

## Faculté de Pharmacie

Année 2023

Thèse N°

### Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

Le 22 septembre 2023

Par

Intissar DALHOUMI GUEDIRI

### Étude rétrospective de la numération des schizocytes sur le frottis sanguin : intérêt clinique et robustesse

Thèse dirigée par M. le Dr Franck Trimoreau, PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

#### Examineurs :

Mme. Le Pr Sylvie Rogez, PU-PH, Service de Virologie, CHU de Limoges

M. le Pr Jean Feuillard, PU-PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

Mme. Le Dr Jasmine Chauzeix, MCU-PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

M. le Dr David Rizzo, MCU-PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

M. le Dr Jean François Lesesve, PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Nancy

Mme. Le Dr Marie Pierre Gourin, PH, Service d'Hématologie clinique, CHU de Limoges

Mme. Le Dr Marie Laurence Destain, PH, Laboratoire d'Hématologie, CH de Brive





## Faculté de Pharmacie

Année 2023

Thèse N°

### Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

Le 22 septembre 2023

Par Intissar DALHOUMI GUEDIRI

### **Étude rétrospective de la numération des schizocytes sur le frottis sanguin : intérêt clinique et robustesse**

Thèse dirigée par M. le Dr Franck Trimoreau, PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

Examineurs :

Mme. Le Pr Sylvie Rogez, PU-PH, Service de Virologie, CHU de Limoges

M. le Pr Jean Feuillard, PU-PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

Mme. Le Dr Jasmine Chauzeix, MCU-PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

M. le Dr David Rizzo, MCU-PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Limoges

M. le Dr Jean François Lesesve, PH, Laboratoire d'Hématologie, CHU de Nancy

Mme. Le Dr Marie Pierre Gourin, PH, Service d'Hématologie clinique, CHU de Limoges

Mme. Le Dr Marie Laurence Destain, PH, Laboratoire d'Hématologie, CH de Brive



# Personnel enseignant de la Faculté de Pharmacie de Limoges

---

Le 1<sup>er</sup> janvier 2023

## Doyen de la Faculté

Monsieur le Professeur COURTIOUX Bertrand

## Vice-doyen de la Faculté

Monsieur LÉGER David, Maître de conférences

## Assesseurs de la Faculté

Monsieur le Professeur BATTU Serge

Monsieur le Professeur PICARD Nicolas

## Professeurs des Universités – Hospitalo-Universitaires

M. PICARD Nicolas	Pharmacologie
Mme ROGEZ Sylvie	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
M. SAINT-MARCOUX Franck	Toxicologie

## Professeurs des Universités – Universitaires

M. BATTU Serge	Chimie analytique et bromatologie
M. CARDOT Philippe	Chimie analytique et bromatologie
M. COURTIOUX Bertrand	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
M. DESMOULIERE Alexis	Physiologie
M. DUROUX Jean-Luc	Biophysique et mathématiques
Mme FAGNÈRE Catherine	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
M. LIAGRE Bertrand	Biochimie et biologie moléculaire
Mme MAMBU Lengo	Pharmacognosie
M. TROUILLAS Patrick	Biophysique et mathématiques

**Mme VIANA Marylène** Pharmacie galénique

**Maitres de Conférences des Universités – Hospitalo-Universitaires**

**M. BARRAUD Olivier (\*)** Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie

**Mme. CHAUZEIX Jasmine** Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie

**M. JOST Jérémie** Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

**Maitres de Conférences des Universités – Universitaires**

**M. BASLY Jean-Philippe (\*)** Chimie analytique et bromatologie

**Mme BEAUBRUN-GIRY Karine** Pharmacie galénique

**Mme BÉGAUD Gaëlle** Chimie analytique et bromatologie

**M. BILLET Fabrice** Physiologie

**Mme BONAUD Amélie** Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie

**M. CALLISTE Claude** Biophysique et mathématiques

**M. CHEMIN Guillaume** Biochimie et biologie moléculaire

**Mme CLÉDAT Dominique** Chimie analytique et bromatologie

**M. COMBY Francis** Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

**Mme DELEBASSÉE Sylvie** Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie

**Mme DEMIOT Claire-Elise (\*)** Pharmacologie

**M. FABRE Gabin** Biophysique et mathématiques

**M. LABROUSSE Pascal (\*)** Botanique et cryptogamie

**Mme LAVERDET Betty** Pharmacie galénique

**M. LAWSON Roland** Pharmacologie

**M. LÉGER David** Biochimie et biologie moléculaire

**Mme MARRE-FOURNIER Françoise** Biochimie et biologie moléculaire

<b>M. MERCIER Aurélien</b>	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
<b>Mme MILLOT Marion (*)</b>	Pharmacognosie
<b>Mme PASCAUD-MATHIEU Patricia</b>	Pharmacie galénique
<b>Mme POUGET Christelle (*)</b>	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
<b>M. TOUBLET François-Xavier</b>	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
<b>M. VIGNOLES Philippe (*)</b>	Biophysique et mathématiques

**(\*) Titulaire de l'Habilitation à Diriger des Recherches (HDR)**

#### **Assistant Hospitalo-Universitaire**

<b>Mme MARCELLAUD Elodie</b>	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
------------------------------	---

#### **Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche**

<b>Mme KENE MALAHA Angéladine</b>	Épidémiologie, statistique, santé publique
<b>M. NASSER Mohamad</b>	Pharmacognosie, botanique et mycologie

#### **Enseignants d'anglais**

<b>M. HEGARTY Andrew</b>	Chargé de cours
<b>Mme VERCELLIN Karen</b>	Professeur certifié

## Remerciements

---

### **Madame le Professeur Sylvie Rogez,**

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Merci de m'avoir guidé et soutenu dans mes choix de stages. Veuillez recevoir l'expression de tout mon respect et de ma profonde reconnaissance.

### **Monsieur le Professeur Jean Feuillard,**

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail de thèse. Merci de m'avoir encouragé à compter mon premier myélogramme et d'avoir partagé vos connaissances de cytologie. Veuillez trouver ici l'expression de tout mon profond respect.

### **Madame le Docteur Jasmine Chauzeix,**

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail de thèse. Je tiens à vous remercier pour le temps précieux que vous avez investi dans l'évaluation de mon travail. Bien au-delà de vos compétences pédagogiques remarquables, je tiens à exprimer ma sincère appréciation pour votre disponibilité constante et votre bienveillance.

### **Monsieur le Docteur David Rizzo,**

C'est un honneur pour moi que de vous compter parmi mon jury de thèse. Merci pour votre disponibilité et pour toutes ces connaissances que vous avez partagé avec moi durant mes deux passages au laboratoire d'hématologie. Votre capacité à rendre les concepts complexes accessibles et passionnants a créé un environnement d'apprentissage où je me sentais encouragée à poser des questions, à explorer et à apprendre.

### **Monsieur le Docteur Franck Trimoreau,**

Je tiens à vous exprimer toute ma gratitude pour la manière dont vous partagez vos vastes connaissances avec une humilité exemplaire. Chaque jour, vous parvenez à nourrir ma passion pour la cytologie en laissant transparaître votre propre enthousiasme. Votre capacité à enseigner avec tant de modestie est un exemple inspirant, et cela a renforcé ma volonté de plonger plus profondément dans ce domaine de cytologie captivant. Votre expertise, votre soutien inestimable et votre engagement tout au long de ce processus ont été d'une importance capitale pour la réussite de ce travail. Votre remarquable compréhension du sujet et vos précieuses contributions lors des échanges ont enrichi mon travail et m'ont poussé à repousser les limites de ma réflexion. Votre engagement envers l'excellence académique a constamment guidé mes efforts, me poussant à viser l'excellence dans chaque aspect de ma thèse.

**Madame le Docteur Marie Laurence Destain,**

Je te remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Les souvenirs que je garde du stage que j'ai effectué à Brive sont véritablement exceptionnels. Ton dévouement, ton investissement remarquable, ton approche humble et ton expertise dans le domaine de l'hématologie m'ont grandement marqué.

**Monsieur le Dr Jean François Lesesve,**

Je vous remercie de me faire l'honneur de faire partie du jury de thèse. Vos remarques et suggestions m'ont permis de perfectionner ma thèse et d'apporter des améliorations significatives. Votre expertise et votre regard critique ont été d'une grande aide pour faire de ce travail un projet abouti et de qualité. Veuillez recevoir l'expression de tout mon respect et de ma profonde reconnaissance.

**Madame le Docteur Marie Pierre Gourin,**

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance pour l'encouragement que vous avez prodigué à ce projet, et pour l'investissement de votre temps dans l'évaluation de mon travail, ainsi que pour la contribution de votre expertise. Les nombreuses discussions auxquelles nous avons pris part, de même que les conseils judicieux que vous avez dispensés ont été d'une importance déterminante dans l'aboutissement de ce travail. Acceptez mes plus sincères remerciements

**Madame le Docteur Zhour EL Ouafi,**

Je tiens à vous exprimer ma gratitude pour la précieuse aide que vous m'avez apportée pour l'analyse des dossiers cliniques des patients. Vos explications approfondies sur les mécanismes de la microangiopathie thrombotique intra-rénale et de l'HTA maligne ont été inestimables pour ma compréhension.

**Madame le Docteur Nathalie Gachard,**

Merci pour vos précieux conseils, votre pédagogie, votre gentillesse et votre bienveillance. Je vous remercie pour votre aide précieuse lors de l'analyse des dossiers cliniques. Votre contribution a grandement enrichi mon travail.

**Madame le Docteur Magali Donnard,**

Merci d'avoir partagé votre expertise dans le domaine de l'hémostase, pour votre gentillesse et votre bienveillance.



Je remercie **Clement Varelhias** pour sa précieuse contribution à ce travail de thèse. Ton engagement et ta bienveillance lors de la relecture des lames de schizocytes ont été d'une aide inestimable. Merci sincèrement pour ton enthousiasme et ta bienveillance.

Je remercie le **Dr Yasser Baaj** pour son soutien inestimable et son investissement au cours de mon passage au laboratoire de biochimie. Je remercie également le **Pr Marie-Cécile Ploy**, le **Pr Sébastien Hantz**, le **Dr Jérôme Darreye**, le **Dr Nadia Hidri**, le **Dr Aurélie Chabaud**, le **Dr Christian Martin**, le **Pr Frédéric Favreau**, le **Dr Pierre-Antoine Faye**, le **Dr André Sommare**, le **Dr Laure Guindre** et le **Dr Sylvie Goffart**.

Je remercie également **Sarah Nasraddine**, **Marine Dupont**, **Nicolas Voirin-Mathieu**, **Sylvain Meyer**, **Marie-Fleur Durieux** et **Etienne Herault**.

Merci à tous les biologistes de tous les secteurs où je suis passée (BVH, Biochimie, Hématologie et Brive).

Je remercie tous les techniciens de tous les secteurs et le personnel de la réception centralisée, particulièrement les techniciens d'hématologie et les techniciens de nuit pour votre soutien et votre bonne humeur ! Je remercie également les techniciens du CH de Brive pour leur accueil et leur bienveillance.

Je tiens à remercier Sylvie pour son engagement dans l'archivage des lames, ainsi qu'à toutes les personnes au laboratoire d'hématologie qui ont minutieusement gardé de côté les frottis sanguins qui ont été essentiels à l'avancement de mes recherches.

Je remercie tous mes co-interne particulièrement Alice, Sarah M, Rémy, Cassandra, PHD, Fifamè, Maxime, François, Wasfi, Emilien, Inès, Chiêu-ân, Sami et Charlotte (une équipe en or avec un grand cœur !!). Merci pour tous ces moments partagés pendant nos semestres. Merci d'avoir été des co-internes exceptionnels, des amis et des collaborateurs dévoués.

### **A ma mère,**

Merci pour ton amour, ton encouragement et ta confiance qui ont été des piliers fondamentaux dans la réalisation de ce parcours. Ta constante foi en moi a été une source de motivation inestimable, et tes sacrifices pour me permettre de poursuivre mes études ont construit le fondement de cette réussite.

### **A mon père,**

En cet instant de réalisation et de fierté, je tiens à adresser un hommage spécial à mon père, dont la présence n'est plus physique mais demeure vivante dans mon cœur et dans chaque étape de ma thèse. Ton départ a créé un vide indescriptible dans ma vie, mais ta mémoire et ton influence continuent de m'inspirer. Ton amour pour l'apprentissage et ton désir que j'atteigne mes objectifs ont été des moteurs puissants qui m'ont poussé à persévérer, même dans les moments difficiles. Ta sagesse et tes enseignements continuent de résonner en moi, me guidant à travers les défis intellectuels et émotionnels.

### **A mon mari,**

Trouver les mots pour exprimer ma reconnaissance envers toi dépasse largement les simples termes "merci". Ta présence dans ma vie a été une source de soutien et d'inspiration. À chaque étape de ce parcours parfois difficile, tu as été mon pilier, m'encourageant et me donnant la force nécessaire pour avancer. Sans ton indéfectible soutien, je n'aurais jamais pu surmonter les défis qui se sont présentés à moi. Ta foi en moi a été mon moteur, et ta fierté a été une lumière qui a guidé chacun de mes pas. Tu as su être mon roc durant les moments les plus difficiles, apportant un réconfort inestimable et une perspective positive. Ta capacité à partager la joie et le bonheur, même au cœur des épreuves, a été un don précieux qui a illuminé mon chemin. Ma thèse est le fruit de ton amour inconditionnel et de ton encouragement constant, et je suis infiniment reconnaissante de t'avoir à mes côtés.

### **A tata Aïcha,**

Je te remercie pour ton soutien et ton amour. Ta bienveillance et ton encouragement ont été une source de réconfort et de motivation précieuse. Merci infiniment pour tout !

### **A mes amis,**

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers mes amis qui ont joué un rôle exceptionnel tout au long de mon parcours. Votre amitié et votre soutien ont été un véritable pilier de force et de réconfort pour moi.

Khouloud et Nourhène, avec qui j'ai partagé 15 ans d'amitié et de complicité, votre présence a été un précieux trésor dans ma vie. Mohamed G, nos 18 années d'amitié ont résisté à l'épreuve du temps, et je suis reconnaissante d'avoir pu partager autant de moments inoubliables à tes côtés.

Matthieu, Yanna et Aldo, Imène M, Inès G, Ghaith, Khalil B, Abdoulaye, Dramane, Charlotte D, Manon G, chacun de vous a contribué à colorer mon parcours avec des souvenirs inestimables et des moments de joie.

Je souhaite également remercier mes amis de Limoges, d'abord Ahmed, une rencontre amicale exceptionnelle, Mohamed H, avec qui j'ai hâte de prendre un café, Ihèb, pour ces moments de pure rigolade et de blagues mémorables ! Ilyès et Oumayma, pour votre gentillesse et votre humilité qui illuminent ma vie.

À Fatma, Mohamed C, Rim, Oussama, Melek, Salah, Maha, Röua, Imen S, je vous exprime toute ma reconnaissance pour avoir partagé des moments de rire, de partage et de complicité qui ont marqué mon passage à travers cette étape importante.

Votre amitié m'a inspiré et soutenu, et je vous suis extrêmement reconnaissante de faire partie de ma vie. Votre présence a été un cadeau précieux qui a rendu cette période encore plus spéciale.

Merci à tous ceux que je n'ai pas cité mais que je n'ai sûrement pas oublié !

## Droits d'auteurs

---

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



# Table des matières

<b>Introduction</b> .....	<b>21</b>
<b>1. Globule rouge</b> .....	<b>22</b>
<b>1.1. Histoire, synthèse, structure et régulation</b> .....	<b>22</b>
1.1.1. Histoire de la découverte des globules rouges :.....	22
1.1.2. Synthèse des globules rouges : embryogenèse et érythropoïèse.....	25
1.1.2.1. Embryogenèse.....	25
1.1.2.2. Érythropoïèse.....	25
1.1.3. Structure du globule rouge : caractéristiques morphologiques, biochimiques et rhéologiques.....	29
1.1.3.1. Caractéristiques morphologiques.....	29
1.1.3.1.1. Membrane du globule rouge.....	29
1.1.3.1.2. Cytosquelette.....	30
1.1.3.1.3. Hémoglobine.....	31
1.1.3.2. Caractéristiques biochimiques.....	31
1.1.3.3. Caractéristiques rhéologiques.....	31
1.1.3.4. Caractéristiques fonctionnelles.....	32
1.1.4. Régulation.....	33
<b>1.2. Anomalies des globules rouges</b> .....	<b>33</b>
1.2.1. Anomalies de taille.....	33
1.2.1.1. Anisocytose.....	33
1.2.1.2. Microcytose.....	33
1.2.1.3. Macrocytose.....	33
1.2.2. Anomalies de teinte.....	34
1.2.2.1. Hypochromie.....	34
1.2.3. Anomalies de formes.....	34
1.2.3.1. Échinocytes et acanthocytes.....	34
1.2.3.2. Dacryocytes.....	34
1.2.3.3. Elliptocytose.....	34
1.2.3.4. Pyropoïkilocytose héréditaire.....	35
1.2.3.5. Ovalocytose sud-asiatique.....	35
1.2.3.6. Sphérocytose héréditaire.....	35
1.2.3.7. Stomatocyte.....	35
1.2.3.8. Hématie cible.....	35
1.2.3.9. Hématies fantômes.....	35
1.2.3.10. Syndrome d'hyperhydratation.....	36
1.2.3.11. Pyknocytes.....	36
1.2.4. Hémoglobinopathies.....	36
1.2.4.1. Drépanocytose.....	36
1.2.4.2. Hémoglobinoses C, D et E.....	36
1.2.4.3. Thalassémie.....	37
1.2.5. Inclusions intra-érythrocytaires.....	37
1.2.5.1. Ponctuations basophiles.....	37
1.2.5.2. Corps de Howell-Jolly.....	37
1.2.5.3. Anneaux de Cabot.....	38
1.2.5.4. Granulations azurophiles.....	38
1.2.5.5. Corps de Pappenheimer.....	38
1.2.5.6. Corps de Heinz.....	38
<b>2. Schizocytes</b> :.....	<b>41</b>
<b>2.1. Définition, morphologie et physiopathologie</b> .....	<b>41</b>
2.1.1. Définition.....	41
2.1.2. Morphologie.....	41
2.1.3. Physiopathologie.....	43
<b>2.2. Recherche de schizocytes</b> .....	<b>43</b>

2.2.1.	Étapes pré-analytiques .....	43
2.2.1.1.	Acheminement .....	43
2.2.1.2.	Étalement .....	43
2.2.2.	Étapes analytiques .....	44
2.2.2.1.	Lecture du frottis sanguin.....	44
2.2.3.	Étapes post-analytiques .....	44
2.2.3.1.	Rendu du résultat et interprétation.....	44
<b>3.</b>	<b>Diagnostic différentiel des schizocytes .....</b>	<b>47</b>
3.1.	Pseudomicroangiopathie thrombotique par carence en vitamine B12.....	47
3.2.	Pyknocytose infantile : .....	49
<b>4.</b>	<b>Analyses complémentaires à la recherche des schizocytes .....</b>	<b>51</b>
4.1.	Numération formule sanguine.....	51
4.1.1.	Taux d'hémoglobine .....	51
4.1.2.	Taux de plaquettes .....	51
4.1.3.	Réticulocytes .....	51
4.2.	Bilan d'hémolyse .....	52
4.2.1.	Haptoglobine.....	52
4.2.2.	Lactates déshydrogénases .....	52
4.2.3.	Bilirubine libre et conjuguée.....	52
4.3.	Test de Coombs ou test érythrocytaire direct à l'antiglobuline.....	52
4.4.	Bilan d'hémostase.....	53
4.4.1.	Coagulation intravasculaire disséminée .....	53
4.4.2.	Facteur de Von Willebrand .....	54
4.4.3.	ADAMTS13.....	54
4.5.	Autres examens : .....	57
<b>5.</b>	<b>Automates de cytologie et alarmes globules rouges .....</b>	<b>58</b>
5.1.	Chaîne de cytologie SYSMEX Roche.....	58
5.2.	ADVIA .....	59
<b>6.</b>	<b>Étiologies de la schizocytose circulante.....</b>	<b>61</b>
6.1.	Microangiopathie thrombotique idiopathique .....	61
6.1.1.	Purpura thrombotique thrombocytopenique .....	61
6.1.1.1.	Définition .....	61
6.1.1.2.	Épidémiologie.....	62
6.1.1.3.	Physiopathologie .....	62
6.1.1.3.1.	PTT congénital .....	63
6.1.1.3.2.	PTT acquis .....	63
6.1.1.4.	Facteurs de risque/ facteurs protecteurs.....	64
6.1.1.5.	Diagnostic .....	64
6.1.1.6.	Les signes cliniques .....	65
6.1.1.7.	Les signes biologiques .....	65
6.1.1.8.	Prise en charge .....	68
6.1.1.8.1.	Prise en charge du PTT auto-immun .....	68
6.1.1.8.1.1.	Échanges plasmatiques .....	68
6.1.1.8.1.2.	Corticothérapie adjuvante .....	69
6.1.1.8.1.3.	Caplacizumab .....	69
6.1.1.8.1.4.	Rituximab .....	69
6.1.1.8.1.5.	Traitement prophylactique des rechutes .....	70
6.1.1.8.2.	Prise en charge du PTT congénital.....	71
6.1.1.8.3.	Schéma thérapeutique du PTT réfractaire .....	71
6.1.1.8.4.	Traitement symptomatique.....	71
6.1.1.9.	Pronostic .....	72

6.1.1.10. Diagnostic différentiel.....	72
6.1.2. Syndrome hémolytique et urémique.....	72
6.1.2.1. Définition.....	72
6.1.2.2. SHU typique.....	73
6.1.2.2.1. Physiopathologie.....	73
6.1.2.2.2. Épidémiologie.....	74
6.1.2.2.3. Transmission.....	75
6.1.2.2.4. Facteurs de risque.....	75
6.1.2.3. SHU atypique.....	75
6.1.2.3.1. Épidémiologie.....	75
6.1.2.3.2. SHUa lié à la dérégulation de l'activation du complément.....	75
6.1.2.3.2.1. Rappel sur le système du complément.....	75
6.1.2.3.2.1.1. La voie classique.....	76
6.1.2.3.2.1.2. La voie des lectines.....	76
6.1.2.3.2.1.3. La voie alterne.....	76
6.1.2.3.2.1.4. Régulation.....	76
6.1.2.3.3. Physiopathologie.....	77
6.1.2.4. Diagnostic du syndrome hémolytique et urémique.....	78
6.1.2.4.1. Signes cliniques.....	78
6.1.2.4.2. Signes biologiques.....	78
6.1.2.5. Prise en charge.....	79
6.1.2.5.1. Traitement symptomatique.....	79
6.1.2.5.2. Traitement par éculizumab.....	80
6.1.2.5.3. Traitement par ravulizumab.....	81
6.1.2.5.4. Plasmathérapie.....	81
6.1.2.6. Pronostic.....	81
<b>6.2. Microangiopathie thrombotique secondaire.....</b>	<b>81</b>
6.2.1. MAT paranéoplasique.....	81
6.2.1.1. Mécanisme d'action.....	83
6.2.1.2. Traitement et prise en charge.....	84
6.2.1.3. Pronostic :.....	84
6.2.1.4. Diagnostic différentiel :.....	84
6.2.2. MAT liée aux médicaments.....	85
6.2.2.1. Classification des microangiopathies thrombotiques médicamenteuse :.....	85
6.2.2.2. Signes cliniques :.....	86
6.2.2.3. Médicaments signalés en association avec une MAT.....	88
6.2.2.3.1. Chimiothérapie/ médicaments antinéoplasiques.....	88
6.2.2.3.2. Thérapie ciblée.....	91
6.2.2.3.3. Médicaments immunosuppresseur :.....	92
6.2.2.3.4. Les antiagrégants plaquettaires :.....	92
6.2.2.3.5. Autres médicaments.....	93
6.2.2.3.6. Drogues illicites et substances toxiques.....	93
6.2.2.4. Prise en charge.....	94
6.2.2.5. Pronostic.....	95
6.2.3. Déficit congénital en vitamine B12.....	95
6.2.4. Grossesse et post partum.....	97
6.2.4.1. Grossesse normale.....	97
6.2.4.2. Thrombopénie liée à la grossesse.....	97
6.2.4.2.1. Le syndrome catastrophique des antiphospholipides.....	98
6.2.4.2.2. Prééclampsie.....	99
6.2.4.2.3. La stéatose hépatique aiguë gravidique.....	100
6.2.4.2.4. Purpura thrombopénique immunologique.....	101
6.2.4.2.5. HELLP syndrome : hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets count / Hémolyse, les enzymes hépatiques élevées et les plaquettes basses.....	101
6.2.4.2.6. PTT.....	102
6.2.4.2.7. SHU.....	104
6.2.4.3. Prise en charge.....	105
6.2.5. MAT secondaire aux infections :.....	106
6.2.5.1. Streptococcus pneumoniae.....	108
6.2.5.2. Virus de l'immunodéficience humaine.....	108

6.2.5.3.	Coronavirus .....	109
6.2.6.	Grefe .....	109
6.2.6.1.	Pronostic .....	110
6.2.6.2.	Le risque de récidence d'un SHU atypique post-grefe .....	110
6.2.6.3.	Physiopathologie .....	110
6.2.6.4.	Facteurs de risque .....	111
6.2.6.5.	Signes cliniques et biologiques .....	111
6.2.6.6.	Prise en charge et traitement .....	112
6.2.7.	Maladies systémiques .....	112
6.2.7.1.	Lupus érythémateux dissimin� .....	113
6.2.7.2.	Syndrome des antiphospholipides .....	113
6.2.7.3.	Sclérodermie systémique .....	113
6.2.8.	Hypertension artérielle maligne .....	113
<b>7.</b>	<b>Problématique et objectifs .....</b>	<b>116</b>
7.1.	Problématique .....	116
7.2.	Objectifs .....	116
<b>8.</b>	<b>Matériels et méthodes .....</b>	<b>117</b>
8.1.	Type de l'étude .....	117
8.2.	Critères d'inclusion .....	117
8.3.	Critères d'exclusion .....	117
8.4.	Recueil et traitement des données .....	117
8.5.	Classement des étiologies .....	117
8.6.	Relecture des frottis sanguins .....	119
8.7.	Statistique .....	120
<b>9.</b>	<b>Résultats .....</b>	<b>121</b>
9.1.	CHU de limoges .....	121
9.1.1.	Nombre de patients inclus dans l'étude .....	121
9.1.2.	Statistique .....	122
9.1.2.1.	Population globale .....	122
9.1.2.1.1.	Genre .....	122
9.1.2.1.2.	�ge .....	122
9.1.2.1.3.	Service prescripteur .....	123
9.1.2.1.4.	Plaquettes .....	124
9.1.2.2.	Population schizocytes 0.5 % - 2 % .....	124
9.1.2.2.1.	Age 0.5 % - 2 % .....	124
9.1.2.2.2.	Lactate déshydrogénase .....	125
9.1.2.2.3.	Bilirubine .....	125
9.1.2.2.4.	Haptoglobine .....	126
9.1.2.2.5.	Plaquettes .....	127
9.1.2.3.	�tiologies .....	127
9.1.2.4.	Diagnostics différentiels .....	130
9.1.2.5.	Relecture .....	131
9.2.	CH de Brive .....	139
<b>10.</b>	<b>Discussion .....</b>	<b>140</b>
<b>11.</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>150</b>

## Liste des abréviations

---

**Ac** : Anticorps

**Ac anti-MBG** : Anticorps anti-membrane basale glomérulaire

**ADA** : adénosine-désaminase

**ADAMTS-13**: A Disintegrin And Metalloprotease with Thrombospondin type I repeats-13

**Ag** : Antigène

**ALAT** : Alanines aminotransférases

**AMM** : Autorisation Mise sur le Marché

**ANSM** : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

**ARN** : Acide ribonucléique

**ASAT** : Aspartate aminotransférase

**ATP** : Adénine triphosphate

**Béta-HCG** : Hormone chorionique gonadotrope humaine

**BFU-E**: Burst forming unit-erythroid

**CAM** : Complexe d'attaque membranaire

**CFHR** : Complément factor h-rRelated

**CFU-E**: Colony forming unit-erythroid

**CFU-GEMM**: Colony forming unit-granulocyte/ erythrocyte/ monocyte/ macrophage

**CH** : Centre hospitalier

**CHU** : Centre hospitalier universitaire

**CIVD** : Coagulation intravasculaire disséminée

**CMV** : Cytomégalovirus

**CNR** : Centre national de référence

**CO** : Monoxyde de carbone

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone

**CRP** : C reactive protein

**CRS** : Crise rénale sclérodermique

**CSH** : Cellule souche hématopoïétique

**DAG** : Diacyl-glycérol

**DGKE** : Diacylglycerol kinase epsilon

**DPG** : Acide 2,3 diphosphoglycérique

**ECBU** : Examen cyto bactériologique des urines

**EDTA** : Acide éthylène diamine tétra-acétique

**EHEC** : *Escherichia Coli entérohéorragique*

**ELISA** : Enzyme-linked immunosorbent assay

**EM** : Étude morphologique

**EPO**: Érythropoïétine

**FDA** : Food and drug administration

**FRC** : Fragmented red cells

**FRET** : Fluorescence resonance energy transfer

**G6PD** : Glucose-6-phosphate déshydrogénase

**Gb3** : Globotriaosylcéramide

**GFHC** : Groupe francophone d'hématologie cellulaire

**γGT** : Gamma-glutamyltranspeptidase

**GMP** : Granulocyte/monocyte progenitor

**Gp** : Glycoprotéine

**GR** : Globule rouge

**GFHC** : Groupe francophone d'hématologie cellulaire

**Hb** : Hémoglobine

**HbS** : Hémoglobine S

**HBPM** : Héparine de bas poids moléculaire

**HELLP** : Hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets count

**HO-1** : Hème oxygénase-1

**ICC** : Coefficient de corrélation intra-class



**ICSH** : International council for standardization in heamatology

**IL-1** : Interleukine-1

**IL-6** : Interleukine-6

**Ig** : Immunoglobuline

**INR** : l'International normalized ratio

**IPP** : Identifiant permanent du patient

**IRA** : Insuffisance rénale aigüe

**IRC** : Insuffisance rénale chronique

**ISTH** : Société internationale de thrombose et d'hémostase

**ITK** : Inhibiteurs de la tyrosine kinase

**LAL** : Leucémie aiguë lymphoblastique

**LDH** : Lactate déshydrogénase

**LED** : Lupus érythémateux disséminé

**LMC** : Leucémie myéloïde chronique

**MASP** : MBL-associates serine protease

**MAT** : Microangiopathie thrombotique

**MAT-P** : MAT paranéoplasique

**MBL** : Mannose-binding lectin

**MCP-1**: Monocyte chemoattractant Protein-1

**MCP** : Membrane cofactor protein

**MEP** : Megakaryocyte/erythroid progenitor

**MGG** : May-Grünwald-Giemsa

**MMACHC** : MethylMalonic aciduria cobalamin deficiency with homocystinuria

**mTOR** : *Target Of Rapamycin*

**NADH** : Nicotinamide adénine dinucléotide

**NCI** : National cancer institute

**NO** : Monoxyde d'azote/ Oxyde nitrique

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**PAF** : Paletet activation factor

**PCR** : Polymerase chain reaction

**PNDS** : Protocole national de diagnostic et de soins

**PTI** : Purpura thrombopénique immunologique

**PTT** : Purpura thrombotique et thrombocytopénique

**RhAG** : Glycoprotéine associée au Rh

**RTU** : Recommandation temporaire d'utilisation

**RVEGF** : Récepteur du facteur de croissance endothélial vasculaire

**SAPL** : Syndrome des anti-phospholipides

**SASC** : Syndrome d'activation systémique de la coagulation

**SHU** : Syndrome hémolytique et urémique

**SIL** : Système d'information de laboratoire

**STX** : shigatoxine

**TCMH** : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

**TNF-a** : Tumeur necrosis factor a

**TP** : Temps de prothrombine

**TSP-1** : Thrombospondine-1

**UGT** : UDP-GlucuronosylTransférase

**UMP** : Uridine monophosphate

**VEGF** : Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire/ Vascular endothelial growth factor

**VGM** : Volume globulaire moyen

**VIH** : Virus de l'immunodéficience humaine

**VHB** : Virus de l'hépatite B

**VHC** : Virus de l'hépatite C

**VPN** : Valeur prédictif négative

**VU** : Valeur usuelle

**vWF** : Facteur de Von Willebrand

**vWF:RCo** : Activité du cofacteur de la ristocétine

## Table des illustrations

Figure 1 : Extrait de « Philosophical Transactions » publié le 21 septembre 1674 (d'après (3))	23
Figure 2 : Extrait de « Philosophical Transactions » publié le 21 septembre 1674 (d'après (5))	23
Figure 3 : Observation des hématies au cours du XVII <sup>ème</sup> siècle	23
Figure 4 : Découvertes et inventions au cours du XIX <sup>ème</sup> siècle	24
Figure 5 : Découvertes et inventions au cours du XX <sup>ème</sup> siècle	25
Figure 6 : Renouveau et différenciation de la cellule souche hématopoïétique	26
Figure 7 : Proérythroblaste (selon (12))	27
Figure 8 : Érythroblaste basophile (selon (12))	27
Figure 9 : Érythroblaste polychromatophile (selon (12))	27
Figure 10 : Érythroblaste acidophile (selon (12))	28
Figure 11 : Réticulocytes coloration bleu de crésyl	28
Figure 12 : Réticulocytes coloration MGG	28
Figure 13 : Érythropoïèse	29
Figure 14 : Structure du cytosquelette membranaire du globule rouge (selon (19))	30
Figure 15 : Physiopathologie de la schizocytose circulante	43
Figure 16 : Recommandation de l'ICSH pour l'identification microscopique des schizocytes (selon (29))	46
Figure 17 : Pyknocytes (d'après (54))	50
Figure 18 : Physiopathologie de la CIVD (selon (63))	53
Figure 19 : Conformation du vWF en fonction du flux sanguin (selon (64))	54
Figure 20 : Structure de la métalloprotéase ADAMTS-13 (d'après (68))	55
Figure 21 : Interaction entre la cellule endothéliale, le vWF et l'ADAMTS-13 (selon (66))	55
Figure 22 : Séparation des plaquettes et des globules rouges en fonction de la taille et la structure (selon (34))	59
Figure 23 : Physiopathologie du purpura thrombotique thrombocytopénique	62
Figure 24 : Différentes mutations retrouvée dans le PTT congénital (d'après (68))	63
Figure 25 : Changement de conformation de l'ADAMTS-13 (d'après (68))	64
Figure 26 : Algorithme du diagnostic du PTT (selon (69))	67
Figure 27 : Algorithme du traitement d'un PTT auto-immun à la phase aigüe (selon (71))	70
Figure 28 : Physiopathologie de la shigatoxine au cours d'un SHU typique	74
Figure 29 : Le système du complément et la formation du complexe d'attaque membranaire (selon (82))	77
Figure 30 : Différences cliniques et biologiques entre une MAT paranéoplasique et une MAT induite par un médicament (selon (94))	84
Figure 31 : Métabolisme de la vitamine B12	96
Figure 32 : thrombopénie en fonction de l'étiologie et de l'avancement de la grossesse selon (traduit (147))	98
Figure 33 : Conduite à tenir en cas de souhait de grossesse avec des antécédants de PTT acquis (selon (71))	104
Figure 34 : Démarche diagnostique devant une thrombopénie au cours de la grossesse (selon (157))	106
Figure 35 : Physiopathologie de la MAT liée à une infection (selon (158))	107
Figure 36 : Frottis sanguins anonymisés des patients inclus dans l'étude	119
Figure 37 : Enveloppes fermées contenant les résultats des 3 lecteurs	120
Figure 38 : Diagramme illustrant l'inclusion et l'exclusion de l'étude	121
Figure 39 : Diagramme illustrant la méthode d'étude des données patient après la relecture des frottis sanguins	122
Figure 40 : Nombre de recherche de schizocyte $\geq 0.5\%$ en fonction de la tranche d'âge	123
Figure 41 : Recherche de schizocyte $\geq 0.5\%$ en fonction du service prescripteur	123
Figure 42 : Taux de plaquettes chez les patients ayant une recherche de schizocyte positive	124
Figure 43 : Nombre de recherche de schizocyte entre 0.5 et 2% pour 1000 hématies en fonction de la tranche d'âge	124
Figure 44 : Proportion des patients ayant une augmentation de LDH	125
Figure 45 : Proportion des patients ayant une augmentation significative de LDH	125
Figure 46 : Proportion des patients ayant une augmentation de bilirubine	125
Figure 47 : Proportion des patients ayant une augmentation significative de bilirubine	126
Figure 48 : Proportion des patients ayant une diminution d'haptoglobine	126

Figure 49 : Proportion des patients ayant une diminution significative d'haptoglobine .....	126
Figure 50 : Taux de plaquettes chez les patients ayant un taux de schizocytes entre 0.5 et 2% .....	127
Figure 51 : Étiologies probables de la présence de schizocytes de tous les patients inclus dans l'étude .....	128
Figure 52: Étiologies probables pour un taux de schizocytes entre 0.5 et 0.9%.....	128
Figure 53 : Étiologies probables pour un taux de schizocytes entre 1 et 1.4%.....	129
Figure 54 : Étiologies probables pour un taux de schizocytes entre 1.4 et 1.9%.....	129
Figure 55 : Étiologies probables pour un taux de schizocytes supérieur à 2%.....	130
Figure 56 : Carence en vitamine B12 et en folates (visualisation des champs de 200 hématies) .....	130
Figure 57 : Pyknocytose infantile .....	131
Figure 58 : Drépanocytose .....	131
Figure 59 : Corrélacion linéaire entre le 1 <sup>er</sup> lecteur et le résultat rendu.....	134
Figure 60 : Diagramme de Bland Altman entre le résultat rendu et le 1 <sup>er</sup> lecteur.....	134
Figure 61 : Corrélacion linéaire entre le 2 <sup>ème</sup> lecteur et le résultat rendu.....	134
Figure 62 : Diagramme de Bland Altman entre le résultat rendu et le 2 <sup>ème</sup> lecteur.....	134
Figure 63 : Corrélacion linéaire entre le 3 <sup>ème</sup> lecteur et le résultat rendu.....	135
Figure 64 : Diagramme de Bland Altman entre le 3 <sup>ème</sup> lecteur et le résultat rendu .....	135
Figure 65 : Corrélacion linéaire entre le 2 <sup>ème</sup> lecteur et le 1 <sup>er</sup> lecteur.....	135
Figure 66 : Diagramme de Bland Altman entre le 1 <sup>er</sup> lecteur et le 2 <sup>ème</sup> lecteur .....	135
Figure 67 : Corrélacion linéaire entre le 3 <sup>ème</sup> lecteur et le 1 <sup>er</sup> lecteur.....	136
Figure 68 : Diagramme de Bland Altman entre le 1 <sup>er</sup> lecteur et le 3 <sup>ème</sup> lecteur .....	136
Figure 69 : Corrélacion linéaire entre le 3 <sup>ème</sup> lecteur et le 1 <sup>er</sup> lecteur.....	136
Figure 70 : Diagramme de Bland Altman entre le 2 <sup>ème</sup> lecteur et le 3 <sup>ème</sup> lecteur.....	136
Figure 71 : Conduite à tenir devant une recherche de schizocyte et arbre décisionnel des étiologies probables.....	149
Figure 72: 1 <sup>ère</sup> étape de l'extraction des données patients .....	163
Figure 73 : 2 <sup>ème</sup> étape de l'extraction des données patients .....	163
Figure 74 : 3 <sup>ème</sup> étape de l'extraction des données patients .....	164
Figure 75 : 4 <sup>ème</sup> étape de l'extraction des données patients .....	164
Figure 76 : 5 <sup>ème</sup> étape de l'extraction des données patients.....	164
Figure 77 : 6 <sup>ème</sup> étape de l'extraction des données patients .....	165
Figure 78 : Tableau de données de patients après extraction GLIMS .....	165

## Table des tableaux

---

<i>Tableau 1 : Les différentes anomalies érythrocytaires .....</i>	<i>38</i>
<i>Tableau 2 : Les différentes formes de schizocytes.....</i>	<i>42</i>
<i>Tableau 3 : Scores cliniques prédictifs d'un déficit sévère en ADAMTS-13.....</i>	<i>66</i>
<i>Tableau 4 : Critères de confirmation d'une MAT médicamenteuse auto-immune.....</i>	<i>87</i>
<i>Tableau 5 : Critères de confirmation d'une MAT médicamenteuse toxique dose dépendante .....</i>	<i>88</i>
<i>Tableau 6 : Recueil de données des patients.....</i>	<i>118</i>
<i>Tableau 7 : Test de corrélation intra-classe par paire .....</i>	<i>132</i>
<i>Tableau 8 : Test de corrélation de Pearson par paire.....</i>	<i>133</i>
<i>Tableau 9 : Corrélation de Person et diagramme de Bland Altman .....</i>	<i>136</i>
<i>Tableau 10 : 2<sup>ème</sup> relecture des lames de frottis sanguins.....</i>	<i>137</i>
<i>Tableau 11 : Patients étudiés au CH de Brive .....</i>	<i>139</i>
<i>Tableau 12 : Répartition des recherches de schizocyte <math>\geq 0.5\%</math> en fonction du service prescripteur.....</i>	<i>166</i>

## Introduction

---

Pendant de nombreuses années, la distinction entre les différents types de microangiopathies thrombotiques (MAT) était basée uniquement sur les caractéristiques cliniques et épidémiologiques. La classification des diverses formes de MAT est un processus complexe qui évolue constamment. Grâce aux avancées majeures dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques des MAT, il est désormais possible de proposer une classification, basée sur divers paramètres à la fois cliniques et biologiques, qui intègre notamment les résultats des analyses sanguines, l'étude morphologique du frottis sanguin avec la recherche de schizocytes, les profils immuno-sérologiques et les examens spécifiques pour évaluer les mécanismes impliqués dans la pathogenèse des MAT.

Cette approche de la classification des MAT permet une meilleure compréhension des différentes formes de la maladie et permet de guider les choix thérapeutiques.

Les schizocytes sont des hématies fragmentées retrouvées au niveau du sang périphérique. Il s'agit d'une anomalie de forme des globules rouges (GR).

Les schizocytes peuvent être détectés chez les patients pour diverses raisons, notamment des chocs contre des filaments de fibrine, une fragilisation membranaire de l'hématie ou un choc thermique. Il est donc important de prendre en compte le contexte clinique et biologique du patient pour établir un diagnostic et une prise en charge appropriés, car certaines étiologies, telles que le syndrome hémolytique et urémique (SHU) et le purpura thrombotique et thrombocytopénique (PTT), présentent des urgences diagnostiques et thérapeutiques engageant le pronostic vital à court terme.

La recherche des schizocytes est un examen réalisé en urgence, en routine et en période de garde, car il s'agit d'un indicateur important et précoce pour le diagnostic et la prise en charge des patients. Cette recherche est souvent répétée dans le cadre du suivi et de la surveillance de la pathologie.

Ce travail poursuit deux objectifs principaux. Premièrement, il vise à évaluer la robustesse de la méthode de comptage microscopique des schizocytes, sur le plan technique et analytique, en réalisant une étude de reproductibilité inter-observateurs sur une large étendue de valeurs.

Deuxièmement, ce travail vise à étudier la valeur diagnostique de la recherche des schizocytes, sur le plan d'interprétation post-analytique, en réalisant une étude rétrospective des dossiers cliniques des patients du centre hospitalier universitaire (CHU) de Limoges et du centre hospitalier (CH) de Brive. L'objectif de cette étude est de classer les étiologies en fonction du taux de la schizocytose circulante, en particulier dans les cas où la valeur est inférieure au seuil de significativité, traditionnellement admis, de 1%.

Les résultats de ce mémoire pourraient apporter des informations utiles pour améliorer la prise en charge des patients atteints de pathologies potentiellement graves associées à la présence de schizocytes.

# 1. Globule rouge

---

## 1.1. Histoire, synthèse, structure et régulation

L'étymologie de l'érythrocyte ou hématie ou globule rouge vient du grec *erythros* : rouge et *kutos* : cellule (1).

### 1.1.1. Histoire de la découverte des globules rouges :

Les premiers microscopes sont apparus à la fin du XVI<sup>e</sup> siècle. Leur développement à la fin des XVI<sup>e</sup> et XVII<sup>e</sup> siècles a nécessité des conceptions de lentilles améliorées et des échelles entièrement nouvelles (2). Cette invention a permis de révolutionner la compréhension de la biologie et de la médecine en permettant aux scientifiques d'observer des organismes vivants et des cellules auparavant invisibles.

Marcello Malpighi, un médecin italien, a été l'un des premiers à distinguer les cellules sanguines. Il a publié ses observations dans des lettres et des articles scientifiques entre 1661 et 1665. Il a décrit les globules rouges et les globules blancs, leur forme et leur fonction. Il a également décrit les vaisseaux sanguins et les capillaires (3).

En 1668, Jan Swammerdam, biologiste néerlandais, a décrit les globules rouges en les observant à l'aide d'un microscope. Il a découvert qu'ils étaient des cellules sphériques qui flottaient dans le sang. Sa découverte a été importante pour comprendre le rôle des globules rouges dans la circulation sanguine (4).

Le 21 septembre 1674, Antonie van Leeuwenhoek, scientifique hollandais, a publié dans *Philosophical Transactions of the Royal Society* une description des caractéristiques des globules rouges humains en examinant son propre sang. Il a écrit « J'ai essayé plusieurs fois de voir et de comprendre les composants du sang, et finalement j'ai observé en prenant un peu de sang de ma main qu'il est composé de petits globules ronds qui flottent dans un liquide cristallin ou de l'eau, mais je doute que tout le sang soit ainsi et il présente très peu de couleur » (Figure 1) (3).

Par ailleurs, il a rajouté : « j'estime que les globules rouges soient 25000 fois plus petits qu'un grain de sable, ce qui peut paraître incroyable pour beaucoup {...} Ces globules rouges, lorsqu'ils sont seuls et collés aux parois des tubes en verres, apparaissent blancs et incolores » (Figure 2) (5).

Par ailleurs, il a rajouté que lorsque les hématies sont désorganisées, elles sont rigides et raides, mais qu'elles deviennent plus souples et flexibles lorsque l'état de santé s'améliore (4).

En outre, il a déduit que les hématies sont capables de changer facilement leur forme ronde en une forme ovale en passant par les capillaires et les artères, et de retrouver leur rondeur d'origine une fois qu'elles traversent les vaisseaux sanguins (4).

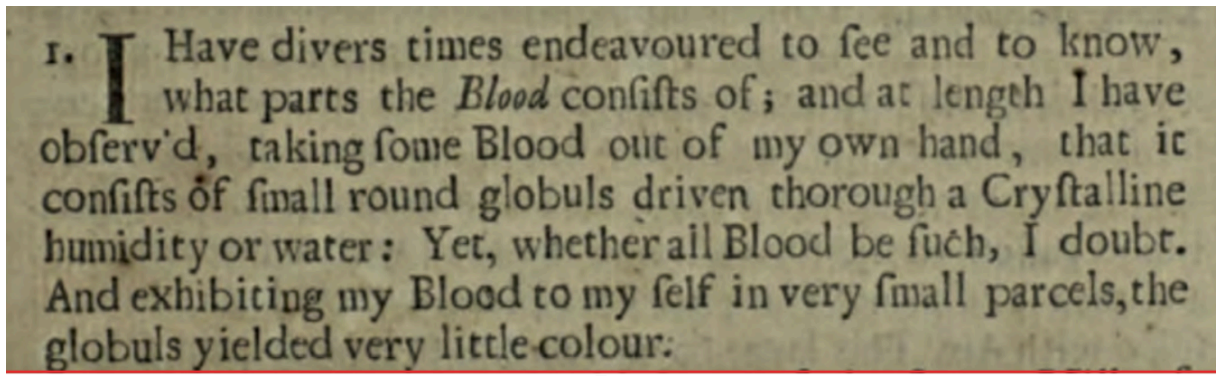


Figure 1 : Extrait de « Philosophical Transactions » publié le 21 septembre 1674 (d'après (3))

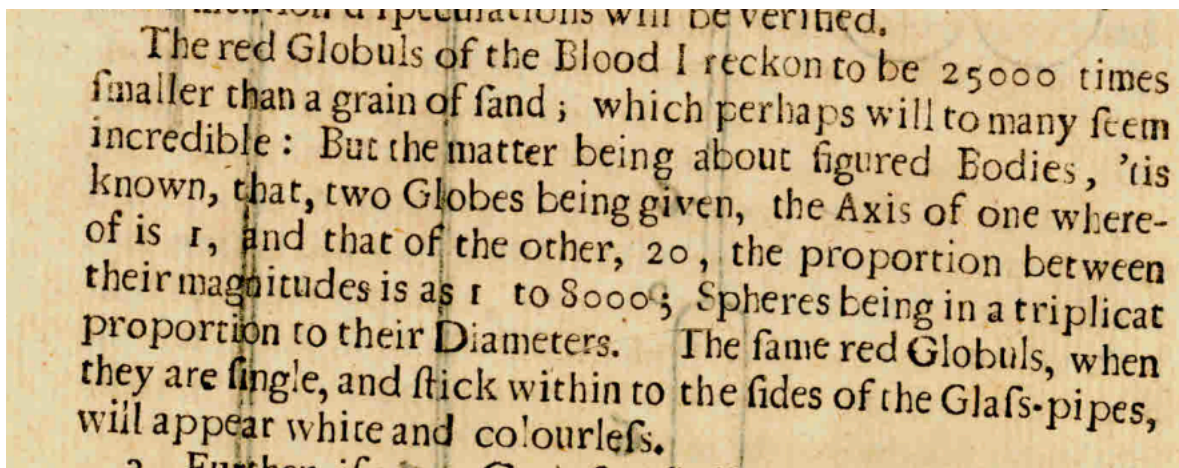


Figure 2 : Extrait de « Philosophical Transactions » publié le 21 septembre 1674 (d'après (5))

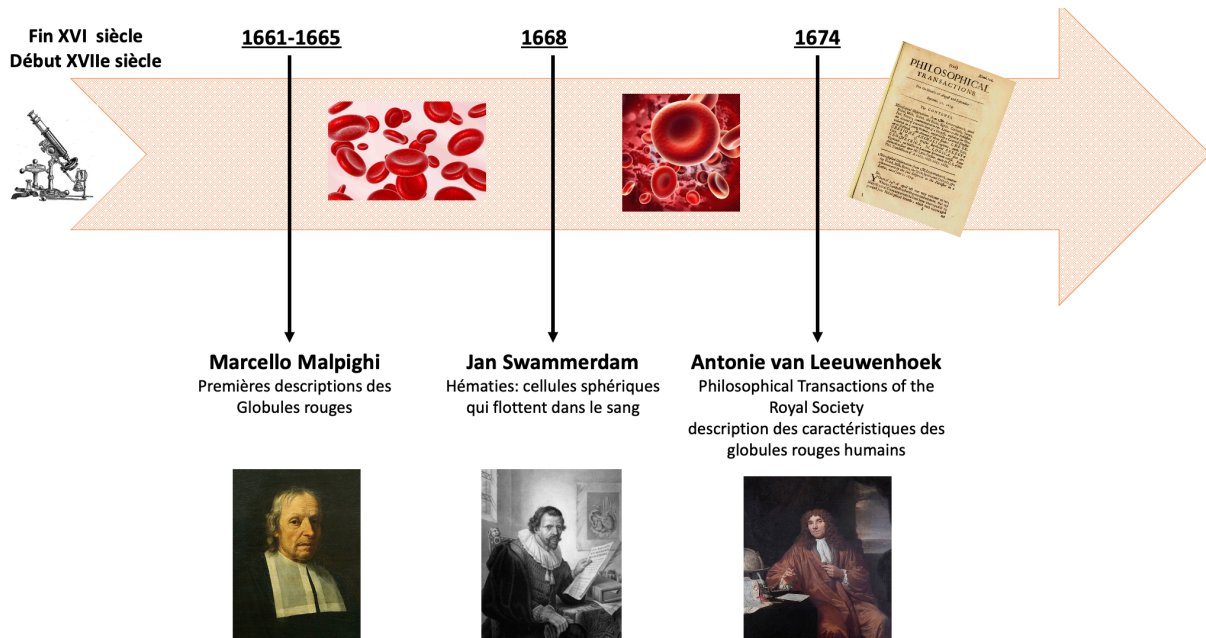


Figure 3 : Observation des hématies au cours du XVII<sup>ème</sup> siècle

En 1862, George Gulliver a publié les principales caractéristiques des membranes des globules rouges dans « Blood of Vertebrata », sur la base des travaux de William Hewson : le globule rouge est constitué d'un compartiment hydrophobe (la membrane) et d'un compartiment hydrophile (le cytoplasme) (4).

Ensuite, le développement de nouvelles techniques a contribué aux nombreuses avancées réalisées concernant l'organisation structurale de la membrane des globules rouges.

D'abord, Eugen Goldstein, un physicien et chimiste allemand, a découvert en 1886 la spectrométrie de masse qui est une technique utilisée pour détecter et identifier des molécules spécifiques, de déterminer leur composition chimique et de quantifier la quantité de molécules dans un échantillon (6).

Ensuite, l'électrophorèse sur gel est découverte en 1892 (7). Cette technique est utilisée pour séparer les molécules en fonction de leur charge et de leur taille. Elle consiste à utiliser un champ électrique pour entraîner le mouvement des molécules à travers un gel ou une autre matrice, et les molécules séparées peuvent ensuite être visualisées et analysées.

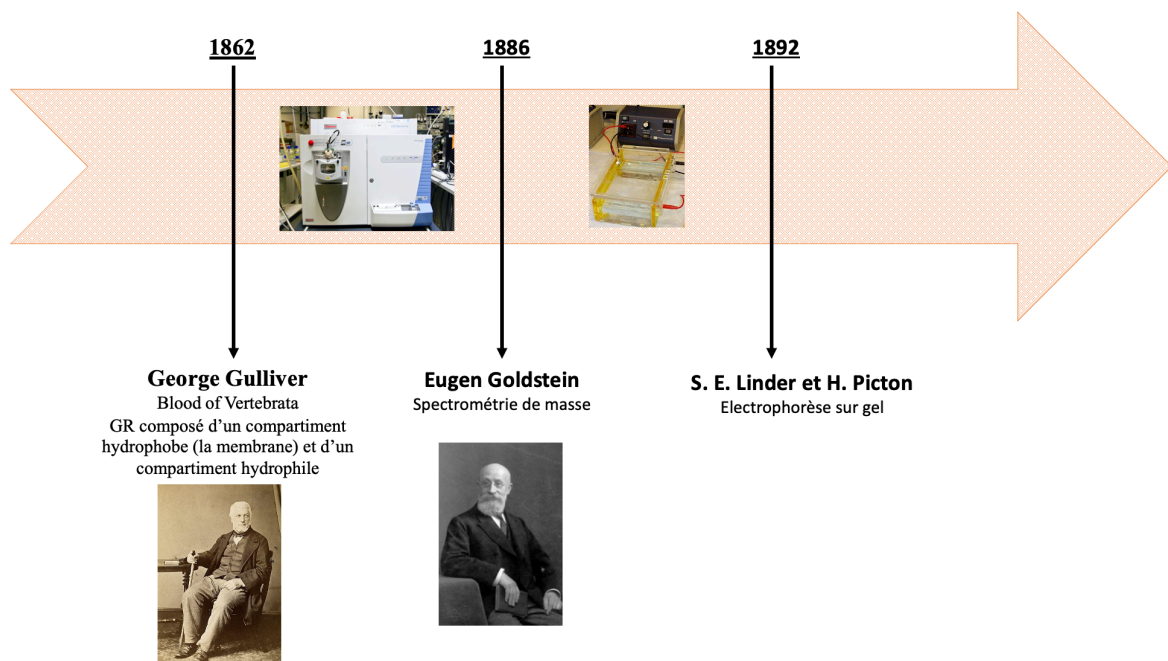


Figure 4 : Découvertes et inventions au cours du XIX<sup>ème</sup> siècle

En 1925, le biophysicien hollandais Ernest Gorter et le biochimiste allemand Frans Grendel ont réalisé des études sur la membrane cellulaire. Ils ont constaté qu'elle est composée d'une bicouche lipidique (4).

En 1964, Rand et Burton ont réalisé une étude pour déterminer la résistance à la déformation de la membrane des globules rouges et le gradient de pression à travers la paroi cellulaire basée sur la technique d'aspiration à la micropipette pour mesurer la rigidité de la membrane. Cette technique d'aspiration consiste à utiliser une micropipette pour aspirer délicatement une petite quantité de matériau à partir d'une cellule, ce qui permet de mesurer la pression nécessaire pour déformer la membrane cellulaire.

Cette étude a montré que la membrane peut supporter de grandes contraintes de flexion mais des contraintes d'étirement limitées (4).

Les études et les travaux de recherche menés sur les globules rouges par la suite, ont permis de définir ses caractéristiques structurales et d'établir ses fonctions physiologiques.



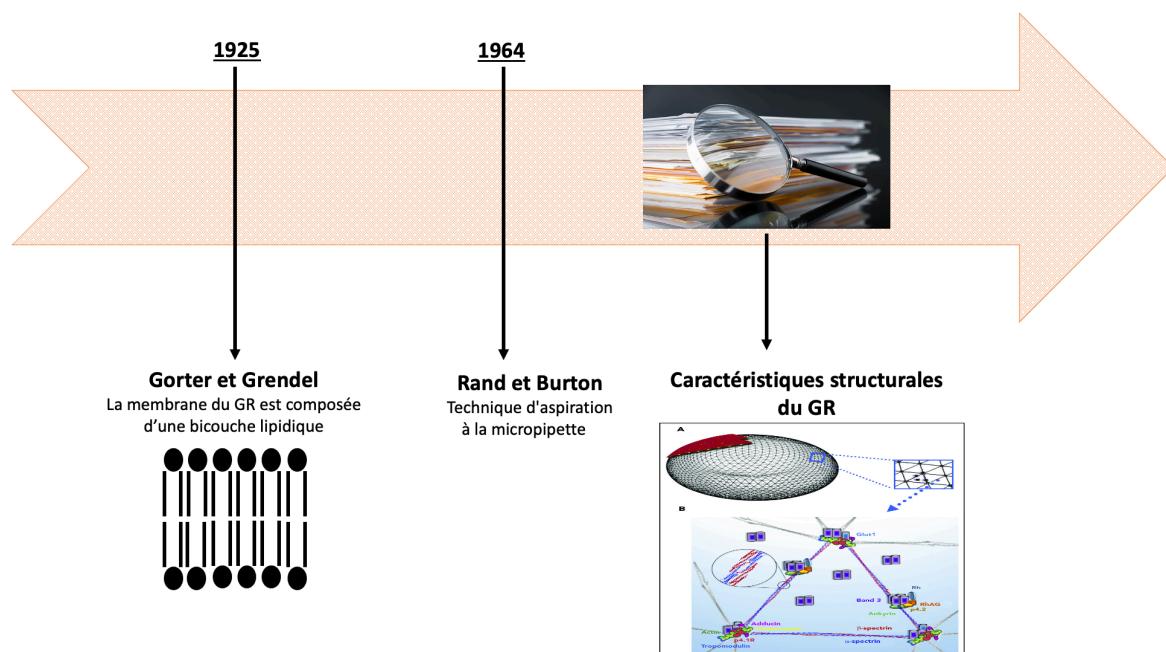


Figure 5 : Découvertes et inventions au cours du XX<sup>ème</sup> siècle

## 1.1.2. Synthèse des globules rouges : embryogenèse et érythropoïèse

### 1.1.2.1. Embryogenèse

L'érythropoïèse, ou la formation des globules rouges, débute au stade embryonnaire, plus précisément, dès la 3<sup>ème</sup> semaine de la vie intra-utérine, au niveau du sac vitellin. Ce dernier est un organe temporaire qui se forme dans l'embryon humain pendant les premières semaines du développement et fournit les nutriments nécessaires pour sa croissance.

Les cellules souches hématopoïétiques se développent dans le sac vitellin et migrent ensuite vers la moelle osseuse pour continuer à produire des globules rouges tout au long de la vie. En effet, les cellules mésodermiques migrent vers le sac vitellin et interagissent avec l'endoderme pour former des îlots sanguins qui contiennent les précurseurs hématopoïétiques. Ces cellules ont une courte durée de vie et possèdent un noyau (8).

Ensuite, la synthèse des globules rouges se poursuit au niveau du foie et de la rate qui sont les principaux organes hématopoïétiques à partir du 3<sup>ème</sup> mois de la vie intra-utérine. A partir du 5<sup>ème</sup> mois de la vie intra-utérine débute l'érythropoïèse médullaire (9).

### 1.1.2.2. Érythropoïèse

Au cours de l'érythropoïèse, le processus de formation des globules rouges, plusieurs étapes impliquent différents cellules et facteurs régulateurs. Ces différents acteurs interagissent pour permettre la différenciation, la prolifération et la survie des érythrocytes. C'est un processus complexe qui est régulé par des mécanismes de rétroaction et de signalisation pour assurer une production adéquate de globules rouges en réponse aux besoins de l'organisme (Figure 13).

Tout d'abord, on retrouve les cellules souches hématopoïétiques (CSH) qui sont des cellules multipotentes capables d'assurer leur propre renouvellement et de se différencier en plusieurs lignées cellulaires dont la lignée érythroïde au niveau de la moelle osseuse (Figure 6). Elles représentent entre 0.01% et 0.1% des cellules médullaires totales. Elles sont indifférenciées

et quiescentes en phase G0 du cycle cellulaire avec un métabolisme ralenti. Cependant, la CSH quiescente peut entrer en cycle en réponse à divers stimuli tels que le stress, les hormones ou les facteurs de croissance (10).

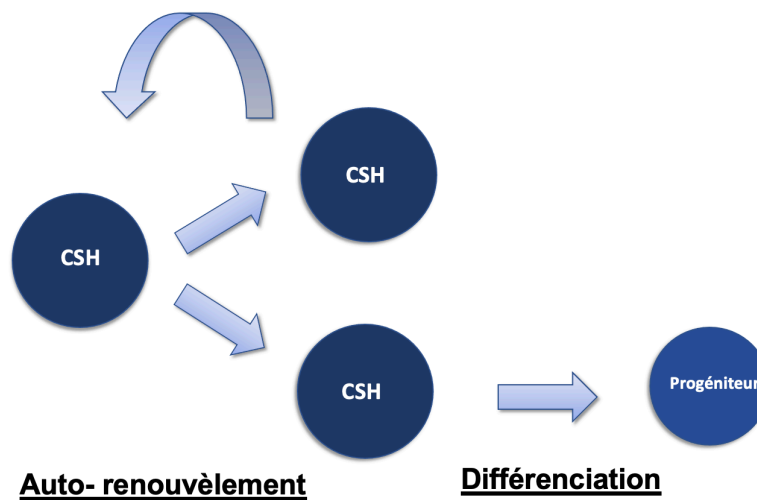


Figure 6 : Renouveau et différenciation de la cellule souche hématopoïétique

Ensuite, les CSH se différencient en deux types de progéniteurs : myéloïde et lymphoïde. Ces derniers ont un pouvoir d'auto-renouveau moins élevé. Cependant, ils gardent une capacité importante de prolifération. Ils représentent environ 1% des cellules médullaires (10).

Le progéniteur myéloïde, également appelé Colony Forming Unit- granulocyte/ erythrocyte/ monocyte/ macrophage (CFU-GEMM), se différencie ensuite en deux sous-types : megakaryocyte/erythroid progenitor (MEP) et granulocyte/monocyte progenitor (GMP).

Le progéniteur MEP donne par la suite le burst forming unit-erythroid (BFU-E), qui génère à son tour le colony forming unit-erythroid (CFU-E).

En réponse à la stimulation de l'érythropoïétine (EPO), protéine produite principalement par les reins, le progéniteur CFU-E se différencie en un premier précurseur érythroïde appelé proérythroblaste. Les précurseurs hématopoïétiques sont les premières cellules devenues morphologiquement reconnaissables avec une perte de la capacité d'auto-renouveau, un faible pouvoir de prolifération et des capacités de maturation et de différenciation plus importantes que celles des progéniteurs.

Le proérythroblaste est une cellule de grande taille, approximativement de 26  $\mu\text{m}$  de diamètre, qui présente une forme arrondie. La chromatine de cette cellule est fine. On peut observer un à deux nucléoles. Son cytoplasme est réduit à une mince couronne périnucléaire qui présente une basophilie caractéristique. Le rapport nucléocytoplasmique est élevé, d'environ 0,8 (Figure 7) (11).

