

<sup>9</sup>Chugai - Paris (France),

<sup>10</sup>Patient Centered Outcomes, Icon Plc - Lyon (France)

**Introduction :** Emicizumab est un anticorps monoclonal indiqué dans le traitement des patients atteints d'hémophilie A sévère (HAS) avec ou sans inhibiteur, ayant démontré une efficacité significative par administration sous-cutanée, offrant ainsi une nouvelle option thérapeutique en prophylaxie.

L'objectif de cette analyse qualitative était d'explorer l'impact du traitement par emicizumab sur la vie quotidienne des patients atteints d'HAS sans inhibiteur du point de vue des patients et des professionnels de la santé (PDS).

**Matériels et Méthodes :** Des chercheurs expérimentés en étude qualitative ont mené des entretiens téléphoniques semi-structurés d'une heure, avec des patients HAS adultes et des PDS en France, entre décembre 2021 et juillet 2022. Les critères de sélection étaient les suivants : patients adultes sous prophylaxie régulière pendant au moins 24 mois, dont 12±3 mois avec emicizumab ; et PDS (incluant cliniciens et infirmier(e)s spécialisés dans la prise en charge des patients atteints d'HAS et traités par emicizumab. Une analyse qualitative par thématique basée sur les notes des enquêteurs a été effectuée, comprenant une comparaison des points de vue des patients et des PDS.

**Résultats :** 13 patients (âge : médian=37ans, intervalle=18-59) et 8 PDS (4 infirmier(e)s, 4 cliniciens) ont été interrogés. Les patients traités par emicizumab ont rapporté des changements notables dans leurs vies quotidiennes. Ils ont mentionné une amélioration des symptômes : diminution de la fréquence et de la gravité des

saignements, diminution des ecchymoses et des hémarthroses, et une réduction des douleurs articulaires. Ils ont également évoqué une diminution du fardeau thérapeutique, incluant la réduction de la fréquence d'injection et la facilité d'utilisation de l'injection sous-cutanée. Néanmoins, ils ont mentionné la nécessité d'améliorer le kit d'injection. Les changements ont eu une incidence positive sur la vie quotidienne et le bien-être des patients avec une amélioration de leurs conditions physiques et de leurs états émotionnels. Certains patients ont même déclaré ne plus se sentir malades. Les PDS ont rapporté des changements similaires dans la vie quotidienne des patients en ce qui concerne leurs traitements et leurs symptômes. De plus, ils ont noté une incidence sur l'organisation dans les centres des PDS et sur les pratiques médicales. Le besoin d'éducation thérapeutique à l'initiation du traitement était important, mais une fois le traitement mis en place, une réduction de la fréquence des appels d'urgence et/ou une modification de la raison de ces appels ont été remarquées.

**Conclusion :** La prophylaxie par emicizumab change positivement la vie quotidienne des patients adultes atteints d'HAS sans inhibiteur et réduit la fréquence des soins d'urgence. L'expérience des patients adultes et la perception des PDS étaient globalement similaires.

**P 117 - Quel marqueur de fibrinoformation et/ou fibrinolyse choisir : Monomères de fibrine ou PDF ?**

N. Sillamy<sup>1</sup>, E. Buffard-Guionet<sup>1</sup>, E.A. Guéry<sup>1</sup>, E. Archer<sup>1</sup>, C. Vayne<sup>1</sup>, C. Pouplard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre Hospitalier Régional Universitaire de Tours, Service d'hématologie-Hémostase - Tours (France)

**Introduction :** La CIVD est un trouble acquis de l'hémostase caractérisé par une activation systémique de la coagulation et pouvant engendrer des manifestations cliniques thrombotiques ou hémorragiques. Lorsque le contexte clinique est évocateur, le dosage de biomarqueurs permettant d'explorer la fibrinoformation et/ou la fibrinolyse est très souvent réalisé. Parmi ceux qui sont actuellement disponibles figurent les monomères de fibrine (MF) et les produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène (PDF). Cependant, la littérature est assez pauvre quant à la comparaison des performances de ces tests dans ce contexte.

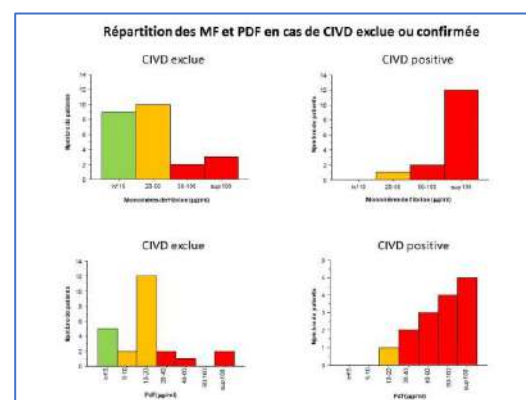
**Matériels et Méthodes :** Sur une période de 6 mois, tous les échantillons plasmatiques pour lesquels un dosage de PDF (FDP Plasma, Stago) était demandé ont été congelés. Sur ces échantillons, les MF (STA-Liatest FM, Stago) ont ensuite été dosés. 89 échantillons correspondant à 80 patients ont été inclus. Selon le contexte clinique, 5 groupes de patients ont été individualisés : hémorragie du post partum (HPP) (n=8), fin de chirurgie cardiaque avec circulation extracorporelle (CEC) (n=42), hépatopathies (n=17), post-greffe hépatique (n=5) et autres contextes (n=17). En dehors des patients CEC et HPP, les données cliniques et biologiques (à l'exclusion des résultats de PDF et MF) ont été analysées par deux biologistes afin d'établir ou non un diagnostic de CIVD. Les valeurs seuils pour les MF et les PDF ont été fixées à 10 µg/ml et 5 µg/ml respectivement.

**Résultats :** Les PDF et MF ont été dosés de façon systématique en dehors de tout contexte de CIVD en post-CEC. Les PDF sont absents (< 5 mg/ml) dans 83% des cas (35/42) alors que les MF sont < 10 mg/ml dans seulement 9% des cas (5/42) (med 69 mg/ml ; extrêmes 5-150). Dans un contexte clinique d'HPP, les PDF et les MF sont systématiquement supérieurs aux valeurs seuils, avec un ensemble de résultats respectivement > 10 mg/ml (et > 160 µg/ml dans 2 cas) et > 22 mg/ml (med 139 ; extrêmes 22-150). Une CIVD était suspectée sur les 39 autres demandes et a été confirmée dans 15

cas. Les MF étaient > 50 mg/ml et les PDF > 20 mg/ml dans 93,3% des cas (14/15) (un cas avec MF = 48 µg/ml et PDF entre 10-20 µg/ml). Parmi les 24 cas pour lesquels la CIVD était exclue, les MF étaient plus fréquemment inférieurs à la valeur seuil (9/24) que les PDF (5/24).

**Conclusion :** Le diagnostic de CIVD repose sur un faisceau d'arguments cliniques et biologiques et les PDF comme les MF sont intégrés au score de CIVD de l'ISTH. Lors d'une CIVD, ces deux marqueurs sont augmentés de façon concomitante et avec une Se de 100% aux valeurs seuils et de 93,3% en utilisant comme seuil évocateur de la CIVD 50 mg/ml pour les MF et 20 mg/ml pour les PDF. Cependant, l'absence d'élévation des MF est plus fréquemment observée lorsque la CIVD est exclue, rendant ce marqueur plus spécifique que les PDF dans ce contexte. En post-CEC, nos résultats soulignent la très mauvaise spécificité des MF puisqu'ils peuvent être très augmentés en dehors de toute CIVD ; une mesure des PDF sera donc plus informative devant une suspicion de CIVD en chirurgie cardiaque. Le choix du meilleur marqueur de fibrinoformation/fibrinolyse n'est donc toujours pas résolu. Dans notre laboratoire, les MF ont été choisis dans le but d'améliorer le délai de rendu de résultat avec une technique automatisée, ce qui n'est pas totalement satisfaisant. Une étude de coût du test n'est jamais très simple à réaliser, mais le coût de ces deux tests semble comparable.

*Répartition des MF/PDF - CIVD exclue ou confirmée*



**P 118 - Observatoire des traitements de la Filière MHEMO, optimiser l'accès aux traitements des maladies hémorragiques rares en France**

L. Tourvieille<sup>1</sup>, V. Chamouard<sup>2</sup>, C. Paris<sup>3</sup>, P. Saultier<sup>4</sup>, M.C. Alessi<sup>4</sup>, Y. Dargaud<sup>2</sup>, S. Susen<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Filière de Santé Maladies Rares Mhemo, Maladies Hémorragiques Constitutionnelles, CHU de Lille - Lyon (France),

<sup>2</sup>Centre de Référence Hémophilie, Filière Mhemo, Hôpital Louis Pradel, Hospices Civils de Lyon - Lyon (France),

<sup>3</sup>Centre de Référence Maladie de Willebrand, Filière Mhemo, CHU de Lille - Lille (France),

<sup>4</sup>Centre de Référence Pathologies Plaquettaires Constitutionnelles, Filière Mhemo, Hôpital de la Timone, Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille - Marseille (France)

**Introduction :** L'observatoire des traitements est une des missions des filières maladies rares introduite par le Plan National Maladie Rare 3. Il a pour vocation de favoriser un accès rapide des patients aux innovations thérapeutiques. Cette mission représente un enjeu majeur puisqu'aujourd'hui, environ 95% des maladies rares n'ont pas accès à un traitement. Au sein de la filière MHEMO, la coordination de l'observatoire des traitements de la filière MHEMO est assurée par deux pharmaciens en lien avec le bureau et en

collaboration avec un correspondant médical par centre de référence (CR).

**Matériels et Méthodes** : La première étape a consisté à identifier les utilisations hors autorisation de mise sur le marché (AMM) des médicaments dans chaque domaine d'expertise des trois CR. Une analyse bibliographique exhaustive a été réalisée et est régulièrement actualisée. Chaque utilisation hors AMM est validée en réunion de concertation pluridisciplinaire nationale par centre de référence depuis mi 2020. Les cohortes de patients ainsi concernées par un traitement hors AMM sont suivies afin de recueillir des données d'efficacité et de sécurité de ces médicaments en vie réelle. La deuxième étape concerne la mise en place de cadres réglementaires pour encadrer les usages hors AMM répertoriés grâce à la réforme des accès dérogatoires du 30 juin 2021 (décret n°2021-869), nommément les accès précoces et accès compassionnels.

**Résultats** : Dans les trois CR de la filière MHEMO, 9 premières situations cliniques nécessitant un usage de médicament hors AMM ont été recensées : 4 dans l'hémophilie, 3 dans la maladie de Willebrand et 2 dans les pathologies plaquettaires. Au total, une cinquantaine de patients sont actuellement concernés au sein de la filière. Des synthèses bibliographiques exhaustives pour trois situations cliniques dans l'hémophilie et la maladie de Willebrand sont accessibles pour les professionnels de santé sur les sites internet des CR et de MHEMO. Pour octroyer un cadre réglementaire à ces usages, des dossiers d'accès précoces et de cadre de prescription compassionnelle, selon la situation clinique dans laquelle le médicament est employé, sont en cours de rédaction pour soumission aux tutelles (ANSM, HAS) dans les semaines à venir.

**Conclusion** : L'observatoire des traitements est un processus novateur qui permet d'optimiser la mise en place de la réforme de l'accès dérogatoire au médicament initié par les tutelles en encadrant et remboursant les prescriptions hors AMM. Il offre ainsi une sécurisation de la prise en charge du patient atteint d'une maladie rare en garantissant un bénéfice clinique favorable. Une interface entre le registre français FranceCoag et la Banque Nationale de Données Maladies Rares est prévue pour le suivi des cohortes a posteriori, ce qui permettra d'améliorer la connaissance du rapport bénéfice risque de l'utilisation des médicaments en vie réelle.

### P 119 - Syndrome de Willebrand acquis (AVWS) - une expérience française multicentrique

B. Frotscher<sup>1</sup>, F. Volot<sup>2</sup>, A. Fournel<sup>3</sup>, P. Nguyen<sup>4</sup>, J. Wimmer<sup>5</sup>, A. Callegarin<sup>6</sup>, M. Martin<sup>1</sup>, M. Colinart-Thomas<sup>4</sup>, R. Benoît<sup>1</sup>, O. Feugeas<sup>7</sup>, G. Mourey<sup>3</sup>, E. Demaistre<sup>2</sup>, D. Desprez<sup>7</sup>

<sup>1</sup>CRC-MHC CHRU Nancy - Nancy (France),

<sup>2</sup>CRC-MHC CHRU Dijon - Dijon (France),

<sup>3</sup>CRC-MHC CHRU Besançon - Besançon (France),

<sup>4</sup>CRC-MHC CHRU Reims - Reims (France),

<sup>5</sup>Laboratoire d'hématologie - Strasbourg (France),

<sup>6</sup>Laboratoire d'hématologie - Dijon (France),

<sup>7</sup>CRC-MHC CHRU Strasbourg - Strasbourg (France)

**Introduction** : Le syndrome de Willebrand acquis (AVWS) est un syndrome hémorragique rare dont la fréquence est probablement sous-estimée en raison de l'hétérogénéité de l'étiologie et de la présentation clinique.

**Matériels et Méthodes** : Nous avons rétrospectivement (1992-2022) identifié une cohorte de 71 patients diagnostiqués AVWS et suivis dans 4 Centres de Traitement de l'Hémophilie de l'Est de la France. Le diagnostic d'un AVWS a été évoqué chez ces patients

devant une diminution du taux du FVIII et du facteur de Von Willebrand (VWF) et l'absence d'antécédents hémorragiques personnels ou familiaux, le dosage du propeptide du VWF pouvant également être informatif. Un bilan étiologique a été réalisé chez tous les patients. En cas de présence d'une gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS) ou d'un syndrome lymphoprolifératif avec expression d'immunoglobuline (IgM, IgG, IgA), la réponse du traitement par immunoglobulines intraveineuses (IgIV) a été évaluée.

**Résultats** : L'âge médian au diagnostic était de 66,5 ans (3-89). La durée moyenne de suivi était de 8 ans (0-30). Le AVWS a été découvert lors d'un bilan d'hémostase systématique chez 30 patients, tandis que chez les 41 autres un syndrome hémorragique a conduit au diagnostic. Les valeurs biologiques montrent un FVIII:C, un antigène VWF et une activité VWF respectivement de 25 % (8-131), 21 % (4-89) et 10 % (4-48). Quarante-sept déficits qualitatifs et 24 déficits quantitatifs (rapport VWFAct/VWFAg  $\leq$  0,6 et  $>$  0,6 respectivement) et 1 déficit indéterminé ont pu être identifiés. La recherche d'inhibiteur était positive chez 2 patients. Un dosage du propeptide VWF a été réalisé chez 43 patients avec un rapport médian PP/VWFAg de 7 (1,12-53). Une maladie sous-jacente a été identifiée chez 64 patients alors que pour 7 patients, le bilan étiologique était négatif. Vingt-neuf patients présentaient une gammopathie à IgG et 20 une gammopathie à IgM. Trente des 34 patients traités par IgIV, dont 6 avec une gammopathie à IgM, ont montré une normalisation du FVIII et VWF. Une réponse partielle a été observée chez un patient atteint d'une maladie de Waldenström. Une diminution de la réponse au fil du temps a été observée chez 4 patients. La guérison de l'AVWS a été obtenue avec un traitement étiologique chez 16 patients, 9 patients ont continué à saigner, 17 décès ont été observés. Trente-six patients ont été traités avec des concentrés de VWF à efficacité variable avec une demi-vie après injection d'un concentré de VWF de 3 à 12 heures.

