



Société Algérienne d'Hématologie
et de Transfusion Sanguine

Revue Algérienne d'**Hématologie**

Béta thalassémie

Diagnostic, Greffe de Moelle Allogénique, complications

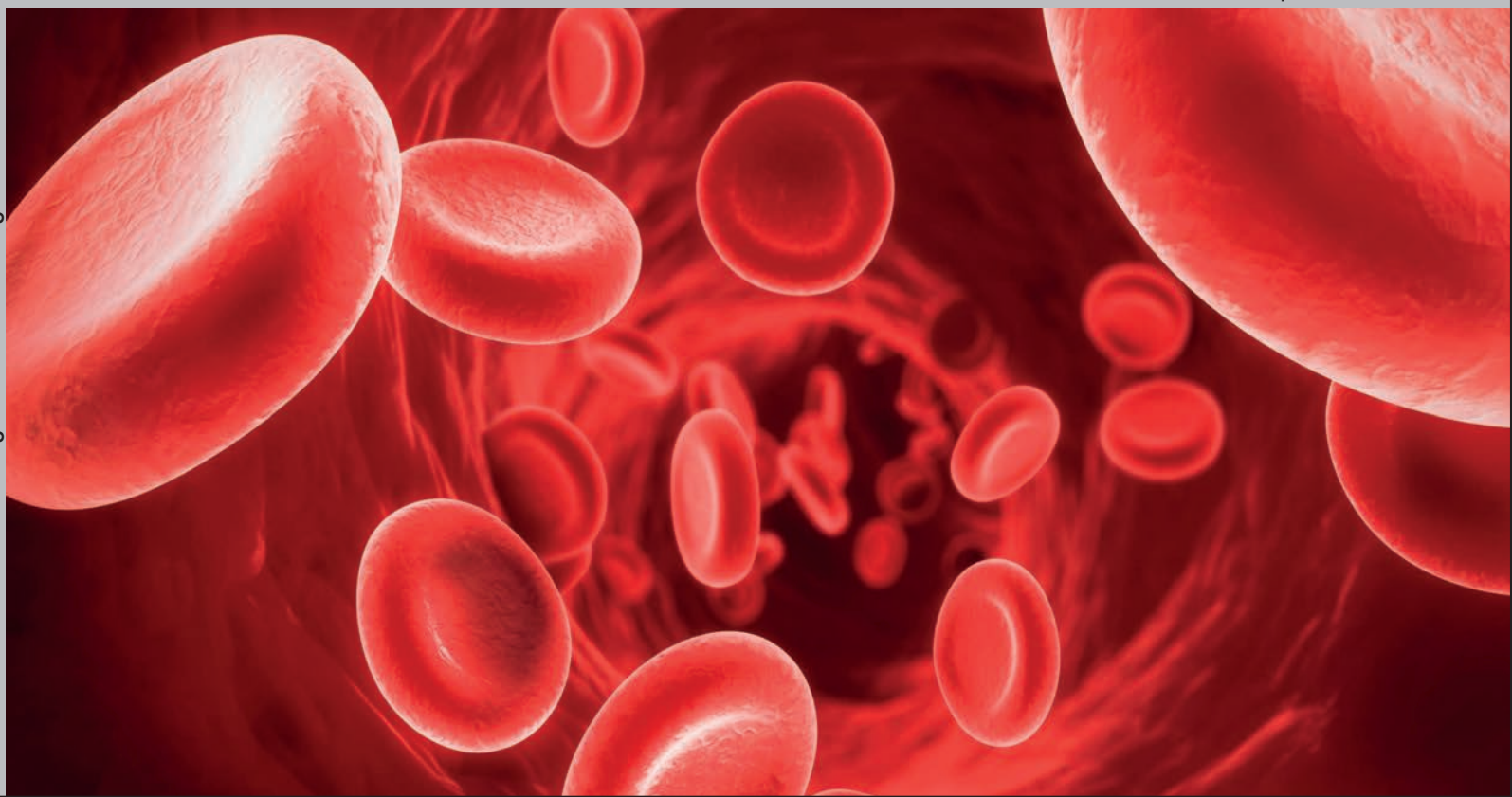
Divers

Classification OMS révisée 2016 des hémopathies lymphoïdes matures :
principales modifications apportées.

Profil phénotypique par cytométrie en flux des Syndromes Lymphoprolifératifs Chroniques
en conversion leucémique hors Leucémie Lymphoïde Chronique.

Résultats préliminaires de l'évaluation du Posaconazole en prophylaxie primaire
des IFI au cours des leucémies aiguës myéloïdes.

No 16, Septembre 2022



RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

La revue algérienne d'hématologie, créée en 2009, constitue un espace d'échange scientifique permettant le partage de nos expériences et réflexions, grâce à une collaboration étroite entre les praticiens, cliniciens et biologistes. Dans un souci d'homogénéisation de notre revue, nous invitons les auteurs à respecter les instructions relatives à la rédaction et à la présentation des articles.

SONT ACCEPTÉS DANS LA REVUE :

- Les articles originaux
- Une revue de la littérature sur un thème donné
- Un cas clinique avec une revue de la littérature
- Une note brève (clinique, biologique, éthique)

INSTRUCTIONS

1. **Soumettre les articles en fichier Microsoft Word à l'adresse suivante : rahematologie@gmail.com**

2. **Titre de l'article en français et en anglais.**

3. **Les auteurs :**

- Les noms des auteurs : commencer par l'initiale du prénom suivie d'un point et nom de famille : coordonnées complètes.
- Les auteurs affiliés à plusieurs services doivent fournir les adresses séparées pour chaque entité, repérées par des lettres en exposant après leurs noms.
- Pour l'auteur principal : téléphone et e-mail

4. **Le résumé :**

Il ne doit pas être exhaustif (250 à 300 mots) et il doit être accompagné de mots clés (maximum 05) en français et en anglais

5. **L'article original :**

- Il doit répondre aux normes internationales et respecter les différentes rubriques : introduction, matériel et méthodes, résultats, discussion et conclusion.
- Les symboles et unités scientifiques doivent être conformes aux normes internationales.
- Les abréviations seront explicitées lors de leur première apparition dans le texte et leur nombre sera réduit au minimum.
- Les figures et tableaux : leur nombre au total ne doit pas dépasser 06 par article. Il faut privilégier la rédaction. Ils seront numérotés en chiffres arabes et indexés dans le texte par rappel de leur numéro.

6. **Les références bibliographiques :**

- Elles sont numérotées selon l'ordre d'apparition dans le texte, en chiffre arabe entre crochets.
- Elles sont rédigées conformément aux normes de Vancouver (International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Fifth edition. N Engl J Med 1997; 336: 309-16)

Exemple :

Barrier JH, Herbouiller M, Le Carrer D, Chaillé C, Raffi F, Billaud E, et al. Limites du profil protéique d'orientation diagnostique en consultation initiale de médecine interne. Etude prospective chez 76 malades. Rev Med Interne 1997; 18: 373-9

COORDINATRICE

- Pr Ait Amer Nacera

RÉDACTEURS EN CHEF

- Pr Hamladji Rose Marie
- Pr Belhani Meriem

COMITÉ DE RÉDACTION

- Pr Abad Mohand Tayeb
- Pr Touhami Hadj
- Pr Bekadja Mohamed Amine
- Pr Ahmed Nacer Redhouane
- Pr Boudjerra Nadia
- Pr Saidi Mahdia
- Pr Djouadi- Lahlou Khédidja

Conseil Scientifique de la SAHTS

PRÉSIDENT

- Pr Ahmed Nacer Redhouane

MEMBRES

- Pr Hamladji Rose Marie
- Pr Belhani Meriem
- Pr Abad Mohand Tayeb
- Pr Touhami Hadj
- Pr Ait Ali Hocine
- Pr Zouaoui Zahia
- Pr Bekadja Mohamed Amine
- Pr Boudjerra Nadia
- Pr Sidi Mansour Nourredine
- Pr Mesli Naima
- Pr Hamdi Selma
- Pr Griffi Fatiha
- Pr Saidi Mahdia
- Pr Nekkal Mohamed Salim
- Pr Djouadi- Lahlou Khédidja
- Pr Bradai Mohamed
- Pr Ramaoun Mohamed
- Pr Lakhdari Nouredine
- Pr Kaci Zohra

- Pr Bachiri Aissa
- Dr Saidi Djamel
- Pr Mehennaoui Habiba
- Pr Benakli Malek
- Pr Belakehal Salah Eddine
- Pr Zatla Leila
- Pr Abdennebi Naima
- Pr Brahimi Mohamed
- Pr Arabi Abdessamed
- Pr Taoussi Souad
- Pr Benlazhar Mohamed
- Pr Ouchenane Zohra
- Pr Allouda Malika
- Pr Djenouni Amel
- Pr Hamouda Hakim
- Pr Yafour Nabil
- Dr Mehalhal Nemra
- Pr Talbi Faiza
- Pr Mehdi Farih
- Dr Merrouche Manel
- Pr Ait Amer Nacera
- Pr Oukid Salima
- Pr Bouchakor Moussa Yamina
- Dr Bensadok Meriem
- Pr Louanchi Lynda

Composition du bureau de la SAHTS

PRÉSIDENTE

- Pr Saidi Mahdia

VICE PRÉSIDENTES

- Pr Bouchakour Moussa Yamina
- Pr Louanchi Lynda
- Dr Bensadok Meriem

SECRÉTAIRE GÉNÉRALE

- Pr Oukid Salima

TRÉSORIÈRE

- Pr Ait Amer Nacera

SOMMAIRE

AVANT PROPOS

N. Ait Amer

Lire en page 7

EDITORIAL

**La β thalassémie homozygote :
Etat des lieux, recommandations
de prise en charge et perspectives
d'avenir**

R. M. Hamladji

Lire en page 8

LES ARTICLES

**Apport de l'HPLC dans le diagnostic
des Béta Thalassémies**

S. Oukid

Lire en page 11

**Allogreffe de cellules souches
hématopoïétiques chez les patients
atteints de bêta thalassémie majeure**

F. Tensaout

Lire en page 17

**Complications tardives de
la β -thalassémie majeure**

N.Ait Amer

Lire en page 25

**Complications de la splénectomie
chez la beta thalassémiques**

CH.Aboura

Lire en page 30

**Cas clinique : β Thalassémie
compliquée d'une alloimmunisation
et d'une auto-immunisation : un vrai
challenge thérapeutique.**

Y. Ghassoul

Lire en page 37

**Classification OMS révisée 2016 des
hémopathies lymphoïdes matures :
principales modifications apportées**

N.Ait Amer

Lire en page 41

**Profil phénotypique par
cytométrie en flux des Syndromes
Lymphoprolifératifs Chroniques en
conversion leucémique hors Leucémie
Lymphoïde Chronique**

S.Oukid

Lire en page 48

**Résultats préliminaires de l'évaluation
du Posaconazole en prophylaxie
primaire des IFI au cours des
leucémies aigües myéloïdes.**

M.A.Bekadja

Lire en page 55

Avant-propos

Nous traitons dans ce numéro, en grande partie, le thème « Béta-thalassémie majeure, c'est une hémoglobinopathie quantitative, homozygote, de transmission héréditaire autosomale récessive. Elle se manifeste par une anémie sévère, qui nécessite un régime transfusionnel au long cours. La surcharge en fer qui en résulte est la principale cause de mortalité et de morbidité.

La greffe de CSH est le seul traitement curateur de la bêta-thalassémie majeure, toutefois les risques liés à la greffe sont importants et les meilleurs résultats sont obtenus chez les sujets jeunes faiblement surchargés en fer et sans lésions organiques sévères.

Nous rapportons dans ce numéro, les modalités diagnostiques, les différentes complications et les résultats de la greffe de moelle allogénique dans la β thalassémie homozygote.

Les autres thèmes abordés passent en revue les principales modifications apportées par la classification OMS révisée 2016 des hémopathies lymphoïdes matures, le profil phénotypique par cytométrie en flux des syndromes lymphoprolifératifs chroniques en conversion leucémique hors leucémie lymphoïde chronique et les résultats préliminaires de l'évaluation du Posaconazole en prophylaxie primaire des IFI au cours des leucémies aigües myéloïdes.

Je souhaite à tous une bonne lecture.

Pr N. Ait Amer
Coordinatrice de la revue

EDITORIAL

La β thalassémie homozygote : Etat des lieux, recommandations de prise en charge et perspectives d'avenir

ROSE-MARIE HAMLADJI

Rédactrice en chef
Revue Algérienne d'Hématologie

La β thalassémie homozygote est une anémie hémolytique congénitale transmise selon le mode autosomal récessif. Elle est caractérisée par un défaut total (β^0 thalassémie) ou partiel (β^+ thalassémie) de production de la chaîne β de globine, due à un nombre élevé de défauts moléculaires survenus sur le gène de β globine spécifiques à chaque population.

Sur le plan clinique elle réalise soit une forme grave dite thalassémie majeure transfusion dépendante, soit une forme atténuée dite thalassémie intermédiaire ne requérant habituellement que des transfusions ponctuelles mais pouvant s'aggraver avec l'âge.

Etat des lieux

En Algérie la recherche de la prévalence du gène β thalassémique (β thalassémie hétérozygote) a fait l'objet de plusieurs études entre 1965 et 1983 qui ont permis de l'estimer entre 1,66 et 3%.

La première approche épidémiologique nationale de la β thalassémie homozygote a été rapportée en 2009 ⁽¹⁾, elle a concerné 750 patients observés entre 1995 et 2005, suivie en 2014 d'une autre étude portant sur 931 patients dont 556 enfants (59,7%) et 66% de formes majeures ⁽²⁾, ces études ont concerné la majorité des services d'hématologie et de pédiatrie du pays.

La prise en charge de la β thalassémie homozygote dans notre pays repose essentiellement sur un programme transfusionnel associé à un traitement chélateur du fer.

Les difficultés de la réalisation du programme

transfusionnel sont illustrées par l'étude des 74 patients sur 102 (72,5%) splénectomisés dont 62 (84%) pour une forme majeure de la maladie et 12 (16%) pour une forme intermédiaire, la splénectomie ayant été indiquée en raison de l'importance du volume de la splénomégalie et/ou de l'augmentation des besoins transfusionnels traduisant en fait l'insuffisance des transfusions ⁽³⁾. Cette insuffisance du programme transfusionnel est également responsable d'un déficit statural et/ou pondéral chez 54 à 60% des patients proposés à la greffe.