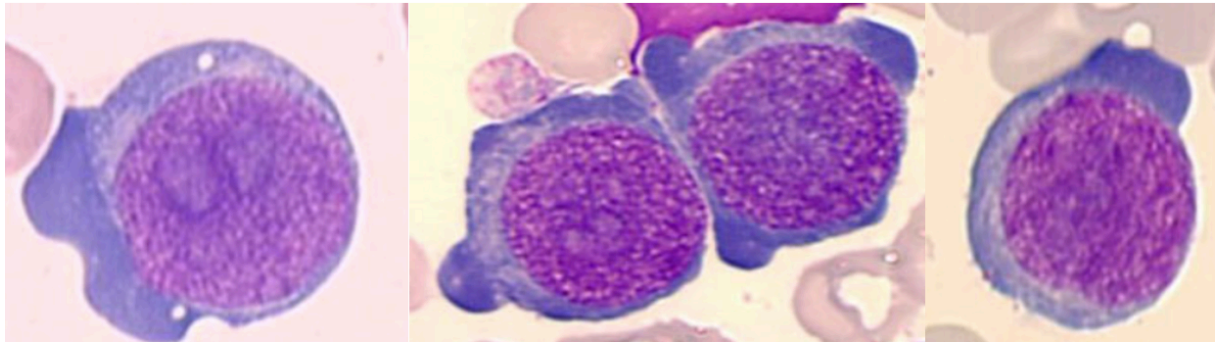


Figure 7 : Proérythroblaste (selon (12))

Le proérythroblaste présente 0.5% des cellules médullaires totales. Il se différencie ensuite en un érythroblaste basophile qui est une cellule arrondie, avec un diamètre compris entre 16 et 18  $\mu\text{m}$ . Le nucléole disparaît, tandis que le cytoplasme conserve sa basophilie prononcée. A ce stade, la synthèse de l'hémoglobine commence à se produire (Figure 8) (11).

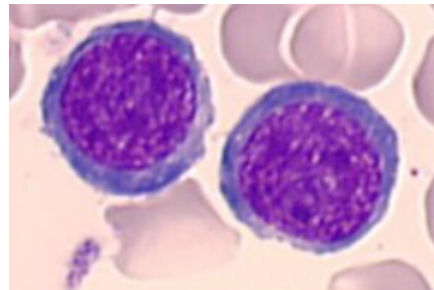


Figure 8 : Érythroblaste basophile (selon (12))

Les érythroblastes basophiles représentent environ 2 à 4% des cellules médullaires totales. Ils se différencient ensuite en des érythroblastes polychromatophiles. Ces derniers sont caractérisés par l'accumulation progressive d'hémoglobine dans leur cytoplasme. Leur taille est d'environ 9 à 10  $\mu\text{m}$ . Ils sont caractérisés par une forme très ronde. Leur cytoplasme devient plus clair (Figure 9) (11).

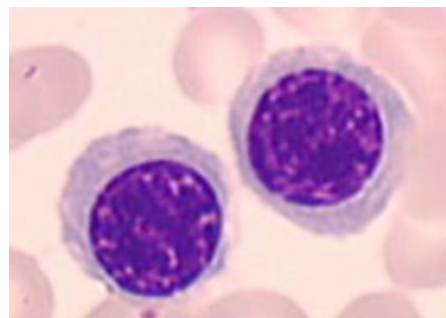


Figure 9 : Érythroblaste polychromatophile (selon (12))

Les érythroblastes polychromatophiles se différencient ensuite en érythroblastes acidophiles caractérisés par leur cytoplasme rose orangé clair. Ils sont caractérisés par leur petite taille, généralement entre 8 et 9  $\mu\text{m}$ , leur noyau rond et dense qui devient de plus en plus excentré au fur et à mesure de la maturation et leur chromatine très compacte (Figure 10) (11).

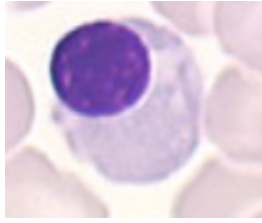


Figure 10 : Érythroblaste acidophile (selon (12))

En résumé, au cours du processus de différenciation, les cellules subissent des modifications morphologiques telles qu'une diminution de taille de la cellule, une condensation de la chromatine ainsi qu'une accentuation du caractère acidophile au cours de la maturation, liée à la diminution du contenu cellulaire en acides ribonucléiques et la production d'hémoglobine (Hb) dans le cytoplasme (11,12).

L'érythroblaste acidophile se différencie ensuite en un réticulocyte, qui a une taille d'environ 8  $\mu\text{m}$  (11). Le réticulocyte reste dans la moelle pendant 1 à 2 jours, puis circule dans le sang pendant 1 à 2 jours avant d'expulser l'ARN résiduelle, pour donner ensuite un érythrocyte anucléé ou globule rouge mature (13).

Le réticulocyte se distingue des globules rouges matures par la persistance de diverses organelles, en particulier de l'acide ribonucléique (ARN) ribosomique, qui n'est pas visible avec la coloration standard au May-Grünwald-Giemsa (MGG). Cependant, en utilisant des colorants tels que le bleu de crésyl ou le bleu de méthylène, qui se fixent sur l'ARN, on peut observer un précipité réticulé au microscope (Figure 11).

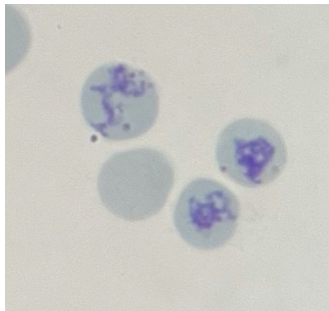


Figure 11 : Réticulocytes coloration bleu de crésyl

En cas d'hyper-réticulocytose, certains réticulocytes peuvent être repérés sur un frottis coloré au MGG en raison de leur coloration gris/bleu et leur volume globulaire augmenté (Figure 12) (13).

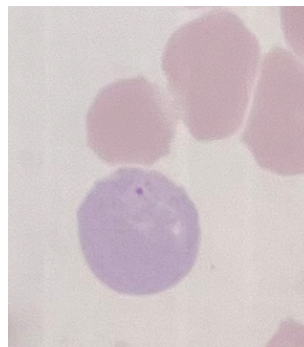


Figure 12 : Réticulocytes coloration MGG

De surcroît, les activités enzymatiques telles que l'hexokinase, l'aldolase, la Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) et les transaminases sont élevées dans les réticulocytes mais diminuent progressivement avec l'âge érythrocytaire. Il en va de même pour le taux d'hexose 6-phosphate, qui est très élevé dans les réticulocytes par rapport aux globules rouges. Ces modifications enzymatiques peuvent entraîner des conséquences métaboliques telles qu'une diminution de la glycolyse totale, de la formation d'adénine triphosphate (ATP) et de la génération de nicotinamides nucléotides, ainsi qu'une dénaturation oxydative et une perte de la liaison disulfure de l'hème, qui ont une affinité accrue pour l'oxygène (14).

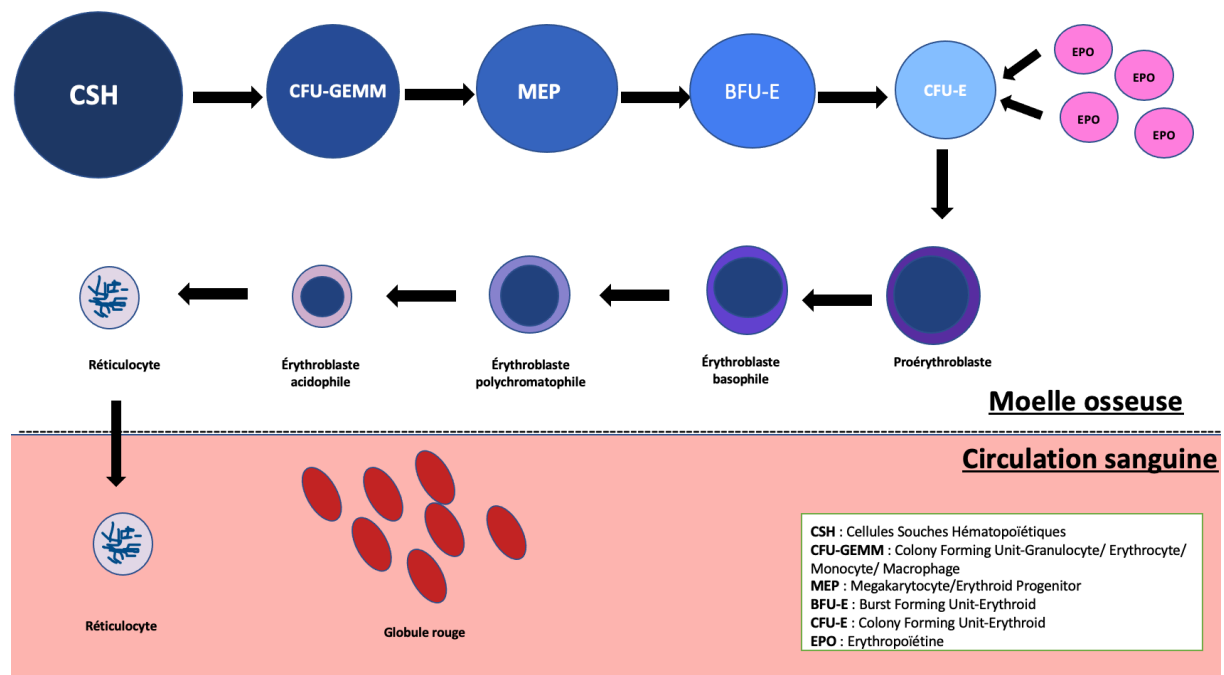


Figure 13 : Érythropoïèse

### 1.1.3. Structure du globule rouge : caractéristiques morphologiques, biochimiques et rhéologiques

#### 1.1.3.1. Caractéristiques morphologiques

Le globule rouge est une cellule sanguine anucléée en forme de disque circulaire biconcave. Cette forme biconcave lui permet d'augmenter sa surface d'échange pour faciliter l'oxygénation et la désoxygénation de l'hémoglobine.

En raison de son manque de noyau, l'érythrocyte ne répond pas à la définition stricte d'une cellule biologique. Le globule rouge est principalement composé d'hémoglobine entouré d'une membrane. En effet, l'érythrocyte possède environ 280 molécules d'hémoglobine, ce qui représente environ 95% de son contenu protéique (15).

Les mesures dans des milieux isotoniques montrent qu'une hématie moyenne a un diamètre de 8 à 10 micromètres, une épaisseur de 2 à 4 micromètres à la périphérie et 1 micromètre dans sa partie la plus étroite (16). Le volume interne moyen d'un GR est de  $94 \mu\text{m}^3$  (17).

##### 1.1.3.1.1. Membrane du globule rouge

La membrane des globules rouges est une barrière entre le plasma et leur contenu. Elle est composée de trois couches. D'abord, on trouve une couche hydrophile externe qui contient des protéines, des glycoprotéines et des glycolipides. Ensuite, on distingue une couche centrale hydrophobe composée de protéines  $\alpha$ -hélicoïdales, de cholestérol et de phospholipides. Enfin, on repère une couche interne hydrophile composée de protéines et de

glycolipides. Les molécules lipidiques de la couche centrale sont orientées radialement c'est-à-dire que les groupes polaires ou hydrophobes sont exposés à l'extérieur de la membrane et les chaînes hydrocarbonées vers l'intérieur (16). Cette structure complexe de la membrane permet de maintenir la survie de la cellule sous les constantes contraintes de cisaillement.

Les protéines membranaires jouent un rôle important dans la régulation de diverses fonctions membranaires, notamment l'élasticité de la membrane, le volume cellulaire, le transport des solutés, la régulation métabolique et l'apoptose des érythrocytes (18).

### 1.1.3.1.2. Cytosquelette

Le cytosquelette du globule rouge est composé d'un réseau hexagonal formé de complexes jonctionnels liés à des molécules de spectrine. Ce réseau est formé par des hétérodimères  $\alpha$ - et  $\beta$ -spectrines qui sont organisés de manière antiparallèle en un tétramère. Chacun des hétérodimères est construit à partir d'une série de faisceaux à 3 hélices de spectrine qui peuvent s'enrouler et se dérouler, ce qui permet au cytosquelette de fournir de l'élasticité à la membrane globulaire (19).

Les hétérodimères de spectrine  $\alpha$  et  $\beta$  s'associent pour former des tétramères qui forment les côtés de chaque unité dans le réseau hexagonal. Le complexe jonctionnel est formé par un oligomère d'actine, d'une longueur comprise entre 12 et 14 monomères d'actine par oligomère, qui est coiffé par des protéines comme l'adducine et la tropomoduline. La protéine 4.1R permet l'association actine-spectrine. D'autres protéines comme la bande 3, la glycoprotéine associée au Rh (RhAG), l'ankyrine et la bande 4.2 fournissent des liaisons verticales entre le cytosquelette et la bicouche lipidique de la membrane (Figure 14) (19).

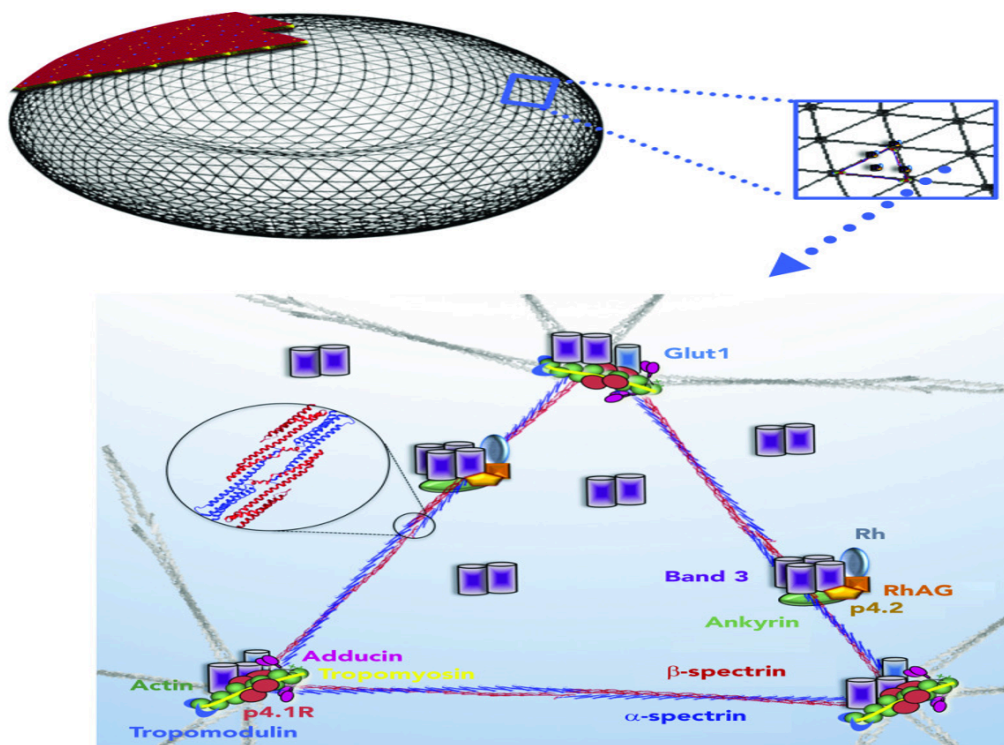


Figure 14 : Structure du cytosquelette membranaire du globule rouge (selon (19))

### **1.1.3.1.3. Hémoglobine**

L'hémoglobine est un tétramère constitué de globines associées en quatre chaînes polypeptidiques, deux chaînes  $\alpha$  constituées chacune de 141 acides aminés et deux chaînes non  $\alpha$  ( $\beta$ ,  $\delta$  ou  $\gamma$ ) composées de 146 acides aminés.

La synthèse des chaînes de globine a lieu dans les ribosomes des érythroblastes. La synthèse des chaînes  $\alpha$  est codée par des gènes situés sur le chromosome 16, tandis que les gènes responsable des chaînes  $\beta$ ,  $\delta$  ou  $\gamma$  se trouvent sur le chromosome 11 (15).

L'hémoglobine fait partie des métalloprotéines, riche en fer. Elle confère la pigmentation rouge de l'érythrocyte. Elle est également composée d'hème, constitué d'un cation de fer associé à quatre noyaux pyrroles, formant une structure appelée porphyrine. L'hème est synthétisé dans le cytoplasme des mitochondries des érythroblastes (15).

Il existe plusieurs types d'hémoglobine : l'hémoglobine A, formée de chaînes  $\alpha_2\beta_2$ , l'hémoglobine A2, formée de chaînes  $\alpha_2\delta_2$  et l'hémoglobine F, formée de chaînes  $\alpha_2\gamma_2$  (15).

### **1.1.3.2. Caractéristiques biochimiques**

Le métabolisme énergétique du globule rouge est principalement basé sur la dégradation du glucose en acide lactique par la voie anaérobie d'Embden-Meyerhof.

En effet, cette voie métabolique permet au GR de produire de l'énergie sans utiliser de phosphorylation oxydative, car il n'a pas de respiration cellulaire (14).

La voie d'Embden-Meyerhof permet la conversion du glucose en acide pyruvique et produit de l'énergie sous forme de Nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) et d'ATP. Elle joue un rôle majeur dans la phosphorylation du glucose et du fructose 6-phosphate et dans la régulation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène (14). En effet, on a une production plus importante de l'acide 2,3 diphosphoglycérique (DPG) dans l'hématie que dans les autres cellules. L'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène varie inversement à la concentration de DPG. Ceci permet à l'érythrocyte de céder son oxygène plus facilement aux autres cellules (19).

Par ailleurs, le NADH produit par la voie d'Embden-Meyerhof est utilisé pour la réduction du pyruvate en lactate et pour réduire la méthémoglobine, et est également utilisé en tant que coenzyme accessoire pour la glutathion réductase (19).

### **1.1.3.3. Caractéristiques rhéologiques**

D'un point de vue biophysique, le sang peut être considéré comme une suspension de particules souples et élastiques (cellules sanguines) dans un fluide visqueux (plasma). Les globules rouges représentent le principal composant cellulaire de cette suspension cellulaire et occupent un pourcentage en volume de 40 % à 52 % (défini par l'hématocrite) chez l'adulte avec des variations physiologiques selon le sexe, l'âge et certaines conditions telles que la grossesse (17).

En se basant sur des hypothèses d'écoulement laminaire qui n'intègrent pas entièrement les propriétés du sang, la viscosité du plasma peut être considérée comme constante, c'est-à-dire que les propriétés rhéologiques du plasma obéissent à la loi de Newton :

$$\text{Contrainte de cisaillement} = \text{Viscosité} \times \text{Taux de cisaillement}$$

Cependant, le sang se comporte comme un fluide non newtonien car il subit des contraintes de cisaillement pendant l'écoulement, responsable d'une diminution de la viscosité (17).

La membrane cellulaire des globules rouges est élastique et déformable, ce qui facilite leur mouvement dans la microcirculation. La présence de l'hémoglobine à l'intérieur plutôt qu'à l'extérieur du GR est bénéfique car elle permet un flux bolus (une forte quantité de sang qui se déplace rapidement) plutôt qu'un flux laminaire (un mouvement fluide et régulier) et évite ainsi une accumulation de sang le long des parois des capillaires. Cela augmente l'efficacité de la circulation sanguine et la distribution de l'oxygène dans les tissus (19).

L'augmentation de la concentration en hémoglobine, généralement causée par la déshydratation, augmente la viscosité interne. De plus, la présence d'hémoglobine anormale, telle que l'hémoglobine S (HbS) entraîne une déshydratation cellulaire et des lésions membranaires qui peuvent être réversibles ou non (14).

L'hématie est capable de changer de forme pour pouvoir traverser les vaisseaux capillaires étroits qui peuvent atteindre 3 micromètres de diamètre, en particulier les capillaires de la rate. La capacité des globules rouges à changer de forme repose principalement sur un excédent de surface par rapport à leur volume. Ainsi, la régulation du volume cellulaire joue un rôle essentiel dans la régulation de la déformabilité des hématies. Cette déformabilité dépend également de la viscoélasticité de la membrane et de la composition en eau de la solution d'hémoglobine (14).

Cependant, une diminution de la déformabilité des érythrocytes peut entraîner une séquestration des globules rouges anormaux dans la rate et ainsi leur phagocytose par les macrophages spléniques.

Par ailleurs, le retour à la forme initiale est principalement attribuable aux propriétés élastiques du cytosquelette (18).

En se basant sur des paramètres cardiovasculaires standards d'un sujet sain (débit cardiaque = 4,0 à 8,0 L/min, volume sanguin total = 5 à 6 L), on constate qu'un seul érythrocyte traverse le système circulatoire en environ 1 minute. Ainsi, au cours de sa durée de vie moyenne de 120 jours, l'érythrocyte subit environ 172800 cycles de passages dans l'aorte avec un débit sanguin élevé, suivis d'une compression à travers les capillaires (17).

#### **1.1.3.4. Caractéristiques fonctionnelles**

Les globules rouges ont pour fonction de transporter l'oxygène des capillaires pulmonaires aux capillaires tissulaires, où il est échangé contre du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) produit à la suite de processus cataboliques dans les tissus. En effet, en état de repos, un individu consomme environ 250 ml d'oxygène et rejette 200 ml de dioxyde de carbone par minute (20). Les érythrocytes participent également au maintien de l'équilibre acido-basique systémique (17).

Le CO<sub>2</sub> peut être transporté dans les globules rouges par l'hémoglobine suite à la réaction avec les groupes amines des chaînes de l'hémoglobine et la formation de carbaminohémoglobines (17).

En outre, les globules rouges contiennent des systèmes antioxydants, qui contribuent essentiellement à leur fonction et à leur intégrité.

Des preuves cliniques et expérimentales indiquent que les globules rouges peuvent être directement impliqués dans la protection des tissus et la régulation de l'homéostasie cardiovasculaire en lien avec le métabolisme du monoxyde d'azote (NO) et le contrôle de la rhéologie sanguine via l'hématocrite qui définit la viscosité du sang (17).



#### **1.1.4. Régulation**

La déformabilité et la flexibilité de la membrane sont deux déterminants majeurs de l'élimination prématurée des érythrocytes (18).

L'un des facteurs qui régulent la déformabilité de l'hématie est l'ATP car une diminution de son taux entraîne une diminution de la déformabilité. En outre, l'accumulation du calcium intra-érythrocytaire entraîne la diminution de la déformabilité du globule rouge qui induit la formation d'échinocytes (14).

L'augmentation des taux de cholestérol et de phospholipides dans les membranes des globules rouges entraîne la diminution de la déformabilité des globules rouges (17).

Chez l'adulte, environ 200 milliards érythrocytes sont produits par jour (10). La durée de vie d'un globule rouge est de 120 jours. Les modifications biochimiques liées au vieillissement comprennent une diminution de l'hydratation intracellulaire, une augmentation de la teneur en sodium, une baisse de la teneur en potassium, une réduction des esters phosphoriques et des lipides totaux de 10 % (14). Par ailleurs, le globule rouge sénescence subit des modifications membranaires telles qu'une diminution de la surface et une augmentation de la rigidité (18). Ces altérations métaboliques contribuent à la mort cellulaire de l'hématie par apoptose.

Cette destruction de l'érythrocyte peut se produire également par mécanisme immunologique. En effet, lorsque les hématies vieillissent, elles développent des antigènes membranaires de sénescence liés à la protéine B3 et à sa polymérisation. Ces antigènes sont reconnus par des anticorps présents de manière physiologique dans le sérum qui se fixent sur les antigènes correspondants. Ce complexe est ensuite capturé par les macrophages (14).

### **1.2. Anomalies des globules rouges**

#### **1.2.1. Anomalies de taille**

##### **1.2.1.1. Anisocytose**

L'anisocytose est une variation de taille des hématies. Cette anomalie peut être observée lors des transfusions de cellules sanguines de tailles différentes ou à la suite d'anomalies de production des globules rouges.

##### **1.2.1.2. Microcytose**

La microcytose est définie par une diminution du volume globulaire moyen (VGM) (valeur usuelle (VU) = 80-100 G/L chez l'adulte).

Elle est souvent causée par une insuffisance de synthèse de l'hémoglobine associée soit à des anomalies du métabolisme du fer, soit à des syndromes thalassémiques ou à des hémoglobinopathies telles que la C et la E, soit à des déficits en enzymes impliquées dans la synthèse de l'hème.

##### **1.2.1.3. Macrocytose**

La macrocytose est définie par une augmentation du VGM (>100 G/L). Elle est souvent associée à une anomalie de la synthèse de l'ADN, telle qu'une carence en vitamine B12, acide folique et une insuffisance de la synthèse de l'uridine monophosphate (UMP). Elle est également retrouvée au cours des dysérythropoïèses primitives des syndromes myélodysplasiques (21).

## **1.2.2. Anomalies de teinte**

### **1.2.2.1. Hypochromie**

Les globules rouges hypochrome sont plus clairs avec agrandissement du centre clair. Ceci est la conséquence d'une carence en fer ou d'une anémie sidéroblastique congénitale qui affectent la synthèse de l'hème ou dans un contexte de thalassémie qui affecte la synthèse des chaînes de la globine. L'hypochromie est associée à une diminution de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (VU = 28-32 pg).

### **1.2.3. Anomalies de formes**

La nomenclature internationale des formes des globules rouges comprend le discocyte (hématie biconcave normale), le stomatocyte (hématie en forme de coupe), l'échinocyte (hématie spiculée en oursin), le codocyte (hématie en cloche avec un aspect de cible), le dacryocyte (hématie en larme), et le schizocyte (hématie fragmentée) dont la variante le kératocyte (variété de schizocyte avec deux excroissances en forme de corne, dite aussi « tête de chat »). Il existe également des formes de sphérocytes, d'elliptocytes et de drépanocytes (14).

#### **1.2.3.1. Échinocytes et acanthocytes**

Les échinocytes sont des hématies avec plusieurs petites projections fines et régulières, à distinguer des acanthocytes qui sont des globules rouges avec 5 à 10 spicules irrégulièrement disposés à la surface de la cellule.

Ces anomalies sont liées à des altérations des lipides de la bicouche membranaire du globule rouge. En effet, les deux feuilletts de la bicouche lipidique sont normalement adaptés l'un à l'autre, mais peuvent varier de surface indépendamment l'un de l'autre. Ainsi, lorsque la surface du feuillet externe augmente, il se plisse en formant des spicules (14).

La déformation en échinocytes est souvent un artefact dû à une conservation du sang trop longue avant la préparation du frottis. Cependant, elle peut être retrouvée dans plusieurs pathologies comme les gastroentérites, les brûlures, les splénectomies ou dans les déficits en enzymes de la glycolyse érythrocytaire telle que la pyruvate kinase (21).

Les acanthocytes sont souvent dus à une anomalie de la double couche lipidique de la membrane. Elle est observée essentiellement au cours de la neuroacanthocytose et de l'abêtalipoprotéïnémie. Elle est retrouvée également lors des atteintes hépatocellulaires sévères, les anorexies mentales, l'hypothyroïdie, l'hypovitaminose E et en cas d'asplénie (21).

#### **1.2.3.2. Dacryocytes**

Également appelé hématie en larme ou hématie en poire ou encore en raquette en raison de son prolongement fin, le dacryocyte est souvent observé lors des myélofibroses en conséquence d'une épuration splénique du globule rouge. Il peut être retrouvé aussi lors des thalassémies suite à l'élimination des précipités des hémoglobines par la rate (21).

#### **1.2.3.3. Elliptocytose**

Elle est caractérisée par la présence de globules rouges en forme d'ellipse (forme ovale) avec renforcement de la coloration aux deux pôles. Elle est causée par des anomalies des protéines membranaires des globules rouges suite à des mutations dans les gènes codant pour l' $\alpha$ -spectrine ( SPTA1 ), la  $\beta$ -spectrine ( SPTB ) et la protéine 4.1R ( EPB41 ) (19). La majorité des personnes porteuses de la maladie sont asymptomatiques bien qu'il existe des formes graves telles que la pyropoïkilocytose héréditaire (voir ci-dessous). Les elliptocytes peuvent également être observés en situation acquise dans les carences martiales.

#### **1.2.3.4. Pyropoïkilocytose héréditaire**

Elle est fréquemment retrouvée chez les nourrissons d'origine africaine. Elle est causée par la diminution de 50% de l'expression de l'alpha-spectrine (19). Elle est caractérisée par une poïkilocytose importante avec la présence de schizocytes, de sphérocytes et des elliptocytes avec une légère diminution du VGM et une hypersensibilité à la chaleur (21).

#### **1.2.3.5. Ovalocytose sud-asiatique**

On trouve une augmentation de la rigidité érythrocytaire en raison d'une anomalie de la protéine bande 3 du cytosquelette. Cette maladie est asymptomatique à l'état hétérozygote et mortelle à l'état homozygote. c'est une maladie génétique de transmission autosomique dominante (22).

#### **1.2.3.6. Sphérocytose héréditaire**

Un sphérocyte est une hématie hypercondensée ayant une taille diminuée par rapport à un globule rouge normal. Il est présent au cours de la sphérocytose héréditaire également appelée maladie de Minkowski-Chauffard. La sphérocytose héréditaire est la membranopathie la plus fréquente. Elle est induite par des anomalies de l'ankyrine (14).

Les sphérocytes peuvent être observés également au cours des contextes de pathologies acquises tels que les anémies hémolytiques auto immunes, par sphérisation de l'hématie opsonisée par les auto-anticorps.

#### **1.2.3.7. Stomatocyte**

Lorsque le feuillet interne de la bicouche lipidique membranaire est en expansion, l'hématie prend une forme en cupule et devient un stomatocyte avec une zone centrale qui apparaît comme une fente rectiligne de couleur claire. L'étymologie du stomatocyte vient du grec *stoma* qui signifie bouche en lien avec sa forme (14,23).

On retrouve cette anomalie de forme au cours des maladies congénitales de la membrane des hématies telles que la stomatocytose, qui est un ensemble hétérogène de maladies touchant l'hydratation du GR entraînant souvent une déshydratation ou plus rarement une hyperhydratation à l'origine d'une hémolyse chronique. En situation acquise les stomatocytes peuvent être observés en cas d'alcoolisme, au cours des cirrhoses ou des obstructions des voies biliaires (24,25).

#### **1.2.3.8. Hématie cible**

Également appelée codocyte, l'hématie cible est due à une augmentation du rapport surface/volume du globule rouge. L'érythrocyte forme ainsi des projections cytoplasmiques centrales dans lesquelles l'hémoglobine se redistribue et donne un aspect en cloche avec un centre coloré entouré d'une zone claire englobée dans une autre zone colorée.

Cette anomalie est observée au cours des hémoglobinopathies telles que les thalassémies ou lors des déficit en lécithine cholestérol acyltransférase chez les patients atteints d'hépatopathies (21).

#### **1.2.3.9. Hématies fantômes**

Leur formation est déclenchée par à un stress oxydatif chez les patients atteints d'un déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase, principale enzyme de la voie des pentoses qui protège les érythrocytes contre le stress oxydatif. On peut observer des hématies vides de leur contenu en hémoglobine d'où le terme « hémigost » ou hématie fantôme (25).

### **1.2.3.10. Syndrome d'hyperhydratation**

Lorsque le volume augmente tout en gardant une surface constante, un gonflement cellulaire se produit. Cela est dû le plus souvent à une hyperhydratation cellulaire causée par un environnement plasmatique anormal sans compensation par la régulation des transferts transmembranaires (14).

### **1.2.3.11. Pyknocytes**

Les pyknocytes sont des hématies de petit volume, hyperdenses, contractées, de forme irrégulière et présentant des spicules. Ils doivent être distingués des schizocytes. Ils s'observent essentiellement dans une entité précise, la pyknocytose infantile, caractérisée par une anémie hémolytique néonatale associée à un ictère précoce. Cette anomalie sera détaillée dans le paragraphe « 3.2. Pyknocytose infantile » (26).

## **1.2.4. Hémoglobinopathies**

Les hémoglobinopathies sont soit le résultat d'un déficit quantitatif partiel ou total dans la formation des chaînes normales de l'hémoglobine, observé dans les thalassémies, soit de la présence d'un variant d'hémoglobine avec une structure anormale, comme dans la drépanocytose. Par ailleurs, il existe des formes composites qui associent la présence d'hémoglobine anormale à des défauts de synthèse des chaînes normales (15).

### **1.2.4.1. Drépanocytose**

La drépanocytose est l'hémoglobinopathie la plus fréquente. Il s'agit d'une maladie héréditaire caractérisée par la présence d'hématie en forme de faucille causée par l'accumulation anormale de l'hémoglobine S.

La drépanocytose est causée par une mutation ponctuelle de la chaîne  $\beta$  à l'état homozygote qui aboutit au remplacement d'un acide glutamique par une valine en position 6. Ce changement d'acide aminé hydrophile par un acide aminé hydrophobe entraîne la polymérisation de l'hémoglobine S lorsqu'elle est désoxygénée, ce qui induit la déformation en faucille du globule rouge, appelé drépanocyte. Ces drépanocytes sont fragiles avec une durée de vie d'environ 20 jours contre 120 jours pour un globule rouge normal. Ils sont également rigides et adhérents. Ils provoquent ainsi des obstructions vasculaires, des crises vaso-occlusives et des infarctus. Les crises vaso-occlusives se manifestent par des douleurs articulaires, osseuses ou viscérales. Ces crises sont provoquées par l'adhésion des drépanocytes aux polynucléaires, formant des agrégats qui se fixent à l'endothélium (15).

La drépanocytose peut causer d'autres complications comprenant le syndrome thoracique aigu, des complications neurologiques, telles que les accidents vasculaires cérébraux, des complications infectieuses, particulièrement causées par des germes encapsulés ainsi que des complications hépatiques, telles que la lithiase biliaire. Une anémie sévère due à la séquestration splénique est également observée (15).

Les patients hétérozygotes sont porteurs de la mutation mais n'expriment pas la maladie sauf si l'autre chaîne beta non mutée HbS porte une autre anomalie (S/C, S/thalassémie)

En France, la plupart des patients atteints de drépanocytose sont diagnostiqués à la naissance grâce au test de Guthrie effectué dans les premiers 48 à 72 heures de vie (15).

### **1.2.4.2. Hémoglobinoses C, D et E**

L'hémoglobinoase C est causée par la mutation de la chaîne  $\beta$ , où l'acide glutamique est remplacé par une lysine. La présence de lysine dans la chaîne polypeptidique entraîne le

remplacement de deux charges négatives par deux charges positives. Cette modification a pour conséquence de rendre le sang visqueux et de réduire la durée de vie des globules rouges. La répartition géographique est la même que celle de l'HbS. Cependant, contrairement à la drépanocytose, l'hémoglobine C ne provoque pas de polymérisation intravasculaire en cas de faible teneur en oxygène. Ainsi, elle ne provoque pas les crises vaso-occlusives observées dans les drépanocytoses (15). A l'état homozygote le tableau se résume souvent à une anémie hémolytique modérée, pouvant se compliquer de lithiase biliaire. Sur le plan morphologique les hématies sont microcytaires, avec de fréquentes cellules en cible, des sphérocytes et, plus rarement, des globules rouges contenant des cristaux.

L'hémoglobine D, également connue sous le nom d'hémoglobine Los Angeles ou Punjab, est une hémoglobinopathie causée par une mutation ponctuelle dans le gène de la bêta-globine. Cette mutation spécifique entraîne une substitution de l'acide glutamique par la glutamine (15).

L'hémoglobine E est une hémoglobinopathie très répandue en Asie du Sud-Est. Elle est causée par une mutation au niveau du codon 26 du gène de la bêta-globine. Dans cette mutation, l'acide glutamique est substitué par la lysine (15).

#### **1.2.4.3. Thalassémie**

La thalassémie est une maladie héréditaire autosomique récessive qui résulte d'un défaut quantitatif de production de l'une des chaînes de globine. On distingue l'alpha-thalassémie caractérisée par une diminution de la synthèse des chaînes  $\alpha$  globine et la bêta-thalassémie caractérisée par une diminution de la synthèse des chaînes  $\beta$  globine (25).

Les patients thalassémiques présentent une déformabilité altérée ainsi qu'une rigidité et une instabilité accrues des globules rouges responsables de leur destruction et ainsi de l'installation d'une anémie (17). La gravité du tableau clinique sont très variables selon le profil génétique, l'hétéro ou l'homozygotie en particulier, mais les anomalies morphologiques évocatrices sont toujours les mêmes : microcytose marquée et hématies cibles nombreuses. Dans les syndromes majeurs il s'y associe une érythroblastose circulante.

#### **1.2.5. Inclusions intra-érythrocytaires**

##### **1.2.5.1. Ponctuations basophiles**

Il s'agit de granulations de petites tailles gris-bleutées observées généralement dans un contexte de dysérythropoïèse lié à une hémoglobinopathie, à une anémie mégalo-blastique, à une anémie sidéroblastique ou un saturnisme (intoxication par le plomb) (25).

##### **1.2.5.2. Corps de Howell-Jolly**

Les corps de Howell-Jolly sont des ponctuations denses, sphériques, de couleur violet-noir et d'un diamètre d'environ 1  $\mu\text{m}$ . Ils sont généralement uniques et situés à la périphérie de l'érythrocyte. Ces ponctuations sont généralement retrouvées dans un contexte de splénectomie où ils ont une grande valeur diagnostique (l'asplénie peut être méconnue, exposant alors à un risque infectieux majeur). Ils doivent donc toujours être signalés par le cytologiste. Ils peuvent également être présents dans le contexte des dysérythropoïèses carentielles ou primitives et plus rarement dans un contexte d'anémie hémolytique (25).

### 1.2.5.3. Anneaux de Cabot

Les anneaux de Cabot sont des structures filamenteuses circulaires ou en forme de 8 de taille variable. Leur présence est observée suite à une splénectomie ou dans un contexte de dysérythropoïèse (25).

### 1.2.5.4. Granulations azurophiles

Les granulations azurophiles sont de couleur rosée ou rouge. Elles sont fines et irrégulières. Bien qu'elles puissent être observées après une hémolyse, elles sont le plus souvent considérées comme des artéfacts et ne sont généralement pas associées à une signification clinique spécifique. Il est donc important de prendre en compte d'autres éléments cliniques et biologiques pour évaluer leur pertinence dans un contexte donné (25).

### 1.2.5.5. Corps de Pappenheimer

Il s'agit de petits granules dont le diamètre varie entre 0.2 et 0.5 µm. Ces granules contiennent du fer, uniques ou en amas, colorés en bleu au MGG et en bleu-vert à la coloration de Perls.



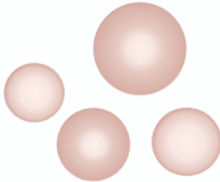
On retrouve les corps de Pappenheimer dans des contextes d'anémies sidéroblastiques congénitales ou acquises, de thalassémies après splénectomie ou en cas d'asplénie fonctionnelle dans le cadre d'une drépanocytose (27).


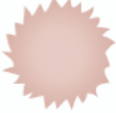



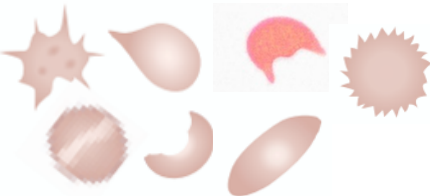

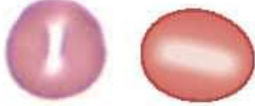


### 1.2.5.6. Corps de Heinz


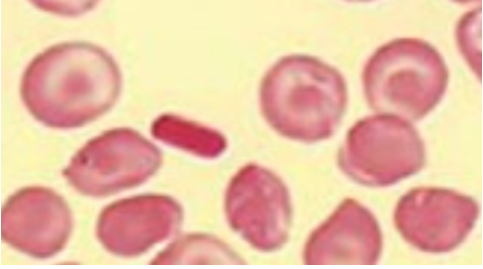





Cette inclusion intra-érythrocytaire n'est pas visible avec la coloration standard du MGG. Cependant elle mise en évidence par les colorations supravitales telles que le bleu de crésyl. Les corps de Heinz résultent de l'oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine. Leur présence est suspectée devant la présence des hématies « mordues » (bite cells) sur un frottis sanguin.

Cette anomalie est présente lors d'un déficit en G6PD ou d'un déficit en enzyme du métabolisme du glutathion. Elle est également présente lors des thalassémies ou lors d'une intoxication aux méthémoglobinisants (27).

Tableau 1 : Les différentes anomalies érythrocytaires

Anomalies de taille	
Microcytose	
Macrocytose	
Anisocytose	

Anomalies de teinte	
Hypochromie	
Anomalies de forme	
Échinocytes	
Acanthocyte	
Dacryocyte	
Elliptocyte	
Poïkilocytose	
Sphérocyte	
Stomatocyte	
Hématie cible	
Pyknocyte	

<b>Drépanocyte</b>	
<b>Cristaux d'hémoglobines C</b>	
<b>Schizocyte</b>	
<b>Inclusions intra-érythrocytaires</b>	
<b>Ponctuations basophiles</b>	
<b>Corps de Howell-Jolly</b>	
<b>Anneaux de Cabot</b>	
<b>Corps de Pappenheimer</b>	



## 2.Schizocytes :

---

### 2.1. Définition, morphologie et physiopathologie

#### 2.1.1. Définition

L'étymologie du mot schizocyte vient du mot grec 'σχίζειν' qui signifie cassure et 'κυτε' qui signifie cellule (28).

Les schizocytes sont des fragments de globules rouges, ils constituent une des anomalies de formes des hématies. La fragmentation des globules rouges est le reflet d'une hémolyse intravasculaire non immunologique mécanique qui est responsable d'une anémie régénérative normocytaire.

#### 2.1.2. Morphologie


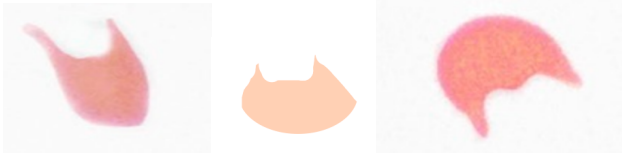






Les critères de reconnaissance des schizocytes représentent des facteurs de variabilité inter-opérateur.

On peut classer les formes des schizocytes en 3 catégories :

- Les stigmates de la plus grande partie de l'hématie après la fragmentation : on trouve la forme en casque, en croissant, en tête de chat, en chapeau de gendarme et en parachute.
- Les parties résiduelles des globules rouges après cassure : on trouve les petites formes irrégulières et variables, parfois avec des angles droits ou des épines sous forme de triangle, avec des bords droits ou parfois avec un contour rond sur un côté, ce qui leur donne l'apparence de « micro-croissants » (29).
- Les micro-sphérocytes : Il s'agit de schizocytes roulés de la zone du dépôt de sang à la frange du frottis ayant perdu leurs caractéristiques principales : les spicules, les marques de cassures, les angles droits. Ils ne doivent être inclus dans le dénombrement des schizocytes qu'en présence des formes caractéristiques de schizocytes (29).

Les schizocytes sont des hématies déformées avec des caractères morphologiques caractéristiques telles que la réduction de la taille par rapport aux hématies normales, la présence d'une ligne de cassure droite témoignant de la fragmentation des hématies sur un fil de fibrine et la présence de deux spicules ou des projections pointues aux extrémités de la ligne de la cassure. Toutefois, on trouve dans des rares cas un ou trois spicules (30). De plus, les schizocytes sont généralement de couleur foncée avec une absence de la pâleur centrale. (cellules hyperdenses) Cependant, les schizocytes peuvent paraître pâles en raison de la perte d'hémoglobine lors de la fragmentation (29).

Tableau 2 : Les différentes formes de schizocytes

Forme	Image
Forme en chapeau de gendarme	
Forme en tête de chat	
Forme en croissant	
Forme en casque Forme en parachute	
Fragment triangulaire	
Formes résiduelles après cassure	
Formes résiduelles après cassure	
Microsphérocyte	

### 2.1.3. Physiopathologie

La formation des schizocytes est multifactorielle : ils peuvent survenir lors d'une fragmentation mécanique sur des filaments de fibrine au niveau vasculaire ou lorsque les forces de cisaillement sont anormalement élevées. Cela peut également se produire en raison du contact avec des surfaces altérées qu'elles soient endogènes (endothélium) ou exogènes (prothèse ou valve mécanique ou circuit de dialyse).

Par ailleurs, cette cassure de globules rouges peut être la conséquence d'une fragilité membranaire par altération du cytosquelette ou dans un contexte d'anomalie constitutionnelle de l'hémoglobine, des protéines membranaires ou lors d'une dysérythropoïèse.

Il a également été prouvé que l'augmentation de la température de la membrane érythrocytaire, comme dans le cas de brûlure, provoque la fragmentation des hématies par lésions thermiques avec une tendance à la formation de fragments sphériques (29–31).

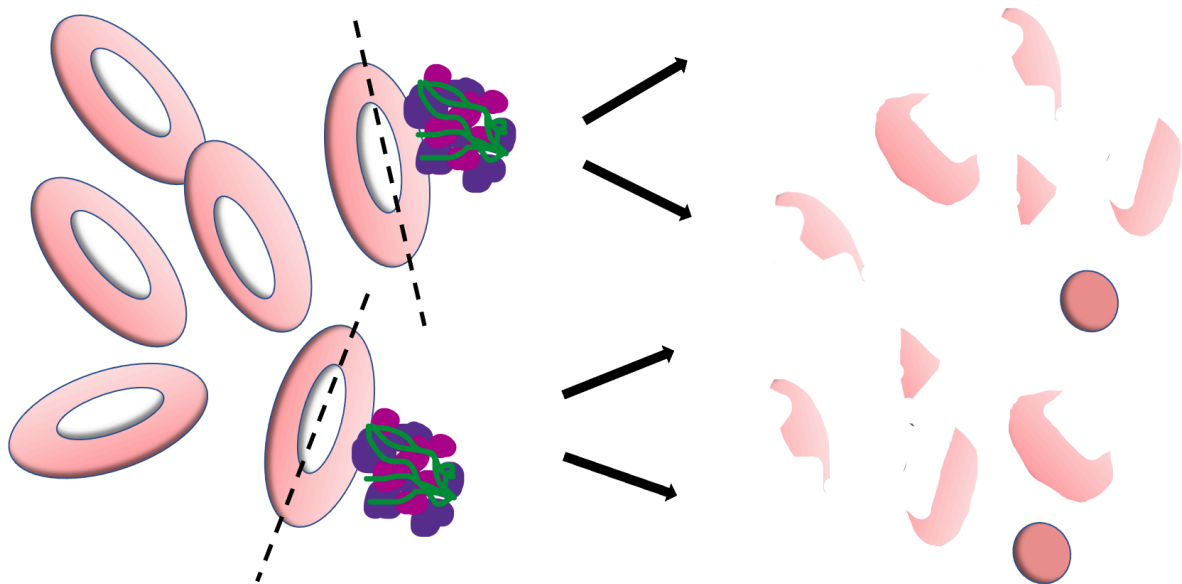


Figure 15 : Physiopathologie de la schizocytose circulante

## 2.2. Recherche de schizocytes

### 2.2.1. Étapes pré-analytiques

#### 2.2.1.1. Acheminement

Le prélèvement du sang veineux est effectué au niveau de la veine du pli du coude. Le sang est recueilli dans un tube contenant un anticoagulant de type EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique) calcique. Pour éviter la formation de petits caillots, le tube est agité délicatement par retournements successifs. Il est ensuite placé horizontalement afin de maintenir le contact entre le sang et l'anticoagulant fixé sur la paroi interne du tube EDTA.

#### 2.2.1.2. Étalement

Les frottis automatisés peuvent majorer la perte des caractéristiques spécifiques des schizocytes conduisant à une sous-estimation du compte des schizocytes (30).

Le frottis sanguin est coloré en utilisant la coloration May-Grünwald-Giemsa. Ensuite, il est séché à température ambiante pour éviter tout artefact tel que la formation des échinocytes (30).

## **2.2.2. Étapes analytiques**

### **2.2.2.1. Lecture du frottis sanguin**

Avant toute recherche de schizocytes, le frottis sanguin doit être observé à faible grossissement (objectif x10 ou objectif x20) voir à grossissement moyen (objectif x 40) pour avoir une vision globale des globules rouges. Ceci permet à la fois de juger de la qualité du frottis et de la coloration. De plus, il permet de choisir la zone optimale de lecture. Ce choix est crucial pour effectuer un compte de schizocytes avec le moins de biais possible car l'absence de standardisation de la zone de lecture en plus de l'absence de critères morphologiques clairs pour définir les schizocytes engendre une variabilité importante du rendu de résultat. D'un autre côté, le faible grossissement permet de repérer plus facilement un contexte de poïkilocytose.

Le compte des schizocytes s'effectue ensuite à fort grossissement (objectif x100 à immersion d'huile) dans des zones de réalisation de la formule leucocytaire uniformément étalées sans chevauchement des hématies où les globules rouges commencent tout juste à se séparer les uns des autres et à distance des franges car les formes habituelles des schizocytes disparaissent quasi-totalement à la fin du frottis car ils perdent leurs spicules, leurs angles et leur aspect fragmenté (29–31).

Les micro-sphérocytes retrouvés dans un contexte de schizocytose sont des schizocytes roulés ayant perdu leurs caractéristiques principales. De ce fait, il faut les inclure dans le compte de schizocytes au cours de lecture du frottis sanguin au niveau des zones optimales de lecture. Cependant, il ne faut pas les inclure si ces cellules se retrouvent au niveau de la frange du frottis selon les recommandations du International Council for Standardization in Hematology (ICSH) car les érythrocytes sénescents ont une tendance à la sphérisation (Figure 16) (29,31).

De manière générale, il est suggéré de commencer la recherche en repérant les formes les plus caractéristiques et faciles à observer. Si ces formes sont détectées, la présence d'hématies en forme de croissant, voire triangulaires, vient confirmer le diagnostic (30).

## **2.2.3. Étapes post-analytiques**

### **2.2.3.1. Rendu du résultat et interprétation**

Les variations inter-opérateurs sont importantes. Ce phénomène est lié à plusieurs facteurs : le choix de la partie de lecture du frottis conditionne l'identification des schizocytes car les fragments angulaires ont tendance à devenir sphériques lorsqu'ils sont étalés. Par ailleurs, il existe un manque de standardisation des fragments qui peuvent être classés comme schizocytes. Enfin, la précision du décompte est limitée en raison du nombre limité de globules rouges comptés. En effet, le décompte est réalisé sur 1000 hématies ce qui signifie une lecture sur 5 champs de 200 hématies selon les recommandations du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC) et de l'ICSH (figure 16). Ceci offre un compromis raisonnable entre la précision requise et le temps nécessaire au comptage (29,32).

Dans un contexte d'une aniso-poïkilocytose, le résultat des schizocytes est rendu qualitativement dans le cadre d'une étude morphologique du frottis sanguin car lors d'une poïkilocytose importante, la présence de schizocyte n'est pas due à une contrainte mécanique mais à une fragilisation membranaire par fragilité du cytosquelette liée à un défaut de tétramérisation des chaînes de spectrine ou un déficit important en protéine 4.1. C'est le cas de certaines maladies telles que les elliptocytoses héréditaires, ou de la bêta-thalassémies. On peut également retrouver des schizocytes dans des contextes d'hémopathies malignes

tels que la myélofibrose où cette anomalie morphologique du globule rouge n'est pas isolée et est souvent accompagnée par la présence de dacryocytes notamment (31,33). La maladie de Biermer, autre circonstance classique, sera détaillée ci-dessous.

La réponse à la recherche de schizocyte est rendue quantitativement s'il s'agit d'une anomalie dominante des globules rouges et/ou dans le cadre d'un suivi de la pathologie pour permettre le suivi de l'évolution (34).

La valeur normale des schizocytes chez un adulte sain est inférieure à 0.2% (30). Cette limite supérieure physiologique est fixée à 0.6% chez les patients souffrant d'une insuffisance rénale, 0.45% chez les femmes dans un contexte de prééclampsie et 0.48% chez les patients avec des prothèses valvulaires fonctionnant normalement (29).

En effet, habituellement, on ne retrouve pas de schizocytes chez les personnes saines sans dysfonctionnement de la rate. Cependant, on peut être confronté à des interférences pré-analytiques responsables de la présence de rares schizocytes sur les frottis sanguins chez des personnes saines. Ceci s'explique par des cassures d'hématies lors du prélèvement et/ou lors de l'étalement du sang sur la lame suite à une pression mécanique qui induit cette fragmentation (34).

Le groupe de travail sur les schizocytes de l'ICSH a convenu qu'un pourcentage de schizocytes supérieur à 1% (10 schizocytes sur 5 champs de 200 hématies) dans un frottis sanguin périphérique chez l'adulte constitue une indication cytomorphologique solide en faveur d'un diagnostic de microangiopathie thrombotique, en l'absence de caractéristiques supplémentaires suggérant un diagnostic alternatif (Figure 16) (29).

Le délai du rendu des résultats doit être le plus court possible au vu de l'urgence thérapeutique. Selon les catalogues des examens biologiques réalisés dans quelques laboratoires en France, ce délai est de 4 heures au laboratoire du CH Haguenau et au CHU de Bourg-En-Bresse, de 2 heures au CHU d'Angoulême, au CH du Cotentin, au CHU de Boulogne sur mer et au CHU de Rouanne s'il s'agit d'une urgence. Le résultat est rendu à J0 au laboratoire SFMTBIO, au CHU de Limoges et au CHU de Boulogne sur mer, entre J0 et J1 au laboratoire de BIOMOSE et à J1 au laboratoire UNILABS et CHU Région de Saint-Omer en routine (35–43).

La société française de biologie clinique recommande une médiane inférieure à 6 heures de délai entre le prélèvement et la transmission du résultat au prescripteur (44).

Il est parfois nécessaire de répéter la recherche de schizocytes et de prévenir le clinicien afin de prescrire un hémogramme quotidien, car leur recherche peut être négative ou en dessous du seuil de significativité initialement. D'ailleurs, la détection des schizocytes est souvent observée après l'installation de la thrombopénie.

1. Les schizocytes doivent être évalués sur des frottis de sang périphérique à l'aide d'un microscope optique à grossissement moyen et estimés en pourcentage après avoir compté au moins 1000 globules rouges
2. Une numération des schizocytes doit être demandée et effectuée lorsqu'un diagnostic de microangiopathies thrombotiques causées par des lésions mécaniques des globules rouges est suspecté, généralement chez les patients atteints de thrombocytopenie
3. Les schizocytes doivent être identifiés par des critères morphologiques positifs spécifiques. Les schizocytes sont toujours plus petits que les globules rouges intacts et peuvent avoir la forme de fragments aux angles vifs et aux bords droits, de petits croissants, de cellules en casque, de kérateocytes ou de microsphérocytes\*
4. Une numération des schizocytes doit être considérée comme cliniquement significative si les schizocytes représentent la principale anomalie morphologique des globules rouges dans le frottis (autre que les signes de régénération érythroïétique)
5. Une indication morphologique robuste pour le diagnostic de l'anémie microangiopathique thrombotique chez l'adulte doit être reconnue lorsque le pourcentage de schizocytes est supérieur à 1 %
6. La numération des globules rouges fragmentés par des compteurs de globules sanguins automatisés doit être considérée comme un complément utile à l'évaluation microscopique, car elle fournit des résultats rapides avec une valeur prédictive élevée des échantillons négatifs. Une vérification au microscope est nécessaire pour les échantillons positifs et macrocytaires†

Figure 16 : Recommandation de l'ICSH pour l'identification microscopique des schizocytes (selon (29))

### 3.Diagnostic différentiel des schizocytes

---

Il est important de noter que les schizocytes sont des fragments d'hématies. Toutefois, tous les fragments ne sont pas des schizocytes. De ce fait, on peut exclure les hématies spiculées, crénelées, mordues, en virgule ou en bâtonnet. Ainsi, Il est important d'éliminer les hématies avec des zones de cassure à l'emporte-pièce ou polycycliques afin d'éviter de les confondre avec des hématies mordues, qui peuvent survenir dans les cas d'hémolyse (30).

Des cellules présentant une morphologie identique peuvent être observées dans l'anémie hémolytique à corps de Heinz lorsqu'il est éliminé par les macrophages, comme dans le cas d'un déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase. La distinction entre ces cellules et les schizocytes se base essentiellement sur l'évaluation du contexte clinique (29).

La présence de schizocytes dans d'autres contextes en dehors de la microangiopathie thrombotique est rare mais possible. Ces cas peuvent inclure les conditions suivantes (31) :

- Anémies hémolytiques d'origine immunologique (allo- ou autoanticorps), infectieuse, parasitaire (paludisme) ou médicamenteuse.
- Myélofibroses, qu'elles soient secondaires à des cancers métastatiques ou dans le cadre d'hémopathies malignes.
- Au cours de carences martiales évoluées.
- Anémies de Biermer. (Détaillée dans le paragraphe « 3.1. Pseudomicroangiopathie thrombotique par carence en vitamine B12 »)
- Après une splénectomie, car la rate est responsable de la séquestration et de la destruction des hématies à membranes rigides non déformables.
- Après une chirurgie des gros vaisseaux, principalement de manière transitoire pendant 24 heures (schizocytose modérée).
- Dans un contexte de chirurgie cardiaque, notamment après la pose d'une valve cardiaque ou la réparation d'une communication entre les cavités droite et gauche. Il convient de noter que, avec les techniques actuelles, l'hémolyse mécanique est rare et peu détectable biologiquement. Sa survenue est davantage liée à un dysfonctionnement valvulaire qu'à une conséquence attendue telle qu'une désinsertion de la valve ou une infection.

#### 3.1. Pseudomicroangiopathie thrombotique par carence en vitamine B12

La cobalamine, ou vitamine B12, est une vitamine hydrosoluble. Un régime non végétarien régulier contient généralement 3 à 30 µg/jour de cobalamine qui comblent les besoins quotidiens physiologiques (2-5 µg). Les réserves corporelles de cobalamine sont principalement hépatiques et sont entre 2 et 5 mg, Par conséquent, le déficit se développe lentement et se manifestant en moyenne entre 5 et 10 ans. Le diagnostic d'un déficit en cobalamine repose sur un dosage inférieur à 150 pmol/L (203 pg/mL) à deux reprises selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (45).

La carence peut résulter d'un faible apport pendant une période prolongée tel qu'un régime végétalien ou végétarien strict sans supplémentation adéquate. Outre les carences nutritionnelles, il convient de ne pas négliger les autres causes de carence en vitamine B12, telles que les gastrectomies partielles ou totales, les affections de l'iléon terminal (maladie cœliaque, maladie de Crohn) et le syndrome de non-dissociation de la vitamine B12 et ses

protéines de transport, qui peut être favorisé par la prise d'inhibiteurs de la pompe à protons (46,47).

Par ailleurs, on retrouve un déficit en vitamine B12 dans un contexte de maladie de Biermer. Il s'agit d'une maladie auto-immune qui se caractérise par une destruction de la muqueuse gastrique, entraînant la diminution de la synthèse du facteur intrinsèque responsable de l'absorption de la vitamine B12 dans les conditions physiologiques. Elle représente environ 20% des cas de carence en vitamine B12 et est généralement diagnostiquée chez les personnes de plus de 70 ans avec une prédominance masculine et un sex-ratio H/F égal à 2.9 (47).

Les signes cliniques et biologiques au cours d'un déficit en vitamine B12 sont proches des signes d'une MAT. Les manifestations hématologiques sont présentes dans plus de deux tiers des cas. On distingue une anémie hémolytique arégénérative dans 37% des cas, une macrocytose (54%), une thrombopénie (9,9%), une hyper-segmentation des neutrophiles (32 %), une leucopénie (13,9 %), une schizocytose circulante. Ces manifestations sont associées à une mégaloblastose médullaire. En effet, environ 10% des cas de carence en B12 entraînent une pancytopénie ou une hémolyse (46). La supplémentation en vitamine B12 corrige ces troubles hématologiques (48).

Il est crucial de faire la distinction entre les MAT et les pseudo-MAT. Cette distinction est essentielle pour éviter les erreurs de diagnostic et les interventions thérapeutiques inappropriées. Les cas qui présentent des symptômes similaires à ceux de la microangiopathie thrombotique représentent environ 2,5% des cas de carence en B12 (49,50).

Plusieurs cas cliniques ont été rapportés avec le tableau clinique suivant (46,47,51) : des symptômes neurologiques, une asthénie chronique, une dyspnée d'effort et une pâleur cutanéomuqueuse associée à un discret ictère conjonctival sans symptomatologie hémorragique extériorisée.

La carence en vitamine B12 peut causer une démyélinisation réversible du système nerveux et donner avec une grande variété de symptômes neuropsychiatriques. Les manifestations les plus courantes incluent la myélopathie, la neuropathie périphérique, la neuropathie optique, les altérations de l'état mental et la démence. Cependant, ces déficits neurologiques ne sont observés que dans environ 40% des cas de carence en vitamine B12. Par conséquent, l'absence de symptômes neurologiques ne permet pas d'exclure une carence en vitamine B12 (50).

Le bilan biologique révèle généralement une anémie arégénérative macrocytaire, parfois sévère avec des taux d'hémoglobine inférieurs à 6 g/dL, une thrombopénie modérée et une formule leucocytaire normale. L'anémie est hémolytique chez 10% des patients avec une mise en évidence de rares schizocytes (52).

La présence de macrocytose est un autre indice en faveur d'une pseudo-microangiopathie thrombotique. Cependant, ce résultat peut être faussé par la présence de schizocytes, qui sont des globules rouges fragmentés, en cas de carence sévère en vitamine B12, ce qui peut faussement réduire le volume globulaire moyen (50).

Le bilan biologique révèle également des stigmates d'hémolyse avec un taux d'haptoglobine effondré, un taux de lactate déshydrogénase (LDH) et de bilirubine libre augmentés. Ces signes sont à attribuer en partie à l'avortement médullaire massif des cellules



mégalo-blastiques. Le test de Coombs est négatif dans ce contexte. Le reste du bilan est normal (bilan hépatique, fonction rénale) (52).

Le résultat des dosages vitaminiques met en évidence une carence profonde en vitamine B12 inférieure à 100 pg/ml (VU > 615 pg/ml). En outre, l'anémie est corrigée après supplémentation vitaminique (52).

L'évaluation des réticulocytes joue un rôle fondamental dans la démarche diagnostique lorsqu'une anémie normo/macrocytaire, isolée ou associée à des cytopénies, est présente. Elle permet de rechercher le caractère régénératif connu lors d'une microangiopathie thrombotique. En effet, le nombre de réticulocytes est significativement plus faible chez les patients atteints de pseudo-MAT que chez les patients atteints de MAT.(49)

Une étude rétrospective réalisée au centre médical universitaire Bicêtre à Paris a montré que les patients atteints d'une MAT ou d'une pseudo-MAT présentent des taux d'hémoglobine et une numération plaquettaire similaire. Cependant, le groupe pseudo-MAT avait un taux de neutrophiles inférieur et une fréquence plus élevée de pancytopenie. Par ailleurs, le myélogramme réalisé chez les patients pseudo-MAT révèle une mégalo-blastose, une dysérythro-poïèse et/ou des polynucléaires neutrophiles hypersegmentés. Par ailleurs, l'insuffisance rénale aiguë évocatrice d'une MAT, n'a pas été observée chez les patients pseudo-MAT de cette étude (49).

Il convient de signaler que cette étude souligne l'existence d'une schizocytose aussi bien dans les pseudo-MAT que dans les MAT (49).

Dans le contexte de pseudo-MAT associée à un déficit en vitamine B12, les niveaux de LDH observés sont considérablement plus élevés, tandis que les niveaux de bilirubines ne sont pas aussi élevés que lors d'une MAT. Cette observation peut s'expliquer par le fait que les enzymes LDH sont libérées lors de la destruction des cellules nucléées, telles que les érythroblastes présents dans la moelle osseuse, et non lors de la destruction des globules rouges matures. De plus, les progéniteurs érythroïdes produisent peu d'hémoglobine, ce qui limite la libération de bilirubine libre (49).

En cas de déficit sévère en vitamine B12, les globules rouges, qui deviennent significativement macrocytaires, perdent leur capacité à se déformer dans les capillaires et peuvent subir une fragmentation hémolytique. D'où la présence de schizocytes au niveau du frottis sanguin. Dans ces cas trompeurs, la poïkilocytose est importante (dacryocytes, elliptocytes), incluant des schizocytes. Ces anomalies témoignent de l'importance de la dysérythro-poïèse et ne doivent pas égarer le diagnostic vers une MAT. Des polynucléaires hypersegmentés, des macro-ovalocytes sont des témoins en faveur d'une carence vitaminique. De plus, un avortement intra-médullaire est fréquent dans ce contexte en raison d'une production inefficace de globules rouges. Ces mécanismes expliquent les stigmates d'hémolyse cliniques et biologiques (47).

### **3.2. Pyknocytose infantile :**

Les fragments de globules rouges sont souvent retrouvés au niveau du frottis sanguin peu après la naissance, avec des taux allant jusqu'à 1.4 à 1.9% chez les nouveau-nés à terme et jusqu'à 4,9-5,5% chez les nouveau-nés prématurés. Cependant, il convient de noter que les recommandations actuelles de l'ICSH sur les schizocytes ne s'appliquent qu'aux patients adultes (29).

La pyknocytose infantile est une affection initialement décrite en 1959 par Tuffy et al., mais sa physiopathologie et son étiologie restent encore mal comprises (53). La pyknocytose infantile est une forme spécifique d'hémolyse qui se produit chez les nouveau-nés et qui entraîne une anémie accompagnée d'ictère. La présence en quantité élevée de globules rouges déformés circulants appelés pyknocytes est caractéristique. La résolution est spontanée au cours des premiers mois de vie. Dans la majorité des cas, les nourrissons présentent un ictère prolongé et une anémie sévère qui s'aggrave progressivement avec un nadir vers la 3<sup>ème</sup> semaine de vie (26).