**Conclusion** : L'AVWS est une maladie hémorragique sous-estimée d'étiologies et de mécanismes physiopathologiques différents dont le diagnostic et le traitement restent difficiles. Des registres plus étendus et prospectifs sont nécessaires pour mieux comprendre cette pathologie et standardiser les options de traitement. Notamment le traitement par IgIV chez les patients atteints d'une gammopathie à IgM devra être évalué sur une plus importante cohorte.

### P 120 - Évaluation d'un nouvel analyseur de paillasse automatisé pour le laboratoire d'hémostase : le sthemO 201

M. Pawlowski<sup>1</sup>, M. De Saint Jore<sup>1</sup>, S. Louis<sup>1</sup>, T. Roussel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Urgence Hôpital Sud-CHU Rennes - Rennes (France)

**Introduction** : Le sthemO 201 est un nouvel analyseur entièrement automatisé conçu pour la détermination qualitative ou quantitative des paramètres d'hémostase grâce à des méthodes de coagulation chronométriques (en détection mécanique), chromogéniques, immunologiques et en immuno-chemiluminescence dans le plasma citraté. Cet instrument de paillasse vise à optimiser les performances analytiques et la productivité du laboratoire. Notre objectif était d'évaluer les performances du sthemO 201 par rapport au système actuel du laboratoire (STA Compact Max, Diagnostica Stago, France).

**Matériels et Méthodes** : L'étude a été réalisée pour les paramètres suivants : taux de prothrombine (TP), temps de céphaline activé (TCA), fibrinogène Clauss (Fib), taux de thrombine (TT), antithrombine (AT) et D-dimères (DDi). Pour chaque paramètre, la répétabilité et la reproductivité ont été déterminées à l'aide de

plasmas de contrôles de qualité. Les temps de référence pour le TP et le TCA ont été calculés à partir des résultats de 20 échantillons normaux. La comparaison de méthodes a été réalisée sur 60-80 échantillons environ par paramètre. La sensibilité à l'hémolyse (H), l'ictère (I) et la lipémie (L) a été évaluée pour le TP, TCA et le Fib à partir de pool de plasmas (normaux et anormaux) hémolysés par aspiration/refoulement (H) ou surchargés en bilirubine conjugués ou intralipides (I et L respectivement). Enfin, la productivité a été évaluée sur des séries de 20 à 50 tests sur des échantillons issus de la routine du laboratoire.

**Résultats** : Précision : les coefficients de variation obtenues étaient tous inférieurs à 4,7% pour la répétabilité (inférieurs à 2% en TP et DDi) et 5,3% pour la reproductibilité (inférieurs à 2% en DDi).

Temps de référence : 12,5 secondes pour le TP, 34,1 secondes et 29,3 secondes pour les TCA silice et kaolin respectivement.

L'équivalence entre les deux systèmes a été démontrée pour l'ensemble des paramètres avec des coefficients de corrélation tous supérieurs à 0,975 excepté pour le TT avec un coefficient à 0,88 et l'AT avec un coefficient de 0,90. Les pentes de régression sont comprises entre 0,9 et 1,1 excepté l'INR qui fait l'objet d'investigation sur le temps témoin.

Sensibilité HIL : pas d'impact sur le résultat du TP et Fib en H et L. Impact modéré pour le TCA pathologique en H sur l'échantillon le plus hémolysé (pas d'impact en L). Surcharge du I non concluante faute de dissolution de la bilirubine.

Productivité : la cadence du sthemO 201 est supérieure à celle du STA Compact Max avec un gain de 30 à 46% sur le rendu de résultats pour l'ensemble de la série. Le temps de chargement des échantillons est diminué de 75%.

**Conclusion** : sthemO 201 est conforme aux limites acceptables des standards du GFHT en termes de précision. Les résultats sont équivalents à ceux du STA Compact Max. L'ergonomie et la productivité sont améliorées, ce qui fluidifiera l'organisation de la paillasse Hémostase.

### P 121 - Suspicion de coexistence d'hémophilie A et de maladie de Willebrand type 2N à Abidjan

A. Adjambri<sup>1</sup>, R. N'guessan-Blao<sup>1</sup>, A.E. N'draman-Donou<sup>1</sup>, M. Yayo-Ayé<sup>1</sup>, M.L. Adjé<sup>2</sup>, N. Meité<sup>3</sup>, M. Gnemagnon<sup>2</sup>, M. Sangaré<sup>1</sup>, H. Kassi-Kablan<sup>1</sup>, S. Bouvier<sup>4</sup>, D. Sawadogo<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department d'hématologie, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Felix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>2</sup>Unité d'hématologie, Laboratoire Central, Centre Hospitalier et Universitaire de Yopougon, Abidjan, Côte d'Ivoire - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>3</sup>Service d'hématologie Clinique, Centre Hospitalier et Universitaire de Yopougon, Abidjan, Côte d'Ivoire - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>4</sup>Department d'hématologie, Centre Hospitalier et Universitaire de Nîmes, Université de Montpellier, France - Nîmes (France),

<sup>5</sup>Department d'hématologie, Centre Hospitalier et Universitaire de Nîmes, Université de Montpellier, France - Abidjan (Côte d'Ivoire)

**Introduction** : L'hémophilie A et la maladie de Willebrand sont les troubles héréditaires de l'hémostase les plus fréquents, et très peu de cas de coexistence ont été rapportés. L'hétérozygotie composite associant mutation du F8 type hémophilie A et mutation du VWF du type 2N existe et peut rendre plus complexe la prise en charge thérapeutique des patients ce qui nous a conduit à entreprendre un dépistage ciblé.

**Matériels et Méthodes** : Cette étude a concerné 48 patients suivis dans le service d'hématologie clinique d'Abidjan pour trouble de la coagulation et ayant un déficit en FVIII. Les données des patients ont été collectées de juin 2018 à avril 2019. Nous avons analysé le VWF par 3 approches biologiques : VWF:Ag, VWF:Ac et VWF:FVIIIIB.

Le dosage de la capacité de liaison du VWF du patient au FVIII purifié (VWF : FVIIIIB) a été réalisé par méthode ELISA en utilisant le kit ASSERACHROM® VWF : FVIIIIB, Stago, Asnières, France.

**Résultats** : L'âge moyen était de 14 ans. Les signes hémorragiques observés étaient : 71% d'associations [hématomes + hémarthroses + hémorragies cutanéomuqueuses], 19% d'associations [hématomes + hémarthroses], contre seulement 6% d'hémorragies cutanéomuqueuse isolées. L'analyse de la liaison du VWF au facteur VIII nous a permis d'observer une baisse de la capacité de liaison chez 7 patients (15%) inférieure à 65% ; les dosages antigeniques (VWF:Ag) et fonctionnels (VWF:Ac) du VWF sont normaux ; les rapports VWF:FVIIIIB / VWF:Ag sont abaissés (normes > 0,74).

**Conclusion** : Cette étude a permis de mettre en évidence un déficit de liaison chez sept patients avec une VWF:FVIIIIB < 65%, suggérant l'existence d'une maladie de Willebrand de type 2N hétérozygote. La suspicion chez nos patients hémophiles A, d'atteinte génétique composite avec addition d'une mutation du gène VWF de type 2N devra être définitivement argumentée, au-delà de l'analyse nécessaire du gène F8, par l'analyse du gène VWF.

### P 123 - Le PLASMIC score pour rendre plus efficient le diagnostic biologique de Purpura Thrombotique Thrombocytopénique (PTT)

M. Terrasse<sup>1</sup>, C. Nougier<sup>1</sup>, E. Jusselme<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service d'hématologie Biologique, Centre de Biologie et Pathologie Est - Lyon (France)

**Introduction** : Le PTT, défini par une activité ADAMTS13 inférieure à 10%, est une micro angiopathie thrombotique (MAT) dont le diagnostic relève de l'urgence. Lors d'une suspicion clinique, différents scores existent afin de motiver la mise en place rapide d'un traitement adapté (échanges plasmatiques) même en l'absence de dosage de l'activité ADAMTS13, mesure rarement réalisée en 24h/24h. Avec la mise en place de la mesure automatisée de cette activité dans notre laboratoire, une fiche de renseignements basée sur le PLASMIC<sup>2</sup> score a été réalisée pour chaque demande de dosage. Nous avons évalué en rétrospectif si, devant un score fort, la réalisation immédiate du dosage aurait pu éviter la réalisation d'échanges plasmatiques.

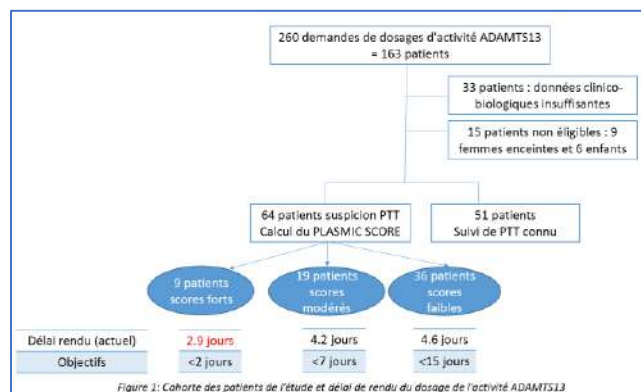
**Matériels et Méthodes** : Entre février 2021 et février 2022 aux Hospices Civils de Lyon, nous avons reçu 260 demandes de dosage d'activité ADAMTS13 pour 163 patients (figure 1). Le PLASMIC score, avec 7 critères clinico-biologiques, a été calculé pour les diagnostics de MAT uniquement, chez 64 patients adultes pour lesquels les renseignements étaient suffisants (enfants et femmes enceintes exclus). Les délais de rendu (heure de prélèvement - validation biologique) et les diagnostics finaux ont été retrouvés.

**Résultats** : Sur les 64 patients, nous avons identifié 36 scores faibles, 19 modérés et 9 forts. Il a été diagnostiqué 7 PTT acquis, 1 SHU atypique par déficit en complément et 42 MAT secondaires. 14 MAT ont été finalement exclues. Le délai de rendu du dosage d'ADAMTS13 est de 2.3 jours en moyenne pour un PTT et 4.5 jours pour une MAT secondaire. Concernant les 7 PTT, 6 sont des scores forts, et 1 modéré. Le diagnostic de PTT représente 67% des scores forts, 5% des scores modérés, 0% des scores faibles. Les délais de rendu en fonction du score sont de 2.9 jours pour un score fort, 4.2 jours pour un score modéré et 4.6 jours pour un score faible. Parmi les 3 scores forts « non-PTT », 2 patients n'ont pas eu d'échanges plasmatiques et 1 patient allait en bénéficier à tort (patient décédé avant prise en charge clinique).



**Conclusion :** Du fait de la présence de la mesure automatisée de l'activité ADAMTS13 dans notre laboratoire, la réalisation du dosage en urgence devant tout score fort permettrait d'améliorer le délai de rendu (actuellement de 2.9 jours) et d'éviter des échanges plasmatiques à tort. En effet, bien que le PLASMIC score soit un bon outil pour aider les cliniciens à distinguer à priori un PTT, seul le dosage peut valider avec certitude la prise en charge clinique (6 PTT parmi nos 9 scores forts). Nous préconisons donc une attitude systématique avec la réalisation du dosage en urgence (2 jours maximum) avec une programmation rapide du dosage des anticorps anti-ADAMTS13 en cas de score fort. En cas de score modéré, sans appel des cliniciens, l'activité pourrait être rendue dans la semaine et en moins de 2 semaines en cas de score faible.

#### Cohorte et délai de rendu du dosage d'ADAMTS13



#### P 124 - Intérêt du dosage des paramètres témoins de la formation de fibrine chez des diabétiques de type II à Abidjan

A. N'guessan-Blaoui<sup>1</sup>, M. Yayo-Aye<sup>1</sup>, A.E. N'draman-Donou<sup>1</sup>, H. Kassi-Kablan<sup>1</sup>, T. Kamagaté<sup>1</sup>, M. Gnemagnon<sup>2</sup>, M.L. Adje<sup>2</sup>, M. Sangare-Bamba<sup>3</sup>, A.E. Adjambri<sup>3</sup>, S. Bouvier<sup>3</sup>, D. Sawadogo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Département Hématologie, Immunologie, Biologie Générale, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>2</sup>Laboratoire CHU Yopougon - Abidjan (Côte d'Ivoire),

<sup>3</sup>Département Hématologie, Immunologie, Biologie Générale, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire - Abidjan (Côte d'Ivoire)

**Introduction :** Le nombre de patients diabétiques est de plus en plus croissant dans nos pays africains. Le diagnostic tardif de cette affection contribue à la survenue précoce de complications mettant en mal le pronostic vital des diabétiques. L'hyperglycémie permanente observée au cours de la maladie diabétique est responsable de lésions vasculaires susceptibles d'entraîner de nombreuses complications. Cette atteinte vasculaire résulte du dysfonctionnement de plusieurs composantes de la physiologie vasculaire conduisant à un état d'hypercoagulabilité susceptible d'entraîner un risque thrombotique. Afin d'identifier des marqueurs précoces de survenue de ces complications vasculaires chez le diabétique nous avons mené cette étude dont l'objectif était d'étudier les paramètres de l'hémostase témoin de la formation de la fibrine et de la fibrinolyse (Fibrinogène, Monomères de Fibrine, Dimères et PAI) chez des Diabétiques de type II noirs africains.

**Matériels et Méthodes :** Cette étude transversale, concernait des diabétiques de type II consentants, de tout sexe, avec ou sans complications. Le spécimen biologique pour l'hémostase était constitué de plasma pauvre en plaquettes obtenu après centrifugation à 3 000 tours pendant 15 minutes, de sang veineux

recueilli sur tube contenant du citrate trisodique à 3,2%. Nous avons effectué le dosage des D-dimères, des monomères de fibrine, du fibrinogène sur automate STA MAX de Stago® et du PAI réalisé par technique ELISA. En marge de ces paramètres, des dosages biochimiques ont été réalisés (Glycémie, HbA1c..).

**Résultats :** Notre population d'étude était constituée de 211 diabétiques de type 2 avec un âge moyen de 55 ans avec une prédominance féminine. Les complications de type microvasculaire étaient les plus retrouvées (73,4%). La durée moyenne du diabète était de 7 ans. La surcharge pondérale a été retrouvée chez 59,7% des patients, il a existé un lien entre la survenue de complication et la durée du diabète avec un p=0,004. En moyenne le déséquilibre glycémique (8,73%) et l'hyperglycémie(1,63g/l) ont été observés. Les taux de fibrinogène, de D-dimères et de monomères de fibrine étaient augmentés respectivement chez 45%,31,3% et 20,8% des patients. En tenant compte de la présence(C+) ou non de complication(C-), le taux de fibrinogène était normal (3,96 g/l) chez les patients (C-) et augmenté chez les (C+) (4,16g/l). Les Dimères ajustés à l'âge étaient positifs (>0,5 ug/ml) aussi bien chez les patients (C+) que chez les (C-)respectivement 0,85 ug /ml et 0,98 ug/ml. Les taux moyens de monomères de fibrine étaient augmentés indépendamment de la présence ou non de complication. Seul le taux moyen de PAI était normal dans chacun des groupes.

**Conclusion :** Les paramètres témoins de la formation de la fibrine, D-dimères, monomères de fibrine étaient perturbés chez les patients diabétiques, ceci traduit un risque thrombotique dont l'exploration permettra d'optimiser la prise en charge chez les diabétiques de type II.

