

A woman with dark hair, wearing a white lab coat over a dark top, is smiling and looking towards the camera. In the background, a large, white Siemens medical machine is visible, with the Siemens logo on its side. The machine has a blue-lit display area and a control panel. The overall setting is a clean, clinical environment.

SIEMENS

www.healthcare.siemens.fr

Bulletin Hématologie n°14

Édition spéciale Forum Annuel Scientifique Hématologie du 18 septembre 2014

Des réponses pour la vie.

SIEMENS



Utilisation des paramètres plaquettaires de l'ADVIA® 2120, Siemens Healthcare Diagnostics, pour caractériser les thrombopénies constitutionnelles

Véronique Baccini¹, Amélie Poinsard², Sylvain Henry², Céline Desconclois³, Cécile Lavenu-Bombed³, Marie Dreyfus³, Paquita Nurden⁵, Marie-Christine Alessi^{4,5}, Thomas Lecompte⁶, Véronique Latger-Cannard^{2,7} - Avril 2013

¹Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Nord, Marseille, France

²Service d'Hématologie Biologique, CHU Nancy, France

³Service d'Hématologie Biologique, Hôpital Kremlin Bicêtre, APHP, Paris, France

⁴Service d'Hématologie Biologique, Hôpital La Timone, Marseille, France

⁵Centre de Référence Français des Pathologies Plaquettaires

⁶Département des Spécialités de Médecine, Service d'Hématologie, Genève

⁷Centre de Compétence Français Nord-Est des Pathologies Plaquettaires

Les thrombopénies constitutionnelles constituent un ensemble de pathologies rares, voire exceptionnelles, correspondant à des déficits quantitatifs, et parfois également fonctionnels des plaquettes, résultant de mutations génétiques.

Le dispositif des Centres de Référence et de Compétence des Pathologies Plaquettaires (CRPP et CCPP) intervient dans la mise en place d'une filière de soins adaptée à la prise en charge de ces maladies rares.

Bien que la connaissance de la physiologie plaquettaire et de la mégacaryocytopoïèse ait largement progressé, toutes les bases moléculaires n'ont pas été identifiées et plusieurs cas de thrombopénies constitutionnelles ne s'inscrivent pas parmi les nombreuses entités déjà décrites.

La littérature rapporte de nombreux cas de thrombopénies constitutionnelles diagnostiqués à tort en thrombopénie immune primaire, ce qui a conduit à une prise en charge thérapeutique inadaptée (traitement médicamenteux, splénectomie).

Des rapports de la pratique de certains centres indiquent les progrès à faire (Bryant N, 2011) et la manière d'y accéder (Glembotsky A, 2012).

Des progrès dans la sensibilisation du corps médical mais aussi dans la reconnaissance phénotypique de ces entités sont donc nécessaires pour améliorer leur diagnostic.

Les hématimètres constituent un moyen facilement utilisable pour obtenir des informations sur le volume plaquettaire moyen (VPM) et sur la courbe de distribution des plaquettes en fonction du volume plaquettaire. De part leur fonctionnement optique

permettant une analyse bidimensionnelle des plaquettes, les hématimètres de type ADVIA 2120 (Siemens) proposent de nouveaux paramètres plaquettaires qui n'ont jamais fait l'objet d'études dans les thrombopénies constitutionnelles.

Notre étude multicentrique (Nancy, Marseille & Kremlin-Bicêtre (Paris)) a permis d'étudier la distribution de ces paramètres plaquettaires ADVIA 2120 (Siemens) dans les différentes thrombopénies constitutionnelles afin de les définir par une «identité phénotypique plaquettaire».

L'analyse de la distribution de ces paramètres plaquettaires dans une dizaine d'entités différentes, en comparaison avec des valeurs seuils établies pour une population témoin, a permis de proposer des organigrammes décisionnels en fonction du phénotype plaquettaire.