La gravité de la pyknocytose infantile varie en fonction de l'intensité et de la précocité de l'ictère, ainsi que du degré d'anémie. Des complications associées à l'ictère ont été observées. La majorité des nourrissons nécessite une ou plusieurs transfusions de globules rouges (26,54).

Lorsqu'une anémie hémolytique néonatale est suspectée, il convient d'évoquer le diagnostic de pyknocytose infantile.(26)

L'étude morphologique du frottis sanguin montre la présence de pyknocytes de morphologie proche des schizocytes et des globules rouges déformés (Figure 17). Les auteurs décrivent des anomalies un peu différentes des schizocytes des MAT, plus spiculés en particulier. Cependant la reconnaissance reste difficile et le diagnostic de SHU atypique doit, à cet âge, être discuté. On peut également observer la présence d'acanthocytes et de corps de Howell-Jolly, qui reflète une surcharge splénique (53).

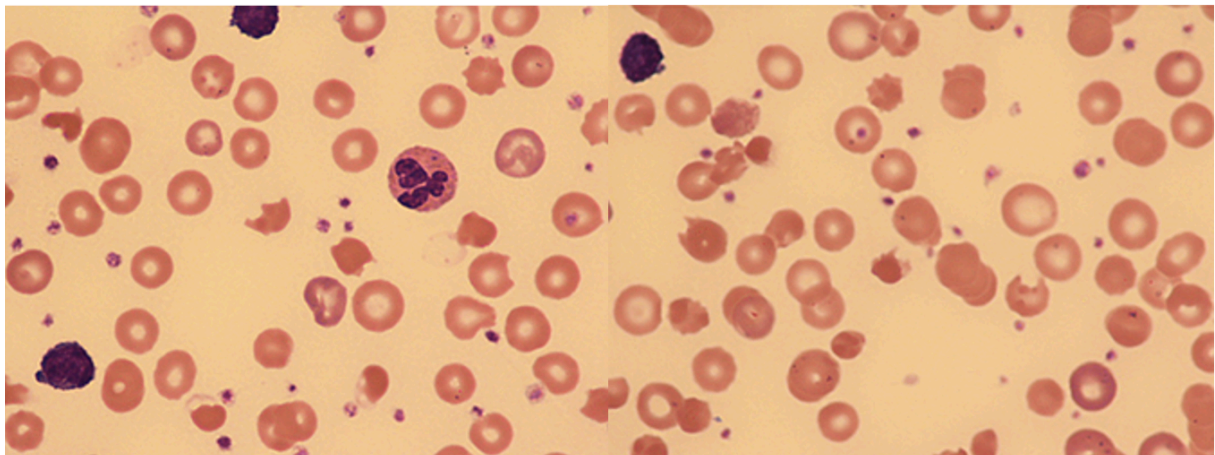


Figure 17 : Pyknocytes (d'après (53))

## 4. Analyses complémentaires à la recherche des schizocytes

---

### 4.1. Numération formule sanguine

#### 4.1.1. Taux d'hémoglobine

La présence de schizocytes s'accompagne d'une anémie hémolytique. L'hémoglobine est le meilleur indicateur pour évaluer la gravité clinique des maladies hémolytiques.

L'anémie est définie par un taux d'hémoglobine < 13 g/dL chez l'homme, < 12 g/dL chez la femme, < 11 g/dL chez la femme enceinte, < 13.5 g/dL à la naissance, < 11 g/dL de la naissance à 6 ans et < 12 g/dL de 6 à 14 ans (55).

Dans les formes bénignes, le taux d'hémoglobine est généralement proche des valeurs normales (Hb > 10 g/dL), tandis que les formes modérées (8-10 g/dL), sévères (6-8 g/dL) et très sévères (<6 g/dL), le taux d'hémoglobine est significativement réduit (56).

Une diminution rapide du taux d'hémoglobine est généralement accompagnée de symptômes tels que l'asthénie, la tachycardie et la dyspnée. En revanche, une diminution chronique et progressive est généralement bien tolérée (56).

La destruction des globules rouges est généralement beaucoup plus élevée dans l'hémolyse intravasculaire, estimée à 200 ml de globules rouges par heure, alors que la destruction des globules au cours d'une hémolyse extravasculaire est environ 10 fois moindre (56).

#### 4.1.2. Taux de plaquettes

Devant toute thrombopénie, il convient de vérifier l'absence de problèmes pré-analytiques tels qu'un prélèvement coagulé dans lequel une consommation accrue de plaquettes se produit in vitro. De plus, il est important de vérifier l'absence d'amas plaquettaire formés à la suite d'une interaction avec le tube EDTA. Il est recommandé dans ce cas de prélever le patient sur un tube citraté afin de réduire les interférences pré-analytiques. Cependant, il est possible de trouver dans des rares cas des amas plaquettaires sur un tube citraté.

Une thrombopénie sévère précède souvent la détection de schizocytes. Par conséquent, toute thrombopénie doit déclencher une recherche de schizocytes. En outre, le taux de plaquettes permet de juger de l'efficacité du traitement en cas de MAT (34).

Par ailleurs, dans le cas de numération plaquettaire par impédancemétrie, il peut y avoir une contamination de la zone de comptage des grandes plaquettes par des fragments de globules rouges. Ainsi, avant de valider la numération des plaquettes, un contrôle par cellule de Malassez, une inspection du frottis ou, idéalement, une mesure par cytométrie en flux est nécessaire (30). Les compteurs de cytologie modernes possèdent en général un canal dédié à la numération plaquettaire en flux plus ou moins associé à un marquage fluorescent (canal PLT F de Sysmex, canal ERP de Mindray). L'analyse sur ce canal nécessite en général une repasse de l'échantillon générée par le graphe anormal en impédance.

#### 4.1.3. Réticulocytes

Les réticulocytes reflètent l'activité de la formation des globules rouges dans la moelle osseuse. Leur augmentation est généralement observée en cas d'hémolyse, ainsi que dans d'autres conditions pathologiques et physiologiques telles que l'hémorragie, la grossesse et l'accouchement. L'augmentation du taux de réticulocytes est un marqueur important pour surveiller la régénération des globules rouges après une hémolyse. La réponse réticulocytaire nécessite généralement entre 3 et 5 jours (34,56).

## **4.2. Bilan d'hémolyse**

Les érythrocytes sénescents subissent des modifications au niveau de la composition phospholipidique de leur membrane plasmique. Ils sont alors reconnus et phagocytés par les macrophages, principalement localisés dans la pulpe rouge de la rate. Cependant, les globules rouges peuvent être lysés dans la circulation sanguine avant d'être reconnus par les macrophages. Cette hémolyse intravasculaire représente généralement 10 à 20% du renouvellement total des érythrocytes dans des conditions physiologiques normales (57).

L'hémolyse intravasculaire est accélérée au cours d'une anémie hémolytique et est responsable d'effets néfastes en raison de la libération du contenu intracellulaire des globules rouges. En effet, lorsqu'elle est présente sous sa forme libre, l'hémoglobine capture le monoxyde d'azote qui joue un rôle essentiel dans la relaxation des muscles lisses, dans l'expression des molécules d'adhésion endothéliales, dans l'activation et dans l'agrégation plaquettaires. De plus, l'hémoglobine libre possède une structure hydrophobe et peut ainsi interagir avec les membranes lipidiques et d'autres structures lipophiles, provoquant leur perturbation (58).

La toxicité de l'hémoglobine est également liée à la formation de radicaux libres. En effet, la fraction héminique de l'hémoglobine est toxique car elle réagit avec le peroxyde d'hydrogène et produit des radicaux hydroxyles (57).

L'importance de l'hémolyse intravasculaire peut être qualifiée à travers divers paramètres principalement les taux plasmatiques d'haptoglobine, de lactate déshydrogénase et la bilirubine libre ou directe.

### **4.2.1. Haptoglobine**

L'haptoglobine est une protéine plasmatique, présente à des concentrations allant de 0.3 à 3 g/L (57,58). Au cours de l'hémolyse, la consommation d'haptoglobine est significative et constitue un biomarqueur puissant d'hémolyse intravasculaire accélérée, car en présence de grandes quantités d'hémoglobine libre, les réserves d'haptoglobine s'épuisent (57,58).

### **4.2.2. Lactates déshydrogénases**

La LDH a été longtemps utilisée comme marqueur clinique pour évaluer l'hémolyse intravasculaire. En effet, le taux sérique du LDH est légèrement augmenté au cours des hémolyses extravasculaires, mais ils sont considérablement élevés au cours de l'hémolyse intravasculaire pouvant atteindre jusqu'à 4 à 5 fois la valeur normale. De ce fait, la LDH sérique est un biomarqueur pratique pour évaluer l'accumulation pathologique d'hémoglobine au niveau plasmatique (56,59,60).

### **4.2.3. Bilirubine libre et conjuguée**

La bilirubine est produite à partir de la dégradation de l'hème. Environ 85% de la bilirubine circulante provient de la dégradation de l'hémoglobine dans les organes réticulo-endothéliaux (58). La bilirubine est un bon indicateur de l'hémolyse intravasculaire et, dans une moindre mesure, de l'hémolyse extravasculaire car une augmentation du taux plasmatique de la bilirubine est la conséquence d'une augmentation du catabolisme de l'hémoglobine (56).

## **4.3. Test de Coombs ou test érythrocytaire direct à l'antiglobuline**

Le test de Coombs est un test sanguin qui est utilisé pour détecter la présence d'immunoglobulines (Ig) ou de facteurs du complément liés aux globules rouges. Il consiste à

tester les globules rouges du patient avec un antisérum animal contenant des anticorps ciblant spécifiquement ces protéines. Le test est positif si les hématies agglutinent (61).

L'antiglobuline humaine polyvalente est d'abord utilisée pour reconnaître à la fois les IgG et le C3 humain activé. En cas de positivité, une antiglobuline spécifique, anti-IgG ou anti-complément, est utilisée pour préciser la nature de la positivité (61).

Le test de Coombs direct est utilisé ainsi pour dépister les hémolyses auto-immunes. De ce fait, il est négatif en cas de schizocytose car la présence de ces hématies fragmentées est le reflet d'une hémolyse non immunologique.

#### 4.4. Bilan d'hémostase

##### 4.4.1. Coagulation intravasculaire disséminée

La coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) est un syndrome acquis secondaire caractérisé par une activation excessive de la coagulation sanguine, qui peut entraîner des anomalies biologiques et cliniques. La CIVD correspond à l'association d'un syndrome d'activation systémique de la coagulation (SASC) et d'une consommation accrue des plaquettes et des facteurs de coagulation. Le SASC peut être déclenché par plusieurs facteurs tels que les traumatismes, les contextes septiques ou toxiques, les complications obstétricales et les cancers (Figure 18). Par ailleurs, elle peut être divisée en deux catégories, biologique et clinique, selon la présence ou non de manifestations cliniques (62).

Les symptômes peuvent inclure la présence de rares schizocytes, en particulier dans un contexte de CIVD sévère, en lien avec des dépôts de fibrine dans les capillaires ou les artérioles, essentiellement au niveau du rein, ainsi qu'une anémie hémolytique (30,34).

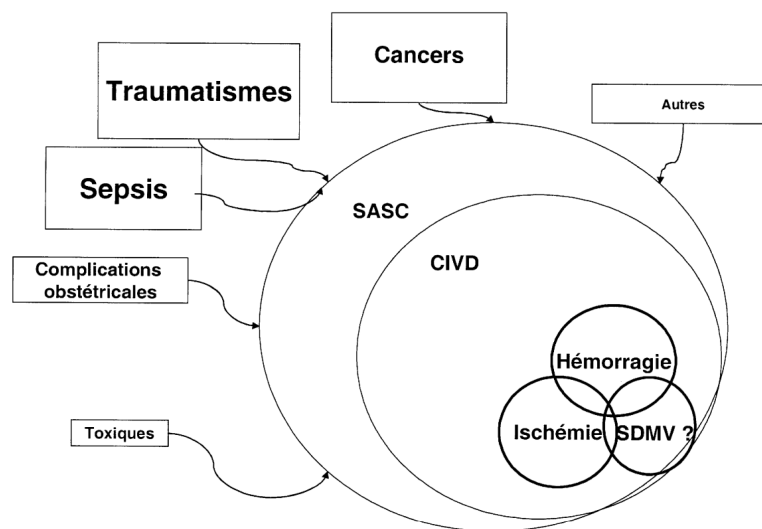


Figure 18 : Physiopathologie de la CIVD (selon (62))

Il est important de distinguer une CIVD d'une MAT. La CIVD est généralement rare lors d'un PTT ou d'un SHU chez l'adulte. Lorsqu'elle est présente, elle est souvent liée à la cause sous-jacente de la MAT telle que des cancers muco-sécrétants métastatiques. De ce fait, il est important de savoir si les schizocytes et la thrombopénie sont expliqués par la CIVD, la MAT, ou l'association des deux pathologies (34).

Le diagnostic biologique d'une CIVD repose sur un ensemble d'éléments perturbés à la fois en hémostase et en cytologie : on retrouve souvent une thrombopénie, une diminution du temps de prothrombine (TP) associé à une consommation des facteurs de coagulation,

particulièrement le facteur V, une diminution du fibrinogène, une augmentation du taux des monomères de fibrine et des D-Dimères.

#### 4.4.2. Facteur de Von Willebrand

Le facteur de von willebrand (vWF) est une glycoprotéine multimérique. Chaque monomère a un poids moléculaire de 270 KDa. Il est codé par le gène situé sur le bras court du chromosome 12. Il est synthétisé au niveau des cellules endothéliales et des mégacaryocytes et stocké dans les granules alpha plaquettaires et les granules endothéliaux de Weibel-Palade (63–65).

Le facteur de willebrand est composé de multimères, liés par des ponts disulfures, de différents poids moléculaires dont les mégamultimères ou multimères de haut poids moléculaire, qui ont un poids moléculaire autour de 20 000 KDa et présentent ainsi la plus forte capacité d'adhésion au sous-endothélium et aux plaquettes (66).

Le facteur de willebrand joue un rôle important dans l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium et à leur agrégation. En effet, à la suite d'une lésion endothéliale, l'endothélium stimulé et les plaquettes recrutées libèrent le vWF stocké. Le vWF libéré se lie ensuite au collagène exposé via les domaines A1 et A3 du vWF, entraînant l'immobilisation du vWF au site de la lésion. Une fois immobilisé, le vWF est soumis à des forces de cisaillement élevées et subit un changement de conformation exposant le site de liaison Gplb dans son domaine A1 (Figure 19). Le vWF se lie à la glycoprotéine Iba entraînant une adhésion plaquettaire. Puis, il se lie aux complexes glycoprotéines IIb/IIIa pour former le clou plaquettaire. Il joue également un rôle dans le transport du facteur VIII. Le vWF agit ainsi à la fois au niveau de l'hémostase primaire et de la coagulation (63,64).

La taille des multimères du vWF est régulée par l'ADAMTS-13 (A disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type I repeats-13), qui clive les multimères de haut poids moléculaire en multimères de bas poids moléculaire et régule ainsi sa capacité d'adhésion (figure 19). Si la métalloprotéase ADAMTS-13 est déficiente ou non fonctionnelle, les multimères de haut poids moléculaire s'accumulent, ce qui conduit à la formation de microthrombi dans les capillaires et les artérioles de la microcirculation responsable du PTT.

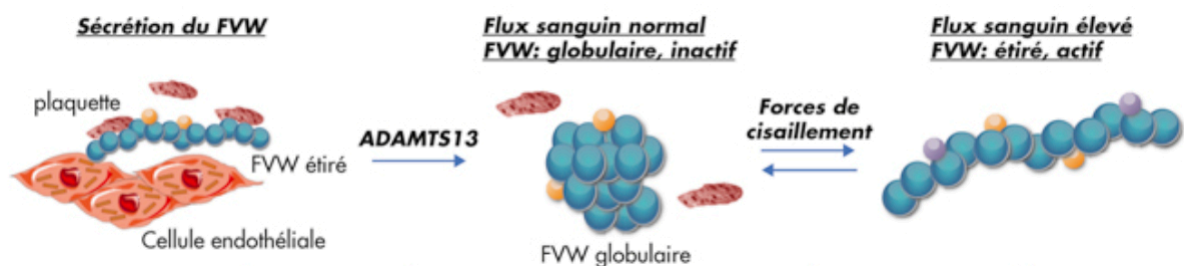


Figure 19 : Conformation du vWF en fonction du flux sanguin ( selon (63))

#### 4.4.3. ADAMTS13

L'ADAMTS-13 est une métalloprotéase car elle comporte des sites de fixation pour le calcium et le zinc. Elle est synthétisée au niveau hépatique dans les cellules stellaires péri-sinusoidales, mais également dans les cellules endothéliales et dans les mégacaryocytes. Toutefois, elle est sécrétée dans le plasma sous une forme soluble (67).

L'ADAMTS-13 a un poids moléculaire d'environ 200 KDa. Elle est codée par un gène localisé sur le chromosome 9q34 et s'étend sur 37 kb incluant 29 exons. Sa concentration plasmatique d'environ 1 g/ml et sa demi-vie est de 2 à 3 jours (67).

Cette protéase est constituée de 1427 acides aminés. Sa structure est composée d'un peptide signal et d'un propeptide. Ce dernier est clivé par la furine, une protéase à sérine. L'ADAMTS-13 est également composée de désintégrine, de thrombospondine-1 (TSP-1), d'un domaine riche en cystéine, de sites de fixation pour le calcium et de deux domaines CUB, acronyme qui désigne les protéines possédant ces domaines : Complément [C1r/C1s], uEGF [epidermal growth factor-related protein de l'oursin (sea urchin) et (bone morphogenetic protein) (Figure 20) (65).

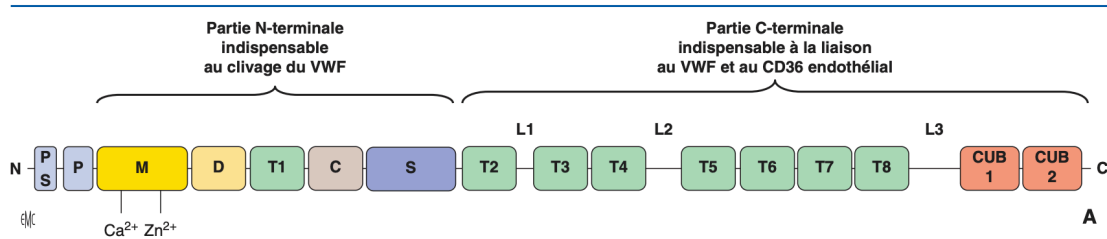


Figure 20 : Structure de la métalloprotéase ADAMTS-13 (d'après (67))

L'ADMATS-13 se lie à la surface de l'endothélium à son récepteur CD36. Elle se lie également au facteur von willebrand, ancré à l'endothélium par la P-sélectine, au niveau du domaine A3 à travers les domaines CUB et thrombospondine-1 et elle clive spécifiquement les multimères de haut poids moléculaire au niveau du domaine A2 du facteur von willebrand, entre les résidus tyrosine 842 et méthionine 843 (figure 21)(65,67).

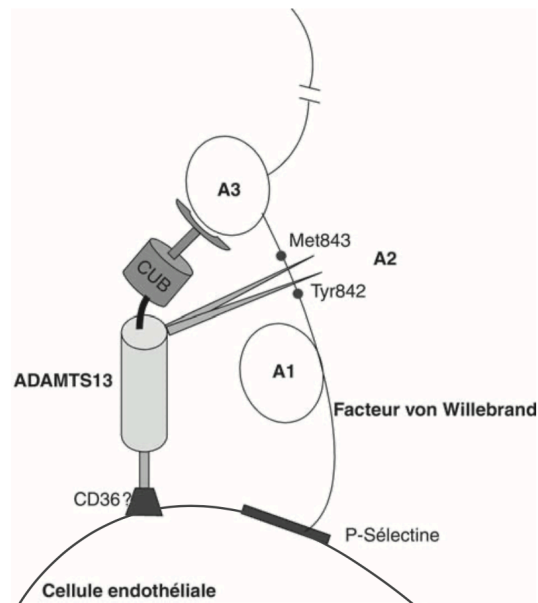


Figure 21 : Interaction entre la cellule endothéliale, le vWF et l'ADAMTS-13 (selon (65))

Son activité enzymatique est potentialisée par le  $Ca^{2+}$  et par un pH optimal compris entre 8 et 9 in vitro. Elle est bloquée en présence d'éthylène diamine tétracétique (EDTA) (67).

La valeur normale de l'activité enzymatique de l'ADAMTS-13 est supérieure à 50 %. Toutefois, on peut observer un déficit sévère en cas de PTT avec une activité < 10%, spécifiquement en cas de PTT auto-immun. Par ailleurs, on peut trouver des déficits partiels avec une activité comprise entre 20 et 50 % en cas d'infections sévères, chocs septiques, accès palustre, infarctus du myocarde, hépatopathies et en cas de syndrome des anti-phospholipides. En

revanche, cette activité est généralement normale en cas de SHU, de MAT post-greffe, d'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et en cas d'atteinte paranéoplasique (30).

On peut également observer des diminutions physiologiques de l'activité de l'ADAMTS-13 chez le nouveau-né et chez les personnes âgées ainsi que chez les sujets noirs d'environ 10 à 20%. On note aussi une diminution chez la femme enceinte à partir de la 12<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée qui peut atteindre 20% à terme (67).

L'exploration biologique de l'ADAMTS-13 est réalisée en mesurant son activité protéolytique ou bien son activité antigénique. Les méthodes de mesure d'activité d'ADAMTS-13 impliquent la dégradation d'un substrat exogène par l'ADAMTS-13 du plasma du patient, suivi de la détection des produits de dégradation du vWF clivé, à l'aide de différentes techniques (68).

Les méthodes de premières générations qui explorent la protéase ADAMTS-13 consistent à incuber du plasma du patient avec du vWF entier, puis mesurer la quantité résiduelle du vWF à l'aide de méthodes électrophorétiques, d'agrégation plaquettaire ou des tests de liaison du vWF au collagène (68).

Les méthodes de deuxième génération utilisent des substrats peptidiques plus courts incluant le site de clivage par ADAMTS-13 dans le domaine A2 du vWF, généralement un peptide de 73 acides aminés, plutôt que des vWF entiers. Ces méthodes reposent sur des techniques de dosage immuno-enzymatique, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), ou de transfert d'énergie par résonance de fluorescence, fluorescence resonance energy transfer (FRET). Elles fournissent des résultats en quelques heures, mais ne détectent pas certaines anomalies héréditaires de l'ADAMTS-13. Ces méthodes sont préconisées selon les recommandations de l'International Council for Standardization in Haematology de 2020 (68,69).

Bien que toutes ces méthodes fournissent des résultats valides, la plupart ne conviennent pas au diagnostic urgent en raison de leur durée, généralement entre 4 et 5 heures, ainsi que les compétences techniques requises. De plus, en raison du rapport coût/efficacité, la plupart de ces tests sont réalisés par lots et non pour des patients individuels. Ces facteurs entravent le dépistage en temps opportun de l'activité ADAMTS-13 malgré l'urgence diagnostique et thérapeutique (69).

Il existe plusieurs tests d'activité ADAMTS-13 rapides qui pourraient potentiellement combler ces lacunes telles que les méthodes utilisant la chimiluminescence. Ces derniers utilisent des particules magnétiques recouvertes du substrat peptidique GST-VWF73. La détection se fait par chimiluminescence grâce à un anticorps monoclonal marqué à l'isoluminol qui réagit avec le peptide clivé. Ces méthodes sont automatisées et rapides (68,69).

En outre, il existe des tests unitaires semi-quantitatifs et rapides qui permettent d'avoir des résultats en 30 minutes. Ils sont basés sur le principe ELISA. Ils comportent quatre points indicateurs d'activité d'ADAMTS-13 (0, 10, 40 et 80 UI/dL) (68).

Les anticorps anti-ADAMTS-13 peuvent être détectés et quantifiés principalement par deux types de méthodes (68) :

- Méthodes immunologiques : ces méthodes consistent à rechercher des anticorps anti-ADAMTS-13 par des techniques telles que l'ELISA, le western blot ou l'immuno-précipitation. Les dosages d'auto-anticorps utilisant les techniques immunologiques sont recommandés par l'ICSH.



- Méthodes fonctionnelles : ces méthodes visent à détecter une activité inhibitrice circulante en quantifiant les anticorps neutralisants. Elles permettent d'identifier et de quantifier les anticorps anti-ADAMTS-13 qui inhibent de manière fonctionnelle la protéase ADAMTS-13. Ces méthodes s'appuient sur des épreuves de mélange. Les échantillons sont chauffés à 56°C pendant 30 minutes pour les inactiver, puis mélangés à différentes dilutions avec un pool de plasma normal. Après incubation, l'activité résiduelle d'ADAMTS-13 est mesurée et exprimée en unités Bethesda (1 UB/mL d'inhibiteur inhibe 50 % de l'activité d'ADAMTS-13 d'un plasma normal). Actuellement, ces méthodes sont rarement utilisées en France en raison de la durée du rendu du résultat et de son caractère semi-quantitatif. De plus, la sensibilité de ces tests est limitée en raison des dilutions successives.

La recherche des mutations est faite par le séquençage haut débit des 29 exons du gène d'ADAMTS-13, ainsi que les jonctions exon/intron, les régions 3'UTR et 5'UTR et le promoteur. Cependant, la recherche des mutations ADAMTS-13 est réalisée uniquement au laboratoire du CHU de Nantes (68).

#### **4.5. Autres examens :**

Des examens complémentaires sont nécessaires pour orienter le diagnostic (70) :

- Ionogramme sanguin complet avec créatininémie : permet d'évaluer la fonction rénale, l'état de l'hydratation et les troubles ioniques.
- Ionogramme urinaire avec créatininurie
- Troponine : marqueur d'ischémie et de souffrance cardiaque
- C Reactive Protein (CRP) : marqueur d'inflammation
- Bilan hépatique (ASAT, ALAT,  $\gamma$ GT, phosphatases alcalines, bilirubine totale et conjuguée) : pour évaluer l'atteinte hépatique
- Dosage vitamine B12 : essentiel pour le diagnostic différentiel
- ECBU : examen cyto bactériologique des urines
- Hémoculture si fièvre
- Coproculture / Recherche d'*Escherichia coli* STX+ et de toxine dans les selles
- Sérologies VIH, VHC, VHB
- Bilan pré-transfusionnel : réalisé au diagnostic et avant transfusion
- Myélogramme : si doute sur le caractère central de la thrombopénie
- Anticorps antinucléaires - Si positifs : anticorps anti-ADN natifs et C3-C4-CH50
- Anticorps anticardiolipines / anti- $\beta$ 2gp1
- Béta-HCG (Hormone Chorionique Gonadotrope Humaine)
- Étude du complément

## 5. Automates de cytologie et alarmes globules rouges

---

Les automates de cytologie ont une valeur prédictive négative (VPN) élevée. Cependant, ils ont une sensibilité médiocre car ils permettent de détecter des fragments de globules rouges, des hématies microcytaires et des cellules de taille diminuée généralement sans spécificité.

Les automates utilisent l'impédance pour mesurer la taille des cellules sanguines. Cela se fait en mesurant les variations de la résistance électrique qui se produisent lors du passage des cellules à travers une ouverture. Lorsqu'un courant électrique est appliqué à cette ouverture, le passage de chaque cellule entraîne une augmentation de la résistance électrique qui est traduite en impulsions électriques. La hauteur de ces impulsions est directement proportionnelle au volume de la cellule, ce qui permet de mesurer son volume. En déterminant la taille de la cellule à partir du déplacement du fluide, on peut obtenir une mesure précise du volume cellulaire.

Les alarmes de globules rouges fragmentés peuvent être utilisées comme un critère d'alerte. En revanche, tout résultat positif nécessite un contrôle au niveau du frottis sanguin.

Les paramètres pouvant interférer avec la quantification du globule rouge fragmentés sont l'hémoglobine, les plaquettes et les globules blancs. En effet, en cas d'anémie martiale ou une thalassémie, les globules rouges microcytaires sont comptés en tant que globules rouges fragmentés du fait de leur taille diminuée. De plus, l'alarme fragmented red cells (FRC) peuvent ne pas être déclenchés en cas de macrocytose. Par ailleurs, dans certains contextes d'hyperleucocytose, réactionnelle ou maligne, des fragments cytoplasmiques sont produits et peuvent être comptés comme des schizocytes. Enfin, les schizocytes de taille diminuée peuvent être identifiés comme des plaquettes et fausser le taux de plaquettes rendu (71).

### 5.1. Chaîne de cytologie SYSMEX Roche

La chaîne SYSMEX permet d'exclure les schizocytes à travers le paramètre FRC qui présente la somme des vrais schizocytes et des fragments non spécifiques. Le logiciel spécifique RET Master permet de calculer le paramètre FRC (34).

Ce paramètre a une forte VPN qui désigne la capacité d'un test de diagnostic à identifier correctement les personnes sans la maladie parmi celles qui ont reçu un résultat négatif. C'est un indicateur important de la fiabilité du test, car il mesure la probabilité que quelqu'un sans la maladie soit incorrectement diagnostiqué comme étant malade. Plus la VPN est élevée, moins le test est fiable (34).

En outre, l'automate a la capacité de compter en moyenne 30 000 globules rouges simultanément, ce qui est bien supérieur à la quantité d'environ 1000 globules rouges pouvant être examinés au microscope dans un frottis sanguin, avec une meilleure reproductibilité (71).

Il existe plusieurs modèles d'automates de cytologie de la gamme SYSMEX. On retrouve un système de double fenêtrage mis en place au niveau de l'automate XE-2100 et ses dérivés 4000 et 5000. Ce système permet de repérer les hématies microcytaires dans le canal réticulocyte et permet ainsi d'éviter les interférences causées par une carence en fer.

Ce système a été mis en place en analysant des fragments de globules rouges générés artificiellement par chauffage à 50°C pendant 100 minutes, et en déterminant la zone contenant une population de fragments dont le pourcentage est corrélé au comptage microscopique. Cependant, il convient de noter que le pourcentage de fragments de globules

rouges ne peut être obtenu qu'en effectuant une analyse supplémentaire avec un deuxième passage du tube en mode réticulocyte (30,34).

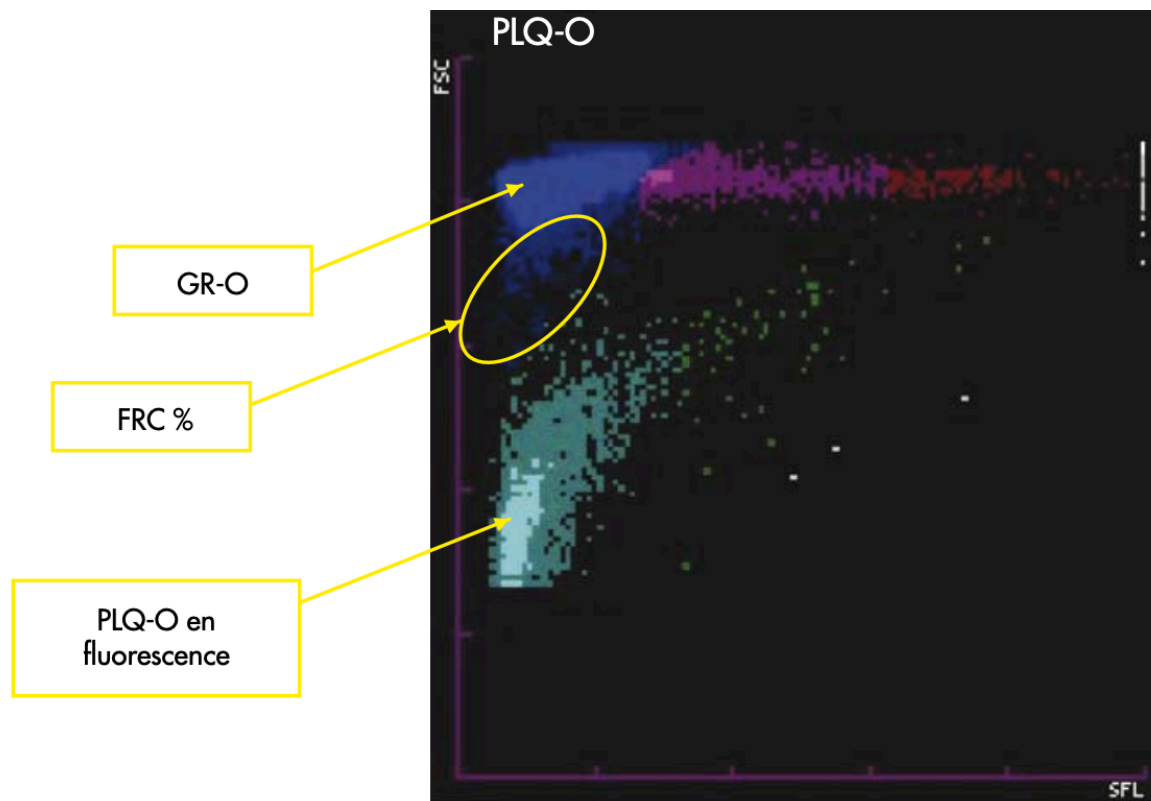


Figure 22 : Séparation des plaquettes et des globules rouges en fonction de la taille et la structure (selon (34))

La valeur moyenne des globules rouges fragmentés calculée par l'automate chez des patients témoins est comprise entre 0.3 et 1%. De ce fait, il est convenu qu'un pourcentage de fragments de globule rouge inférieur à 0.5% permet d'exclure la présence de schizocytes avec une valeur prédictive proche de 100% (30).

## 5.2. ADVIA

L'identification des fragments de globules rouges, en utilisation l'automate ADVIA, est réalisé par l'analyse bidimensionnelle des globules rouges et des plaquettes (32,34). En effet, la mesure des hématies fragmentées est réalisée par analyse optique bidimensionnelle :

- Le cytomètre de diffusion des plaquettes est formé par l'appariement des signaux de diffusion de la lumière acquis à faible angle (entre 2° et 3°) et à fort angle (entre 5° et 15°), qui sont convertis en valeurs de volume et d'indice de réfraction. Il affiche des cellules avec des volumes allant jusqu'à 30 fL et des indices de réfraction compris entre 1.35 et 1.40.
- L'analyse intégrée permet de distinguer les plaquettes et les globules rouges de taille diminuée, tels que les hématies microcytaires, les hématies fantômes, les schizocytes et les fragments, car les fragments de globules rouges correspondent à des événements de volume inférieur à 30 fL associé à un indice de réfraction supérieur à 1.40 du fait du contenu en hémoglobine (32).

Ceci permet de différencier les éléments de nature érythrocytaire dans la zone des interférences globule rouge / plaquettes pour les automates basés sur le principe de l'impédance.

L'automate détecte les fragments d'érythrocytes au-dessus d'un seuil de 10 000 /  $\mu\text{L}$  et le pourcentage de schizocytes est ensuite déduit en fonction du nombre de globules rouges mesurés par l'automate (32).

L'automate ADVIA a tendance à surestimer la valeur des schizocytes, particulièrement dans un contexte d'aniso-poïkilocytose, car la mesure permet de repérer les fragments d'hématies en fonction de leur taille sans aucun critère de forme.

Il existe une corrélation entre les résultats fournis par l'automate à travers le paramètre FRC et la technique microscopique de référence avec une excellente sensibilité et une spécificité médiocre expliquée par le principe de mesure de l'automate car ce dernier permet de mesurer la taille et la structure de l'hématie sans définir des critères de forme. Les faux positifs sont souvent liés à la présence d'une anisopoïkilocytose. Ainsi, tout résultat positif implique un contrôle au microscope (34).

Cette technique a également une VPN élevée. Cependant, de rares cas de schizocytose non associés à une alarme de fragments de globules rouges ont été observés dans des contextes de macrocytose marquée (30).

## 6.Étiologies de la schizocytose circulante

---

### 6.1. Microangiopathie thrombotique idiopathique

La microangiopathie thrombotique se définit biologiquement par l'association d'une anémie hémolytique mécanique et d'une thrombopénie périphérique suite à la consommation excessive des plaquettes et la formation de microthrombi plaquettaires responsable de la fragmentation des hématies et la formation des schizocytes. Ceci s'accompagne d'un syndrome d'hémolyse caractérisé par une augmentation de la LDH, de la bilirubine libre et un effondrement de l'haptoglobine.

Par ailleurs, elle peut être responsable d'une défaillance multi-viscérale au niveau clinique et engager ainsi le pronostic vital (72). La microangiopathie thrombotique se divise en deux catégories : le purpura thrombotique thrombocytopénique et le syndrome hémolytique et urémique.

#### 6.1.1. Purpura thrombotique thrombocytopénique

##### 6.1.1.1. Définition

Le purpura thrombotique thrombocytopénique, autrefois connu sous le nom de « syndrome de Moschowitz », est une forme de microangiopathie thrombotique caractérisée par une anémie hémolytique, associée à la présence de schizocytes, une thrombopénie périphérique profonde et une souffrance d'organes principalement le cerveau et le cœur suite à la formation de thrombi dans la microcirculation.

La première description clinique de cette maladie a été faite en 1924 par Eli Moschowitz, un médecin américain, chez une jeune fille de 16 ans. Les principaux symptômes observés étaient une anémie hémolytique mécanique, une thrombopénie, une fièvre, une atteinte rénale et une atteinte neurologique (48,73).

En 1960, le terme purpura thrombotique thrombocytopénique a été introduit pour décrire certains cas de microangiopathie thrombotique chez les enfants. En effet, Schulman et al. ont rapporté un cas d'une jeune patiente de 8 ans présentant un tableau de purpura thrombocytopénique idiopathique connu depuis sa naissance, qui s'est amélioré grâce à des transfusions régulières de sang total et de plasma (65).

En 1978, Upshaw a établi un lien entre l'anémie hémolytique mécanique, la thrombopénie périphérique, le déficit d'un composant plasmatique et le PTT congénital. Ensuite, le terme « syndrome d'Upshaw-Schulman » a été proposé par Rennard et al. en 1979 pour désigner le PTT congénital (65).

Le rôle de l'ADAMS-13 dans le clivage du facteur Von Willebrand a été découvert en 1996. Par la suite, il a été constaté un déficit de cette métalloprotéase dans le PTT, mais pas dans d'autres formes de MAT (48).

Le PTT peut être distingué en trois catégories : le PTT sporadique, le PTT récidivant et le PTT intermittent. Dans le cas du PTT sporadique, la maladie guérit de manière définitive après le traitement. En revanche, le PTT récidivant se caractérise par des rechutes fréquentes et régulières, avec une tendance à la réapparition de la maladie malgré les traitements précédents. Enfin, le PTT intermittent se manifeste par des rechutes qui surviennent de manière irrégulière et imprévisible, sans suivre un schéma régulier. Il est important de prendre en compte cette distinction dans le suivi et la prise en charge du PTT, afin d'adapter le traitement et la surveillance en fonction du type de PTT présent chez le patient (65).

### 6.1.1.2. Épidémiologie

Le PTT représente environ 25% des cas de microangiopathie thrombotique (70). Cette maladie affecte principalement les femmes avec un ratio de 3 femmes pour 1 homme. Les premiers épisodes de cette affection surviennent généralement autour de la quarantaine. Par ailleurs, les sujets noirs et les sujets nord-africain sont plus touchés par le PTT (65).

L'incidence du PTT est estimée à 1 à 2 cas par million d'habitant par an, et sa prévalence est de l'ordre de 13 cas par million d'habitants. Le taux de mortalité s'élève à environ 15%, bien que cela puisse être sous-estimé en raison d'une mortalité précoce dans les premières 48 heures. En outre, Les rechutes du PTT après rémission sont fréquentes.

### 6.1.1.3. Physiopathologie

Le PTT résulte d'un déficit de l'enzyme ADAMTS-13 qui engendre une accumulation des multimères de haut poids moléculaire du facteur Von Willebrand responsable d'un état d'hypercoagulabilité et ainsi la formation spontanée de microthrombi dans la microcirculation. Il en résulte une thrombopénie car les plaquettes sont consommées dans les microthrombi (Figure 23).

Le déficit en ADAMTS-13 se divise principalement en deux catégories. Dans 5 à 10% des cas, il est congénital, généralement observé dans les formes pédiatriques. Cette forme est associée à des mutations génétiques. Par ailleurs, dans 90 à 95% des cas, le déficit en ADAMTS-13 est acquis. Cette forme est souvent observée chez les adultes et généralement causée par des auto-anticorps dirigés contre la protéase ADAMTS-13 (48,66).

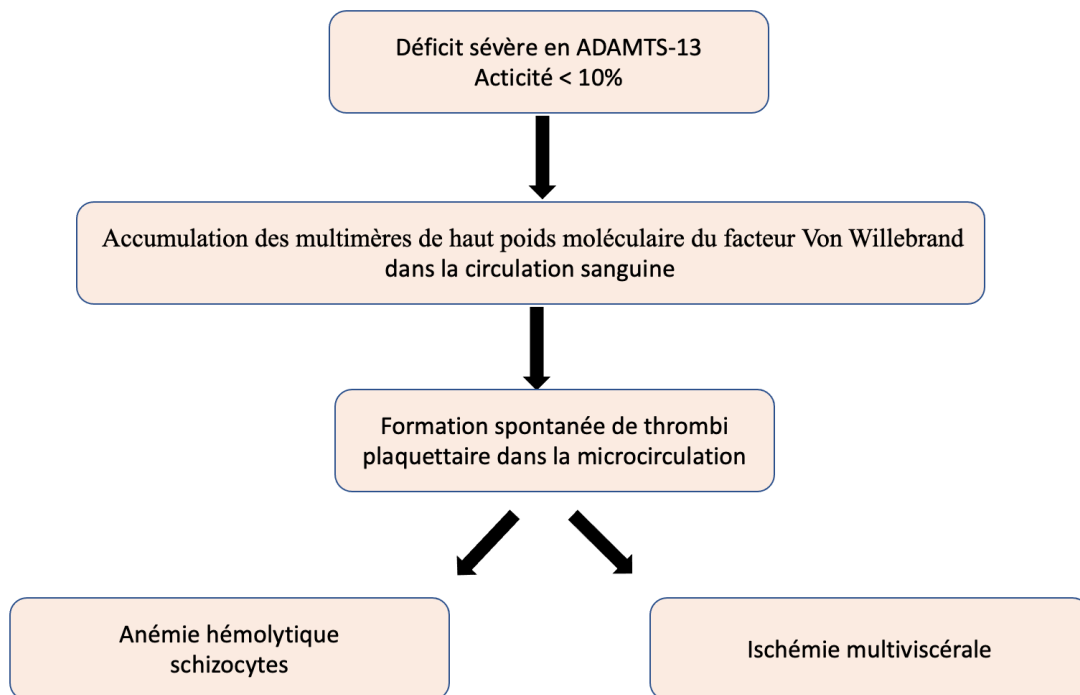


Figure 23 : Physiopathologie du purpura thrombotique thrombocytopénique

### 6.1.1.3.1. PTT congénital

Le PTT constitutionnel ou congénital, également connu sous le nom de syndrome d'Upshaw-Shulman, est rare. Il représente moins de 10% des cas. La première poussée de la maladie a lieu généralement avant l'âge de 10 ans, plus particulièrement dès la naissance (50% des cas) (70).

Le PTT congénital est une maladie génétique transmise selon un mode autosomique récessif. La plupart des mutations affectant le gène codant pour l'ADAMTS-13 affectent le domaine riche en cystéine et le domaine spacer, situé entre le domaine riche en cystéine et le domaine thrombospondine-I (figure 24).(48)

Environ 200 mutations ont été identifiées dans le gène ADAMTS-13 associées au PTT congénital. Ces mutations comprennent environ 60% de mutations ponctuelles, 20% de mutations entraînant un codon stop et 20% d'insertions ou de délétions. (figure 24) (65,66)

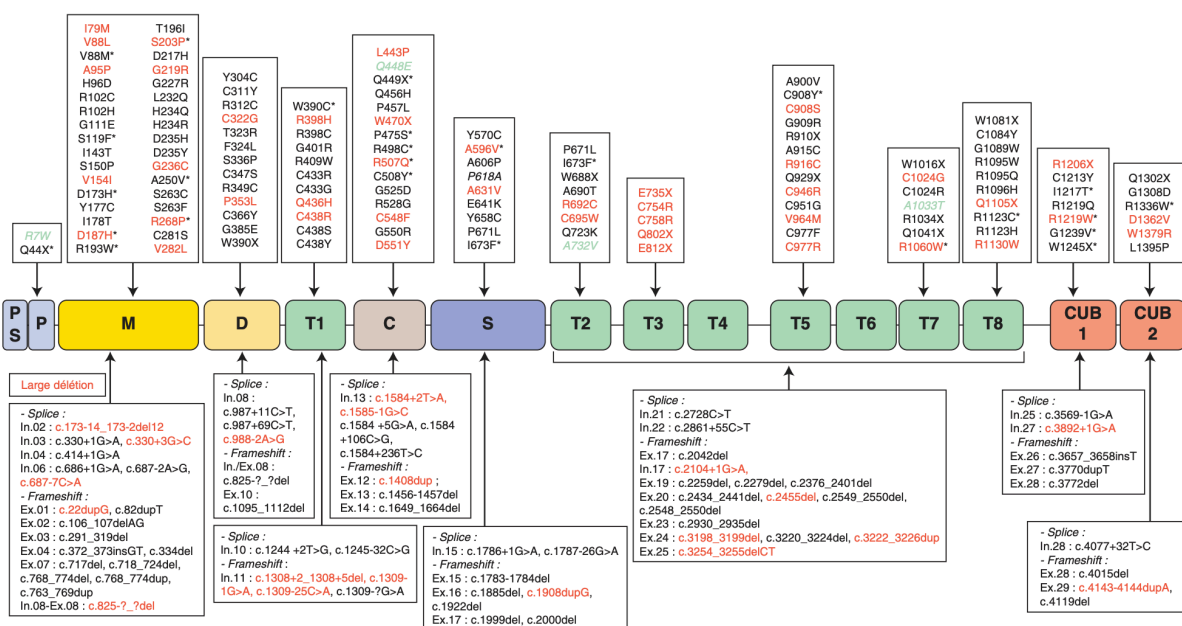


Figure 24 : Différentes mutations retrouvée dans le PTT congénital (d'après (67))

### 6.1.1.3.2. PTT acquis

Le PTT acquis est lié dans 75% des cas à des auto-anticorps dirigés contre l'ADAMTS-13 (70). Dès lors, il s'agit d'une réponse auto-immune polyclonale dirigée contre l'enzyme ADAMTS-13 à travers des anticorps neutralisants, c'est-à-dire inhibiteurs du site catalytique de l'enzyme, ou des anticorps non neutralisants qui se lient à l'enzyme et accélèrent ainsi son élimination (67). Ces auto-anticorps peuvent coexister chez les patients atteints de PTT (30).

Les autoanticorps anti-ADAMTS-13 sont des immunoglobulines G (IgG), des IgM et des IgA par ordre de fréquence. Parmi les IgG anti-ADAMTS-13, la sous-classe IgG4 est prédominante, suivie par les sous-classes IgG1, IgG2 et IgG3. Ces anticorps sont titrés par Western blot ou par la méthode ELISA (67).

Les anticorps peuvent se présenter de deux manières : soit de manière transitoire, disparaissant définitivement lors de la rémission en parallèle avec la restauration de l'activité de l'ADAMTS-13, soit persistant en rémission, inhibant ainsi durablement l'activité de l'ADAMTS-13. Cette persistance des anticorps expose le patient à un risque de rechute d'environ 40% au cours de la première année et de 74% à 7 ans (48,66).

Dans des conditions physiologiques normales, la protéase ADAMTS-13 circule sous une forme fermée, repliée sur elle-même. Cependant, au cours de la phase aiguë du PTT auto-immun, sa conformation est dépliée (Figure 25). Les auto-anticorps peuvent être responsables de cette modification de conformation de la métalloprotéase (66).

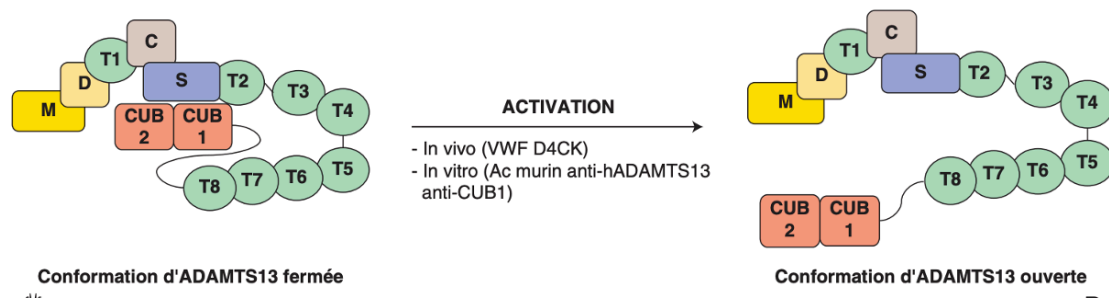


Figure 25 : Changement de conformation de l'ADAMTS-13 (d'après (67))

Ces anticorps inhibent généralement l'activité catalytique de l'ADAMTS-13 en reconnaissant des épitopes situés dans le domaine riche en cystéine et le domaine spacer (48,65). Par ailleurs, ils peuvent être associés à d'autres anticorps qui reconnaissent un autre domaine de l'ADAMTS-13, tels que le premier domaine TSP-1, les répétitions TSP-1 2 à 8, les domaines CUB, la région du propeptide ou le fragment comprenant le domaine catalytique et le domaine de type désintégrine (65).

D'autres anticorps, tels que les anticorps anti-CD36 ont été trouvés chez 80% des patients atteints de PTT acquis. Ces anticorps empêchent l'ancrage de la TPS-1, protéine impliquée dans la régulation de la taille des multimères du facteur willebrand, à leur récepteur CD36 à la surface de l'endothélium (65). Durant la phase aiguë du PTT, on peut également retrouver des anticorps dirigés contre les cellules endothéliales ou des anticorps anti-plaquettes (65).

#### 6.1.1.4. Facteurs de risque/ facteurs protecteurs

L'incidence du PTT augmente en présence de facteurs de risque dans 50% des cas tels que les maladies auto-immunes, comme le lupus érythémateux systémique ou le syndrome de Sjögren, la grossesse, l'infection par le VIH et plus rarement les cancers (70).

Le PTT auto-immun est associé à certain locus de système leucocytaire humain, notamment le locus portant les allèles DRB1\*11 et DQB1\*03. En revanche, d'autres locus, tels que DRB1\*04 sont des facteurs protecteurs du PTT. La répartition hétérogène de ces allèles au sein des différentes ethnies pourrait expliquer pourquoi certains groupes ethniques, comme les personnes noires, sont plus exposés au risque de développer un PTT. Les allèles DRB1\*08:03, DRB3/4/5\*blank, DQA1\*01:03, et DQB1\*06:01 sont des facteurs de risque du PTT auto-immun dans la population japonaise (66).

#### 6.1.1.5. Diagnostic

Le PTT est une maladie grave et nécessite une prise en charge en urgence car le pronostic est excellent si la prise en charge est rapide et adéquate. Cette affection doit être évoquée devant toute suspicion de syndrome de microangiopathie.

Par ailleurs, l'association d'une anémie hémolytique mécanique et d'une thrombopénie sans signe apparent de défaillance d'organe doit systématiquement évoquer un PTT. De ce fait, il est important de ne pas conclure hâtivement à une origine auto-immune des cytopénies avant d'effectuer un dosage de la protéine ADAMTS-13 (66).



#### **6.1.1.6. Les signes cliniques**

Les signes cliniques les plus fréquents, à savoir la fièvre modérée entre 38°C et 38,5°C, présente dans 59 à 98 % des cas suite à la libération de substances pyrogènes au cours de l'ischémie tissulaire, les manifestations neurologiques, l'atteinte rénale, l'anémie et la thrombopénie, ne sont tous présents à la fois que chez 40% des patients. Le début de la maladie est généralement brutal avec une phase prodromique comportant une asthénie, des arthralgies, des myalgies, des douleurs abdominales et lombaires (48,65).

L'atteinte neurologique est présente dans 60% des cas et peut se manifester par des céphalées, de la confusion voire un coma. Vingt pour cent des patients peuvent présenter une crise convulsive, voire un état de mal épileptique (48,65).

L'atteinte rénale est moins fréquente. Elle est présente dans 18% des cas. Contrairement au SHU, l'augmentation de la créatininémie reste modérée, c'est-à-dire inférieure à < 200 µmol/L, sauf chez les patients ayant un antécédent de néphropathie sous-jacente. Elle peut être associée à une protéinurie et une hématurie (48,65).

Les autres manifestations cliniques témoignent de la dissémination du PTT. On note principalement les signes digestifs tels que les douleurs abdominales, les vomissements et la diarrhée. L'atteinte digestive peut aller jusqu'à l'ischémie digestive ou la pancréatite aiguë (66).

Par ailleurs, les atteintes cardio-vasculaires tels que l'infarctus du myocarde, l'insuffisance cardiaque congestive, le choc cardiogénique et les arythmies voire la mort subite sont fréquentes. En effet, une élévation de la troponine plasmatique a été observée chez environ 60% des patients (66).

L'atteinte hématologique est fréquente. Elle peut être isolée, sans défaillance d'organe associée. Elle se manifeste par des signes hémorragiques tels qu'un purpura, des ecchymoses et des hématomes (65).

#### **6.1.1.7. Les signes biologiques**

L'atteinte hématologique se révèle biologiquement par une anémie hémolytique, avec une schizocytose circulante, une élévation de bilirubine libre, des LDH et une diminution voire un effondrement de l'haptoglobine qui sont des signes d'hémolyse. Cette anémie est régénérative, normocytaire, normochrome. La thrombopénie est fréquente. Néanmoins, c'est un facteur de mauvais pronostic si elle est inférieure à 20 G/L. La recherche d'un PTT est déclenchée lors de présence de schizocytes sur le frottis sanguin dans un contexte de bicytopenie. Cependant, les schizocytes peuvent être absents au cours des 24 à 48 premières heures de l'évolution. Ainsi, la recherche de schizocytes doit être répétée pour augmenter la sensibilité du test. La présence des schizocytes au niveau du sang périphérique du patient peut persister même après la rémission du PTT, bien que les plaquettes et les LDH soient normalisées et que le taux d'hémoglobine soit remonté (48).

L'hémostase est généralement normale dans ces cas, à l'exception de légères élévations des D-dimères. Une hyperleucocytose, principalement constituée de polynucléaires neutrophiles, est fréquente. Cependant, elle est généralement inférieure à 20 G/L (65).

Une exploration médullaire peut se révéler utile chez les sujets âgés chez lesquels il est important d'éliminer une composante centrale des cytopénies.

Le résultat du dosage de la protéine ADAMTS-13 est rendu dans un délai assez long par rapport à l'urgence diagnostic et thérapeutique du PTT. Il est généralement rétrospectif au

diagnostic clinique. D'où la nécessité de créer des scores cliniques prédictifs d'un déficit sévère en ADAMTS-13 tels que le French score et le PLASMIC score (Tableau 3) (66).

Tableau 3 : Scores cliniques prédictifs d'un déficit sévère en ADAMTS-13

	<b>French score</b>	<b>PLASMIC score</b>
Taux de plaquettes	< 30 G/L (+1)	< 30 G/L (+1)
Créatinine sérique	< 2.25 mg/dl < 200 µg/L (+1)	< 2 mg/dl < 177 µg/L (+1)
Bilirubine libre > 2 mg/d ou > 34 µmol/L Réticulocytes > 2.5% Haptoglobine effondrée ou indétectable		(+1)
Cancer évolutif dans la 1 <sup>ère</sup> année		(+1)
Contexte de greffe		(+1)
INR < 1.5		(+1)
VGM < 90 fL		(+1)
Prédiction d'un déficit sévère en ADAMTS-13 avec une activité < 10	<b>0 point : 2%</b> <b>1 point : 60%</b> <b>2 points : 85%</b>	<b>0 – 4 points : 0%</b> <b>5 points : 5 à 9 %</b> <b>6 – 7 points : 62 à 81%</b>

Les deux scores évaluent le déficit en ADAMTS-13 en se basant sur les critères suivants : une thrombopénie majeure, <30G/L, absence de l'atteinte rénale ou modérée avec une créatininémie < 200 µg/L (66).

Le french score est élaboré chez des patients atteints de MAT avec une anémie hémolytique mécanique et une schizocytose circulante sans contexte particulier tels qu'un cancer, une chimiothérapie, une grossesse, un sepsis, une greffe ou une CIVD (66).

Si le french score est à 0 point, la probabilité d'avoir un déficit sévère, <10%, est inférieur à 2%, si le score est à 1 point, cette probabilité s'élève à 60%. Enfin, si le score est à 2 points, le risque de développer un déficit sévère en ADMATS-13 est élevé et atteint les 85% (66).

Le PLASMIC score inclut des critères cliniques et biologiques supplémentaires tels que les indicateurs d'hémolyse comme l'augmentation de la bilirubine non conjuguée et la diminution de l'haptoglobine, une augmentation des réticulocytes, signe de la régénération des globules rouges, un international normalized ratio (INR) inférieur à 1.5, un VGM inférieur à 90 fL et le contexte clinique tel qu'une origine néoplasique ou un contexte de greffe car le diagnostic de la MAT n'est pas présumé (66).

Si le PLASMIC score est entre 0 et 4 points, le risque d'avoir un déficit sévère en ADMATS-13 est très faible voire nul, ce risque augmente, entre 5% et 9%, si le score est à 5 points. La probabilité d'un déficit sévère en ADAMTS-13 est très élevée, entre 62 % et 81%, à partir de 6 points (66).

Selon les recommandations de la Société Internationale de Thrombose et d'Hémostase (ISTH), l'exploration de la protéase ADAMTS-13 suit un algorithme spécifique (Figure 26). En présence d'un syndrome de microangiopathie thrombotique, on mesure l'activité de l'ADAMTS-13 en phase aiguë. Un taux supérieur ou égal à 20% oriente le diagnostic vers une autre étiologie. Si le taux est compris entre 10 et 20%, le dosage est répété et interprété en fonction du contexte clinique et biologique sans exclure les autres diagnostics différentiels. Enfin, un taux < 10% confirme le diagnostic d'un PTT. Ensuite, on procède à la recherche et au titrage des anticorps anti-ADAMTS-13. Si la recherche est positive, le diagnostic de PTT acquis est retenu. Cependant, en cas de recherche négative, on mesure l'activité ADAMTS-13 en rémission. Si le taux est supérieur ou égal à 10%, il s'agit également d'un PTT acquis. Si le dosage est inférieur à 10%, on effectue un séquençage du gène ADAMTS-13 pour rechercher d'éventuelles mutations et confirmer ainsi le diagnostic d'un PTT héréditaire (68).

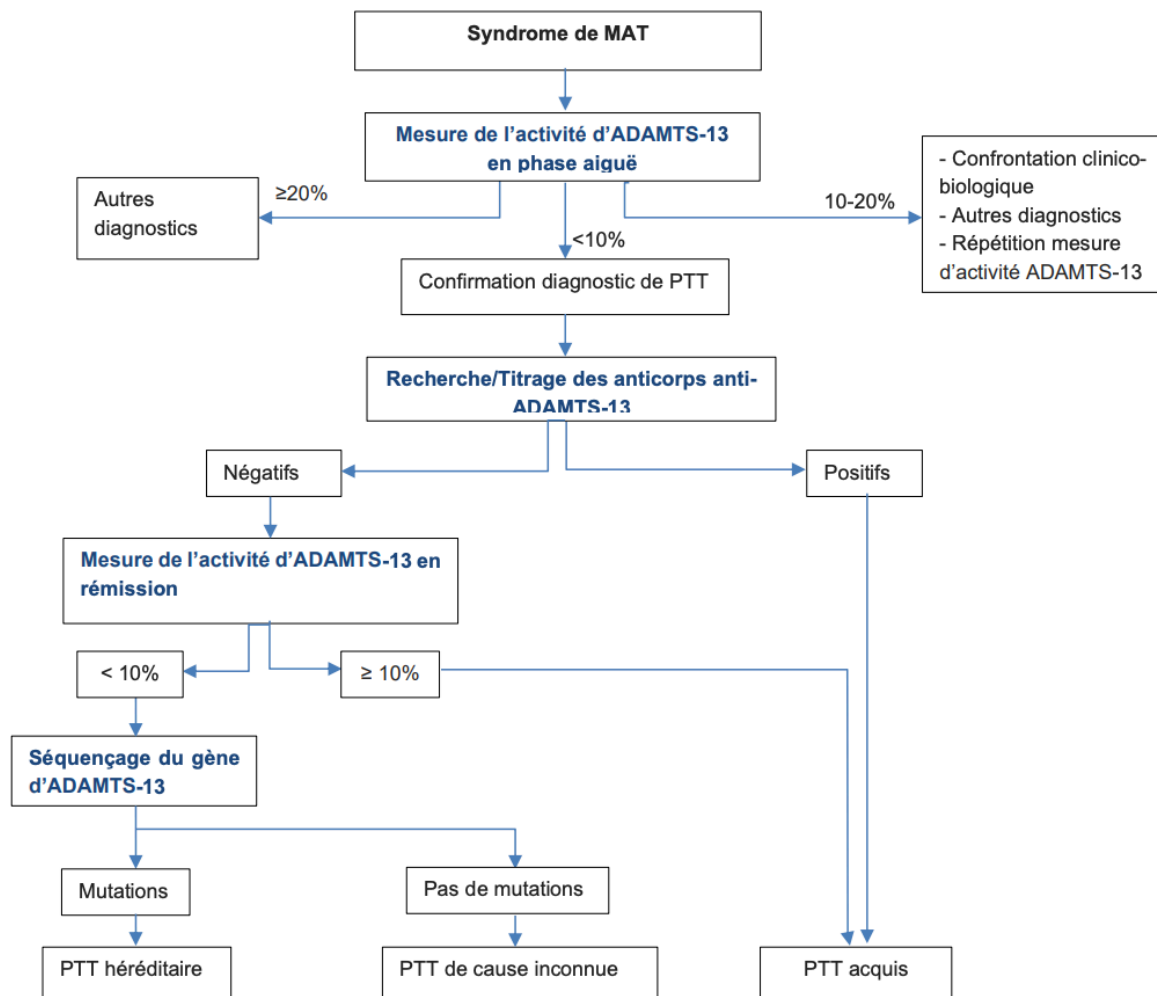


Figure 26 : Algorithme du diagnostic du PTT (selon (68))

#### **6.1.1.8. Prise en charge**

Le traitement du PTT est une urgence car il améliore nettement le pronostic en diminuant à la fois la morbidité et la mortalité.

##### **6.1.1.8.1. Prise en charge du PTT auto-immun**

Le traitement du PTT auto-immun repose sur l'association des échanges plasmatiques, le caplacizumab, le rituximab et la corticothérapie en fonction du French score ou du PLASMIC score (Figure 27).

En effet, si le score clinique oriente fortement vers un déficit sévère en ADAMTS-13, le traitement du PTT auto-immun est immédiatement initié par la mise en place d'une triple thérapie. Le Rituximab est débuté d'emblée si le French score est égale à 2 (70).

Dans le cas où le French score est intermédiaire (1 point), les échanges plasmatiques sont immédiatement initiés en raison du risque d'évolution rapide défavorable en l'absence du traitement. Un traitement immunomodulateur associé à la caplacizumab est introduit ensuite si le déficit sévère en ADAMTS-13 est confirmé (70).

Si le French score est bas, le PTT est peu probable et ne nécessite pas des échanges plasmatiques.

Une fois les plaquettes revenues à la normale, il est possible d'observer un déficit sévère et isolé en ADAMTS-13. Par conséquent, il est recommandé de contrôler l'activité ADAMTS-13 d'une manière hebdomadaire jusqu'à normalisation, tout en poursuivant le traitement par caplacizumab (70).

##### **6.1.1.8.1.1. Échanges plasmatiques**

Le traitement de première intention d'un PTT repose sur les échanges plasmatiques. En effet, durant la phase aigüe, l'apport de plasma contenant l'enzyme ADAMTS-13 est crucial. Ce processus consiste généralement en des échanges plasmatiques quotidiens de 40 à 60 ml/kg jusqu'à normalisation du taux de plaquettes et disparition des souffrances d'organes. Ces échanges plasmatiques peuvent ensuite être espacés progressivement. Ils permettent d'apporter des volumes importants de plasma, ce qui contribue, en plus de l'apport de la métalloprotéase ADAMTS-13, à éliminer les multimères du facteur willebrand de haut poids moléculaire, les anticorps anti-ADAMTS-13 et les cytokines inflammatoires. Le traitement par échanges plasmatiques a considérablement amélioré le pronostic du PTT et a augmenté le taux de survie sans séquelles qui peut atteindre 85%. En effet, avant l'utilisation des échanges plasmatiques dans la prise en charge, la mortalité associée au PTT était proche de 90%. (48,66,74).