Le traitement chélateur quant à lui a été également souvent insuffisant chez nos patients, responsable d'une surcharge hépatique se traduisant par une hépatomégalie avec débord hépatique supérieur à 2cm chez 44% des patients allogreffés et une fibrose hépatique chez 69% ⁽⁴⁾.

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (A-CSH) elle a été réalisée de 1999 à 2018 chez 69 patients et arrêtée depuis 2019 en raison du nombre croissant d'hémopathies malignes pédiatriques pour lesquelles l'indication d'allogreffe est vitale à court terme ⁽⁵⁾.

Recommandations de prise en charge

Le programme transfusionnel ne doit être entrepris qu'après confirmation du diagnostic de β thalassémie homozygote complété par une enquête familiale qui va permettre également le conseil génétique. Le critère de thalassémie transfusion dépendante (TDT) est un taux d'hémoglobine (Hb) inférieur à 7g/dl effectué à deux reprises à 2 semaines d'intervalle, après élimination d'une

autre étiologie. La transfusion dépendance apparaît habituellement dans les formes majeures au cours des 2 premières années de la vie, par contre dans les formes intermédiaires le besoin transfusionnel est habituellement intermittent et il peut être limité par la prescription d'Hydréa (10 à 20 mg/kg/j). Avant la 1^{re} transfusion, il est nécessaire d'effectuer un groupage sanguin ABO phénotypé dans le système Rh (D, Cc, Ee) et Kell. Chaque transfusion doit comporter du sang compatible en ABo et D et au mieux en système Rh et Kell, préalablement filtré et prélevé dans les 2 semaines précédentes(6). Le volume à transfuser doit permettre de maintenir un taux d'Hb pré transfusionnel au-dessus de 10g/dl avant l'âge de 15 ans et de 8 à 9 g/dl après cet âge, ce qui correspond à l'apport de 15ml/kg de concentré érythrocytaire toutes les 3 semaines ou de 20 ml/kg toutes les 4 semaines (7).

Le traitement chélateur quant à lui permet une amélioration de la survie, une diminution du risque d'insuffisance cardiaque et des autres morbidités dues à la surcharge martiale. La surcharge cardiaque en fer est plus tardive que la surcharge hépatique, elle est rare avant l'âge de 8 ans, elle peut être estimée par l'IRM (T2 cardiaque). Une surcharge myocardique modérée s'accompagne d'une T2 de 5 à 20 ms, elle est sévère pour une T2<5ms. Le traitement chélateur repose dans notre pays sur 2 chélateurs : la déféroxamine (DFO) et le déférasirox (DFX). Il doit être entrepris après les 10 à 20 premières transfusions ou quand le taux de ferritinémie atteint 1000²g/l, la surveillance se fera essentiellement sur la mesure de la ferritinémie avec augmentation des doses pour des valeurs au-dessus de 1500²g/l et la diminution des doses si sa valeur atteint 500²g/l sans arrêter le traitement car risque de rebond. Actuellement le traitement chélateur fait appel au DFX mieux toléré par l'enfant que la DFO, à raison d'une seule prise orale par jour à la dose standard de 20mg/kg, qui ne sera que de 10mg/kg si le traitement doit être commencé avant l'âge de 3 ans en raison du risque osseux. Il nécessite une surveillance mensuelle de la Créatininémie en raison du risque de toxicité rénale. La DFO est actuellement utilisée en cas d'intolérance au DFX, par voie sous cutanée par pompe portable 5 jours sur 7 à la dose de 50mg/Kg ou en bolus. Un traitement chélateur de sauvetage peut être nécessaire chez les patients

candidats à une allogreffe avec une ferritinémie très élevée ou les patients présentant des signes d'intolérance cardiaque ou une altération de la fonction ventriculaire gauche ou une T2 cardiaque <5ms. Il peut faire appel à l'augmentation des doses de DFX à 30mg/kg/j jusqu'à 40 mg en fonction de la tolérance rénale ou à la DFO en perfusion intra veineuse continue sur 24H par voie centrale (dispositif Porth-a-cath), à la dose minimum de 50 mg/Kg/j sans dépasser 60 mg/Kg/j.

En ce qui concerne les indications de la splénectomie elles doivent être idéalement restreintes en raison du risque de complications thrombotiques, d'infections sévères et d'hypertension artérielle pulmonaire. Elle ne peut être évitée que par un programme transfusionnel précoce et bien conduit.

Perspectives d'avenir

Le traitement transfusionnel en raison de son coût ainsi que des différents défis qu'ils demandent à relever : l'approvisionnement suffisant en sang, une bonne chélation et un monitoring adéquat expliquent que globalement actuellement seulement 12% des enfants thalassémiques TD reçoivent un traitement transfusionnel adéquat et que moins de 40% d'entre eux un traitement chélateur adapté. Il a été montré dans l'étude d'une large série de patients que l'espérance de vie au-delà de 50 ans et plus ne pouvait être espérée que si le traitement chélateur n'était ni interrompu ni irrégulièrement suivi (8).

Pour toutes ces raisons les traitements curatifs ainsi que les traitements qui diminuent les besoins transfusionnels ont été développés. Les traitements à visée curatrice sont l'A-CSH et la thérapie génique.

L'A-CSH à partir d'un donneur HLA identique familial géno ou phéno identiques reste actuellement la thérapeutique à visée curatrice de choix dans notre pays, elle peut être envisagée à partir de l'âge de 3 ans et au mieux avant l'âge de 14 ans. Elle permet d'obtenir une durée de vie globale dépassant 80% (9), qui est de 78% chez nos patients greffés (5) d'où la nécessité absolue de sa reprise dans notre pays, car plus de la moitié de nos patients β thalassémiques majeurs sont des enfants et peuvent donc potentiellement en bénéficier.

La thérapie génique quant à elle apparaît comme le traitement curatif d'avenir car il comporte

moins de risque que l'allogreffe. Il est basé sur la modification ex-vivo des cellules souches (CD34) du patient par l'introduction d'un lentivirus qui sert de vecteur à l'édition des éléments du gène de globine. Les cellules modifiées sont réinjectées chez le patient après conditionnement myéloablatif à base de Busulfan ou de Thiotepe et Tréosulfan. En juin 2019 la Commission Européenne a approuvé l'utilisation thérapeutique du produit Blue bird biogène codant pour le gène β A-T87Q de la globine, ce traitement est indiqué chez les patients âgés de 12 ans et plus, éligibles à l'allogreffe n'ayant pas de donneur géno identique⁽¹⁰⁾. L'inconvénient de ce type de traitement très prometteur est son coût actuellement prohibitif donc inaccessible pour de nombreux pays⁽¹¹⁾.

Quant aux traitements qui diminuent les besoins transfusionnels qui ont été essayés, le seul pour lequel une efficacité a été démontrée est le Luspatercept qui agit en réduisant l'érythropoïèse inefficace ce qui diminue les besoins transfusionnels et donc les besoins en traitement chélateur s'accompagnant d'une réduction de la ferritinémie. Il est actuellement indiqué chez le patient thalassémique TD âgé de 18 ans ou plus et également chez les patients présentant un syndrome myélodysplasique TD⁽¹²⁾. Il s'agit d'une piste thérapeutique qui pourrait être intéressante dans notre pays. ■

Références

1. M. Belhani
Epidémiologie de la β Thalassémie homozygote en Algérie
Rev Alg Hématologie : 2009, 1 : 22-26
2. M. Belhani
Thalassemia in Maghreb. Situation in Algeria
First thalassemia Maghreb Summit, 6-7
September 2014, Tunis
3. Ph Aboura, Z. Deumir, N. Khoumi et al
Complications de la splénectomie chez les bétathalassémiques : Etude rétrospective à propos de 75 cas
Rev. Alg. Hématologie : 2022, 16 :
4. F. Tensaout
Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques dans la β thalassémie majeure
Thèse DESM Alger 2016
5. F. Tensaout, M. Benakli, F. Mehdi et al
Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) chez les patients atteints de β thalassémie majeure
Rev. Alg. D'Hématologie : 2022, 16 :
6. S. Trompeter
Blood Transfusion in 4th Edition. M. D Capellini.
2021 T.I.F. Guidelines for the management of Transfusion Dependant Thalassemia (TDT)
7. M. de Montalembert
Syndromes thalassémiques
EMC Mise à jour Hématologie : 2008-13-006 : D-17
8. J. PORTER
Beyond Transfusion therapy: new therapies in thalassemia included drugs, alternate donor transplant and gene therapy
ASH Education program, San Diego California, 2018, December : 1-4
9. D. Baronciani, F. Angelucci, U. Potschger et al
Hemopoietic stem cell transplantation in thalassemia
Bone Marrow Transplant. 2016. 51 (4): 536-541
10. G. Kaltsoumis, P.-G. Papayanni, E. Yannaki
Gene therapy for thalassemia in 4th Edition M.D Capellini . 2021. TIF.
Guidelines for the Management of Transfusion Dependant Thalassemia (TDT)
11. Y. Beuzard : Les thérapies géniques des hémoglobinopathies : une nouvelle ère, mais à quel prix ?
Hématologie, 2022, n°2, 28: 148-167
12. J. Delgado, C. Voltz, M. Stain and al: The European Medicine Agency Review of Luspatercept for the treatment of Adult patients with Transfusion dependant Anemia caused by low risk myelodysplastic Syndrome with ring sideroblasts or beta thalassemia Hemasphere : 2021, 5 (8) : p e616

Apport de l'HPLC dans le diagnostic des Béta Thalassémies

S. Oukid, S. Taoussi, MT. Abad, M. Bradai

Service Hématologie, EHS ELCC CAC. Université de Blida I, Algérie.

Laboratoire de Recherche sur les Hémopathies Malignes et les Hémoglobinoopathies.

RESUME

Les techniques de chromatographie liquide haute performance (HPLC) sont utilisées pour les dosages de l'hémoglobine A₂ (HbA₂), d'HbA_{1c} et d'Hb F, avec la possibilité de mise en évidence de différents variants. Nous présentons les données de 214 cas de Beta Thalassémies (37.8%) diagnostiqués par HPLC sur 566 manipulations pour suspicion d'anomalies d'hémoglobine sur une période de 08 mois. L'analyse des différentes fractions des hémoglobines est revenue normale chez 255 cas (45%) et a retrouvé une anomalie de l'hémoglobine dans 311 cas (55%). Nous avons diagnostiqué une anomalie de la chaîne Beta dans 214 cas soit 68.8% des électrophorèses pathologiques. Il s'agit d'une Beta thalassémie homozygote dans 32 cas (15%) et d'une Beta Thalassémie hétérozygote dans 182 cas (85%). L'HPLC est un outil remarquable pour l'étude des hémoglobinoopathies. La rapidité et la sensibilité caractérisent cette méthodologie. Elle est un examen clé dans le diagnostic des formes hétérozygotes. Normalement elle doit être pratiquée de façon systématique dans le bilan pré-nuptial.

Mots Clés : Electrophorèse d'hémoglobine, Beta Thalassémie, HPLC.

INTRODUCTION

Le diagnostic d'hémoglobinoopathie repose sur la mise en évidence et la quantification des différentes hémoglobines : A (Hb A), A₂ (HbA₂) et foétale (Hb F), et des variants les plus fréquents hémoglobines : S (Hb S), C (Hb C), et E (Hb E). Les techniques de Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) sont actuelle-

ment utilisées pour les dosages de l'hémoglobine A₂, d'HbA_{1c} et d'Hb F, avec la possibilité de mise en évidence de différents variants.

OBJECTIFS

Nous présentons les données de 214 cas de β Thalassémies (37.8%) diagnostiqués par HPLC sur 566 manipulations pour suspicion d'anomalies de l'hémoglobine, sur une période de 08 mois.

HISTORIQUE DE L'ANALYSE DE L'HEMOGLOBINE

- **Electrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin :**

C'est une technique manuelle, standard, simple à réaliser sur différents supports d'acétate de cellulose. La migration électrophorétique dure 20 minutes ; elle est suivie d'une coloration et d'une lecture.

Limites et inconvénients de cette technique sont :

- Un tracé normal ne signifie pas absence d'hémoglobinoopathie : l'Hb anormale peut présenter la même migration que l'Hb A.
- Une mauvaise séparation des Hb A et Hb F.
- Une technique très longue.

- **Electrophorèse sur agar à pH acide :**

Cette technique a un intérêt pour quantifier les anomalies qualitatives de l'Hb et elle apporte peu d'éléments supplémentaires par rapport au pH alcalin en faveur des syndromes thalassémiques.

Cette technique permet de séparer les variants ayant la même mobilité que les Hb A, S, ou C sur acétate de cellulose (les Hb D et G migrent comme l'Hb S sur acétate et au niveau de l'Hb A sur citrate ; les Hb C, E, et O Arabe ont la même migration sur acétate).

Limite de cette technique est surtout que la mise en évidence de mutants de même mobilité que l'Hb A n'est pas possible.

• Iso-électrofocalisation :

Le principe de cette technique est basé sur l'utilisation d'un haut voltage qui va permettre de très bien séparer les Hb A, Hb F, Hb D, HB S. Cette technique est caractérisée par une bonne sensibilité car les Hb mineures sont facilement détectées et permet aussi l'identification de mutants qui ne sont pas mis en évidence par les autres techniques.

Limites et inconvénients de cette technique sont :

- Nécessite des grandes séries de prélèvements.
- Une technique longue et manuelle.
- **Evaluation quantitative des différentes fractions d'Hb :**
 - Densitométrie : l'évaluation du taux de chaque fraction d'Hb est souvent pratiquée directement à partir des tracés électrophorétique ; elle donne des résultats satisfaisants quand les bandes sont d'intensité moyenne à forte et lorsqu'elles sont nettement séparées les unes des autres ; mais a du mal à discriminer deux bandes proches l'une de l'autre et sous estimer une bande d'intensité très forte ou très faible ou très focalisée.
 - Dosage Hb A₂ : par élution ou par chromatographie échangeuse d'ions.
 - Dosage Hb F : résistance à la dénaturation alcaline.
 - Test de falciformation.
 - Test de solubilité (test d'Itano) : pour faire la différence entre Hb S et d'autres variants qui ont la même migration.
 - Test de Kleihauer : technique cytologique permet de repérer les globules rouges contenant de l'Hb F.

• HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance :



Figure 1 : Image d'un appareil HPLC.