Classification des principales thrombopénies constitutionnelles en fonction de la taille plaquettaire (seules les pathologies étudiées sont présentées)

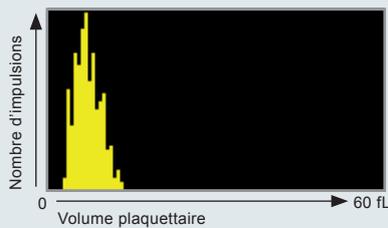
Pathologie plaquettaire	Mode de transmission	Cytologie	Signes cliniques possibles	Gène impliqué
Plaquettes de grande taille				
Syndrome MYH9	AD	Plaquettes géantes, inclusions basophiles leucocytaires	Cataracte, surdité, néphropathie.	<i>MYH9</i> (22q12-13)
Syndrome de Bernard Soulier Forme biallélique	AR	Plaquettes géantes		<i>GP1BA</i> (17p13), <i>GPIBB</i> (22q11), <i>GP9</i> (3q21)
Syndrome de Bernard Soulier Forme monoall�lique	AD	Macroplaquettes		<i>GP1BA</i> (17p13), <i>GPIBB</i> (22q11), <i>GP9</i> (3q21)
Thrombopénie Paris-Trousseau	AD	Macroplaquettes, granule alpha géant	Syndrome de Jacobsen (anomalies cardiaques, dysmorphies, retard du développement)	Large deletion (11q23-ter)
Syndrome des plaquettes grises	AR	Grandes plaquettes d'aspect p�le	évolution vers myélofibrose, splénomégalie	<i>NBEAL2</i> (3p21.1)
Maladie de Willebrand de type plaquettaire	AD	Macroplaquettes, possibilité d'agrégats plaquettaires, numération plaquettaire fluctuante et pouvant baisser en cas de stress		<i>GPIBA</i> (17p13)
Thrombopénie liée à GATA1	XL	Dys�rythropo�se	Anémie hémolytique	<i>GATA1</i> (Xp11)
Glanzmann variant	AD	Macroplaquettes	Thrombopathie	<i>ITGA2B</i> (17q21.32)
Plaquettes de taille normale				
Amégacaryocytose congénitale	AR	Diminution du nombre de mégacaryocytes, évolution vers aplasie médullaire	évolution vers aplasie	<i>c-Mpl</i> (1p34)
Thrombopénie avec absence de radius	AR	Diminution du nombre de mégacaryocytes, normalisation de la numération plaquettaire à l'âge adulte	Aplasie radiale bilatérale	<i>RBM8A</i> (1q21.1)
FPD/AML (Familial platelet disorder and predisposition to acute myelogenous leukemia)	AD	Dysm�gacaryopo�se	Prédisposition à développer une hémopathie dans 30% des cas	<i>RUNX1</i> (21q22)
THC2 Thrombopénie liée à <i>ANKRD26</i>	AD		Prédisposition à développer une hémopathies (en cours d'évaluation)	<i>ANKRD26</i> (10p2)
Plaquettes de petite taille				
Syndrome de Wiskott-Aldrich	XL	Plaquettes d'allure punctiforme	Déficit immunitaire, lymphome EBV-induit, eczéma	<i>WAS</i> (Xp11)
Thrombopénie liée à l'X	XL	Plaquettes d'allure punctiforme	Absence de signes extra-hématologiques	<i>WAS</i> (Xp11)

AD : autosomique dominant ; AR : autosomique recessif ; XL liée   l'X

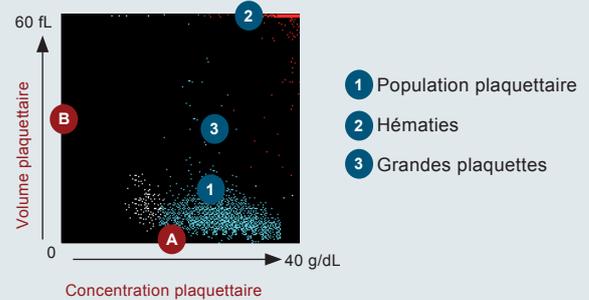
Graphes et paramètres plaquettares ADVIA 2120 utilisés dans l'étude