Dans le cas où les échanges plasmatiques ne peuvent pas être effectués en urgence, il est recommandé de perfuser les patients avec des grands volume de plasma (20 ml/kg/j) avec prudence et de surveiller l'état hydrodynamique du patient car la perfusion d'un tel volume de plasma peut se compliquer par une surcharge hydro-sodée, une protéinurie de surcharge ou un hyperprotidémie avec un risque d'hyperviscosité (66).

Les plasmas les plus couramment utilisés sont le plasma frais congelé viro-sécurisé par quarantaine, ainsi que les plasmas viro-inactivés par solvant/détergent ou psoralène/ultraviolets (66).

#### **6.1.1.8.1.2. Corticothérapie adjuvante**

la corticothérapie est systématiquement associée aux échanges plasmatiques, en raison de l'origine auto-immune du PTT acquis (48). Elle améliore nettement le pronostic. En effet, la prednisone, administrée seule, à raison de 200 mg/jour pendant 5 à 7 jours, a montré une association avec une guérison dans plus de la moitié des cas de PTT (66).

#### **6.1.1.8.1.3. Caplacizumab**

Le caplacizumab a été désigné « médicament orphelin » en 2009. Il a eu une autorisation de mise sur le marché pour le traitement du PTT auto-immun en Europe en août 2018 et aux États-Unis en février 2019 chez les patients de plus de 12 ans et qui pèsent plus de 40 kg en association avec les échanges plasmatiques et les immunosuppresseurs (66,70).

Il s'agit d'une protéine thérapeutique bivalente dérivée de fragments d'anticorps à domaine unique. Son poids moléculaire est d'environ 28 KDa. Il est composé de deux domaines variables de chaînes lourdes d'immunoglobines reliés par trois résidus d'alanine (66).

Son mécanisme d'action consiste à se lier au domaine A1 du facteur willebrand. Il inhibe ainsi l'interaction entre le vWF et son récepteur plaquettaire. Cela prévient la formation des microthrombi plaquettaires induite par les multimères de haut poids moléculaire (66).

Il est administré par voie cutanée tous les jours jusqu'à ce que l'activité ADAMTS-13 atteigne le seuil de 20% selon le protocole national de diagnostic et de soins (PNDS) (70).

Par ailleurs, l'effet indésirable le plus fréquent, observé chez environ 3% des patients, est le risque hémorragique essentiellement liés à son mécanisme d'action. Des perfusions de concentrés de vWF peuvent être administrés en association avec l'arrêt du caplacizumab en cas de saignement sévère, particulièrement en cas d'hémorragie cérébro-méningée (70).

En outre, il peut provoquer une hyperplaquettose. De ce fait, il est recommandé d'initier un traitement anticoagulant à dose préventive dès que le taux de plaquettes atteint 50 000 plaquettes/mm<sup>3</sup> (70).

#### **6.1.1.8.1.4. Rituximab**

Le Rituximab bénéficie d'une recommandation temporaire d'utilisation (RTU) délivrée par l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) chez l'adulte comme chez l'enfant atteints de PTT auto-immun (70).

Il s'agit d'un anticorps monoclonal anti-CD20 des lymphocytes B. Il permet ainsi de réduire la sécrétion des anticorps anti-ADAMTS-13 par les lymphocytes B et ainsi une normalisation de l'activité de la métalloprotéase au cours d'un PTT auto-immun.

Le rituximab n'est efficace qu'après deux semaines de traitement. De ce fait, son action n'améliore pas la survie au cours de la phase aiguë du PTT, car la majorité des décès surviennent dans les dix premiers jours de la maladie. Cependant, il est utilisé pour prévenir les rechutes (66).

Le rituximab présente quelques effets indésirables, principalement infectieux. Son utilisation n'est pas recommandée chez la femme enceinte à l'exception des formes graves associées à un pronostic vital engagé (70).

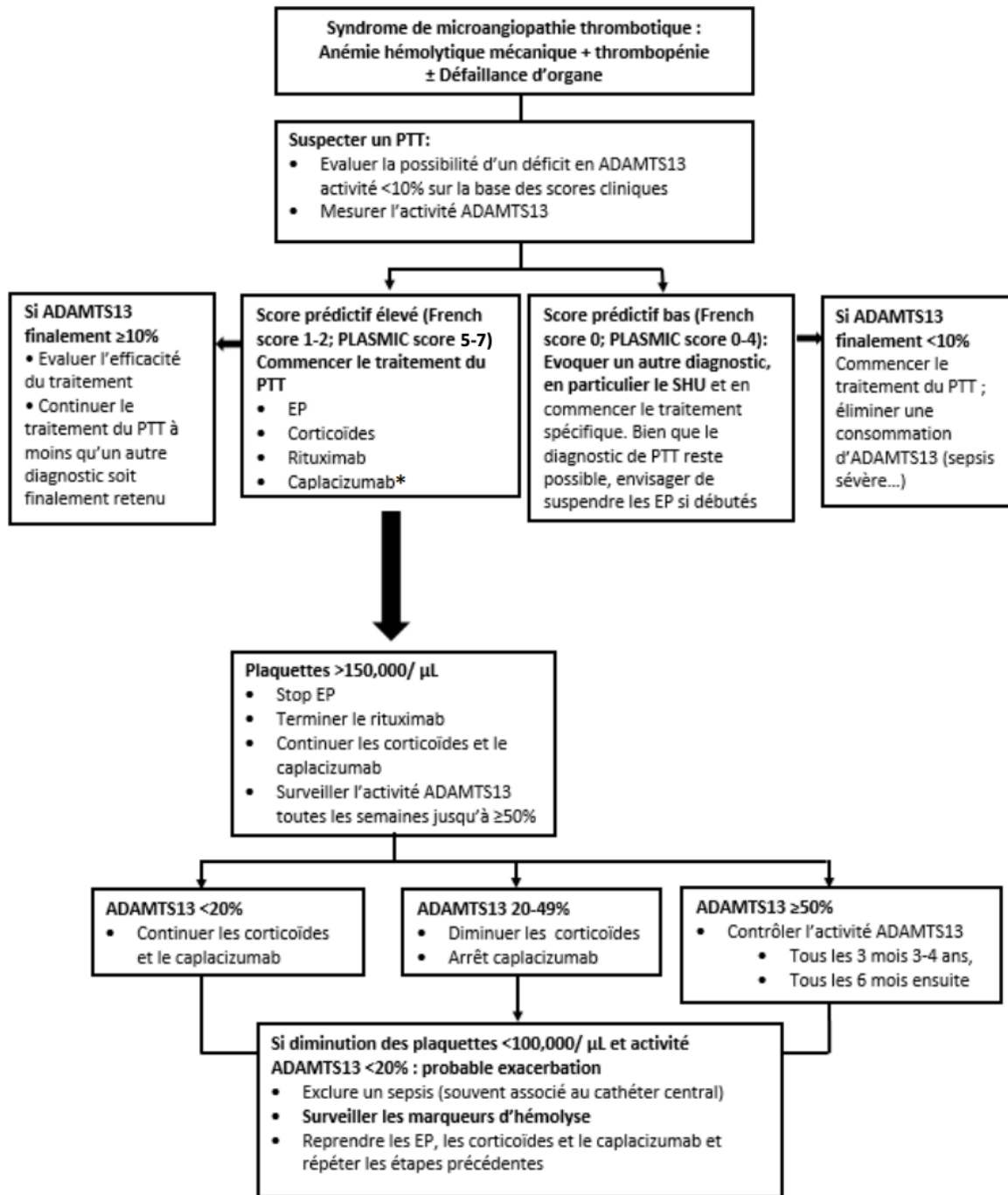


Figure 27 : Algorithme du traitement d'un PTT auto-immun à la phase aiguë (selon (70))

#### 6.1.1.8.1.5. Traitement prophylactique des rechutes

Il est recommandé d'utiliser le rituximab pour prévenir les rechutes des PTT au-immun. En effet, ce traitement bénéficie d'un RTU pour cette indication. En cas d'intolérance au rituximab, il est possible d'utiliser d'autres anti-CD20 tels que l'obinutuzumab ou l'ofatumumab (hors AMM). En cas d'échec du traitement par rituximab chez les patients atteints de PTT auto-immun présentant un déficit auto-immun sévère en ADAMTS-13, l'utilisation d'un traitement immunomodulateur tel que la ciclosporine, l'azathioprine ou la mycophénolate mofétil est recommandée (70).

Par ailleurs, la splénectomie est recommandée chez certains patient avec un PTT chronique récurrent (48).

#### **6.1.1.8.2. Prise en charge du PTT congénital**

Le traitement de référence du PTT congénital est la plasmathérapie. Elle implique des perfusions de plasma à raison de 10 ml/Kg par jour en traitement curatif, et toutes les 2 à 3 semaines en traitement préventif. Le traitement curatif permet généralement de freiner l'hémolyse dans les 24 à 72 heures et de corriger la thrombopénie dans la semaine. La plasmathérapie prophylactique permet de prévenir les complications à long terme telles que les atteintes cérébrales, cardiaques ou rénales (70).

De nouvelles perspectives thérapeutiques sont en cours d'étude, notamment l'utilisation de protéine ADAMTS13 recombinante (rADAMTS13). Une étude de phase 3 portant sur le rADAMTS13 est en cours. Les résultats de la phase 1 sont encourageants, montrant une bonne tolérance. Les multimères du facteur Willebrand de haut poids moléculaire diminuent dans les premières 24 heures suivant les injections de rADAMTS13 à fortes doses (20 et 40 U/kg), et des produits de clivage des multimères de FW de haut poids moléculaire ont pu être détectés de manière dose-dépendante. En outre, une augmentation du taux de plaquettes et une diminution du taux de LDH sont observées au cours des premières 96 heures (75).

Chez le nouveau-né, une exsanguino-transfusion est souvent nécessaire devant une importante hyperbilirubinémie. Par ailleurs, il est recommandé de surveiller étroitement les enfants en cas d'infection ou de vaccination et de débiter une plasmathérapie dès que les plaquettes diminuent en dessous de 150 G/L. En outre, une plasmathérapie préventive est recommandée en cas d'intervention chirurgicale (70).

#### **6.1.1.8.3. Schéma thérapeutique du PTT réfractaire**

Le PTT auto-immun réfractaire est rare. Il est caractérisé par l'aggravation des signes cliniques et biologiques associée à l'absence de dédoublement des plaquettes malgré la prise en charge thérapeutique. Dans ce cas, la stratégie thérapeutique comporte un échange plasmatique biquotidien, l'administration de la vincristine par voie intraveineuse pendant 3 à 4 semaines tous les 4 à 5 jours et la cyclophosphamide (48,70). En effet, la vincristine est un poison du fuseau utilisé jusqu'en 2002 comme étant un immunomodulateur au niveau de l'endothélium. Cet alcaloïde altère les récepteurs glycoprotéiques plaquettaires, empêchant ainsi l'attachement des multimères du facteur willebrand et donc l'agrégation plaquettaires. Cependant, il présente une toxicité neurologique (48). Par ailleurs, la splénectomie peut être envisagée en cas de PTT réfractaire (70).

#### **6.1.1.8.4. Traitement symptomatique**

Le traitement symptomatique vise à stabiliser l'état du patient et à minimiser les complications liées au PTT. En effet, les patients atteints de PTT nécessitent une supplémentation en folates en raison de la régénération médullaire importante. Par ailleurs, en cas d'anémie sévère, il est important de maintenir un taux d'hémoglobine supérieur ou égal à 8 g/dl à travers des transfusions de concentrés érythrocytaires. Cependant, en l'absence de saignement grave, les transfusions plaquettaires sont contre-indiquées car elles peuvent aggraver la formation de microthrombi. Dans le cas où l'atteinte rénale est sévère, des séances d'épuration extra-rénale sont réalisées (66).

#### **6.1.1.9. Pronostic**

Il est crucial de prendre en compte les facteurs de pronostic pour évaluer le risque et adapter la prise en charge du patient.

L'âge est un facteur pronostique important dans le PTT, avec des taux de décès plus élevés chez les patients de plus de 60 ans, allant de 23% à 43%, par rapport aux sujets plus jeunes dont le taux de décès varie de 4% à 17% (70).

La présence d'une atteinte cérébrale, un taux élevé de LDH ainsi qu'une élévation du taux de troponine I sont également associés à un pronostic défavorable (66). En effet, les patients de plus de 60 ans avec une atteinte cérébrale et un taux de LDH très élevé, supérieur à 10 fois la normale, ont un risque de mortalité entre 39% et 66%. Tandis que les jeunes patients sans facteurs de risque ont un risque de mortalité plus bas, entre 3% et 5% (70).

#### **6.1.1.10. Diagnostic différentiel**

Le déficit sévère en ADAMTS-13 est spécifique au PTT car l'activité de l'ADAMTS-13 est généralement normale ou légèrement diminuée au cours du SHU, ainsi que dans d'autres syndromes de microangiopathie thrombotique tels que le syndrome de HELLP, le syndrome catastrophique des anti-phospholipides et les MAT associés à une greffe de cellules souches hématopoïétiques (détaillé dans le paragraphe « 6.2. Microangiopathies thrombotiques secondaires ») (66).

Cependant, le sepsis sévère représente une situation particulière, car dans ce contexte, un déficit profond d'activité, jusqu'à < 10% de l'activité, a parfois été observé, probablement dû à une consommation excessive de la protéine (66).

Différentes pathologies, telles que la CIVD, le purpura thrombopénique idiopathique et le lupus érythémateux disséminé, ont été associées à une diminution de l'activité de la protéase ADAMTS-13. En outre, cette diminution de l'activité a également été observée chez les personnes âgées, les nouveau-nés, les femmes enceintes, les patients atteints de cirrhose hépatique ou en période postopératoire. Cependant, l'activité de l'ADAMTS-13 reste généralement détectable, tandis que dans le PTT, elle s'effondre, atteignant moins de 5% de l'activité normale (65).

### **6.1.2. Syndrome hémolytique et urémique**

#### **6.1.2.1. Définition**

Le syndrome hémolytique et urémique appartient aux affections de microangiopathies thrombotiques idiopathiques caractérisées par l'association d'anémie hémolytique, de thrombopénie de consommation et d'une atteinte multiviscérale (76).

Le SHU est une maladie systémique inflammatoire caractérisée par des lésions de l'endothélium vasculaire avec un tropisme rénal associées à une hypertension artérielle. La formation des microthrombi est responsable de l'atteinte des organes. Le thrombus se forme en 4 phases : une lésion de l'endothélium vasculaire, une adhésion puis agrégation plaquettaire, une diminution de l'activité fibrinolytique et une hémolyse avec la formation de schizocytes. Il se définit au niveau biologique par la triade d'anémie hémolytique intravasculaire mécanique, de thrombopénie et d'insuffisance rénale aiguë généralement sévère (77–80).

Il existe deux types de syndrome hémolytique et urémique : le SHU typique dans environ 90% des cas et le SHU atypique dans environ 10% des cas (76,81).



## **6.1.2.2. SHU typique**

### **6.1.2.2.1. Physiopathologie**

Le SHU typique, également appelé SHU post-diarrhéique, est généralement une complication d'une entérococolite hémorragique due à la production d'une shigatoxine. L'étymologie de cette dernière dérive de l'homologie de structure avec la toxine produite par la bactérie *Shigella dysenteriae*. Le SHU typique est précédé par une phase prodromique digestive avec une incubation d'une durée de 3 à 8 jours. Il apparaît généralement entre le 5<sup>ème</sup> et 13<sup>ème</sup> jour post syndrome diarrhéique (79).

Le SHU post-diarrhéique est principalement causé par la bactérie *Escherichia coli entérohémorragique* (EHEC) qui produit une toxine de type vérotoxine ou shigatoxine. Cependant, d'autres bactéries telles que *Shigella Dysenteriae* et *Salmonella Typhi* peuvent également induire un SHU, bien que dans une moindre mesure (82).

Les infections à *S. dysenteriae* type 1 productrice de shigatoxine sont plus fréquemment observées chez les personnes ayant récemment voyagé en Asie ou en Afrique. Ces infections sont associées à un taux de mortalité élevé, atteignant les 36% en particulier chez les enfants de moins de 5 ans (79).

La shigatoxine a été identifiée au 19<sup>ème</sup> siècle par les Drs. Neisser, Shiga et Conradi. Cette toxine a un poids moléculaire d'environ 70 KDa. La shigatoxine est constituée d'une sous unité A et d'un pentamère de sous-unités B identiques. Elle est classée en deux types, shigatoxine 1 (stx1) et shigatoxine 2 (stx2). Elles sont codées par des bactériophages. Après l'intégration dans le génome bactérien, ces toxines passent par une phase lysogénique où l'expression des gènes stx1 et stx2 est réprimée. Ensuite, elles entrent dans une phase lytique, caractérisée par une activation de la transcription, conduisant à la lyse de la bactérie et à la libération de nouveaux phages qui peuvent contaminer d'autres bactéries (79,83).

La sous-unité A de la shigatoxine 1 est composée de 293 acides aminés, tandis que celle de la shigatoxine 2 est légèrement plus longue avec 4 acides aminés supplémentaires à l'extrémité C-terminale. Lorsque la bactérie toxino-gène colonise la muqueuse colique à la suite de l'ingestion d'aliments contaminés, la toxine est libérée localement au niveau du côlon. Cette dernière cible l'endothélium. En effet, les sous-unités B de la shigatoxine se fixent sur le récepteur endothéliale globotriaosylcéramide (Gb3) et la sous-unité A pénètre dans la cellule endothéliale par endocytose (83,84).

La sous unité A est elle-même composée de deux parties, A1 et A2, reliées par des liaisons covalentes formées par un pont disulfure. Cette liaison disulfure bloque l'accès à l'acide glutamique en position 167, qui est le site actif de l'unité A1. Le pont disulfure est sensible aux protéases telles que la trypsine. La shigatoxine subit un clivage protéolytique au niveau de la liaison covalente libérant ainsi l'unité A1 sous sa forme active. Cette unité A1 élimine l'adénine, un acide aminé de l'ARNr 28S du ribosome 60S. Ainsi, la sous-unité A exerce un effet cytotoxique en inhibant la synthèse protéique. Cela entraîne la destruction de la bordure des microvillosités responsable de la colite hémorragique (Figure 28) (78,79,83,84).

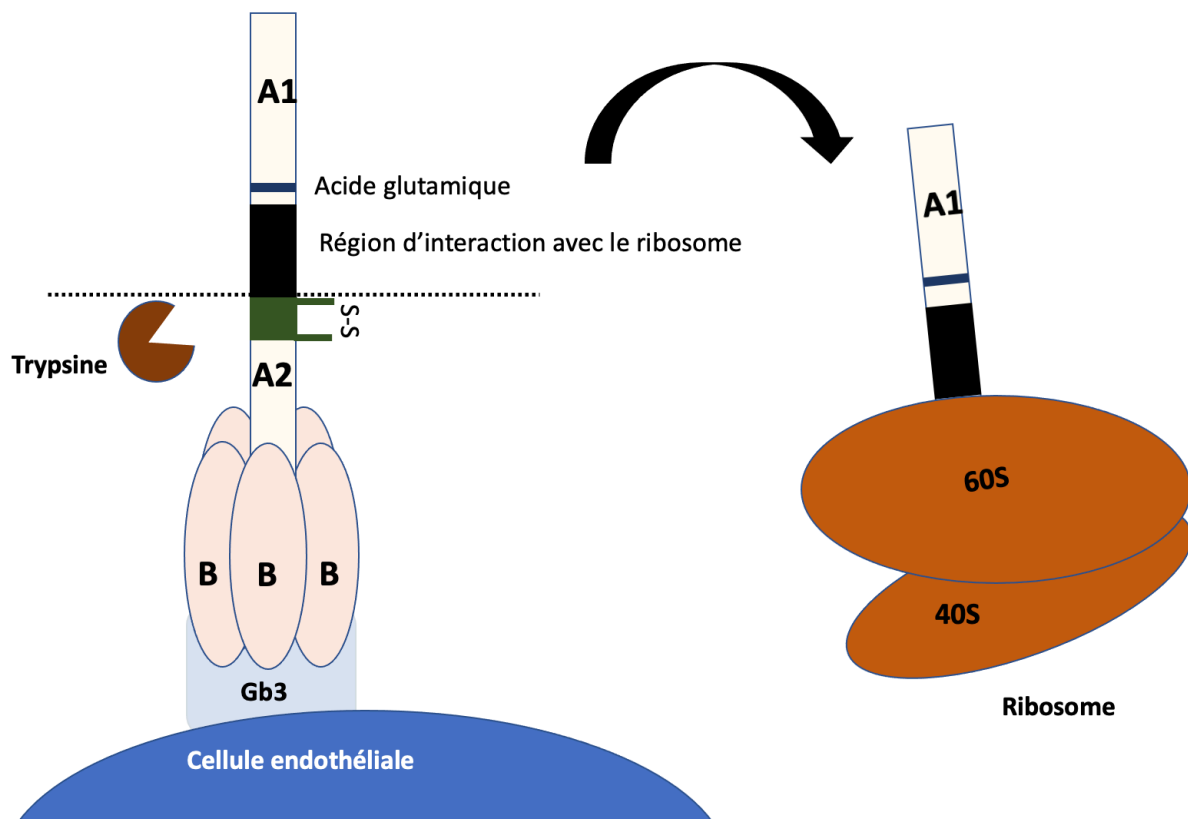


Figure 28 : Physiopathologie de la shigatoxine au cours d'un SHU typique

Par ailleurs, la toxine induit la production de l'interleukine 18 (IL-18), du monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) et des protéines d'adhésion (VCAM, PCAM-1 et ICAM) qui activent le recrutement des leucocytes. Elle se fixe ensuite sur à la surface des monocytes, des macrophages et des polynucléaires neutrophiles afin d'être transportée et atteindre différents organes. La toxine se lie ensuite au récepteur Gb3, principalement exprimé à la surface des cellules rénales. Elle pénètre dans la cellule par endocytose déclenchant ainsi une cascade d'évènements. Cela comprend l'apoptose cellulaire, la perte des propriétés antithrombotiques de l'endothélium, l'activation de la synthèse des médiateurs de l'inflammation et vasoactifs, ainsi que la stimulation de l'agrégation plaquettaire (78,79).

#### 6.1.2.2.2. Épidémiologie

Le SHU est une maladie grave avec un taux de mortalité d'environ 3%, bien qu'elle reste rare (79). Depuis 1996, les cas de SHU chez les enfants de moins de 15 ans en France sont répertoriés par l'Institut de veille sanitaire (78).

L'incidence du SHU typique augmente entre les mois de juin et septembre (85). Il peut également provoquer des épidémies sévères, comme celle survenue en Allemagne en 2011, qui a causé 855 cas de SHU et 53 décès (81).

Les SHU liés à *E. coli* entérohémorragique représentent entre 90 et 95 % des cas de SHU de l'enfant (79,85). Chaque année, environ 80 à 100 cas de SHU liés à *E. coli* surviennent en France chez des enfants de moins de 15 ans, principalement chez les enfants de moins de 3, ans avec une incidence de 3,3 cas pour 105 enfants de moins de 3 ans (79).

Après contamination par la bactérie produisant des toxines, 38 à 61% des patients présentent une colite hémorragique, mais seulement 10% évoluent vers un SHU (85).

Le sérotype O157:H7 est impliqué dans environ 50% des cas d'infection à EHEC, et est responsable d'environ 2000 cas de SHU typique dans le monde chaque année (79,80). D'autres sérotypes, tels que O104, O111, O26, O55, O91, O103, O128 et O145, sont également associés à cette maladie, bien que dans une moindre mesure (78–80).

#### **6.1.2.2.3. Transmission**

Il existe différents modes de transmission du SHU typique. La plus fréquente est la contamination alimentaire. Les bactéries toxinogènes se trouvent généralement dans l'intestin des bovins, des moutons, des chèvres, chevaux et chiens. La consommation de la viande hachée insuffisamment cuite est la principale source d'infection, car le processus de hachage permet l'internalisation de la bactérie (85).

Cependant, la toxine peut également être transmise par le contact avec des animaux excréteurs et leur environnement. En effet, la bactérie toxinogène peut être excrétée dans les engrais et dans l'eau et souiller ainsi les fruits et les légumes qui y sont exposés (85).

De plus, une transmission interhumaine, essentiellement manuportée, est possible et peut atteindre les 8 à 20% des infections à EHEC dans des contextes d'épidémie (79).

#### **6.1.2.2.4. Facteurs de risque**

Certains facteurs sont prédictifs de l'évolution vers le SHU, tels que l'exposition aux antibiotiques bactéricides, l'hyperleucocytose et la présence du sérotype O157:H7 (79).

Par ailleurs, la présence d'une hyperleucocytose et/ou un taux d'hématocrite élevé sont associés à une augmentation du risque de mortalité chez l'enfant (79).

#### **6.1.2.3. SHU atypique**

Le SHU atypique est une affection rare qui peut se manifester à tout âge, avec des rechutes fréquentes et des périodes de rémissions variables (76).

Le SHU atypique est une maladie primitive, principalement liée à une dérégulation de l'activation du complément. Il est généralement déclenché par des facteurs de risque tels que les infections (76,78).

##### **6.1.2.3.1. Épidémiologie**

Le SHU atypique représente environ 5% des cas des SHU de l'enfant. Néanmoins, il est prédominant chez l'adulte (78). L'incidence annuelle des cas de SHU atypique représente environ 0.3 par million d'habitants. Il est plus fréquent chez les femmes avec un sex ratio de 3:1. Un antécédent familial de SHU atypique est retrouvé dans environ 20 à 30 % des cas. Cependant, les anomalies moléculaires du complément sont absentes dans 30 à 50% des cas (70).

##### **6.1.2.3.2. SHUa lié à la dérégulation de l'activation du complément**

###### **6.1.2.3.2.1. Rappel sur le système du complément**

Le système du complément fait partie du système immunitaire. Il est composé d'un ensemble de protéines sériques synthétisées par le foie sous forme inactive. Son rôle est d'induire l'apoptose des cellules sénescents et de protéger l'organisme contre divers agents pathogènes.

Il existe trois voies d'activation du complément : la voie classique, la voie des lectines et la voie alterne. Les 3 voies convergent vers la formation de la convertase C3 qui clive la protéine C3 en deux fragments : la C3a, qui est une anaphylatoxine, et la C3b, qui participe à la

formation de la C5 convertase (C4b2a3b ou C3bBb3b). Cette dernière est clivée par la suite pour générer la C5a, une autre anaphylatoxine, ainsi que la C5b, une protéine cruciale dans l'activation de la voie terminale du complément et la formation du complexe d'attaque membranaire (CAM, C5b-9) (Figure 29) (86,87).

#### **6.1.2.3.2.1.1. La voie classique**

L'activation de la voie classique du complément est initiée lorsque le complexe C1, composé d'une molécule de reconnaissance C1q et de deux sérine protéases C1r et C1s, se fixe sur une cible qui peut être soit des complexes immuns, soit des ligands endogènes ou encore des molécules fixées à la surface des cellules apoptotiques. Ensuite, le complexe C1 clive le C4 et le C2 pour former la C3 convertase (C4b2a) (86).

#### **6.1.2.3.2.1.2. La voie des lectines**

La voie des lectines est une voie similaire à la voie classique. Elle est activée lorsque des résidus glycaniques à la surface des pathogènes sont reconnus par un complexe formé par l'association de lectines, telles que la mannose-binding lectin (MBL) ou les ficolines, avec des sérines estérases connues sous le nom de MBL-associates serine proteases (MASP). Cette fixation du complexe MBL-MASP à la surface du pathogène permet également de cliver le C4 et le C2 et former ainsi la C3 convertase alterne (C3bBb) (86).

#### **6.1.2.3.2.1.3. La voie alterne**

La voie alterne joue un rôle de surveillance en maintenant une activation minimale des cellules par le système du complément. Ce bas niveau d'activation est maintenu par un processus appelé « tick-over ». La voie alterne est initiée par l'hydrolyse spontanée du C3 qui aboutit à la formation du C3(H<sub>2</sub>O), la forme active. Cette dernière se lie ensuite au facteur B, formant ainsi un complexe qui est clivé par la suite par le facteur D pour former la C3 convertase alterne C3(H<sub>2</sub>O)Bb. Cependant, cette voie peut avoir une boucle d'auto-amplification en cas de contexte infectieux (86).

#### **6.1.2.3.2.1.4. Régulation**

Le système du complément est régulé par des protéines sériques telles que la C1inh, FI, C4BP, FH, clusterine, vitronectine, ainsi que par des protéines membranaires telles que la CR1, MCP, DAF et CD59. Cette régulation permet de contrôler l'activation du complément, limiter les dommages causés aux cellules saines et assurer ainsi l'homéostasie de l'hôte. Elle s'effectue à plusieurs niveaux : d'une part, en inhibant l'activité des protéases impliquées dans la cascade d'activation du complément et en favorisant leur dégradation, et d'une autre part, en contrôlant la formation du complexe d'attaque membranaire (86). On peut citer l'exemple du facteur H qui se lie au C3b et permet ainsi au facteur I de cliver le C3b en C3bi. Ceci empêche la formation de la C3 convertase alterne et favorise sa dégradation (88).

Une déficience de certains des composants du système du complément rend l'organisme particulièrement vulnérable aux infections, notamment aux agents pathogènes encapsulés tels que le *Neisseria Meningitidis*. De plus, cette déficience est également impliquée dans les maladies inflammatoires telles que le lupus érythémateux. Cependant, une activation excessive de ce système de défense peut entraîner des dommages cellulaires responsables de pathologies telles que le SHU atypique (86).

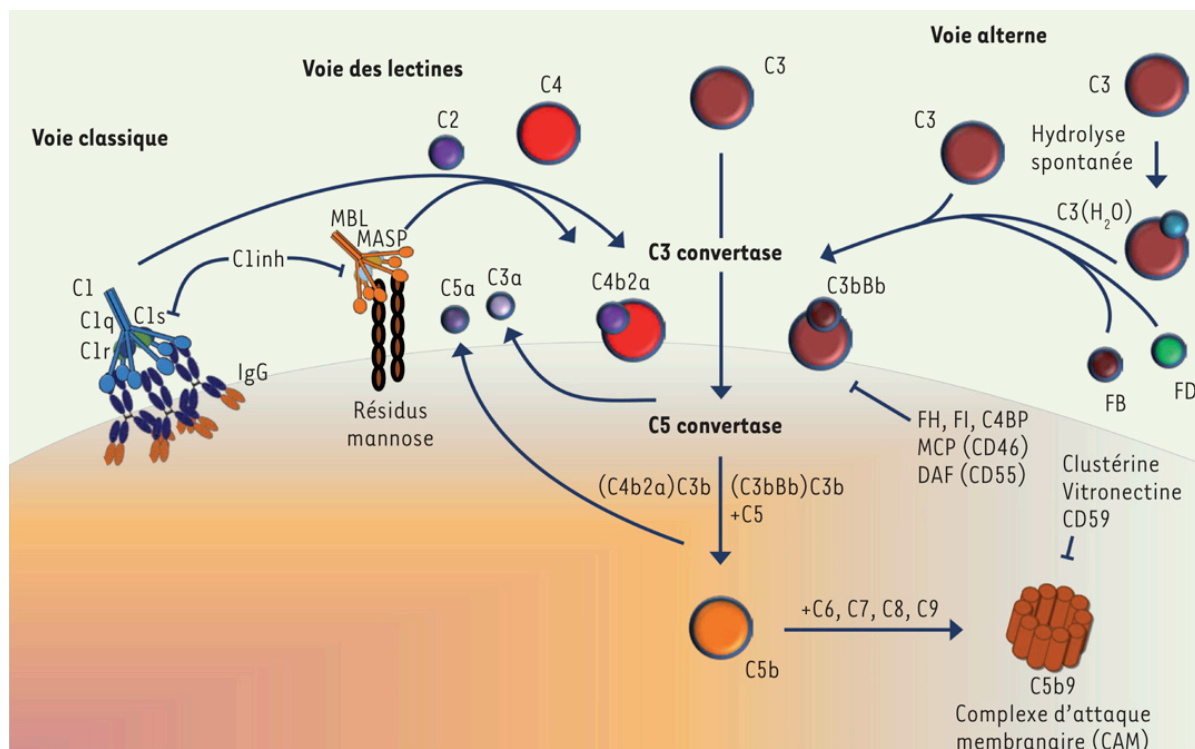


Figure 29 : Le système du complément et la formation du complexe d'attaque membranaire (selon (82))

(MBL-MASP : mannan binding protein- mannan-binding lectin serine protease ; C1inh : C1 inhibiteur ; C4BP : C4 binding protein ; MCP : membrane cofactor protein ; DAF : decay accelerating factor)

### 6.1.2.3.3. Physiopathologie

Le SHU atypique associé à un défaut de régulation du complément est lié, dans 70% des cas, à des mutations des gènes qui codent pour la C3, le facteur H, les protéines qui régulent le facteur H, le facteur I, la Membrane Cofactor Protein (MCP) (ou CD46) et la thrombomoduline. Par ailleurs, le SHU atypique est associé dans 10% des cas à la présence d'anticorps anti-facteur H (81).

Ces mutations entraînent une perte de protection de l'endothélium, en particulier au niveau rénal, contre l'attaque du système du complément. Cela se manifeste par formation de la C5 convertase et la formation du complexe d'attaque membranaire C5b9. Ce complexe a un effet procoagulant car il induit la formation du facteur tissulaire, qui active à son tour la voie exogène de la coagulation et favorise la formation de microthrombi (81).

Une étude menée en France en 2013 sur 214 patients suivis dans des centres de néphrologie/transplantation a révélé qu'environ un tiers des patients présentent une mutation du gène codant pour le facteur H. Cette mutation perturbe la régulation de l'activation de la voie alterne du complément. D'autres mutations, moins fréquentes (environ 9%), ont été observées au niveau des gènes codant pour la MCP, facteur 1 et la C3. Aucune mutation n'a été signalée au niveau de la thrombomoduline dans cette étude (81).

Chez les enfants, les patients présentant une mutation au niveau du gène codant pour la MCP ont généralement un meilleur pronostic que ceux ayant une mutation du gène codant pour le facteur H, car les atteintes cérébrales sont plus rares dans le premier groupe. Cependant, chez les adultes, il n'y a pas de différence de pronostic notable entre ces deux mutations. Par

ailleurs, les patients ayant une mutation du MCP ou du C3 ont plus de risque de récurrence du SHU atypique (81).

Certains cas de SHU atypique peuvent être attribués à la présence d'anticorps dirigés contre le facteur H. Ces anticorps sont associés à une délétion des gènes complément factor H-related (CFHR) 1 et 3. De plus, des mutations au niveau du gène codant pour la Diacylglycerol Kinase Epsilon (DGKE) ont été observées chez quelques enfants de moins d'un an. La DGKE joue un rôle crucial dans l'inactivation de signal Diacyl-glycérol (DAG), un composé lipidique qui active la protéine kinase C prothrombotique (81).

Ces mutations potentialisent le risque de contracter un SHU atypique, mais leur simple présence n'est pas suffisante pour déclencher la maladie, car environ 50% des porteurs de la mutation ne développent pas un SHU atypique. Ce risque est amplifié en présence d'autres facteurs tels que les infections et la grossesse, soulignant ainsi le rôle important des facteurs environnementaux. Cela explique le fait que le SHU atypique peut survenir à n'importe quel âge (81).

#### **6.1.2.4. Diagnostic du syndrome hémolytique et urémique**

##### **6.1.2.4.1. Signes cliniques**

Les organes principalement affectés par le SHU sont le système rénal et système nerveux central (79). Dans environ 50% des cas, on observe une insuffisance rénale avec une anurie. Cette anurie dure moins de huit jours dans 35 % des cas, 8 à 15 jours dans 40 %, 15 à 30 jours dans 20 % et est définitive dans moins de 5 % des cas (85). De plus, une hématurie et/ou une protéinurie peuvent être observées. Suite à l'oligoanurie, une surcharge volumique se manifeste, entraînant une hypertension artérielle dans 40 à 50% des cas, associée à un syndrome œdémateux et une hyponatrémie (79,85).

L'insuffisance rénale terminale survient dans 5 à 10% des cas chez les enfants, tandis que l'insuffisance rénale chronique est observée chez environ un tiers des patients de plus de 15 ans (79,85).

Les complications neurologiques constituent la principale cause de mortalité du SHU, survenant dans 20 à 50% des cas de SHU (85). Les symptômes neurologiques comprennent généralement un ralentissement psychomoteur, des convulsions, une hémiparésie, une cécité corticale, des troubles de la vigilance et des manifestations épileptiques (79). Cette atteinte neurologique est multifactorielle, impliquant la formation de microthrombi au niveau cérébrale, l'hyponatrémie et l'hypertension artérielle (85).

Il est également possible d'observer des atteintes multiviscérales avec des complications au niveau du système cardiovasculaire, telles que l'hypertension artérielle et des complications de type ischémique dans 10% des cas. Des atteintes du système digestif peuvent également se produire, comme des sténoses coliques, des perforations et nécroses au niveau du colon ainsi que des atteintes du pancréas, telles qu'une nécrose des îlots de Langerhans, qui augmente le risque de développer un diabète insulino-dépendant ultérieurement et/ou des pancréatites aiguës responsables d'un diabète transitoire au cours de la phase aiguë du SHU dans 3.2% des cas (79,85).

##### **6.1.2.4.2. Signes biologiques**

L'anémie hémolytique précède généralement l'insuffisance rénale. Il s'agit d'une anémie non immunologique hémolytique mécanique régénérative d'où l'augmentation des réticulocytes au niveau du sang périphérique et la présence de schizocytes sur le frottis sanguin.

On observe également une élévation du taux sérique des marqueurs d'hémolyse tels que la LDH, la bilirubine et une diminution voire un effondrement du taux sérique de l'haptoglobine.

Par ailleurs, les troubles métaboliques dans un contexte de SHU sont principalement attribuables à l'insuffisance rénale et à l'hémolyse. Parmi ces troubles, l'hyperkaliémie, l'acidose métabolique, l'hyperphosphorémie, l'hyponatrémie de dilution et le syndrome urémique sont fréquemment présents. Ces anomalies reflètent les perturbations des équilibres électrolytiques et acido-basiques (89).

En cas de suspicion de SHU typique à bactérie toxigène, le diagnostic repose sur la coproculture avant toute antibiothérapie, même en l'absence de diarrhée, permettant l'identification de la souche toxigène et sa culture dans des milieux de cultures tels que le milieu de McConkey ou l'utilisation de milieux chromogéniques en collaboration avec le centre national de référence (CNR) E.coli Shigella de l'Institut Pasteur à Paris (80). Pour une meilleure sensibilité, les échantillons de selles doivent être prélevés dans les six jours suivant le début des symptômes. Le prélèvement doit être acheminé rapidement au laboratoire ou conservé à + 4°C. De plus, il doit être envoyé dans un milieu de transport si l'analyse n'est pas réalisée dans un laboratoire de proximité (77,85).

La sérologie permet de détecter les anticorps anti-lipopolysaccharides les plus fréquents en France, à savoir O26, O55, O91, O103, O111, O128, O145, O157 (78,85).

Par ailleurs, l'utilisation de la biologie moléculaire, notamment la PCR (polymerase chain reaction), améliore la sensibilité du diagnostic en recherchant les gènes codant pour les toxines stx1, stx2 ainsi que les gènes de virulence tels que le gène eae (intimine) ; ehxA (entérohémolysine) et aggR (activateur transcriptionnel du gène des fimbriae de type 1 impliquées dans l'adhérence). Si le résultat est négatif, l'examen doit être répété sur un nouveau prélèvement (77,80).

En cas de suspicion de SHU associé à *Streptococcus pneumoniae*, la recherche du germe est réalisée par culture et par PCR. De plus, un test Coombs et un test d'activation T sont effectués (81).

En cas de SHU atypique, on réalise un dosage du complément, particulièrement un dosage du C3, C4 et du complément hémolytique 50, pour mettre en évidence une déficience isolée du C3 et ainsi une anomalie de la voie alterne. En outre, on dose le facteur H et le facteur I en plus de l'étude de l'expression de MCP à la surface des leucocytes et la recherche d'anticorps anti-facteur H. Par ailleurs, on recherche les mutations au niveau des gènes du facteur H, du facteur I, du CD46/MCP, du C3 et du facteur B (81).

#### **6.1.2.5. Prise en charge**

Le SHU est une urgence diagnostique et thérapeutique.

##### **6.1.2.5.1. Traitement symptomatique**

Au cours de la phase prodromique, l'utilisation des ralentisseurs du transit n'est pas recommandée car elle favorise l'apparition du SHU (85).

L'utilisation des antibiotiques contribue à la libération de la toxine lors de la lyse bactérienne, particulièrement en cas d'utilisation de quinolones. Cependant, les macrolides tels que l'azithromycine réduisent la cytotoxicité de la shigatoxine. Il convient de préciser que l'azithromycine est utilisée en l'absence d'insuffisance rénale (80).

Il est essentiel de corriger l'hypovolémie avec un apport hydrique optimal, principalement pendant la phase prodromique, afin de préserver la fonction rénale. L'introduction précoce des diurétiques réduit le risque d'anurie mais accroît le risque de déplétion vasculaire, augmentant ainsi le risque thrombotique. En cas d'anurie et/ou d'hyperkaliémie, il est possible de recourir à l'épuration extra-rénale par différentes méthodes telles que la dialyse péritonéale en particulier chez l'enfant de petit poids, l'hémodialyse ou l'hémofiltration intermittente et l'hémofiltration continue. Il est important de restreindre en parallèle l'apport en potassium et en phosphate. Par ailleurs, l'utilisation des vasodilatateurs permet de contrôler la tension artérielle. Les inhibiteurs calciques sont utilisés en 1<sup>ère</sup> intention, essentiellement en cas d'ischémie parenchymateuse rénale. Les diurétiques de l'anse sont utilisés en cas de surcharge hydrosodée importante. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion ne sont pas recommandés chez les enfants en phase aigüe mais peuvent être utilisés chez l'adulte après évaluation de la volémie. En outre, une transfusion en culots globulaires est nécessaire dans 80% des cas (77,85).

Le monitoring de la troponine est recommandé pour dépister une éventuelle myocardite ischémique. Le SHU peut se compliquer par une colite sévère dans 5 à 15% des cas pouvant entraîner une perforation digestive, une nécrose et une péritonite. De plus, le SHU peut également se compliquer par une pancréatite. Par conséquent, une mise au repos du système digestif avec une nutrition parentérale peut s'avérer nécessaire. Une insulinothérapie transitoire est possible. La prise en charge de l'anémie hémolytique avec un taux d'hémoglobine inférieur à 7g/dl se fait par transfusion des culots globulaires phénotypés et déleucocytés. En présence d'hyperkaliémie sévère ou de surcharge hydrosodée, la transfusion doit être effectuée simultanément à l'épuration extra-rénale (77).

En ce qui concerne la thrombopénie, la fonction et la synthèse plaquettaire sont préservées dans le syndrome hémolytique et urémique. Ainsi, la transfusion plaquettaire n'est pas nécessaire dans ce contexte, quel que soit le degré de thrombopénie, en l'absence de signes hémorragiques. De surcroît, la transfusion plaquettaire favorise la formation de microthrombi, augmente la surcharge hydrosodée et augmente le risque d'allo-immunisation HLA chez les patients à risque de transplantation rénale (89).

#### **6.1.2.5.2. Traitement par éculizumab**

Il s'agit d'un anticorps monoclonal recombinant humanisé qui inhibe la fraction C5 du complément. Il a une demi-vie de 11 à 12 jours. Il bloque la conversion du C5 en C5a et C5b, ce qui entraîne le blocage de la synthèse du complexe d'attaque membranaire (C5b-9) et de la formation de l'anaphylatoxine C5a (79,80).

Il s'agit du traitement de première intention du SHU atypique avec une autorisation de mise sur le marché (AMM) obtenue en 2011. Ce traitement est administré toutes les semaines au début du traitement, puis tous les 15 jours. Il est bien toléré et peut être utilisé au cours de la grossesse. Cependant, il diminue la protection contre les agents infectieux, essentiellement les germes encapsulés, car il agit sur le complément. D'où la nécessité de la vaccination contre les germes encapsulés. De plus, l'intervalle entre les injections doit être réduit au cours de la grossesse du fait de l'augmentation du volume de distribution et l'augmentation de la synthèse du C5 (77,80).



#### **6.1.2.5.3. Traitement par ravulizumab**

Il s'agit d'un inhibiteur de la fraction C5 du complément. Son principal avantage par rapport à l'éculizumab réside dans sa demi-vie prolongée, ce qui permet d'espacer les injections toutes 8 semaines (80).

#### **6.1.2.5.4. Plasmathérapie**

Les échanges plasmatiques sont souvent utilisés en première intention chez l'adulte au cours du SHU atypique car la fréquence du PTT chez l'adulte est plus élevée par rapport au SHU atypique. Le traitement avec du plasma viro-inactivé est quotidien avec une posologie de 60 ml/Kg. Les échanges plasmatiques et la plasmathérapie ne sont pas recommandés en première intention chez l'enfant car il existe un risque infectieux liés aux voies d'abord (77).

#### **6.1.2.6. Pronostic**

Le pronostic reste généralement favorable dans la majorité des cas. Cependant, la mortalité s'élève à environ 5%, principalement due à des complications neurologiques et néphrologiques (78).

Les facteurs pronostiques comprennent plusieurs indicateurs importants à rechercher pour évaluer le risque de complications et d'orienter le traitement. Parmi ceux-ci, on retrouve une atteinte sévère du système nerveux central, une atteinte colique sévère ou pancréatique, un taux élevé de polynucléaires neutrophiles ( $> 20\ 000/\text{mm}^3$ ), la présence d'une hémococoncentration au moment du diagnostic avec un taux d'hématocrite normal ou peu diminué, ainsi qu'une durée d'anurie supérieure à 8 jours, qui constitue un facteur de mauvais pronostic rénal à long terme (77,89).

### **6.2. Microangiopathie thrombotique secondaire**

Les MAT secondaires représentent la grande majorité des MAT (80 à 90 %). Les formes secondaires de MAT comprennent un large éventail de causes, allant des infections, au cancer, à la grossesse, à l'hypertension maligne, aux médicaments, à la transplantation solide ou hématopoïétique, aux maladies auto-immunes ou métaboliques. Malgré la physiopathologie variée, la présence de lésions endothéliales, conduisant à des l'ischémies, est souvent la cause principale des MAT. Ces lésions endothéliales sont causées par des anticorps, des complexes immuns circulants, des endotoxines ou des médicaments, conduisant à l'agrégation plaquettaire et à l'activation du complément (90).

#### **6.2.1. MAT paranéoplasique**

La MAT est une complication fréquemment observée en oncologie. Bien qu'elle soit rare, cette complication peut être potentiellement mortelle, en particulier chez les patients dont le pronostic est déjà moins favorable que celui de la population générale (91).

Il existe deux principales causes de MAT chez les patients atteints de cancer. Tout d'abord, le cancer lui-même peut entraîner une MAT par le biais des métastases systémiques ou médullaires. Deuxièmement, de nombreux médicaments couramment utilisés en oncologie peuvent induire une MAT en causant des lésions directes aux cellules endothéliales ou en déclenchant une réaction auto-immune caractérisée par le développement d'auto-anticorps (91,92).

Le diagnostic de MAT paranéoplasique (MAT-P) est établi par élimination, car de nombreuses affections liées au cancer peuvent déclencher cette complication, notamment la septicémie et la chimiothérapie (91).

En raison de sa rareté et de sa complexité clinico-biologique, la fréquence de la MAT induite par la tumeur n'est pas bien connue et il est probable qu'elle soit sous-diagnostiquée, ce qui peut être expliqué par un tableau clinique complexe et un taux élevé de mortalité précoce. Une étude rétrospective française a examiné les cas de MAT primaires et secondaires, et a rapporté une incidence de 19% de MAT induite par la tumeur (91,93).

En 1979, Antman et al. ont décrit pour la première fois les caractéristiques clinico-biologiques de la MAT paranéoplasique. Le diagnostic peut être difficile car les patients atteints de cancer présentent souvent plusieurs causes confondantes de thrombopénie et d'anémie. Les symptômes les plus fréquents sont la dyspnée, les douleurs osseuses et l'altération de l'état général. Les symptômes neurologiques et l'insuffisance rénale sont moins fréquents (93,94).

En outre, certains patients peuvent développer un syndrome de détresse respiratoire aiguë, qui est associé à un taux de mortalité élevé. Des convulsions ont été observées chez des patients ayant une atteinte du système nerveux central. Une insuffisance pancréatique peut également se produire, entraînant un diabète sucré généralement transitoire. Le muscle, le foie et le cœur (sous forme de cardiomyopathie et de myocardite) peuvent également être touchés. Dans certains cas, une insuffisance rénale terminale peut se développer (95).

La plupart des cas de MAT liées au cancer sont observés chez des patients atteints d'adénocarcinome mucineux ou chez des patients présentant une dissémination tumorale généralisée. Dans ces cas, jusqu'à 90 % des patients présentent une érythroblastose circulante et une myélémie importante. De plus, un envahissement tumoral médullaire est prouvé dans 60 à 70 % des cas. Par conséquent, lorsqu'une anémie et une thrombopénie inexplicables sont associées, il est essentiel d'exclure la présence de métastases (93).

Plusieurs séries de cas ont rapporté une prévalence élevée de métastases dans la moelle osseuse chez les patients atteints de MAT induite par la tumeur. Dans ces situations, l'augmentation de l'angiogenèse à l'intérieur de la moelle osseuse, associée à une croissance tumorale agressive et à une myélofibrose secondaire, entraîne des lésions endothéliales, déclenchant ainsi la cascade conduisant à la MAT (91).

La MAT a également été décrite dans des cas d'envahissement isolée de la moelle osseuse par la tumeur. Dans ce contexte, l'incidence de la MAT est d'environ 0,25 à 0,45 cas pour un million de personnes (95).

Selon une étude prospective menée par Lohrmann et al., il a été constaté que 5,7 % des patients atteints de carcinome métastatique présentaient une microangiopathie thrombotique. Dans une revue effectuée par Lechner et al., il a été démontré que le carcinome gastrique était le cancer le plus fréquemment associé à une MAT (26,2 %), suivi du cancer du sein (21,4 %), de la prostate (13,7 %) et du poumon (9,5 %). La MAT a également été signalée dans l'adénocarcinome pancréatique, ainsi que dans d'autres types de tumeurs malignes (91,95).

Les tumeurs hématologiques les plus couramment associées à une MAT-P sont le lymphome de Hodgkin, les lymphomes non hodgkiniens agressifs, la leucémie aiguë et le myélome multiple. Dans quelques cas de MAT liée à un lymphome ou à un myélome, des anticorps anti-ADAMTS13 ont été observés, mais ces anticorps ont disparu une fois la rémission de la malignité obtenue (91).

Les patients atteints de MAT-P présentent un risque accru de complications thrombotiques, notamment la microangiopathie thrombotique pulmonaire, une affection rare mais plus

fréquente chez ces patients. La MAT pulmonaire se caractérise par la présence d'embolies tumorales dans les artéριοles pulmonaires (91).

La microangiopathie thrombotique tumorale pulmonaire est une complication rare associée à une tumeur maligne, qui entraîne une hypertension pulmonaire sévère, une insuffisance cardiaque et peut conduire au décès du patient. Le diagnostic est généralement établi lors de l'autopsie et il est rarement posé en ante-mortem. La MAT pulmonaire se distingue de l'embolie tumorale pulmonaire par une dyspnée aiguë progressive, une hypertension pulmonaire significative, une présence d'une anémie hémolytique thrombotique et d'une coagulation intravasculaire disséminée. En raison de sa progression extrêmement rapide, la plupart des patients signalés dans la littérature sont décédés dans la semaine suivant l'apparition de la dyspnée (96).

En 2020, une étude de cohorte rétrospective multicentrique a été réalisée, incluant 54 patients atteints de MAT-P liée au cancer du sein sur une période de plus de vingt ans dans sept centres en France. Cette étude confirme que la MAT-P survient généralement lors d'un cancer du sein au stade métastatique, avec une prévalence élevée de métastases osseuses (82 %) et une atteinte médullaire prouvée dans 18,5 % des cas, ou suggérée par la présence d'une érythroblastose et d'une myélémie circulante (respectivement 85 % et 90 % des cas). Des anomalies de la coagulation ont été observées chez six patientes (11 % des cas), avec des taux de prothrombine inférieurs à 50 %, un taux de plaquettes inférieur à 50 000/mm<sup>3</sup> et un taux de fibrinogène inférieur à 1 g/L. Ces anomalies pourraient suggérer l'existence d'une coagulation intravasculaire disséminée (97).

#### **6.2.1.1. Mécanisme d'action**

La physiopathologie des MAT paranéoplasiques est complexe et implique plusieurs mécanismes. L'angiogenèse anormale dans la moelle osseuse, associée à une croissance tumorale agressive et à une myélofibrose secondaire, peut endommager la paroi des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. Cela pourrait entraîner la libération de multimères de facteur von Willebrand de haut poids moléculaire. De plus, l'hémostase peut être perturbée. D'un côté, on observe une diminution de l'activité de l'ADAMTS-13 dans de rares cas, potentiellement due à la formation d'auto-anticorps dirigés contre l'ADAMTS-13. D'un autre côté, il y a une activation de la cascade de la coagulation. Cependant, l'activité de l'ADAMTS-13 n'est pas un critère diagnostique de la MAT paranéoplasique, car elle est généralement normale ou légèrement diminuée dans la majorité des cas. Les cellules tumorales expriment le facteur tissulaire à leur surface, ce qui peut déclencher la formation de thrombine. La thrombine clive ensuite le fibrinogène en fibrine, entraînant l'activation des plaquettes et la formation de microthrombi riches en fibrine (93–95).

La fragmentation des globules rouges est liée au contact direct avec des thrombi de fibrine intraluminaux ou des embolies tumorales présents dans les vaisseaux sanguins (93,95).

Par ailleurs, la MAT induite par la tumeur est également médiée par un processus inflammatoire avec des effets procoagulants. En effet, les cellules tumorales peuvent activer les cellules endothéliales vasculaires par contact direct grâce à la présence de molécules d'adhésion à leur surface. Cela entraîne la libération de cytokines, telles que l'interleukine 6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale, qui contribuent à un état procoagulant (93).

En outre, l'expression élevée de mucine par l'adénocarcinome peut également jouer un rôle direct dans la pathogenèse de la MAT induite par le cancer, car elle peut déclencher l'agrégation plaquettaire indépendamment de la sécrétion de facteur tissulaire (97).

### 6.2.1.2. Traitement et prise en charge

Le traitement du cancer sous-jacent est la principale approche thérapeutique dans la prise en charge des MAT paranéoplasiques. Plusieurs rapports de cas ont décrit une réponse hématologique rapide, parfois observée après un cycle de chimiothérapie. Les patients qui commencent une chimiothérapie précoce ont un meilleur pronostic, avec un taux de survie nettement plus élevé et une meilleure qualité de vie (91).

La mise en place d'un traitement symptomatique est recommandée, indépendamment de l'étiologie de la MAT. Cela comprend le contrôle de la pression artérielle et la transfusion en cas d'anémie sévère. Une supplémentation en folates peut être envisagée en cas de régénération médullaire importante. Dans certains cas, les patients peuvent recevoir un traitement par échange plasmatique, bien que son efficacité semble limitée (93).

Le rituximab et l'eculizumab ont été testés avec succès dans quelques cas de MAT liées à la chimiothérapie, en cas d'inefficacité des échanges plasmatiques. Cependant, ces approches thérapeutiques semblent inefficaces pour les MAT paranéoplasiques. Il est donc crucial d'initier rapidement un traitement spécifique contre le cancer lorsque l'état du patient le permet. Des données suggèrent l'efficacité d'une chimiothérapie administrée en urgence dans ces situations (93).

### 6.2.1.3. Pronostic :

La MAT associée aux tumeurs solides est associée à un pronostic très défavorable. La médiane de survie rapportée dans la littérature est inférieure à six mois, et est souvent encore plus courte lorsque aucun traitement spécifique n'a pu être initié (91,93).

### 6.2.1.4. Diagnostic différentiel :

Les différences cliniques et biologiques entre une MAT-P et une MAT induite par un médicament sont résumées dans le tableau suivant :

	MAT-P	MAT associée à un agent thérapeutique
Administration d'un agent néoplasique imputable	possible	systematique
Métastases ostéomédullaires	fréquentes	possibles
Progression tumorale	fréquente	possible
Atteinte rénale	modérée ou absente	fréquente (SHU > PTT)
Atteinte neurologique	modérée ou absente	fréquente (PTT $\approx$ SHU)
Altération de l'état général	fréquente	possible
Dyspnée	fréquente	possible
Hypertension artérielle	possible	fréquente
Atteinte cutanéomuqueuse	possible	fréquente (PTT > SHU)
Atteinte cardiaque	rare	possible (PTT > SHU)
Douleurs osseuses	fréquentes	possible
Myélémie/érythroblastose	fréquente	possible
Anomalies de la coagulation	possibles	rare
Déficit sévère en ADAMTS13 (< 5 %)	rare sauf PTT d'origine paranéoplasique	pathogénomique si PTT, absent si SHU

Figure 30 : Différences cliniques et biologiques entre une MAT paranéoplasique et une MAT induite par un médicament (selon (93))

Les différences entre la MAT-P et le PTT associé à un déficit sévère en ADAMTS13, telles que rapportées dans le registre Oklahoma PTT-SHU sont les suivantes (95,98) :

- Les patients atteints de MAT associée à un cancer sont généralement plus âgés (âge moyen : 56 ans) par rapport à ceux atteints de PTT associé à un déficit sévère en ADAMTS-13 (âge moyen : 40 ans).
- La recherche de preuves d'une malignité active est nécessaire chez les patients ayant des antécédents de cancer. Même en cas de rémission apparente du cancer, des preuves de récurrence, telles qu'un myélogramme ou une biopsie de la moelle osseuse, sont nécessaires.
- Les symptômes courants chez les patients atteints de MAT associée au cancer sont une asthénie progressive, une perte de poids et des douleurs osseuses. Ces symptômes ont une durée d'apparition plus longue (durée médiane : 21 jours) par rapport aux patients atteints de PTT (durée médiane : 8 jours).
- L'atteinte pulmonaire, caractérisée par une dyspnée, une toux et une radiographie pulmonaire anormale, est une caractéristique de la MAT associée au cancer.
- Une réaction leuco-érythroblastique et une élévation significative de la LDH sont observées chez les patients atteints de MAT associée au cancer.
- L'activité de l'ADAMTS-13 est généralement autour de 50 % chez les patients atteints de MAT paranéoplasique.
- La MAT induite par des tumeurs malignes systémiques ne répond pas aux échanges plasmatiques. En revanche, les patients atteints de PTT répondent rapidement au traitement par échanges plasmatiques, avec une régression rapide des symptômes neurologiques, une diminution des taux de LDH en 1 à 2 jours et une augmentation du nombre de plaquettes en 3 à 4 jours.

### **6.2.2. MAT liée aux médicaments**

Environ 10% à 13% de tous les cas de microangiopathie thrombotique sont attribuables à la forme médicamenteuse. Elle représente environ 20% à 30% des cas de MAT secondaires. Cette forme de MAT secondaire est ainsi la troisième cause la plus fréquente, après les formes liées à la grossesse et aux infections (99).

De nombreux médicaments sont décrits dans la littérature comme étant associés à la survenue de la MAT. Ces médicaments présentent une hétérogénéité en termes de mécanisme d'action.

Parmi les médicaments les plus fréquemment décrits comme responsables de la MAT sont : les inhibiteurs de la calcineurine (tacrolimus, cyclosporine), la thiényridine (clopidogrel), les antinéoplasiques (gemcitabine, mitomycine), les inhibiteurs du VEGF (bevacizumab), les inhibiteurs de la tyrosine kinase (pazopanib et le sunitinib), l'interféron (alpha, bêta, gamma) et la quinine. Ces groupes de drogues représentent plus de 75 % de tous les cas de microangiopathie thrombotique médicamenteuse (99).

#### **6.2.2.1. Classification des microangiopathies thrombotiques médicamenteuse :**

Les MAT médicamenteuses peuvent être classées en deux sous-groupes en fonction de leur mécanisme de pathogénicité : la MAT à médiation auto-immune et la MAT toxique dose dépendante (90,99–102).

La MAT médicamenteuse à médiation auto-immune est liée à une hypersensibilité à un médicament donné. Elle se caractérise par la production d'anticorps après l'exposition au médicament. Ces anticorps interagissent avec l'endothélium, les plaquettes et les facteurs circulants, favorisant la formation de thrombus plaquettaire et entraînant des dommages endothéliaux. Les anticorps les plus fréquemment retrouvés au cours d'une MAT médicamenteuse à médiation auto-immune sont principalement dirigés contre les plaquettes. Plusieurs études ont mis en évidence leur présence à la suite de l'exposition à la quinine, la vancomycine et l'oxaliplatine. Par ailleurs, des anticorps anti-ADAMTS-13 sont retrouvés après l'utilisation de l'interféron et de la ticlopidine (99).

Au cours d'une MAT médicamenteuse auto-immune, les symptômes apparaissent dans les 21 jours suivant l'instauration du médicament incriminé ou si le médicament suspecté a été pris de manière intermittente, les symptômes se manifestent dans les 24 heures suivant l'exposition au médicament (99,101).

Les médicaments qui peuvent induire une microangiopathie thrombotique médicamenteuse en raison de leur toxicité dose-dépendante comprennent principalement certains médicaments antinéoplasiques tels que la gemcitabine et la mitomycine, ainsi que des immunosuppresseurs tels que la cyclosporine et le tacrolimus. De plus, l'utilisation inappropriée de drogues illicites ou de stupéfiants tels que la cocaïne et l'oxymorphone peut également être associée à la survenue de MAT (102).

Dans la majorité des cas de microangiopathie thrombotique médicamenteuse, la physiopathologie est associée à effet cumulatif dose dépendant. Le mécanisme est lié au blocage progressif des voies impliquées dans le maintien de l'homéostasie endothéliale physiologique (99).

L'effet toxique sur les cellules endothéliales peut résulter de plusieurs mécanismes impliquant des lésions endothéliales directes avec un effet pro-thrombotique, comme celles causées par la mitomycine, la gemcitabine, l'interféron et les quinolones, une interférence avec les récepteurs des cellules endothéliales rénales et leur blocage observée chez les médicaments monoclonaux anti-VEGF (bevacizumab) ou les inhibiteurs de tyrosine kinase (sunitinib, pazopanib) et une interférence avec les transducteurs de signal retrouvés chez inhibiteurs de mTOR (Everolimus) qui interfèrent avec les cellules endothéliales. On retrouve également une dérégulation des facteurs de transcription, une production de médiateurs pro-inflammatoires et pro-thrombotiques, une augmentation du stress oxydatif, une diminution de la concentration du monoxyde d'azote et de la production de VEGF avec des lésions endothéliales diffuses multi-organes. Ce schéma est documenté pour la MAT liée aux inhibiteurs de la calcineurine et les inhibiteurs du protéasome, tels que le bortézomib, l'ixazomib et le carfilzomib (99).

Établir une relation de cause à effet entre un médicament spécifique et le développement d'une microangiopathie thrombotique médicamenteuse n'est pas toujours facile, car il peut exister des facteurs de confusion tels que des infections en cours, des comorbidités et la prise concomitante d'autres médicaments associés à une MAT. Ces facteurs peuvent coexister chez un même patient, ce qui complique l'attribution d'un médicament spécifique comme cause de la MAT.

#### **6.2.2.2. Signes cliniques :**

La microangiopathie thrombotique médicamenteuse ne se distingue pas cliniquement des autres formes de MAT. On retrouve la triade classique comprenant une anémie hémolytique, caractérisée par une augmentation de la LDH sérique, une consommation de l'haptoglobine

et une schizocytose circulante, une thrombopénie et une atteinte rénale sous forme de lésions ou d'insuffisance rénale. Tous ces éléments ne sont pas nécessaires simultanément pour confirmer le diagnostic de la MAT. Cependant, la présentation clinique de la MAT médicamenteuse auto-immune se caractérise par un début aigu. Prenant l'exemple de la MAT liée à l'interféron qui se caractérise généralement par une présentation fulminante, avec des manifestations cliniques classique de la MAT accompagnées de céphalées sévères et d'une hypertension maligne chez la plupart des patients. La MAT causée par une toxicité médicamenteuse dose-dépendante se manifeste par un début aigu ou subaigu avec des atteintes systémiques lors d'une exposition initiale ou prolongée au médicament (99).

La MAT d'origine médicamenteuse se caractérise par une exposition à un médicament au cours des 21 derniers jours ou par une exposition chronique, un dysfonctionnement rénal avec une créatinine élevée et une protéinurie, une hypertension nouvelle ou aggravée, une anémie hémolytique, une thrombopénie, un profil de coagulation normal et une activité ADAMTS-13 faible. Néanmoins, cette activité reste supérieure à 10% (90,100).