• Principe

Le VARIANT™ II HbA₂/HbA_{1c} Dual Program utilise le principe de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) par échange d'ions pour la séparation automatique des hémoglobines normales et anormales et la détermination précise de l'hémoglobine A₂, F et A_{1c} dans les échantillons de sang total, sans interférence de la lipémie ou des fluctuations de température.

• Programme :

L'HPLC possède deux programmes différents qui utilisent soit la méthode β -Thal ou la méthode A_{1c}. Chaque coffret de l'appareil HPLC permet la détermination des différentes variantes d'hémoglobine qui sont :

- Hb A₂, Hb F et l'identification d'Hb anormales : 500 tests.
- Hémoglobine glyquée (Hb A_{1c}) : 800 tests.

• Méthodes :

- Méthode β -Thal :

Programme de 6,5 minutes.

Evaluation précise de l'HbA_{1c} en présence d'Hb : A₂, F, S, D, E, C.

- Méthode A_{1c} :

Programme de 3,5 minutes.

Détermination rapide de l'HbA_{1c}.

Pour passer d'une méthode à l'autre, il n'est pas nécessaire de substituer les tampons et la cartouche, ni de modifier le conditionnement du système.

- Fenêtre des résultats :

Les différents types d'hémoglobine seront définis selon le temps de rétention. (Tableau I).

Tableau I : Fenêtre des résultats

Durée (min)	Nom du pic	Bande(min)	Fenêtre (min)
0,22	A1a	0,10	0,12 - 0,32
0,26	A1b	0,09	0,19 - 0,37
0,48	F	0,10	0,44 - 0,64
0,77	LA1c	0,07	0,68 - 0,82
0,93	A1c	0,10	0,86 - 1,06
1,49	P3	0,10	1,45 - 1,6
1,73	A0	0,15	1,6 - 1,9
2,91	E	0,10	2,88 - 3,08
3,45	S	0,10	3,40 - 3,60
4,45	C	0,10	4,40 - 4,60

- Les temps de rétention des variants :

Le tableau II représente le temps de rétention des variants d'hémoglobine.

Tableau II : temps de rétention des variants

Nom de l'hémoglobine	Temps de rétention (min)
Hémoglobine Okayama	0,63
Hémoglobine Geelong	0,82
Hémoglobine J-Bangkok	1,62
Hémoglobine D-Iran	2,67
Hémoglobine Lepore	2,83
Hémoglobine G-Copenhague	2,95
Hémoglobine D	3,21
Hémoglobine Stanleyville II	3,40
Hémoglobine Manitoba	3,51
Hémoglobine O-Arab	4,07
Hémoglobine Hasharon	4,14
Hémoglobine Agenogi	4,20

MATERIEL D'ETUDE

Sur une période de 08 mois, nous avons étudié 566 cas de suspicion d'hémoglobinopathie sur un HPLC VARIANT™ II HbA2/HbA1c Dual Program. L'analyse a été effectuée sur des prélèvements de sang total veineux à distance de toute transfusion, recueillis sur tubes EDTA. Ces échantillons sont stables pendant 7 jours lorsqu'ils sont conservés entre 2 et 8° C. Electrophorèse d'hémoglobine a été réalisée par HPLC en cas d'une microcytose associée à une pseudo-polyglobulie avec ou sans anémie et en cas d'enquête familiale.

RESULTATS

L'analyse des différentes fractions des hémoglobines par HPLC est revenue normale chez 255 cas soit 45% des patients (Figure 2) et a retrouvé une anomalie de l'hémoglobine dans 311 cas soit 55% des cas. (Figure 3).

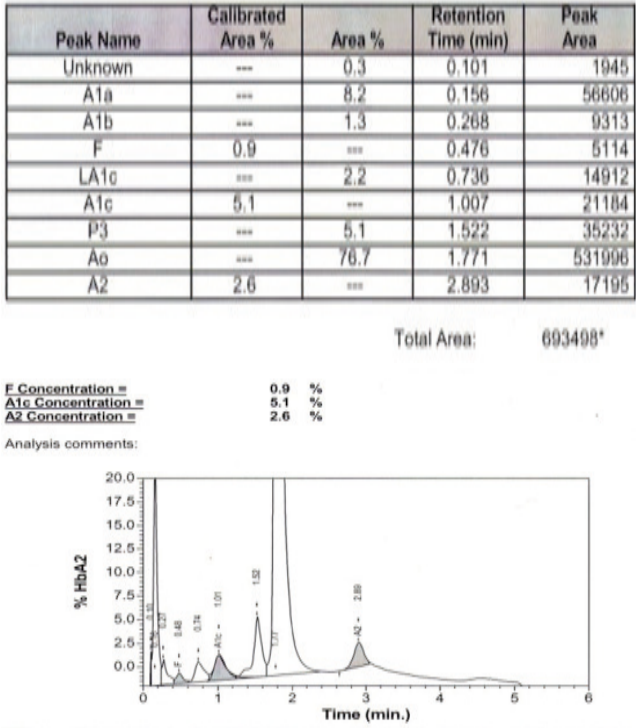


Figure 2 : Tracé électrophorétique normal

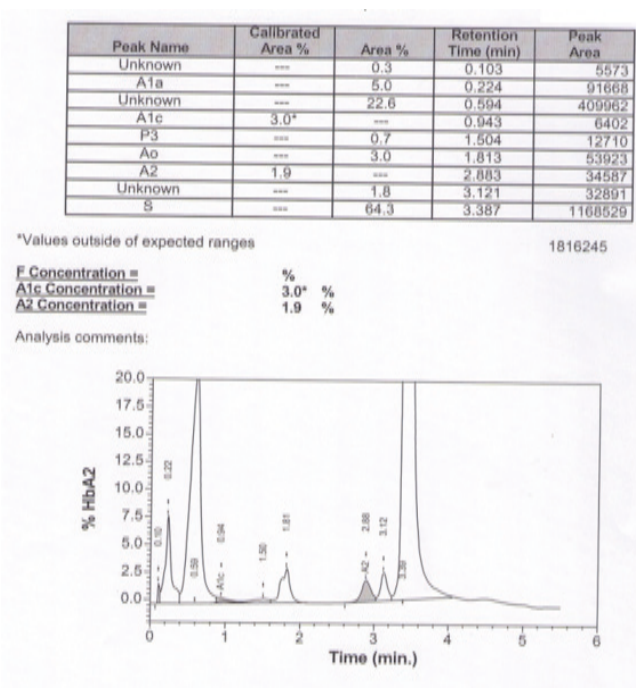


Figure n°3 : Tracé électrophorétique pathologique.

Sur les 311 cas d'anomalie d'hémoglobine, nous avons diagnostiqué une thalassémie dans 214 cas (68.8%), il s'agit d'une β thalassémie homozygote dans 32 cas (15%) et d'une β Thalassémie hétérozygote dans 182 cas (85%). (Figure 4).

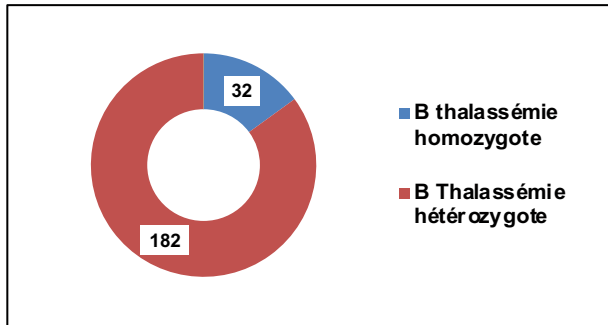


Figure 4 : Répartition des B Thalassémies.

• Analyse des B thalassémies homozygotes :
Nous avons colligés 32 cas de β Thalassémie homozygote, dont 16 patients sont de sexe masculin et 16 patientes sont de sexe féminin avec un sexe ratio de 1.

L'analyse électrophorétique à note un taux moyen de l'hémoglobine F = 44,91% (20 - 85). Le taux d'expression de l'hémoglobine F est ¹ 50% dans 12 cas soit 37.5% des cas avec un taux Hb F > 20% dans 13 cas soit 40.6% des cas. (Figure 5).

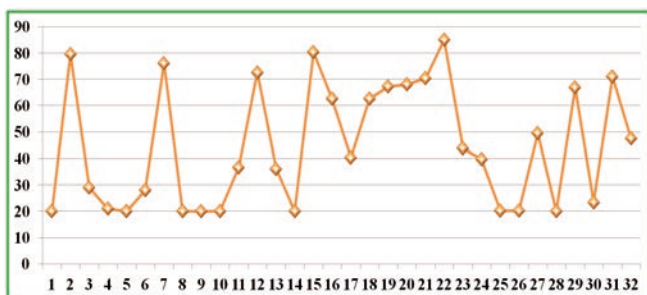


Figure 5 : Répartition selon le taux d'expression de l'Hb F.

Illustration : β Thalassémie homozygote. (Figure 6).

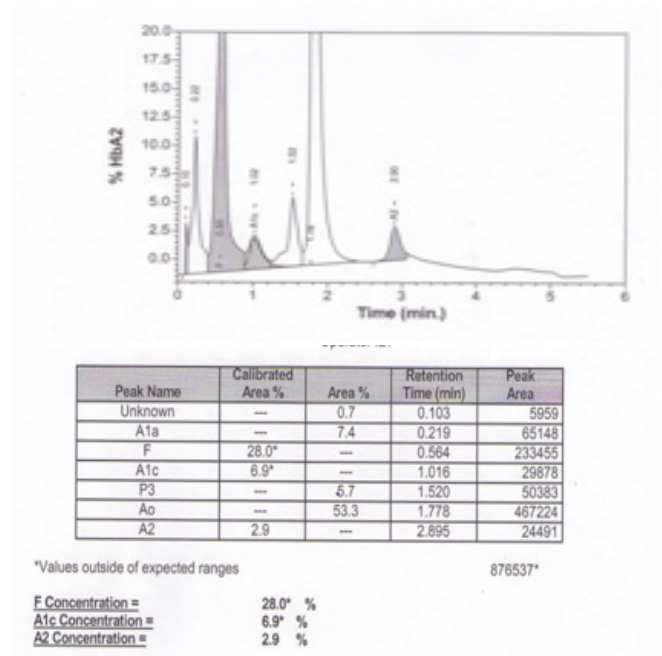


Figure 6 : Illustration par cas de β Thalassémie homozygote.

• Analyse des B thalassémies hétérozygotes :
Nous avons colligés 182 cas de β Thalassémies hétérozygotes, dont 86 sont de sexe masculin et 96 de sexe féminin avec un sexe ratio de 0.89. (Figure 7).

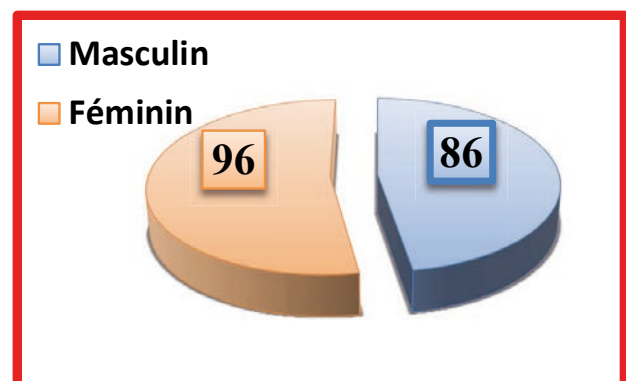


Figure 7 : Répartition selon le sexe.

L'analyse électrophorétique à note un taux moyen de l'hémoglobine A2 à 5,54% (3,4 - 11,7). (Figure 8).

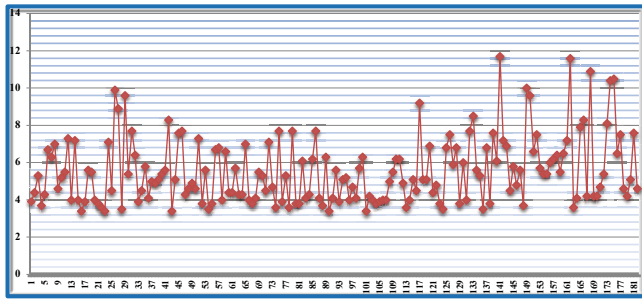


Figure n° 8 : Répartition selon le taux d'hémoglobine A2.

- Analyse de l'hémoglobine A2
- Le taux d'hémoglobine A2 est ¹ à 5% chez 99 patients soit 54,4% des cas.
- Chez 50 patients soit 17,4% des cas, le taux d'Hb A2 est entre 4 à 4,9%.
- Dans 17 cas soit 9,4% des cas, le taux d'Hb A2 est entre 3,4 à 3,7%.

Dans ces cas, le diagnostic d'une β thalassémie hétérozygote a été retenu devant soit la persistance de la pseudo polyglobulie et de l'anémie microcytaire ou l'existence de cas similaire dans la famille ou l'un des deux parents est porteur d'un trait de β thalassémie et après plusieurs contrôles, nous avons retenu le diagnostic de β thalassémie hétérozygote.

Illustration : B Thal hétérozygote

Peak Name	Calibrated Area %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
Unknown	---	0.2	0.103	3594
Unknown	---	0.5	0.170	9036
A1a	---	0.5	0.211	8757
A1b	---	0.9	0.265	16119
F	---	1.5	0.474	33815
Unknown	---	1.0	0.713	18579
A1c	5.1	---	0.952	43974
P3	---	4.2	1.499	75271
Ao	---	81.2	1.725	1443495
A2	11.7*	---	2.837	125397

*Values outside of expected ranges

1778036

F Concentration = 1.5 %
A1c Concentration = 5.1 %
A2 Concentration = 11.7* %

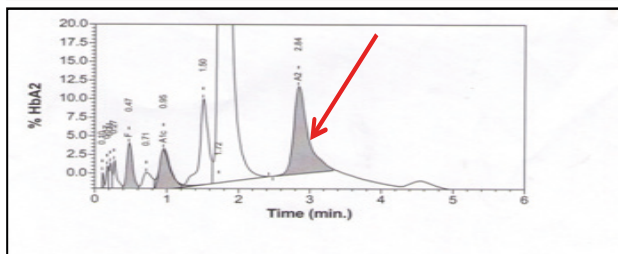


Illustration : B Thal hétérozygote

Peak Name	Calibrated Area %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
Unknown	---	0.2	0.103	2770
Unknown	---	0.6	0.171	8251
A1a	---	0.7	0.212	8671
A1b	---	0.8	0.273	11235
F	1.7	---	0.496	28920
LA1c	---	0.8	0.769	11026
A1c	4.8	---	1.018	27576
P3	---	4.3	1.531	56881
Ao	---	81.0	1.748	1073896
A2	8.3*	---	2.896	96480

*Values outside of expected ranges

1325706*

F Concentration = 1.7 %
A1c Concentration = 4.8 %
A2 Concentration = 8.3* %

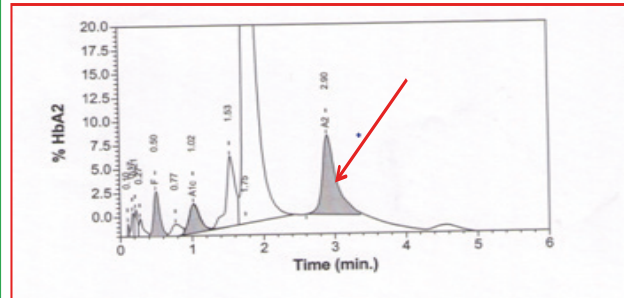


Figure n° 9 : Illustration par des cas de β Thalassémie hétérozygote.