#### P 126 - Peut-on améliorer le diagnostic et la prise en charge des saignements utérins anormaux (SUA) ? Perception des femmes/filles et des professionnels de santé en France

M. Fiore<sup>1</sup>, Y. Repessé<sup>2</sup>, H. Schneid<sup>3</sup>, R. d'Oiron<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hématologie du CHU de Bordeaux - Pessac (France),

<sup>2</sup>Laboratoire d'hématologie Biologique - Caen (France),

<sup>3</sup>Laboratoire Novonordisk - La Défense (France),

<sup>4</sup>CRC-MHC-Kremlin-Bicêtre - Kremlin-Bicêtre (France)

**Introduction :** Les SUA affectent des millions de femmes dans le monde dont environ 1/5 peut présenter une maladie hémorragique (MH) souvent non diagnostiquée. Une étude a été réalisée dans 7 pays sur la perception et la reconnaissance des SUA chez les femmes/filles (F) concernées et des professionnels de santé (PS) de 1ère ligne, [médecins généralistes (MG) et gynécologues/obstétricien(ne)s (GYN/OB)]. L'objectif était d'identifier les freins à lever pour favoriser un diagnostic plus précoce et une meilleure prise en charge des SUA. L'analyse des résultats obtenus en France est présentée ici.

**Matériels et Méthodes :** Les entretiens et enquêtes en ligne ont été réalisés par Brunswick (mandaté par NovoNordisk) au Brésil, Canada, Chine, France, Allemagne, Arabie Saoudite et Turquie (mars-déc. 2021). L'objectif était de comprendre la sensibilisation au diagnostic des SUA, ainsi qu'aux symptômes de MH des PS de 1ère ligne et des F. L'étude s'est déroulée en 3 phases : des entretiens approfondis avec des PS spécialistes de MH, des enquêtes en ligne auprès des F, des MG et des GYN/OB, enfin une analyse des données par les PS spécialistes. En France, un panel de 1016 F d'âges, de niveaux d'éducation et d'origine géographique variés et 202 PS (101 MG et 101 GYN/OB) ont participé. L'analyse des données françaises a été réalisée par Unknowns (financé par Novo Nordisk).

**Résultats** : L'âge moyen des F ayant participé était de 34,4 ans, 5% avec antécédents familiaux de MH. 68% des MG et 69% des GYN/OB pensent que les F sont peu ou pas sensibilisés au sujet des MH. 79% des MG et 85% des GYN/OB pensent que la stigmatisation ou la gêne sociale liées aux règles réduit globalement la probabilité qu'une F avec SUA recherche une aide médicale, mais 47% des F déclarent avoir vu, lu ou entendu des informations sur les SUA et 18% sur les MH. De nombreuses F (86%) pensent reconnaître les symptômes de SUA et 37% ceux des MH. 77% des MG et 96% des GYN/OB indiquent savoir identifier les SUA. Cependant, des signes tels que "durée  $\geq$  8 jours/débordement et gros caillots/doublement de protections", ne sont pas reconnus comme indicateurs de SUA par 17/28/49% des MG et 23/14/37% des GYN/OB. Les SUA impactent la qualité de vie selon 36% des MG et 65% des GYN/OB. Seulement 23% des MG sont très confiants pour décider de la prise en charge des SUA. 36% des MG et 45% des GYN/OB se disent familiers avec les diagnostics de MH. Pour 75% des MG, la prise en charge incombe principalement aux GYN/OB et pour 26% aux hématologues. Les GYN/OB et les MG respectivement, adressent les F avec SUA aux hématologues systématiquement dans 14% et 0% des cas et jamais dans 19% et 70% des cas. 12% des femmes disent avoir déjà reçu un traitement pour SUA (une contraception orale dans 67% des cas et de l'acide tranexamique dans 4%).

**Conclusion** : Les SUA et les MH restent méconnues chez les F et PS de 1ère ligne en France. Cette enquête souligne les besoins d'amélioration de connaissance et de sensibilisation aux SUA et au MH que ce soit celle des PS ou de la population générale, en vue de lutter contre l'errance diagnostique et pour leur meilleure prise en charge.

### P 127 - Evaluation de l'évolution du Parcours de Soins suite à la mise à disposition d'emicizumab en pharmacie d'officine

V. Chamouard<sup>1</sup>, L. Fraticelli<sup>2</sup>, E. Promé-Combel<sup>1</sup>, E. Agnellet<sup>1</sup>, M. Cabon<sup>1</sup>, Y. Dargaud<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hôpital Louis Pradel, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Centre de Référence Hémophilie et Autres Déficiets Constitutionnels en Protéines de La Coagulation - Bron (France),

<sup>2</sup>Université Claude Bernard Lyon 1, Laboratoire P2s (parcours Santé Systémique), Unité de Recherche 4129, 7 - Lyon (France)

**Introduction** : Depuis juin 2021, les patients atteints d'hémophilie A avec inhibiteurs anti-facteur VIII et les patients atteints d'hémophilie A sévère sans inhibiteur anti-facteur VIII ont la possibilité de recourir à la pharmacie d'officine ou hospitalière de leur choix pour la dispensation de leur traitement emicizumab (Hemlibra®). L'instauration de ce double circuit s'est accompagnée d'un dispositif de formation e-learning appelé HEMOPHAR, et de la mise en place d'une coordination entre les Centres de Ressources et de Compétences-Maladies Hémostatiques Constitutionnelles et les pharmaciens d'officine. L'étude nationale PASO DOBLE DEMI vise à évaluer l'efficacité et la sécurité de ce nouveau parcours en évaluant le dispositif de formation des pharmaciens d'officine et la satisfaction des patients qui ont choisi la dispensation en ville.

**Matériels et Méthodes** : La méthodologie repose sur le modèle de Kirkpatrick qui consiste à évaluer la réaction des pharmaciens d'officine ayant suivi la formation, leur niveau de connaissance et leur pratique professionnelle, ainsi que la satisfaction des patients.

**Résultats** : Parmi les officinaux formés, 40,9% ont finalisé les 4 modules de formation (présentation de la maladie, prise en charge thérapeutique, organisation des soins, mise en situation à l'officine). A l'issue de la formation, 69,2% étaient globalement tout à fait satisfaits et 30,8% assez satisfaits. Les niveaux de satisfaction

étaient moindres concernant le support et la durée de formation (53,8% et 50,0% tout à fait satisfaits).

Au décours de leur pratique, 75,6% des pharmaciens observent que le patient anticipe son renouvellement d'ordonnance à chaque fois, mais 10,6% rapportent que l'ordonnance ne mentionne jamais le dosage des flacons. Aussi, 7,8% des pharmaciens ont déjà été confrontés à une situation d'urgence, dont 13,9% ont eu recours à un tiers pour gérer la situation (dans 40% médecin hospitalier). Plus d'un pharmacien sur 3 estiment avoir besoin d'un support d'éducation thérapeutique (39,4%).

Les motivations des patients pour la dispensation en ville concernent dans 95,1% la proximité avec le lieu de résidence et 56,9% la disponibilité de leur pharmacien. Les patients étaient tout à fait satisfaits des informations délivrées par le centre de traitement à propos d'emicizumab (87,0%), du passage de l'hôpital vers la ville (86,2%) et de la relation avec le pharmacien d'officine (79,7%). Une marge d'amélioration est observée concernant le kit d'injection et les conseils dispensés par le pharmacien d'officine pour le traitement (36,6% et 42,3% tout à fait satisfaits).

**Conclusion** : Cette étude souligne la satisfaction des patients qui ont choisi la dispensation en pharmacie d'officine et apporte des pistes d'amélioration pour la formation des officinaux et pour l'optimisation de la coordination avec les centres de traitement. Cette étude rapporte également la faisabilité du passage en ville dans un circuit pharmaceutique sécurisé y compris dans le contexte d'une maladie rare telle que l'hémophilie.

### P 128 - Déficit en protéine C acquis secondaire à une transplantation hépatique

E. Din<sup>1</sup>, E. Dancette<sup>1</sup>, I. Ben Salah<sup>1</sup>, C. Trichet<sup>1</sup>, L. Mauge<sup>2</sup>, G. Sophie<sup>2</sup>, D. Helley<sup>2</sup>, O. Roux<sup>3</sup>, F. Dondero<sup>4</sup>, F. Cauchy<sup>4</sup>, A. Sepulveda<sup>4</sup>, E. De Raucour<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service Hématologie Biologique, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Beaujon - Clichy (France),

<sup>2</sup>Service d'hématologie Biologique, Assistance Publique – Hôpitaux De Paris, Hôpital Européen Georges-Pompidou et Université Paris Cité, Inserm, Parcc - Paris (France),

<sup>3</sup>Service d'hépatologie et Transplantation Hépatique, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Beaujon et Université Paris Diderot, Inserm U1149 - Clichy (France),

<sup>4</sup>Service de Chirurgie Hépatobiliaire et Transplantation Hépatique, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Beaujon et Université De Paris - Clichy (France)

**Introduction** : Les thromboses veineuses post transplantation hépatique (TH) sont essentiellement constituées des thromboses portes qui surviennent généralement de manière précoce. L'incidence des thromboses veineuses profondes (TVP) en post TH est mal connue, des incidences de 2.7 et 8.6% ont été rapportées par des études portant sur la survenue de TVP à long terme en post TH. Par ailleurs, de très rares cas de thrombophilies acquises par la TH ont été décrits dans la littérature. Nous rapportons ici le premier cas d'acquisition d'un déficit en protéine C post TH confirmée par biologie moléculaire sur l'ADN du greffon.

**Matériels et Méthodes** : Il s'agit d'une patiente de 62 ans ayant eu une TH à l'hôpital Beaujon pour cirrhose éthylique compliquée d'ascite réfractaire. En post opératoire, un traitement par héparine de bas poids moléculaire pendant une quinzaine de jours et par aspirine au long cours sont instaurés à titre systématique. Trois mois après la TH, elle présente une phlébite fémoro-poplitée pour laquelle elle est traitée par tinzaparine sodique relayée par warfarine pendant neuf mois. La chirurgie hépatique majeure étant considérée comme un facteur de risque de thrombose, il est décidé d'arrêter le traitement anticoagulant.

Les antécédents personnels et familiaux de thrombose étant non informatifs et le délai d'apparition de cet événement thrombotique chez cette patiente à trois mois de la chirurgie majeure rendant le caractère provoqué de la thrombose discutable, un bilan de thrombophilie est réalisé. Il révèle alors un déficit en protéine C à 50% en activité anticoagulante, contrôlé sur un second prélèvement à 33% et en quantitatif (antigène à 46%). Le reste du bilan de thrombophilie étant normal, on suspecte un déficit acquis isolé en protéine C secondaire à la TH.

**Résultats :** Cette hypothèse a été confirmée par l'étude génétique réalisée sur l'ADN du greffon par Next Generation Sequencing (NGS), qui a mis en évidence la présence de deux variants à l'état hétérozygote et probablement en position cis : une substitution c.703A>C (exon 8) induisant la modification p.(Lys235Gln), variation décrite associée à un déficit qualitatif de type IIb (IIAC) et une délétion c.1186\_1195del (exon 9) induisant la modification p.(Asp396Argfs\*22).

Devant ce déficit en protéine C et après évaluation de la balance bénéfique/risque, le traitement anticoagulant a été repris. Cette décision a été confortée par la consultation des données cliniques du donneur via l'Agence de Biomédecine qui ont mis en évidence des antécédents multiples d'événements thrombotiques (phlébite, embolie pulmonaire (EP), TVP) pour lesquels le donneur était traité par anti-vitamine K au long cours. La cause de son décès est iatrogénique (accident vasculaire cérébral hémorragique).

**Conclusion :** Le cas que nous rapportons souligne l'intérêt de réaliser un bilan de thrombophilie chez les patients transplantés hépatiques présentant un événement thromboembolique veineux surtout si le délai d'apparition est retardé et en cas d'antécédents de thrombose chez le donneur. Le foie étant le lieu de synthèse de la majorité des protéines de la coagulation, l'interprétation du bilan de thrombophilie chez le transplanté hépatique est délicate et nécessite une approche rigoureuse.

### P 129 - Satisfaction des patients hémophiles vis-à-vis de la dispensation d'emicizumab en pharmacie d'officine ou hospitalière

V. Chamouard<sup>1</sup>, L. Fraticelli<sup>2</sup>, J. Freyssenge<sup>3</sup>, M. Cabon<sup>1</sup>, E. Promé-Combel<sup>1</sup>, Y. Dargaud<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hôpital Louis Pradel, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Centre de Référence Hémophilie et Autres Déficiets Constitutionnels en Protéines de La Coagulation - Bron (France),

<sup>2</sup>Université Claude Bernard Lyon 1, Laboratoire P2S (Parcours Santé Systémique), Unité de Recherche 4129 - Lyon (France),

<sup>3</sup>Université Claude Bernard Lyon 1, Laboratoire Reshape (Research on Healthcare Performance), Inserm U1290 - Lyon (France)

**Introduction :** Depuis le 15 juin 2021, les patients atteints d'hémophilie A avec inhibiteurs anti-facteur VIII et les patients atteints d'hémophilie A sévère sans inhibiteur anti-facteur VIII ont la possibilité de recourir à la pharmacie d'officine ou hospitalière de leur choix pour la dispensation de leur traitement emicizumab (Hemlibra®). A posteriori de la mise en place de ce double circuit, une enquête nationale de satisfaction avait pour objectif de comparer la satisfaction des patients au niveau de leur qualité de vie et des conditions d'accessibilité au traitement selon le mode de dispensation choisi ; pharmacie d'officine ou hospitalière.

**Matériels et Méthodes :** Les patients majeurs, les aidants ou les représentants légaux des patients mineurs, vivant en France ou en DOM-TOM, étaient éligibles pour participer à l'étude qui consistait à répondre à un questionnaire électronique qui a permis notamment de calculer les temps de parcours. Entre le 13 septembre 2022 et le 9 janvier 2023, 175 répondants ont participé dont 123 en pharmacie d'officine et 52 en pharmacie hospitalière.

**Résultats :** Les patients présentaient des profils comparables selon le mode de dispensation avec 53,7% d'handicap reconnu en officine, et 57,7% en pharmacie hospitalière. Les tranches d'âge représentées n'étaient pas statistiquement différentes. Les patients étaient plus nombreux sur un rythme d'injection d'une fois tous les 14 jours en officine (67,5% vs 50,0%, p=0,0444).

Les patients en ville étaient moins nombreux à juger le kit d'injection adapté (48,0% vs 69,2%, p=0,0157) avec 10,6% (n=13) des patients en ville qui rencontraient des difficultés lors de l'administration du traitement et 7,7% (n=4) à l'hôpital (p=0,7581), notamment lors du transfert du médicament dans la seringue (n=7 vs n=1). Quel que soit le mode de dispensation, la proportion des patients connaissant la conduite à tenir en cas d'oubli de dose était comparable (86,2% vs 90,4%, p=0,6048), sans qu'une différence soit observée sur la fréquence de survenue d'oubli des doses.

Les patients étaient globalement plus satisfaits de la dispensation d'emicizumab en officine par rapport aux patients à l'hôpital (tout à fait satisfaits : 87,0% vs 63,5%, p<0,001), notamment vis-à-vis du temps de trajet pour se rendre à la pharmacie avec une médiane de 3 minutes (intervalle interquartile [2;5]) contre 22 minutes pour les patients à l'hôpital [12;55], également par rapport au temps passé sur place (≤10 minutes, 81,3% vs 40,4%, p<0,001). Les patients en officine étaient également plus satisfaits de la relation avec leur pharmacien (79,7% vs 55,8%, p=0,0022). Les niveaux de satisfaction concernant les conseils relatifs au traitement (p=0,7596) ou les modalités de renouvellement d'ordonnance (p=0,5660) étaient comparables à la ville comme à l'hôpital.