Les critères de confirmation d'une MAT médicamenteuse auto-immune sont les suivants (99,102) :

Tableau 4 : Critères de confirmation d'une MAT médicamenteuse auto-immune

Critère		Niveau de preuve
1	Exclusion des autres formes de MAT en se basant sur des critères cliniques et biologiques. Le médicament incriminé est le seul traitement nouvellement instauré avec une apparition des symptômes soit : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Dans les 21 jours si le médicament est pris de façon quotidienne</li> <li>▪ Dans les 24 heures si le médicament est pris par intermittence</li> </ul>	<b>1 + 2 : élevé</b> <b>1 : probable</b>
2	Exposition antérieure ou ultérieure au médicament associée à des symptômes systémiques ou à une MAT ou présence des anticorps dépendants du médicament documentée	2 : possible
3	Prise quotidienne du médicament pendant plus d'un an ou exposition ultérieure au médicament sans effets indésirables systémiques ou de suspicion de MAT ou récurrence de MAT sans exposition ultérieure au médicament	3 : peu probable

Les critères de confirmation d'une MAT médicamenteuse toxique dose dépendante sont les suivants (99,102) :

Tableau 5 : Critères de confirmation d'une MAT médicamenteuse toxique dose dépendante

Critère		Niveau de preuve
1	Exclusion des autres formes de MAT en se basant sur des critères cliniques et biologiques. Le médicament incriminé est le seul traitement nouvellement instauré	1+2 : élevé
2	Résolution ou l'amélioration de la MAT à l'arrêt de la prise médicamenteuse ou à la réduction de dose (l'atteinte rénale peut persister)	1 : probable
3	Persistance ou aggravation de la MAT à l'arrêt du médicament ou récurrence de la MAT sans exposition au médicament	2 : possible 3 : peu probable

### 6.2.2.3. Médicaments signalés en association avec une MAT

Les médicaments ou les substances illicites signalés comme ayant une association probable ou certaine avec la MAT sont les suivants (99) :

#### 6.2.2.3.1. Chimiothérapie/ médicaments antinéoplasiques

L'association entre la chimiothérapie et la MAT a été reconnue dès 1971 chez des patients atteints d'un cancer avancé traités avec la mitomycine C (90).

Cliniquement, la MAT induite par la chimiothérapie présente des similitudes avec le syndrome hémolytique et urémique. Les patients peuvent présenter une élévation de la créatinine, une hypertension artérielle, une protéinurie et un œdème. En effet, il a été rapporté que 75 à 90 % des patients atteints de MAT associée à la chimiothérapie présentent une hypertension (90).

#### - Mitomycine-C

La mitomycine-C est une substance antinéoplasique et antibiotique isolée de *Streptomyces caespitosus*, qui agit en inhibant la synthèse de l'ADN. Elle a un effet alkylant en formant des adduits avec l'ADN, particulièrement en phases G1 et S. En plus de sa toxicité endothéliale directe, la mitomycine favorise également l'agrégation plaquettaire en inhibant la prostacycline. La microangiopathie thrombotique a été rapportée chez 4 à 15 % des patients traités par mitomycine-C, et sa mortalité peut atteindre jusqu'à 75 %. Bien que les cas de MAT soient souvent signalés dans les 4 semaines suivant la dernière dose de mitomycine-C, des présentations tardives, survenant de 6 à 12 mois après le début du traitement, ont été également décrites. Il semble que l'administration d'une dose cumulée totale supérieure à 40-60 mg soit un facteur de risque majeur. Parmi les symptômes courants de la MAT associée à la mitomycine-C, on retrouve la dyspnée, l'œdème pulmonaire et l'hypertension artérielle. Certains patients peuvent également présenter un œdème pulmonaire associé à un syndrome de détresse respiratoire aiguë, qui suggère probablement une altération endothéliale au niveau pulmonaire. Une insuffisance rénale sévère nécessitant une dialyse peut également survenir (90,91,95,103).



## - **Gemcitabine**

La gemcitabine est un analogue de la pyrimidine et un antimétabolite spécifique de la phase S du cycle cellulaire. Il bloque la synthèse de l'ADN en empêchant la progression cellulaire au-delà de la phase G1/S et favorise ainsi l'apoptose des cellules à division rapide. Son élimination se fait principalement par les reins. La première observation d'une MAT associée à la gemcitabine remonte à 1994, lors d'un essai de phase II au cours du traitement d'un adénocarcinome pancréatique. L'incidence de la MAT liée à la gemcitabine est estimée entre 0,015 % et 1,4 % avec une mortalité qui peut atteindre 60%. Une dose cumulée supérieure à 20 000 mg/m<sup>2</sup> accroît le risque de développer une MAT, bien que des cas de MAT après une seule dose ou à faible dose aient été rapportés, notamment lorsqu'elle est associée à d'autres médicaments prédisposants. Un traitement antérieur avec la mitomycine-C a été identifié comme un facteur de risque. La MAT induite par la gemcitabine peut se manifester immédiatement après l'administration du médicament, mais le délai médian d'apparition est généralement d'environ 8 mois (90,91,95,104).

La gemcitabine est associée à la fois à une toxicité dose-dépendante et à une médiation auto-immune dans la survenue de la MAT. Il y a souvent un délai prolongé entre le début de la MAT et l'exposition initiale au médicament, avec des cas rapportés allant de quelques jours à 34 mois après la première exposition (90).

L'apparition ou l'aggravation de l'hypertension artérielle est une caractéristique significative de la MAT induite par la gemcitabine qui pourrait se produire avant le diagnostic de la MAT (91,95).

## - **Bléomycine**

La bléomycine est un médicament antitumoral qui bloque la synthèse de l'ADN. Son action repose sur une intercalation avec l'ADN simple et double brin qui entraîne une inhibition de la division cellulaire. Bien que les cas de MAT liée à la bléomycine sont rares, ils sont caractérisés par une sévérité accrue, nécessitant parfois une dialyse, et une mortalité élevée (90,105).

## - **Agents à base de platine : Cisplatine, Oxaliplatine, Carboplatine**

Ce sont des agents antinéoplasiques qui peuvent induire la survenue de la MAT. Ces médicaments interagissent avec l'ADN pour former des ponts intra et inter-brins, ce qui entrave la répllication de l'ADN, provoquant l'arrêt du cycle cellulaire et l'épuisement de l'ATP. Dans le cas de l'oxaliplatine, des cas de MAT ont été généralement signalés dans les heures suivant la perfusion (90,106).

La MAT induite par la cisplatine est un événement rare, mais des cas cliniques ont été rapportés, tant en monothérapie qu'en association avec d'autres médicaments. Certains patients présentent des signes cliniques quelques jours seulement après avoir reçu la dernière dose de cisplatine, tandis que d'autres développent des symptômes de manière plus progressive, avec une période de latence pouvant aller jusqu'à 7 mois. La forme aiguë de la MAT induite par le cisplatine est associée à un taux de mortalité élevé. Cependant, des cas de traitement réussi par échange plasmatique ont été décrits. Les cellules endothéliales glomérulaire montrent des signes de lésions après exposition à la cisplatine. L'opsonisation des cellules endommagées ou apoptotiques par le C3b joue un rôle crucial dans leur élimination efficace par phagocytose. Généralement, le C3b déposé est rapidement inactivé par plusieurs protéines régulatrices, telles que le CD46 (MCP) et le facteur H, qui agissent

comme cofacteurs du facteur I. Une déficience ou une activité réduite de ces protéines régulatrices du complément pourrait potentiellement amplifier les lésions endothéliales induites par la cisplatine. Le traitement par l'eculizumab est efficace car les lésions sont associées à l'activation du complément (107–109).

- **Daunorubicine**

La daunorubicine est un antinéoplasique de la famille des anthracyclines. Elle s'intercale entre deux bases adjacentes de l'ADN et provoque des changements de sa structure et de sa fonction (110).

- **Docétaxel**

Il s'agit d'une molécule antinéoplasique qui agit en favorisant l'assemblage de la tubuline en microtubules stables et en inhibant leur dépolymérisation conduisant à une diminution marquée de la tubuline libre et un blocage de la mitose (111).

- **Lomustine**

Il s'agit d'un antinéoplasique cytostatique alkylant. Elle possède des propriétés antinéoplasiques et immunomodulatrices (112).

- **Doxorubicine**

Il s'agit d'un antibiotique cytotoxique anthracyclinique obtenu à partir de *Streptomyces peuceitius*. Il l'inhibe la topo-isomérase II et forme des radicaux libres (113).

- **Pentostatine**

Il s'agit d'un puissant inhibiteur de l'enzyme adénosine-désaminase (ADA). L'activité de l'ADA est élevée dans les lymphocytes T tumoraux (114).

- **Tamoxifène**

Le tamoxifène inhibe la liaison de l'estradiol avec ses récepteurs. Par ailleurs, il possède un effet estrogénique sur plusieurs tissus tels l'endomètre, l'os et les lipides sanguins (115).

- **Trastuzumab**

Il s'agit d'un anticorps monoclonal humanisé recombinant de classe IgG1 dirigé contre le récepteur du facteur de croissance épidermique humain (HER2). Il est indiqué dans le cancer du sein métastatique HER2 positif et le cancer du sein précoce HER2 positif (116).

- **Vincristine**

Il s'agit d'un alcaloïde de la famille des poisons du fuseau. Il se lie à la tubuline et bloque les cellules pendant la métaphase en empêchant la polymérisation de la tubuline (117).

- **Bortézomib**

C'est un inhibiteur du protéasome. L'inhibition du protéasome entraîne un arrêt du cycle cellulaire et une apoptose. Son effet cytotoxique est utilisé dans différents types de cancers (118).

- **Carfilzomib**

C'est un inhibiteur du protéasome indiqué dans le traitement du myélome multiple en 2<sup>ème</sup> intention (119).

- **Ixazomib**

Il s'agit d'un inhibiteur du protéasome, indiqué dans le traitement du myélome multiple en 2<sup>ème</sup> intention (120).

- **Alemtuzumab**

C'est un anticorps monoclonal IgG1 kappa humanisé. Il provoque la lyse des lymphocytes tumoraux en se liant à la glycoprotéine CD52 (121).

- **Imatinib**

C'est un inhibiteur de la protéine tyrosine kinase. Il induit une apoptose dans les lignées cellulaires BCR-ABL positives, ainsi que dans les cellules leucémiques provenant de patients atteints de leucémies myéloïdes chroniques (LMC) ou de leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) chromosome Philadelphie positives (122).

- **Lenvatinib**

C'est un inhibiteur des récepteurs tyrosine kinase qui bloque les récepteurs du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) (123).

- **Pazopanib**

C'est un puissant inhibiteur de la tyrosine-kinase des récepteurs du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGFR) (124).

- **Régorafénib**

Le régorafénib inhibe la protéine KIT mutée, un facteur oncogène majeur dans les tumeurs stromales gastro-intestinales, et bloque ainsi la prolifération des cellules tumorales (125) ;

- **Sunitinib**

Il inhibe plusieurs récepteurs à tyrosine kinase impliqués dans la croissance tumorale, la néo-angiogenèse pathologique et la progression métastatique du cancer (126).

- **Bévacizumab**

C'est un anticorps anti-VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor). La neutralisation de l'activité biologique du VEGF fait régresser les vaisseaux tumoraux, normalise les vaisseaux tumoraux restants, et inhibe la formation de nouveaux vaisseaux tumoraux (127).

- **Ramucirumab**

C'est un anticorps humain. Il bloque spécifiquement le récepteur du VEGF (128).

#### **6.2.2.3.2. Thérapie ciblée**

Le National Cancer Institute (NCI) définit les thérapies ciblées comme « des médicaments ou des substances qui bloquent la croissance et la propagation des cancers en interférant avec des molécules spécifiques impliquées dans la croissance et la progression tumorales » (129).

- **Inhibiteurs du VEGF**

Le facteur de croissance endothélial vasculaire joue un rôle crucial dans la croissance des vaisseaux sanguins. Son inhibition vise à limiter la prolifération endothéliale et à réduire l'apport sanguin des tumeurs. Cette inhibition peut être obtenue de deux manières : par la liaison médiée par des anticorps du ligand (comme le bevacizumab et l'afibercept) ou par l'inhibition des récepteurs (comme les inhibiteurs de la tyrosine kinase (ITK)). Cependant, les

inhibiteurs du VEGF peuvent entraîner des effets indésirables rénaux tels que l'apparition ou l'aggravation de l'hypertension artérielle, la protéinurie et la microangiopathie thrombotique associée à une insuffisance rénale aiguë sévère (91).

La MAT induite par les inhibiteurs du VEGF est souvent qualifiée de « syndrome de type prééclampsie » en raison de leurs caractéristiques cliniques et histopathologiques communes. La prééclampsie est une condition caractérisée par l'apparition d'une hypertension artérielle nouvelle ou aggravée, survenant au cours de la grossesse après la 20<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée, associée fréquemment à une protéinurie ou à une atteinte rénale oligurique (91). (Détaillée dans le paragraphe 6.2.5.2.2. Prééclampsie)

Dans le cas de la MAT induite par les inhibiteurs du VEGF, le contrôle de la pression artérielle est essentiel, et les inhibiteurs du système rénine-angiotensine sont préférés, car l'inhibition du VEGF entraîne la sécrétion de rénine due à une ischémie tissulaire (91).

#### **6.2.2.3.3. Médicaments immunosuppresseur :**

##### **- Adalimumab**

Il se lie spécifiquement au TNF (Tumor Necrosis Factor) et bloque son interaction avec les récepteurs du TNF situés à la surface cellulaire (130).

##### **- Ciclosporine**

C'est un polypeptide cyclique immunomodulateur possédant des propriétés immunosuppressives. Il améliore significativement la survie du greffon pour toutes les transplantations d'organes solides chez l'humain. La ciclosporine a également un effet anti-inflammatoire (131).

##### **- Tacrolimus**

C'est un immunosuppresseur très puissant. Il inhibe la formation des lymphocytes cytotoxiques responsables du rejet du greffon (132).

##### **- Sirolimus**

C'est un immunosuppresseur sélectif. Il inhibe le Target Of Rapamycin (mTOR), kinase indispensable à la progression du cycle cellulaire. L'inhibition de la mTOR entraîne le blocage de plusieurs voies spécifiques de transduction des signaux qui engendre une inhibition de l'activation lymphocytaire, à l'origine d'une immunosuppression. Le sirolimus inhibe le VEGF, ce qui peut entraîner des lésions aux niveaux des glomérules rénaux. Les dommages causés aux cellules endothéliales et le dépôt de fibrine peuvent provoquer une obstruction des petits vaisseaux sanguins, entraînant une hémolyse. L'ischémie des glomérules peut conduire à une augmentation de la pression artérielle, et à long terme, cela peut entraîner une fibrose rénale et une insuffisance rénale (95,133).

##### **- Évérolimus**

C'est un agent antinéoplasique inhibiteur de protéine kinase et un immunosuppresseur sélectif (134).

#### **6.2.2.3.4. Les antiagrégants plaquettaires :**

Le clopidogrel est un antiagrégant plaquettaire dérivé de la thiényridine. Il partage le même mécanisme d'action et la même structure avec la ticlopidine à l'exception d'un groupe carboxyméthyle. Ils ont une demi-vie courte. Ils bloquent le site de liaison à l'adénosine

diphosphate au niveau des plaquettes, ce qui inhibe l'expression du récepteur à la glycoprotéine IIb/IIIa qui lie le fibrinogène et les multimères de vWF de haut poids moléculaire (135).

Les PTT auto-immuns associés à la prise du clopidogrel ont été observés essentiellement entre le 3<sup>ème</sup> et le 14<sup>ème</sup> jour après la prise de l'antiagrégant plaquettaire. Des études suggèrent que le PTT associé au Clopidogrel est 15 fois plus susceptible de se produire au cours des 2 premières semaines d'utilisation du médicament (66,135).

Des cas cliniques de patients atteints de PTT induit par le clopidogrel ont rapportés une association de signes cliniques tels que des atteintes hémorragiques, des troubles neurologiques, une insuffisance rénale associée à une élévation de la créatinine, une anémie hémolytique avec une schizocytose circulante et des signes d'hémolyse, une thrombopénie et une fièvre avec une amélioration clinique notable après arrêt du traitement et une prise en charge par plasmathérapie (135).

La ticlopidine et ses métabolites exercent un effet cytotoxique sur l'endothélium. Le pronostic est généralement favorable en lien avec le traitement par échanges plasmatiques. Le taux de réponse est d'environ 80% et les rechutes sont peu fréquentes. L'utilisation de la ticlopidine a largement diminué et elle est remplacée par le clopidogrel, en raison de ses effets indésirables tels que les microangiopathies thrombotiques et la neutropénie. L'incidence du PTT lié à la ticlopidine est estimée à 1 pour 1600, tandis que celle du clopidogrel est estimée à 1 pour 80000. La Food and Drug Administration (FDA) a recensé 97 cas de MAT associées à la ticlopidine, 197 cas au clopidogrel et 14 cas associés au prasugrel (66,70,136).

Le PTT est induit par la présence d'anticorps neutralisant anti-ADAMTS-13 dans ce contexte (136).

#### **6.2.2.3.5. Autres médicaments**

Des cas de MAT ont été rapportés à la suite de l'exposition à des antibiotiques, essentiellement des fluoroquinolones telles que la ciprofloxacine et la lévofloxacine. On retrouve également d'autres antibiotiques signalés comme étant responsables de MAT tels que le métronidazole, la pénicilline, la rifampicine et la triméthoprime-sulfaméthoxazole (99).

D'autres cas de MAT ont été rapportés à la suite de l'exposition de la quinine. Selon une cohorte menée dans l'État de l'Oklahoma aux États-Unis de 1989 à 2014, la quinine est identifiée comme la principale cause de microangiopathie thrombotique médicamenteuse d'origine médicamenteuse, qui se manifeste par l'apparition subite et intense des signes cliniques et biologiques. Ces symptômes surviennent généralement plusieurs heures après l'exposition au médicament et sont associés à des manifestations systémiques graves. Parmi ces symptômes, on peut citer les maux de tête, les douleurs abdominales, les vomissements, la diarrhée, les frissons et la fièvre. De plus, une insuffisance rénale aiguë anurique est souvent observée. Certains patients peuvent également présenter une toxicité hépatique et une coagulation intravasculaire disséminée (102).

#### **6.2.2.3.6. Drogues illicites et substances toxiques**

Des cas de microangiopathie thrombotique ont été signalés à la suite de la consommation de substances illicites telle que la cocaïne et la MDMA. La consommation de cocaïne est un problème de santé publique grave car c'est l'une des drogues illicites les plus répandues, distribuées et consommées dans le monde (137,138).

L'utilisation de cocaïne peut entraîner une insuffisance rénale aiguë, souvent associée à une rhabdomyolyse, une vasoconstriction et une hypertension maligne (137,139).

La biopsie rénale révèle une microangiopathie thrombotique intra-rénale accompagnée d'une ischémie glomérulaire, d'une fibrose interstitielle sévère, d'une atrophie tubulaire et des lésions aiguës et diffuses des cellules épithéliales tubulaires. Les artères rénales présentent souvent une artériosclérose modérée avec des foyers d'expansion œdémateux entraînant un rétrécissement ou une occlusion luminale (138,139).

Les lésions endothéliales sont provoquées par une augmentation de l'endothéline-1, qui est un vasoconstricteur, et une réduction de la libération du monoxyde d'azote, qui est un vasodilatateur, favorisant ainsi la vasoconstriction. La cocaïne stimule également l'activation et l'agrégation plaquettaires. De plus, elle favorise la coagulation en augmentant les taux plasmatiques de fibrinogène et du facteur von Willebrand. De plus en plus de preuves indiquent que la cocaïne peut également activer le système du complément. Par conséquent, l'activité accrue du complément provoque des lésions endothéliales et une microangiopathie thrombotique (137,138).

Il convient de noter que la grande majorité des consommateurs de la cocaïne ne développent pas de MAT. Cependant, des facteurs de risque, tels qu'une augmentation de l'activité du complément, peuvent prédisposer les consommateurs de cocaïne à développer une MAT.

Des études ont démontré que la cocaïne active effectivement le système du complément. Par exemple, Tanhehco et al. ont observé une augmentation de l'expression génique de plusieurs composants du complément et de l'expression protéique du complexe terminal du complément C5b-9 dans le cœur du lapin induite par la cocaïne. Duran et al. ont également rapporté le cas d'un homme de 28 ans présentant un déficit en facteur H du complément, qui a développé une MAT de type SHU atypique suite à la consommation de cocaïne (138).

#### **6.2.2.4. Prise en charge**

La prise en charge appropriée implique principalement le retrait du médicament ou de la substance toxique incriminés dans la survenue de la MAT. La résolution ou l'amélioration de la MAT est souvent observée après l'arrêt du médicament ou après la réduction de sa dose. Cependant, ceci n'est pas suffisant pour entraîner une guérison clinique complète, et il est possible qu'un certain degré de lésion rénale persiste. Dans ce cas, en particulier chez les patients atteints d'une insuffisance rénale avancée, d'autres traitements doivent être envisagés tels que l'échange plasmatique et le rituximab. Ces derniers permettent l'élimination des anticorps auto-immun (90,99).

Les médicaments qui présentent une toxicité endothéliale directe induisent la libération de grandes quantités de multimères du facteur von Willebrand et l'activation concomitante de la cascade de coagulation. De ce fait, les échanges plasmatiques permettent également l'élimination des molécules circulantes libérées lors des lésions endothéliales telles que les multimères du vWF et les cytokines pro-inflammatoires et permettent le remplacement des protéines plasmatiques physiologiques telles que la protéine C activée, l'antithrombine et l'ADAMTS-13.

Les inhibiteurs du système rénine-angiotensine aident à réduire l'hypertension glomérulaire et systémique et la protéinurie. Le recours à la dialyse peut s'avérer nécessaire en cas d'insuffisance rénale sévère. La transfusion de plaquettes est généralement évitée dans la prise en charge de la MAT en l'absence de saignement car elle peut aggraver la

thrombose. De plus, la transfusion de plaquettes a été associée à un risque de mortalité plus élevé (90).

#### **6.2.2.5. Pronostic**

La MAT associée à la chimiothérapie présente un risque élevé de progression vers l'insuffisance rénale chronique et de mortalité. Le taux de mortalité varie de 15 % à 90 % selon le stade de la malignité sous-jacente. Bien que certains patients puissent connaître une rémission hématologique rapide après l'arrêt du médicament, la rémission rénale prend plus de temps et est souvent incomplète. Environ la moitié des patients atteints de MAT associée à la gemcitabine ont rapporté une rémission partielle ou complète après l'arrêt du médicament, tandis que les taux de rémission sont plus faibles pour la mitomycine et la bléomycine (90).

L'utilisation de l'éculizumab a montré une récupération plus rapide dans certains cas de MAT associée à la chimiothérapie. Les facteurs pronostiques défavorables associés à la récupération rénale et à la survie globale comprennent un âge avancé, une maladie rénale sous-jacente, une hypertension sévère, une atteinte rénale étendue et chronique au moment de la présentation, ainsi qu'un stade avancé de la malignité sous-jacente (90).

#### **6.2.3. Déficit congénital en vitamine B12**

Le déficit de la vitamine B12, également connue sous le nom de cobalamine, est le trouble héréditaire le plus courant du métabolisme de la vitamine B12 (140).

Les formes actives de la vitamine B12, la méthylcobalamine et l'adénosylcobalamine, jouent un rôle essentiel en tant que coenzymes de la méthionine synthase et de la méthylmalonyl-CoA mutase (Figure 31) (88,141).

En effet, la cobalamine joue un rôle essentiel dans la transformation de l'acide propionique en acide succinique. L'adénosylcobalamine et la méthylmalonyl-coA mutase convertissent le méthylmalonyl-coA en succinyl-coA. Le succinyl-coA est un métabolite du cycle de Krebs, essentiel pour la respiration cellulaire. Cependant, en cas de carence en vitamine B12, il y a une accumulation de méthylmalonate, éliminée sous forme d'acide méthylmalonique. Les concentrations élevées d'acide méthylmalonique sont considérées comme un marqueur de carence en vitamine B12 (88,141).

Grâce à la méthylcobalamine, une coenzyme de la méthionine synthase, l'homocystéine peut être méthylée pour former la méthionine, qui est ensuite convertie en S-adénosylméthionine par la méthionine synthase. La méthionine est un acide aminé essentiel impliqué dans divers processus biologiques, y compris la synthèse de la myéline, une substance protectrice qui entoure les fibres nerveuses et qui permet une transmission efficace des signaux électriques dans le système nerveux. Par conséquent, une carence en vitamine B12 engendre des troubles neurologiques suite à des troubles de synthèse de la myéline liés à la carence en méthionine (88,141).

La conversion de l'homocystéine en méthionine est également réalisée grâce à la réaction du méthyl-tétrahydrofolate en tétrahydrofolate, avec l'aide de la méthionine synthase qui agit comme un cofacteur enzymatique. Cette réaction est essentielle dans la synthèse des bases puriques et pyrimidiques, qui sont les composantes nucléiques de l'ADN et de l'ARN (141).

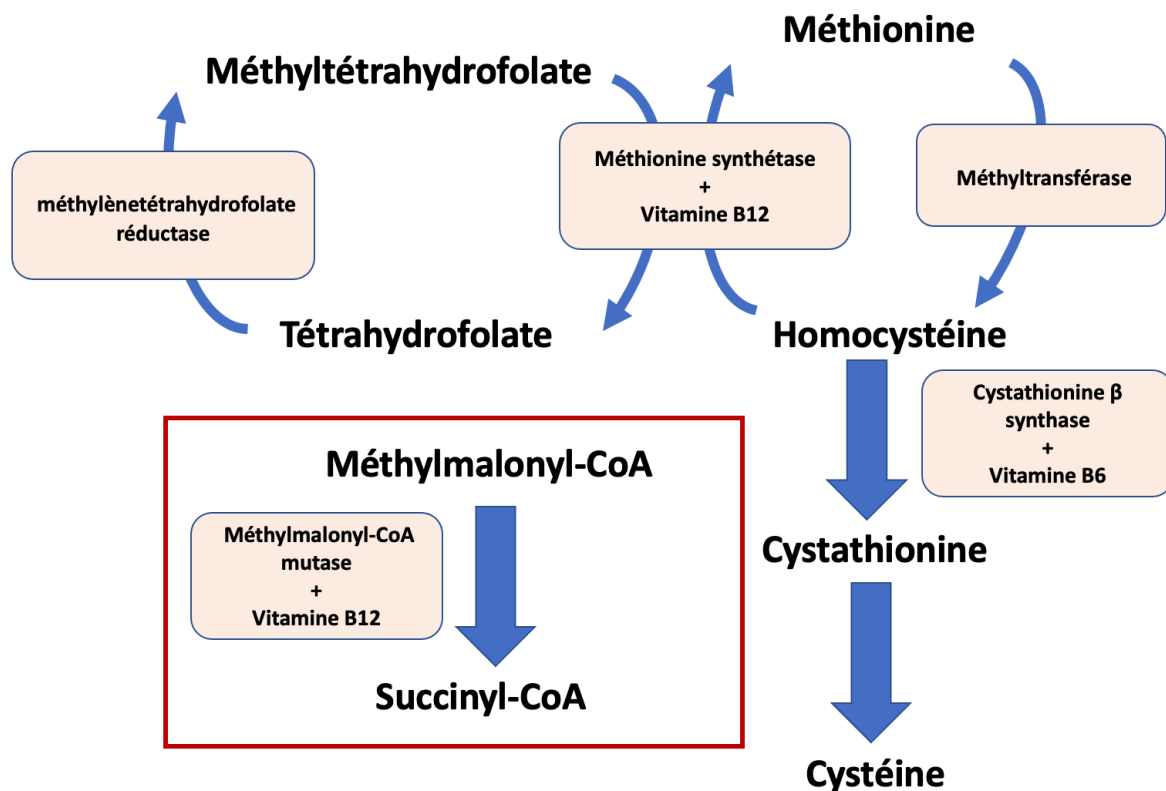


Figure 31 : Métabolisme de la vitamine B12

Les troubles du métabolisme de la vitamine B12 sont une cause rare de microangiopathie thrombotique. Les mutations du gène methylmalonic aciduria cobalamin deficiency with homocystinuria (MMACHC), situé sur le locus 1p34, entraînent un déficit en cobalamine C, en méthylcobalamine et en adénylocobalamine. Ce déficit conduit à une hyperhomocystéinémie et une accumulation de l'acide méthylmalonique dans le sang et l'urine. En effet, en l'absence de vitamine B12, l'homocystéine ne peut pas être méthylée et recyclée en méthionine, ce qui conduit à une accumulation d'homocystéine qui présente des propriétés toxiques *in vitro*, notamment en provoquant une hémolyse. Cet effet cytotoxique est attribué à sa nature pro-oxydante. Des études ont démontré que l'homocystéine diminue l'activité de la glutathion peroxydase, ce qui entraîne une accumulation de radicaux libres et de produits oxydants à l'intérieur des cellules et la destruction des globules rouges. Les lésions causées aux cellules endothéliales par le stress oxydatif induit par l'homocystéine déclenchent l'activation de la cascade de coagulation. Cette dernière est responsable de la formation de microthrombus plaquettaire induisant une MAT (143).

Par ailleurs, l'hyperhomocystéinémie peut augmenter le taux des D-dimères. Une corrélation a été observée entre cette augmentation de D-Dimère et le taux de schizocytes (89).

Environ un quart des patients porteurs de la mutation du gène MMACHC déclenchent une MAT (82). L'apparition des signes cliniques est étroitement liée à l'âge. Elle est plus fréquente au cours de la période néonatale et chez les enfants de moins de 3 mois (50 %) (144).

Les manifestations néonatales peuvent inclure des caractéristiques de dysmorphies, un retard de croissance intra-utérine, une microcéphalie, une hydrocéphalie ou une cardiopathie congénitale (144).



Cette forme de MAT secondaire est observée chez l'enfant ou l'adolescent dans 40% des patients présentant la mutation. Elle se manifeste souvent par un retard de croissance, un retard de développement global et des séquelles neurologiques telles que l'hypotonie et les convulsions (80).

Par ailleurs, elle est plus rare chez l'adulte car elle se manifeste seulement dans 10% des cas (144). Les patients présentent généralement des manifestations moins graves limitées à un déclin cognitif progressif, des symptômes neuropsychiatriques et une dégénérescence combinée subaigüe de la moelle épinière (144). Elle est souvent d'évolution favorable sous traitement par hydroxycobalamine, bêtaïne et acide folique (79,81).

Cependant, le déficit en cobalamine peut causer une microangiopathie rénale, associée à des lésions glomérulaire et à un dépôt d'IgM, et une hypertension artérielle pulmonaire dans des rares cas (79,140,144).

Les patients atteints d'une MAT induite par un déficit en cobalamine peuvent présenter des lésions persistantes pendant des années avant que le diagnostic ne soit posé. Cette évolution chronique pourrait expliquer l'absence de thrombopénie chez quelques patients (140).

Au niveau biologique, on observe essentiellement une anémie hémolytique macrocytaire sévère avec la présence des schizocytes, une thrombopénie associée à une mégaloblastose, une leucopénie voire une pancytopénie (79,88).

Le diagnostic peut être confirmé par un dosage plasmatique de l'homocystéine et par la chromatographie plasmatique et urinaire des acides organiques principalement de l'acide méthylmalonique, dont les taux sont élevés au cours d'une MAT liée à un déficit en vitamine B12. En cas de non-réponse au traitement à l'éculizumab, le diagnostic de la MAT liée à un déficit en cobalamine C est envisagé (79).

#### **6.2.4. Grossesse et post partum**

##### **6.2.4.1. Grossesse normale**

Une grossesse normale est associée à des changements hémostatiques marqués, qui sont à médiation hormonale. Ces changements fournissent un effet protecteur contre l'hémorragie à l'accouchement, et conduisent donc à un état d'hypercoagulabilité. En effet, le facteur VIII de la coagulation et le facteur von Willebrand augmentent en parallèle dans la première moitié de la grossesse. Par la suite, l'augmentation du vWF est plus importante durant le reste de la grossesse, revenant à des niveaux normaux au cours des 6 semaines post-partum (145).

En outre, on observe une diminution progressive d'environ 50 % de l'activité de l'ADAMTS13 à partir du deuxième trimestre jusqu'à l'accouchement. Cette diminution est probablement due à une libération accrue du facteur von Willebrand et à un effet hormonal. Par ailleurs, il est courant d'observer une diminution de la numération plaquettaire sans complication associée. En effet, environ 10 % des femmes enceintes présentent une numération plaquettaire inférieure à 150 G/L au moment de l'accouchement. Par conséquent, un seuil inférieur à 100 G/L est proposé pour diagnostiquer une anémie hémolytique mécanique associée à la grossesse (146).

##### **6.2.4.2. Thrombopénie liée à la grossesse**

La thrombopénie se développe chez 5 à 10 % des femmes pendant la grossesse ou durant la période du post-partum, et elle est multifactorielle. D'abord, on retrouve la thrombopénie gestationnelle qui survient dans 75 % des cas de thrombopénies liées à la grossesse. Elle est plus fréquente dans les grossesses gémellaires et triplées. On observe généralement une

diminution progressive de la numération plaquettaire chez de nombreuses femmes à partir du deuxième trimestre (Figure 32). Cette diminution est très probablement liée à une hémodilution suite à une augmentation du volume plasmatique pendant la grossesse et peut également être attribuée à une augmentation de la clairance plaquettaire (147).

Ensuite on retrouve les syndromes microangiopathies thrombotiques associées à une anémie hémolytique mécanique, une thrombopénie et une atteinte d'organes pendant la grossesse. L'insuffisance rénale aiguë (IRA) est couramment observée dans la plupart des formes d'anémie hémolytique mécanique associées à la grossesse (146).

Parmi ces syndromes, on retrouve la prééclampsie/éclampsie, le syndrome d'hémolyse, de cytolysé hépatique et thrombopénie (HELLP), la stéatose hépatique aiguë de la grossesse, le syndrome hémolytique et urémique et le purpura thrombotique thrombocytopénique (146).

Ces manifestations cliniques et biologiques peuvent également être observées dans des maladies auto-immunes sévères, notamment le lupus érythémateux disséminé (LED) et le syndrome catastrophique des antiphospholipides (146).

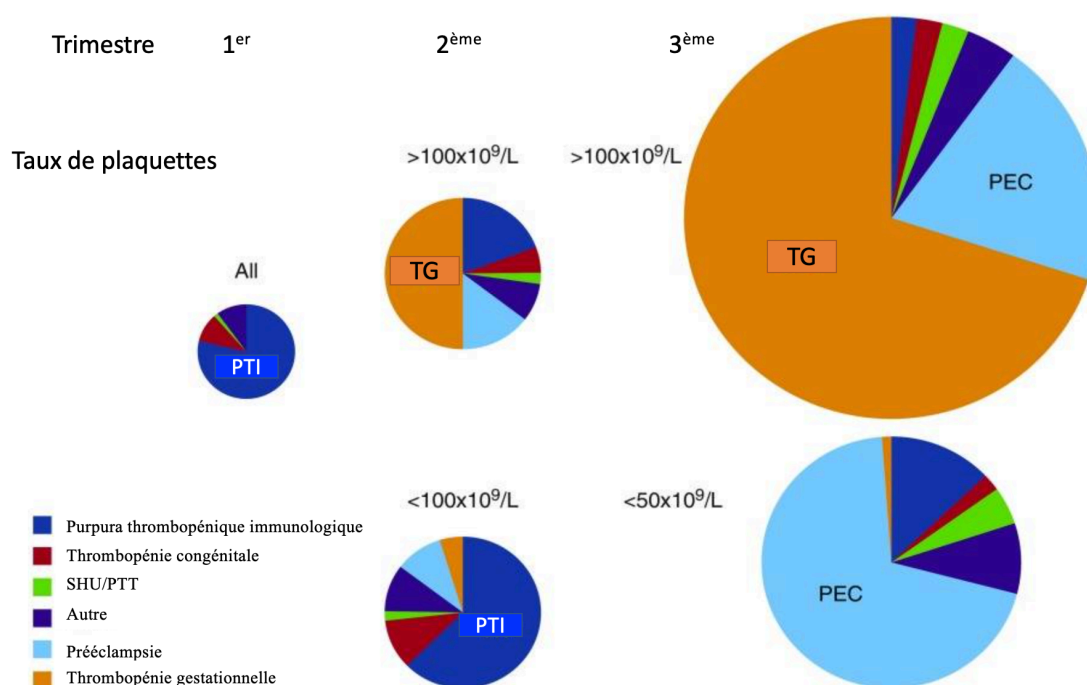


Figure 32 : thrombopénie en fonction de l'étiologie et de l'avancement de la grossesse selon (traduit) (147)

#### 6.2.4.2.1. Le syndrome catastrophique des antiphospholipides

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est une maladie auto-immune. Elle est caractérisée par des thromboses vasculaires (veineuses, artérielles, microcirculation) et une présence persistante d'anticorps dirigés contre les phospholipides ou certaines protéines associées aux phospholipides. Le SAPL peut évoluer rapidement en une forme comparable à un « orage thrombotique ». Cette forme a été décrite en 1992 et désignée par le terme « syndrome catastrophique des anticorps anti-phospholipides » (148).

Le syndrome catastrophique des antiphospholipides se caractérise par des lésions graves touchant plusieurs organes (cerveau, rein, poumon, peau) menaçant le pronostic vital, causées par une thrombose étendue des petits vaisseaux. Cette affection est liée à la

présence persistante d'anticorps antiphospholipides tels que l'anticoagulant lupique, les anticardiolipines et les anticorps anti-b2GPI. Elle est généralement accompagnée d'une thrombocytopénie et d'une anémie hémolytique mécanique liée à une schizocytose circulante (146).

La grossesse est associée à une morbi-mortalité maternelle et fœtale plus importante que dans la population générale au cours d'un syndrome catastrophique des antiphospholipides. Les complications comportent des complications obstétricales fœtales (pertes fœtales ou retard de croissance in utero), et maternelles (prééclampsie, éclampsie, syndrome HELLP, césarienne) (148).

La prise en charge et la surveillance adaptées peut limiter les complications obstétricales. En effet, la prise en charge augmente les chances de survie fœtale de 50% à 90%. Le traitement repose essentiellement sur l'aspirine à dose anti-agrégante et sur l'héparine de bas poids moléculaire (HBPM) (148).

#### **6.2.4.2.2. Prééclampsie**

La prééclampsie est la principale cause de thrombopénie associée à des signes de MAT qui survient généralement à la fin du deuxième ou au troisième trimestre de la grossesse (Figure 32). Cependant, dans de rares cas, elle peut également se produire au cours de la première semaine après l'accouchement. Des présentations encore plus tardives ont été signalées (147).

La prééclampsie est définie par l'apparition récente, après 20 semaines de grossesse, d'une hypertension gestationnelle, définie par une pression artérielle systolique supérieure ou égale à 140 mm Hg et/ou une pression artérielle diastolique supérieure ou égale à 90 mm Hg. Elle est accompagnée d'au moins un des symptômes suivants (145–147,149):

- Thrombopénie : < 100 G/L
- Cytolyse hépatique associée à une augmentation des transaminases ASAT ou ALAT à deux fois le taux normal.
- Insuffisance rénale avec une créatinine sérique > 1.1 mg/dl ou doublement de la créatinine initiale en l'absence de maladie rénale sous-jacente
- Protéinurie
- Œdème pulmonaire
- Douleurs épigastriques
- Troubles cérébraux ou visuels d'apparition récente

Les risques de récurrence lors d'une grossesse ultérieure varient entre 5 % et 94 % en fonction de plusieurs facteurs, notamment la présence d'une hypertension chronique, le nombre de grossesses antérieures associées à une prééclampsie et la gravité de la prééclampsie antérieure (147). Par ailleurs, un accouchement antérieur prématuré avant 37 semaines d'aménorrhée, particulièrement avant la 34<sup>ème</sup> semaine, et un âge > 35 ans constituent également des facteurs de risque associés à la récurrence (145).

La morbidité et la mortalité néonatales varient de 7 % à 20 %, principalement en raison des complications de la prématurité (147).

Le traitement prophylactique avec de l'aspirine à faible dose peut diminuer le risque de développer une prééclampsie, ainsi que l'incidence d'accouchement prématuré et le retard de

croissance fœtale. Ce traitement est généralement débuté entre la 12<sup>ème</sup> et la 16<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée (145,147).

#### **6.2.4.2.3. La stéatose hépatique aiguë gravidique**

Il s'agit d'une atteinte grave mettant en jeu le pronostic vital. Elle survient dans 1 grossesse sur 5 000 à 10 000, généralement au cours du 3<sup>ème</sup> trimestre. Elle est due à un dysfonctionnement mitochondrial dans l'oxydation des acides gras dans le foie et une accumulation de lipides dans les hépatocytes. Elle est plus fréquente dans les grossesses multiples que dans les grossesses uniques (145,147,149,150).

Environ 75 % des femmes présentent des nausées ou des vomissements et 50 % ont des douleurs abdominales ou des symptômes comparables à la prééclampsie tels qu'une altération de la fonction rénale. Par ailleurs, la diminution de l'antithrombine III est un marqueur précoce de la stéatose hépatique aiguë gravidique. L'hypoglycémie est un des critères spécifiques de cette affection, bien qu'elle soit plus fréquente dans les cas graves. La cytololyse hépatique associée à l'augmentation des transaminases et de la bilirubine, la CIVD, l'encéphalopathie et le syndrome polyuro-polydipsique orientent le diagnostic vers la stéatose hépatique (147).

Le diagnostic de référence repose sur la biopsie hépatique. Toutefois, elle rarement pratiquée car il s'agit d'un examen invasif. De plus, il y a un risque important de complications car les patientes présentent des anomalies de la coagulation en général (150).

La stéatose hépatique aiguë gravidique est une pathologie, grave potentiellement fatale pour la mère et l'enfant. Son pronostic s'est considérablement amélioré ces dernières années grâce à l'extraction fœtale précoce (150).

Les critères de Swansea ont été proposés pour aider au diagnostic. En effet, la présence d'au moins 6 des critères suivants oriente le diagnostic de stéatose hépatique aiguë gravidique (145,151) :

- Vomissements
- Douleurs abdominales
- Polydipsie/polyurie
- Encéphalopathie
- Élévation de la bilirubine (>14 mmol/l)
- Hypoglycémie (< 4 mmol/l)
- Élévation de l'acide urique (> 340 mmol/l)
- Leucocytose
- Ascite ou foie brillant à l'échographie
- Élévation des transaminases (> 42 IU/l)
- Hyperammoniémie (> 47 mmol/l)
- Coagulopathie ou temps de prothrombine > 14 secondes
- Stéatose microvésiculaire à la biopsie hépatique

Le risque de récurrence au cours des grossesses ultérieures peut atteindre les 70%, selon qu'il existe ou non un défaut de l'oxydation des acides gras (145).

#### **6.2.4.2.4. Purpura thrombopénique immunologique**

Il convient de mentionner le purpura thrombopénique immunologique (PTI) qui survient dans environ 1 grossesse sur 1 000 à 10 000. Bien que le PTI ne représente qu'environ 3 % de tous les cas de thrombopénie liée à la grossesse, il est la cause la plus fréquente d'une diminution des plaquettes en dessous de 50 G/L détectée au cours des premier et deuxième trimestres (Figure 32) (147,149).

Le purpura thrombopénique immunologique est généralement observé chez les femmes en âge de procréation et peut se manifester dès le premier trimestre de la grossesse. La présence d'un PTI pendant la grossesse peut être associée à un risque accru de complications telles que la prématurité, la mort périnatale, le diabète gestationnel, l'hypertension artérielle gravidique et même la prééclampsie. Par ailleurs, le PTI chez la femme enceinte présente un risque de thrombopénie chez le fœtus et le nouveau-né en raison du passage transplacentaire des auto-anticorps maternels. La thrombopénie chez le nouveau-né atteint son niveau le plus bas entre le troisième et le cinquième jour après la naissance, puis régresse en quelques jours à quelques semaines après l'accouchement (152,153).

La prise en charge du PTI comprend l'utilisation des corticostéroïdes et d'immunoglobulines en cas de saignements importants. Dans de rares cas où ces traitements ne fonctionnent pas, une splénectomie peut être envisagée à partir du deuxième trimestre (153).

Il est recommandé d'avoir un taux de plaquettes d'au moins 50 G/L pour déclencher un accouchement par voie basse ou par césarienne. En cas d'anesthésie péridurale, le taux de plaquettes recommandé est de 75 G/L (153).

#### **6.2.4.2.5. HELLP syndrome : hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets count / Hémolyse, les enzymes hépatiques élevées et les plaquettes basses**

Le HELLP syndrome a été décrit par Weinstein en 1982. Il s'agit d'une microangiopathie thrombotique caractérisée par la triade de thrombopénie, d'hémolyse mécanique avec une schizocytose circulante et d'une cytolyse hépatique. Cette MAT est associée à une lésion des cellules endothéliales, un dépôt de fibrine, une activation et une consommation plaquettaires et une nécrose hépatique (145,154).

Cette affection survient uniquement pendant la grossesse avec une incidence comprise entre 0,17 % et 0,85 % de toutes les grossesses viables. Elle survient généralement entre le 2<sup>ème</sup> et le 3<sup>ème</sup> trimestre, bien qu'elle puisse survenir durant la période du post-partum (145).

Le HELLP syndrome peut être classé en 3 catégories selon le degré de thrombopénie (145) :

- HELLP 1 : plaquettes  $\leq$  50 G/L
- HELLP 2 : plaquettes entre 50 et 100 G/L
- HELLP 3 : plaquettes entre 100 et 150 G/L

Le HELLP syndrome est causé par un défaut d'implantation trophoblastique, ce qui entraîne un déséquilibre local dans l'expression des médiateurs vasoconstricteurs et vasodilatateurs. Ce déséquilibre conduit à une ischémie placentaire (154).

L'ischémie placentaire provoque la production de radicaux libres au niveau du placenta, qui sont ensuite libérés dans la circulation sanguine générale. De plus, il y a une augmentation de la production de fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1), qui est une forme soluble du récepteur de type 1 du VEGF présent à la surface des cellules. En outre, on observe une activation des polynucléaires neutrophiles et leur adhésion à l'endothélium vasculaire. L'effet cumulatif de

ces phénomènes aboutit à une vasoconstriction systémique et à une activation inadaptée du processus de coagulation (154).

Cette atteinte entraîne une hémolyse mécanique et une thrombopénie de consommation car l'activation de l'endothélium vasculaire entraîne la libération de multimères de haut poids moléculaire de von Willebrand qui réagissent avec les plaquettes, contribuant ainsi à la thrombopénie. Cependant, cette thrombopénie est également la conséquence d'un déficit en prostacycline, ce qui entraîne une agrégation plaquettaire, ainsi qu'un excès de thromboxane A2 qui provoque la destruction des plaquettes (154).

Par ailleurs, des taux réduits de l'activité ADAMTS 13 ont été observés chez les patientes atteintes du HELLP syndrome, ce qui entraîne une augmentation des multimères du facteur willebrand impliqués dans le processus de la MAT (154).

Les signes cliniques comprennent des douleurs abdominales, en barre de Chaussier, retrouvée dans 65 à 86 % des cas. Ces douleurs sont spécifiques du HELLP syndrome. Elle irradie vers le dos et évolue par crises nocturnes généralement. Elle est la conséquence de l'atteinte hépatique, caractérisée par la présence de dépôts obstructifs de fibrine disséminés, une nécrose hépatocytaire responsable de la cytolyse hépatique, ainsi que des thromboses et des hémorragies intrahépatiques (154).

On retrouve également des nausées et des vomissements dans 36 à 84 % des cas, des malaises, des maux de tête et, rarement, une jaunisse (145).

D'autres signes moins spécifiques sont observés au cours d'un HELLP syndrome tels qu'une hyponatrémie sévère, une hypoglycémie secondaire à une insuffisance hépatocellulaire, un décollement rétinien avec hémorragie du vitré, une hémorragie digestive, une hémorragie de la délivrance, une hémorragie cérébro-méningée, des complications thromboemboliques multiples impliquant une phlébite, une embolie pulmonaire et un accident vasculaire cérébral, et une insuffisance rénale aiguë (154).

Au niveau biologique, on observe une augmentation des marqueurs de la cytolyse hépatique. Néanmoins l'augmentation des transaminases et de la bilirubine est souvent légère à modérée. L'augmentation de l'alpha glutamyltransférase ( $\alpha$ GT) est marqueur précoce de l'atteinte hépatique car elle a une demi-vie courte de l'ordre de deux heures (154).

Les complications maternelles graves comprennent la CIVD, le décollement placentaire, les lésions rénales aiguës, l'œdème pulmonaire et l'insuffisance hépatique, nécessitant parfois une transplantation hépatique (145).

Le HELLP peut se compliquer d'une prééclampsie et d'une éclampsie dans respectivement 4 à 12 % et 30 à 50 % des cas (154).

La mortalité maternelle est de 3 à 4 %, la mortalité foetale atteignant environ 25 %, principalement due à la prématurité (145).

#### **6.2.4.2.6. PTT**

Le PTT associé à la grossesse représente environ 10 à 30% des PTT observés chez l'adulte. En effet, on estime qu'un déficit sévère en ADAMTS13 (taux enzymatique inférieur à 20 %) est documenté dans environ 1 grossesse sur 17 000 à 1 sur 200 000, ce qui en fait une

complication rare de la grossesse. Il est observé principalement pendant le dernier trimestre de la grossesse et en post-partum (Figure 32) (66,146,147).

Une première poussée de PTT liée à une grossesse et généralement due à une forme congénitale dans 24 à 66% des cas, tandis que ce chiffre est inférieur à 5% dans les cas de PTT chez les adultes en général (66,146).

Cette augmentation de la fréquence du PTT dans un contexte obstétrical peut s'expliquer par plusieurs facteurs, tels que l'âge et la prédominance féminine, ainsi que par le déséquilibre progressif pendant la grossesse entre le taux plasmatique du facteur willebrand qui a une tendance à augmenter et celui de la métalloprotéase ADAMTS-13 qui diminue (66).

Par ailleurs, une diminution de 20 % à 40 % de l'activité ADAMTS13 peut être observée chez des patientes atteintes de prééclampsie, du HELLP syndrome ou de SHU associé à la grossesse, bien qu'elle reste généralement détectable. Cependant, seul le PTT associé à la grossesse est caractérisé par un déficit sévère (< 20 %) de l'activité de la protéase. Cette diminution est généralement observée au cours du deuxième et du troisième trimestre de la grossesse (146).

Un épisode de PTT est déclenché quasi systématiquement au cours de la première grossesse dans un contexte de PTT congénital. Il survient au cours du troisième trimestre dans 75% des cas. Le traitement par plasmathérapie permet de corriger la carence en ADAMTS-13. De ce fait, le pronostic de la mère est favorable. En revanche, le pronostic foetal reste défavorable malgré l'introduction du traitement (66).

Par ailleurs, un PTT auto-immun au cours de la première grossesse est plus fréquent qu'un PTT congénital. Il représente 82% des cas, essentiellement après la 20<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée (70% des cas). Le pronostic maternel reste favorable après l'introduction de la plasmathérapie avec une survie de l'ordre de 80% alors qu'elle est de l'ordre de 60% chez le foetus (66).

La conduite à tenir et la prise en charge chez une femme ayant un antécédent de PTT acquis et souhaitant une grossesse dépend de l'activité d'ADAMTS-13 au moment du souhait de grossesse (Figure 33) (70).

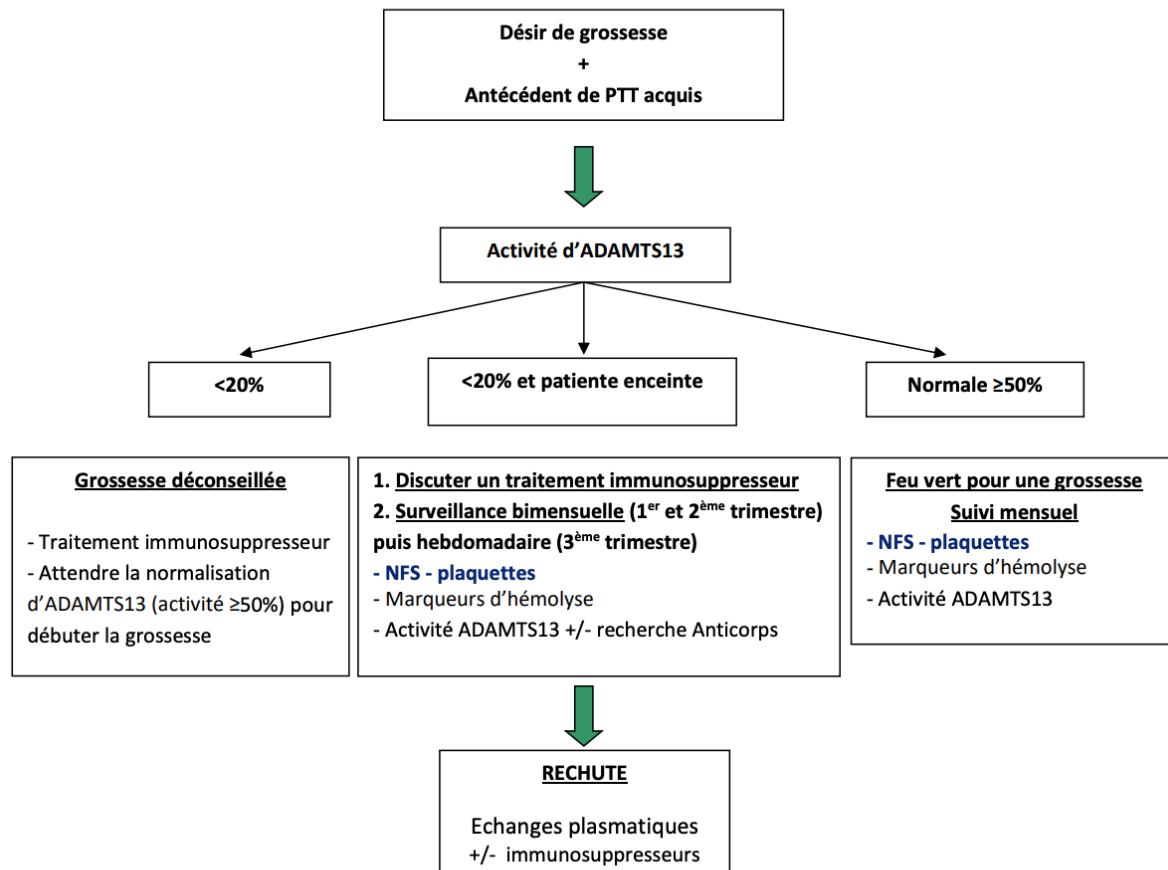


Figure 33 : Conduite à tenir en cas de souhait de grossesse avec des antécédents de PTT acquis (selon (70))

#### 6.2.4.2.7. SHU

Le SHU associé à la grossesse représente 20% de l'ensemble des SHU particulièrement au cours du post-partum (75% des cas). On estime que le SHU atypique survient dans 1 grossesse sur 25 000. En effet, la grossesse est un facteur de risque de SHU atypique, en particulier pendant la première grossesse et en période du post-partum, généralement 2 semaines après l'accouchement (Figure 32) (80,81,147,155).

Le SHU au cours de la grossesse est une complication grave, caractérisée par une atteinte rénale sévère qui nécessite dans environ 80% des cas le recours à la dialyse (81).

Le SHU associé à la grossesse et le SHU atypique lié à la dérégulation du complément ont une présentation clinico-biologique similaire et sévère (41 % à 71 % des patients nécessitent une dialyse). Ils entraînent une atteinte rénale similaire, en particulier en l'absence de traitement (insuffisance rénale terminale dans 53 % des cas). De plus, ils présentent une fréquence comparable de mutations du gène du complément (41 % à 56 % des cas). Par conséquent, le SHU associé à la grossesse peut être classé comme un sous-type de SHU atypique médié par le complément (146).

Le SHU atypique survenant à la suite d'une grossesse est lié dans 80% des cas à une mutation du complément, particulièrement la mutation du facteur H. Le diagnostic est confirmé chez environ deux tiers des patients par l'identification d'une mutation des protéines qui régulent la voie alternative C3 convertase, ou une mutation de gain de fonction de la C3 ou du facteur B,



des auto-anticorps dirigés contre le facteur H ou, plus rarement, une mutation de la thrombomoduline, du plasminogène ou de la diacylglycérol kinase- $\epsilon$  (81,147).

De plus, il y a une augmentation physiologique de la synthèse des protéines du complément. Par ailleurs, le placenta, qui est une structure chimère constituée de matériel génétique maternel et paternel, exprime des protéines régulatrices d'origine paternelle qui contrôlent la voie alterne du complément chez les femmes porteuses de variant génétique de cette voie (80). Cependant, durant la période du post-partum, il peut y avoir une perte de ces protéines régulatrices du placenta, ce qui entraîne un retour à un taux basal de la production des protéines du complément associé à un stress tissulaire. Tous ces facteurs participent au déclenchement d'un épisode de SHU atypique (80).

Une étude menée en France, au Royaume-Uni et en Italie sur une cohorte de patientes atteintes du syndrome hémolytique et urémique associé à la grossesse a révélé une atteinte rénale sévère. Environ deux tiers des patientes ont nécessité une dialyse, et plus de la moitié ont développé une insuffisance rénale terminale à long terme. De plus, des mutations dans les gènes codant pour le complément ont été observées chez 56% des patientes (156).

Les saignements du post-partum et les infections peuvent également déclencher une activation excessive du complément chez les femmes entraînant un SHU (156).

Le risque de rechute du SHU lors de grossesses ultérieures est d'environ 25 %. Ce risque est plus élevé chez les femmes présentant des mutations du facteur H ou I du complément.(149)

#### **6.2.4.3. Prise en charge**

Il est crucial de bien faire la distinction entre une MAT de type PTT/ SHU par rapport au HELLP syndrome et la prééclampsie car le seul traitement efficace dans ce contexte est l'accouchement, ce qui entraîne généralement une nette amélioration clinique, bien que les paramètres biologiques puissent mettre du temps à se normaliser. En cas de non-amélioration ou de détérioration clinique et biologique dans les 48 à 72 heures suivant l'accouchement, le diagnostic de PTT ou de SHU doit être envisagé (145,147).

La plasmaphérèse est initiée dès le diagnostic et poursuivie jusqu'à ce que le PTT soit exclu. En cas de PTT auto-immun, un traitement immunosuppresseur par stéroïde est débuté. Dans un contexte de PTT congénital, le remplacement de l'ADAMTS-13 par plasmathérapie doit être initié dès la confirmation de la grossesse, avec une fréquence initiale de deux semaines (environ 10 mL/kg). Il peut être nécessaire de passer à une fréquence hebdomadaire à partir du deuxième trimestre, en ciblant une numération plaquettaire et un taux de LDH normaux associés à l'absence de symptômes (145,147,149).

En cas de SHU, le traitement par eculizumab, un inhibiteur du complément, est initié. L'eculizumab a été utilisé pendant la grossesse, principalement dans l'hémoglobinurie paroxystique nocturne. Le registre mondial du SHU atypique a confirmé le bénéfice de l'eculizumab chez les femmes enceintes atteintes de SHU, améliorant considérablement les résultats rénaux. L'accouchement doit être planifié, en visant 37 à 38 semaines de gestation, en cas de PTT et de SHU (149).

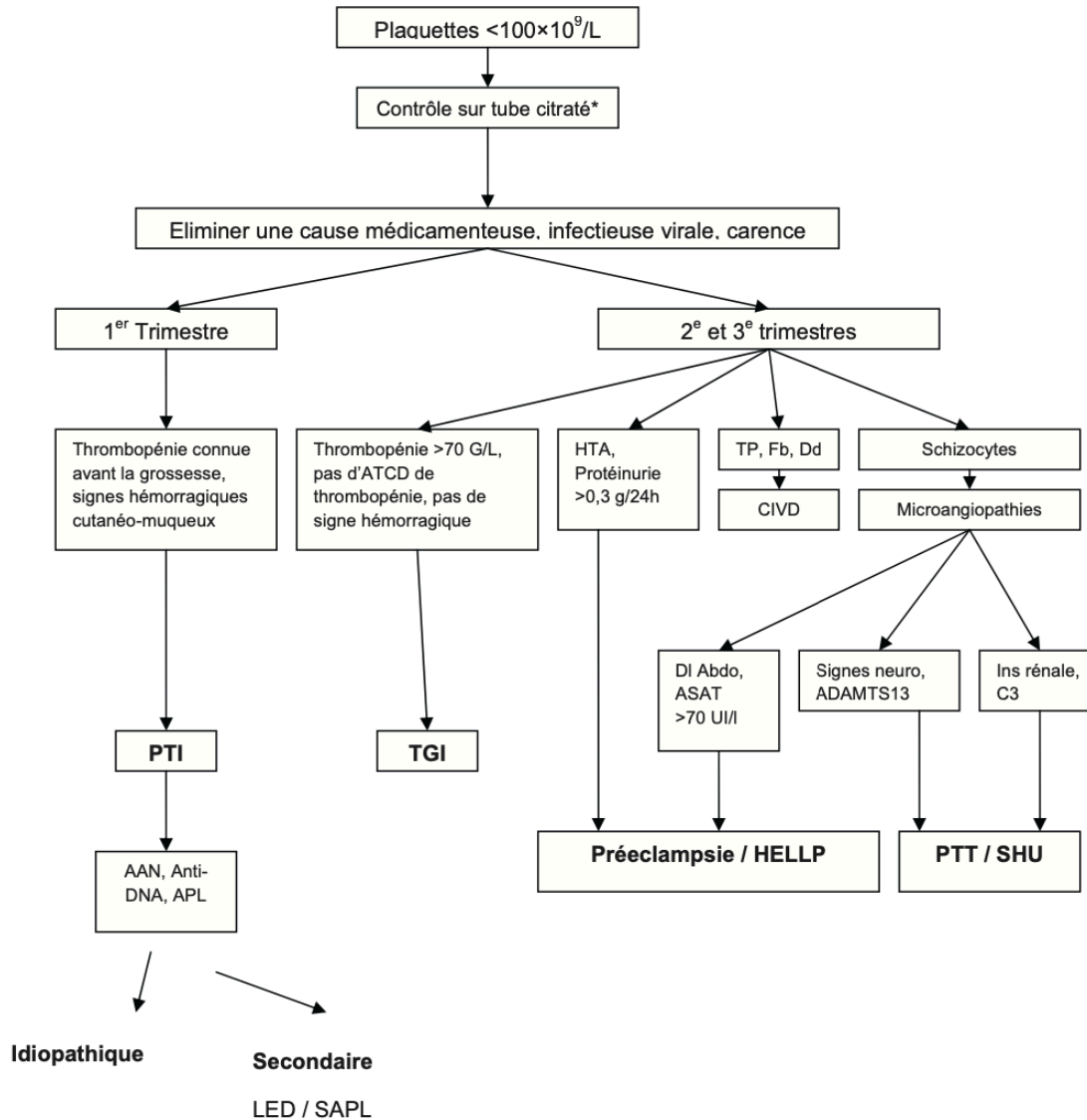


Figure 34 : Démarche diagnostique devant une thrombopénie au cours de la grossesse (selon (157))

### 6.2.5. MAT secondaire aux infections :

Différents agents infectieux tels que des bactéries, des virus ou des champignons ont été identifiés lors d'une microangiopathie thrombotique, essentiellement de type PTT, parfois même dans les jours précédant l'épisode. Parmi ces agents infectieux, on retrouve *Streptococcus pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Rickettsia mooseri*, *Borrelia burgdorferi*, *Bartonella*, *Ehrlichia*, *Leptospira*, les *Herpesviridae* et *Cryptococcus neoformans* (65).

Lorsqu'une infection se produit, plusieurs facteurs participent à la survenue d'une MAT. En effet, plusieurs substances activent l'endothélium. Cette activation est liée à l'action des antigènes microbiens et des lipopolysaccharides de la membrane bactérienne qui endommagent les cellules endothéliales vasculaires. De plus, de nombreux médiateurs de la réaction inflammatoire libérés lors d'une infection, tels que l'interleukine-1, l'IL-6, l'interféron  $\gamma$ , et le facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ), peuvent agir de manière synergique avec les toxines bactériennes pour activer ou endommager les cellules endothéliales (65,158). En outre, le

recrutement des polynucléaires neutrophiles participe à l'activation des cellules endothéliales qui acquièrent un phénotype pro-agrégant en libérant de grandes quantités de multimères de haut poids moléculaire du facteur von Willebrand et du facteur activant les plaquettes/ Paletet activation factor (PAF). De plus, les cellules endothéliales sur-expriment des molécules d'adhésion à leur surface (Figure 35) (158).

Chez les patients présentant un déficit sévère en ADAMTS-13, les multimères de haut poids moléculaire du facteur von Willebrand s'accumulent, ce qui entraîne une hyperagrégabilité plaquettaire conduisant à la formation de thrombi dans la microcirculation de différents organes tels que le cerveau, les reins, le cœur, le tractus digestif et les surrénales. Chez les patients dont l'activité de l'ADAMTS-13 est détectable, les lésions endothéliales semblent plus importantes et pourraient dépasser les capacités de clivage du facteur von Willebrand par l'ADAMTS-13 (158).