COMMENTAIRES

Les avantages de l'analyse de l'hémoglobine par HPLC sont :

- Une technique entièrement automatisée.
- De grande sensibilité.
- Rapidité d'analyse (< 08 min) et de rendu des résultats.
- Quantification des différentes hémoglobines normales et des variants.
- Surveillance du taux d'Hb F des patients sous Hydroxyurée.
- Dosage de l'Hb F en cas de Syndrome Myélo-dysplasique et en cas d'aplasie médullaire.

L'analyse de l'hémoglobine par HPLC est une procédure très intéressante pour le dépistage, les enquêtes familiales et les études épidémiologiques.

En 2006, une étude algérienne de S. Nekkal, sur 1000 couples mariés a permis d'estimer la prévalence de la thalassémie hétérozygote à 2%. (2). L'application de la loi de Hardy-Weinberg à ces résultats a estimé que le nombre de naissances d'enfants homozygotes serait de 1/10000 naissance⁽³⁾.

CONCLUSION

L'HPLC est un outil remarquable pour l'étude des hémoglobinopathies. La rapidité et la sensibilité caractérisent cette méthodologie. Elle est un examen clé dans le diagnostic des formes hétérozygotes. Normalement elle doit être pratiquée de façon systématique dans le bilan prénuptial. Plusieurs autres méthodes sont en cours de développement dont l'électrophorèse capillaire : les résultats de la méthode développée par Mario sont en excellent accord avec ceux de l'HPLC, donc cette dernière méthode reste un excellent moyen de diagnostic des différentes portions de l'hémoglobine même à faible concentration ⁽¹⁾. ■

RÉFÉRENCES

- 1- F. Cotton, F. Vertongen, B. Gulbis. Électrophorèse capillaire et hémoglobinopathies Immuno-analyse & Biologie spécialisée 21 (2006) 45 - 50.
- 2- S. Nekkal. Prévalence de la β thalassémie hétérozygote chez les couples mariées en 2006 dans la wilaya d'Alger. Thèse de DESM Alger 2007.
- 3- M. Belhani. Epidémiologie de la β thalassémie homozygote en Algérie. Revue Algérienne d'Hématologie; N°1, sept 2009. 22- 26.

SUMMARY

Contribution of HPLC in the diagnosis of Beta Thalassemia

High performance liquid chromatography (HPLC) techniques are used for hemoglobin A₂ (HbA₂), HbA_{1c} and HbF assays, with the possibility of identifying different variants. We present the data of 214 cases of Beta Thalassemias (37.8%) diagnosed by HPLC on 566 manipulations for suspicion of hemoglobin abnormalities over a period of 8 months. The analysis of the different hemoglobin fractions returned normal in 255 cases (45%) and found a hemoglobin abnormality in 311 cases (55%). We diagnosed an abnormality of the Beta chain in 214 cases, ie 68.8% of pathological electrophoresis. It is a homozygous Beta thalassemia in 32 cases (15%) and a Beta Thalassemia heterozygote in 182 cases (85%). HPLC is a remarkable tool for the study of hemoglobinopathies. Speed and sensitivity characterize this methodology. It is a key examination in the diagnosis of heterozygous forms. Normally it must be practiced systematically in the pre-nuptial assessment.

Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) chez les patients atteints de bêta thalassémie majeure

F. Tensaout, M. Benakli, F. Mehdi, R. Belhadj, N. Rahmoune, M. Baazizi, N.Ait Amer, R. Ahmed Nacer, R.M. Hamladji

Service hématologie-greffe de moelle osseuse, Centre Pierre et Marie Curie Alger

RESUME

L'allogreffe de CSH représente le seul traitement curatif de la bêta thalassémie majeure (TM). Sur une période de 200 mois (du mois de juin 1999 à février 2016), 52 allogreffes de CSH (46 génoidentiques et 06 phénoïdentiques) ont été réalisées chez 52 enfants atteints de TM ; l'âge médian est de 7 ans (4-15 ans) et le sex-ratio (M/F) 1,36 ; vingt-deux pts (42%) ont bénéficié d'une splénectomie, score de Pesaro : classe 1 (n :6), classe 2 (n :21) et classe 3 (n :25). Tous les patients ont reçu un conditionnement myéloablatif par une chimiothérapie seule. La prophylaxie de la réaction du greffon contre l'hôte (GVH) a associé le méthotrexate et ciclosporine (Seattle) et ciclosporine seule (sang de cordon). Les greffons sont des cellules souches périphériques (CSP) dans 43 cas (83%), médullaires (MO) dans 06 cas et 03 greffons SP. Au 31 mai 2017, le recul minimum est de 15 mois et maximum de 215 mois. La durée moyenne d'aplasie est de 14 jours (9 à 23), une maladie veino-occlusive (MVO) est observée

chez 7 pts (13%). Neuf pts (17%) ont présenté un rejet de greffe documenté par le chimérisme. La prise du greffon est observée chez 45 pts (86%). Quatorze patients (31%) ont développé une GVH aigue grade I-II (n:12) et grade IV (n:02) et 08/45 pts (17%) ont présenté une GVH chronique limitée (n:5) et extensive (n:3). Douze patients (23 %) sont décédés dont 08 pts (15%) de TRM (infection précoce: 2, MVO: 1, GVH aigue grade IV: 3, GVH chronique extensive: 1), accident iatrogène à la ciclosporine (n: 1), rejet (n: 3) et autre cause (n :1); 40 pts sont vivants, avec une médiane de suivi de 115 mois (15 à 215 mois) dont 37 (92%) sont en indépendance transfusionnelle et 03 cas (08 %) sont en rejet de greffe avec reconstitution autologue. A 12 ans, la survie globale (SG) est de 78 %, de 90% pour les patients splénectomisés et 69% pour ceux qui n'ont pas bénéficié de splénectomie (p : 0,03). La greffe de CSH dans la TM est la meilleure option thérapeutique pour les patients disposant d'un donneur HLA compatible intrafamilial.

INTRODUCTION

En Algérie, la prévalence du trait thalassémique est de 1.66 à 3% et en absence de prévention, le nombre de patients est en augmentation constante ^(1, 2). La bêta thalassémie majeure (TM) se manifeste par une anémie sévère, qui nécessite un régime transfusionnel au long cours. La surcharge en fer qui en résulte est la principale cause de mortalité et de morbidité. Durant les dernières décennies, l'amélioration de la sécurité transfusionnelle et l'efficacité de la chélation ont révolutionné la survie et la

qualité de vie des patients thalassémiques, et ont transformé le pronostic de la maladie, autrefois constamment mortelle en bas âge, en une maladie compatible avec une survie prolongée. Les progrès du traitement conventionnel sont également attribués à la diversification du traitement chélateur et le dépistage de la surcharge cardiaque au stade pré-symptomatique par l'IRM. Dans les pays développés, la survie est de l'ordre de 30 à 55 ans et dépend essentiellement de l'observance au traitement médical, notamment à la chélation ⁽³⁾.

La greffe de CSH est actuellement le seul traitement qui peut guérir définitivement la thalassémie (4, 5, 6), toutefois les risques liés à la greffe sont importants et les meilleurs résultats sont obtenus chez les sujets jeunes faiblement surchargés en fer et sans lésions organiques sévères. La probabilité de survie sans maladie est de l'ordre de 85 % pour les enfants transplantés avec un donneur HLA identique intrafamilial. Elle dépend de facteurs de risque identifiés par l'équipe de Pesaro et dépasse actuellement les 90% pour les enfants de classe 1 greffés précocement (7, 8). Le coût du traitement conventionnel substitutif est considérable, raison pour laquelle dans les pays en voie de développement et/ou à forte prévalence de la maladie, le pronostic de la TM reste médiocre, essentiellement du fait de l'insuffisance de la chélation du fer en raison de son coût, par conséquent il n'y a aucun doute que dans ces pays comme l'Algérie, la greffe est une option intéressante dont les résultats font l'objet de ce travail.

METHODES ET PATIENTS

Sur une période de 200 mois (du mois de juin 1999 à février 2016), 52 allogreffes de CSH (46 génoidentiques et 06 phénoïdentiques apparentés) ont été réalisées chez 52 enfants atteints de TM.

Les caractéristiques des patients sont détaillées dans le (Tableau 1).
L'allogreffe a été réalisée à partir d'un donneur génoidentique dans 46 cas (dont 3 greffons placentaires) et phénoïdentique dans 6 cas (parents). L'âge médian des donneurs est de 12 ans (1 – 52) et sex-ratio (M/F) 0,86 (24/28). Trente-cinq donneurs (67%) sont des thalassémiques mineurs et 17 (33%) sont sains. Une incompatibilité ABO majeure est retrouvée dans 12 cas, mineure dans 04 cas et une incompatibilité rhésus dans 03 cas. Les couples donneur/ receveur sont comme suit : 14 (MM), 12 (FF), 16 (FM) et 10 (MF).
Le statut sérologique donneur/receveur : seuls deux couples donneurs/receveurs (D/R) sont négatifs pour le cytomégalovirus (CMV), pour les 6 couples dont la sérologie de la toxoplasmose, est D-/R+, des mesures prophylactiques sont observées chez le receveur par l'administration post greffe du Bactrim pendant 6 mois, les 4 patients porteurs de l'hépatite B ont bénéficié d'une prophylaxie par la vaccination des donneurs respectifs contre l'hépatite B en prégreffe., tous les couples D/R sont négatifs pour l'hépatite C et la sérologie HIV. (Tableau 2)

Tableau 1 : Caractéristiques des patients

Paramètres	Patients (n : 52)
Age médian (ans)	7 (4-15)
âge ° 7	26
âge > 7	26
Sex-ratio (M/F)	1,36
Statut prégreffe du receveur	
- Transfusions culots globulaires Nombre CG ¹ 50 moyenne CG/patient = 68 (18-168)	32 (62%)
- Chélation Ferritinémie > 1500ng/ml	32 (62%) 24 (46%)
- Splénectomie	22 (42%)
- Débord hépatique (DH) > 2 cm	23 (44%)

- Fibrose hépatique (PBF) Fibrose de grade 3	36 (69%) 18 cas (50%)
Classes de Pesaro	
- Classe 1	6 (12%)
- Classe 2	21 (40%)
- Classe 3	25 (48%)

Tableau 2: Statut sérologique des donneurs/receveurs

Couples D/R	D+/R+	D-/R+	D+/R-	D-/R-
CMV	42	4	4	2
TOXO	9	6	9	28
HBV	-	4	-	48
HCV	-	-	-	52
HIV	-		-	52

Tous les patients ont reçu un conditionnement myéloablatif par une chimiothérapie seule : classe 1 et 2 associant Busulfan per os ou Busilvex IV, à des doses variables en fonction du poids, Endoxan 200 mg/kg et Thymoglobuline 10 mg/

kg) ; classe 3 l'Endoxan est réduit à 120 mg/kg (Tableau 3), les pts ayant reçu un greffon de sang placentaire (SP) ont reçu du Busilvex, Thiotépa 10mg/kg et Fludarabine 160 mg/m2) .

Tableau 3: Différents conditionnements

Drogues	Doses journalières	Jours	Dose totale
BusulfanIV 1 inj/j	En fonction du poids	J-10 à j-7	En fonction du poids
Cyclophosphamide IV(mg/kg/j)	50 (classe 1-2) 30 (classe 3)	J-6 à j-3	200 120
S A L (m g / k g / j) (Thymoglobuline)	5	J-6 à j-3	20

La prévention de la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) a comporté l'association Ciclosporine et méthotrexate, selon le protocole Seattle: Méthotrexate en IV : 15 mg/m2/j à j1 au moins 24h après la transfusion du greffon puis 10mg/m2/j à j3, j6, et j11 et ciclosporine dont l'administration est initiée la veille de la greffe, à la dose de 3 à 5 mg/kg/j en perfusion continue sur 24 h, qui est adaptée en fonction de la ciclosporinémie. La ciclosporine est utilisée seule en cas de greffon placentaire. Quarante-trois patients (83%) ont bénéficié d'un greffon de cellules souches périphériques

(CSP), obtenu par cytophérèse à j5 et j6 (poids du donneur ¹ 30 kg) après mobilisation des cellules souches chez le donneur par G-CSF seul à la dose de 10 ²g/kg/j de j1 à j5. La qualité du greffon est analysée par la quantification du taux de cellules CD34+ sur cytométrie en flux, avec un taux moyen de CD 34+ de 11,3 x106/kg de receveur (3,93-37,90), 06 patients ont reçu un greffon médullaire (MO) avec un taux moyen de cellules nucléées à 4,58 x108 /kg de receveur et 03 patients un greffon SP dont le taux moyen de cellules nucléées est de 3,9 x107/kg (1,8 à 5,75) (Tableau 4).

Tableau 4 : Types de greffons

Types de Greffons	Nombre	%	Taux moyen deCSH
Cellules souches périphériques (CD34+ x10 ⁶ /kg receveur)	43	83	11,3 (3,94 - 37,9)
Cellules souches médullaires (CNTx10 ⁶ /kg receveur)	6	11	4,58(2,84 – 7,5)
Sang placentaire (CNTx10 ⁷ /kg receveur)	3	6	1,8 - 4,2 - 5,75
Total	52	100	-

Durant la période d’aplasie, tous les patients ont reçu les produits sanguins irradiés dans le but de maintenir un taux d’hémoglobine supérieur à 6,5g/dl et un taux de plaquettes supérieur à 10 G/l chez un sujet apyrétique et sans syndrome hémorragique menaçant.