- **Volume Plaquettaire Moyen (VPM)** : moyenne des volumes plaquettares, mesurés entre 0 et 60 fL
- **Plateletcrit (PCT, %)** : numération plaquettaire x VPM.
- **Alarme Grandes Plaquettes (GP)** : plus de 10 % de plaquettes dont l'indice de réfraction entre 1,35 et 1,40 et volume plaquettaire >20 fL.
- **Platelet volume Distribution Width (PDW, %)** : coefficient de variation du volume plaquettaire calculé par le rapport entre l'écart-type du VPM et le VPM. Il reflète le degré d'anisocytose plaquettaire.
- **Mean Platelet Component Concentration (MPC, g/dL)** : concentration plaquettaire moyenne, reflète la concentration des composés intra-plaquettares.
- **Platelet Component Distribution Width (PCDW, g/dL)** : écart-type de la distribution de la CPM.
- **Mean Platelet Mass Dry (MPM, pg)** : la masse sèche est le produit du volume par le contenu de chaque plaquette.
- **Platelet Mass Dry Distribution Width (PMDW, pg)** : écart-type de la distribution de la MPM.

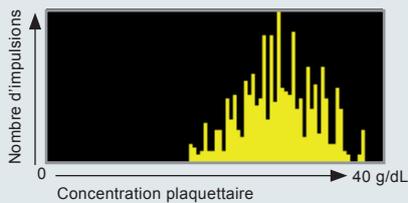
Volume plaquettaire moyen (VPM)



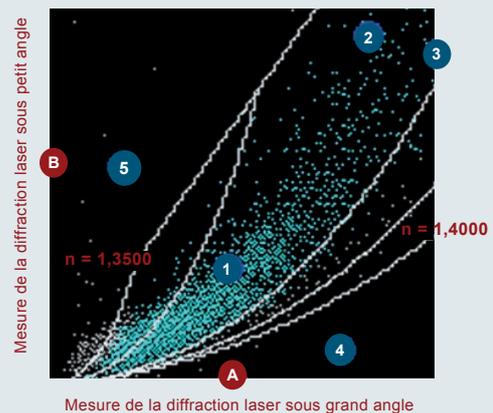
Volume/CP Pla



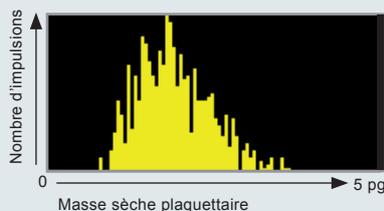
Concentration plaquettaire moyenne (MPC)



Cytogramme Diffraction plaquettes



Masse plaquettaire moyenne (MPM)



- 1 Plaquettes
- 2 Grandes plaquettes
- 3 Hématies
- 4 Hématies fragmentées
- 5 Hématies fantômes

Thrombopénies à VPM bas

Une thrombopénie importante avec un VPM limite bas ou diminué associé à une diminution de la MPM et de la MPC est caractéristique du syndrome de **Wiskott-Aldrich et de la thrombopénie liée à l'X**.

L'analyse du frottis sanguin coloré au MGG permet de confirmer l'allure punctiforme de l'ensemble des plaquettes (Latger-Cannard, 2008).

Ces arguments biologiques, interprétés avec les renseignements cliniques (thrombopénie depuis la naissance, eczéma, infections), seront suffisants, d'après notre étude, pour rechercher la mutation du gène *WAS*.

Paramètres plaquettaires	Thrombopénies à plaquettes de petite taille	Thrombopénies à plaquettes de taille normale	
	Wiskott-Aldrich (n=2)	FPD/AML (n=6)	ANKRD26 (THC2) (n=6)
NP (G/L)	↘↘	↘ [54-120]	↘ [47-85]
VPM (fL)	→↘ [7,3-7,6]	N ^{al}	N ^{al}
PCT (%)	↘↘	↘↘	↘↘
Alarme GP	N ^{al}	N ^{al}	N ^{al}
PDW (%)		N ^{al} ou ↗	N ^{al} ou ↗
MPC (g/dL)	↘	N ^{al} ou ↘	N ^{al} ou ↗
PCDW (g/dL)			N ^{al} ou ↘
MPM (pg)	↘	↘	N ^{al}
PMDW (pg)	↘		N ^{al}

Thrombopénies à VPM normal

Nous avons étudié 6 cas de thrombopénies de type **FPD/AML liées à des mutations de RUNX1** et 6 cas de **thrombopénies THC2 liées à des mutations de ANKRD26**.

Elles se caractérisent par une thrombopénie modérée comprise entre 47 G/L et 120 G/L, sauf pour un cas. Le VPM est toujours normal pour les cas de thrombopénies associées aux mutations des gènes *ANKRD26* et *RUNX1*.