**Conclusion :** La qualité de vie et l'accessibilité au traitement des patients est globalement améliorée avec le passage en ville. Cette étude a permis de souligner des points d'amélioration au niveau de l'éducation thérapeutique des patients concernant l'utilisation du kit d'injection notamment.

### P 130 - Conduite à tenir devant une thrombose sur voie centrale chez l'enfant. Avis d'experts du Groupe des Pédiatres de la CoMETH

C. Oudot<sup>1</sup>, S. Bayart<sup>2</sup>, S. Meunier<sup>3</sup>, A. Harroche<sup>4</sup>, A. Theron<sup>5</sup>, C. Berger<sup>6</sup>, S. Thouvenin<sup>6</sup>

<sup>1</sup>CRC MHC Toulouse - Toulouse (France),

<sup>2</sup>CRC MHC Rennes - Rennes (France),

<sup>3</sup>CRC MHC Lyon - Lyon (France),

<sup>4</sup>CRC MHC Necker - Paris (France),

<sup>5</sup>CRC MHC Montpellier - Montpellier (France),

<sup>6</sup>CRC MHC St Etienne - St Etienne (France)

**Introduction :** Les thromboses sur cathéters centraux (TVCTC) représentent 50-80% des thromboses veineuses profondes chez l'enfant. Les facteurs de risque de survenue d'une TVCTC sont multiples.

**Matériels et Méthodes :** Ces recommandations sont le travail consensuel d'experts, basé sur l'analyse de la littérature et l'expérience.

**Résultats :** La prévention est primordiale chez les enfants porteurs d'un cathéter central CTC. Aucune méthode (verrou d'actilyse ou alteplase ou urokinase ou héparine en continu) n'a fait preuve d'efficacité. Des mesures préventives telles que le respect du calibre du cathéter adapté au poids/taille de l'enfant, le rinçage pulsé en pression positive, la limitation des prélèvements et la réalisation d'un rinçage adapté de la voie après prélèvement sont indispensables afin de réduire ces phénomènes.

Le diagnostic est évoqué sur la clinique (douleur ou œdème d'un membre, syndrome cave supérieur, circulation collatérale, pâleur ou cyanose d'un membre, impotence fonctionnelle), en cas de dysfonction du cathéter (caractère positionnel, absence de retour, difficultés de perfusion), devant un syndrome infectieux ou

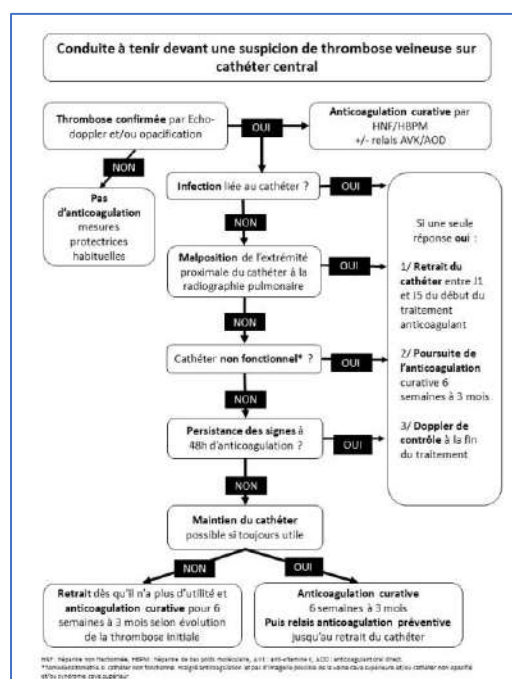
inflammatoire inhabituel ou une possible infection liée à la CTC. En cas de suspicion, une échographie doppler est à réaliser afin de confirmer le diagnostic.

Le bilan biologique à prévoir avant de débuter un traitement anticoagulant comprend NFS plaquettes, TP TCA et fibrinogène. Le bilan de thrombophilie n'est pas indiqué pour un 1er épisode de TVCTC mais peut se discuter en contexte particulier.

Le traitement recommande un anticoagulant parentéral dès le diagnostic. Il repose sur une héparine (de préférence de bas poids moléculaire HBPM par voie sous-cutanée SC), avec un relais possible par voie orale par antivitamine K (AVK) ou un anticoagulant oral direct (AOD). Dans le cas où le CTC n'est plus fonctionnel ou n'est plus nécessaire, nous recommandons de le retirer au plus tôt, et après au moins 1 jour d'anticoagulation. Selon la possibilité de retrait du CTC, le contrôle doppler à 5 +/- 1 semaines, et les facteurs de risque associés (thrombotique et/ou hémorragique), la durée de traitement est comprise entre 6 semaines et 3 mois.

**Conclusion :** Ce travail, basé sur une démarche consensuelle de la prise en charge des TVCTC de l'enfant, a pour but d'harmoniser nos pratiques sur le territoire. Il permet d'envisager une étude prospective pour valider nos pratiques et la conduite à tenir proposée.

Arbre décisionnel thrombose sur cathéter central



**P 131 - Syndrome de Willebrand acquis et leucémie lymphoïde chronique : à propos de deux cas et revue systématique des cas de la littérature**

A. Dupont<sup>1</sup>, A. Butelet<sup>2</sup>, D. Roos-Weil<sup>3</sup>, M. Srour<sup>4</sup>, E. Jeanpierre<sup>1</sup>, M. Daniel<sup>5</sup>, A. Rauch<sup>1</sup>, S. Susen<sup>1</sup>, S. Poulain<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Univ. Lille, Inserm, Chu Lille, Institut Pasteur De Lille, U1011 Egid - Lille (France),  
<sup>2</sup>Laboratoire D'hématologie, Pôle De Biologie Territoriale, Chu De Reims - Reims (France),  
<sup>3</sup>Hematology Department, Pitié-Salpêtrière Hospital - Paris (France),  
<sup>4</sup>Service Des Maladies Du Sang, Chu De Lille - Lille (France),  
<sup>5</sup>Service D'hémostase Et Transfusion, Chu De Lille - Lille (France),  
<sup>6</sup>Laboratory Of Hematology, Biology And Pathology Center, Chu Of Lille, Inserm Umr S 1177, Team 4, Cancer Research Institute - Lille (France)

**Introduction :** La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est un syndrome lymphoprolifératif B CD5+. Les infections et les

cytopénies auto-immunes telles que l'anémie hémolytique auto-immune ou le purpura thrombopénique immunologique constituent des événements fréquents dans la LLC. Le syndrome de Willebrand acquis (SWa) est une pathologie hémorragique rare caractérisée par un défaut quantitatif et/ou qualitatif du facteur Willebrand (VWF) et un syndrome hémorragique cutanéomuqueux, d'intensité variable, chez des patients sans antécédent personnel ou familial pouvant évoquer une origine congénitale. Le diagnostic d'un SWa repose sur des analyses plasmatiques du VWF : mesure des taux antigéniques (VWF:Ag) et de l'activité (VWF:Act), du taux de facteur VIII coagulant (FVIII:c), étude de la répartition des multimères, dosage du propeptide (VWFpp) et recherche d'anticorps anti-VWF. Les SWa sont dans près de la moitié des cas rapportés secondaires à un syndrome lymphoprolifératif. Nous rapportons 2 nouvelles observations de cas de SWa associés à une LLC ainsi que les résultats d'une revue systématique des cas publiés.

**Matériels et Méthodes :** Une revue systématique de la littérature a été réalisée en Janvier 2023 en interrogeant la base de données PubMed sans restriction de temps et avec les mots clefs suivants « willebrand » et « chronic lymphocytic leukemia » ou « small lymphocytic lymphoma ». La synthèse est présentée.

**Résultats :** Vingt-deux cas ont été identifiés dans la littérature auxquels se rajoutent 2 nouvelles observations. Seize d'entre eux sont des hommes et l'âge médian au diagnostic de SWa est de 66 ans (de 46 à 92 ans). Tous les patients ont présenté un syndrome hémorragique cutanéomuqueux majoritairement représenté par des épistaxis. Lors du diagnostic de SWa, 15 patients présentaient un TCA significativement allongé et en moyenne, le VWF:Act était de 10% (de 1 à 20), le VWF:Ag de 28% (de 3 à 80), le FVIII:c de 28% (de 7 à 64) et le ratio VWF:Act/VWF:Ag de 0,45 (de 0,1 à 1.3). Ainsi, 22 patients sur 24 ont un déficit qualitatif en VWF. L'étude des multimères du VWF réalisée pour 11 patients montre pour 10 d'entre eux une réduction des formes de haut poids moléculaire. Lorsque le dosage de VWFpp a été réalisé (n=4), le ratio VWFpp/VWF:Ag était très augmenté témoignant d'une clairance accélérée du VWF. Un anticorps anti-VWF a été identifié chez 4 patients sur 12. En l'absence de référentiel, on observe une très grande hétérogénéité de la prise en charge du SWa dans ce contexte. Huit patients ont bénéficié de concentrés de VWF pour contrôler le syndrome hémorragique. Quatre patients sont décédés au décours du SWa dont 2 suite à un syndrome hémorragique non contrôlé.

**Conclusion :** Cette étude montre que les cas rapportés de SWa, aux complications hémorragiques potentiellement graves, dans un contexte de LLC sont très rares et relativement mal documentés. Mieux connaître la physiopathologie des SWa dans les LLC permettra d'optimiser la prise en charge des hémorragies chez ces patients, en particulier avec l'arrivée en première ligne des thérapies ciblées dont certaines augmentent le risque hémorragique.

**P 132 - Anticoagulation des patients insuffisants rénaux sévères : tinzaparine une alternative à l'héparine non fractionnée ?**

I. Gouin-Thibault<sup>1</sup>, A. Mansour<sup>2</sup>, C. Caribotti<sup>3</sup>, A. Ballerie<sup>4</sup>, L. Maucorps<sup>5</sup>, P. Gueret<sup>5</sup>, F. Nédelec-Gac<sup>5</sup>, A. Pontis<sup>1</sup>, G. Mahé<sup>6</sup>, S. Vannier<sup>7</sup>, N. Béhar<sup>8</sup>, I. Cardiet<sup>3</sup>, X. Delavenne<sup>9</sup>, T. Frouget<sup>10</sup>

<sup>1</sup>Hématologie-Hémostase, CHU Pontchaillou-Inserm UMRS1085, Université de Rennes - Rennes (France),  
<sup>2</sup>Anesthésie Réanimation-CTCV, CHU Pontchaillou-Inserm UMRS1085, Université de Rennes - Rennes (France),  
<sup>3</sup>Pharmacie, CHU Pontchaillou - Rennes (France),  
<sup>4</sup>Médecine Interne, CHU Pontchaillou - Rennes (France),

<sup>5</sup>Hématologie-Hémostase, CHU Pontchaillou - Rennes (France),  
<sup>6</sup>Médecine Vasculaire, CHU Pontchaillou - Rennes (France),  
<sup>7</sup>Neurologie, CHU Pontchaillou - Rennes (France),  
<sup>8</sup>Cardiologie, CHU Pontchaillou - Rennes (France),  
<sup>9</sup>Pharmacologie, CHU Saint-Etienne, Umr51059, Université de Lyon-Saint Etienne - Saint-Etienne (France),  
<sup>10</sup>Néphrologie, CHU Pontchaillou - Rennes (France)

**Introduction :** L'héparine non fractionnée (HNF) est l'anticoagulant de choix chez les patients insuffisants rénaux sévères (IRS). Tinzaparine, dont la part d'élimination rénale est moins importante que celle des autres HBPM, est une alternative à l'HNF. Cependant, les données cliniques et pharmacologiques de son utilisation chez les IRS sont très limitées.

Cette étude a pour but d'évaluer, chez des patients hospitalisés avec IRS et traités par tinzaparine: 1/le niveau d'activité anti-Xa 2/les saignements et, 3/les complications thrombotiques, pendant la durée du traitement.

**Matériels et Méthodes :** Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique sur 18 mois, incluant tous les patients traités par tinzaparine à dose préventive (4500 IU.day<sup>-1</sup>) ou thérapeutique (175 IU.kg<sup>-1</sup>.jour<sup>-1</sup>) et présentant une IRS, définie par une estimation du débit de filtration glomérulaire par CKD-EPI (eGFR)<30 mL.min<sup>-1</sup>. Selon un protocole local, la mesure de l'activité anti-Xa au pic était préconisée chez ces patients pour dépister une accumulation.

Les caractéristiques démographiques et cliniques des patients et les données relatives au traitement par tinzaparine ont été collectées à partir des dossiers informatisés. L'activité anti-Xa a été mesurée avec le réactif Liquid anti-Xa® et les calibrants dédiés, sur un STAR Max3 (Stago). Lorsque plusieurs valeurs d'anti-Xa étaient disponibles pour un même patient, seule la plus élevée a été retenue pour l'analyse. Les hémorragies majeures ont été définies selon les critères de l'ISTH. Les complications thrombotiques correspondaient à la survenue d'une thrombose artérielle ou veineuse.

**Résultats :** Entre janvier 2020 et octobre 2021, 802 séjours d'hospitalisation de 623 patients traités par tinzaparine avec un eGFR médian de 14 mL.min<sup>-1</sup> dont 25% de patients dialysés, ont été analysés (Table, Figure). Les indications étaient la prévention (n=545, médicale 84%, péri-opératoire 16%) et le traitement (n=257, MTEV 35%, FA 59%, autres 6%). L'activité anti-Xa a été mesurée chez 236 patients et les valeurs au pic (4-6 h après injection) étaient comparables à celles rapportées chez les patients sans insuffisance rénale. Une hémorragie majeure, le plus souvent gastro-intestinale, est survenue chez 2,4% et 4,3% des patients traités à dose prophylactique et thérapeutique, respectivement. Ces patients avaient un eGFR plus bas que les patients sans saignement. Il n'y avait pas d'association entre le niveau d'anti-Xa et la survenue d'un saignement majeur. Aucun patient n'a présenté de complication thrombotique.

**Conclusion :** Cette étude incluant un grand nombre de patients IRS dont une proportion importante de patients dialysés, montre que l'utilisation de tinzaparine à dose standard préventive ou thérapeutique semble bien tolérée dans cette population à risque hémorragique et thrombotique accru. Une analyse de l'ensemble des valeurs d'anti-Xa disponibles par approche de pharmacocinétique de population est en cours.