La prophylaxie anti infectieuse a comporté l’hospitalisation dans une chambre stérile doté d’un flux laminaire, les mesures d’hygiène usuelles, une décontamination digestive par voie orale (sirop Cachouga, Ercefuryl et fungizone buvable), une alimentation stérile, des bains de bouche (sérum bicarbonaté et fungizone). La recherche de l’antigénémie CMV par immuno fluorescence est réalisée dès la sortie d’aplasie toutes les semaines jusqu’à J100 afin de rechercher une réactivation virale amenant à un traitement (Ganciclovir, foscavir).

La date de prise du greffon est définie à partir du premier jour ou le taux de polynucléaires

neutrophiles (PNN) est ¹ 0,5/G. La sévérité de la GVHD, aigue et chronique est établie selon les critères décrits antérieurement (9). Au 31 mai 2017, le recul minimum est de 15 mois et maximum de 215 mois. Les courbes de survie globale (SG) sont calculées par la méthode de Kaplan Meier.

RESULTATS

L’aplasie post conditionnement a duré en moyenne 14 jours (9 à 23). Le délai moyen de sortie d’aplasie est plus court pour les greffons de CSP : 14 j (09 à 23), par rapport aux autres greffons : MO : 29 j (16-69) et SP : 26, 32, et 35 j. Le support transfusionnel nécessaire a comporté en moyenne 5 CG (1 à 15) et 4 CUP (0 à 32) par patient ; la durée moyenne d’hospitalisation est de 35 jours (15 à 90) (Tableau 5).

Tableau5 : Aplasie et support transfusionnel après le conditionnement.

Sortie d’aplasie (J postgreffe)		CSP (n : 37)	Moelle (n : 5)	Cordon (n : 3)
PNN > 0,5 G/L		14 (9-23)	29 (16 - 69)	26 - 32 - 35
Plaquettes: > 20 G/L		14 (9-38)	44 (16 -102)	35 - 38 - 46
Hémoglobine: ¹ 7g/dl		12 (8-16)	35 (17 - 37)	16 - 34 - 37
Séjour en partie stérile (jours)		41 (15-90)	46 (31-87)	47 - 47- 60
Support transfusionnel (Nombre moyen d’unité/pt)	CG	06 (2-15)	06 (2-8)	04- 06 - 10
	CUP	05 (0,5-32)	09 (3-20)	3,5- 4,5-7,5

Quarante-un patients (79%) ont présenté une mucite (grade 1-2 : 35 cas et grade 3-4 : 6 cas). La maladie veino-occlusive (MVO) est observée chez 7 patients (13%), modérée dans 06 cas et sévère dans 01 cas. Quatre patients (7,7%) ont présenté une cystite hémorragique. Un rejet de greffe documenté par le chimérisme a été observé chez 09 pts (18%), il est primaire chez 04 pts (3 CSP et 1 MO) et secondaire chez 05 pts (2 CSP et 3 MO). La prise du greffon est observée chez 45 pts (86%) dont 14 pts (31%) ont développé une GVH aiguë grade I-II (n:12) et grade IV (n: 02), 08/45 pts (24%) ont présenté une GVH chronique (limitée: 5, extensive: 3). Tous les patients ayant présenté une GVH aiguë ou chronique ont reçu un greffon à partir de CSP. Cinq patients (11%) ont présenté une réactivation

virale au CMV après un délai moyen de 52 jours (26 à 82) postgreffe (Tableau 6). Quarante patients sont vivants, avec une médiane de suivi de 115 mois (15 à 215 mois) dont 37 (92%) sont en indépendance transfusionnelle, avec un chimérisme complet dans 32 cas (80%) et mixte dans 05 cas (12 %), et 03 cas (08 %) sont en rejet de greffe avec reconstitution autologue et transfusion dépendant. Douze patients (23 %) sont décédés dont 08 cas sont en rapport avec la TRM (infection précoce : 2 cas, MVO : 1 cas, GVH aigue grade IV : 03 cas, GVH chronique extensive : 01 cas et accident iatrogène à la ciclosporine : 01 cas), 03 cas après rejet et 01 cas d'une cirrhose hépatique (Tableau 7).

Tableau 6: Principales complications de la procédure greffe

	Nombre de pts évaluable	Nb pts	%	Commentaires
Infection sévère	52	02	04	02 décès précoces (j4 et j5)
MVO	52	7	13	- Modérée: 06 - Sévère: 01 (DCD)
Rejet	49	09	17	- Primaires: 04 Boost / tous décédés - Secondaire: 05 boost(01 VV chimérisme mixte:44% et 04 reconstitutions autologues
GVH aiguë	45	14	31	- Grade I –II: 12pts(26,6%) - Grade IV: 02 pts DCD (4,4%)
GVH chronique	45	08	17	- Limitée: 05 pts - Extensive: 03 pts
Réactivation CMV	45	05	11	- Sérologie CMV positive chez 46 pts (88%) avant la GMO - Réactivation entre j26 et j 82

Tableau 7 : Principales causes de décès :

Causes de décès	Nombre	%	Jour post-greffe
TRM	8	15	/
Infection précoce	2		J4, J5
MVO	1		J6
GVH aiguë	3		J33, J60, J396 (boost)
GVH chronique	1		J283
Iatrogène (Ciclosporine)	1		J 274
Rejet	3	6	J45, J65 et J105
Autres	1	2	156 mois (cirrhose chez pt reconstitution autologue)
Total	12	23	

La SG est de 78% à 12 ans (figure 1).

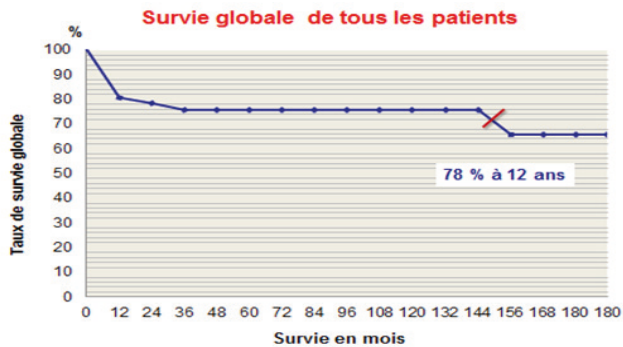


Figure 1: Survie globale de tous les patients

Les SG des classes 1-2 et 3 de Pesaro sont de 81% et 75% respectivement à 12 ans, sans différence statistique significative ($p = 0,9$) (figure 2).

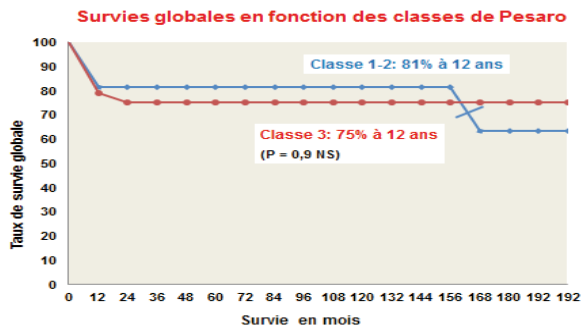


Figure 2 : Survies globales en fonction des classes de Pesaro

Les SG des patients splénectomisés avant la greffe et non splénectomisés sont de 90% et 69% respectivement à 12 ans avec une différence significative en faveur de la splénectomie ($p = 0,03$) (figures 3).

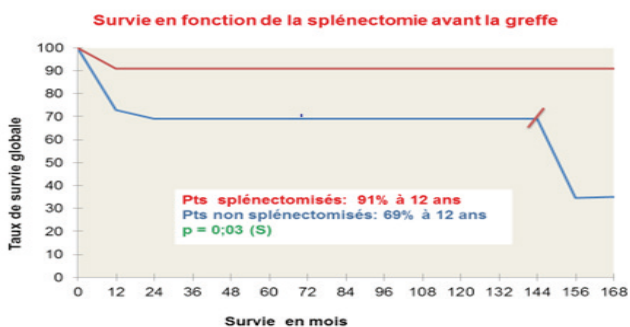


Figure 3: Survie en fonction de la splénectomie avant la greffe

DISCUSSION

L'allogreffe de CSH est le seul traitement curatif de la bêta thalassémie majeure (4, 5, 6), toutefois non dénuée de morbidité et de mortalité (TRM). Les meilleurs résultats sont obtenus chez les sujets jeunes faiblement surchargé en fer et sans lésions organiques sévères.

Notre étude a porté sur l'allogreffe de CSH chez 52 enfants porteurs d'une bêta thalassémie majeure, l'âge moyen est de 7 ans (4-15 ans), ces données se rapprochent de celles d'une série de 179 patients greffés dans plusieurs centres hors Italie (10).

Du point de vu transfusionnel, le nombre de culots globulaires (CG) reçus avant la greffe est supérieur ou égal à 50 chez 32 patients (62%) avec une moyenne de 68 CG/patient (18-168), sachant qu'un nombre élevé de CG reçu avant la greffe est un facteur de risque de rejet (11) et inversement pour l'incidence de la GVH aiguë (12).

Tous nos patients ont reçu une chélation selon les chélateurs disponibles, elle est jugée inadéquate (13) chez 32 patients (62%), exposés au risque de la surcharge en fer responsable de complications post greffe (MVO, mauvaise prise du greffon) (14-15-4).

Dans notre série, 22 patients (42%) ont bénéficié d'une splénectomie. L'étude française qui a étudié l'influence de la splénectomie sur la survie a montré de manière significative une meilleure survie chez les patients splénectomisés (16), ce qui est vérifié dans notre série avec une survie à 91 % dans le groupe des patients splénectomisés versus 69 % ($p = 0,03$).

Contrairement aux séries occidentales (10), la moitié de nos patients soit 25 patients (48%) sont de classe 3 de Pesaro en raison de la présence de facteurs de mauvais pronostic, 21 patients (40%) de classe 2 et seulement 6 patients (12%) sont de classe 1.

Neuf pts (17%) ont présenté un rejet de greffe documenté par le chimérisme, il est primaire chez 04 pts (3 CSP et 1 MO) et secondaire chez 05 pts (2 CSP et 3 MO), nos résultats sont comparables à ceux de l'étude française où le taux de rejet est de 23% (16), mais reste en deçà des séries italiennes (19)

La GVH aiguë a été observée dans 31% des cas (14 patients), cette incidence est acceptable par rapport à la littérature où elle est variable d'une

série à une autre avec une moyenne de 40% dans les greffes génoidentiques (17). Un taux faible de GVH chronique est noté dans notre série avec 08 patients/45 (17%) dont 03 extensives (6,7%), nos résultats sont proches de ceux de la littérature (18). Dans notre série bien que la majorité des patients ait reçu un greffon de CSP, le taux de GVH (aiguë ou chronique) reste relativement faible. La TRM est de 15% dans notre série en relation essentiellement avec la GVH aiguë et les infections précoces. La SG est de 78% à 12 ans versus 86% à 15 ans dans la littérature (16), ceci peut être expliqué dans notre série par le nombre de patient de classe 3. Les SG des classes 1-2 et 3

de Pesaro sont de 81% et 75% respectivement à 12 ans, sans différence significative entre les classes pronostiques (p : 0,9), contrairement aux données de la littérature (17). Les SG des patients splénectomisés avant la greffe et non splénectomisés sont de 90% et 69% respectivement à 12 ans avec une différence significative en faveur de la splénectomie (p : 0,03) ce qui est similaire aux résultats de l'étude française (16), le récapitulatif de nos résultats comparés à la littérature est représenté dans le tableau 8.

Tableau 8 : Récapitulatif de nos résultats comparés à la littérature

Séries	Nbre pts	Classes Pesaro	Sources greffons	GVHA (%)	GVHC (%)	Rejet %	TRM (%)	SG %
Irfan 2008 (18)	56	1: 20 2: 20 3: 16	MO: 29 CSP: 27	--- 26	--- 30	---	--- 18	--- 65 (5ans)
Galambrun 2013 (16)	108	Les trois classes	MO: 96 + SP: 09 + CSP: 03	20	11	23	12	82 (15ans)
Locatelli 2013 (19)	259	1: 86 2: 122 3: 51	MO	21	12	7	04	95 (6 ans)
CPMC	52	1: 6 2: 21 3: 25	CSP: 43 + MO: 6 + SP: 03	31	17	17	15	78 (12 ans)

CONCLUSION

La greffe de CSH est une option intéressante pour les patients disposant d'un donneur HLA compatible intrafamilial, la SG est de 75% à 12 ans avec une meilleure survie chez les patients splénectomisés (90% vs 69% à 12 ans, p : 0,03). Le taux de rejet (17%) reste relativement élevé comparé aux données de la littérature, la survenue

de la GVH aiguë (31 %) et chronique (17%) sont comparables à ceux de la littérature. On peut améliorer nos résultats post greffe, en proposant la greffe à un âge précoce. La thérapie génique reste une option d'avenir qui pourra peut-être remplacer l'allogreffe de CSH. ■