L'augmentation du PDW trouvée même en l'absence d'augmentation du VPM pourrait s'expliquer par une accentuation de l'anisocytose physiologique en rapport avec une dysmégacaryocytopoïèse.

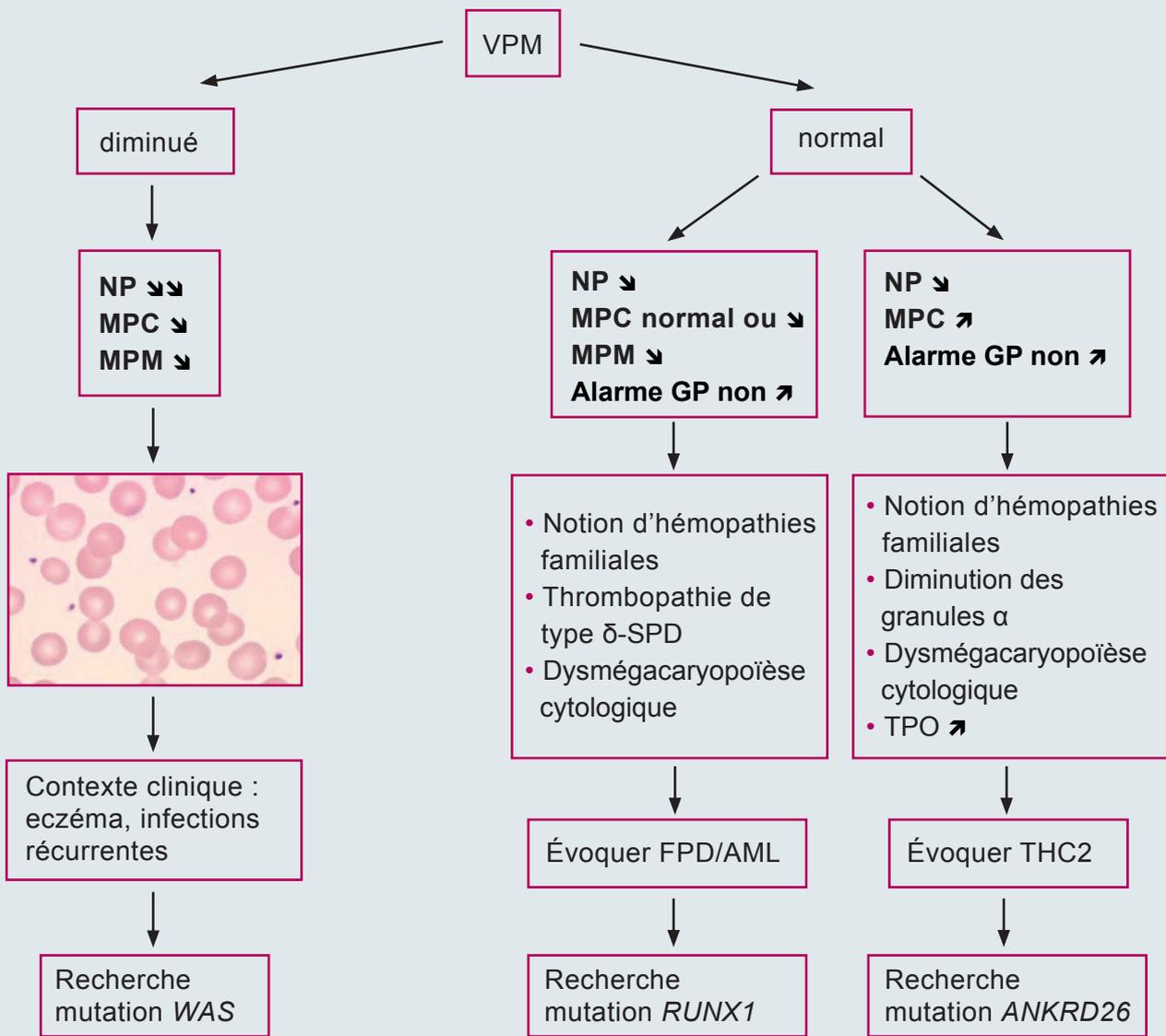
La thrombopénie FPD/AML est plutôt associée à une MPC normale alors que la thrombopénie liée à des mutations de gène *ANKRD26* est associée à une MPC augmentée. Ce comportement différentiel pourrait être attribué à une différence du contenu granulaire plaquettaire.