**Caractéristiques des patients et du traitement**

Table 1  
 Patient, treatment and monitoring characteristics during treatment period according to bleeding and non-bleeding patients

Values are expressed as number (n) or median (IQR)	All n=802	No-Bleeding n=778	Major-Bleeding n=24	P-value
Female sex	305 (37%)	287 (37%)	18 (75%)	0.005
Age (years)	73 (62-83)	73 (62-83)	77 (66-85)	0.355
Weight (kg)	77 (60-83)	77 (60-83)	75 (59-90)	0.441
eGFR at enrollment initiation (mL/min)	14 (9-20)	14 (9-20)	11 (4-13)	0.006
Hemodialysis	209 (26%)	199 (25%)	8 (33%)	0.898
Prophylactic treatment	545 (68%)	522 (67%)	23 (95%)	0.142
Indication medical (p<peroperative)	822 (89%)	800 (89%)	22 (92%)	0.976
Treatment duration (day)	0 (0-15)	0 (0-15)	1 (4-10)	0.076
Anti-Xa values	0	0	0	0
Peak anti-Xa values	100 (20)	100 (20)	2 (20)	0.720
Peak anti-Xa values (U/ml)	58 (53)	57 (53)	1 (8)	0.602
Peak anti-Xa values (U/ml)	0.20 (0.14-0.20)	0.20 (0.14-0.20)	0.45 (0.45-0.45)	0.112
Therapeutic treatment	257 (32%)	246 (32%)	11 (46%)	0.142
Indication STE/AF/other	90 (35)/252 (98)/15 (6)	88	3	0
Treatment duration (day)	7 (3-12)	7 (3-12)	5 (4-8)	0.448
Actual dose (U/kg)	172 (161-180)	172 (161-180)	173 (161-180)	0.798
Anti-Xa values	0	0	0	0
Peak anti-Xa values	122 (40)	117 (48)	19 (15)	0.005
Peak anti-Xa values (U/ml)	67 (52)	62 (53)	5 (50)	0.599
Peak anti-Xa values (U/ml)	0.79 (0.54-0.91)	0.72 (0.54-0.91)	0.79 (0.73-0.80)	0.670

STE: subcutaneous heparin; AF: atrial fibrillation; STE: subcutaneous heparin; AF: atrial fibrillation  
 p-value: Wilcoxon-rank-sum-test; Pearson's Chi-square test; Fisher's exact test

**P 133 - Un farceur éphémère : histoire d'un anti-facteur XI asymptomatique et transitoire**

H. Phung<sup>1</sup>, C. Farkh<sup>1</sup>, M.C. Bourrienne<sup>1</sup>, J. Gay<sup>1</sup>, V. Andrieu<sup>1</sup>, M. Katims<sup>2</sup>, T. Goulenok<sup>2</sup>, A. Dossier<sup>2</sup>, A. Perrier-Cornet<sup>1</sup>, E. de Raucourt<sup>3</sup>, N. Ajzenberg<sup>1</sup>, D. Faille<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'hématologie, APHP, Hôpital Bichat Claude Bernard - Paris (France),  
<sup>2</sup>Medecine Interne, APHP, Hôpital Bichat Claude Bernard - Paris (France),  
<sup>3</sup>Laboratoire d'hématologie, APHP, Hôpital Beaujon - Paris (France)

**Introduction :** Le déficit constitutionnel en facteur XI (FXI) est rare (prévalence estimée à 1/1 000 000) et s'exprime cliniquement essentiellement par des saignements provoqués (traumatisme, geste chirurgical ou invasif...), le risque hémorragique étant alors peu corrélé avec la sévérité du déficit. Des très rares cas de déficits acquis en FXI par l'apparition d'un auto-anticorps ont été rapportés dans la littérature et leur conséquence clinique est mal connue.

**Matériels et Méthodes :** Nous rapportons le cas d'une femme de 54 ans, sans antécédent médical, prise en charge pour une cardiopathie ischémique. Elle est initialement traitée par bithérapie anti-agrégante plaquettaire (clopidogrel et acide acétylsalicylique 75mg) puis, suite à l'échec de revascularisation percutanée, un pontage coronarien est prévu.

**Résultats :** Le bilan d'hémostase préopératoire retrouve un TCA allongé (ratio 1,8 ; HemosIL APTT SP, Werfen®) (TP 80%, Fibrinogène 3g/L), un TCK allongé (ratio 1,5 ; CK Prest Stago®) et un déficit isolé en FXI à 11% (HemosIL facteur XI/SynthASIL).

A l'interrogatoire, la patiente ne rapporte aucun antécédent hémorragique personnel (extraction dentaire, hernie discale, 2 accouchements dont 1 sous péridurale, sans complication hémorragique) ou familial. Elle signale également la prise récurrente d'anti-inflammatoires non stéroïdiens. De plus, un bilan d'hémostase réalisé un mois auparavant montrait un TCA normal. Un déficit acquis en FXI est donc suspecté.

La recherche d'inhibiteur dirigé contre le FXI (méthode de Bethesda modifiée) est réalisée et se retrouve positive avec un titrage à 1,76 unité Bethesda/mL, confirmant le déficit acquis.

Le bilan auto-immun retrouve par ailleurs des anticorps anti-β2GP1 IgG fortement positifs (171 UC, seuil >30UC) et anticardiolipine faiblement positifs (45 UC, seuil >20UC). Le reste du bilan étiologique est négatif.

La chirurgie cardiaque étant semi-urgente, celle-ci est reportée afin de surveiller la cinétique de l'anti-FXI et de préparer la prise en charge de l'hémostase pour le geste.

Quinze jours plus tard, le FXI augmente à 26%. Aucun traitement par immunoglobulines intraveineuses ou corticoïdes n'a été administré. Le pontage est alors réalisé sans traitement hémostatique en systématique. Aucun évènement hémorragique per- et postopératoire n'a été observé et n'a nécessité

l'administration de facteur VII activé recombinant (Novoseven®). Une anticoagulation préventive par enoxaparine en postopératoire a été initiée, ainsi qu'une surveillance clinique et biologique rapprochée.

**Conclusion :** Nous décrivons ici un cas très rare d'inhibiteur acquis anti-facteur XI sans retentissement clinique et spontanément résolutif. Il souligne l'importance de la recherche d'un inhibiteur anti-facteur devant tout déficit de découverte récente, tout particulièrement en l'absence d'antécédent hémorragique.

### P 134 - Évaluation d'un nouvel analyseur automatisé pour le laboratoire d'hémostase : automate sthemO 301

E. De Maistre<sup>1</sup>, P. Savard<sup>1</sup>, F. Vaizan<sup>1</sup>, V. Baverel<sup>1</sup>, C. Duthu<sup>1</sup>, M. Pagniez<sup>1</sup>, D. Bouchot<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CHU Dijon Bourgogne - Dijon (France)

**Introduction :** L'automate sthemO 301 est un nouvel analyseur entièrement automatisé conçu pour la détermination de paramètres d'hémostase grâce à des méthodes de coagulation chromométriques (en détection mécanique), chromogéniques, immunologiques ou par immuno-chemiluminescence.

Notre objectif était d'évaluer les performances de l'automate sthemO 301 incluant sa productivité par rapport au système actuel du laboratoire (automate STA R Max3, Diagnostica Stago, France).

**Matériels et Méthodes :** L'étude a été réalisée avec les réactifs suivants : sthemO PT pour le taux de prothrombine (TP), Trinicot aPTT S (silice) et sthemO CK Prest (kaolin) pour le temps de céphaline + activateur (TCA et TCK), sthemO Fib pour le fibrinogène Clauss (Fib), sthemO TT pour le temps de thrombine (TT), sthemO VWF:Ag pour le vWF Antigène, sthemO DDi pour les D-dimères (DDi), sthemO PC Chrom et PC Clot pour la protéine C activée (Diagnostica Stago, France). Pour chaque paramètre, la répétabilité et la reproductivité ont été déterminées à l'aide de plasmas de contrôles de qualité. Les temps témoins pour le TP, le TCA et le TCK ont été calculés à partir des résultats de 30 échantillons normaux. La comparaison de méthodes a été réalisée sur environ 100 échantillons par paramètre couvrant le domaine de mesure. Enfin la cadence a été évaluée par série de 100 tests sur des échantillons issus de la routine du laboratoire.

**Résultats :** L'ergonomie de l'analyseur est jugée très bonne par l'équipe technique du laboratoire.

Temps témoins : 12,4 secondes pour TP, 31,2 secondes et 27,7 secondes pour respectivement TCA et TCK

Précision : le coefficient de variation obtenu est inférieur à 2% pour TCK et DDi, inférieur à 3% pour TP (secondes, % et INR), vWF:Ag et PC Chrom, inférieur à 4% pour Fib, inférieur à 4.5% pour TCA et inférieur à 6,1% pour PC Clot.

L'équivalence entre les deux systèmes est démontrée pour l'ensemble des paramètres avec des coefficients de corrélation tous supérieurs à 0,99 excepté pour le TT (coefficient à 0,92). Les pentes des régressions sont comprises entre 0,9 et 1,1.

Productivité : la cadence du sthemO 301 est supérieure à celle du STA R Max avec une réduction du temps de rendu du résultat de la série en moyenne de 24% sur des séries de 20 échantillons et de 15 à 30% sur des séries de 100 échantillons.

**Conclusion :** L'automate sthemO 301 est conforme aux exigences du GFHT en termes de précision. Les résultats sont équivalents à ceux du STA R Max 3, avec une amélioration notable de la performance pour la mesure des D-dimères. L'ergonomie et la productivité sont améliorées, l'interface est conviviale, ce qui facilitera l'organisation de la paillasse d'hémostase.

### P 135 - Comparaison entre concizumab en prophylaxie et absence de prophylaxie dans l'hémophilie A/B avec inhibiteurs : analyse principale d'Explorer7

R. d'Oiron<sup>1</sup>, V. Jiménez Yuste<sup>2</sup>, P. Angchaisukiri<sup>3</sup>, G. Castaman<sup>4</sup>, K. Cepo<sup>5</sup>, J. Haaning<sup>5</sup>, S. Jacobsen<sup>5</sup>, J. Mahlangu<sup>6</sup>, T. Matsushita<sup>7</sup>, K. Nogami<sup>8</sup>, A. Shapiro<sup>9</sup>

<sup>1</sup>Centre de Référence de l'hémophilie et des Maladies Hémorragiques Constitutionnelles, Hôpital Bicêtre AP-HP, Université Paris-Saclay, Inserm Hémostase Inflammation Thrombose H1176 - Le Kremlin Bicêtre (France),

<sup>2</sup>Hôpital Universitaire La Paz, Université Autónoma - Madrid (Spain),

<sup>3</sup>Université Mahidol, Krung Thep - Bangkok (Thailand),

<sup>4</sup>Hôpital Universitaire Careggi - Florence (Italy),

<sup>5</sup>Novo Nordisk A/s - Søborg (Denmark),

<sup>6</sup>Université de Witwatersrand, Laboratoire National de Santé et Centre d'hémophilie ; Hopital Universitaire Charlotte Maxeke - Johannesburg (South Africa),

<sup>7</sup>Service de Médecine Transfusionnelle, Hôpital Universitaire de Nagoya - Nagoya (Japan),

<sup>8</sup>Université de Médecine de Nara - Nagoya (Japan),

<sup>9</sup>Centre de Thrombose et d'hémophilie d'Indiana - Indianapolis (United States)

**Introduction :** Concizumab est un anticorps inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI) en cours de développement dans l'hémophilie, administré en sous-cutané en prophylaxie quotidienne. Les résultats de l'analyse principale comparant le groupe 1 et 2 de l'étude de phase 3 Explorer7 (NCT04083781) sont présentés ici. Cette étude a évalué l'efficacité et la sécurité de concizumab chez des personnes avec hémophilie de 12 ans ou plus avec hémophilie A/B avec inhibiteurs (HAWI/HBWI).

**Matériels et Méthodes :** Le consentement éclairé des patients et l'accord du comité d'éthique ont été obtenus. Les patients ont été randomisés selon un ratio de 1:2 dans un groupe sans prophylaxie (groupe 1 ; ≥ 24 semaines) ou dans un groupe sous concizumab en prophylaxie (groupe 2 ; ≥ 32 semaines). Les autres patients ont été inclus dans un groupe sous concizumab en prophylaxie (groupes 3 et 4). Après reprise du traitement, suite à une pause due à des événements thromboemboliques, les patients ont reçu une dose de charge de 1,0 mg/kg de concizumab suivie d'une dose quotidienne initiale de 0,20 mg/kg, avec possibilité d'adaptation à 0,15 ou à 0,25 mg/kg selon la concentration plasmatique de concizumab à la semaine 4. L'analyse principale a comparé le nombre d'épisodes hémorragiques spontanés et traumatiques traités entre les groupes 1 et 2 (par régression binomiale négative). La tolérance, les données auto-rapportées des patients et les données de pharmacocinétique/pharmacodynamie ont été évaluées.

**Résultats :** Sur les 133 patients inclus, 33 ont été randomisés dans le groupe concizumab (groupe 2) et 19 dans le groupe sans prophylaxie (groupe 1) (28 et 14 patients, respectivement, avaient terminé ≥ 32/24 semaines de traitement à la date de l'analyse) ; les 81 patients restants ont été inclus dans un groupe concizumab en prophylaxie (groupes 3 et 4, non randomisés). Le taux d'hémorragies annualisées (ABR) moyen estimé était de 1,7 (IC 95 %, 1,0–2,9) pour le groupe 2 (prophylaxie par concizumab) contre 11,8 (IC 95 %, 7,0–19,9) pour le groupe 1 (absence de prophylaxie) (ratio ABR 0,14 [IC 95 %, 0,07–0,29] ; P < 0,001). L'ABR médian sous concizumab a été de 0. Vingt-et-un patients sous concizumab (63,6 %) n'avaient pas eu d'hémorragie traitée à 24 semaines (y compris parmi les patients ayant arrêté le traitement avant 24 semaines) contre 2 (10,5 %) dans le groupe sans prophylaxie. Aucun événement thromboembolique n'a été rapporté après la reprise de l'étude. Des tendances positives ont été observées sur tous les domaines du questionnaire de santé abrégé SF-36 (SF-36v2) avec le concizumab. La concentration plasmatique de concizumab a été stable dans le temps.

**Conclusion :** Concizumab en prophylaxie a réduit efficacement l'ABR comparativement à l'absence de prophylaxie et a été jugée

sûr et bien toléré parmi les patients HAWI / HBWI, ces derniers étant ceux ayant le besoin non satisfait le plus important.

### P 136 - Perioperative management of venous recanalization in a patient with antithrombin deficiency

C. Rial<sup>1</sup>, J. Benzakine<sup>1</sup>, N. Mohamedi<sup>2</sup>, L. Mauge<sup>3</sup>, N. Gendron<sup>4</sup>, L. Khider<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hematology Department, Assistance Publique Hôpitaux de Paris. Centre-Université de Paris (APHP-CUP) F-75015 - Paris (France),

<sup>2</sup>University Paris Cité, Vascular Medicine Department and Biosurgical Research Lab (carpentier Foundation), Assistance Publique Hôpitaux de Paris-Centre (APHP-CUP) F-75015 - Paris (France),

<sup>3</sup>University Paris Cité, PARCC, Inserm, F-75015 Paris, France and Hematology Department, Assistance Publique Hôpitaux de Paris. Centre-Université de Paris (APHP-CUP) F-75015 - Paris (France),

<sup>4</sup>University Paris Cité, PARCC, Inserm, F-75015 Paris, France and Hematology Department, Assistance Publique Hôpitaux de Paris. Centre-Université de Paris (APHP-CUP) - Paris (France)

**Introduction :** Inherited antithrombin deficiency (ATD) is a rare and severe thrombophilia characterized by decreased antithrombin (AT) activity in plasma and predisposition to deep venous thromboembolism (VTE). Secondary to VTE, post-thrombotic syndrome (PTS) can occur in 20 to 50% of patients and is associated with leg heaviness, pain, oedema, and pruritus. PTS can be treated by mechanical venous recanalization (VR) that requires a temporary withdrawal of anticoagulant therapy to avoid bleeding complications. However, in patients with ATD, there is a risk of insufficient perioperative anticoagulation bridging with heparin. We report here a case of successful treatment of PTS by VR in a patient with ATD.