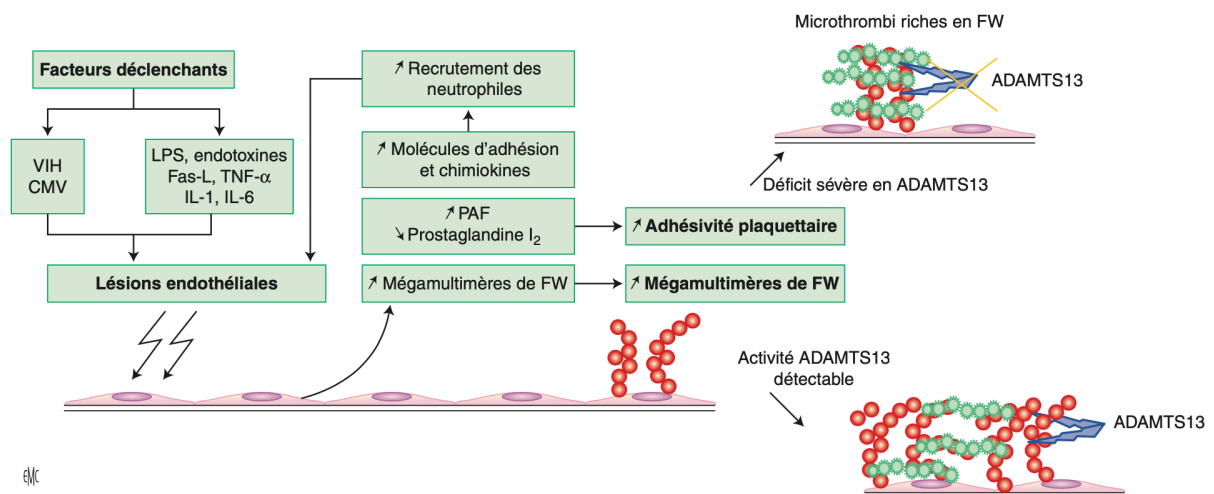


Figure 35 : Physiopathologie de la MAT liée à une infection (selon (158))

Au cours d'une infection, le récepteur Fas, généralement retrouvé à des concentrations élevées chez les patients atteints de PTT, est surexprimé à la surface des cellules endothéliales. Lorsque le ligand Fas-L se lie à son récepteur, il est capable d'induire la mort cellulaire par apoptose des cellules endothéliales. Il s'en suit une dégranulation de celles-ci et la production de chimiokines comme l'IL-8 qui favorise l'adhésion et l'activation des polynucléaires neutrophiles, ainsi que la libération des substances pro-agrégantes, notamment les multimères de haut poids moléculaire du facteur de willebrand, le facteur d'activation plaquettaire. Par ailleurs, la synthèse de la prostaglandine I2, antiagrégant plaquettaire, par les cellules endothéliales diminue à cause de l'altération de cette dernière (65).

Selon une étude rétrospective menée sur 564 patients entre le 1<sup>er</sup> janvier 2009 et le 31 décembre 2016 au Centre Hospitalier Universitaire de Tours, l'étiologie infectieuse liée aux bactéries gram-négatives étaient la cause la plus fréquente de MAT. L'infection à pneumocoque a été confirmée chez seulement 5% des patients, tandis que les infections dues à Staphylococcus étaient présentes chez 19% des patients. Parmi les infections virales, le cytomégalovirus et le virus d'Epstein-Barr étaient les plus fréquemment identifiés, représentant respectivement 41% et 36% des cas. Onze patients atteints de MAT étaient également porteurs du VIH, mais il était actif chez seulement deux d'entre eux (159).

### **6.2.5.1. Streptococcus pneumoniae**

La surface des globules rouges, des plaquettes et des cellules endothéliales glomérulaires contient l'antigène Thomsen-Friedenreich cryptantigène. Cet antigène est recouvert par l'acide neuraminidique.

Le *Streptococcus pneumoniae* produit une enzyme appelée neuraminidase qui cible l'acide N-acétyl-neuraminique à la surface des cellules, exposant l'antigène Thomsen-Friedenreich cryptantigène. En conséquence, des immunoglobulines M circulantes se fixent sur l'antigène Thomsen-Friedenreich cryptantigène exposé. Ceci entraîne une agrégation plaquettaire et déclenche une cascade d'hémolyse, des lésions endothéliales et une microangiopathie thrombotique (79,81).

Les immunoglobulines M sont naturellement présentes dans le plasma, ce qui explique l'agglutination *in vitro* des hématies du patient en présence de sérum compatible pour les groupes sanguins ABO. Cependant, cette agglutination ne se produit pas *in vivo* car il s'agit d'anticorps actif seulement à froid (88).

Le pneumocoque est impliqué dans environ 5% des SHU (160). Il est plus fréquent chez les enfants de moins de 2 ans avec un test de Coombs érythrocytaire qui est généralement positif (79,81).

Le SHU lié au pneumocoque s'observe généralement quelques jours après une pneumonie ou une méningite, bien que cela ne soit pas fréquent (88).

La prise en charge thérapeutique du SHU lié au pneumocoque repose sur l'antibiothérapie. L'amoxicilline est utilisée en première intention. La durée du traitement varie en fonction de la présence ou non des complications pulmonaires. Parallèlement, des mesures symptomatiques sont mises en place pour traiter les symptômes respiratoires et améliorer la fonction pulmonaire (89).

### **6.2.5.2. Virus de l'immunodéficience humaine**

L'incidence rapportée des MAT chez les personnes infectées par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est 15 à 40 fois plus élevée que dans la population générale. Avant l'ère des trithérapies antirétrovirales, elle était de 1,4 % à 7%, mais elle est devenue exceptionnelle actuellement, estimée à 0.3%. Par conséquent, l'infection par le VIH est un facteur de risque de MAT. De plus, un diagnostic de MAT doit déclencher systématiquement une recherche d'une infection VIH (66,158,161).

La MAT chez les patients VIH+ est induite par plusieurs facteurs. Le VIH exerce une toxicité directe sur les cellules endothéliales, avec l'expression de l'antigène p24 par les cellules endothéliales. Par ailleurs, les lymphocytes B exposés au VIH libèrent des cytokines telles que le TNF- $\alpha$ , l'IL-6 et l'IL-1. Ces cytokines favorisent la coagulation et inhibent la fibrinolyse (161,162).

Les patients atteints du VIH présentent une augmentation des complexes immuns circulants, une augmentation de la production du facteur de fibrinolyse et des IgG antiplaquettaires, ce qui entraîne une activation plaquettaire (162).

Les patients atteints de MAT associée à une infection par le VIH présentent une symptomatologie clinique et un pronostic similaires à ceux des patients atteints de MAT non associée au VIH. En revanche, la MAT liée à une infection VIH est caractérisée par une apparition brutale liée au déficit immunitaire (66).

Il existe deux formes cliniques de MAT-VIH+ : l'une, très rare, qui survient à un stade tardif de l'infection, et l'autre, précoce, parfois révélatrice de l'infection. Les patients en phase d'immunosuppression profonde avec un taux CD4 < 200/mm<sup>3</sup> présentent un tableau d'installation progressive sur quelques semaines (161).

En phase d'immunosuppression avancée, les infections opportunistes (CMV, pneumocystose, HHV6/HHV8 ou sepsis) sont des facteurs déclencheurs de MAT chez les personnes VIH+ car ils contribuent à la toxicité endothéliale. Chez les patients en reconstitution immunitaire, des manifestations auto-immunes peuvent se produire, entraînant de véritables tableaux de MAT (66,161). Les infections opportunistes sont fréquentes et les cytopénies multifactorielles, parfois centrales, compliquent le diagnostic (163).

Le diagnostic et la mise en place d'un traitement au cours d'une MAT, particulièrement chez les patients VIH+, est une urgence. Le traitement comprend des échanges plasmatiques quotidiens, des immunomodulateurs, le traitement des infections sous-jacentes et l'optimisation de la trithérapie antirétrovirale (66,161).

Généralement, les patients atteints de PTT lié au VIH ont un bon pronostic associé à une survie allant de 75 à 96%. Le délai de normalisation des plaquettes est comparable à celui observé chez des patients ayant un PTT idiopathique (158). Cependant, les autres formes de MAT qui surviennent chez les patients VIH+, avec un taux de CD4+ <100 mm<sup>3</sup>, ont un pronostic moins favorable et sont souvent associées à des pathologies opportunistes avec un taux de survie inférieur à 50% (89,158).

#### **6.2.5.3. Coronavirus**

En 2020, le monde a été confronté à la pandémie de COVID-19, une maladie causée par le SARS-CoV-2. Des études expérimentales chez la souris avaient déjà identifié le système du complément comme un facteur important dans les lésions tissulaires causées par le SRAS-CoV-2 lors de l'épidémie. De plus en plus de preuves suggèrent que l'activation du complément, associée à des troubles de la coagulation, est l'un des mécanismes responsables des lésions tissulaires et de l'atteinte des cellules endothéliales lors de l'infection par le SRAS-CoV-2. Des rapports d'autopsie de patients atteints de COVID-19 ont également identifié des signes d'activation du complément dans la vascularisation pulmonaire (100).

La dérégulation du complément, déclenchée directement par l'infection par le SRAS-CoV-2, peut conduire à la production excessive de composants du complément, tels que le C5a. De plus, la sur-stimulation de la voie de la lectine semble jouer un rôle dans la pathogenèse des événements thrombotiques (100).

#### **6.2.6. Greffe**

La microangiopathie thrombotique post-transplantation est une affection grave, bien qu'elle soit rare. Elle peut survenir de novo, dans 90% des cas, en raison de divers mécanismes pathogènes, ou se manifester comme une récurrence du syndrome hémolytique et urémique atypique dans 10% des cas, résultant d'une dérégulation du système du complément, parfois non diagnostiquée avant la transplantation (163).

Les MAT post-greffe les plus rapportées dans la littérature sont essentiellement liées à des transplantations rénales ou à des greffes de cellules souches hématopoïétiques (161).

La MAT post-greffe est observée dans 0,8 à 14 % des greffes du rein (163). Par ailleurs, il s'agit d'une complication bien connue de la greffe de cellules souches hématopoïétiques depuis les années 1980 (91). Son incidence varie entre 10 et 35%. Elle survient en moyenne

42 jours après la greffe (161). Cependant, le diagnostic peut être retardé et confondu par les cytopénies attendues et les toxicités des organes cibles (164).

#### **6.2.6.1. Pronostic**

La MAT post-greffe est de mauvais pronostic, entraînant un taux de perte de greffe de 33 à 40 % au cours des 2 premières années de la greffe de rein (163). La mortalité est estimée à 75 %. La majorité des patients décèdent dans les 3 mois suivant le diagnostic (164).

La survie à un an chez les patients ayant eu une greffe de cellules souches hématopoïétiques est de l'ordre de 70%. Cette survie diminue en cas de MAT à 30%, voire 10% en cas d'atteintes multiviscérales (161).

#### **6.2.6.2. Le risque de récurrence d'un SHU atypique post-greffe**

La récurrence d'un SHU après une transplantation est extrêmement rare dans les formes typiques post-diarrhéiques. En revanche, elle est observée chez environ 25% des cas dans des contextes de SHU atypique. Le délai entre le début de la maladie et la transplantation n'a pas d'incidence sur le risque de récurrence. Cependant, la majorité des cas de rechutes se produisent précocement, au cours des premières semaines suivant la transplantation. Le pronostic en cas de récurrence est mauvais, avec une perte probable du greffon (88).

Le risque de récurrence du SHU atypique après une greffe est augmenté en cas de mutation CFH, entre 75% et 90%. Cependant, il est plus faible en cas de mutation de MCP car le greffon apporte la protéine MCP non mutée (76).

L'utilisation prophylactique de l'écilizumab permet de réduire le taux de récurrence post-transplantation de 49% à 12 % chez les patients atteints de SHU atypique, réduisant ainsi la probabilité de perte de greffon et augmentant considérablement le nombre de greffe du rein chez des patients atteints de SHU atypique (163).

#### **6.2.6.3. Physiopathologie**

La MAT post greffe est un syndrome d'activation anormale des cellules endothéliales. Les lésions endothéliales entraînent une augmentation des cytokines pro-inflammatoires, des facteurs pro-coagulants et des molécules d'adhésion solubles, qui favorisent d'autres lésions endothéliales et initient la cascade du complément (163).

Le rôle du complément a été signalé dans la physiopathologie de la MAT post greffe. On retrouve une activation des voies classique et alterne du complément. La biopsie rénale montre une présence fréquente de dépôts de C4d. On retrouve également des anticorps anti-facteur H (161).

L'insuffisance rénale chronique est une complication fréquente à long terme de la greffe de cellules souches hématopoïétiques. Il est probable que cette IRC soit liée à une MAT de bas grade (95). L'exposition des reins aux radiations dans le cadre du conditionnement pré-greffe endommage la microcirculation vasculaire rénale. C'est la principale cause de lésions rénales (95). Les lésions endothéliales peuvent également être causées par l'action des lymphocytes T cytotoxiques du donneur (91).

Les lésions retrouvées à la suite de la transplantation rénale sont probablement liées au syndrome d'ischémie-reperfusion qui associe des processus lésionnels d'origines biochimiques liés au stress oxydant et immunologiques en rapport avec le recrutement et l'activation de cellules de l'immunité innée. Les lésions histologiques associent notamment une nécrose tubulaire aiguë et un œdème interstitiel, qui peuvent évoluer vers une fibrose

interstitielle. L'importance de ces lésions dépend notamment des caractéristiques du donneur et de la durée d'ischémie. À court terme, les conséquences délétères du syndrome d'ischémie-reperfusion se traduisent principalement par une reprise différée de la fonction rénale. À plus long terme, la durée d'ischémie a aussi un impact sur la survie du greffon (165).

La MAT post greffe peut être liée également à une origine médicamenteuse. Le risque est plus élevé avec la cyclosporine qu'avec le tacrolimus. En effet, La cyclosporine provoque la libération de microparticules par les cellules endothéliales qui activent la voie alternative du complément (163).

La MAT liée à la transplantation peut être associée également au rejet médié par des anticorps. Les anticorps spécifiques du donneur se lient aux antigènes leucocytaires du patient greffé et activent la voie classique du complément via le C1q, conduisant à l'activation de la C4 et la C3. Le dépôt de C3b sur la membrane des cellules endothéliales déclenche l'activation de la voie alterne du complément avec la génération du complexe d'attaque membranaire, qui induit une lyse cellulaire (163).

En outre, les infections virales peuvent déclencher la MAT post greffe en raison du tropisme endothélial de certains virus, particulièrement le cytomégalovirus. Ces virus peuvent induire l'expression de molécules d'adhésion et la libération du facteur von Willebrand, provoquant l'adhésion plaquettaire et la thrombose microvasculaire. Le traitement par ganciclovir intraveineux et échange plasmatique dans ce contexte semble être efficace (163).

L'infection par le parvovirus, le virus de l'hépatite C et les infections fongiques ont été également décrit dans un contexte de greffe rénale (163).

#### **6.2.6.4. Facteurs de risque**

La chimiothérapie concomitante, les traitements immunosuppresseurs notamment les anticalcineurines et les inhibiteurs de mTOR, la présence d'une maladie du greffon contre l'hôte, la présence d'un état pro-coagulant et l'infection sont les principaux facteurs de risque de la MAT post greffe, souvent associés entre eux (91,95,158,161,163).

Par ailleurs, l'utilisation de greffon de donneurs décédés a été associée à un risque plus élevé de MAT et de l'activation du complément car on observe une augmentation significative de l'expression des facteurs du complément, tels que C1, C3 et CFB, dans les biopsies rénales des donneurs décédés d'une mort cérébrale par rapport aux biopsies de donneurs vivants. L'ischémie prolongée chez ce type de donneur aggraverait les lésions endothéliales du greffon et augmenterait l'activation du complément et les dommages secondaires (163).

#### **6.2.6.5. Signes cliniques et biologiques**

La MAT post greffe de cellules souches hématopoïétiques se caractérise par une augmentation lente de la créatinine sérique, une hypertension et une anémie (95).

Les manifestations de la MAT post-greffe sont variables, allant d'une atteinte intra-rénale isolée à une atteinte systémique. Dans le cas de la MAT systémique, on retrouve généralement la triade caractéristique : une thrombopénie, une anémie hémolytique accompagnée d'une augmentation de la lactate déshydrogénase, d'une diminution de l'haptoglobine et de la formation de schizocytes, ainsi qu'une insuffisance rénale aiguë (95). Ces symptômes ont été observés chez 18 à 62 % des patients atteints de MAT après une greffe. La forme localisée peut se présenter sous la forme d'une insuffisance rénale aiguë isolée ou d'une forme chronique caractérisée par un dysfonctionnement progressif du greffon, une protéinurie ou une hypertension artérielle maligne. Le diagnostic de cette forme localisée

ne peut être confirmé que par une biopsie rénale. La biopsie rénale met en évidence la présence de thrombi occlusifs de fibrine intraluminale ainsi que des signes d'activation des cellules endothéliales, tels que l'œdème endothélial, des hématies fragmentées dans les capillaires et des microanévrismes. Cependant, l'absence de thrombi dans la biopsie n'exclut pas la MAT (161,163).

La MAT post-greffe peut se manifester à tout moment, mais elle se développe principalement dans les trois premiers mois suivant la transplantation, plus particulièrement, au cours des premières semaines (86). La MAT systémique a tendance à apparaître au début de la période post-transplantation, tandis que la forme localisée peut survenir à n'importe quel stade après la transplantation (163).

#### **6.2.6.6. Prise en charge et traitement**

Le traitement de la MAT post greffe de novo est basé sur la correction de la cause potentielle de la maladie et varie en fonction du moment de son apparition. Il est essentiel de prévenir l'hypo-perfusion du rein en réduisant au maximum la durée de l'ischémie lors du prélèvement d'organe (161,163).

Dans un contexte de MAT liée aux médicaments immunosuppresseurs, il est recommandé de réduire ou d'arrêter le médicament incriminé et de switcher vers un autre traitement immunosuppresseur. Cependant, le risque de rejet aigu de greffe de rein est plus élevé dans ce cas (163).

Les échanges plasmatiques sont utilisés pour traiter le SHU atypique post-greffe car ils éliminent les molécules vasoconstrictrices telles que le thromboxane A2 et les protéines mutantes du complément et fournit des facteurs déficients tels que les composants du complément fonctionnant normalement. Cependant, la réponse aux échanges plasmatiques de la MAT post greffe de cellules souches hématopoïétique est faible et n'excède pas les 30% (158).

Par ailleurs, l'utilisation de l'éculizumab est préconisée lors d'une MAT liée au VIH (163).

#### **6.2.7. Maladies systémiques**

La MAT a été observée dans divers maladies systémiques telles que le lupus érythémateux disséminé (LED), le syndrome des antiphospholipides (SAPL), la sclérodermie systémique (SS), la maladie de Still, la polyarthrite juvénile ou des vascularites à ANCA (anticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles). La physiopathologie de la MAT dans les maladies auto-immunes est complexe et multifactorielle (80,88,100).

L'étude rétrospective menée sur 564 patients au Centre Hospitalier Universitaire de Tours a identifié des maladies auto-immunes chez 48 des 564 patients (9 %). Les causes les plus fréquentes étaient le lupus, le syndrome catastrophique des anticorps anti-phospholipides et la sclérose systémique. Parmi les patients atteints de MAT dues à des maladies auto-immunes, les anticorps antinucléaires faisaient partie du bilan diagnostique chez 88 % des patients, et ils étaient présents chez 76 %. Le test direct de Coombs a été réalisé chez 14% des patients et positif chez 36% d'entre eux (159).



### **6.2.7.1. Lupus érythémateux disséminé**

Chez les patients atteints de lupus érythémateux disséminé (LED), la MAT peut se limiter aux reins ou présenter des caractéristiques systémiques. La MAT est une manifestation rare du LED, se produisant chez 3 % à 9 % des patients, et elle est associée à une évolution rénale défavorable, indépendamment de la présence d'anticorps antiphospholipides (100).

Le système du complément dans le LED semble avoir un rôle double et paradoxal. D'une part, il joue un rôle protecteur en éliminant les cellules apoptotiques et les complexes immuns. D'autre part, il peut avoir un rôle pathogène en amplifiant la réponse inflammatoire (100).

Des anomalies génétiques dans les gènes de la voie alterne du complément ont également été associées au lupus érythémateux disséminé et à la néphrite lupique. Ces anomalies peuvent inclure des mutations dans les gènes du facteur H, facteur I, ainsi que des délétions dans les gènes CFHR1-CFHR3, éventuellement en raison de la présence d'anticorps anti-facteur H (100).

### **6.2.7.2. Syndrome des antiphospholipides**

Le syndrome des antiphospholipides peut se manifester de manière isolée ou en association avec d'autres maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux disséminé (100).

Indépendamment de la présence de la MAT dans le SAPL, on a identifié un rôle de l'activation du complément sur les cellules endothéliales dans l'état d'hypercoagulabilité des patients présentant des anticorps antiphospholipides (100).

Des niveaux élevés de C5b-9 soluble et d'autres produits du complément en amont de C5 ont été observés chez les patients atteints de syndrome catastrophique des anticorps antiphospholipides. Le traitement par l'éculizumab et une bonne réponse à l'inhibition du complément a été constatée en quelques heures (100).

### **6.2.7.3. Sclérodémie systémique**

La sclérodémie peut entraîner une atteinte rénale, une thrombopénie et une anémie hémolytique associée à une MAT avec ou sans hypertension maligne, ce qui est connu sous le nom de crise rénale sclérodémique (CRS). La CRS survient chez moins de 5% des patients atteints de sclérodémie systémique.

L'utilisation de stéroïdes est un facteur de risque de CRS, et les infections virales, telles que la grippe B, peuvent déclencher la crise. La physiopathologie de la CRS n'est pas entièrement élucidée, mais elle implique le complexe majeur d'histocompatibilité de classe I, des cellules B et T, des anticorps dirigés contre le récepteur 1 de l'angiotensine 2 et l'ARN polymérase III. Ces facteurs pourraient jouer un rôle dans l'activation des cellules endothéliales, la surexpression de l'endothéline-1 et l'activation du complément, comme en témoigne le dépôt de C4d dans les capillaires péricapillaires et la mise en évidence du C3b dans les biopsies rénales des patients atteints de CRS (100).

### **6.2.8. Hypertension artérielle maligne**

L'hypertension artérielle maligne est caractérisée par une hypertension artérielle sévère, supérieure ou égale à 140 mm Hg pour la pression artérielle systolique et/ou supérieure ou égale à 90 mm Hg pour la pression artérielle diastolique, accompagnée d'une défaillance ischémique d'un ou plusieurs organes due aux modifications microvasculaires induites par la pression élevée (100,166,167).

L'hypertension artérielle maligne constitue un véritable problème de santé publique de par sa prévalence élevée, sa mortalité et ses complications évolutives : cardiaques, oculaires, cérébrales et rénales (166).

Le critère de diagnostic le plus couramment retenu est la présence d'une hypertension artérielle élevée (> 180/120 mm Hg) accompagnée d'une atteinte rétinienne de grade III ou de grade IV selon la classification de Keith-Wagener-Barker (167).

En l'absence de traitement efficace, la mortalité des patients peut atteindre 80%. L'incidence de l'hypertension artérielle maligne est estimée à environ 2 à 3 cas pour 100 000 habitants (167).

L'hypertension artérielle maligne est une complication évolutive d'une hypertension artérielle essentielle, souvent mal ou non traitée. Dans un quart des cas, l'hypertension artérielle maligne est associée à une insuffisance rénale chronique avancée voire terminale. Environ 25% des cas d'hypertension maligne sont attribués à une cause secondaire, incluant des affections telles que la pyélonéphrite chronique, la glomérulonéphrite aiguë, la microangiopathie thrombotique, l'éclampsie, l'utilisation de substances toxiques (cocaïne, amphétamines et dérivés), la crise rénale sclérodermique et le sevrage de la clonidine (167).

Plusieurs cas de MAT induite par l'hypertension maligne ont été rapportés dans la littérature (168).

Une étude rétrospective, descriptive réalisée de janvier 2013 à décembre 2018 dans le service de néphrologie du CHU de Treichville, a inclut 168 cas d'HTA maligne. Des cas de MAT ont été observés dans cette étude. Cette MAT s'accompagne de thrombopénie chez un tiers des patients (166).

La physiopathologie de l'hypertension artérielle maligne est principalement liée à la cinétique de l'élévation de la pression artérielle. Lorsque l'élévation de la pression artérielle est rapide et brutale, les mécanismes d'autorégulation sont dépassés, entraînant des lésions de l'endothélium vasculaire. En effet, la vasoconstriction des artères de calibre moyen, qui normalement protège la circulation en aval, devient insuffisante. Cela conduit à une augmentation des forces de cisaillement transmises à la paroi des vaisseaux sanguins de petit calibre, ce qui provoque des lésions des cellules endothéliales (167,168).

Les conséquences de ces lésions endothéliales incluent une hyperperméabilité de la barrière endothéliale, entraînant l'accumulation extravasculaire de protéines plasmatiques, de plaquettes et de fibrinogène, ainsi qu'une obstruction progressive de la lumière vasculaire, conduisant à une ischémie des territoires en aval. De plus, le contact entre les protéines sous-endothéliales entraîne une activation plaquettaire, ainsi qu'une activation des voies de la coagulation, pouvant provoquer par la suite une hémolyse des globules rouges, une thrombopénie de consommation et un véritable processus de microangiopathie thrombotique (167,168).

Des études récentes ont mis en évidence la présence notable d'anomalies du complément chez les patients présentant une MAT associée à une hypertension maligne (100).

Dans une étude portant sur une série de 26 patients atteints d'une MAT associée à une hypertension maligne, il a été observé que 35% des patients présentaient des mutations dans les gènes du complément. De plus, des mutations ont également été rapportées dans les gènes codant pour les protéines régulatrices de la voie alternative du complément. Par ailleurs, des dépôts solubles et glomérulaires de C5b-9 ont été identifiés chez les patients atteints d'hypertension maligne qui développent une MAT. Les patients présentant des dépôts

glomérulaires massifs de C5b-9 avaient une évolution plus fréquente vers une insuffisance rénale terminale par rapport à ceux ayant des dépôts mineurs, indépendamment du statut génétique du complément (72% contre 38%). De plus, les patients présentant une activation significative du complément avaient également une plus grande prévalence de thrombus glomérulaires (100).

L'atteinte rénale dans l'hypertension artérielle maligne apparaît plus tardivement que les atteintes rétinienne et cérébrales, allant d'anomalies simples du sédiment urinaire à une atteinte rénale majeure microangiopathique (167).

Dans une étude menée sur 97 patients atteints d'hypertension maligne, il a été constaté qu'un tiers des patients présentaient une MAT, parmi lesquels 56% nécessitaient une dialyse. En revanche, dans le groupe de patients ne présentant pas de MAT, seulement 3% avaient besoin de dialyse (100).

Le diagnostic différentiel entre une microangiopathie thrombotique secondaire à l'hypertension artérielle et une hypertension artérielle maligne secondaire à une microangiopathie thrombotique primitive est un défi diagnostique. Dans le cas d'une microangiopathie thrombotique secondaire à l'hypertension artérielle, la normalisation de la pression artérielle permet généralement d'arrêter le processus de microangiopathie. En revanche, dans le cas d'une microangiopathie thrombotique "primitive", un bilan étiologique et des échanges plasmatiques sont nécessaires en urgence. Environ 10% des microangiopathies thrombotiques "primitives" évoluent vers une hypertension artérielle maligne (167).

## 7.Problématique et objectifs

---

Cette deuxième partie présente l'objectif de cette étude, la méthode employée pour réaliser la sélection et le traitement de données ainsi que les résultats et leur interprétation en fonction des données de la littérature.

### 7.1. Problématique

La valeur normale des schizocytes est inférieure à 0.2% chez un adulte sain, 0.6% chez les patients souffrant d'une insuffisance rénale, 0.45% chez les femmes dans un contexte de prééclampsie et 0.48% chez les patients avec des prothèses valvulaires fonctionnant normalement (29,30). La présence de rares schizocytes, observée au niveau des frottis sanguins des personnes saines, est due à des interférences pré-analytiques qui s'explique par des cassures d'hématies lors du prélèvement (utilisation de tubes avec vide) et/ou lors de l'étalement du sang sur la lame à la suite d'une pression mécanique qui induit cette fragmentation.

Par ailleurs, le groupe de travail sur les schizocytes de l'ICSH a convenu qu'un pourcentage de schizocytes supérieur à 1% (10 schizocytes sur 5 champs de 200 hématies) dans un frottis sanguin périphérique chez l'adulte constitue une indication cytomorphologique solide en faveur d'un diagnostic de microangiopathie thrombotique, en l'absence de caractéristiques supplémentaires suggérant un diagnostic alternatif (29).

Cependant, on est souvent confronté à des pourcentages intermédiaires, en dessous du seuil de significativité fixé à 1% et au-dessus des valeurs normales fixées entre 0.2% et 0.5% en fonction du contexte clinique.

En outre, les variations inter-opérateurs lors du décompte de schizocytes sont souvent importantes au niveau du même frottis sanguin malgré les recommandations de l'ICSH pour l'identification microscopique des schizocytes

### 7.2. Objectifs

Ce travail vise à étudier la valeur diagnostique de la recherche des schizocytes, en réalisant une étude rétrospective des dossiers cliniques des patients du centre hospitalier universitaire de Limoges et au centre hospitalier de Brive en se focalisant notamment sur des valeurs seuils prédéfinies : moins de 0.5%, de 0.5 à 1%, de 1 à 1.5%, de 1.5 à 2% et plus de 2%. L'objectif de cette étude est de classer les étiologies en fonction du taux de schizocytes, en particulier dans les cas où la valeur est inférieure au seuil de significativité et supérieure au seuil de normalité.

De plus, ce mémoire vise à évaluer la robustesse de la méthode de comptage microscopique des schizocytes, en réalisant une étude de reproductibilité inter-observateurs au CHU de Limoges.

## 8. Matériels et méthodes

---

### 8.1. Type de l'étude

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective des cas de patients avec une schizocytose circulante. Les données ont été recueillies de la base de données informatisée du CHU de Limoges sur une durée de 21 mois, entre le 1er janvier 2021 et 30 septembre 2022.

En outre, les patients ayant eu une recherche de schizocytes  $\geq 0.5\%$  entre le 1er novembre 2022 et le 30 avril 2023 du CH de Brive ont été étudiés.

### 8.2. Critères d'inclusion

Tous les patients du CHU de Limoges et au CH de Brive avec un résultat de schizocytes supérieur ou égal à 0.5%, durant les périodes d'études respectives, ont été inclus dans l'étude.

### 8.3. Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion comprennent tous les patients avec un taux de schizocytes inférieur à 0.5%.

### 8.4. Recueil et traitement des données

Cette étude a nécessité l'extraction de données à partir du logiciel GLIMS version 9 qui est un système d'information de laboratoire (SIL) qui permet d'organiser et d'automatiser tous les processus : de la saisie des prescriptions au traitement des résultats, en passant par le contrôle des appareils, la facturation et les statistiques.

Il convient de noter que la recherche de schizocytes s'effectue en réponse à une demande des cliniciens, à la découverte d'une thrombopénie ou à une alarme émise par la chaîne automatisée Sysmex. Si le résultat dépasse le seuil défini au laboratoire du CHU de Limoges, fixé à 0,5 %, une seconde recherche est effectuée par le biologiste ou l'interne valideur pour corroborer le premier résultat. Cette étape comprend une étude morphologique du frottis sanguin et une évaluation du dossier clinico-biologique. La réponse à la recherche de schizocytes est rendue quantitativement s'il s'agit d'une anomalie dominante des globules rouges et/ou dans le cadre d'un suivi de la pathologie pour permettre l'évolution. Cependant, dans un contexte d'une aniso-poïkilocytose, le résultat des schizocytes est rendu qualitativement. Le résultat est rapidement communiqué au clinicien compte tenu de l'urgence diagnostique et thérapeutique, et des analyses complémentaires sont requises, telles qu'un bilan d'hémolyse, un suivi de la schizocytose et de la numération plaquettaire.

### 8.5. Classement des étiologies

Les patients ont été classés suivant les étiologies de la schizocytose en se basant sur leurs données cliniques et biologiques, à l'aide des logiciels GLIMS version 9 et Crossway pour le recueil des données cliniques. Les cliniciens spécialisés en hématologie clinique et en néphrologie ont été sollicités pour mieux hiérarchiser les cas complexes parmi les patients. En cas de multiples mesures consécutives de schizocytes pour un patient, la valeur la plus élevée a été retenue.

Les données ont été collectées puis retranscrites dans le logiciel Microsoft Excel. Le recueil des données des patients consiste à recueillir les informations suivantes :

Tableau 6 : Recueil de données des patients

Identité du patient	Paramètres biologiques	Paramètres cliniques	Analyses complémentaires
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nom</li> <li>- Prénom</li> <li>- Date de naissance</li> <li>- Age</li> <li>- Sexe</li> <li>- N° GLIMS</li> <li>- N° IPP (Identifiant Permanent du Patient)</li> <li>- Date du prélèvement</li> <li>- Service prescripteur</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Taux de plaquettes</li> <li>- Volume plaquettaire moyen</li> <li>- Taux d'hémoglobine</li> <li>- Taux de réticulocytes</li> <li>- Taux d'érythroblastes</li> <li>- Taux de LDH</li> <li>- Bilirubine libre</li> <li>- Haptoglobine</li> <li>- Test de Coombs érythrocytaire</li> <li>- Taux de fer sérique</li> <li>- Ferritine</li> <li>- Pourcentage de schizocytes rendu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Signes cliniques</li> <li>- Médicaments / toxines (tabac, alcool, drogue)</li> <li>- Étiologie probable de la présence de schizocytes</li> <li>- Prise en charge</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Électrophorèse des protéines sériques</li> <li>- Sérologies (VHB, VHC, VIH, Toxoplasmose, fièvre Q, rubéole, EBV)</li> <li>- Bilan hépatique</li> <li>- Bilan rénal</li> <li>- Dosage vitamine B12/ vitamine B9</li> <li>- ADAMTS-13</li> <li>- Coproculture / recherche de shigatoxine dans les selles</li> <li>- Analyse d'hémoglobine</li> <li>- Recherche d'anticorps anti-membrane basale glomérulaire (Ac anti-MBG)</li> <li>- Dosage du CH50, C3, C4 du complément</li> <li>- Moelle osseuse (Cytologie, biologie moléculaire, immunophénotypage, cytogénétique)</li> </ul>

## 8.6. Relecture des frottis sanguins

Les frottis sanguins des patients avec un taux de schizocytes supérieur ou égale à 0.5% ont été repris des archives de lames du CHU de Limoges. Les frottis sanguins des patients ayant un taux de schizocytes inférieur à 0.5% et des antécédents récents de numération de schizocytes supérieure à 0.5% ont été inclus également dans l'étude. Il s'agit de frottis sanguins réalisés par la chaîne de cytologie automatisée. Nous n'avons pas constaté de différence significative entre les frottis manuels et les frottis automatisés sur une petite série de frottis sanguins avec un résultat de schizocyte < 2%. Ces données ne seront pas présentées dans notre étude du fait de la taille limitée de l'échantillon étudié.

De plus, des frottis sanguins de témoins négatifs ont été inclus dans l'étude afin d'éviter le biais de mesure. Ceci permet d'éviter que les résultats rendus par les lecteurs soient impactés par la certitude de la présence de schizocytes au niveau des frottis étudiés.

Trois relectures à l'aveugle ont été réalisées pour minimiser le biais de l'expérimentateur. Ce biais se produit lorsque l'expérimentateur influence les résultats de l'étude en agissant de manière partielle ou en ayant des attentes préconçues. En effectuant la lecture des frottis sanguins à l'aveugle, le lecteur n'est pas informé des résultats rendus ni du contexte clinique et biologique.

L'ordre de lecture des lames de frottis sanguins est attribué par randomisation en utilisant le site « Tirage-au-sort.net » afin d'éviter le biais de sélection.



Figure 36 : Frottis sanguins anonymisés des patients inclus dans l'étude

Conformément aux recommandations du groupe de travail sur les schizocytes de l'ICSH, le décompte des schizocytes est réalisé au microscope, après coloration au May-Grünwald-Giemsa, sur 1000 hématies ce qui signifie une lecture sur 5 champs de 200 hématies à fort grossissement (objectif x100 à immersion d'huile) dans des zones de lecture optimales, où les globules rouges commencent tout juste à se séparer les uns des autres et à distance des franges car les formes habituelles des schizocytes disparaissent quasi-totalement à la fin du frottis et perdent leurs spicules, leurs angles et leur aspect fragmenté.

La relecture des lames des frottis sanguins a été réalisée par un biologiste, un technicien et un interne. Chaque lecteur inscrivait le nombre de schizocytes compté sur une feuille qu'il introduisait dans une enveloppe. Cette dernière était immédiatement fermée. L'ensemble des

enveloppes n'ont été ouvertes qu'à la fin des relectures pour éviter tout biais de confusion (Figure 37).

Afin d'éviter le biais de détection, la sensibilisation préalable des observateurs sur les différentes formes de schizocytes n'a pas été réalisée. Toutefois les 3 relecteurs choisis avaient fait l'objet d'une habilitation à la lecture des frottis sanguins depuis plus d'un an.

L'ensemble de ces données ont été renseigné dans un tableur Excel qui a permis de créer les représentations graphiques des données. Le logiciel SPSS version 25 a été utilisé pour effectuer les tests statistiques.



Figure 37 : Enveloppes fermées contenant les résultats des 3 lecteurs

## 8.7. Statistique

Le seuil de significativité est fixé à 0.05. Des statistiques descriptives seront présentées pour les variables quantitatives. La vérification de la normalité de la distribution des données sera effectuée par le test de Shapiro-Wilk. Un test de Shapiro-Wilk avec un p-value  $> 0,05$  permet de conclure que les données suivent la loi normale.

Nous allons vérifier la corrélation entre certaines variables (âge, nombre de schizocyte, plaquettes, marqueurs d'hémolyse) (selon les objectifs définis ci-dessus) à l'aide du test paramétrique de corrélation de Pearson (si les données suivent la loi normale) ou le test non paramétrique de corrélation de Spearman (si les données ne suivent pas la loi normale).

Concernant la reproductibilité de la numération des schizocytes inter-évaluateurs, nous allons utiliser le coefficient de corrélation intra-classe (ICC) pour évaluer la corrélation entre les 4 évaluateurs (3 lecteurs de l'étude et le résultat rendu). Les comparaisons par paire d'évaluateurs seront effectuées à l'aide des tests de corrélation de Pearson (si les données suivent la loi normale) ou le test de corrélation de Spearman (si les données ne suivent pas la loi normale). Nous présenterons aussi les comparaisons par paire d'évaluateurs à l'aide des graphiques de Bland Altman.



## 9. Résultats

### 9.1. CHU de limoges

#### 9.1.1. Nombre de patients inclus dans l'étude

L'extraction des données GLIMS a permis de recenser 2144 recherches de schizocytes en 21 mois. Les résultats inférieurs à 0.5% ont été exclus. Au final, 327 résultats ont été retenus. Cependant, il convient de noter que les lames de frottis sanguins ne sont conservées aux archives du laboratoire du CHU de Limoges que dans deux cas spécifiques : lorsque le clinicien prescrit une étude morphologique (EM) ou lorsque le biologiste valideur ajoute une EM en cas de découverte d'une anomalie morphologique. Par conséquent, toutes les lames de frottis sanguins n'ont pas été incluses dans cette étude, car certaines n'ont pas été encodées en tant que « EM » et n'ont donc pas été archivées, en particulier lorsqu'il s'agissait de cas de suivi. Par conséquent, 110 lames ont été retrouvées au total.

Par ailleurs, une lame de frottis sanguin a été exclue de l'étude car il s'agissait d'un doublon. En effet, une erreur s'était produite lors de l'étalement du frottis sanguin par la chaîne de cytologie automatisée Sysmex engendrant un frottis de mauvaise qualité. Ceci a été signalé par la chaîne de cytologie et un nouveau frottis a été réalisé. Cependant, les deux lames de frottis sanguin ont été archivées par erreur au laboratoire du CHU de Limoges. Au final, 109 lames ont été incluses dans l'étude dont 70 patients. Ensuite, 13 lames de témoins négatifs ont été incluses. Le nombre total de frottis sanguin inclus dans cette étude est 122.

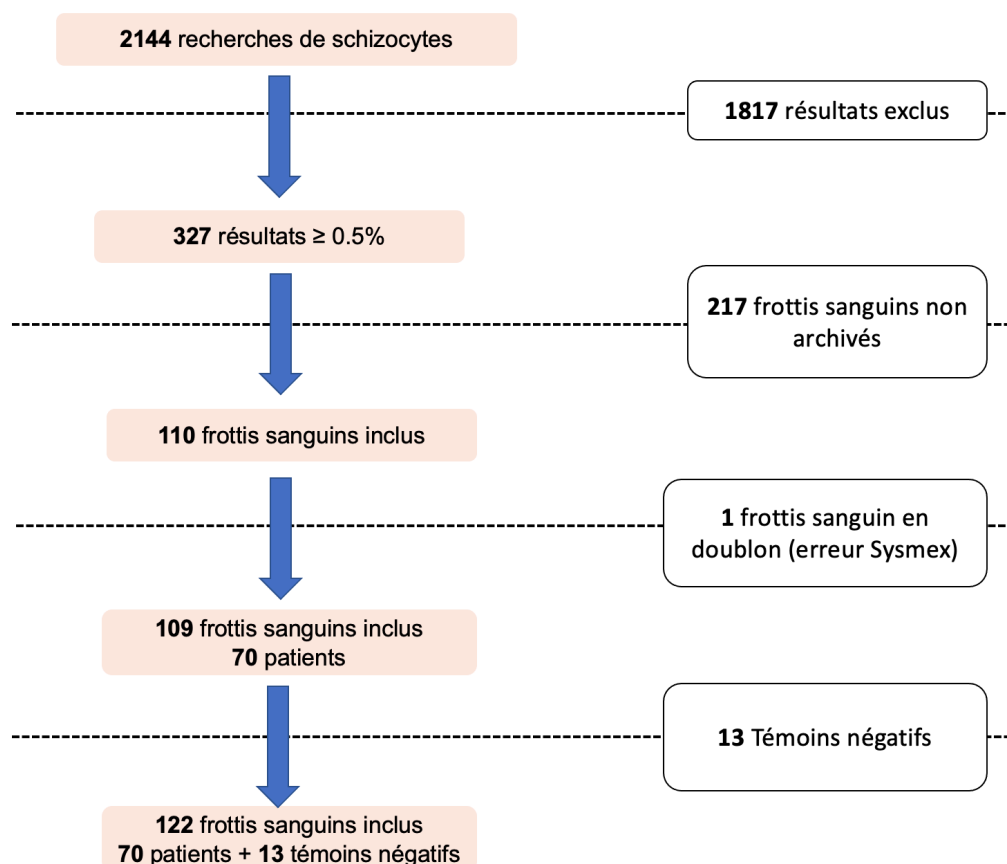


Figure 38: Diagramme illustrant l'inclusion et l'exclusion de l'étude

A la fin des relectures à l'aveugle, l'analyse des dossiers cliniques a permis d'exclure 8 patients car la moyenne des relectures et du résultat rendu était inférieure à 0.5% et de classer 6 patients en diagnostic différentiel. Au final, 56 patients ont été retenus au total avec 93 frottis sanguin.

Dans un 2ème temps, cette étude s'est focalisée sur l'analyse des données patients ayant un taux de schizocytes entre 0.5% et 2%.

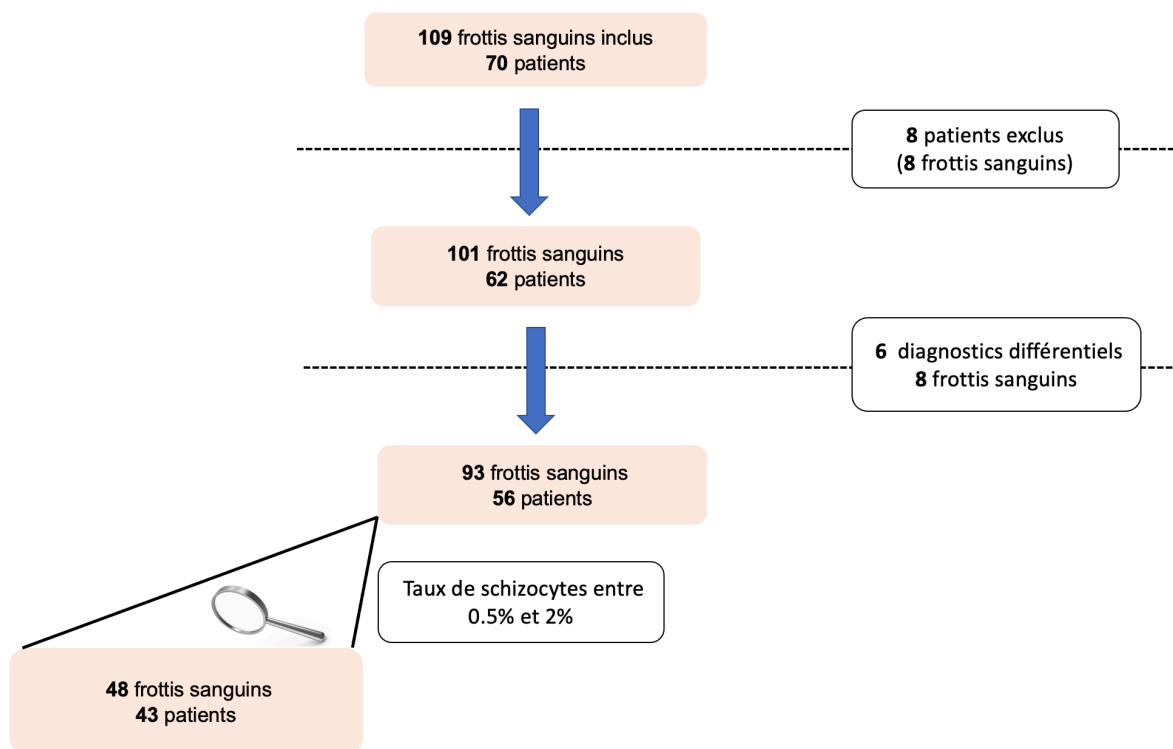


Figure 39 : Diagramme illustrant la méthode d'étude des données patient après la relecture des frottis sanguins

## 9.1.2. Statistique

### 9.1.2.1. Population globale

#### 9.1.2.1.1. Genre

Sur les 62 patients étudiés, nous avons recensé 31 femmes et 31 hommes. De ce fait la population d'étude est homogène avec un sexe ratio H/F égal à 1.

#### 9.1.2.1.2. Âge

L'âge des 62 patients inclus dans l'étude varie entre 4 mois et 91 ans avec une médiane de 63.5 ans. Le nombre de recherches positives ( $\geq 0.5\%$  schizocytes) est plus important dans les tranches d'âge [60-70], [70- 80] et [80- 90], respectivement 27%, 16% et 11%. La fréquence de schizocytose positive est également importante chez les enfants entre 0 et 9 ans (11%). Par ailleurs, elle est plus faible dans les tranches d'âge [20-30] et [90-100], respectivement 5% et 3%. Enfin, elle est comparable pour les autres tranches d'âge (autour de 9%) (Figure 40).

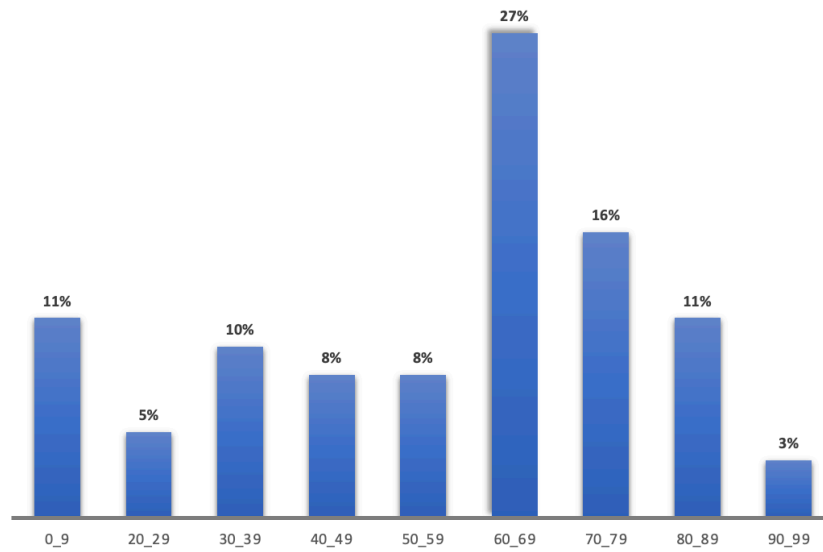


Figure 40 : Nombre de recherche de schizocyte  $\geq 0.5\%$  en fonction de la tranche d'âge

Nous avons utilisé le test de corrélation de Pearson afin d'évaluer la relation entre l'âge et le taux de schizocytes rendu. Nous avons retrouvé une p-value égale à 0.922 (p-value > 0.05) ce qui signifie qu'il n'existe pas de corrélation significative entre l'âge et le taux de schizocytes.

#### 9.1.2.1.3. Service prescripteur

Les 62 patients étudiés avec une recherche de schizocyte positive proviennent principalement des services d'hématologie/oncologie, de néphrologie, de réanimation, de polyclinique/ médecine interne et de pédiatrie, représentant respectivement 29%, 13%, 13%, 13% et 11% (Figure 41).

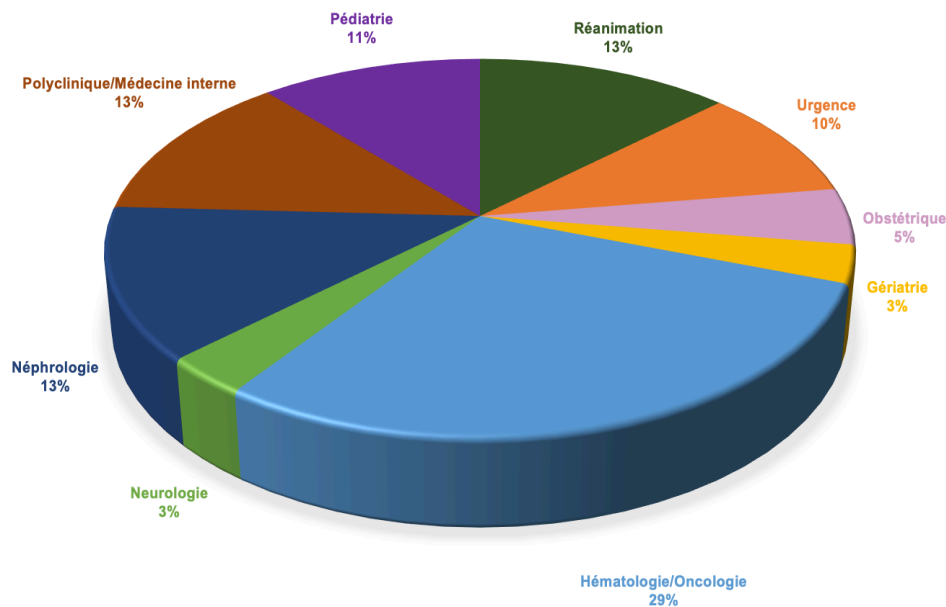


Figure 41 : Recherche de schizocyte  $\geq 0.5\%$  en fonction du service prescripteur

#### 9.1.2.1.4. Plaquettes

La thrombopénie, définie par un taux de plaquettes inférieur à 150 G/L, est observée dans 65% des patients ayant une recherche de schizocyte positive.

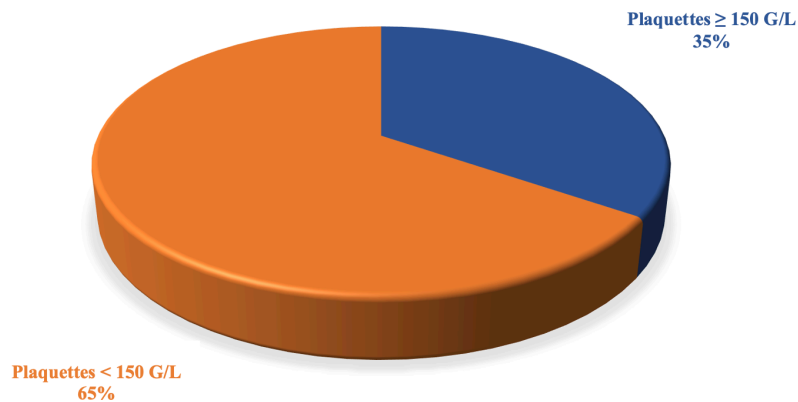


Figure 42 : Taux de plaquettes chez les patients ayant une recherche de schizocyte positive

#### 9.1.2.2. Population schizocytes 0.5 % - 2 %

##### 9.1.2.2.1. Age 0.5 % - 2 %

Le nombre de recherche de schizocytes entre 0.5% et 2% est plus important dans les tranches d'âge [60-70], [70- 80] et [80- 90], respectivement 23%, 16% et 14%. Par ailleurs, elle est plus faible dans la tranche [90-100] (5%) et comparable pour les autres tranches d'âge (Figure 43).

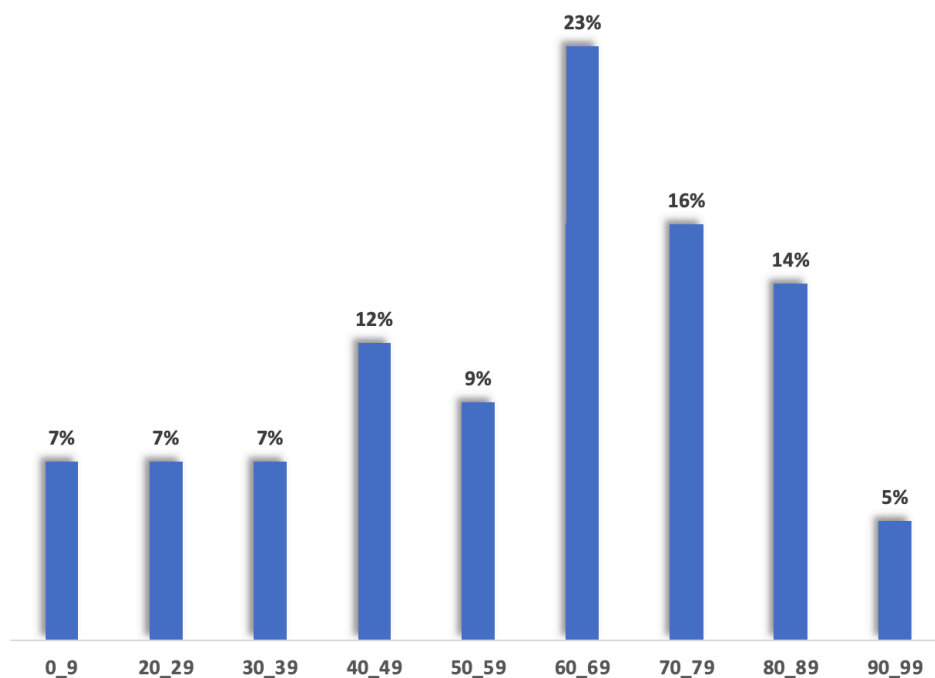


Figure 43 : Nombre de recherche de schizocyte entre 0.5 et 2% pour 1000 hématies en fonction de la tranche d'âge

Nous avons utilisé le test de corrélation de Pearson afin d'évaluer la relation entre l'âge et le taux de schizocytes rendu entre 0.5 et 2%. La p-value est > 0.05 (p-value= 0.350) ce qui signifie qu'il n'existe pas de corrélation significative entre l'âge et le taux de schizocytes.

#### 9.1.2.2.2. Lactate déshydrogénase

Parmi les 43 patients ayant un taux de schizocytes entre 0.5 et 2%, le dosage de LDH a été effectué chez 33 patients. Nous observons une augmentation du taux de LDH chez 88% des 33 patients et une augmentation significative, c'est-à-dire 3 fois la normale, chez 36% des patients.

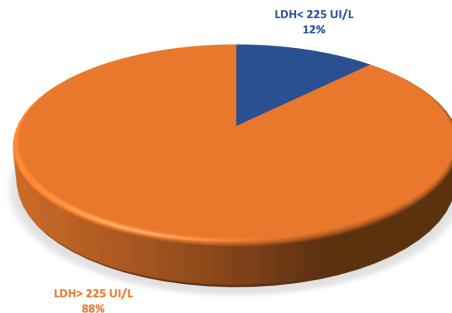


Figure 44 : Proportion des patients ayant une augmentation de LDH

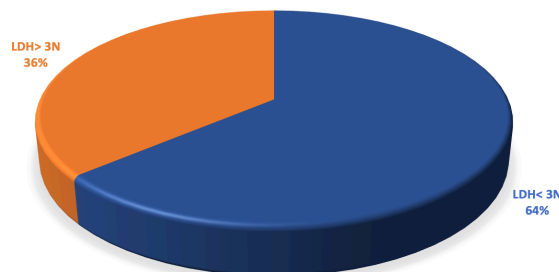


Figure 45 : Proportion des patients ayant une augmentation significative de LDH

Nous avons utilisé le test de corrélation de Pearson afin d'évaluer la relation entre le taux de LDH et le taux de schizocytes rendu entre 0.5 et 2% et le taux de LDH et la numération plaquettaire. Il n'existe pas de corrélation significative entre le taux de LDH et le taux de schizocytes car la p-value est  $> 0.05$  (p-value = 0.484). Cependant, il existe une faible corrélation négative entre le taux de LDH et les plaquettes avec une p-value = 0.019 ( $< 0.05$ ) et un coefficient de corrélation  $R = -0.275$  ce qui signifie que plus le taux de plaquette diminue plus le taux de LDH augmente.

#### 9.1.2.2.3. Bilirubine

Parmi les 43 patients ayant une numération de schizocytes entre 0.5% et 2%, le dosage de bilirubine a été effectué chez 21 patients. Nous observons une augmentation du taux de bilirubine chez 62% des 21 patients et une augmentation significative, c'est-à-dire supérieur à 3 fois la normale, chez 33% des patients.

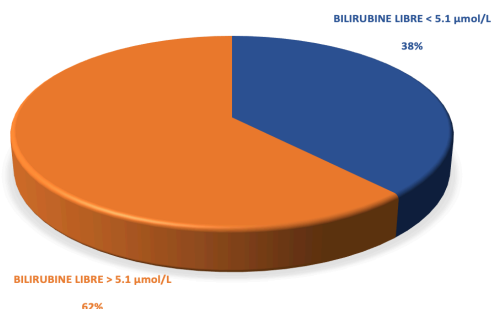


Figure 46 : Proportion des patients ayant une augmentation de bilirubine

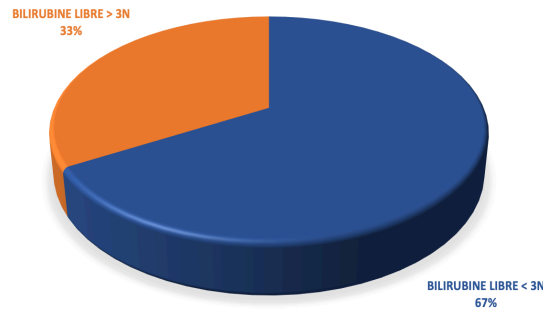


Figure 47 : Proportion des patients ayant une augmentation significative de bilirubine

Nous avons utilisé le test de corrélation de Spearman, afin d'évaluer la relation entre le taux de bilirubine et le taux de schizocytes rendu entre 0.5 et 2%. La p-value est  $> 0.05$  (p-value = 0.893) ce qui signifie qu'il n'existe pas de corrélation significative entre le taux de bilirubine et le taux de schizocytes.

#### 9.1.2.2.4. Haptoglobine

Parmi les 43 patients ayant un taux de schizocytes entre 0.5% et 2%, le dosage d'haptoglobine a été effectué chez 26 patients. Nous observons une diminution du taux d'haptoglobine chez 65% des 26 patients et une diminution significative, c'est-à-dire 3 fois la normale, chez 35% des patients.

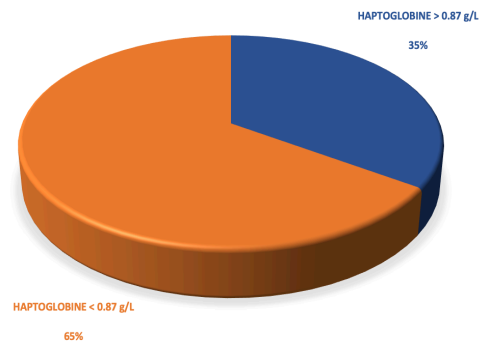


Figure 48 : Proportion des patients ayant une diminution d'haptoglobine

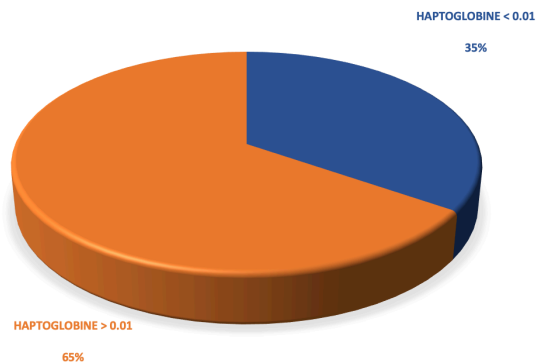


Figure 49 : Proportion des patients ayant une diminution significative d'haptoglobine

Nous avons utilisé le test de corrélation de Spearman, afin d'évaluer la relation entre le taux d'haptoglobine et le taux de schizocytes rendu entre 0.5 et 2%. La p-value est  $> 0.05$  (p-value = 0.125) ce qui signifie qu'il n'existe pas de corrélation significative entre le taux d'haptoglobine et le taux de schizocytes.

### 9.1.2.2.5. Plaquettes

La thrombopénie est observée dans 65% des patients ayant un taux de schizocytes entre 0.5 et 2%.

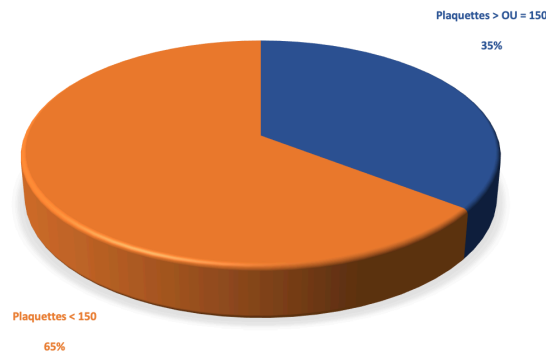


Figure 50 : Taux de plaquettes chez les patients ayant un taux de schizocytes entre 0.5 et 2%

Nous avons utilisé le test de corrélation de Pearson afin d'évaluer la relation entre le taux de plaquettes et le taux de schizocytes rendu entre 0.5 et 2%. Nous retrouvons une p-value est  $> 0.05$  (p-value = 0.568) ce qui signifie qu'il n'existe pas de corrélation significative entre le taux de plaquettes et le taux de schizocytes.

### 9.1.2.3. Étiologies

Suite à l'analyse des dossiers cliniques et la concertation avec les cliniciens en hématologie clinique et en néphrologie, les étiologies probables responsables de la présence de schizocytes ont été classées en plusieurs catégories d'abord pour les 56 patients inclus (hors diagnostics différentiels) puis en posant des seuils au niveau de la numération des schizocytes : entre 0.5 et 1%, entre 1 et 1.5%, entre 1.5 et 2% et supérieur à 2% schizocytes (Figure 51).

Nous retrouvons principalement 14 étiologies avec une proportion plus élevée de l'étiologie tumorale avec la présence de métastases et/ou un envahissement médullaire, du PTT et du SHU, représentant respectivement 34%, 11% et 9% des cas.

Par ailleurs, nous avons classé 5 patients en « causes multiples » car ces patients présentent des comorbidités multiples essentiellement cardiaque, vasculaire et rénale : 1 patient a eu plusieurs contrôles avec un taux de schizocytes qui fluctuent entre 0 et 1.3% sans autre marqueur d'hémolyse, 3 patients ont eu quelques schizocytes signalés sans autres marqueurs d'hémolyse et sans recontrôle de leur bilan biologique et 1 patient a eu une numération de schizocyte à 0.7% sans recontrôle dans un contexte de rhabdomyolyse majeure, insuffisance rénale, déshydratation très sévère, pancréatite aiguë, bactériémie à staphylococcus aureus, Providencia rettgeri et Providencia stuartii. De ce fait, il était impossible pour nous de déterminer la cause exacte de la présence de schizocytes.

Parmi les patients ayant une étiologie tumorale, 58% des patients présentent des métastases. Parmi ces patients, 69% sont décédés. Les cancers les plus fréquents retrouvés chez nos patients par ordre décroissant sont le cancer du sein (26%), le cancer du poumon (21%), le cancer du pancréas (16%) et le cancer du rein (11%). D'autres types de cancers ont été trouvés notamment le cancer gastrique et le neuroblastome.