La thrombopénie FPD/AML est souvent associée, quand elle est recherchée, à une anomalie des granules denses entraînant une thrombopathie de type anomalie des grains denses.

Les thrombopénies liées à des mutations de **ANKRD26**, quant à elles, peuvent être associées à une anomalie des granules alpha. Ainsi la MPC et la MPM seraient plus sensibles à une anomalie des granules denses qu'à celle des granules alpha.

Ainsi, **une thrombopénie familiale autosomique dominante avec VPM normal justifie l'analyse moléculaire des gènes RUNX1 et ANKRD26**.

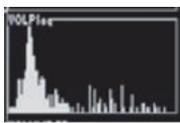
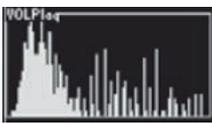
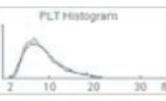
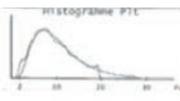
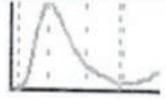
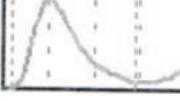
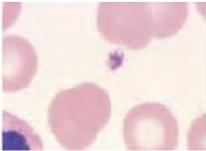
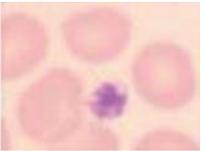
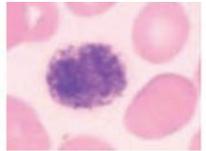
Les paramètres plaquettaires MPC et MPM, l'exploration fonctionnelle plaquettaire, la recherche d'une dysmégacaryocytopoïèse, l'étude de *MYH10* et le dosage de TPO sont des arguments distinctifs entre ces 2 entités.



Thrombopénies à VPM élevé

Concernant les thrombopénies constitutionnelles associées à la présence de plaquettes de grande taille, nous avons appliqué la démarche validée par le CRPP de caractérisation de la population plaquettaire en fonction de la courbe de distribution volumétrique de différents appareils combinée à l'analyse cytologique à partir du frottis sanguin. (Latger-Cannard V, 2012)

Nous avons distingué le groupe comprenant le syndrome de Bernard-Soulier (BSS) et l'entité MYH9 comprenant une proportion importante de plaquettes géantes (>8 μm, soit le noyau d'un petit lymphocyte), des autres entités à grandes plaquettes.

	Population plaquettaire normale	Population plaquettaire avec macroplaquettes	Population plaquettaire avec plaquettes géantes
ADVIA® 2120			
LH® 750 (Beckman Coulter)			
XE-2100D® (Sysmex)			
Morphologie plaquettaire			

Thrombopénies avec plaquettes géantes

En présence d'une thrombopénie associée à des plaquettes géantes, le diagnostic différentiel entre BSS et syndrome MYH9 ne se pose en général pas, tant la présentation clinique est différente.

La première étape du diagnostic de BSS ou de syndrome MYH9 est de bien repérer la présence de ces plaquettes géantes au cours de la réalisation d'un hémogramme (Baduini C, 2013). Seule l'analyse attentive de la courbe de répartition volumétrique en complément de la détermination d'un VPM augmenté permet d'orienter le diagnostic de thrombopénie vers ces entités.

La courbe de répartition prend alors une allure bimodale très évocatrice (cf. tableau page précédente).

Actuellement, **seule la technologie à mesure optique (ADVIA®) permet de rendre une valeur de VPM en cas de présence de plaquettes géantes**. Le biais potentiel en cas de plaquettes géantes analysées par l'ADVIA 2120 est la possibilité de comptage des microcytes érythrocytaires en plaquettes. Dans ce cas, l'analyse de l'histogramme *Volume / Concentration Plaquettaire* permet d'évoquer cette interférence et un comptage des plaquettes par CMF permet de corriger la valeur de la numération plaquettaire.