RÉFÉRENCES

1. M. Belhani. Epidémiologie de la Beta Thalassémie Homozygote en Algérie.
Revue Algérienne d'hématologie 2009 ; 1 :22-26.
2. Belhani M. Thalassemia in Maghreb.Situation in Algeria. First Thalassemia Maghreb Summit 6 - 7 September 2014. Tunisie.
3. Modell. B, Darilson M. Global Epidemiology of Haemoglobin Disorders and Derived Service Indication .Bulletin of the World Health Organisation. June 2008, 86; 480-487.
4. Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, Angelucci E, Baronciani D, Giardini C, et al. Bone marrow transplantation in patients with thalassemia. N Engl J Med 1990; 322: 417-21.
5. Giardini C, Angelucci E, Lucarelli G, et al. Bone marrow transplantation for thalassemia. Experience in Pesaro, Italy. Am J PediatrHematol Oncol.1994; 16: 6-10.
6. Angelucci E and Baronciani D. Allogeneic stem cell transplantation for thalassemia major. Haematologica 2008; 93:1780-1.
7. Lucarelli G, Gaziev J. Advances in the allogeneic transplantation for thalassemia. Blood Rev 2008; 22: 53-63.
8. Lisini D, Zecca M, Giorgiani G, et al. Donor/recipient mixed chimerism does not predict graft failure in children with beta-thalassemia given an allogeneic cord blood transplant from an HLA-identical sibling. Haematologica 2008; 93:1859-67.
9. GlucksbergHstrobR et al. Clinical manifestation of graft versus host disease in human recipients of marrow from HLA matched sibling donors. Transplantation 1974; 18: 295-304.
10. Sabloff M, Chandy M, Wang Z, Logan BR et al. HLA-matched sibling bone marrow transplantation for beta-thalassemia major. Blood 2011, 117 (5): 1745-50.
11. Angelucci E, Matthes-Martin S, Baronciani D et al. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease : indications and management recommendations from an international expert panel. Haematologica 2014; 99 (5): 811-820.
12. Goussetis E, Peristeri I, Kitran V, Vessalas G, et al. HLA-matched sibling stem cell transplantation in children with B-thalassemia with anti-thymocyte globulin as part of the preparative regimen: the Greek experience. Bone Marrow Transplant 2012; 47:1061-1066.
13. Angelucci E, Barosi G, Camschella C et al. Italian society of hematology practice guidelines for management of iron overload in thalassemia major and related disorders. Haematologica 2008; 93: 741-752.
14. Mohty M, Malard F, Becassis M et al. Sinusoidal obstruction syndrome/ veino-occlusive disease: current situation and perspectives- a position statement from the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT).
Bone Marrow Transplant 2015: 1-9.
15. Cheuk. DK, Wang.P, Lee. TL, Chiang. AK, et al. Risk factors and mortality predictors of hepatic veno-occlusive disease after pediatric hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant, 2007; 40: 935-944).
16. Galambrun C, pondarre C, Bertrand Y, Loundou A, et al. French multicenter 22-year experience in stem cell transplantation for beta-thalassemia major: lessons and future directions. Biol Blood Marrow Transplant. 2013; 19 (1): 62-8.
17. Dhédin N, Vernant JP. Allogreffes de cellules souches hématopoïétiques dans les hémopathies malignes et les aplasies médullaires : réalisation et complications. EMC 2010, 13.061.A.10: 1-17.
18. Irfan M, Hashmi K, Adil S, Shamsi T, Farzana T, et al. Beta-thalassemia major: Bone marrow versus peripheral blood stem cell transplantation. J Pak Med Assoc. 2008; 58 (3): 107-10.
19. Locatelli F, Kabbara N, Ruggeri A, Ghavamzadeh A, et al. Outcome of patients with hemoglobinopathies given either cord blood or bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling. Blood 2013; 122 (6): 1072-8.

Complications tardives de la β -thalassémie majeure

N. Ait Amer; F. Tensaout; RM.Hamladji; R. Ahmed Nacer

Service d'Hématologie-Greffe de Moelle Osseuse Centre Pierre et Marie Curie Alger

RESUME

L'hémochromatose représente la complication la plus redoutable chez les patients (pts) polytransfusés atteints de β -thalassémie majeure (TM), en raison de l'installation de lésions cardiaques, hépatiques et endocriniennes.

Nous rapportons le devenir de 59 pts atteints de β -thalassémie majeure dont l'âge médian au diagnostic est de 12 mois (6 à 16 mois). Ces patients nous ont été référés pour leur prise en charge en 1994 avec un âge médian de 10 ans (4-24). Dans les antécédents, le traitement chélateur du fer n'était pas adéquat, en raison de son introduction tardive, de la disponibilité irrégulière des chélateurs et de la mauvaise observance.

Les pts sont transfusés dans notre service, à raison d'un culot globulaire toutes les 3-4 semaines avec un taux moyen d'hémoglobine prétransfusionnel de 6 g/dl (4-8). Tous les pts ont reçu de la déféroxamine de 1994 à 2005, un traitement séquentiel (déféroxamine/déféprone) entre 2005-2011 et ICL670 (Exjade) à partir de 2012.

Au 31 décembre 2017 : 33 pts (56%) sont décédés à un âge médian de 22 ans (9-38) dont 19 pts (58%) sont décédés d'une complication cardiaque, 05 pts d'une cirrhose décompensée dont un pt après rejet de greffe, 4 pts en post splénectomie, 02 pts d'un coma hyperosmolaire, 02 pts d'occlusion intestinale et un pt d'une cholécystite.

Vingt-six pts (44%) sont vivants dont 03 allogreffés, avec un âge médian de 29 ans (20-38), leur taux moyen de ferritinémie est de 1330 μ g/ml (158-4000), sans complications cardiaques, on retrouve un retard staturopondéral chez 19 pts, un retard pubertaire chez 18 pts, une cytolysé hépatique chez 05 pts dont 01 pt au stade de cirrhose, un diabète chez 02 pts, une atteinte ostéoarticulaire chez

03 pts, une hypoparathyroïdie chez 01 pt et une hypothyroïdie chez 01 pt.

La médiane de survie globale est de 25 ans. Sous traitement conventionnel optimal, l'espérance de vie des β -Thalassémiques majeurs dépasse 40 ans. Dans notre série l'âge moyen de décès est de 22 ans (09-38) dont la cause majeure est la complication cardiaque qui représente 19/33 décès (58%), ce qui démontre l'intérêt de l'introduction précoce du traitement chélateur du fer.

INTRODUCTION

La β -thalassémie majeure (TM) est une hémoglobinopathie congénitale homozygote qui se traduit par l'absence ou un déficit de la synthèse de chaînes bêta de l'hémoglobine, de transmission autosomale récessive (1). En Algérie, la prévalence du trait thalassémique est de 1.66 à 3%. Les approches épidémiologiques faites en Algérie témoignent d'une augmentation de la prévalence de la maladie (750 pts recensés en 2006 contre 931 pts en 2014) ((2-3). La TM se manifeste par une anémie hémolytique sévère, qui nécessite un programme transfusionnel au long cours. Les transfusions, l'érythropoïèse inefficace ainsi que l'hyperhémolyse conduisent à l'apparition plus ou moins rapide d'une surcharge en fer. Celle-ci est responsable de multiples complications, notamment cardiaques, hépatiques (hépatopathie de surcharge, cirrhose) et endocriniennes (retard statural et pubertaire, hypothyroïdie, hypoparathyroïdie et diabète), d'où la nécessité d'une prise en charge multidisciplinaire (4). Trois chélateurs du fer sont disponibles : un chélateur injectable (Déféroxamine) utilisé depuis plus de 40 ans, et deux chélateurs oraux (Déféprone et Déférasirox). Durant les dernières décennies, l'amélioration de la sécurité transfu-

sionnelle et l'efficacité de la chélation ont révolutionné la survie et la qualité de vie des patients thalassémiques, et ont transformé le pronostic de la maladie, autrefois constamment mortelle en bas âge, actuellement en une maladie compatible avec une survie prolongée. Les progrès du traitement conventionnel sont également attribués à la diversification du traitement chélateur et le dépistage de la surcharge cardiaque au stade pré-symptomatique par l'IRM. Dans les pays développés, la survie est de l'ordre de 30 à 55 ans et dépend essentiellement de l'observance au traitement médical, notamment à la chélation (5) Cependant le pronostic reste sombre dans les pays où ces traitements ne sont pas disponibles ou insuffisants. La greffe de CSH est le seul traitement curatif (6), actuellement la thérapie génique offre un nouvel espoir de guérison pour les patients atteints de TM (7).

Nous rapportons dans cette étude l'aspect évolutif en termes de complications tardives de 59 pts atteints de TM, pris en charge tardivement dans notre service.

MATERIEL ET METHODES

En1994: 59 pts atteints de TM, nous ont été référés pour la poursuite de leur prise en charge : l'âge médian au moment de leur prise en charge dans notre service est de 10 ans (4-24), 55 pts (93%) avaient un âge ° 16 ans, le sex-ratio

est de 1,46 (35H/24F) et le taux de moyen de ferritinémie est de 3430²g/ml (158-9000). Dans les antécédents, le traitement chélateur du fer n'était pas adéquat depuis leur prise charge, en raison de son introduction tardive, de la disponibilité irrégulière des chélateurs et de la mauvaise observance.

A partir de 1994, Les pts sont transfusés à raison d'un culot globulaire toutes les 3-4 semaines avec un taux moyen d'hémoglobine pré transfusionnel de 6 g/dl (4- 8). Tous les pts ont reçu de la déféroxamine de 1994 à 2005, un traitement séquentiel (déféroxamine/défériprone) entre 2005-2011 et ICL670 (Exjade) à partir de 2012 (Tableau 1).

La splénectomie a été réalisée chez 49 pts (83%) à un âge moyen de 7 ans (4- 25) et l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) chez 4 pts, dont 03 pts sont vivants bien portants avec chimérisme donneur et 01 pt en rejet de greffe avec reconstitution autologue, décédé d'une cirrhose hépatique. L'hémochromatose a été évaluée par la ferritinémie dont le taux moyen est de 3430/²g/ml (158-9000) et le seuil critique de 2500 ²g/ml, taux corrélé à une atteinte cardiaque est dépassé chez plus de la moitié des pts soit 34 pts (58%). La ponction biopsie hépatique a été réalisée chez 8 pts en vue d'une allogreffe dont les résultats sont comme suit : 04 cirrhoses, 02 fibroses portales et 02 sans anomalies.

Tableau 1 : Protocoles de chélation

Période	Molécules	Posologies
1994 à 2005	Déféroxamine	75 mg/kg/j en sc continue sur 12h 5j/7
2005 à 2011	Traitement séquentiel :	
	Défériprone	75 mg/kg/j per os de j1 à j4
	Déféroxamine	50 mg/kg/j en sc sur 12h j5 et j6
à partir de 2012	ICL670 (Exjade)	20 à 30 mg/kg/j

RESULTATS

Au 31 décembre 2017: l'âge médian des pts est de 25 ans (9-38), La durée médiane de suivi des 59 pts est de 300 mois (108-456). Tous nos pts ont au moins une complication liée à l'hémochromatose (Tableau 2). Vingt pts (34%)

ont présenté une complication cardiaque à un âge moyen de 20 ans (7-31), sur le plan hépatique, 41 pts (69%) ont une hépatomégalie avec débord hépatique supérieur à 2 cm, la cytolysé hépatique (1 2N) est retrouvée chez 27 pts (46%) et 06 pts ont évolué vers une cirrhose. Sur le plan endocrinien, 49 pts (83%) ont un retard staturo-pondéral, 43 pts

(73%) ont un retard pubertaire, 11 pts (19%) ont développé un diabète, 02 pts une hypothyroïdie et 01 pt une hypoparathyroïdie. Les autres complications retrouvées sont ostéoarticulaires à type d'ostéoporose ou de fractures pathologiques chez 14 pts (24%), une hépatite B guérie chez 4 pts, une hépatite C chez 03 pts et un patient a développé une auto-immunisation révélée par l'aggravation de l'hémolyse et confirmée par un test de Coombs direct positif en bonne évolution sous corticoïdes.

Vingt-six pts (44%) sont vivants dont 03 allogreffés, avec un âge médian de 29 ans (20-38), leur taux moyen de ferritinémie est de 1330 ²g/ml (158-4000), sans complications cardiaques, le retard staturo-pondéral est retrouvé chez 19 pts, un retard pubertaire chez 18 pts, une cytolysé hépatique chez 05 pts dont 01 pt au stade de cirrhose, un diabète chez 02 pts, une atteinte ostéoarticulaire chez 03 pts, une hypoparathyroïdie chez 01 pt et une hypothyroïdie chez 01 pt.

Tableau 2 : Complications tardives chez 59 pts atteints de TM

Complications	Nombre	%
Cardiaque	20	34
Hépatomégalie (DH > 2cm)	41	69
Cytolyse (> 2N)	27	46
Cirrhose hépatique	06	10
Retard staturo-pondéral	49	83
Retard pubertaire	43	73
Diabète	11	19
Hypothyroïdie	02	03
Hypoparathyroïdie	01	01
Ostéoarticulaires	14	24
Hépatite virale (B et C)	07	12
AHAI (test de Coombs direct positif)	01	01

Trente-trois pts (56%) sont décédés à un âge moyen de 22 ans (9-38) (Tableau 3). Dix-neuf pts (58%) sont décédés d'une complication cardiaque, 05 pts d'une cirrhose décompensée dont 01 pt en rejet de greffe, 04 pts en post-splénectomie, 02 pts d'un coma hyperosmolaire, 03 pts d'une urgence

chirurgicale (2 occlusions intestinales et une cholécystite). (Tableau 4). La médiane de survie est de 24 ans (figure 1)

Tableau 3 : Devenir des patients

Devenir	Nombre	%	Age médian	Suivi médian (mois)
Vivants	26	44	29 (20-38)	256 (108-420)
Décédés	33	56	22 (9-38)	324 (216-456)

Tableau 4 : Causes de décès

Causes de décès	Nombre	%
Cardiaques	19	58
Cirrhose hépatique	05 (1pt en rejet de greffe)	15
Post splénectomie	04	12
Coma hyperosmolaire	02	6
Urgence chirurgicale	03	06

COMMENTAIRES

Tous nos pts ont au moins une complication liée à l'hémochromatose.

La complication cardiaque a été retrouvée chez 20 pts (34%) et reste la première cause de décès (58%), ces résultats sont comparables à ceux de la littérature (57.4 %) (8).

Par contre la cirrhose hépatique retrouvée chez 06 pts (10%) représentant la deuxième cause de décès (15%) est plus fréquente dans notre série par rapport à la littérature (vs 0%) (8) (Tableau 5).

Plus de deux tiers (73%) de nos pts présentent un retard pubertaire (littérature 54.7%) et 11pts (19%) ont développé un diabète dont 2 pts sont décédés

d'un coma hyperosmolaire (littérature 6.4%) (8).

La médiane de survie dans notre série est de 24 ans (figure1), alors qu'elle n'est pas atteinte dans les données de la littérature après 1970 (figure2)

L'institution tardive du traitement chélateur du fer chez nos pts, explique l'installation précoce des complications majeures, essentiellement cardiaques de l'hémochromatose, responsable de décès.

Cependant, les pts de notre série ont reçu un traitement transfusionnel insuffisant, comme l'atteste le taux d'hémoglobine pré transfusionnel qui est de 6g/dl. Cette insuffisance transfusionnelle a retardé relativement l'installation de l'hémochromatose.