**Matériels et Méthodes :** AT heparin cofactor activity (ATCof) was measured by Stachrom-ATIII (Diagnostica Stago<sup>®</sup>, normal range 80% to 120%). Unfractionated heparin (UFH) therapy was monitored using a chromogenic assay measuring anti-activated factor X (anti-Xa) activity (liquid antiXa reagent, Diagnostica Stago<sup>®</sup>).

**Résultats :** A 45-year-old man with a genetically characterized type 1 ATD (ATCof: 48% and AT antigen: 48%) was admitted in our institution for VR. The patient was treated with warfarin for long-term anticoagulation in a context of recurrent VTE and presented a Villalta score at 15. Before VR, warfarin-heparin bridging was proposed with a close monitoring of anti-Xa activity (therapeutic target of 0.3 to 0.7 IU/mL) to guide AT administration. Warfarin was stopped 4 days before VR. At admission, ATCof was at 50% and as the INR was of 2.0, the patient was switched to UFH at therapeutic dose (500 IU/kg/day), with an anti-Xa activity at 0.39 IU/mL 8 hours later, suggesting a good response to heparin without needing AT supplementation. UFH was interrupted 4 hours before VR and plasma-derived AT was administered (30 UI/kg) one hour before VR. VR was successfully performed and 4 stents were placed in the subhepatic vena cava, in the bilateral primitive iliac veins and in the right external iliac vein. Five hours after VR, ATCof was 58% and anti-Xa activity was at 0.27 U/mL. Next, UFH at therapeutic dose (500 IU/kg/day) was reintroduced and associated to an additional AT injection. Then, ATCof reached 91% with anti-Xa activity was at 0.46 IU/mL one day after VR. On postoperative day 2, UFH was switched to apixaban 5 mg twice a day. At the 3-month follow-up visit after VR, a significant improvement in symptoms was observed with a Villalta score of 8 and Doppler ultrasound showed perfect patency.

**Conclusion :** Perioperative anticoagulation bridging using UFH and AT supplementation, while closely monitoring UFH anti-Xa activity was a successful strategy for VR. Warfarin-UFH bridging could be a

more reliable strategy than low molecular weight heparin bridging because UFH anti-Xa activity reflect heparin-bound AT, correlates strongly with therapeutic anticoagulation and could decrease the number of AT supplementation. This case report highlights the need for guidelines to manage ATD patients for perioperative anticoagulant bridging.

### P 137 - Evaluation comparative de 2 systèmes de viscoélastométrie au CHU de Bordeaux ROTEM (Werfen<sup>®</sup>) vs. ClotPro (Haemonetics<sup>®</sup>)

C. Delassasseigne<sup>1</sup>, C. Mouton<sup>1</sup>, L. Weinmann<sup>1</sup>, S. Bonnin<sup>1</sup>, V. Marin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CHU Bordeaux - Bordeaux (France)

**Introduction :** Pour les chirurgies à risque hémorragique telle que la chirurgie cardiaque ou le choc hémorragique post traumatique un test viscoélastique est justifié pour guider la stratégie transfusionnelle (1). Dans le cadre d'un renouvellement d'équipement, une comparaison en « vie réelle » a été réalisée sur le CHU de Bordeaux entre notre équipement - ROTEM Sigma (Werfen<sup>®</sup>) en post protamine d'une chirurgie cardiaque (groupe 1 n= 20, Groupe hospitalier sud (GHS) - ROTEM Delta (Werfen<sup>®</sup>) en contexte de choc hémorragique (groupe 2 n= 13 Groupe Hospitalier Pellegrin (GHP) Et le ClotPro (Haemonetics<sup>®</sup>).

Objectif de l'étude : tester la praticabilité des différents systèmes, comparer les profils obtenus et les attitudes thérapeutiques qui en découlent.

**Matériels et Méthodes :** Pour les 2 groupes : 2 tubes citratés sont prélevés par patient et passés simultanément sur chacun des systèmes. Les tests réalisés sont pour le groupe 1: EXTEM/EXTTest, INTEM/INTTest, FIBTEM/FIBTest, HEPTEM/HEPTest et pour le groupe 2 EXTEM/EXTTest, INTEM/INTTest, FIBTEM/FIBTest, APTEM/APTest.

**Résultats :** Le Tableau I montre les délais d'obtention des résultats de CT et d'A5 pour l'APTEM ou l'APTest (similaire à l'EXTEM/Test dans son activation)

Les figures montrent à l'aide de graphiques Bland et Altman les différents résultats des tests viscoélastiques obtenus avec le ROTEM ou avec le Clot Pro (Chirurgie cardiaque Figure 1 et Choc hémorragique Figure 2) Les CT sont exprimés en seconde et les A5 en mm.

A chaque situation critique (chirurgie cardiaque ou choc hémorragique) correspond un algorithme transfusionnel que les cliniciens doivent suivre en fonction des résultats des tests viscoélastiques.

Le Tableau II compare la prise en charge que chaque patient aurait dû avoir au regard des algorithmes utilisés au CHU pour les ROTEM.

**Conclusion :** - Le délai d'obtention des résultats est plus court avec le ClotPro, notamment par rapport au ROTEM Sigma, en rapport avec son fonctionnement automatisé et fermé. De plus, le ClotPro, de par ses 6 canaux ouverts, offre la possibilité d'analyser 2 patients en simultanée et permet aussi l'utilisation de tubes demi-doses, avantage précieux pour la chirurgie cardio-pédiatrique.

- Nos résultats montrent une interchangeabilité des techniques comme retrouvé dans la littérature pour la chirurgie cardiaque (2,3). La différence des CT pour IN et HEP est gommée avec le calcul du ratio. Pour 2 patients du groupe 1, (10%), l'indication de transfuser du fibrinogène n'est pas retrouvée avec le ClotPro. Une décision différente de charge souligne la nécessité d'établir des cut-off spécifiques pour chaque algorithme transfusionnel en fonction du système de mesure, la littérature le souligne pour les paramètres CTs, notamment CT EX et FIBTEM Clot firmness du

ClotPro par rapport au Rotem delta (2,3). En l'absence de données en obstétrique ou en traumatologie, des paramètres décisionnels majeurs tels que respectivement l'A5 Fib et CT EXT devront être étudiés.

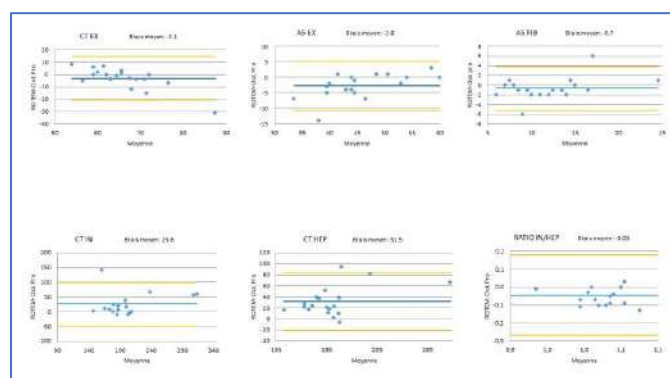
**Bibliographie**

1. Volod O and Coll. *Viscoelastic Hemostatic Assays: A Primer on Legacy and New Generation Devices.* J. Clin. Med. 2022, 11, (3)
2. Yoshii R and Coll. *A comparison of the ClotPro system with rotational thromboelastometry in cardiac surgery: a prospective observational study.* S. Sci Rep. 2022 Oct 14;12(1)
3. Núñez-Jurado D and Coll. *ClotPro Viscoelastometry Evaluation in Cardiac Surgery With Cardiopulmonary Bypass.* J Cardiothorac Vasc Anesth. 2023 Mar;37 (3).

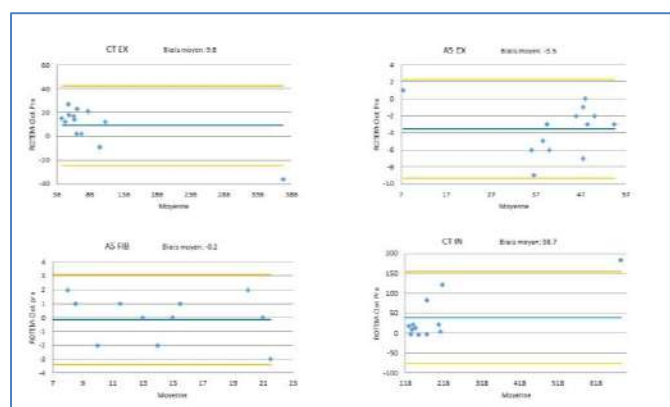
Délais d'obtention des résultats de l'APTEM

Temps de rendu	Clot Pro	ROTEM Sigma	ROTEM Delta
GHS CT AP	2 min 15	7 min 20	
GHS A5 AP	7 min 15	12 min	
GHP CT AP	1 min 50		2 min 59
GHP A5 AP	6 min 50		7min 30

Tests viscoélastiques en chirurgie cardiaque GHS



Tests viscoélastiques en choc hémorragique GHP



Comparaison de prise en charge des patients

GHS	ROTEM	appliquée au ClotPro	Différence
12 patients	Pas de transfusion	Pas de transfusion	Non
2 patients	Fibrinogène	Fibrinogène	Non
P2	Fibrinogène	Pas de transfusion	Oui
P5	Pas de transfusion	PFC ou PCC	Oui
P14	PCC ou PFC + Fibrinogène	PCC ou PFC + Fibrinogène	Non
P16	Fibrinogène	Pas de transfusion	Oui
P18	Plaquettes	Plaquettes	Non
P19	Protamine + Plaquettes +/- Fibrinogène	Protamine + Plaquettes +/- Fibrinogène	Non
GHP	ROTEM	appliquée au Clot Pro	Différence
11 patients	Pas de transfusion	Pas de transfusion	Non
P1	PFC ou PCC	PFC ou PCC	Non
P7	PFC ou PCC	Pas de transfusion	Oui

**P 138 - Concizumab en prophylaxie versus absence de prophylaxie dans l'hémophilie A/B avec inhibiteurs : analyses d'Explorer7 par sous-type d'hémophilie**

R. d'Oiron<sup>1</sup>, M. Frei-Jones<sup>2</sup>, K. Cepo<sup>3</sup>, A.S. Goh<sup>4</sup>, M. Mathias<sup>5</sup>, J. Odgaard-Jensen<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centre de Référence de l'hémophilie et des Maladies Hémostatiques Constitutionnelles Rares, Hôpital Bicêtre AP-HP, Université Paris-Saclay, Inserm Hémostase Inflammation Thrombose HITH U1176 - Le Kremlin-Bicêtre (France),

<sup>2</sup>Hématologie-Oncologie Pédiatrique, Ecole de Médecine de Joe et R. et Teresa Lozano Long, Centre de Sciences de la Santé de l'université du Texas - San Antonio (United States),

<sup>3</sup>Novo Nordisk A/s - Søborg (Denmark),

<sup>4</sup>Service d'hématologie, Hôpital Pulau Pinang, Ministère de la Santé de Malaisie - Penang (Malaysia),

<sup>5</sup>Hôpital des Enfants Great Ormond Street Nhs Foundation Trust - Londres (United Kingdom)

**Introduction :** Concizumab, anticorps anti-inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI), est en développement dans l'hémophilie en prophylaxie sous-cutané 1x/jour. Les résultats de la partie principale de la phase 3 Explorer7 (NCT04083781) sont présentés par sous-type d'hémophilie : A (HAWl) ou B (HBwl) avec inhibiteurs >12 ans. L'objectif est d'évaluer l'efficacité et la tolérance d'une prophylaxie par concizumab versus sans prophylaxie par sous-type HAWl ou HBwl.

**Matériels et Méthodes :** La randomisation était selon un ratio 1:2, le type d'hémophilie et la fréquence des hémorragies avant sélection, dans un groupe sans prophylaxie (bras 1 ; ≥24 semaines) ou traité par concizumab en prophylaxie (bras 2 ; ≥32 semaines). Les autres patients ont été inclus et traités en prophylaxie par concizumab (groupes 3 et 4). Après la partie principale l'extension était proposée à tous les patients, ceux du bras 1 passaient sous concizumab. Après reprise de l'étude, suite à une pause due à des événements thromboemboliques, les patients ont reçu 1 dose de charge de 1,0 mg/kg de concizumab suivie d'une dose/jour à 0,20 mg/kg avec possibilité d'adaptation à 0,15 ou à 0,25 mg/kg selon la concentration plasmatique de concizumab mesurée à la semaine 4. L'efficacité et la sécurité de concizumab étaient évaluées par sous-type HAWl et HBwl après la pause. La puissance de l'étude n'était pas suffisante pour comparer les différences par sous-type d'hémophilie mais les résultats de chaque sous-type sont présentés. Le taux d'hémorragies annualisé (ABR) a été estimé avec un modèle de régression binomiale négative. Les événements indésirables (EI) étaient recensés et tous les EI observés (investigateur ou patient) notés et évalués.

**Résultats :** 133 patients inclus dont 52 randomisés entre concizumab en prophylaxie (bras 2 : 18 HAWl ; 15 HBwl) ou sans prophylaxie (bras 1 : 9 HAWl ; 10 HBwl) ; les 81 autres ont été



affectés dans le groupe concizumab en prophylaxie (bras non randomisés 3 et 4). L'ABR moyen estimé pour hémorragies spontanées et traumatiques a été de 1,6 (IC 95 %, 0,9–2,8) chez les HAWI pour concizumab en prophylaxie versus 18,3 (IC 95 %, 10,3–32,9) sans prophylaxie (ratio ABR 0,09 [IC 95 %, 0,04–0,18]). L'ABR moyen estimé chez les HBWI était de 2,2 (IC 95 %, 0,8–6,5) pour concizumab en prophylaxie versus 7,2 (IC 95 %, 2,6–20,1) sans prophylaxie (ratio ABR, 0,31 [IC 95 %, 0,07–1,36]). L'ABR médian global sous concizumab en prophylaxie a été de 0 dans les 2 sous-groupes HAWI/HBWI (bras 1 à 4). Après reprise de l'étude, aucun événement thromboembolique n'a été rapporté sous concizumab chez les HAWI et HBWI.

**Conclusion :** Concizumab en prophylaxie 1x/jour a réduit efficacement l'ABR par rapport à l'absence de prophylaxie chez les HAWI et chez les HBWI. L'ABR global médian a été de 0 dans tous les sous-types d'hémophilie. Concizumab a été jugé sûr et bien toléré chez les patients HAWI/HBWI sans événement thromboembolique rapporté après la reprise de l'étude.

**P 139 - Traitement additionnel par Facteur VII activé recombinant (rFVIIa) chez un enfant traité par concizumab**

H. Maynadié<sup>1</sup>, C. Auditeau<sup>2</sup>, A. Blandinières<sup>3</sup>, C. Galeotti<sup>4</sup>, G. Morelle<sup>4</sup>, B. Valteau<sup>5</sup>, Y. Ouchrif<sup>5</sup>, V. Molina<sup>5</sup>, S. El Aouadi<sup>6</sup>, C. Baujard<sup>6</sup>, S. Drouot<sup>7</sup>, C. Lavenue-Bombled<sup>3</sup>, R. d'Oiron<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre de Référence Hémophilie, Hôpital Bicêtre-APHP-Université Paris Saclay Inserm U1176 - Le Kremlin-Bicêtre (France),

<sup>2</sup>Hôpital Necker-APHP-Université Paris Saclay Inserm U1176 - Paris (France),

<sup>3</sup>Laboratoire d'hématologie-Centre de Ressources et de Compétences des Maladies Hémostatiques Constitutionnelles, Hôpital Bicêtre-APHP-Université Paris Saclay-Inserm U1176 - Le Kremlin-Bicêtre (France),

<sup>4</sup>Centre de Référence Hémophilie, Hôpital Bicêtre-APHP-Université Paris Saclay - Le Kremlin-Bicêtre (France),

<sup>5</sup>Service d'orthopédie, Hôpital Bicêtre-APHP-Université Paris Saclay - Le Kremlin-Bicêtre (France),

<sup>6</sup>Service d'anesthésie, Hôpital Bicêtre-APHP-Université Paris Saclay - Le Kremlin-Bicêtre (France),

<sup>7</sup>Pharmacie Hospitalière, Hôpital Bicêtre-APHP-Université Paris Saclay - Le Kremlin-Bicêtre (France)

**Introduction :** Le concizumab est un anticorps dirigé contre un inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (anti-TFPI) en cours d'étude dans la prévention des saignements dans l'hémophilie. Peu de données existent sur les modalités de traitement des éventuels saignements ou des chirurgies sous concizumab. Nous rapportons le traitement par rFVIIa d'un enfant de 12 ans sous concizumab à l'occasion de 3 chirurgies et d'un épisode hémorragique.