Paramètres plaquettaires	Syndrome MYH9 n=15	BSS n=7
NP (G/L)	↘ [31-120]	↘ [17-86]
VPM (fL)	↗ ↗ > 15,0 [15,3-28,1]	↗ ↗ > 15,0 [17,3-25,1] (sauf 1 cas, 12,9 fL)
PCT (%)	Non ↗ Malgré plt géantes	Non ↗ Malgré plt géantes
Alarme GP (G/L)	↗	↗
PDW (%)	Le plus souvent N ^{al} (ou ↗)	Le plus souvent N ^{al} (ou ↗)
MPC (g/dL)	N ^{al} ou ↗	N ^{al} ou ↗
PCDW (g/dL)	↘	↘
MPM (pg)	↗	↗
PMDW (pg)	↗	↗

Pour le **syndrome MYH9**, décrit comme faiblement hémorragipare avec une numération plaquettaire modérément diminuée, nous avons trouvé dans certains cas une numération plaquettaire inférieure à 50 G/L. Le VPM est très augmenté et toujours supérieur à 15 fL. Il est intéressant de noter que le PCT est non augmenté malgré la présence de plaquettes géantes. Le paramètre GP, qui correspond à la numération des plaquettes de volume supérieur à 20 fL, est toujours augmenté. Le PDW est normal dans la grande majorité des cas, indiquant que l'ensemble des plaquettes est de taille augmentée et que le contingent de plaquettes géantes est majoritaire. L'augmentation constante de la MPM et inconstante de la MPC sont cohérentes avec l'observation cytologique de plaquettes géantes bien granuleuses.

Le phénotype des paramètres plaquettaires du **syndrome de Bernard-Soulier** est similaire à celui du syndrome MYH9 attestant la présence de plaquettes géantes bien granuleuses. Cependant, la numération plaquettaire est

plus faible. Par ailleurs, le VPM montre des valeurs encore plus élevées variant entre 17,3 et 25,1 fL.

Cette étude nous permet de définir une entité phénotypique de plaquettes géantes avec un VPM très augmenté supérieur à 15 fL, une MPM et une population de GP systématiquement augmentée et une augmentation inconstante de la MPC.

Nous concluons qu'une valeur de VPM supérieure à 15 fL avec l'ADVIA 2120 doit inciter à rechercher une mutation MYH9.

L'entité Bolzano montre que la numération plaquettaire est faiblement diminuée, la MPM et la MPC sont toujours augmentées et que le VPM est également augmenté avec des valeurs comprises entre 12,9 fL et 16,5 fL. Ces valeurs de VPM permettent de différencier l'entité Bolzano des cas de BSS homozygotes.