Tableau 5 : Comparaison des causes de décès avec la littérature

Complications	Nombre et % (CPMC)	Cause de décès CPMC VS littérature (8)
Cardiaques	20 (34%)	60% VS 57, 4%
Cirrhose hépatique	06 (10%)	15% VS 0%

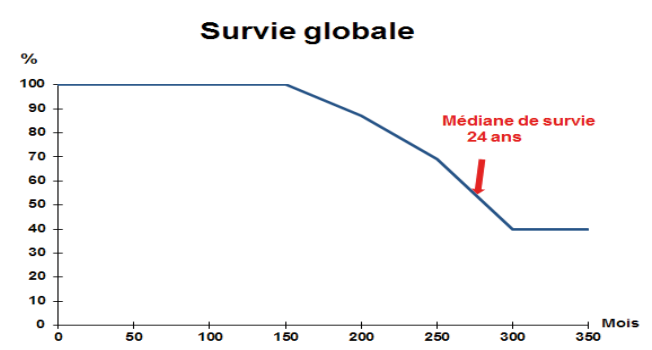


Figure 1 : Survie globale des 59 pts de notre série

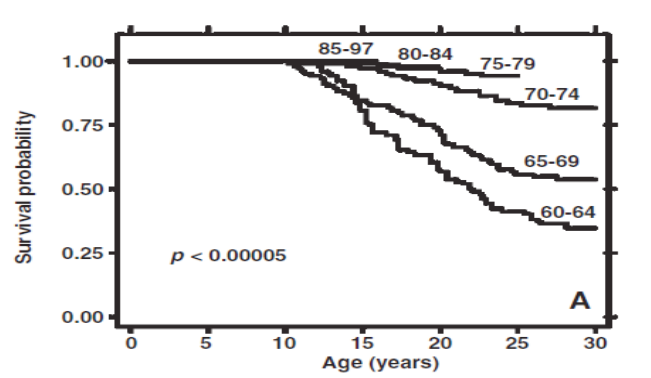


Figure 2 : Survie globale des cohortes des pts nés après 1970 (8)

CONCLUSION

Actuellement le traitement conventionnel de la thalassémie majeure est bien codifié. La mise en place d'un protocole de prise en charge multidisciplinaire et d'un traitement conventionnel optimal (transfusion+ chélation) dès le diagnostic avec surveillance par imagerie (IRM), sont nécessaires pour réduire les complications et améliorer la survie et la qualité de vie. Avec un traitement conventionnel optimal, l'espérance de vie des β -Thalassémiques majeurs dépasse 40 ans. Dans notre série celle-ci est plus courte, la médiane de survie est de 24 ans et l'âge moyen de décès est de 22 ans (09-38). Celle-ci pourra être améliorée par une prise en charge précoce. ■

RÉFÉRENCES

1. Higgs DR, Thein SL, Woods WG. The molecular pathology of the thalassemia. In: The thalassemia syndromes (pp. 133-91), 4th ed. Blackwell Science, Oxford, 2001.
2. M. Belhani, et all. Epidémiologie de la β -thalassémie homozygote en Algérie. Revue Algerienne d'Hématologie 2009; 1 :22-26
3. M.Belhani et all. Thalassemia in Maghreb. Situation in Algeria. First Thalassemia Maghreb Summit, 6-7 september 2014. Tunisie
4. Syndromes thalassémiques majeurs et intermédiaires: protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare. Haute Autorité de Santé, Guide affection longue durée, 2008.
5. Deborah Rund, Eliezer Rachmilwitez. B-Thalassemia. N Engl J Med 2005; 353:1135-114.
6. Galambrun C et al. French multicenter 22-year experience in stem cell transplantation for beta-thalassemia major: lessons and future directions. Biol Blood Marrow Transplant. 2013; 19(1):62-8.
7. Cavazzana-Calvo M et al. Transfusion independence and HMGA2 activation after gene therapy of human β -thalassaemia. Nature. 2010; 467:318-22. 9328.
8. Caterina Borgna-Pignatti: Haematologica 2004;89:1187-1193

SUMMARY

Hemochromatosis represents the most formidable complication in polytransfused patients (pts) with β -thalassemia major (TM), due to the installation of cardiac, hepatic and endocrine lesions.

We report the outcome of 59 pts with β -thalassemia major whose median age at diagnosis is 12 months (6 to 16 months). These patients were referred to us for care in 1994 with a median age of 10 years (4-24). In the past, iron chelation treatment was not adequate, due to its late introduction, irregular availability of chelators and poor compliance. The pts are transfused in our service, at the rate of a packed red blood cell every 3-4 weeks with an average pre-transfusion hemoglobin level of 6 g/dl (4-8). All pts received deferoxamine from 1994 to 2005, sequential treatment (deferoxamine/deferiprone) between 2005-2011, and ICL670 (Exjade) from 2012.

As of December 31, 2017: 33 pts (56%) died at a median age of 22 years (9-38) of which 19 pts (58%) died of a cardiac complication, 05 pts of decompensated cirrhosis including one pt after transplant rejection, 4 pts post splenectomy, 02 pts of hyperosmolar coma, 02 pts of intestinal obstruction and 1 pt of cholecystitis. Twenty-six pts (44%) are alive including 03 allografts, with a median age of 29 years (20-38), their average serum ferritin level is 1330 μ g/ml (158-4000), without cardiac complications, we find growth and weight retardation in 19 pts, puberty delay in 18 pts, hepatic cytolysis in 05 pts including 01 pt at the cirrhosis stage, diabetes in 02 pts, osteoarticular involvement in 03 pts, hypoparathyroidism in 01 pt and hypothyroidism in 01 pt.

The median overall survival is 25 years. Under optimal conventional treatment, the life expectancy of β -Thalassemia major exceeds 40 years. In our series the average age of death is 22 years (09-38) whose major cause is the cardiac complication which represents 19/33 deaths (58%), which demonstrate the interest of the early introduction of the treatment. iron chelator.

Complications de la splénectomie chez la beta thalassémiques : Étude rétrospective à propos de 75 cas

CH. Aboura, Z. Doumir, N. Khouni, N. Zidani, N. Boudjerra

Service d'hématologie CHU Beni Messous

RESUME

La splénomégalie est un épiphénomène constant dans le tableau clinique de la bêta-thalassémie, mais si elle devient volumineuse avec l'apparition de signes d'hypersplénisme, une splénectomie doit être indiquée afin d'éviter les complications engendrées par le programme hyper transfusionnel. L'objectif de cette étude est d'analyser les différentes complications rencontrées à court, moyen et long terme chez nos patients bêta-thalassémiques splénectomisés.

Il s'agit d'une étude rétrospective étalée sur 10 ans, portant sur 102 patients suivis en pédiatrie puis en hématologie pour bêta thalassémie majeure et intermédiaire, splénectomisés dans le service de chirurgie pédiatrique et de chirurgie générale. Sur 102 dossiers étudiés, 74 (72,5%) sont splénectomisés ; 62 (84%) pour la peinture majeure et 12 (16%) intermédiaire. le sex-ratio H/F est de 0,88 avec une légère prédominance féminine. A la date de la splénectomie, l'âge moyen des patients était de 13,3 ans [03-59]. Les indications de la splénectomie sont : hypersplénisme : 21 patients (28%), rate volumineuse IV à V chez 21 patients, et besoins transfusionnels accrus, l'évaluation des besoins transfusionnels reste difficile étant donné que la majorité des patients consultent toutes les 4 à 6 semaines et en face à la non disponibilité d'une prise en charge transfusionnelle adéquate : on notera une aggravation de l'anémie et une splénomégalie. Un patient a été splénectomisé pour abcès splénique, 1 autre pour contusion splénique, 30 pts ont été splénectomisés en pédiatrie et l'indication n'a pas été précisée. La splénectomie était totale dans 69 (93 %) cas et partielle dans 5 (7 %) cas. Les complications immédiates décrites chez nos patients sont essentiellement la thrombocytopénie, vue dans 100% des cas, le nombre de plaquettes varie entre 450-1000 G/L avec une moyenne de 743000/mm³ et même supérieur à 1 million chez 8 patients (10,8%),

la mise en route d'un traitement antiplaquettaire et hydroxyurée a été systématique (26 patients). La normalisation du taux plaquettaire est paroxystique pour chaque patient, il faut noter que 16 pts sur 26 (21,6%) sont encore sous hydroxyurée pour taux plaquettaire >700000/mm³.

Les complications tardives sont dominées par les accidents thromboemboliques et les infections : Des accidents thromboemboliques ont été notés chez 06 pts (8,1 %) : le siège de la thrombose était : veineux porte (3) fémoral (1) mésentérique (1) cérébral (1). Un traitement anticoagulant a été prescrit chez tous les patients. Un seul cas de thrombose a répondu au traitement anticoagulant, la thrombose fémorale s'est compliquée d'un ulcère de jambe réfractaire à tout traitement, et un patient avec thrombose portale est décédé, les 4 autres ont terminé le traitement AVK pour une durée de 2 ans. Infections sévères notées chez 4 patients : méningite bactérienne et 3 pneumopathies sévères, malgré un traitement préventif par vaccins pneumococciques pré-splénectomie et pénicilline au long cours. Tous ont été hospitalisés et mis sous double antibiothérapie. L'augmentation du nombre de globules blancs > 30 000/mm³ observée chez 65 pts (84 %) était liée à une érythroblastose sanguine confirmée par frottis sanguin. Parmi les 74 patients, 7 (9,4 %) sont décédés, 2 ont été transférés dans d'autres centres de suivi et 65 sont suivis régulièrement avec une médiane de survie de 25,2 ans.

La splénectomie est une indication essentielle chez les patients thalassémiques homozygotes polytransfusés compliqués d'hypersplénisme, cependant une prophylaxie rigoureuse (vaccination, antibiothérapie, anti agrégation plaquettaire) doit être mise en place pour prévenir les complications principalement les thromboses et les infections pouvant engager le pronostic vital.

INTRODUCTION

La Béta thalassémie (BT) est une anémie hémolytique constitutionnelle à transmission autosomique récessive, secondaire à un déficit de production des chaînes bêta de globine, il en résulte une érythropoïèse inefficace avec des globules rouges à demi vie raccourcie, rapidement détruits. Elle se manifeste par un tableau d'hémolyse chronique et nécessite des transfusions sanguines qui sont régulières dans la beta thalassémie majeure (BTM) ou occasionnelles dans la beta thalassémie intermédiaire (BTI).

La splénomégalie est un épiphénomène clinique constant ; l'hypersplénisme est une complication fréquente dans la BT, suspectée devant l'augmentation du volume de la rate et des besoins transfusionnels et confirmée par le calcul du quotient transfusionnel. La splénectomie sera indiquée comme seconde arme thérapeutique efficace, après échec du programme hyper transfusionnel, au prix de complications graves.

L'objectif de notre travail est d'analyser les différentes complications liées à la splénectomie et de montrer l'intérêt des mesures préventives pré et post opératoires.

PATIENTS ET METHODES

Il s'agit d'une étude rétrospective étalée sur 12 ans (2004 - 2016), portant sur des malades suivis pour B thalassémie homozygote (BT) dans sa forme majeure (BTM) et intermédiaire (BTI). Présentant un 'hypersplénisme avec augmentation du volume de la rate, (après élimination de l'allo immunisation). Ayant subi une splénectomie.

En pré opératoire, les patients ont bénéficié de :

- un examen clinique complet, bilan biochimique, vaccination essentiellement anti pneumococcique avec respect d'un délai de 15 jours minimum entre la vaccination et le geste,
- une échographie abdominale afin de préciser la taille et l'aspect de la rate, la présence de rates surnuméraires, et la recherche d'une hypertension portale,
- transfusions sanguines afin d'obtenir un taux d'hémoglobine ≥ 10 g/dl en pré opératoire.

En per opératoire : La splénectomie, faite par laparotomie ou coelioscopie, a été totale dans la majorité des cas, partielle chez les enfants âgés de moins de 05 ans.

En post opératoire, prescription systématique : Aspirine 100mg/j, Hydroxyurée 15mg/kg/j et antibiothérapie (pénicilline V) à vie.

Recherche de complications : immédiates : hémorragies, infections, à moyen et à long terme : thrombocytose, accidents thromboemboliques (ATE) et infections sévères.

RESULTATS

Pendant la période étudiée, 102 BT ont été suivis, BTM : 81pts (79.4%), BTI : 21 pts (20.6%)

Sur les 102 pts, 75 (73.5%) ont été splénectomisés (62 BTM (60.8%) et 13 pts BTI (12.7%))

L'âge médian à la splénectomie pour les malades suivis pour BTM est de 12,8 ans [03 -26 ans], et pour les BTI 13,75 ans [05 -59 ans] (Figure 1). 39 pts de sexe féminin et 36 pts de sexe masculin avec un Sexe ratio H/F à 0,92.

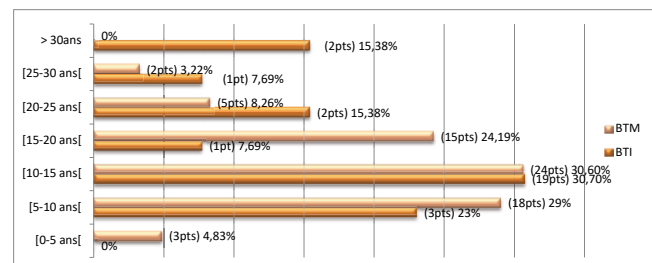


Figure 1 : Répartition selon l'âge à la splénectomie.

L'indication principale à la splénectomie est essentiellement l'hypersplénisme dans 73 cas (97%), pour les 2 autres cas : contusion splénique et abcès splénique.

Avant le geste chirurgical, tous les malades ont bénéficié d'un programme transfusionnel dont l'objectif a été d'atteindre un taux d'hémoglobine ≥ 10 g/dl. Une vaccination anti pneumococcique a été faite chez tous les patients.

Deux patients ont présenté des rates surnuméraires qui avaient été objectivées à l'échographie abdominale.

Les splénectomies ont été totales chez 69 pts (92%), et partielles chez 6 pts (8%).

Des complications ont été notées en post opératoire: hyperplaquettose, accidents thromboemboliques (ATE) et infections, aucune complication en post opératoire immédiat n'a été signalée dans notre série.

Les variations du taux des plaquettes ont été analysées durant l'année qui a suivi la splénectomie, une thrombocytose est retrouvée chez 44 patients (58.6%), le taux moyen de plaquettes est de 761 G/L (Figure 2).