**Matériels et Méthodes :** L'enfant est atteint d'hémophilie B sévère avec inhibiteur traité en prophylaxie par injections sous cutanées de concizumab 0,2mg/kg/j à titre compassionnel. Il n'a eu aucun saignement spontané depuis le début du traitement il y a 21 mois. Il a reçu du rFVIIa en intra-veineux pour un retrait de chambre de perfusion (PAC), une hémarthrose de genou sévère post traumatique suivie de deux arthroscopies-lavages du genou. Un test de génération de thrombine (TGT) a été réalisé avant et après injection de rFVIIa, en plasma pauvre en plaquettes (PPP) et en plasma riche en plaquettes (PRP).

**Résultats :** Les doses reçues de rFVIIa étaient de 86µg/kg avant le retrait de PAC et 60µg/kg 24 heures après, et de 60 à 114µg/kg toutes les 2 à 12 heures pour l'hémarthrose et les arthroscopies. L'efficacité clinique hémostatique a été jugée bonne pour le retrait de PAC, insuffisante pour l'hémarthrose nécessitant un lavage arthroscopique et moyenne post-arthroscopies avec récurrence hémorragique conduisant à la reprise chirurgicale. Il n'y a pas eu de complication thrombotique. En TGT, chez le patient sous concizumab, le traitement par rFVIIa a diminué le lag time (2,33 vs

3 min en PRP et 2 vs 2,56 min en PPP) et augmenté le pic de thrombine (48 vs 23nM en PRP et 76 vs 42nM en PPP), tout en restant inférieur au pic de thrombine du témoin (Figures 1 et 2).

**Conclusion :** Malgré une bonne efficacité dans la prévention des saignements spontanés, notre cas illustre les questions non résolues quant à l'usage du rFVIIa en cas de saignement ou de chirurgie sous concizumab. Plusieurs éléments de l'histoire clinique ont pu contribuer à l'efficacité non optimale de l'association du concizumab et du rFVIIa : le traitement de l'hémarthrose débuté avec un retard de 3 jours, initialement par des injections seulement toutes les 12 heures et le syndrome inflammatoire majeur après la première arthroscopie. L'augmentation du pic de thrombine après traitement par rFVIIa observée chez notre patient en PPP et PRP a été décrite chez les patients traités par concizumab dans l'étude EXPLORER par spiking de rFVIIa en PPP (1). La posologie optimale de rFVIIa (dose et rythme des injections) permettant une bonne efficacité sans induire de sur-risque thrombotique reste à définir sous concizumab et la place de la TGT n'est pas encore bien connue dans ce rapport bénéfice risque.

1. Kjalke M, Kjølgaard-Hansen M, Andersen S, Hilden I. Thrombin generation potential in the presence of concizumab and rFVIIa, APCC, rFVIII, or rFIX: In vitro and ex vivo analyses. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 1 juill 2021;19(7):1687-96.

Figure 1

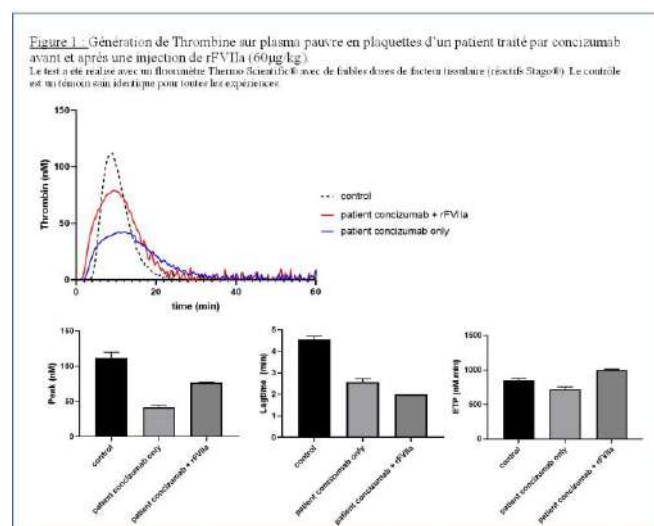
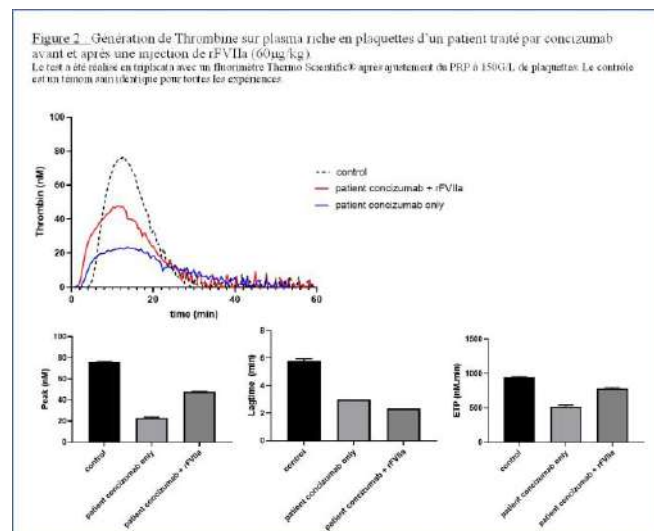


Figure 2



### P 140 - Antithrombine : Comparaison de la concordance des résultats de deux réactifs

D. Karray<sup>1</sup>, F. Ghedira<sup>1</sup>, M.H. Jelassi<sup>1</sup>, H. Baccouche<sup>1</sup>, A. Chakroun<sup>1</sup>, S. Mahjoub<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire D'hématologie, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie - Tunis (Tunisia)

**Introduction :** Le dosage de l'antithrombine, indiqué dans le cadre du bilan de thrombophilie, se base sur des techniques différentes : l'antithrombine fonctionnellement active peut être quantifiée par la mesure des taux résiduels de la thrombine (IIa) ou du facteur X activé (FXa).

L'objectif de cette étude était de comparer les résultats du dosage de l'antithrombine en utilisant deux réactifs différents.

**Matériels et Méthodes :** Il s'agit d'une étude transversale sur un échantillon de 30 prélèvements adressés pour exploration d'une pathologie thrombotique.

Le dosage de l'antithrombine a été réalisé par deux méthodes différentes :

1er réactif (R1) : STACHROM® ATIII sur automate de type STA compact MAX3/ STAGO, qui est basé sur l'activité anti-IIa.

2ème réactif (R2) : HemoSILTM Antithrombin liquid sur automate de type ACLTOP 350®/IL qui est basé sur l'activité anti-Xa.

Un déficit en antithrombine a été considéré pour des taux d'antithrombine inférieurs à 80%.

**Résultats :** Les taux moyens d'antithrombine obtenus par R1 et R2 étaient respectivement de 87% [31-118%] et 81,5% [24-160%], sans différence significative entre les deux réactifs utilisés ( $p>0,05$ ).

Les résultats du dosage de l'antithrombine par R1 et R2 étaient concordants dans 63% des cas. Il existe une corrélation positive entre ces deux techniques ( $r=0,8151$ )

Selon le graphe de Bland-Altman, le biais était de -5,53 avec un intervalle d'acceptabilité [-42,31].

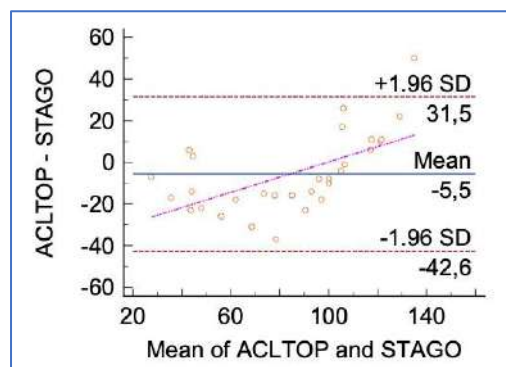
Un déficit en antithrombine a été retrouvé dans 30% et 50% des échantillons analysés par R1 et R2, respectivement.

Pour les taux inférieurs à 120%, le réactif R1 avait tendance à donner des valeurs plus basses que celles obtenues par R2.

**Conclusion :** Les résultats de cette étude étaient concordants dans seulement 63% des cas et la différence entre les résultats obtenus par les deux techniques pouvaient atteindre 30 à 40%.

Cette étude suggère que le dosage de l'antithrombine par l'activité anti-Xa était plus sensible pour la détection des déficits en antithrombine. Cependant, une étude à plus grande échelle pourrait mieux estimer la place de l'activité anti-Xa par rapport à l'activité anti-IIa pour le dosage de l'antithrombine.

#### Corrélation des taux d'antithrombine par R1 et R2



### P 141 - Concizumab en prophylaxie à long terme chez des hémophiles A/B avec inhibiteur : efficacité et tolérance ≥1 an d'Explorer7

R. d'Oiron<sup>1</sup>, M. Mathias<sup>2</sup>, S. Linari<sup>3</sup>, M. Bruzelius<sup>4</sup>, K. Hampton<sup>5</sup>, T. Hansen<sup>6</sup>, L. Hvitfeldt Poulsen<sup>7</sup>, A. Lebreton<sup>8</sup>, J.J. Thaug<sup>6</sup>, C. Giancarlo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Présente au Nom des Auteurs, Centre de Référence de l'hémophilie et des Maladies Hémostatiques Constitutionnelles, Hôpital Bicêtre AP-HP, Université Paris-Saclay, Inserm Hémostase Inflammation Thrombose HITH U1176 - Le Kremlin-Bicêtre (France),

<sup>2</sup>Hôpital pour Enfants Great Ormond Street Nhs Foundation Trust - Londres (France),

<sup>3</sup>Centre des Maladies Hémostatiques et de la Coagulation, Département d'oncologie, Hôpital Universitaire Careggi - Florence (Italy),

<sup>4</sup>Département de Médecine, Karolinska Institute et Département d'hématologie, Hôpital Universitaire Karolinska - Solna et Stockholm (Sweden),

<sup>5</sup>Département de Science Cardiovasculaire, Université de Sheffield - Sheffield (United Kingdom),

<sup>6</sup>Novo Nordisk A/s - Søborg (Denmark),

<sup>7</sup>Centre d'hémophilie, Département d'hématologie, Hôpital Universitaire d'Aarhus - Aarhus (Denmark),

<sup>8</sup>Centre de Ressources et Compétences des Maladies Hémostatiques Constitutionnelles, CHU Clermont-Ferrand - Clermont-Ferrand (France)

**Introduction :** Concizumab est un anticorps monoclonal inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI) en cours de développement administré en sous-cutané une fois par jour comme traitement prophylactique pour tout type d'hémophilie. Les résultats à la date butoir de 56 semaines de l'étude Explorer7 (NCT05083781 ; phase 3) chez des patients atteints d'hémophilie A/B avec inhibiteurs (HAwI/HBwI) sont présentés, faisant suite aux résultats à la date butoir de 32 semaines pour l'analyse principale (PACO) précédemment rapportés (Res Pract Thromb Haemost 2022;6(S1): e12787, LB 01.2).

**Matériels et Méthodes :** Après consentement éclairé/autorisation du comité d'éthique, les patients ont été soit randomisés selon un ratio de 1:2 dans un groupe sans prophylaxie (PPX) (groupe 1 ; ≥24 semaines) ou dans un groupe en PPX sous concizumab (groupe 2 ; ≥32 semaines), soit inclus dans un groupe sous concizumab en PPX (groupes 3 et 4). Après ≥24 semaines, les patients du groupe 1 passaient sous concizumab en PPX. A la reprise de l'étude, suite à une pause due à des événements thrombo-emboliques, les patients ont reçu 1 dose de charge de 1,0 mg/kg de concizumab, suivie d'une dose quotidienne de 0,20 mg/kg, avec possibilité d'adaptation à 0,15 ou à 0,25 mg/kg suivant la concentration plasmatique de concizumab mesurée à la semaine 4. La date butoir à 56 semaines a été définie comme correspondant au moment où tous les patients des groupes 2 à 4 avaient réalisé la visite après 56 semaines ou avaient arrêté le traitement définitivement. L'efficacité sur les hémorragies, la tolérance et la pharmacocinétique ont été évaluées.

**Résultats :** Sur les 133 patients inclus (HAwI : 80 ; HBwI : 53), 114 ont été affectés au groupe en PPX sous concizumab (groupes 2-4) et 19 dans le groupe sans PPX (groupe 1). Après la période pour l'analyse PACO comparant les groupes 1 et 2, 13 patients du groupe 1 sont passés sous concizumab en PPX. Au total, 104 patients (groupe 1 : 13 ; groupe 2 : 25 ; groupe 3 : 15 ; groupe 4 : 51) ont atteint la date butoir à 56 semaines. Les résultats des épisodes hémorragiques à la date butoir à 56 semaines confirment les résultats PACO. Le taux d'hémorragies annualisées (ABR) médian global (amplitude interquartile) a été de 0,8 (0,0-3,2) pour les épisodes hémorragiques spontanés et traumatiques traités et de 0 pour les épisodes hémorragiques spontanés traités sous PPX par concizumab (groupes 1 à 4). L'ABR médian a été de 0 pour les hémorragies articulaires spontanées et traumatiques traitées ainsi que pour les hémorragies d'une articulation cible sous PPX par concizumab (groupes 1 à 4). La concentration de concizumab et de

TFPI libre est restée stable au cours du temps. Aucun événement thrombo-embolique ni nouveau problème de tolérance n'a été rapporté après la reprise de l'étude.

**Conclusion :** Les résultats d'efficacité et de tolérance à long terme ( $\geq 1$  an) sous PPX par le concizumab quotidien chez des patients atteints d'HAWl/HBwl confirment les résultats de l'analyse principale PACO de l'étude Explorer7.

### P 142 - Bilan d'Hémostase néonatal catastrophique : le lait, ça tue

C. Delassasseigne<sup>1</sup>, A. Valeau<sup>1</sup>, C. Mouton<sup>1</sup>, L. Weinmann<sup>1</sup>, Y. Huguenin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Chu Bordeaux - Bordeaux (France)

**Introduction :** Sohan est un enfant de 8 jours né au CH de La Rochelle. Son poids, sa taille et son périmètre crânien sont normaux malgré des échographies anténatales marquées par un RCIU percentile 6 à T2 et percentile 1 à T3 et une consommation de cannabis et de tabac pendant la grossesse. Le séjour en suites de couches se fait sans complication ; l'allaitement est artificiel. Il est le 2ème enfant avec un aîné de 9 ans sans antécédent particulier.