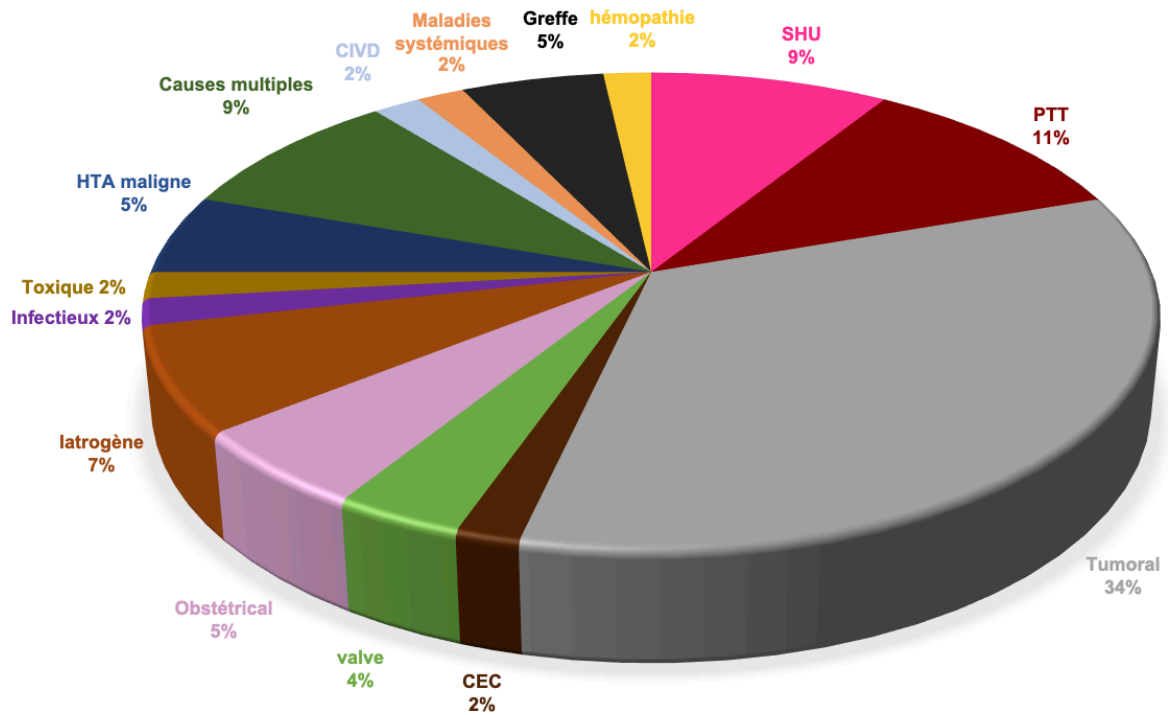


Figure 51 : Étiologies probables de la présence de schizocytes de tous les patients inclus dans l'étude

Pour une numération de schizocytes entre 0.5 et 0.9%, nous observons essentiellement l'absence de microangiopathie idiopathique type SHU et PTT. Par ailleurs, l'étiologie la plus fréquente est l'atteinte tumorale qui représente 43% des cas (Figure 52).

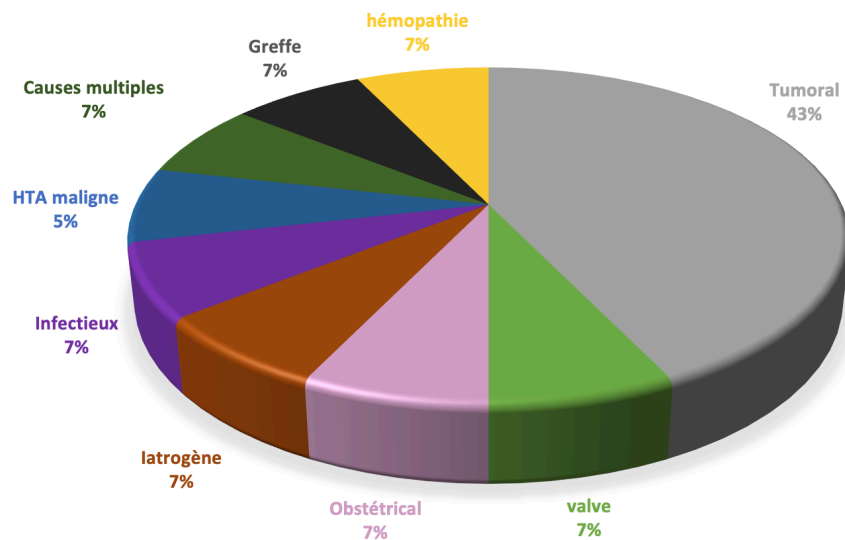


Figure 52: Étiologies probables pour un taux de schizocytes entre 0.5 et 0.9%

Pour une numération de schizocyte entre 1 et 1.4%, on observe également l'importance de l'étiologie tumorale avec une proportion de 38%, l'augmentation de la proportion des causes multiples associés à des comorbidités (19%), la présence de CIVD (6%), de maladies systémiques type lupus érythémateux disséminé (6%). Par ailleurs, Le PTT n'est présent dans notre étude qu'à partir du seuil de 1% (Figure 53).



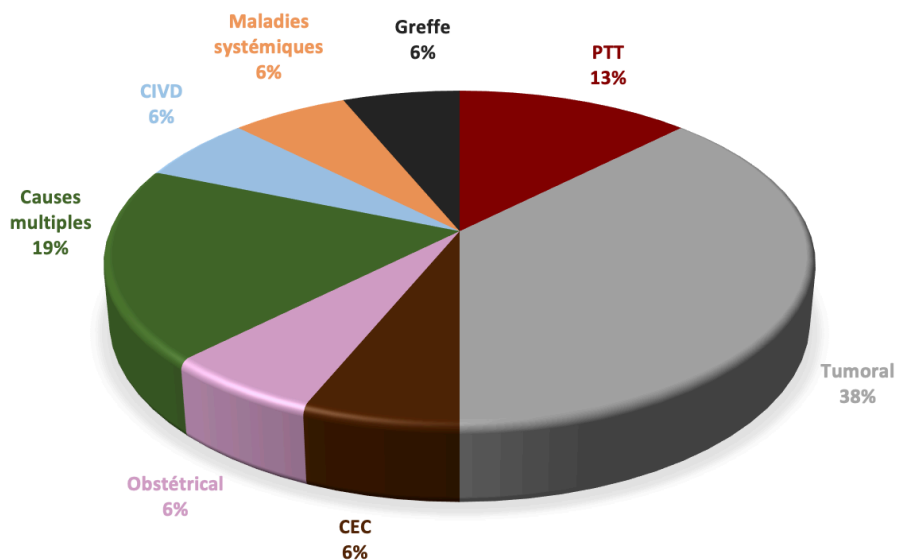


Figure 53 : Étiologies probables pour un taux de schizocytes entre 1 et 1.4%

Pour une numération entre 1.4 et 1.9%, on observe uniquement 3 étiologies parmi les 14 citées ci-dessus avec une prédominance de l'étiologie tumorale (67%) (Figure 54).

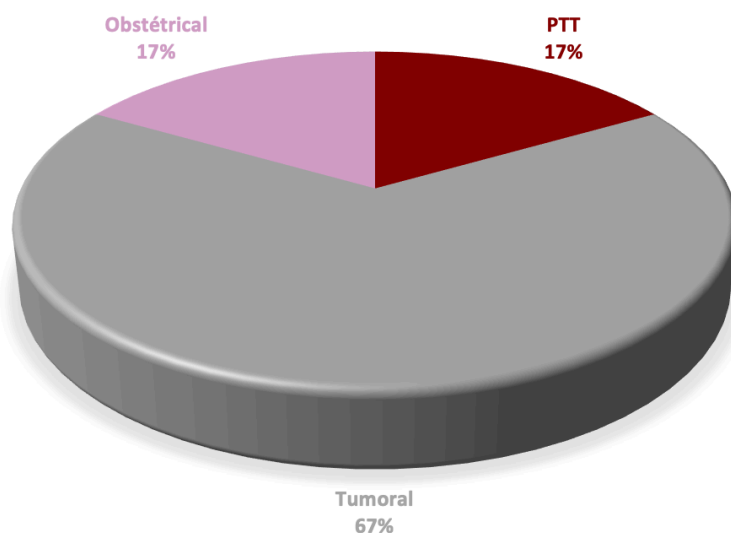


Figure 54 : Étiologies probables pour un taux de schizocytes entre 1.4 et 1.9%

A partir d'un seuil de 2%, on observe l'apparition du SHU et de l'étiologie toxique en lien avec la consommation de cocaïne sans HTA maligne associée (Figure 55).

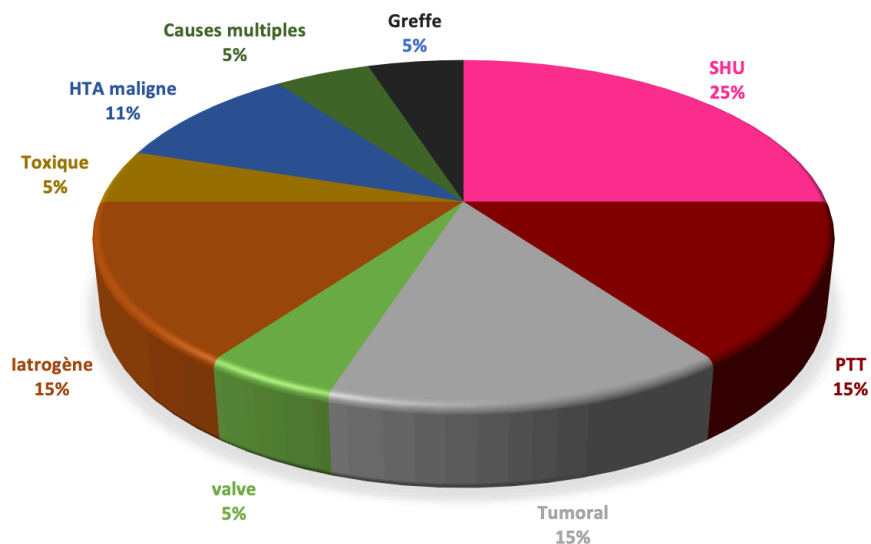


Figure 55 : Étiologies probables pour un taux de schizocytes supérieur à 2%

#### 9.1.2.4. Diagnostics différentiels

Nous avons classé 6 patients en diagnostics différentiels. Parmi ces patients, nous retrouvons 2 maladies de Biermer avec une carence en vitamines B12 et 1 patients avec une carence en folates dans un contexte d'alcoolisme chronique (Figure 56). Lors de la relecture des frottis de ces patients, les 3 lecteurs retrouvent une numération de schizocytes entre 0.5% et 1% avec un environnement d'aniso-poïkilocytose.

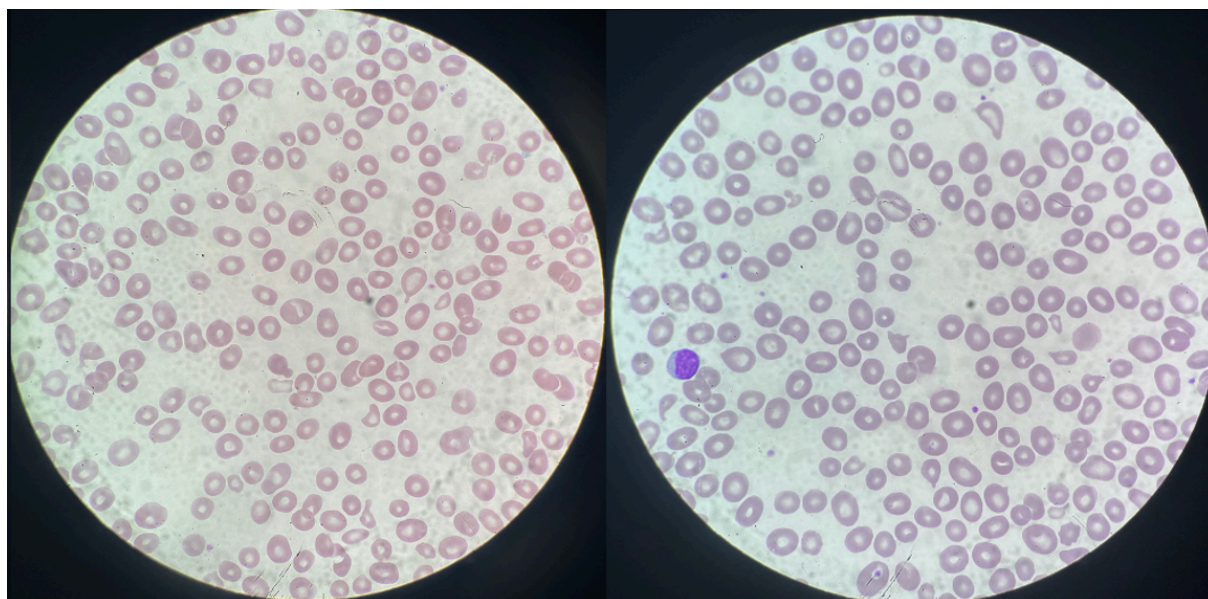


Figure 56 : Carence en vitamine B12 et en folates (visualisation des champs de 200 hématies)

On retrouve un patient avec une pyknocytose infantile (Figure 57). Les 3 lecteurs ont rendu des numérations de schizocytes entre 2 et 4% pour ce patient.

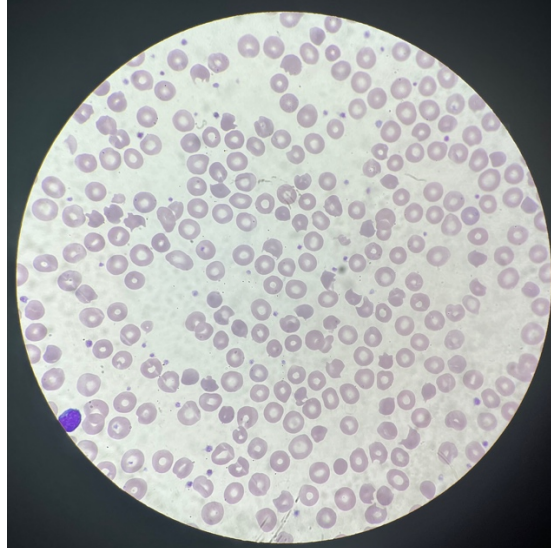


Figure 57 : Pyknocytose infantile

Par ailleurs, on retrouve un patient avec une drépanocytose qui a eu 3 frottis sanguins rendus avec la présence de quelques schizocytes (Figure 58). Deux lecteurs n'ont pas rendu de résultats quantitatifs dans ce contexte mais plutôt des résultats qualitatifs en signalant la présence de drépanocytes et d'hématies cibles.

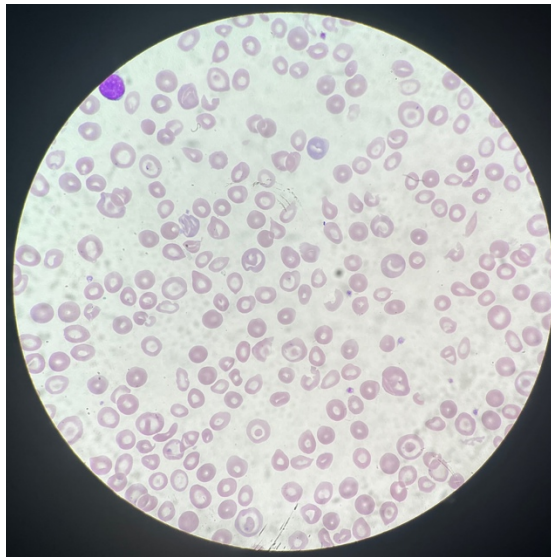


Figure 58 : Drépanocytose

#### 9.1.2.5. Relecture

Nous avons utilisé le test de corrélation intra-classe pour quantifier le degré de similitude ou de cohérence entre les observations et pour évaluer la robustesse de la méthode de la numération des schizocytes. Le coefficient de corrélation intra-classe est utilisée pour évaluer la fiabilité et la cohérence des résultats rendus par différents lecteurs.

En règle générale, les chercheurs doivent essayer d'obtenir au moins 30 échantillons hétérogènes et impliquer au moins 3 évaluateurs dans la mesure du possible lors de la réalisation d'une étude de fiabilité. D'après les données de la littérature, les valeurs de l'ICC inférieures à 0,5 indiquent une faible fiabilité, les valeurs comprises entre 0,5 et 0,75 indiquent

une fiabilité modérée, les valeurs comprises entre 0,75 et 0,9 indiquent une bonne fiabilité et les valeurs supérieures à 0,90 indiquent une excellente fiabilité (169,170).

Nous retrouvons une p-value est  $< 0.05$  ce qui signifie qu'il existe une corrélation significative de la numération de schizocytes entre les 4 lecteurs (3 lecteurs de l'étude et le résultat rendu initialement).

L'ICC de notre corrélation inter-lecteurs est égale à 0.711 avec un intervalle de confiance à 95 % de [0.633 – 0,780] ce qui signifie que le taux de concordance peut être considéré comme « modéré » à « bon » car la vraie valeur de l'ICC suppose d'atterrir sur n'importe quel point entre 0.633 et 0.780.

En outre, les ICC de la corrélation deux à deux entre les 4 lecteurs donne les résultats suivants :

Tableau 7 : Test de corrélation intra-classe par paire

	Résultat rendu	1 <sup>er</sup> lecteur	2 <sup>ème</sup> lecteur	3 <sup>ème</sup> lecteur
Résultat rendu	1	0.932	0.582	0.881
1 <sup>er</sup> lecteur	0.932	1	0.657	0.920
2 <sup>ème</sup> lecteur	0.582	0.657	1	0.707
3 <sup>ème</sup> lecteur	0.881	0.920	0.707	1

Nous observons une corrélation excellente entre le 1er lecteur et 3ème lecteur ainsi qu'entre le 1er lecteur et le résultat rendu, une bonne corrélation entre le 3ème lecteur et le résultat rendu et une corrélation modérée entre le 2ème lecteur et le 1er lecteur, le 2ème lecteur et le 3ème lecteur ainsi que le 2ème lecteur et le résultat rendu.

Nous avons également utilisé le test de corrélation de Pearson pour faire une comparaison inter-opérateurs 2 à 2 et nous retrouvons une tendance identique des résultats par rapport au test de corrélation intra-classe avec une p-value  $< 0.05$  qui signifie une corrélation significative entre les opérateurs 2 à 2.

Le degré de la corrélation est qualifié en fonction de la valeur du coefficient de corrélation R de la manière suivante selon la littérature (171) :

- $0 < R < 0.1$  : Pas de corrélation
- $0.1 < R < 0.3$  : Faible corrélation
- $0.3 < R < 0.5$  : Corrélation moyenne
- $0.5 < R < 0.7$  : Corrélation élevée
- $0.7 < R < 1$  : Corrélation excellente

Les résultats du coefficient de corrélation R de notre étude sont les suivants :

Tableau 8 : Test de corrélation de Pearson par paire

	Résultat rendu	1 <sup>er</sup> lecteur	2 <sup>ème</sup> lecteur	3 <sup>ème</sup> lecteur
Résultat rendu	1	0.932	0.579	0.882
1 <sup>er</sup> lecteur	0.932	1	0.691	0.923
2 <sup>ème</sup> lecteur	0.570	0.691	1	0.744
3 <sup>ème</sup> lecteur	0.882	0.923	0.744	1

Nous observons une corrélation excellente entre le 1er lecteur et 3ème lecteur, entre le 1er lecteur et le résultat rendu, entre le 3ème lecteur et le résultat rendu ainsi qu'entre le 2ème lecteur et le 3ème lecteur. Par ailleurs, nous observons une corrélation élevée entre le 1er lecteur et le 2ème lecteur ainsi qu'entre le 2ème lecteur et le résultat rendu (Tableau 8).

Nous avons utilisé les diagrammes de Bland Altman, également appelés diagrammes de différences, pour évaluer la concordance entre deux ensembles de données et mieux comprendre la variabilité inter-opérateurs.

Le tracé fournit une représentation visuelle de la différence entre deux mesures sur l'axe des ordonnées et de la moyenne des deux mesures sur l'axe des abscisses.

Le biais est la différence moyenne entre les deux mesures. La précision estime la dispersion du biais absolu et représente le caractère reproductible de la méthode. La dispersion est représentée par l'écart entre les deux droites de limites de concordance. Si celles-ci sont proches, la précision est bonne. Si elles sont éloignées, elle l'est moins.

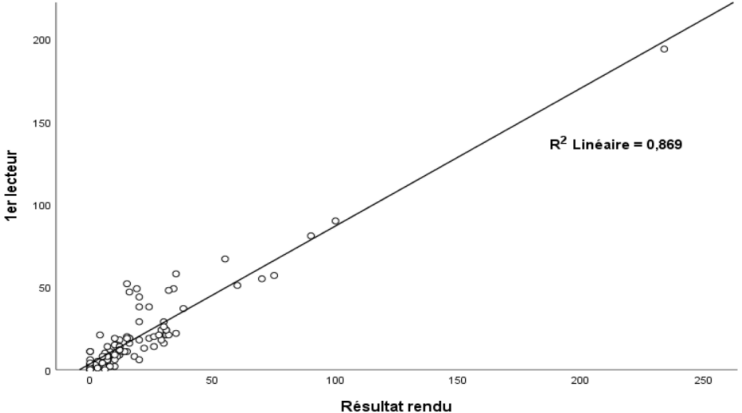
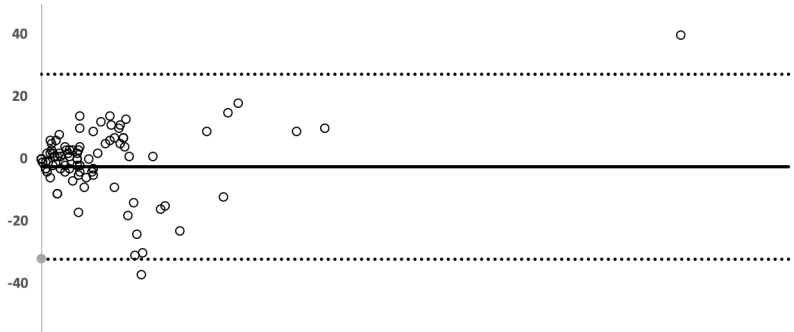
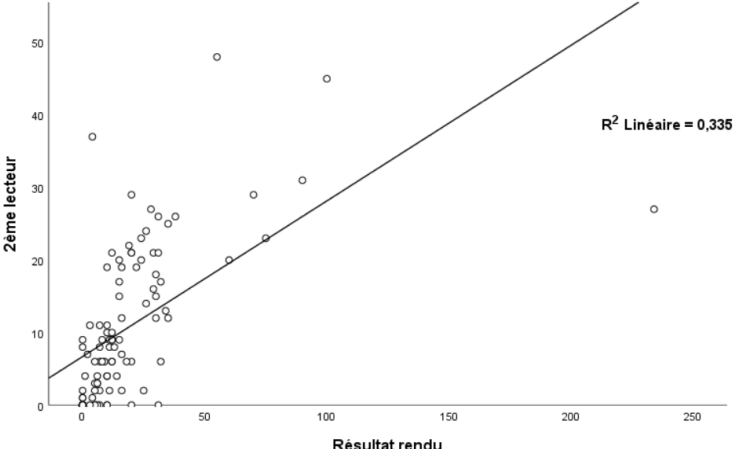
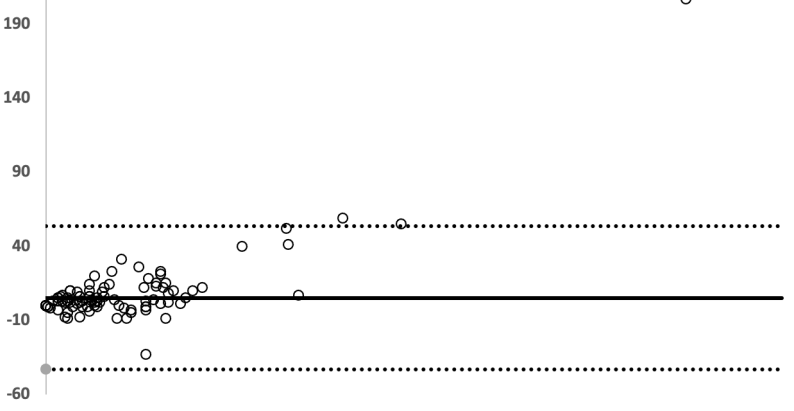
On observe un biais proche de zéro (-0.4) entre le 1er lecteur et le résultat rendu avec un intervalle de confiance [-21 ; 20.1].

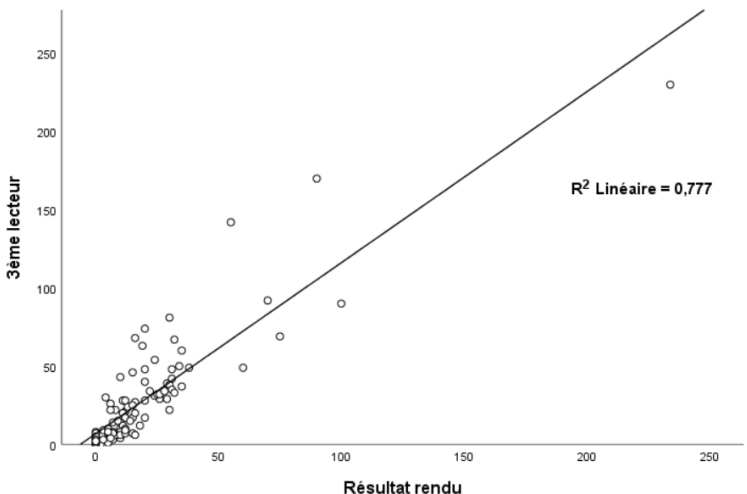
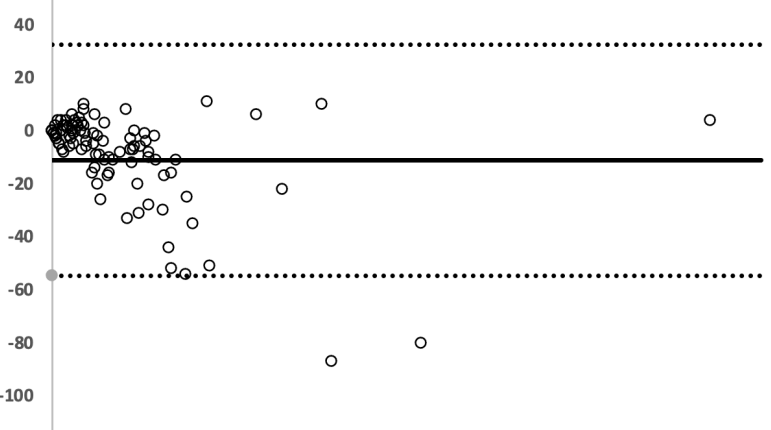
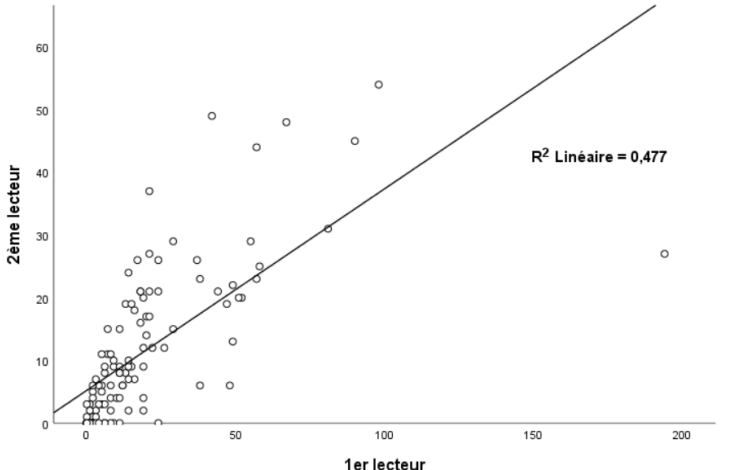
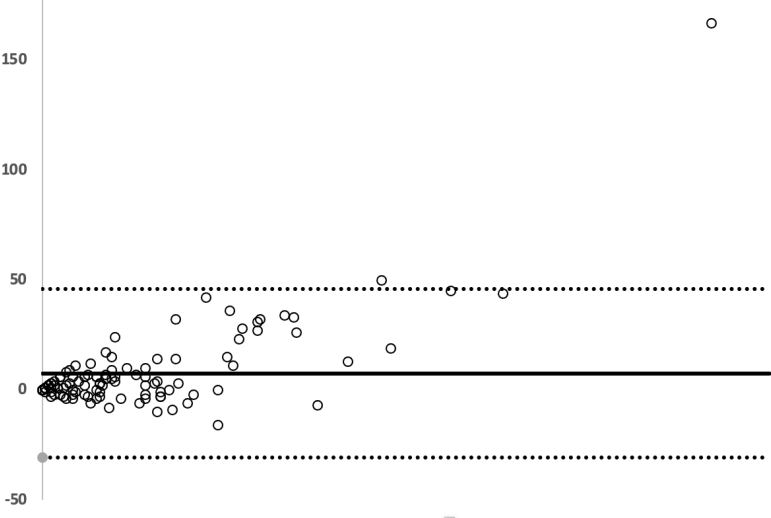
Ce biais est en revanche plus élevé entre le résultat rendu et le 2ème lecteur (8,2) ainsi qu'entre le 1er lecteur et le 2ème lecteur (7.8) ce qui signifie que le 2ème lecteur sous-estime en moyenne le décompte de schizocytes par rapport au résultat rendu et au 1er lecteur respectivement de 8.2 et 7.8 schizocytes pour 1000 hématies avec des intervalles de confiance plus larges respectivement [-38.9 ; 55.2] et [-30.8 ; 46.4] qui signifient une dispersion moins bonne.

Par ailleurs, le biais est également plus élevé entre le résultat rendu et le 3ème lecteur (-8.6) ainsi qu'entre le 1er lecteur et le 3ème lecteur (-8.4) ce qui signifie que le 3ème lecteur surestime en moyenne le décompte de schizocytes par rapport au résultat rendu et au 1er lecteur respectivement de 8,6 et 8.4 schizocytes pour 1000 hématies avec des intervalles de confiance larges respectivement [-41.7 ; 24.6].

Enfin le biais le plus élevé est observé entre le 2ème lecteur et le 3ème lecteur (-16.3) ce qui signifie une différence de lecture moyenne de 16.3 schizocytes pour 1000 hématies et un intervalle de confiance très large [-71.7 ; 39.1].

En observant les graphiques de corrélation de Pearson et de Bland Altman (ci-dessous), nous constatons qu'un des lecteurs a tendance à surestimer le nombre de schizocytes par rapport aux autres lecteurs (résultat rendu inclus) et un lecteur a tendance à le sous-estimer.

Lectures	Corrélation de Pearson	Bland Altman
1 <sup>er</sup> lecteur - Résultat rendu	 <p data-bbox="443 802 1126 831">Figure 59 : Corrélation linéaire entre le 1<sup>er</sup> lecteur et le résultat rendu</p>	 <p data-bbox="1234 743 2007 772">Figure 60 : Diagramme de Bland Altman entre le résultat rendu et le 1<sup>er</sup> lecteur</p>
2 <sup>ème</sup> lecteur - Résultat rendu	 <p data-bbox="443 1345 1133 1374">Figure 61 : Corrélation linéaire entre le 2<sup>ème</sup> lecteur et le résultat rendu</p>	 <p data-bbox="1234 1307 2007 1335">Figure 62 : Diagramme de Bland Altman entre le résultat rendu et le 2<sup>ème</sup> lecteur</p>

<p>3<sup>ème</sup> lecteur - Résultat rendu</p>	 <p>R<sup>2</sup> Linéaire = 0,777</p> <p>Résultat rendu</p> <p>3ème lecteur</p> <p>Figure 63 : Corrélation linéaire entre le 3<sup>ème</sup> lecteur et le résultat rendu</p>	 <p>Figure 64 : Diagramme de Bland Altman entre le 3<sup>ème</sup> lecteur et le résultat rendu</p>
<p>2<sup>ème</sup> lecteur - 1<sup>er</sup> lecteur</p>	 <p>R<sup>2</sup> Linéaire = 0,477</p> <p>1er lecteur</p> <p>2ème lecteur</p> <p>Figure 65 : Corrélation linéaire entre le 2<sup>ème</sup> lecteur et le 1<sup>er</sup> lecteur</p>	 <p>Figure 66 : Diagramme de Bland Altman entre le 1<sup>er</sup> lecteur et le 2<sup>ème</sup> lecteur</p>

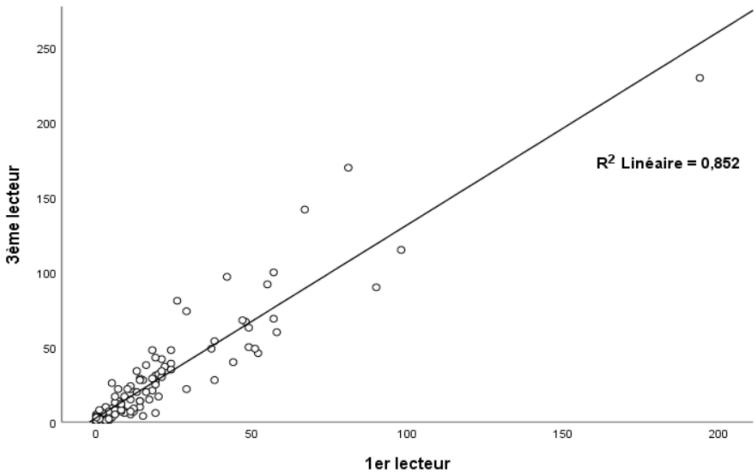
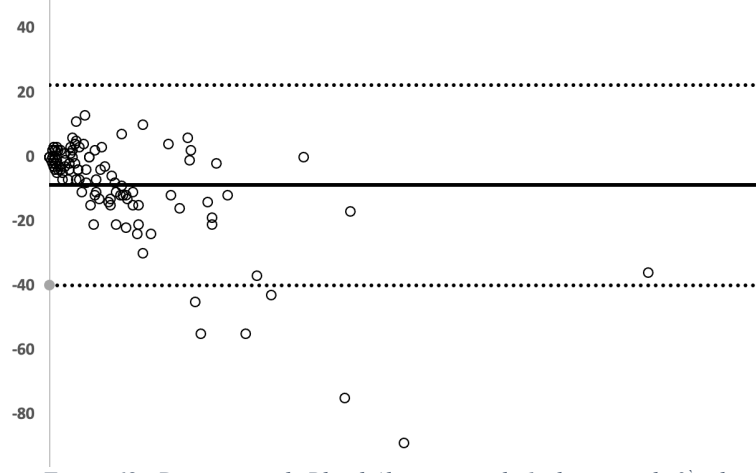
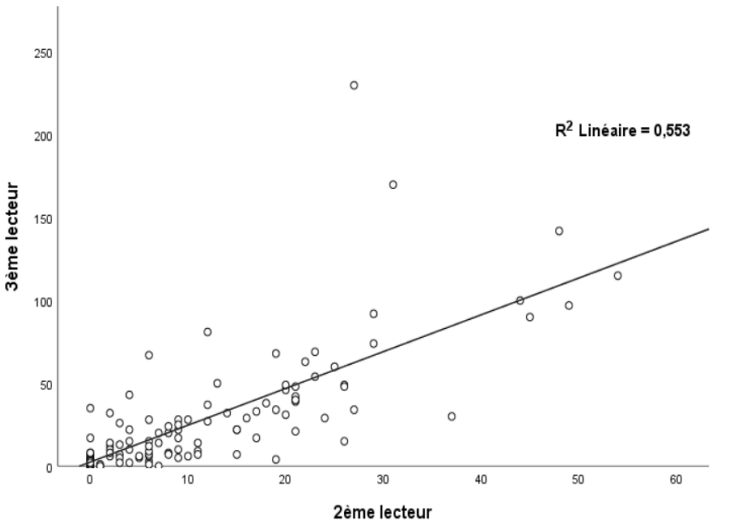
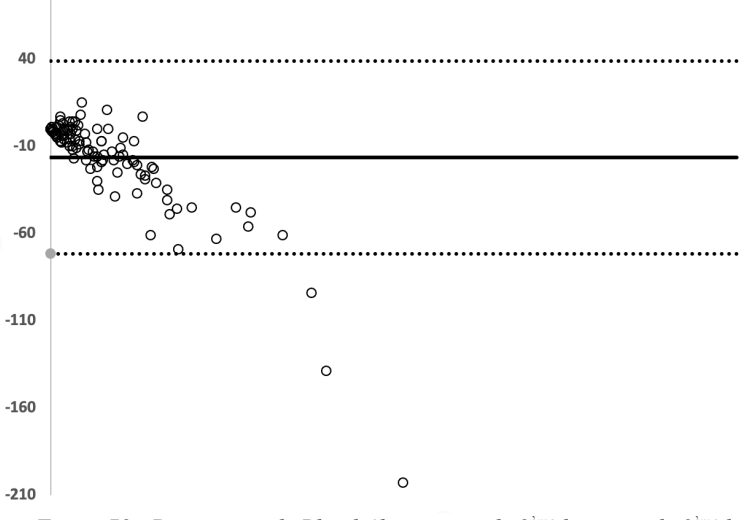
<p>3<sup>ème</sup> lecteur - 1<sup>er</sup> lecteur</p>	 <p>Figure 67 : Corrélation linéaire entre le 3<sup>ème</sup> lecteur et le 1<sup>er</sup> lecteur</p>	 <p>Figure 68 : Diagramme de Bland Altman entre le 1<sup>er</sup> lecteur et le 3<sup>ème</sup> lecteur</p>
<p>3<sup>ème</sup> lecteur - 2<sup>ème</sup> lecteur</p>	 <p>Figure 69 : Corrélation linéaire entre le 3<sup>ème</sup> lecteur et le 2<sup>ème</sup> lecteur</p>	 <p>Figure 70 : Diagramme de Bland Altman entre le 2<sup>ème</sup> lecteur et le 3<sup>ème</sup> lecteur</p>

Tableau 9 : Corrélation de Person et diagramme de Bland Altman



Pour mieux comprendre les raisons de la variabilité inter-opérateurs, nous avons effectué une deuxième relecture à l'aveugle de 22 lames qui présentaient une grande différence entre les lecteurs.

Tableau 10 : 2<sup>ème</sup> relecture des lames de frottis sanguins

N° de la lame	1 <sup>er</sup> lecteur		2 <sup>ème</sup> lecteur		3 <sup>ème</sup> lecteur	
	1 <sup>ère</sup> lecture	2 <sup>ème</sup> lecture	1 <sup>ère</sup> lecture	2 <sup>ème</sup> lecture	1 <sup>ère</sup> lecture	2 <sup>ème</sup> lecture
9	19	8	2		6	
14	7		15		22	7
19	42		49		97	62
22	18		21		48	23
27	24		0	37	35	
34	48		6	27		67
35	29		29		74	30
37	5		3		26	7
39	2	9	0		7	
46	49		13	38	50	
48	90		45	72	90	
56	57		44		100	20
65	0	9	5		6	
71	38		6	27	28	
72	57		23	44	69	
82	81		31		170	52
88	67		48		142	70
103	51		20	34	49	
107	55		29	42	92	
112	6	14	0	18	17	
120	194		27	107		230
123	98		54	78		115

Nous n'avons pas inclus ces données de deuxième relecture dans l'analyse statistique en raison du faible effectif de la série (22) et du biais induit par le fait qu'il s'agissait d'une relecture de lames sélectionnées. Toutefois, nous avons observé une convergence des résultats bien supérieure à celle de la première lecture.

## 9.2. CH de Brive

Durant la période entre le 1er novembre et le 30 avril, 4 patients avec une numération de schizocytes ont été étudiés.

Tableau 11 : Patients étudiés au CH de Brive

Patients	Âge	Taux de plaquettes	Taux d'Hb	LDH	Haptoglobine	Bilirubine	Numération de schizocytes	Étiologie
1	47	29	10,5	5308	<0,08	35,5	23	Cancer d'estomac métastatique
		121	10,9	2238	0,16	17,4	20	
2	84	243	9,4	1221	<0,08	7,1	7	Valve mécanique
3	65	404	8,2	668	2,45	NE	7	Greffe pulmonaire
		406	7,4	119	NE	NE	6	
		414	7,5	494	2,72	NE	6	
4	84	79	10,5	NE (hémolyse)	0,09	5,8	12	Obstétrical /MFIU

L'échantillon n'est pas représentatif (4 patients, 7 frottis sanguins). Cependant, nous retrouvons les mêmes étiologies que celles décrites chez les patients du CHU de Limoges avec une prédominance des MAT secondaires par rapport aux MAT primaires.

## 10.Discussion

---

### **Âge, plaquettes, marqueurs d'hémolyse : un lien potentiel avec la schizocytose ?**

Le nombre de recherche positives ( $\geq 0.5\%$ ) est plus important dans les tranches d'âge [60-70], [70- 80] et [80- 90] à la fois dans la population globale de l'étude et dans la population 0.5% - 2% (population ayant une numération de schizocytes entre 0.5% et 2%). Ceci est expliquée par la fréquence importante de l'étiologie tumorale responsable de la MAT. En effet, les cancers les plus fréquents sont les cancers survenant chez les sujets âgés (172). En 2023, le nombre de nouveaux cancers toutes localisations confondues en France métropolitaine est estimé à 433 136 cas. L'âge médian au diagnostic est de 70 ans et de 68 ans respectivement chez l'homme et la femme (173). Environ 47 % des cas de cancers surviennent chez des hommes de plus de 70 ans, 30 % au-delà de 75 ans et 14 % chez les hommes de plus de 80 ans. Cette proportion est de 42 % chez les femmes de plus de 70 ans, 30 % au-delà de 75 ans et 17 % chez les femmes de plus de 80 ans (172).

Par ailleurs, la fréquence de la présence de schizocytes au niveau des frottis sanguins périphériques des patients entre 30 et 60 ans est principalement expliquée par la fréquence du PTT qui survient généralement autour de la quarantaine (65) et de la fréquence des MAT liées à la grossesse. En effet, l'âge moyen de la mère à l'accouchement en 2022 en France est de 31 ans (174).

La fréquence de schizocytose positive est également importante chez les enfants entre 0 et 9 ans. Ceci est expliqué par la prévalence du SHU typique chez les enfants. En effet, Chaque année, environ 80 à 100 cas de SHU liés à E.coli surviennent en France chez des enfants de moins de 15 ans, principalement chez les enfants de moins de 3, ans avec une incidence de 3,3 cas pour 105 enfants de moins de 3 ans (79).

Au cours de notre étude, nous nous sommes intéressés à l'analyse de la numération plaquettaire des patients atteints de MAT.

La thrombopénie reste un marqueur biologique essentiel des tableaux typiques de PTT et de SHU. Cette notion doit être nuancée avec les autres étiologies.

Il a été rapporté dans la littérature qu'une thrombopénie sévère précède souvent la détection de schizocytes (34,175). Cependant, nous avons constaté que la thrombopénie est absente dans 35% des cas à la fois chez la population globale de notre étude et chez la population 0.5% - 2%. Nos résultats corroborent les données de la littérature. En effet, l'absence de thrombopénie dans la MAT a déjà été décrite chez 40% des patients lors d'une étude réalisée par Veyradier et al. (176). Les patients inclus dans cette étude avaient une forte proportion de MAT secondaire.

D'autres études cliniques ont rapporté l'absence de thrombopénie au cours de la MAT, Sellier-leclerc et al. (177) ont rapporté une fréquence de 15 % dans une cohorte de SHU atypique médié par le complément et Fakhouri et al. (178) ont décrit 3 patients sur 21 atteints SHU atypique avec numération plaquettaire normale dans le SHU associé à la grossesse. En outre, De Serre et al. (179) ont décrit une numération plaquettaire normale chez 44 % de patients atteints de MAT dans une cohorte de MAT histologique. Néanmoins, certains patients ne présentaient pas d'anémie hémolytique.

De plus, une étude rétrospective au centre de néphrologie de l'hôpital de Marseille réalisée entre janvier 2000 et juin 2010 (180) a rapporté l'absence de thrombopénie chez 13% des patients ayant une MAT prouvée par une biopsie, et/ou par la présence d'une mutation dans les gènes codant pour les protéines impliquées dans la voie alternative du complément, et/ou par une exposition à un médicament associé à la MAT comme la gemcitabine. Par ailleurs, cette étude a observé l'absence de la thrombopénie à la fois au cours des rechutes et lors du premier épisode.

Par ailleurs, notre étude n'a pas montré une corrélation significative entre la numération plaquettaire et la numération de schizocytes. Cela pourrait être interprété par l'absence de lien entre la thrombopénie et l'évolution de la MAT. En effet, l'étude rétrospective au centre de néphrologie de l'hôpital de Marseille montre une évolution rénale similaire du SHU quel que soit le nombre de plaquettes (180).

Au cours de notre étude, nous nous sommes également intéressés à l'analyse des données biologiques des patients ayant un taux de schizocytes entre 0.5% et 2%, particulièrement des marqueurs d'hémolyse, notamment la LDH, la bilirubine directe et l'haptoglobine.

Nous avons observé une diminution du taux d'haptoglobine chez 65% des patients et des taux effondrés (< 0.01 g/L) dans 35% des cas. Par ailleurs, nous avons observé une augmentation du taux de LDH chez 88% des patients. Cette augmentation est significative, supérieure à 3 fois la valeur normale, uniquement dans 36% des cas. De plus, le taux de bilirubine était augmenté dans 62% des cas avec une augmentation significative dans 33% des cas. Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature. En effet, lors d'une hémolyse, la consommation d'haptoglobine est significative et constitue un biomarqueur puissant d'hémolyse intravasculaire (57,58). Cependant, il convient de noter que des niveaux réduits d'haptoglobine peuvent être observés dans des conditions autres que l'hémolyse, telles que l'insuffisance hépatique, la malnutrition et l'hypohaptoglobulinémie congénitale. D'autre part, il est important de noter que l'haptoglobine peut augmenter dans les maladies inflammatoires, chez les fumeurs et au cours du syndrome néphrotique, ce qui peut masquer éventuellement une hémolyse sous-jacente (56).

Les LDH ont été longtemps utilisées comme marqueur clinique pour évaluer l'hémolyse intravasculaire car elle est considérablement élevée pouvant atteindre jusqu'à 4 à 5 fois la valeur normale (56,60). Cependant, des niveaux significativement élevés de LDH ont été observés chez les patients ayant des prothèses valvulaires, au cours des crises hémolytiques aiguës causées par des infections chez les patients atteints d'anémie hémolytique congénitale et chez les patients présentant une carence en vitamine B12 ou en acide folique, en raison d'une érythropoïèse inefficace et d'une mort cellulaire prématurée des érythrocytes. De plus, le taux sérique de la LDH peut augmenter dans plusieurs situations autres que l'hémolyse, qui impliquent une nécrose cellulaire ou une augmentation du renouvellement tissulaire. Cela inclut des pathologies telles que l'infarctus du myocarde, l'insuffisance cardiaque, l'hépatite et les tumeurs solides et hématologiques, particulièrement au cours d'un syndrome de lyse tumorale. La LDH peut également augmenter au cours d'un effort musculaire important (56).

En outre, la LDH est un marqueur utile pour évaluer la réponse au traitement, car la diminution de son taux sérique est corrélée à la diminution de l'hémolyse au cours du SHU atypique après traitement, ainsi que dans l'anémie hémolytique liée à un PTT après échange plasmatique (56).

La bilirubine est un marqueur précoce de la réponse au traitement. En effet, son taux revient à la normale ou à moins de 10 % des valeurs normales dans les 4 heures suivant l'arrêt de l'hémolyse (56).

Nous avons évalué la relation entre les marqueurs d'hémolyse et le taux de schizocytes. Nous avons observé une absence de corrélation entre ces marqueurs et la numération de schizocytes entre 0.5% et 2%. Cependant, nous retrouvons une corrélation significative entre le taux de LDH et la numération plaquettaire. Ce résultat corrobore celui de la cohorte marseillaise qui a constaté un taux de LDH plus élevé chez les patients ayant une thrombopénie par rapport aux patients ayant une numération plaquettaire normale (180).

### **Seuil de schizocytose des MAT primaires**

A l'issue de notre étude, nous constatons l'absence de cas de SHU pour une schizocytose inférieure à 2% et l'absence de cas de PTT pour une numération de schizocytes inférieure à 1%. Par conséquent, nous constatons que les patients atteints de MAT primaires semblent avoir un pourcentage de schizocytes > 1% avec des valeurs de schizocytes plus basse et plus dispersées au cours d'un PTT par rapport au SHU. Ces résultats corroborent les données de la littérature qui fixe le seuil de 1% pour le diagnostic de MAT primaire ou idiopathique (181–183).

En outre, Edward R. Burns et al. (184) ont étudié 6 patients atteints de PTT et ont comparé leur nombre de schizocytes à ceux de 40 sujets sains, 28 patients atteints d'insuffisance rénale chronique, 5 atteints de prééclampsie et 5 avec des valves cardiaques mécaniques fonctionnant normalement. Les schizocytes ont été trouvés sur 100 % des frottis sanguins de patients atteints de PTT avec un taux qui varie de 1,0 % à 18,4 % des globules rouges. La présence de schizocytes a été retrouvée chez 58 % des individus sains et sur 80 à 100 % des autres groupes de patients étudiés, mais représentent toujours moins de 0,5 % de la population de globules rouges. De ce fait, Edward R. Burns et al. concluent qu'un nombre initial de schizocytes supérieur à 1 % suggère fortement un diagnostic de PTT.

### **Prévalence des MAT primaires par rapport aux MAT secondaires**

Au cours de notre étude, nous observons que la MAT primaire représente 20% des étiologies (11% PTT et 9% de SHU typique) alors que la MAT secondaire représente 80% des cas.

Une étude rétrospective réalisée au CHU de Tours chez 564 patients atteints de MAT au cours de la période 2009-2016 a retrouvé des MAT primitives chez 6% des patients (3% PTT et 3% SHU atypique) (159). Ceci appuie nos résultats en confirmant que les MAT primaires sont moins fréquentes que les MAT secondaires. Cependant, nous avons constaté une différence de classement des MAT primaires. En effet, notre étude inclut le PTT et le SHU dans cette catégorie de MAT alors que l'étude réalisée au CHU de Tours inclut le PTT et le SHU atypique et intègre le SHU typique dans la catégorie des MAT secondaires.

Par ailleurs, Kang et al. ont constaté que 10.5% des patients ont un PTT parmi 117 patients ayant une MAT inclus dans leur étude (181).

Cependant, d'autres études ont constaté une proportion plus élevée de MAT primaire. En effet, la cohorte d'Oklahoma aux États-Unis a retrouvé des MAT « idiopathiques » dans 31,7 % des cas (185). De plus, une étude rétrospective réalisée au CHU de Bordeaux entre janvier 2011 et janvier 2017 (186) a observé un PTT dans 42.5% des cas, un SHU atypique dans 18.1% des cas, un SHU typique dans 18.1% des cas et une MAT secondaire uniquement dans 21.3% des cas. En outre, une étude rétrospective observationnelle menée au CHU de Grenoble entre

2014 et 2019 (187) a retrouvé 22% de PTT, 10% de SHU « atypiques », 4% de SHU liés à une *E. coli* productrices de Shiga-toxine, 22% des MAT associées à une greffe de cellules souches hématopoïétiques, 22% des MAT dans un contexte de néoplasie, 7% des MAT associées à une HTA sévère, 6% des MAT associées à une transplantation d'organe.

Au cours notre étude, il n'y a eu aucun cas de PTT héréditaire. Ceci concorde avec une fréquence rare de PTT héréditaire, évaluée à moins de 5 % dans différentes cohortes (186)

### **MAT secondaires**

Les 94% des MAT secondaires retrouvées dans l'étude du CHU de Tours (159) sont liées à la grossesse (35%), aux tumeurs malignes (19%), aux infections (33%), aux médicaments (26%), aux transplantations (17%), aux maladies auto-immune (9%), à la shigatoxine liée à *Escherichia coli* (6%) et à l'hypertension maligne (4%). Certains patients avaient des causes multiples, particulièrement liées aux infections, aux médicaments, à la transplantation et aux tumeurs maligne ce qui explique une somme des pourcentages qui dépasse les 100%. Nous constatons quelques différences de classement et de résultats par rapport à notre étude. En effet, les patients ayant des MAT liées à des causes multiples au cours de notre étude ont été classés dans une catégorie « causes multiples » qui représente 9% des étiologies. Il s'agit de patients difficiles à classer malgré la concertation avec les cliniciens d'hématologie clinique et de néphrologie car ces patients présentent des comorbidités et/ou la numération de schizocytes n'a pas été reconstruée. Afin de réaliser la classification des différentes étiologies de nos patients, nous nous sommes basés sur les compte rendu des dossiers cliniques des patients. Nous avons retenu les étiologies médicamenteuses et infectieuses uniquement dans les cas avérés. Dans le cas contraire, les patients ont été classés en fonction du contexte clinique, particulièrement dans les étiologies tumorales et dans les étiologies en lien avec les greffes. Cette différence de classification pourrait expliquer la différence au niveau des résultats. En effet, la schizocytose est lié à une cause tumorale dans 34% des cas de notre étude contre 19% au CHU de Tours.

### **MAT paranéoplasique**

L'étiologie tumorale demeure néanmoins une des causes les plus fréquente de MAT après l'étiologie obstétricale au CHU de Tours (159). Ceci pourrait être expliqué par la surestimation de la prévalence réelle des MAT liées à la grossesse car le CHU de Tours prend en charge les femmes ayant des grossesses à risque.

Les cancers les plus fréquents retrouvés dans notre étude, par ordre décroissant, sont le cancer du sein (26%), le cancer du poumon (21%), le cancer du pancréas (16%) et le cancer du rein (11%). Parmi ces patients, 58% présentent des métastases. Le valeur pronostique très défavorable connue dans la littérature est confirmée dans notre étude avec un taux de décès observé dans notre série de 69%. En effet, la plupart des cas de MAT paranéoplasiques rapportées dans la littérature sont observés chez des patients atteints d'adénocarcinome mucineux ou chez des patients présentant une dissémination tumorale généralisée avec un pronostic défavorable (93).

Selon une étude prospective menée par Lohrmann et al., 5,7 % des patients atteints de carcinome métastatique présentaient une MAT. Dans une revue effectuée par Lechner et al., le carcinome gastrique était le cancer le plus fréquemment associé à une MAT (26,2 %), suivi du cancer du sein (21,4 %), de la prostate (13,7 %) et du poumon (9,5 %). La MAT a également été signalée dans l'adénocarcinome pancréatique, ainsi que dans d'autres types de tumeurs malignes (91,95).

Une étude observationnelle rétrospective multicentrique incluant les MAT liées au cancer à l'exclusion de celles liées à la chimiothérapie et à la greffe de cellules souches a été réalisée entre janvier 2008 et décembre 2019 dans 12 centres de traitement français (188). Il s'agit de la plus grande série de MAT liées au cancer depuis l'utilisation de l'eculizumab. Parmi les 59 patients inclus dans l'étude, 20 cas survenaient lors d'une récurrence de cancer. La MAT survenait principalement lors d'une néoplasie métastatique. Une atteinte pulmonaire, neurologique, osseuse et une CIVD étaient retrouvées respectivement dans 57,6 %, 49,2 %, 30,5 % et 55,9 % des cas.

La proportion des MAT paranéoplasiques liées à certains types de cancers rapportés dans notre étude et dans la littérature pourrait être expliquée par la prévalence élevée de ces formes tumorales. En effet, chez l'homme, les cancers de la prostate, du poumon et du côlon-rectum sont les plus fréquents. Chez la femme, les cancers du sein, du côlon-rectum et du poumon sont les plus fréquents (173).

Les hémopathies, particulièrement le lymphome B représentent 2% de l'ensemble des étiologies des MAT de notre étude. Les tumeurs hématologiques les plus couramment associées à une MAT-P rapportés dans la littérature sont le lymphome de Hodgkin, les lymphomes non hodgkiniens agressifs, la leucémie aiguë et le myélome multiple (91).

### **MAT post-transplantation**

Les MAT liées à la greffe représente 6% des étiologies de notre étude il s'agit essentiellement de transplantation rénale et de greffe de cellules souches hématopoïétiques. Ces MAT sont probablement multifactorielles car les patients de notre étude sont traités par des immunosuppresseurs de type Tacrolimus rapportés dans la littérature dans des cas de MAT (99). De plus, les patients de notre étude présentent souvent un contexte infectieux en lien avec le CMV responsable de rejet humoral sévère. Ces résultats sont cohérents avec la littérature car les MAT post-greffe les plus rapportées dans la littérature sont essentiellement liées à des transplantations rénales, observée dans 0,8 à 14 % des greffes du rein (163), ou des greffes de cellules souches hématopoïétiques (161).

Une étude rétrospective de 564 cas de MAT entre 2009 et 2017 a permis l'identification de 50 cas de MAT post-transplantation (189). Les principales causes de MAT étaient médicamenteuses (traitement par anticalcineurine et induction par thymoglobuline) et infectieuse (réactivation EBV chez 33 % des patients du groupe intermédiaire).

### **MAT liées aux infections**

Le SHU typique à E coli n'est pas classé dans cette catégorie. Les infections sont fréquemment associées à la MAT dans notre étude. Elles sont retrouvées dans les MAT post-greffe liées au CMV, à *Klebsiella pneumoniae* et au streptocoque B dans un contexte de méningite. Cela est conforme aux données de Morgand et al. qui ont rapporté que les infections étaient présentes dans 41 % des cas, principalement dans les infections du tractus digestif, de la sphère buccale, des voies urinaires et des poumons, avec un agent du groupe des bacilles Gram négatif (BGN) dans 30 % des cas (190). De plus, Mariotte et al. ont rapporté que les infections (12 %) étaient souvent associées au PTT dans la cohorte française de PTT (191).

### **MAT liées aux médicaments**

Nous avons retrouvé 7% des cas de MAT liée aux médicaments dans notre étude, particulièrement liée au gemcitabine, au bévacizumab et au tacrolimus.



La MAT liée à la gemcitabine a été décrite dans plusieurs études (90,91,95,104). Une cohorte réalisée entre 1989 et 2014 dans l'État de l'Oklahoma aux États-Unis (102) a observé une prévalence de 12% des MAT médicamenteuse essentiellement liées à la gemcitabine, la pentostatine et la quinine. Cependant, seulement 36% avaient des preuves à l'appui d'une association définitive avec la MAT.

### **Diagnostiques différentiels**

Contrairement à notre étude, l'étude rétrospective réalisée au CHU de Tours (159) a classé 6 % des patients en MAT secondaires liées à la drépanocytose dans 23 % des cas, au déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase dans 10 % des cas et au déficit en folate dans 44 %. Dans notre étude, nous avons classé ces étiologies en tant que diagnostics différentiels de MAT malgré la présence de schizocytes sur les frottis sanguins périphériques de nos patients. Cependant, la schizocytose n'était pas la seule anomalie morphologique observée. Elle a été souvent associée à un contexte d'aniso-poïkilocytose et/ ou de drépanocytose.

Les 3 lecteurs de notre étude ont rendu une numération de schizocytes entre 0.5% et 1% avec un environnement d'aniso-poïkilocytose pour les 3 patients ayant une carence en vitamine B12 ou en folate. Notre étude souligne l'importance de faire la distinction entre les MAT et les pseudo-MAT. Cette distinction est essentielle pour éviter les erreurs de diagnostic et les interventions thérapeutiques inappropriées. Les cas qui présentent des symptômes similaires à ceux de la microangiopathie thrombotique rapportés dans la littérature représentent environ 2,5% des cas de carence en B12 (49,50). Une étude effectuée par Tun et al. en 2017 a constaté qu'environ 38,8% des cas de pseudo-MAT résultant d'une carence en cobalamine ont été diagnostiqués à tort comme un PTT et traités par échanges plasmatiques. Il a fallu une durée médiane d'environ 2 semaines avant que le diagnostic ne soit corrigé (192).

En outre, une numération de schizocytes  $\geq 1$  % a été observée au cours de l'étude prospective réalisée en Afrique du Sud de novembre 2015 à juin 2016, incluant 146 frottis sanguins présentant une schizocytose, dans d'autres contextes en dehors des MAT, à savoir l'insuffisance rénale et l'hémoglobinopathie, et chez les nouveau-nés (181). Les pourcentages moyens de schizocytes observés dans ces contextes étaient de  $1,1 \pm 0,55$  %,  $1,2 \pm 0,78$  %, et  $1,55 \pm 0,8$  %, respectivement. Par ailleurs, les schizocytes ont été observés chez des personnes ne présentant pas une MAT en conjonction avec d'autres anomalies modérées des globules rouges, notamment les cellules crénelées, les cellules falciformes et les cellules cibles dans 64,79 % des cas au cours de cette étude.

Les schizocytes chez les nouveau-nés ne sont pas pathologiques. Un pourcentage plus élevé est généralement trouvé chez les nouveau-nés prématurés (181). Cependant, il est important de distinguer les schizocytes et les pyknocytes du nouveau-né en se focalisant sur le contexte clinique car il est très difficile de faire la distinction morphologique entre les deux cellules. En effet, au cours de notre étude, aucun des lecteurs n'a réussi à repérer le cas de pyknocytose infantile et tous les lecteurs ont rendu un décompte de schizocytes autour de 4%. Il faut noter qu'il s'agissait ici de lectures de lames anonymisées sans connaissance d'aucune donnée clinique. En pratique, l'interprétation de la lecture du frottis doit donc tenir compte du contexte, en l'occurrence ici un tableau d'ictère chez un nouveau-né associé à une hémolyse à test de Coombs négatif.

### **Robustesse de la numération des schizocytes**

Notre étude montre une bonne corrélation inter-observateurs intra-laboratoire. Cependant, nous avons constaté quelques différences importantes de rendu de résultat entre les lecteurs,

particulièrement au niveau de 22 lames de frottis sanguins périphériques. La dispersion par observateur reste globalement constante (un lecteur comptant beaucoup de schizocytes en compte beaucoup sur toutes les lames). Nous avons constaté une divergence croissante des résultats à mesure que le degré de schizocytose augmentait. Les différences inter-observateurs étaient beaucoup plus petites pour les schizocytes nuls (témoins négatifs) ou minimales.

Les 22 lames présentant une divergence importante de lecture ont été relues en aveugle tout en signalant les problèmes rencontrés lors des relectures :

- La présence d'échinocytes/ acanthocytes a été signalée pour 5 lames
- L'état de conservation du frottis sanguins a été signalé pour 3 lames
- Un contexte d'anisopoïkilocytose a été signalé pour une lame (contexte de maladie de Biermer)
- Une difficulté de choix des 5 champs a été signalée pour 2 lames car les zones de lecture optimales ne contenaient pas 200 hématies pour ces frottis sanguin.

En faveur de cette hypothèse on constate une bien meilleure convergence des résultats à la deuxième relecture. On peut penser que ce biais de saturation est artificiel et propre aux conditions de l'étude et ne se rencontre pas lors de la pratique de routine au laboratoire.

Pour le reste des lames, la variabilité inter-opérateur pourrait être expliquée par une variabilité importante pour le choix des fragments à assimiler à des schizocytes, l'absence de la sensibilisation préalable de l'observateur concernant les différentes formes de schizocytes à intégrer dans le décompte associé à un manque de standardisation des fragments qui peuvent être classés comme schizocytes, la difficulté de choix de la zone de lecture du frottis qui conditionne l'identification des schizocytes car les fragments angulaires ont tendance à devenir sphériques lorsqu'ils sont étalés. De plus la sensibilité et la précision du décompte sont limitées car le décompte est réalisé sur 1000 hématies ce qui signifie une lecture sur 5 champs de 200 hématies. Des études ont rapporté une plus grande convergence dans la comparaison inter-opérateur en réalisant un décompte sur 10 000 hématies (181). Cependant, des numérations cellulaires plus élevées sont moins pratiques dans le cadre d'un laboratoire de diagnostic sachant que le temps de lecture d'un frottis sanguin pour la quantification des schizocytes comptant 1000 cellules a été rapporté comme étant de 10,5 minutes (183). En outre, l'ICSH et l'GFHC recommandent un décompte sur 1000 cellules et le considère comme le meilleur équilibre entre la précision requise par rapport au temps et aux ressources nécessaires pour effectuer un comptage manuel des cellules (29,32,182).

Nous avons comparé nos résultats par rapport à l'étude de reproductibilité du diagnostic morphologique effectuée J.-F. Lesesve et al. (182). Dans cette étude, J.-F. Lesesve et al. ont mesuré le degré de concordance entre observateurs en utilisant le coefficient de corrélation intraclasse. Cependant, le taux de concordance a été défini dans cette étude comme bon si l'ICC est compris entre 0,60 et 0,79, excellent entre 0,80 et 100 à la différence de notre étude qui a défini selon les données de la littérature (169,170) le taux de concordance comme faible si l'ICC est inférieures à 0,5, modéré entre 0,5 et 0,75, bon entre 0,75 et 0,9 et excellent si l'ICC est supérieure à 0,90.