Thrombopénies avec macroplaquettes

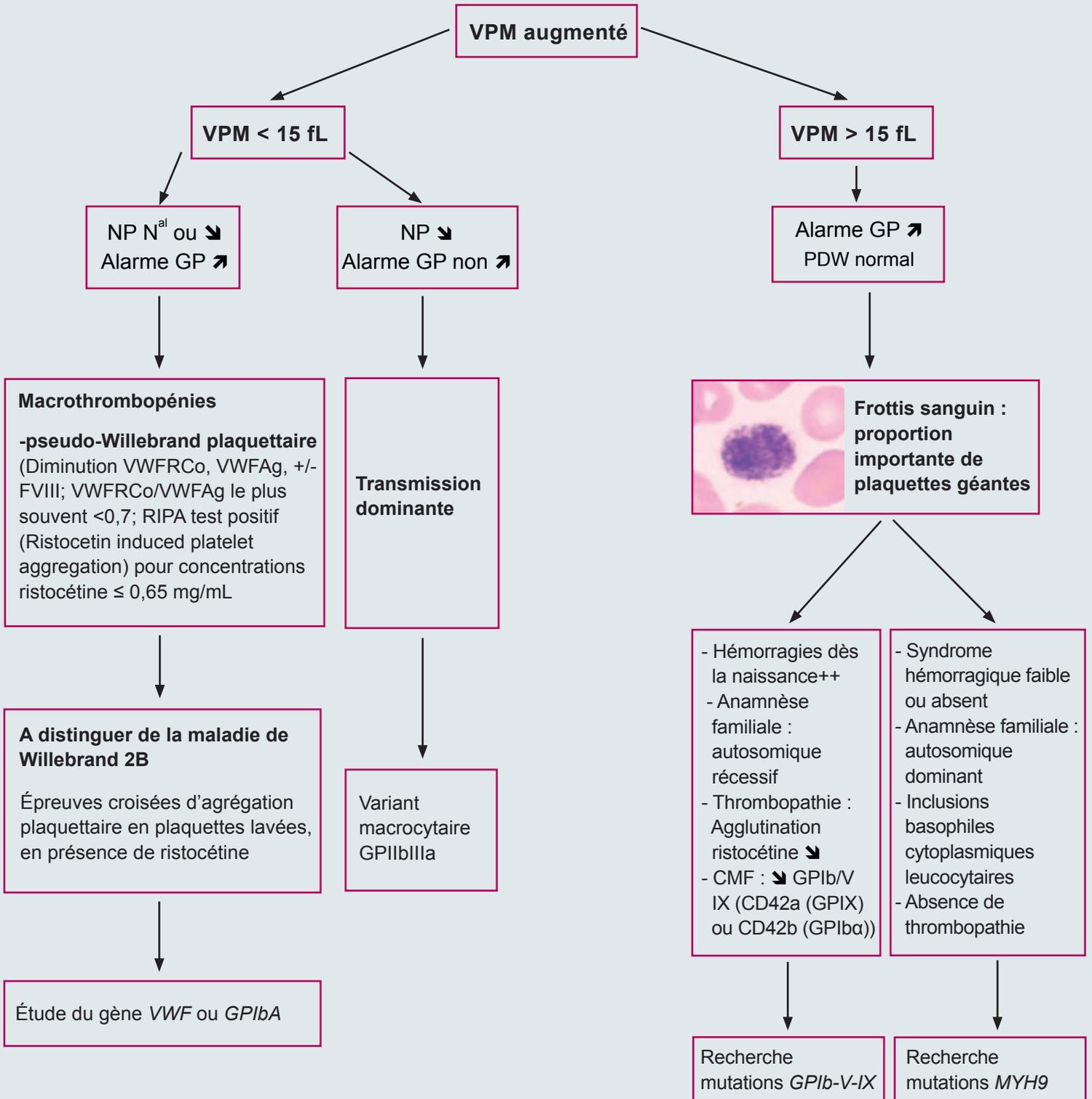
Le groupe des thrombopénies avec macroplaquettes (en dehors des entités syndromiques comme le syndrome de la délétion 22q11.2 (syndrome Vélo-Cardio-Facial (VCF)) ou le syndrome de Jacobsen associant éventuellement la thrombopénie Paris-Trousseau) est composé d'entités variées et hétérogènes.

Les principales entités sont représentées par la **maladie de Willebrand de type plaquettaire ou pseudo-Willebrand plaquettaire** qu'il faut distinguer de la maladie de **Willebrand de type 2B**, la forme macrocytaire de la maladie de Glanzmann et enfin le groupe des macrothrombopénies méditerranéennes autosomiques dominantes (dont le variant Bolzano).

Dans notre étude portant sur 7 cas de maladie de Willebrand 2B et deux cas de pseudo-Willebrand, il est intéressant de noter l'absence d'anomalies des paramètres plaquettaires dans les cas de pseudo-Willebrand alors qu'une augmentation du VPM, du MPM et de la PMDW et la présence inconstante du paramètre GP témoignent de la présence de macroplaquettes dans la maladie de Willebrand 2B. Ce profil reste à confirmer par une plus grande série de cas.

D'autres cas de TC à macroplaquettes (**macrothrombopénie familiale autosomique dominante, et variant du complexe GPIIb/IIIa**) ne sont pas présentés.