**Matériels et Méthodes :** Au bout de 4J, il est hospitalisé en néonatalogie pour des difficultés de prise alimentaire avec instauration d'une nutrition entérale. Les urines sont foncées sans selles décolorées, pas de trouble du transit. Devant un ictère néonatal persistant un traitement par photothérapie est instauré et un bilan biologique est prélevé.

Ce bilan montre une Bilirubine totale à 232  $\mu\text{mol/L}$  dont 36 de conjuguée avec 1 200UI/l de PAL et des GGT à 43UI/L.

Le bilan de coagulation est très perturbé avec F II à 6% et F V à 2%. Il n'est pas mis en évidence de cytolysé hépatique. Le bilan thyroïdien montre une TSH effondrée avec T3/T4 normales.

L'échographie abdominale ne retrouve pas d'anomalie des voies biliaires et la radiographie du rachis ne retrouve pas d'argument pour une pathologie syndromique. 10mg de Vitamine K sont administrés et le patient est transféré au CHU pour suite du bilan étiologique.

**Résultats :** Cliniquement, Sohan présente toujours un ictère néonatal persistant malgré la photothérapie, avec des urines foncées et des hématomes au point de ponction. La numération ne montre pas d'anémie, mais une thrombopénie profonde (54G/L) et le bilan d'Hémostase est extrêmement perturbé.

Ratio TCA $>8$ , Fibrinogène $<0.4\text{g/L}$ , Activité anti-Xa $<0.1\text{UI/mL}$ , FII $<1\%$ , FV 4%, FVII 2%, FVIII 418%, FIX 8%, FX 9%, FXI 9%, DDimères 3034ng/mL, PDF 3.5 $\mu\text{g/mL}$  AT $<10\%$ . Le prélèvement est réalisé en microméthode mais il n'y a pas de caillot. L'aspect est très ictérique. Le ROTEM montre des temps de coagulation très allongés sur EXTEM/INTEM et FIBTEM confirmant l'hypothèse du déficit en facteurs. Le syndrome hémorragique s'aggrave avec une hémorragie intracrânienne et une dégradation neurologique.

**Conclusion :** Les analyses biochimique et génétique mettent en évidence une galactosémie congénitale avec la détection d'une variation du gène GALT (NM\_000155.4) à l'état homozygote. Sohan souffre de complications infectieuses (sepsis à E.Coli) et se dégrade brutalement avec défaillance multiviscérale fatale.

Cette maladie rare est de transmission autosomique récessive et a une incidence de 1/40,000 à 1/60,000 dans les pays occidentaux. On constate une diminution de tous les facteurs de la coagulation à synthèse hépatique secondaire à une insuffisance hépatique sévère avec cholestase (ictère persistant du nouveau-né) par accumulation de métabolites toxiques.

Le traitement est simple et consiste en une éviction stricte de substance contenant du galactose (notamment le lait).

### P 143 - Peut-on améliorer le diagnostic et la prise en charge des saignements utérins anormaux (SUA) ? Perception des femmes/filles et des professionnels de santé issus de 7 pays

R. d'Oiron<sup>1</sup>, R. Abdul-Kadir<sup>2</sup>, A. Tarawah<sup>3</sup>, N. Shridhar<sup>4</sup>, R. Kulkarni<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Présente au nom des auteurs, Centre de Référence de l'hémophilie et des Maladies Hémostatiques Constitutionnelles Rares, Hôpital Bicêtre AP-HP, Université Paris-Saclay, Inserm Hémostase Inflammation Thrombose HITH U1176 - Le Kremlin Bicêtre (France),

<sup>2</sup>Katharine Dormandy Haemophilia and Thrombosis Unit, Department of Obstetrics and Gynaecology, The Royal Free Nhs Foundation Trust - Londres (United Kingdom),

<sup>3</sup>Madinah Hereditary Blood Disorders Center and Pediatric Hematology Department, King Salman Medical City - Al-Madinah (Saudi Arabia),

<sup>4</sup>Novonordisk - Bangalore (India),

<sup>5</sup>Department of Pediatrics and Human Development, Michigan State University - East Lansing (United States)

**Introduction :** Environ 1/5 fille/femme (F) avec SUA présentent une maladie hémorragique (MH) constitutionnelle et les F concernées sont souvent identifiées avec retard<sup>1</sup>. Les professionnels de santé (PS) non spécialistes et les F semblent peu sensibilisés au diagnostic des MH et de SUA. Afin de mieux identifier les barrières existantes, une étude a été conduite dans 7 pays sur la perception et la reconnaissance des SUA par les F et chez PS de 1ère ligne, [médecins généralistes (MG) et gynécologues/obstétricien(ne)s (GYN/OB)]. L'objectif était d'identifier les freins à lever pour mieux sensibiliser la population générale et les PS aux SUA et favoriser ainsi leur diagnostic plus précoce et une meilleure prise en charge.

**Matériels et Méthodes :** En 2021, un guide d'entretien sur les obstacles au diagnostic des SUA a été développé à partir d'interviews approfondies avec 11 experts en MH. Le guide a ensuite été utilisé pour des entretiens et enquêtes en ligne auprès des F et de PS issus de 7 pays (Brésil, Canada, Chine, France, Allemagne, Arabie Saoudite et Turquie). Les F étaient d'âges, de niveaux d'éducation et d'origine géographique variés. Enfin, 3 ateliers sur les SUA et leurs critères de définition ont inclus 20 cliniciens ou représentantes de patientes avec MH dans le but de disposer à l'avenir de meilleurs outils de diagnostic.

Les indicateurs de SUA utilisés de façon isolée ou associée étaient : règles  $>8$  jours, débordements et/ou caillots importants, besoin de change d'une ou plusieurs protections pleines/2 h, besoin de doubler les protections, taches (draps/vêtements).

L'étude a été réalisée par Brunswick, sur un financement de Novo Nordisk.

**Résultats :** 6 099 F (16-60ans), [1 000 F/pays sauf pour l'Arabie Saoudite/Turquie (~500)] et 353 PS (médecins généralistes [MG] et gynécologues-obstétricien(ne)s [GYN/OB]) ont participé aux enquêtes en ligne.

76% des F pensaient « bien » reconnaître les symptômes de SUA, mais 23 % n'auraient pas demandé d'avis médical pour des règles  $\geq 8\text{j}$ . 22% des MG disent manquer de confiance sur le diagnostic des SUA. 34 % des MG et 56 % des GYN/OB associent "fortement" les SUA depuis les premières règles avec une MH.

Une proportion importante de PS ne demande pas d'examen clés pour les SUA : seulement 13% des MG et 15 % des GYN/OB demandent un bilan de coagulation pour dépister une MH devant des SUA et 8 % des MG utilisent des scores cliniques hémorragique de dépistage.

Les données ont été impactées par le genre du PS. 85% des GYN/OB femmes évaluent toujours l'historique des règles vs 75 % des hommes. 80% des MG femmes évaluent toujours/presque toujours l'historique des règles vs 67 % des hommes. 26 %/48 % des MG

hommes et 30%/49 % des MG femmes étaient « très confiant(e)s » / « assez confiant(e)s » dans leur capacité à prendre les mesures adéquates devant des SUA.

**Conclusion :** Cette étude montre la sensibilisation limitée aux indicateurs de SUA parmi les F mais aussi des PS de 1ère ligne, MG et GYN/OB, qui même en présence de symptômes demandent peu d'explorations de coagulation à la recherche d'une MH. Les experts ont souligné les besoins de critères standardisés pour les SUA, validés et bien diffusés, pour promouvoir un diagnostic et une prise en charge efficaces des F concernées par une MH.

1. Peyvandi F, et al. *J Thromb Haemost.* 2011;9(suppl 1):236–245.

**P 144 - Évaluation du profil de génération de thrombine d'un plasma déficient en FVIII et spiké par de l'emicizumab, un AOD et du FVIII**

S. Lamoine<sup>1</sup>, V. Jury<sup>1</sup>, L. Talon<sup>1</sup>, T. Sinégre<sup>1</sup>, V. Fourneyron<sup>1</sup>, A. Lebreton<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hôpital Universitaire de Clermont-Ferrand, Hématologie, Hôpital Estaing, Clermont-Ferrand, France - Clermont-Ferrand (France)

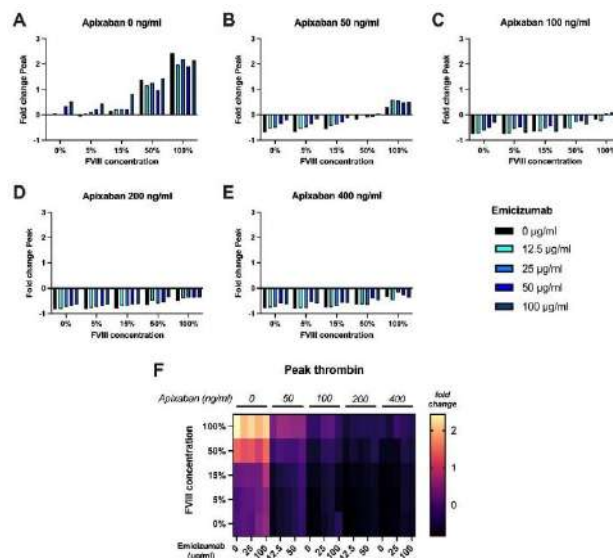
**Introduction :** Le traitement de l'hémophilie A (HA) a évolué ces dernières années avec la commercialisation de l'anticorps monoclonal bispécifique emicizumab. L'augmentation de la durée de vie des patients hémophiles est associée à l'apparition de pathologies liées à l'âge, telles que la fibrillation atriale et les événements thrombotiques sont responsables de nouveaux challenges hémostatiques. Une anticoagulation par anticoagulant oral direct (AOD) sera donc nécessaire pour le traitement de certaines pathologies cardiovasculaires et pourrait donc avoir un effet antagoniste par rapport à celui de l'emicizumab. L'évaluation de ce nouvel équilibre hémostatique apparaît complexe, notamment en cas de perfusions de FVIII supplémentaire pour la réalisation d'acte chirurgical ou le traitement d'un épisode hémorragique. Afin d'évaluer ce nouvel équilibre hémostatique, nous avons analysé l'effet simultané de l'AOD, de l'emicizumab et du FVIII sur les tests de coagulation de routine et sur la génération de thrombine.

**Matériels et Méthodes :** Un plasma déficient FVIII a été supplémenté avec différentes concentrations d'emicizumab (0, 12.5, 25, 50, 100 µg/ml), de FVIII (0, 5, 15, 50, 100%) et d'AOD (apixaban, edoxaban, rivaroxaban et dabigatran ; 0, 50, 100, 200, 400 ng/ml). Les tests de coagulation de routine (TP, TCA) et la génération de thrombine (PPP reagent et PPPlow reagent) ont été réalisés pour chacune des conditions possibles.

**Résultats :** Pour de faibles doses d'AOD, l'emicizumab et le FVIII présentent un effet additif sur la génération de thrombine, traduit par environ 15% d'augmentation par rapport aux traitements seuls. Cet effet additif est perdu aux fortes doses de FVIII. Différents profils de TGT sont observés pour les AOD anti-Xa, le rivaroxaban semblant avoir une efficacité anticoagulante supérieure à l'apixaban et à l'edoxaban, se traduisant par une réversion plus complexe lors d'une double complémentation emicizumab/FVIII. L'apixaban (50 ng/ml) inhibe rapidement la génération de thrombine sur du plasma complétement avec 100% de FVIII et 100 µg/ml d'emicizumab, avec un pic de thrombine passant de 2.15 (178 nM) à 0.5 (85 nM) fois celui du plasma non complétement (56 nM) (Figure 1). Dans ces mêmes conditions, le dabigatran n'entraîne pas de baisse du pic de thrombine qui est, au contraire, augmenté de 2.71 fois (209 nM) par rapport au plasma non complétement

**Conclusion :** Notre étude place la génération de thrombine comme outil intéressant pour le suivi hémostatique de plasmas traités par AOD, emicizumab et FVIII. Une complémentation en FVIII permet de contrer l'effet de l'anticoagulation sur la génération de thrombine, en association avec l'emicizumab, et suggère son utilisation pour la réalisation d'actes chirurgicaux ou traitements hémorragiques chez des hémophiles ayant un traitement par emicizumab et AOD. Cette étude donne une vue d'ensemble quant au comportement hémostatique de plasmas complexes et apporte les premières données la prise en charge de ces patients.

Figure 1 : Effet simultané de l'apixaban, de l'emic





Retrouvez-nous au Palais des congrès Le Grand Large à Saint-Malo (salle Lamennais 1 + 2) lors du Congrès Français d'Hémostase pour notre symposium le **JEUDI 11 MAI 2023 DE 12:00 À 13:30**



## Cap sur le parcours de vie du patient avec **Hémophilie A**

### MODÉRATEUR

**Dr Benoît GUILLET** Rennes

### ORATEURS

**Dr Alban FOUASSON-CHAILLOUX** Nantes

**Dr Annie HARROCHE** Paris

**Pr Yohann REPESSE** Caen

## PROGRAMME SCIENTIFIQUE

- 12:00** Introduction
- 12:05** Activités physiques dans la population générale
- 12:20** Activités physiques chez l'enfant et l'adolescent avec hémophilie  
*Regards croisés hémato-pédiatre / Médecin du sport*
- 12:35** Activités physiques chez l'adulte avec hémophilie  
*Regards croisés hématologue / Médecin du sport*
- 12:50** Table ronde Situations pratiques
- 13:25** Conclusion

Si applicable, conformément aux Articles L1453-10 et suivants du Code de la Santé Publique, cette réunion a fait l'objet d'une soumission pour déclaration / autorisation aux autorités compétentes selon les seuils fixés par l'arrêté du 7 août 2020. Conformément aux dispositions de l'article L. 1453-7 4° du Code de la Santé Publique, aucun frais correspondant à une hospitalité ne sera pris en charge, directement ou indirectement, par Roche, pour un étudiant en formation initiale (article L. 1453-4 2° du Code de la Santé Publique) ou une association d'étudiants (article L. 1453-4 3° du Code de la Santé Publique) lors de la réunion professionnelle. Si applicable, conformément à l'article L.1453-1 du Code de la Santé Publique et au décret n°2016-1939 du 28/12/2016, l'existence de la convention d'hospitalité afférente à cette manifestation ainsi que les montants des avantages consentis (pour tout montant supérieur ou égal à 10 € TTC) seront rendus publics par Roche. Dans le cas d'un événement sans avantages consentis, votre inscription sera rendue publique par Roche, conformément à l'article L.1453-1 du Code de la Santé Publique et au décret n° 2016-1939 du 28/12/2016. En cas d'absence le jour de l'événement, une demande de rectification est à effectuer sur le site [www.transparence.sante.gouv.fr](http://www.transparence.sante.gouv.fr) sur la page contenant la déclaration. Roche, afin de vous inviter aux manifestations qu'il organise traite vos données à caractère personnel. Ce traitement est basé sur son intérêt légitime. Le CNOM et le ministère de la santé via les plateformes de téléprocédure "IDAHE", "éthique des professionnels de santé" et via la base de données publique Transparence - Santé sont destinataires de vos données personnelles. Vous trouverez une information complète sur le site [VosDonnees.Roche.fr](http://VosDonnees.Roche.fr). Vous pouvez exercer vos droits d'accès, de rectification et d'effacement de vos données ainsi que d'opposition pour motif légitime et de limitation à leur traitement par courrier ou par mail auprès du DPO de Roche, 4 Cours de l'Île Seguin 92650 Boulogne Billancourt, france.donneespersonnelles-pharma@roche.com.