A l'issue de l'étude de J.-F. Lesesve et al., 135 frottis sanguins provenant de patients avec une suspicion de MAT (PTT, SHU, greffés) ou de macro-angiopathie (dysfonctionnement de valve cardiaque) ont été analysés suivant les recommandations du GFHC : observation de

plus de 1 000 hématies dans la zone d'étalement correct et avant les franges du frottis, comptabilisation des seules formes en casque, croissant ou triangle. Les observateurs ont été choisis pour leur degré d'implication variable dans la morphologie cellulaire : technicien de laboratoire polyvalent, technicien de laboratoire spécialisé, biologiste en formation, biologiste polyvalent, expert. Chaque observateur avait été sensibilisé préalablement à la méthode d'observation préconisée à la différence de notre étude car nous avons préféré la limitation du biais de détection.

Les concordances entre les différents lecteurs versus l'expert ont donné les résultats suivants : technicien spécialisé, ICC = 0,97 [0,96 – 0,98], biologiste en formation 0,97 [0,96 – 0,98], biologiste polyvalent 0,94 [0,88 - 0,97], technicien de routine 0,83 [0,76 – 0,97]. La concordance globale entre les cinq observateurs était 0,90 [0,88 – 0,93].

Nous avons eu le même constat avec l'étude de J.-F. Lesesve et al. concernant la dispersion par observateur qui reste globalement constante (un lecteur comptant beaucoup de schizocytes en compte beaucoup sur toutes les lames) (182).

Nous avons également comparé nos résultats avec l'étude réalisée en Australie par Tina Noutsos et al. publiée en 2021 (183). Des frottis sanguins des patients de plus de 200 hôpitaux dans toute l'Australie ont été inclus dans cette étude entre 2005 et 2014. Les opérateurs ont suivi des réunions pour établir un accord et une normalisation à la fois sur la définition morphologique des schizocytes et sur la formation à la méthode de numération des frottis sanguins. De plus des échantillons de frottis sanguins ont été examinés à des fins de normalisation lors de la première réunion par un microscope à têtes multiples. Des réunions virtuelles de suivi ont été organisées pour la formation continue et la normalisation de la définition des schizocytes à l'aide d'images numériques de frottis sanguins contrairement à notre étude car cette démarche augmente le biais de détection que nous avons préféré limiter au cours de notre étude.

La démarche de la préparation des échantillons est semblable à notre étude. En effet, tous les frottis sanguins ont été rendus anonymes aux opérateurs et examinés à l'aveugle. De plus, l'examen des frottis sanguins a été réalisé dans un ordre aléatoire.

A l'issue de cette étude, deux cents frottis sanguins ont été examinés pour déterminer l'accord inter-observateur. Cependant, contrairement à notre étude, 16 frottis sanguins ont été exclus en raison d'une mauvaise qualité avec un artefact de stockage important ou une crénelure des cellules. Ceci présente un facteur important de la variabilité inter-opérateur constaté dans notre étude.

L'analyse kappa de Cohen et Fleiss a été utilisée pour évaluer l'accord inter-observateur entre plusieurs opérateurs deux à deux (M1, M2 ou M3 et M4). Le kappa ( $\kappa$ ) de Cohen et Fleiss entre 0,00 et 0,20 a été défini comme un léger accord, 0,21-0,40 accord moyen, 0,41-0,60 accord modéré, 0,61-0,80 bon accord et 0,81-1,00 accord presque parfait, tel que défini par Landis et al. (193). Le  $\kappa$  de la comparaison inter-opérateurs de cette étude varie de 0,37 (IC à 95 % 0,20-0,55) correspondant à un accord moyen, à 0,70 (IC à 95 % 0,52-0,87), correspondant à un bon accord ce qui corrobore avec les résultats de notre étude.

Notre étude a abouti au même constat avec cette étude de Tina Noutsos et al. Concernant la divergence croissante des résultats à mesure que le degré de schizocytose augmentait et variabilité inter-opérateur réduite pour une numération de schizocytes nulle ou faible.

Par ailleurs, la comparaison inter-opérateur réalisé au cours de l'étude effectuée en Afrique du Sud (181), a retrouvé un coefficient de corrélation intra-classe entre les deux observateur de 0,63 [ IC : 0,52-0,75].

La conséquence pratique, à la pailleasse, de ces observations est de recommander une « sécurisation » du résultat de schizocytose par une double lecture (au minimum) par deux observateurs différents de toute valeur supérieure à un seuil défini par le laboratoire. Ce seuil peut faire l'objet de discussion au sein de chaque équipe. On peut proposer le seuil couramment admis de 1% ou un seuil inférieur (0.5% par exemple) selon la sensibilité voulue pour la détection des MAT secondaires. Une telle pratique est déjà en place dans le laboratoire du CHU de Limoges, avec un seuil à 0.5%.

Par ailleurs, il est important d'inclure régulièrement des frottis sanguins contenant des schizocytes et des diagnostics différentiels dans les contrôles internes ou externes morphologiques prévus dans le programme qualité du laboratoire, en particulier dans le maintien de compétences des techniciens et des biologistes. De plus, il convient de noter que l'exploitation de systèmes de reconnaissance d'images fondés sur l'intelligence artificielle pourrait potentiellement se révéler être une ressource cruciale dans la détection et l'évaluation de la schizocytose sanguine. Ces outils innovants pourraient contribuer de manière significative à la capacité de repérer avec précision les anomalies cellulaires et à estimer l'ampleur de cette condition au sein des échantillons sanguins. En conjuguant les avantages de l'intelligence artificielle avec l'expertise médicale, ces systèmes pourraient ouvrir de nouvelles perspectives pour un dépistage rapide et fiable de la schizocytose, offrant ainsi une amélioration considérable dans la pratique médicale et le diagnostic des troubles hématologiques.

### **Forces et limites de l'étude**

La force notable de notre étude réside dans la robustesse de la méthodologie. En effet, notre étude a été réalisée en évitant un maximum de biais car les frottis sanguins ont été anonymisés, l'ordre de lecture a été randomisé par tirage au sort, les lectures ont été réalisées à l'aveugle et les enveloppes contenant les résultats rendu par chaque lecteur n'ont été ouvertes qu'à la fin des lectures. De plus, la sensibilisation préalable de l'observateur sur les différentes formes de schizocytes n'a pas été réalisée pour éviter le biais de détection. En outre, la collecte des données a été exhaustive avec peu de données biologiques manquantes.

Par ailleurs, les méthodes statistiques utilisées représentent également une force de l'étude car les diagrammes de Bland-Altman sont adaptés à l'analyse des différences inter-observateurs. De plus, la corrélation intra-classe reflète à la fois la corrélation et la différence systématique entre les mesures.

Notre étude présente certaines limites. Tout d'abord, il s'agit d'une étude rétrospective portant sur un nombre limité de patients provenant d'un seul centre. Par conséquent, nos résultats doivent être confirmés par une étude prospective multicentrique portant sur un plus grand nombre de sujets. De telles conditions pourraient notamment permettre une meilleure compréhension des dossiers complexes, où la schizocytose semble multifactorielle.

Par ailleurs, l'étude de reproductibilité inter-observateurs a été réalisé sans « gold standard » dans le but d'être le plus objectif possible lors de l'interprétation des résultats.

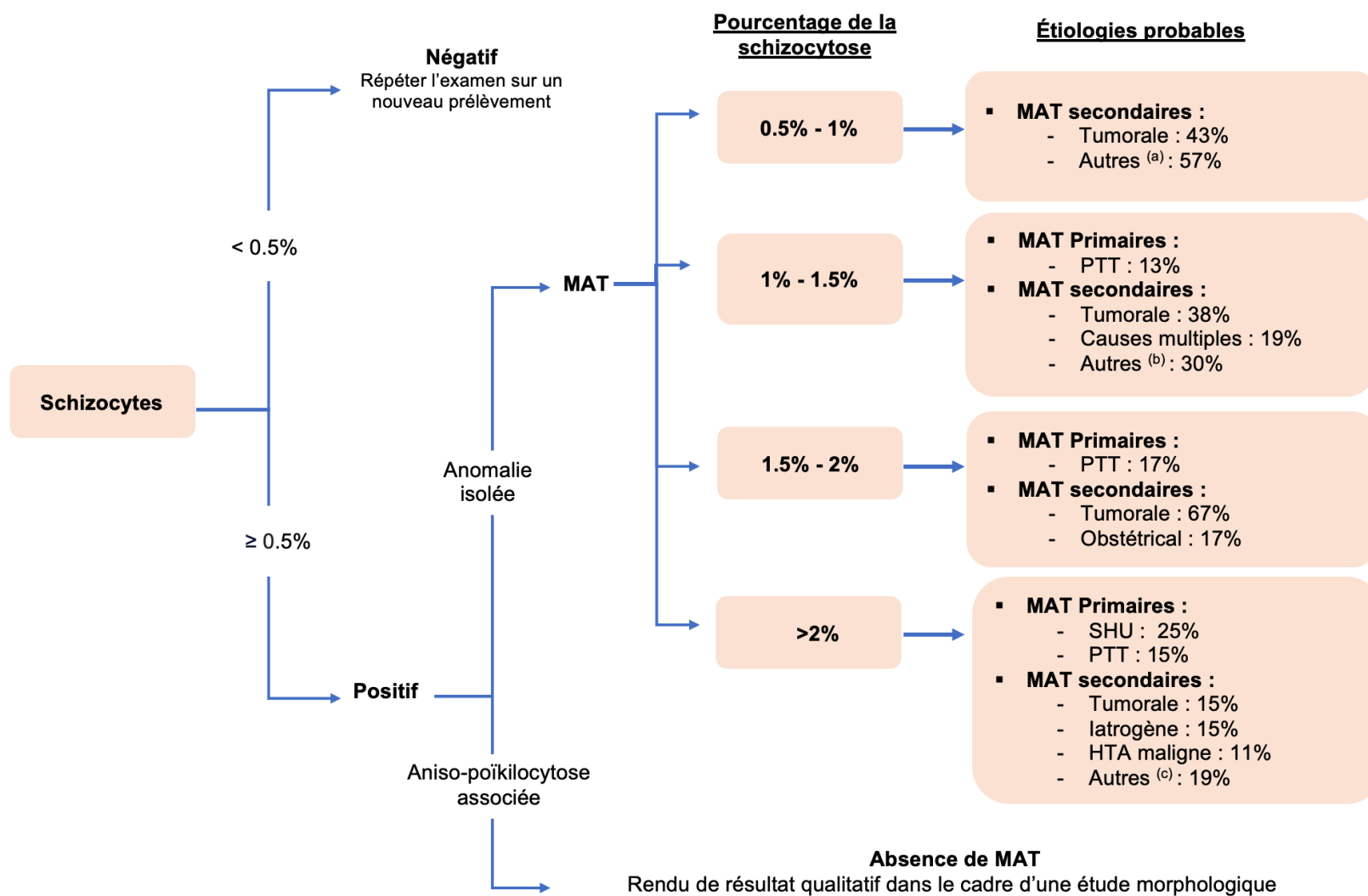


Figure 71 : Conduite à tenir devant une recherche de schizocyte et arbre décisionnel des étiologies probables

(a) : hémopathies, greffe, causes multiples, HTA maligne, infection, iatrogène, obstétrical, valve (entre 5 et 7%) ; (b) : greffe, maladies systémiques, CIVD, obstétrical, CEC (6%) ; (c) : greffe, causes multiples, toxique, valve (5%).

## 11. Conclusion

---

En considérant un seuil de schizocytose à 0.5% dans la pratique de routine d'un laboratoire de CHU, les microangiopathies thrombotiques secondaires représentent la majorité des cas rencontrés. Les MAT paranéoplasiques sont les plus fréquentes des MAT toutes causes confondues, indépendamment du seuil de la numération de schizocytes. Par ailleurs, le seuil de 1% bien établi par la littérature pour le diagnostic des microangiopathies primaires type SHU et PTT est totalement confirmé par notre étude. Il s'agit d'un argument de valeur dans la mesure où celle-ci était précisément conçue pour explorer les différentes étiologies de part et d'autre de ce seuil.

Il existe une variabilité inter-observateurs lors du décompte des schizocytes malgré la corrélation significative entre les lecteurs. Cependant, cette variabilité peut être réduite en standardisant la méthode de lecture intra-laboratoire, notamment en sécurisant le résultat par une double lecture systématique au-delà d'un seuil à définir. L'enjeu du rendu des résultats est important car il conditionne la prise en charge du patient.

## Références bibliographiques

---

1. Érythrocyte. In: Wikipédia [Internet]. 2022 [cité 25 janv 2023]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=%C3%89rythrocyte&oldid=199486290>
2. Davis IM. Antoni van Leeuwenhoek and measuring the invisible: The context of 16th and 17th century micrometry. *Stud Hist Philos Sci Part A*. 1 oct 2020;83:75-85.
3. van Leeuwenhoek A. BIOLOGIE & HISTOIRE A. van Leeuwenhoek. 2020;
4. Mohandas N, Gallagher PG. Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*. 15 nov 2008;112(10):3939-48.
5. Leeuwenhoek A van. Microscopical observations from Mr. Leeuwenhoek, about blood, milk, bones, the brain, spittle, cuticula, sweat, fatt, teares : communicated in two letters to the publisher ... [Internet]. London: Royal Society; 1674 [cité 25 janv 2023]. Disponible sur: <https://archive.hshsl.umaryland.edu/handle/10713/3461>
6. Universalis E. Encyclopædia Universalis. [cité 25 janv 2023]. SPECTROMÉTRIE DE MASSE. Disponible sur: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/spectrometrie-de-masse/>
7. Universalis E. Encyclopædia Universalis. [cité 25 janv 2023]. ÉLECTROPHORÈSE. Disponible sur: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/electrophorese/>
8. Dzierzak E, Philipsen S. Erythropoiesis: Development and Differentiation. *Cold Spring Harb Perspect Med*. avr 2013;3(4):a011601.
9. Web S. Tout sur la transfusion. [cité 25 janv 2023]. Les antigènes des globules rouges sont créés dans la moelle osseuse. Disponible sur: <https://www.toutsurlatransfusion.com/immunohematologie/globules-rouges/formation.php>
10. Saby MJ. Identification de gènes candidats pour l'anémie de Blackfan-Diamond et caractérisation phénotypique [Internet] [These de doctorat]. Université Paris Cité; 2019 [cité 21 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2019UNIP7128>
11. Alex ra / G. Expression de la protéine Emp/MAEA (Erythroblast macrophage protein/ Macrophage Erythroblast Attacher) dans la différenciation érythrocytaire terminale.
12. Lignée érythroblastique | HEMATOCELL [Internet]. [cité 14 juill 2023]. Disponible sur: <https://hematocell.fr/apprendre-a-observer-un-frottis-medullaire-et-realiser-un-myelogramme-normal/lignee-erythroblastique>
13. Masson E. EM-Consulte. [cité 25 mai 2023]. Morphologie des cellules sanguines normales. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/29823/morphologie-des-cellules-sanguines-normales>
14. Masson E. EM-Consulte. [cité 26 janv 2023]. Structures, métabolismes et physiologie des globules rouges humains. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/792/structures-metabolismes-et-physiologie-des-globule>
15. Truchard C. Synthèse sur les pathologies du globule rouge destinée à la médecine générale: travail préparatoire en vue de l'élaboration de fiches synthétiques par pathologie.
16. Bird GW. The red cell. *Br Med J*. 29 janv 1972;1(5795):293-7.

17. Kuhn V, Diederich L, Keller TCS, Kramer CM, Lückstädt W, Panknin C, et al. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. *Antioxid Redox Signal*. 1 mai 2017;26(13):718-42.
18. Pantaleo A, De Franceschi L, Ferru E, Vono R, Turrini F. Current knowledge about the functional roles of phosphorylative changes of membrane proteins in normal and diseased red cells. *J Proteomics*. 3 janv 2010;73(3):445-55.
19. Risinger M, Kalfa TA. Red cell membrane disorders: structure meets function. *Blood*. 10 sept 2020;136(11):1250-61.
20. Peter Klinken S. Red blood cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 1 déc 2002;34(12):1513-8.
21. Fenneteau O, Maier-Redelsperger M. Apport de l'examen du frottis de sang pour le diagnostic de la pathologie constitutionnelle du globule rouge. *Rev Fr Lab*. 1 juin 2000;2000(324):51-62.
22. Moulin PA, Nivaggioni V, Saut N, Grosdidier C, Bernot D, Baccini V. Diagnostic de l'ovalocytose du Sud-Est asiatique : nécessité d'une observation attentive des constantes érythrocytaires et du frottis sanguin. *Ann Biol Clin (Paris)*. 1 nov 2017;75(6):699-702.
23. Stomatocyte. In: Wikipédia [Internet]. 2021 [cité 21 juin 2023]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Stomatocyte&oldid=182654237>
24. Morphologie des hématies normales et pathologiques · devsante.org [Internet]. [cité 21 juin 2023]. Disponible sur: <https://devsante.org/articles/morphologie-des-hematies-normales-et-pathologiques/>
25. Truchard C. Synthèse sur les pathologies du globule rouge destinée à la médecine générale: travail préparatoire en vue de l'élaboration de fiches synthétiques par pathologie.
26. Masson E. EM-Consulte. [cité 4 juill 2023]. La pyknocytose infantile : une anémie néonatale mal connue à propos de 5 cas. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/194565/la-pyknocytose-infantile-une-anemie-neonatale-mal->
27. Duployez N. Hématologie. 2e éd. Louvain-la-Neuve (Belgique): De Boeck supérieur; 2017. (Prépa pharma).
28. Schizocyte. In: Wikipédia [Internet]. 2022 [cité 31 janv 2023]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Schizocyte&oldid=199486246>
29. Zini G, d'ONOFRIO G, Briggs C, Erber W, Jou JM, Lee SH, et al. ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. *Int J Lab Hematol*. 2012;34(2):107-16.
30. Masson E. EM-Consulte. [cité 2 févr 2023]. Schizocytes : détection, reconnaissance morphologique et automatisée, mesure, interprétation. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/793419/schizocytes-detection-reconnaissance-morphologique>
31. 2003-Schitocytes-Ann Biol Clin.pdf [Internet]. [cité 4 juill 2023]. Disponible sur: <http://www.pedworld.ch/ENTREE/LABORATOIRES/FROTTIS%20SANGUIN/2003-Schitocytes-Ann%20Biol%20Clin.pdf>
32. Lesesve JF, Salignac S, Alla F, Defente M, Benbih M, Bordigoni P, et al. Comparative evaluation of schistocyte counting by an automated method and by microscopic determination. *Am J Clin Pathol*. mai 2004;121(5):739-45.
33. abc Schizocytes : reproductibilité du diagnostic morphologique et intérêt de méthodes observateur-indépendantes article original - PDF Free Download [Internet]. [cité 2 févr 2023].



Disponible sur: <https://docplayer.fr/59349640-Abc-schizocytes-reproductibilite-du-diagnostic-morphologique-et-interet-de-methodes-observateur-independantes-article-original.html>

34. Rôle du biologiste confronté à une recherche de schizocytes - PDF Téléchargement Gratuit [Internet]. [cité 2 févr 2023]. Disponible sur: <https://docplayer.fr/111812019-Role-du-biologiste-confronte-a-une-recherche-de-schizocytes.html>

35. Catalogue des examens.pdf [Internet]. [cité 17 déc 2022]. Disponible sur: [https://www.ch-roanne.fr/Data/downloads/Media/1658\\_catalogue-des-examens.pdf](https://www.ch-roanne.fr/Data/downloads/Media/1658_catalogue-des-examens.pdf)

36. Schizocytes [Internet]. [cité 17 déc 2022]. Disponible sur: <http://www.ch-haguenauf.fr/laboguide/s/95-chh/435-schizocytes.html>

37. Recherche de schizocytes - Catalogue des analyses - Laboratoire de Biologie Médicale - Espace professionnel de santé - CH Angouleme [Internet]. [cité 17 déc 2022]. Disponible sur: [https://www.ch-angouleme.fr/Espace-professionnel-de-sante/Laboratoire-de-Biologie-Medicale/Catalogue-des-analyses/Recherche-de-schizocytes/\(language\)/fre-FR](https://www.ch-angouleme.fr/Espace-professionnel-de-sante/Laboratoire-de-Biologie-Medicale/Catalogue-des-analyses/Recherche-de-schizocytes/(language)/fre-FR)

38. SCHIZOCYTES – SFMTBIO Laboratoire de Biologie Médicale [Internet]. [cité 17 déc 2022]. Disponible sur: <https://sfmtbio.fr/schizocytes/>

39. RECHERCHE DE SCHIZOCYTES - Unilabs UNILABS BIOGEN [Internet]. [cité 30 janv 2023]. Disponible sur: <https://my-unilabs.fr/professionnels-de-sante/biogen/catalogue-analyses/recherche-de-schizocytes-3265>

40. liste-analyses.pdf [Internet]. [cité 17 déc 2022]. Disponible sur: <http://laboratoire-biosmose.fr/liste-analyses.pdf>

41. MiniGuide Biologie Sanguine et Urinaire [Internet]. Centre Hospitalier de la Région de Saint-Omer. [cité 17 déc 2022]. Disponible sur: <https://ch-saintomer.fr/miniguidebio/>

42. Centre hospitalier universitaire à Limoges - CHU à Limoges [Internet]. [cité 17 déc 2022]. Disponible sur: [https://www.chu-limoges.fr/catalogue\\_examens\\_labos/fiche\\_examen\\_utilisateur.php?id\\_catalogue=625](https://www.chu-limoges.fr/catalogue_examens_labos/fiche_examen_utilisateur.php?id_catalogue=625)

43. LABDQUA003v7\_imprimable.pdf [Internet]. [cité 17 déc 2022]. Disponible sur: [https://www.ch-boulogne.fr/wp-content/uploads/2021/02/LABDQUA003v7\\_imprimable.pdf](https://www.ch-boulogne.fr/wp-content/uploads/2021/02/LABDQUA003v7_imprimable.pdf)

44. Vaubourdolle M, Alvarez JC, Barbé F, Beaudeau JL, Boissier É, Caillon H, et al. SFBC guidelines on critical care testing. *Ann Biol Clin (Paris)*. mars 2016;74(2):130-55.

45. Pereira Fontes C, Fonseca S. Pseudothrombotic Microangiopathy as a Rare Presentation of Cobalamin Deficiency. *Cureus*. 13(8):e17184.

46. Koubaissi SA, Degheili JA. Severe Cobalamin Deficiency Disguised as Schistocytes: A Case Report. *Am J Case Rep*. 17 nov 2019;20:1691-4.

47. Dubucs X, Lauque D, Astudillo L. Pseudomicroangiopathie thrombotique par carence en vitamine B12. *Ann Fr Médecine D'urgence*. mars 2018;8(1):52-4.

48. Schleinitz N, Poullin P, Camoin L, Veit V, Bernit E, Mazodier K, et al. Le purpura thrombotique thrombocytopenique acquis de l'adulte : actualités. *Rev Médecine Interne*. 1 oct 2008;29(10):794-800.

49. Noël N, Maigné G, Tertian G, Anguel N, Monnet X, Michot JM, et al. Hemolysis and schistocytosis in the emergency department: consider pseudothrombotic microangiopathy related to vitamin B12 deficiency. *QJM Int J Med*. 1 nov 2013;106(11):1017-22.

50. Rao S, Colon Hidalgo D, Doria Medina Sanchez JA, Navarrete D, Berg S. Et Tu, B12? Cobalamin Deficiency Masquerading As Pseudo-Thrombotic Microangiopathy. *Cureus*. 12(7):e9097.
51. Hussain SA, Ammad Ud Din M, Boppana LKT, Kapoor A, Jamshed S. Suspected Metformin-induced Cobalamin Deficiency Mimicking Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Cureus*. 8 févr 2020;12(2):e6921.
52. Andrès E, Affenberger S, Federici L, Korganow AS. Pseudo-thrombotic Microangiopathy Related to Cobalamin Deficiency. *Am J Med*. 1 déc 2006;119(12):e3.
53. Rees C, Lund K, Bain BJ. Infantile pyknocytosis. *Am J Hematol*. 2019;94(4):489-90.
54. Namba T, Ochi M, Ogura H, Kanno H, Higuchi Y. Infantile pyknocytosis with marked hemolytic anemia. *Pediatr Neonatol*. 1 sept 2021;62(5):563-4.
55. Hemogram.pdf [Internet]. [cité 2 juill 2023]. Disponible sur: <https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/Hemogram.pdf>
56. Barcellini W, Fattizzo B. Clinical Applications of Hemolytic Markers in the Differential Diagnosis and Management of Hemolytic Anemia. *Dis Markers*. 2015;2015:635670.
57. Thomsen JH, Etzerodt A, Svendsen P, Moestrup SK. The Haptoglobin-CD163-Heme Oxygenase-1 Pathway for Hemoglobin Scavenging. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:523652.
58. Shih AWY, McFarlane A, Verhovsek M. Haptoglobin testing in hemolysis: Measurement and interpretation. *Am J Hematol*. 2014;89(4):443-7.
59. Ballas SK. Lactate dehydrogenase and hemolysis in sickle cell disease. *Blood*. 3 janv 2013;121(1):243-4.
60. Kato GJ, McGowan V, Machado RF, Little JA, Taylor J, Morris CR, et al. Lactate dehydrogenase as a biomarker of hemolysis-associated nitric oxide resistance, priapism, leg ulceration, pulmonary hypertension, and death in patients with sickle cell disease. *Blood*. 15 mars 2006;107(6):2279-85.
61. Masson E. EM-Consulte. [cité 9 févr 2023]. Anémies hémolytiques acquises. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/2856/figures/anemies-hemolytiques-acquises>
62. Masson E. EM-Consulte. [cité 6 févr 2023]. Coagulations intravasculaires disséminées (CIVD) en réanimation : définition, classification et traitement (à l'exception des cancers et hémopathies malignes). Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/15939/coagulations-intravasculaires-disseminees-civd-en->
63. Lenting PJ, Adam F. Regulating interactions between von Willebrand factor and platelets. *Hématologie*. 1 mars 2012;18(2):109-15.
64. Swami A, Kaur V. von Willebrand Disease: A Concise Review and Update for the Practicing Physician. *Clin Appl Thromb*. 1 nov 2017;23(8):900-10.
65. Masson E. EM-Consulte. [cité 7 juin 2023]. Purpura thrombotique thrombocytopénique et autres syndromes de microangiopathie thrombotique. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/29824/purpura-thrombotique-thrombocytopenique-et-autres->
66. Masson E. EM-Consulte. [cité 6 juin 2023]. Purpura thrombotique thrombocytopénique : physiopathologie, clinique, pronostic et traitement. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/1417745/purpura-thrombotique-thrombocytopenique-physiopath>

67. Masson E. EM-Consulte. [cité 6 févr 2023]. ADAMTS13, la protéase spécifique de clivage du facteur von Willebrand. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/300730/adamts13-la-protease-specifique-de-clivage-du-fact>
68. Valérie LC. Purpura thrombotique thrombocytopénique- Exploration d'ADAMTS-13. 2022;
69. Favaloro EJ, Pasalic L, Henry B, Lippi G. Laboratory testing for ADAMTS13: Utility for TTP diagnosis/exclusion and beyond. *Am J Hematol.* 2021;96(8):1049-55.
70. pnds\_ptt\_26092022\_final.pdf [Internet]. [cité 14 juin 2023]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-10/pnds\\_ptt\\_26092022\\_final.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-10/pnds_ptt_26092022_final.pdf)
71. Hantawee pant C, Sasijareonrat N, Chutvanichkul B, Karaketklang K, Chinthammitr Y. Comparison between optical microscopy and the Sysmex XN-3000 for schistocyte determination in patients suspected of having schistocytosis. *Health Sci Rep.* 29 nov 2019;3(1):e138.
72. Alhenc-Gelas M, Bidard FC. Cancer du sein et microangiopathies thrombotiques paranéoplasiques. *Bull Cancer (Paris).* 1 juill 2021;108(7):730-9.
73. Moake JL. Moschcowitz, Multimers, and Metalloprotease. *N Engl J Med.* 26 nov 1998;339(22):1629-31.
74. Retornaz F, Soubeyrand J. Le purpura thrombotique thrombocytopénique : physiopathologie et traitement.
75. Protéine ADAMTS13 recombinante (rADAMTS13) dans le PTT [Internet]. [cité 7 juill 2023]. Disponible sur: <https://www.cnr-mat.fr/la-clinique/traitements/protéine-adamts13-recombinante-radamts13-dans-le-ptt.html>
76. Masson E. EM-Consulte. [cité 21 mai 2023]. Syndrome hémolytique et urémique atypique et déficit en ADAMTS 13. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/824291/syndrome-hemolytique-et-uremique-atypique-et-defic>
77. Protocole national de diagnostic et de soins (PNDS) dédié au syndrome hémolytique et urémique (SHU) [Internet]. Site internet maladies rares de l'hôpital Necker. 2021 [cité 7 juill 2023]. Disponible sur: <https://maladiesrares-necker.aphp.fr/protocole-national-de-diagnostic-et-de-soins-pnds-dedie-au-syndrome-hemolytique-et-uremique-shu/>
78. Masson E. EM-Consulte. [cité 15 mai 2023]. Syndrome hémolytique et urémique chez l'enfant. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/793416/syndrome-hemolytique-et-uremique-chez-l-enfant>
79. Masson E. EM-Consulte. [cité 9 mai 2023]. SHU et syndromes de microangiopathie thrombotique apparentés : épidémiologie, physiopathologie et tableaux cliniques. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/1180180/shu-et-syndromes-de-microangiopathie-thrombotique->
80. Masson E. EM-Consulte. [cité 10 mai 2023]. Syndrome hémolytique et urémique : physiopathologie, clinique, pronostic et traitement. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/1539514/tableaux/syndrome-hemolytique-et-uremique-physiopathologie->
81. Masson E. EM-Consulte. [cité 17 mai 2023]. Syndrome hémolytique et urémique : physiopathologie, clinique, pronostic et traitement. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/844596/syndrome-hemolytique-et-uremique-physiopathologie->
82. Masson E. EM-Consulte. [cité 21 mai 2023]. Syndromes hémolytiques et urémiques de l'adulte. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/188491/syndromes-hemolytiques-et-uremiques-de-l-adulte>

83. Fraser ME, Fujinaga M, Cherney MM, Melton-Celsa AR, Twiddy EM, O'Brien AD, et al. Structure of Shiga Toxin Type 2 (Stx2) from *Escherichia coli* O157:H7\*. *J Biol Chem*. 25 juin 2004;279(26):27511-7.
84. Melton-Celsa AR. Shiga Toxin (Stx) Classification, Structure, and Function. *Microbiol Spectr*. 2014;2(2):10.1128/microbiolspec.EHEC-0024-2013.
85. Masson E. EM-Consulte. [cité 16 mai 2023]. Savoir penser à un syndrome hémolytique et urémique (SHU). Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/61878/savoir-penser-a-un-syndrome-hemolytique-et-uremiqu>
86. Daugan M, Noe R, Fridman WH, Sautes-Fridman C, Roumenina LT. Le système du complément - Une épée à double tranchant dans la progression tumorale. *médecine/sciences*. 1 oct 2017;33(10):871-7.
87. Jouvin MH, Kazatchkine M. Le système du complément. *Rev Médecine Interne*. 1 janv 1987;8(1):47-61.
88. Masson E. EM-Consulte. [cité 21 mai 2023]. Syndrome hémolytique et urémique chez l'enfant. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/95348/syndrome-hemolytique-et-uremique-chez-l-enfant>
89. 226-pndsSHU08022021doc.pdf [Internet]. [cité 18 juin 2023]. Disponible sur: [https://www.cnr-mat.fr/upload/by\\_document/pdf/226-pndsSHU08022021doc.pdf](https://www.cnr-mat.fr/upload/by_document/pdf/226-pndsSHU08022021doc.pdf)
90. Aklilu AM, Shirali AC. Chemotherapy-Associated Thrombotic Microangiopathy. *Kidney360*. mars 2023;4(3):409.
91. Valério P, Barreto JP, Ferreira H, Chuva T, Paiva A, Costa JM. Thrombotic microangiopathy in oncology – a review. *Transl Oncol*. 13 avr 2021;14(7):101081.
92. Hausberg M, Felten H, Pfeffer S. Treatment of Chemotherapy-Induced Thrombotic Microangiopathy with Eculizumab in a Patient with Metastatic Breast Cancer. *Case Rep Oncol*. 2019;12(1):1-6.
93. Alhenc-Gelas M, Bidard FC. Cancer du sein et microangiopathies thrombotiques paranéoplasiques. *Bull Cancer (Paris)*. 1 juill 2021;108(7):730-9.
94. Chong SL, Ahmad Asnawi AW, Hamzah R, Liew PK, Ong TC, Tan SM, et al. Occult Disseminated Metastatic Breast Carcinoma Presenting as Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Case Rep Oncol*. 27 déc 2021;14(3):1814-20.
95. Govind Babu K, Bhat GR. Cancer-associated thrombotic microangiopathy. *ecancermedalscience*. 28 juin 2016;10:649.
96. Kim HJ, Kwak MH, Kong SY, Seong MW, Kang HS, Lee KS, et al. A Case of Locally Advanced Breast Cancer Complicated by Pulmonary Tumor Thrombotic Microangiopathy. *Cancer Res Treat Off J Korean Cancer Assoc*. déc 2012;44(4):267-70.
97. Alhenc-Gelas M, Cabel L, Berger F, Delalogue S, Frenel JS, Levy C, et al. Characteristics and outcome of breast cancer-related microangiopathic haemolytic anaemia: a multicentre study. *Breast Cancer Res*. 19 janv 2021;23(1):9.
98. JALALI S, JENNEMAN D, TANDON A, KHONG H. Thrombotic Microangiopathy: A Rare Breast Cancer-associated Complication Treated Successfully With Doxorubicin and Cyclophosphamide. *In Vivo*. 3 mai 2021;35(3):1885-8.

99. Mazzierli T, Allegretta F, Maffini E, Allinovi M. Drug-induced thrombotic microangiopathy: An updated review of causative drugs, pathophysiology, and management. *Front Pharmacol.* 9 janv 2023;13:1088031.
100. Palma LMP, Sridharan M, Sethi S. Complement in Secondary Thrombotic Microangiopathy. *Kidney Int Rep.* 21 oct 2020;6(1):11-23.
101. Al-Nouri ZL, Reese JA, Terrell DR, Vesely SK, George JN. Drug-induced thrombotic microangiopathy: a systematic review of published reports. *Blood.* 22 janv 2015;125(4):616-8.
102. Reese JA, Bougie DW, Curtis BR, Terrell DR, Vesely SK, Aster RH, et al. DRUG-INDUCED THROMBOTIC MICROANGIOPATHY: EXPERIENCE OF THE OKLAHOMA REGISTRY AND THE BLOODCENTER OF WISCONSIN. *Am J Hematol.* mai 2015;90(5):406-10.
103. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Mitomycine : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/mitomycine-2400.html>
104. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Gemcitabine : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/gemcitabine-16506.html>
105. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Bléomycine : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/bleomycine-6692.html>
106. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Oxaliplatine : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/oxaliplatine-16665.html>
107. Am J, Bd R, Lg G, Jb J, Jh S, Gm S, et al. Thrombotic microangiopathy and renal failure associated with antineoplastic chemotherapy. *Ann Intern Med* [Internet]. juill 1984 [cité 10 juill 2023];101(1). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6203452/>
108. Gardner G, Mesler D, Gitelman HJ. Hemolytic uremic syndrome following cisplatin, bleomycin, and vincristine chemotherapy: a report of a case and a review of the literature. *Ren Fail.* 1989;11(2-3):133-7.
109. Gilbert RD, Stanley LK, Fowler DJ, Angus EM, Hardy SA, Goodship TH. Cisplatin-induced haemolytic uraemic syndrome associated with a novel intronic mutation of CD46 treated with eculizumab. *Clin Kidney J.* août 2013;6(4):421-5.
110. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Daunorubicine : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/daunorubicine-3869.html>
111. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Docétaxel : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/docetaxel-7050.html>
112. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Lomustine : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/lomustine-3867.html>
113. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Doxorubicine : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/doxorubicine-6769.html>
114. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Pentostatine : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/pentostatine-2699.html>
115. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Tamoxifène : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/tamoxifene-3887.html>
116. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Trastuzumab : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/trastuzumab-18886.html>

117. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Vincristine : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/vincristine-6902.html>
118. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Bortézomib : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/bortezomib-22599.html>
119. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Carfilzomib : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/carfilzomib-24364.html>
120. VIDAL [Internet]. [cité 3 juill 2023]. Ixazomib : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/ixazomib-25035.html>
121. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Alemtuzumab : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/alemtuzumab-21871.html>
122. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Imatinib : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/imatinib-21810.html>
123. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Lenvatinib : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/lenvatinib-24473.html>
124. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Pazopanib : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/pazopanib-23316.html>
125. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Régorafénib : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/regorafenib-23591.html>
126. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Sunitinib : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/sunitinib-22814.html>
127. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Bévacicumab : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/bevacizumab-22676.html>
128. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Ramucirumab : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/ramucirumab-24362.html>
129. Izzedine H. Toxicités rénales des thérapies ciblées en oncologie. *Néphrologie Thérapeutique*. 1 févr 2020;16(1):1-8.
130. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Adalimumab : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/adalimumab-22520.html>
131. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Ciclosporine : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/ciclosporine-4024.html>
132. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Tacrolimus : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/tacrolimus-15314.html>
133. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. Sirolimus : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/sirolimus-21782.html>
134. VIDAL [Internet]. [cité 8 juill 2023]. évérolimus : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/everolimus-22714.html>
135. Azarm T, Sohrabi A, Mohajer H, Azarm A. Thrombotic Thrombocytopenic Purpura associated with Clopidogrel: a case report and review of the literature. *J Res Med Sci Off J Isfahan Univ Med Sci*. mars 2011;16(3):353-7.

136. Etta PK, Gowrishankar S. Clopidogrel Induced Thrombotic Microangiopathy Successfully Treated with Conservative Approach. *Indian J Nephrol.* 2020;30(3):209-10.
137. Volcy J, Nzerue CM, Oderinde A, Hewan-Iowe K. Cocaine-induced acute renal failure, hemolysis, and thrombocytopenia mimicking thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Kidney Dis.* 1 janv 2000;35(1):e3.1-e3.5.
138. Dejman A, Alavi SN, Thomas DB, Stefanovic A, Asif A, Nayer A. The potential role of complements in cocaine-induced thrombotic microangiopathy. *Clin Kidney J.* févr 2018;11(1):26-8.
139. Lamia R, El Ati Z, Ben Fatma L, Zouaghi K, Smaoui W, Rania K, et al. Malignant hypertension-associated thrombotic microangiopathy following cocaine use. *Saudi J Kidney Dis Transplant Off Publ Saudi Cent Organ Transplant Saudi Arab.* janv 2016;27(1):153-6.
140. Lemoine M, François A, Grangé S, Rabant M, Châtelet V, Cassiman D, et al. Cobalamin C Deficiency Induces a Typical Histopathological Pattern of Renal Arteriolar and Glomerular Thrombotic Microangiopathy. *Kidney Int Rep.* sept 2018;3(5):1153.
141. document.pdf [Internet]. [cité 14 juill 2023]. Disponible sur: <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03298038/document>
142. Beck BB, van Spronsen F, Diepstra A, Berger RMF, Kömhoff M. Renal thrombotic microangiopathy in patients with cblC defect: review of an under-recognized entity. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2017;32(5):733-41.
143. Yousaf F, Spinowitz B, Charytan C, Galler M. Pernicious Anemia Associated Cobalamin Deficiency and Thrombotic Microangiopathy: Case Report and Review of the Literature. *Case Rep Med.* 2017;2017:9410727.
144. Petropoulos TE, Ramirez ME, Granton J, Licht C, John R, Moayed Y, et al. Renal thrombotic microangiopathy and pulmonary arterial hypertension in a patient with late-onset cobalamin C deficiency. *Clin Kidney J.* juin 2018;11(3):310-4.
145. How we manage thrombotic microangiopathies in pregnancy - Thomas - 2016 - British Journal of Haematology - Wiley Online Library [Internet]. [cité 12 juill 2023]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/bjh.14045>
146. Fakhouri F, Scully M, Provôt F, Blasco M, Coppo P, Noris M, et al. Management of thrombotic microangiopathy in pregnancy and postpartum: report from an international working group. *Blood.* 5 nov 2020;136(19):2103-17.
147. Cines DB, Levine LD. Thrombocytopenia in pregnancy. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program.* 8 déc 2017;2017(1):144-51.
148. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 12 juill 2023]. Syndrome des Anti-Phospholipides de l'adulte et de l'enfant. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3375791/fr/syndrome-des-anti-phospholipides-de-l-adulte-et-de-l-enfant](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3375791/fr/syndrome-des-anti-phospholipides-de-l-adulte-et-de-l-enfant)
149. Scully M. How to evaluate and treat the spectrum of TMA syndromes in pregnancy. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program.* 10 déc 2021;2021(1):545-51.
150. Homer L, Hebert T, Nousbaum JB, Bacq Y, Collet M. Comment confirmer le diagnostic de stéatose hépatique aiguë gravidique en urgence ? *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 1 mars 2009;37(3):246-51.

151. Goel A, Ramakrishna B, Zachariah U, Ramachandran J, Eapen CE, Kurian G, et al. How accurate are the Swansea criteria to diagnose acute fatty liver of pregnancy in predicting hepatic microvesicular steatosis? *Gut*. janv 2011;60(1):138-9; author reply 139-140.
152. Turki C, Snoussi M, Frikha F, Bouattour Y, Jallouli M, Marzouk S, et al. Purpura thrombopénique immunologique et grossesse. *Rev Médecine Interne*. 1 déc 2018;39:A231-2.
153. Horizons-Hemato-Decembre-2012-209-210-Loustau-Bierling.pdf [Internet]. [cité 12 juill 2023]. Disponible sur: <https://horizonshemato.com/wp-content/uploads/2017/10/Horizons-Hemato-Decembre-2012-209-210-Loustau-Bierling.pdf>
154. Masson E. EM-Consulte. [cité 12 juill 2023]. Le HELLP syndrome. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/65911/le-hellp-syndrome>
155. Gupta M, Govindappagari S, Burwick RM. Pregnancy-Associated Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *Obstet Gynecol*. janv 2020;135(1):46-58.
156. Bruel A, Kavanagh D, Noris M, Delmas Y, Wong EKS, Bresin E, et al. Hemolytic Uremic Syndrome in Pregnancy and Postpartum. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 7 août 2017;12(8):1237-47.
157. Khellaf M, Loustau V, Bierling P, Michel M, Godeau B. Thrombopénie et grossesse. *Rev Médecine Interne*. 1 août 2012;33(8):446-52.
158. Masson E. EM-Consulte. [cité 16 juill 2023]. Microangiopathies thrombotiques. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/843576/microangiopathies-thrombotiques>
159. Bayer G, von Tokarski F, Thoreau B, Bauvois A, Barbet C, Cloarec S, et al. Etiology and Outcomes of Thrombotic Microangiopathies. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 5 avr 2019;14(4):557-66.
160. Masson E. EM-Consulte. [cité 21 mai 2023]. Syndrome hémolytique et urémique secondaire à *Streptococcus pneumoniae* de sérotype 3. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/717676/article/syndrome-hemolytique-et-uremique-secondaire-a-de-s>
161. Masson E. EM-Consulte. [cité 16 juill 2023]. Microangiopathies thrombotiques secondaires et apparentées. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/1300284/microangiopathies-thrombotiques-secondaires-et-app>
162. Masson E. EM-Consulte. [cité 14 juin 2023]. Le purpura thrombotique thrombocytopénique : physiopathologie et traitement. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/15891/le-purpura-thrombotique-thrombocytopenique-physiop>
163. Ávila A, Gavela E, Sancho A. Thrombotic Microangiopathy After Kidney Transplantation: An Underdiagnosed and Potentially Reversible Entity. *Front Med*. 8 avr 2021;8:642864.
164. Young JA, Pallas CR, Knovich MA. Transplant-associated thrombotic microangiopathy: theoretical considerations and a practical approach to an unrefined diagnosis. *Bone Marrow Transplant*. 2021;56(8):1805-17.
165. Masson E. EM-Consulte. [cité 14 juill 2023]. Ischémie reperfusion en transplantation rénale. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/1209028/ischemie-reperfusion-en-transplantation-renale>
166. Aka JA, Guei CM, Konan SD, Diopoh PS, Sanogo S, Yao HK. Hypertension artérielle maligne en milieu néphrologique à Abidjan: à propos de 168 cas colligés au Service de Néphrologie-Médecine Interne du Centre Hospitalier Universitaire de Treichville. *Pan Afr Med J*. 24 mars 2021;38:305.



167. Samymodeliar S, Decagny B, Fournier A, Slama M. Hypertension artérielle maligne Malignant hypertension. *Réanimation*. juin 2003;12(4):297-305.
168. Ali F, Ullah A, Amjad W, Kochar T, Annie FH, Farooq A. A Case of Recurrent Thrombotic Microangiopathy Caused by Hypertensive Urgency. *Cureus*. 10(8):e3235.
169. Coefficient de Corrélation Intra-classe Dans R: Meilleure Référence [Internet]. Datanovia. [cité 30 juill 2023]. Disponible sur: <https://www.datanovia.com/en/fr/lessons/coefficient-de-correlation-intra-classe-dans-r/>
170. Koo TK, Li MY. A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *J Chiropr Med*. juin 2016;15(2):155-63.
171. t-Test, khi-deux, ANOVA, Régression, Corrélation... [Internet]. [cité 30 juill 2023]. Disponible sur: <https://datatab.fr/tutorial/pearson-correlation>
172. Grosclaude P. Apports de l'épidémiologie descriptive, registres et cohortes - Situation française vue par les registres de population. *médecine/sciences*. 1 oct 2007;23:22-5.
173. Epidémiologie des cancers - Les chiffres du cancer en France [Internet]. [cité 30 juill 2023]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers>
174. Âge moyen de la mère à l'accouchement | Insee [Internet]. [cité 30 juill 2023]. Disponible sur: <https://www.insee.fr/fr/statistiques/2381390>
175. Salignac S. Applications de l'analyse d'image en cytologie: identification et numération des schizocytes et des plaquettes.
176. Veyradier A, Obert B, Houllier A, Meyer D, Girma JP. Specific von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic microangiopathies: a study of 111 cases. *Blood*. 15 sept 2001;98(6):1765-72.
177. Sellier-Leclerc AL, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Macher MA, Niaudet P, Guest G, et al. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol JASN*. août 2007;18(8):2392-400.
178. Fakhouri F, Roumenina L, Provot F, Sallée M, Caillard S, Couzi L, et al. Pregnancy-associated hemolytic uremic syndrome revisited in the era of complement gene mutations. *J Am Soc Nephrol JASN*. mai 2010;21(5):859-67.
179. De Serres SA, Isenring P. Athrombocytopenic thrombotic microangiopathy, a condition that could be overlooked based on current diagnostic criteria. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. mars 2009;24(3):1048-50.
180. Sallée M, Ismail K, Fakhouri F, Vacher-Coponat H, Moussi-Francés J, Frémaux-Bacchi V, et al. Thrombocytopenia is not mandatory to diagnose haemolytic and uremic syndrome. *BMC Nephrol*. 8 janv 2013;14(1):3.
181. Schapkaitz E, Mezgebe MH. The Clinical Significance of Schistocytes: A Prospective Evaluation of the International Council for Standardization in Hematology Schistocyte Guidelines. *Turk J Hematol*. mars 2017;34(1):59-63.
182. John Libbey Eurotext - Annales de Biologie Clinique - Schizocytes : reproductibilité du diagnostic morphologique et intérêt de méthodes observateur-indépendantes [Internet]. [cité 30 juill 2023]. Disponible sur: [https://www.jle.com/fr/revues/abc/e-docs/schizocytes\\_reproductibilite\\_du\\_diagnostic\\_morphologique\\_et\\_interet\\_de\\_methodes\\_observateur\\_independantes\\_265914/article.phtml](https://www.jle.com/fr/revues/abc/e-docs/schizocytes_reproductibilite_du_diagnostic_morphologique_et_interet_de_methodes_observateur_independantes_265914/article.phtml)

183. Noutsos T, Laidman AY, Survela L, Arvanitis D, Segalla R, Brown SG, et al. An evaluation of existing manual blood film schistocyte quantitation guidelines and a new proposed method. *Pathology (Phila)*. oct 2021;53(6):746-52.
184. Burns ER, Lou Y, Pathak A. Morphologic diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol*. 2004;75(1):18-21.
185. George JN. The thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndromes: overview of pathogenesis (Experience of The Oklahoma TTP-HUS Registry, 1989-2007). *Kidney Int Suppl*. févr 2009;(112):S8-10.
186. Burguet L. Étude rétrospective sur la cohorte de microangiopathie thrombotique d'Aquitaine de 2011 à 2017. 30 juin 2017;76.
187. Pirollet H. Cohorte rétrospective de 2014 à 2019 des microangiopathies thrombotiques au sein du CHUGA: CHUGA MAT.
188. Decaestecker A, Cartery C. Étude rétrospective de 59 cas de microangiopathies thrombotiques liées au cancer : spécificités de leur présentation et de leur prise en charge. *Néphrologie Thérapeutique*. 1 sept 2021;17(5):281.
189. Masson E. EM-Consulte. [cité 31 juill 2023]. Microangiopathie thrombotique après transplantation rénale : une étude rétrospective monocentrique. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/1315584/microangiopathie-thrombotique-apres-transplantatio>
190. Morgand M, Buffet M, Busson M, Loiseau P, Malot S, Amokrane K, et al. High prevalence of infectious events in thrombotic thrombocytopenic purpura and genetic relationship with toll-like receptor 9 polymorphisms: experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. *Transfusion (Paris)*. févr 2014;54(2):389-97.
191. Mariotte E, Azoulay E, Galicier L, Rondeau E, Zouiti F, Boisseau P, et al. Epidemiology and pathophysiology of adulthood-onset thrombotic microangiopathy with severe ADAMTS13 deficiency (thrombotic thrombocytopenic purpura): a cross-sectional analysis of the French national registry for thrombotic microangiopathy. *Lancet Haematol*. mai 2016;3(5):e237-245.
192. Koshy AG, Freed JA. Clinical features of vitamin B12 deficiency mimicking thrombotic microangiopathy. *Br J Haematol*. déc 2020;191(5):938-41.
193. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. mars 1977;33(1):159-74.

## Annexes

### Étapes de l'extraction des données

L'extraction des données est faite en utilisant le logiciel GLIMS V9 selon les étapes suivantes : dans l'onglet « Administration », l'onglet « Statistiques » génère une fenêtre de dialogue. Premièrement, on coche « Résultats », Ligne « O » et on sélectionne « objets/patients »

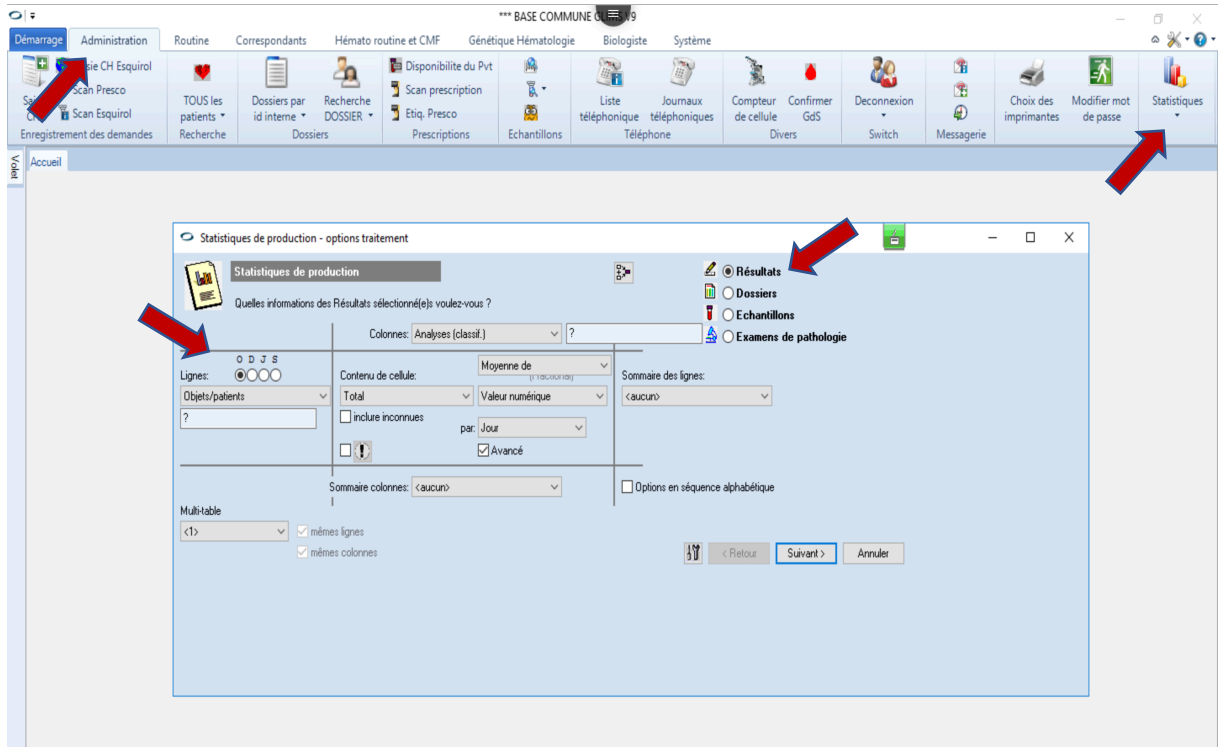


Figure 72: 1<sup>ère</sup> étape de l'extraction des données patients

Deuxièmement, on coche la ligne « D » et on sélectionne « Dossiers »

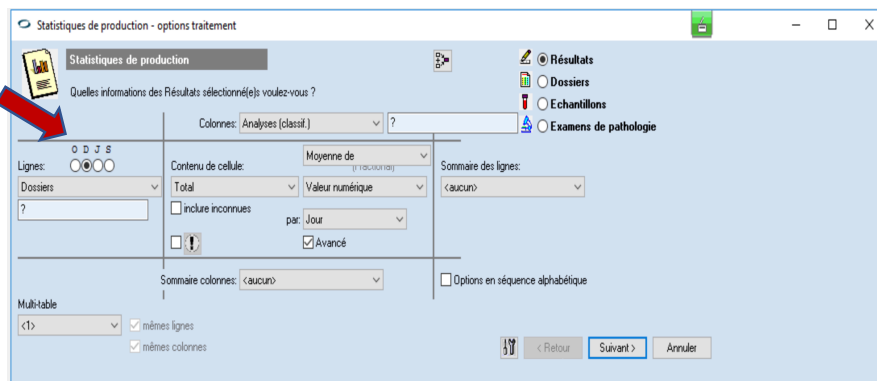


Figure 73 : 2<sup>ème</sup> étape de l'extraction des données patients

Troisièmement, on coche la ligne « J » et on sélectionne « Jours »

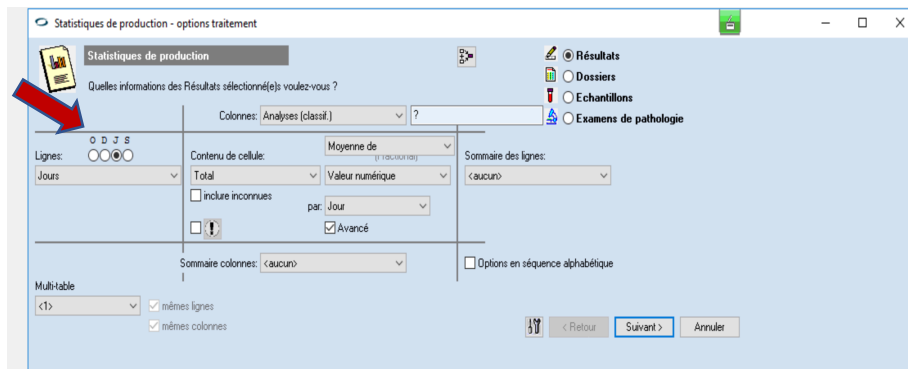


Figure 74 : 3<sup>ème</sup> étape de l'extraction des données patients

Enfin, on coche la ligne « S » et on sélectionne « Seuil d'urgence »

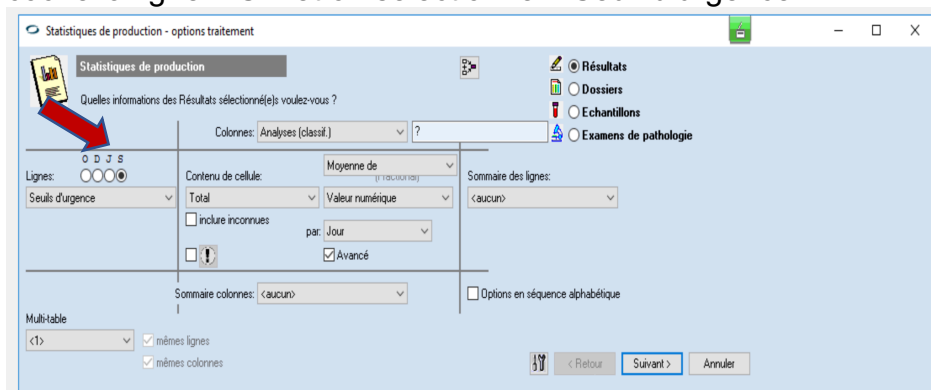


Figure 75 : 4<sup>ème</sup> étape de l'extraction des données patients

Ensuite, on précise la durée de l'étude, du 01/01/2021 au 30/09/2022, et l'analyse « H\_CYTO\_SCHIZOCYTES ».

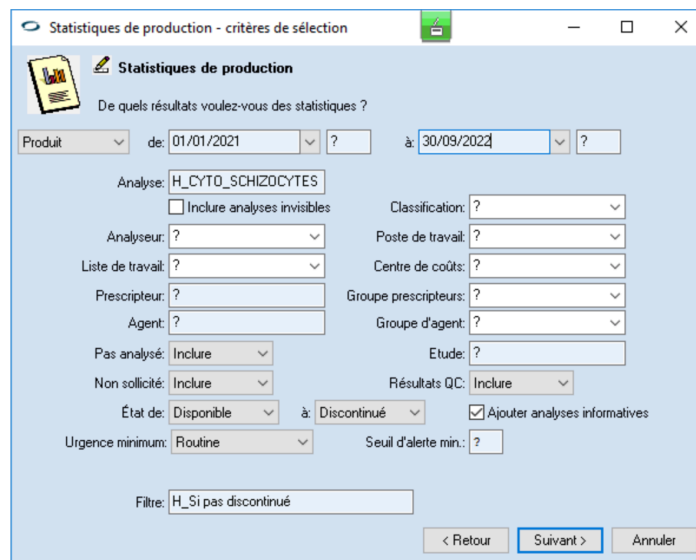


Figure 76 : 5<sup>ème</sup> étape de l'extraction des données patients

Ensuite, on choisit le format du fichier des données.

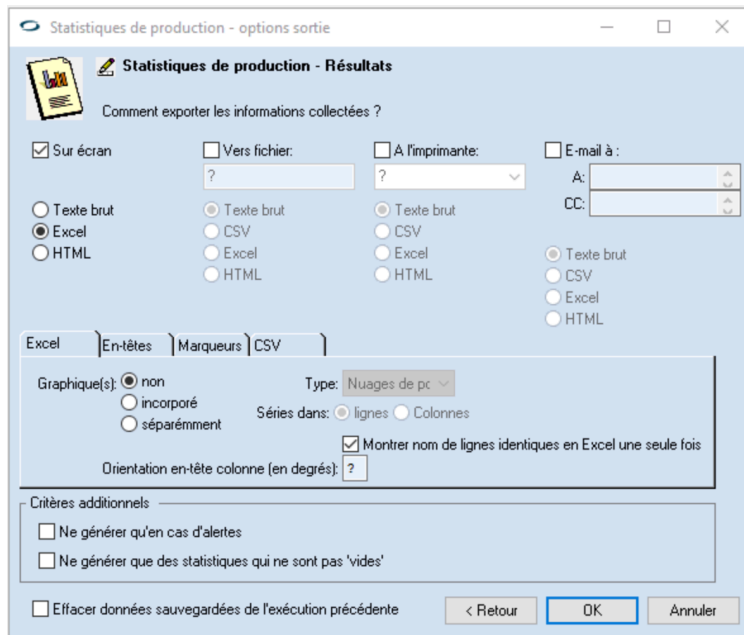


Figure 77 : 6<sup>ème</sup> étape de l'extraction des données patients

Figure 78 : Tableau de données de patients après extraction GLIMS

Tableau 12 : Répartition des recherches de schizocyste  $\geq 0.5\%$  en fonction du service prescripteur

Réanimation	8	13%
REANIMATION CARDIO-THORACIQUE	2	3%
REA POLYVALENTE	6	10%
Urgence	6	10%
URGENCES ACCUEIL HOSPITALISATION	5	8%
URGENCES DECHOCAGE	1	2%
Obstétrique	3	5%
GROSSESSES PATHOLOGIQUES	1	2%
SALLES DE NAISSANCES	1	2%
OBSTETRIQUE	1	2%
Gériatrie	2	3%
POST-URGENCE GERIATRIQUE	1	2%
S.SUITE.READ.GER. 3e REB	1	2%
Hémato/Onco	18	29%
HEBERGEMENT UOT	4	6%
HEBERGEMENT ONCOLOGIE	5	8%
HEMATO CLINIQUE	7	11%
SI HEMATOLOGIE CLINIQUE	1	2%
ONCOLOGIE MEDICALE	1	2%
Neurologie	2	3%
USINV Unité de Soins Intensifs Neuro Vasculaire	1	2%
SOINS INTENSIFS NEUROCHIRURGIE	1	2%
Néphrologie	8	13%
NEPHROLOGIE	6	10%
HEBERGEMENT UROLOGIE	1	2%
SI NEPHROLOGIE	1	2%
Polyclinique/Médecine interne	8	13%
HC POLYCLINIQUE MEDICALE	2	3%
HEBERGEMENT MEDECINE INTERNE - DERMATOLOGIE	5	8%
CONSULTATIONS MEDECINE INTERNE ET POLYCLINIQUE	1	2%
Pédiatrie	7	11%
REA NEO NATALE	1	2%
SC PEDIATRIE	1	2%
HEBERGEMENT PEDIATRIE MEDICALE	1	2%
CONSULTATIONS PEDIATRIE MEDICALE	1	2%
URGENCES ACCUEIL PED HME	1	2%
REA PEDIATRIQUE	2	3%

## Serment De Galien

---

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

## Étude rétrospective de la numération des schizocytes sur le frottis sanguin : intérêt clinique et robustesse

---

**Introduction et objectifs :** Les schizocytes sont des hématies fragmentées. L'objectif de cette étude est de classer les étiologies en fonction du taux de schizocytes et d'évaluer la robustesse de la méthode de comptage microscopique des schizocytes.

**Méthode :** Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective incluant des patients avec une schizocytose circulante au CHU de Limoges entre le 1<sup>er</sup> janvier 2021 et 30 septembre 2022 et au CH de Brive entre 1<sup>er</sup> novembre 2022 et le 30 avril 2023. La relecture des frottis sanguins a été réalisée par 3 lecteurs d'une manière randomisée et en aveugle.

**Résultats et discussion :** Notre étude montre que la MAT secondaire représente 80% des cas avec une prédominance de l'étiologie tumorale. Les patients atteints de MAT primaires semblent avoir un pourcentage de schizocytes > 1%. Notre étude montre une corrélation significative malgré une variabilité inter-observateurs lors du décompte des schizocytes. Cette variabilité pourrait être réduite en standardisant la méthode de lecture, notamment en réalisant des formations continues et en sécurisant le résultat par une double lecture systématique.

**Conclusion :** L'enjeu du rendu des résultats des schizocytes est important car il conditionne la prise en charge du patient.

---

Mots-clés : Schizocyte, thrombopénie, microangiopathie thrombotique PTT, SHU, tumeurs, étude rétrospective, robustesse.

## Retrospective Study of Schizocyte Counting on Blood Smears: Clinical Significance and Robustness

---

**Introduction and objectives:** Schizocytes are fragmented red blood cells. The objective of this study is to classify etiologies based on the schizocyte rate and to assess the robustness of the microscopic schizocyte counting method.

**Method:** This is a retrospective descriptive study including patients with circulating schizocytosis at the Limoges University Hospital between January 1, 2021, and September 30, 2022, and at the Brive Hospital between November 1, 2022, and April 30, 2023. Blood smear reevaluation was performed by 3 readers in a randomized and blinded manner.

**Results and discussion:** Our study shows that secondary thrombotic microangiopathy accounts for 80% of cases with a predominance of the tumor etiology. Patients with primary thrombotic microangiopathy appear to have a schizocyte percentage > 1%. Our study demonstrates significant correlation despite inter-observer variability in schizocyte counting. This variability could be reduced by standardizing the reading method, particularly through ongoing training and securing results through systematic double reading.

**Conclusion:** The significance of reporting schizocyte results is crucial as it influences patient management.

---

Keywords: Schizocyte, Thrombocytopenia, Thrombotic Microangiopathy, TTP, HUS, Tumors, Retrospective study, Robustness.