	Willebrand 2B (n=7)	Pseudo-Willebrand (n=2)	Bolzano (n =3)
NP (G/L)	hétérogène [33-230]	N ^{al}	↘ [76-125]
VPM (fL)	↗ [10,3-13,2]	N ^{al}	↗ [12,9-16,5]
PCT (%)	N ^{al} Ou ↘	N ^{al}	N ^{al} ou ↘
Alarme GP	N ^{al} ou ↗	N ^{al}	↗
PDW (%)	N ^{al}	N ^{al}	N ^{al} ou ↗
MPC (g/dL)	N ^{al}	N ^{al}	↗
PCDW (g/dL)	N ^{al}	N ^{al}	↘
MPM (pg)	↗	N ^{al}	↗
PMDW (pg)	↗	N ^{al}	↗ ou N ^{al} haut



Références bibliographiques

- Balduini CL, Savoia A, Seri M. Inherited thrombocytopenias frequently diagnosed in adults. Accepted manuscript online: 19 MAR 2013, DOI: 10.1111/jth.12196
- Balduini C and Savoia A. Genetics of familial forms of thrombocytopenia. Hum Genet 2012, 131: 1821-32.
- Bryant N, Watts R. Thrombocytopenic syndromes masquerading as childhood immune thrombocytopenic purpura. Clin Pediatr 2011, 50: 225-30.
- Glembotsky A, Marta R, Pecci A, De Rocco D, Gnan C, Espasandin Y, Goette N, Negro F, Noris P, Savoia A, Balduini C, Molinas F, Heller P. J Thromb Haemost. International collaboration as a tool for diagnosis of patients with inherited thrombocytopenia in the setting of a developing country. 2012, 10: 1653-1661.
- Latger-Cannard V, Proust A, Devignes J, Salignac S, Bensoussan D, Salmon A, Bordigoni P, Delaunay J, Lecompte T. A Wiskott-Aldrich syndrome revealed by a careful morphological examination of the platelets in a child. Hématologie 2008, 14 : 387-91.
- Latger-Cannard V, Hoarau M, Salignac S, Baumgart D, Nurden P, Lecompte T. Mean platelet volume: comparison of three analysers towards standardisation of platelet morphological phenotype. Int J Lab Hematol 2012, 34, 300-10.
- Latger-Cannard V, Lecompte T. Thrombopénies constitutionnelles : intérêt des paramètres plaquettaires et de la morphologie. Feuilles de Biologie 2013, 310: 15-23.
- Nurden AT, Freson K, Seligsohn U. Inherited platelet disorders. Haemophilia, 2012, 18: 154-160.
- Podda G, Femia E, Pugliano M, Cattaneo M. Congenital defects of platelet function. Platelets 2012, 23:552-563.

Remerciements

Nous tenons à remercier : Mme S. Kirschberger, Ingénieur Applications Hématologie, Mr E. Maldonado, Marketing, Responsable Gamme Hématologie – Hémostase et Mme M. Hillaire, Spécialiste National Hématologie, Siemens Healthcare Diagnostics, France, pour leur aide logistique.

Siemens Healthcare Diagnostics fournit aux professionnels de la santé des hôpitaux, laboratoires centralisés, cabinets médicaux et services « critical care » les informations vitales dont ils ont besoin pour diagnostiquer, traiter et suivre efficacement leurs patients. Notre portefeuille innovant de solutions axées sur les performances et services d'assistance personnalisés favorise un flux de travail rationalisé, une efficacité opérationnelle optimisée et un pronostic amélioré.

ADVIA et toutes les marques associées sont des marques déposées de Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Toutes les autres marques et marques déposées sont la propriété de leurs propriétaires respectifs.

La disponibilité des produits varie d'un pays à l'autre, et fait l'objet de différentes spécifications réglementaires. Pour vérifier la disponibilité, veuillez contacter votre représentant local.

© 2014, Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
Order No. A91DX-HHS-BH14-XC1-7700
| 08-2014 | Tous droits réservés |

Siemens Healthcare Diagnostics

40 Avenue des Fruitières
93 527 Saint Denis cedex, France

ADVIA® 2120

Mandataire

Siemens Healthcare Diagnostics Ltd
Sir William Siemens Sq.
Frimley, Camberley, GU168QD
Angleterre

Veuillez lire attentivement le manuel
d'utilisation de l'instrument.

Global Siemens Headquarters

Siemens AG
Wittelsbacherplatz 2
80333 Munich
Allemagne

Siemens Healthcare

Siemens AG
Healthcare Sector
Henkestrasse 127
91052 Erlangen
Allemagne
Tél. : +49 9131 84-0
www.healthcare.siemens.com

Division Internationale

Siemens Healthcare Diagnostics
511 Benedict Avenue
Tarrytown, NY 10591-5005
États-Unis d'Amérique
www.healthcare.siemens.com