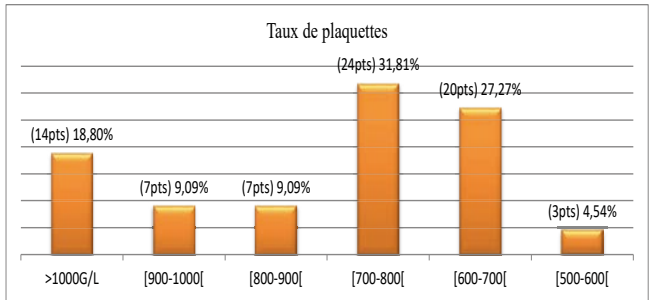


Figure 2 : Thrombocytose évaluée sur une année post splénectomie

Tous les patients ont reçu un traitement antiagrégant plaquettaire, thrombo-prophylactique, en post opératoire.

Un traitement par hydroxyurée a été prescrit chez 26 patients (34%) qui avaient un taux de plaquette >700 G/L.

Les ATE ont été notés chez 7 pts (9.33%), BTM (4 pts) , BTI (3 pts) . Le siège des ATE a été : thromboses portes (4), thrombose fémorale (1), thrombose mésentérique (1) , thrombose artérielle (1) (figure 3). Les caractéristiques des patients ayant présentés des ATE sont rapportés sur le tableau 1.

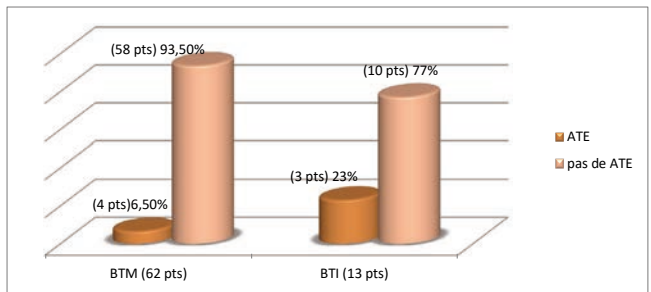


Figure 3 : Nombre des ATE selon le type de BT

Patients	Type de BT	Taux de plaquettes G/L	Volume de la rate	Rates surnuméraires	Délai entre la splénectomie et l'ATE
P1	BTM	600	3	Non	1 mois
P2	BTM	770	3	Non	16 ans
P3	BTI	980	4	Non	3 mois
P4	BTM	700	4	Non	12 mois
P5	BTI	3800	5	Oui 13 rates	48 heures
P6	BTI	600	5	Non	9 ans
P7	BTM	850	5	Non	28 ans

Tableau 1 : caractéristiques des malades qui ont présenté un ATE

L'évolution des pts ayant présenté un ATE a été favorable chez 2 patients, défavorable chez les autres patients ulcère de jambe (1pt) cavernome porte avec syndrome d'hypertension portale (4pts).

L'ensemble des patients ont reçu une antibio-prophylaxie à base de pénicilline, cependant des complications infectieuses ont été notées à type d'épisodes fébriles et infections ORL à répétition.

Le tableau 2 met en évidence les caractéristiques des pts, au nombre de 5 (6.66%), ayant présenté une infection grave.

Patients	Type de l'infection	Délai entre l'infection et la splénectomie	Durée d'hospitalisation	Evolution	Récidive
P1	Pneumonie	15 ans	En ambulatoire	Bonne	Oui 02 épisodes
P2	Pneumonie	20 ans	11 jours	Bonne	Non
P3	Pneumonie	10 ans	Pédiatrie NP	Bonne	Oui 05 épisodes
P4	Pneumonie	14 ans	10 jours	Décédé	
P5	Méningite	13 mois	1 mois à El Kettar	Bonne	Non

Tableau 2 : caractéristiques des patients avec infections sévères.

Devenir des patients: L'âge médian des pts vivants est de 24.7 ans (18- 64 ans), 67 pts (89%) sont toujours en vie. On notera que les patients les plus âgés sont pour la BTM (44 ans) et pour

la BTI (64 ans). Les patients décédés sont au nombre de 08 (10%), les causes de décès sont liées essentiellement aux conséquences de l'hémochromatose. (Tableau 3)

Cause de décès	Nombre de patients
Décompensation cardiaque	05
Pneumopathie	01
Anémie sévère	01
IRC et cirrhose hépatique	01

Tableau 3 : causes de décès des pts splénectomisés

DISCUSSION

L'hypersplénisme est une complication classique au cours de l'évolution de la Béta thalassémie, elle se manifeste par un accroissement des besoins transfusionnels et une augmentation rapide du volume de la rate ; dans certains cas on note l'apparition de cytopénies ^(1 ; 2) ; ceci a été noté dans notre série. Le régime hyper transfusionnel est à proposer dans un premier temps afin de réprimer la rate avant d'indiquer la splénectomie, mais la difficulté majeure est d'adapter le traitement chélateur aux transfusions rapprochées.

La splénectomie a été indiquée chez 75 patients (73.5%)(Figure 1). Au moment de la splénectomie, l'âge médian est de 12.8 ans dans notre série, (Figure 1), Il est plus avancé en comparaison avec les autres séries publiées (6.6 à 8 ans) ⁽³⁾

L'indication principale a été l'hypersplénisme ce qui rejoint les données de la littérature.

Nous n'avons pas noté de complications post opératoires immédiates grâce à une bonne préparation, aux conditions d'asepsie rigoureuse, une immunoprophylaxie et la réalisation d'un hémogramme en post opératoire immédiat, sachant que ce type de complications pose un problème dans certains pays ⁽⁵⁾

La thrombocytose est une complication classique, elle apparait précocement dès le 5^{ème} jour et atteint un pic entre la 2^{ème} et la 3^{ème} semaine. Les plaquettes peuvent revenir à un taux normal, après un mois, ou rester élevées pendant plusieurs mois. Dans notre série le taux de plaquettes antérieur à la splénectomie varie entre 250000/mm3 et 580000/mm3 avec une médiane de 240000/mm3, nous avons analysé l'évolution du taux des plaquettes au cours de l'année qui a suivi la splénectomie (Figure 2) 58% des malades avec un taux entre 450 et 1800 G/L, 18% avaient un taux supérieur à 1000 G/L: il est recommandé d'utiliser une faible dose d'antiagrégants plaquettaires afin de prévenir les

accidents secondaires à la thrombocytose ⁽⁶⁾, on prescrit de l'aspirine à 100mg / j dès que le taux de plaquettes dépasse les 450-500 G/l. et quand ce taux devient supérieur à 700 G/l, l'Hydroxyurée a été indiquée dans un but cytoréducteur comme il a été rapporté dans certaines études ⁽¹¹⁾, dans le service 04 patients BTI ont été traités par Hydroxyurée avant la splénectomie pour maintenir un taux d'hémoglobine stable, il s'agit de patients allo immunisés.

Les accidents thromboemboliques ont été notés chez 9.33% des patients de notre série (Figure 3), ils varient de 1 à 10% selon les séries, avec un délai très variable entre la thrombose et la splénectomie allant de 48 heures jusqu'à 28 ans. Des facteurs de risque ont été rapportés essentiellement la taille de la rate au moment du geste chirurgical⁽⁶⁾, la présence ou non de rates surnuméraires et le taux de plaquettes. A noter aussi que les thromboses sont plus fréquentes dans les BTI par rapport aux BTM (23% vs 6.3% dans notre série) (Tableau 1). Le traitement curatif des ATE est toujours basé sur l'utilisation d'HBPM, les patients à haut risque thrombotique avec ou sans ATCD de thrombose doivent être mis systématiquement sous thrombo-prophylaxie. Pour déterminer ce risque, il y'a des tests d'hémostase hautement spécialisés qui ne sont pas de pratique courante ⁽⁷⁾.

Le risque infectieux peut être multiplié par 14 voire 45 fois⁸. Dans notre série, des épisodes infectieux graves ont été rapportés (66%). Dans la Littérature (4 à 8 %). Le délai d'apparition de ces infections est variable, en moyenne entre 7 et 10 ans. Dans notre série on a eu des épisodes relativement précoces : un cas de méningite à pneumocoque 13 mois après splénectomie et cela malgré la vaccination antipneumococcique, un cas de pneumonie grave survenue 20 ans après la splénectomie (Tableau 2). Le Pneumocoque est l'agent le plus incriminé, suivi par le streptococcus pneumoniae et d'autres tels que H. Influenzae et neisseria méningitis. La fréquence de ces complications infectieuses graves a justifié un traitement préventif par des vaccinations anti pneumococcique au moins 15 jours avant la splénectomie, et une pénicilliothérapie au long cours, malheureusement aucun patient n'a reçu le vaccin anti Hemophilus influenzae ou anti meningocoque, seule la vaccination anti

pneumococcique, a été faite chez nos patients en raison de la non disponibilité des autres vaccins.

L'âge d'arrêt de la prophylaxie antibiotique est un sujet très controversé. Mais devant la survenue de cas de septicémie fulminante jusqu'à 65 ans après la splénectomie, il est recommandé de maintenir l'antibio-prophylaxie à vie dans tous les cas⁽⁹⁾.

Nous n'avons noté aucun décès en rapport direct avec la splénectomie (Tableau 3), à la différence d'autres séries: Saha et al ⁽¹⁰⁾ et Hussain et al ⁽¹¹⁾ qui ont rapporté respectivement 5% et 3,5% de mortalité dans leurs études.

CONCLUSION

L'indication de la splénectomie dans la prise en charge de la BT a tendance à diminuer ces dernières années, par la diminution de la prévalence de l'hypersplénisme grâce à une meilleure prise en charge. En raison des complications infectieuses et thrombotiques qui peuvent survenir, le patient splénectomisé requiert une surveillance attentive en postopératoire ainsi qu'à moyen et long terme. L'éducation du patient, l'antibioprophylaxie et la mise à jour régulière des vaccinations sont des éléments clés de sa prise en charge. ■

RÉFÉRENCES

1. Porecha MM, Udani D, Mehta V, Gami A. Splenectomy In Management Of Thalassemia Major - A Boon For The Little Angel. The Internet Journal of Surgery. 2009;24(1):1-11.
2. Ammar SA, Elsayh KI, Zahran AM, Embaby M. Splenectomy for patients with β -thalassemia major: long-term outcomes. Egypt J Surg. 2014. 33:232-6.
3. Piga A, Serra M, Longo F, et al. Changing patterns of splenectomy in transfusion dependent thalassemia patient. Am J Hematol. 2011;86 (9):808-10.
4. Merchant RH, Shah AR, Ahmad J, Karnik A, Post Splenectomy Outcome in β -Thalassemia. The Indian Journal of Pediatrics December 2015, Volume 82, (12):1097-1100]
5. Abdul Salam Memon, Riaz Memon, Agha Taj Muhammad, Splenectomy: Does it help in Patients with Thalassemia Major J Liaquat Uni Med HealthSci JANUARY - MARCH 2017; Vol 16: No. 01

6. Cappellini MD, Robbiolo L, Bottasso BM, et al. Venous Thromboembolism and Hypercoagulability in Splenectomized patients with Thalassemia Intermedia. *Br J Haematol.* 2000;111(2):467-73.
7. Laboratory tests for coagulation system monitoring in a patient with β -thalassemia Elena A. Seregina *International Journal of Hematology*, May 2014, Volume 99, Issue 5
8. Bisharat N, Omari H, Lavi I, Raz R. Risk of infections and death among post splenectomy patients. *J Infect.* 2001; 43 (3):182-6.
9. Marina I Salvadori, Victoria E Price; prévention et le traitement des infections chez les enfants présentant une asplénie ou une hyposplénie. *Société canadienne de pédiatrie, Child Health Vol 19 No 5 May 2014*
10. Saha R, Misra R, Saha I, Health related quality of life and its predictors among Bengali Thalassemic children admitted to a tertiary care hospital. *India J Pediatr.* 2015;82(10):909-16. doi: 10.1007/s12098-014-1670-6.
11. Hussain S, Anwer A, Ahmad A, Jaffery S, Improved quality of life in post splenectomized thalassemic patients *Pak J Surg* 2011; 27(2): 83-86.
12. Khan P.N., Nair R.J., Olivares J., Tingle L.E., Li Z. Postsplenectomy reactive thrombocytosis *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2009; 22: 9-12

SUMMARY

Complication of splenectomy in beta thalassemia patients

Introduction: Splenomegaly is a constant epiphenomenon in the clinical picture of beta thalassemia, but if it becomes voluminous with the appearance of signs of hypersplenism, splenectomy must be indicated in order to avoid the complications caused by the hyper transfusion program. The objective of this study is to analyze the various complications encountered in the immediate, medium and long term in our splenectomized beta-thalassemia patients.

Patients and Methods: This is a retrospective study spread over 10 years, involving 102 patients followed in pediatrics then in hematology for beta thalassemia major and intermedia, splenectomized in the pediatric surgery department and general surgery.

Results: Out of 102 files studied, 74 (72.5%) are splenectomized; 62(84%) for major painting and 12(16%) intermediate. the M/F sex ratio is 0.88 with a slight female predominance.

At the date of the splenectomy, the average age of the patients was 13.3 years(03-59). The indications for splenectomy are: hypersplenism: 21 patients (28%), voluminous spleen IV to V in 21 patients, and increased transfusion requirements, the assessment of transfusion requirements remains difficult given that the majority of patients consult all 4 to 6 weeks and in the face of the non-availability of adequate transfusion support: an aggravation of anemia and splenomegaly will be noted. One patient was splenectomized for splenic abscess, 1 other for splenic contusion, 30 fpts were splenectomized in pediatrics and the indication was not specified. Splenectomy was total in 69 (93%) and partial in 5 (7%) cases.

The immediate complications described in our patients are essentially thrombocytosis, seen in 100% of cases, the platelet count varies between 450-1000 G/L with an average of 743000/mm³ and even greater than 1 million in 8 patients (10.8%), the initiation of antiplatelet and hydroxyurea treatment was systematic (26 patients). The normalization of the platelet rate is paroxysmal

for each patient, it should be noted that 16 pts out of 26 (21.6%) are still on hydroxyurea for platelet rate $>700000/\text{mm}^3$.

Late complications are dominated by thromboembolic accidents and infections: Thromboembolic accidents were noted in 06 pts (8.1%): the site of thrombosis was: portal vein (3) femoral (1) mesenteric (1) cerebral (1). Anticoagulant treatment was prescribed in all patients. Only one case of thrombosis responded to anticoagulant treatment, the femoral thrombosis was complicated by a leg ulcer refractory to any treatment, and a patient with portal thrombosis died, the 4 others completed the AVK treatment for the duration has been 2 years.

Severe infections noted in 4 patients: bacterial meningitis and 3 severe pneumopathies, despite

preventive treatment with pre-splenectomy pneumococcal vaccines and long-term penicillin therapy. All were hospitalized and put on double antibiotic infusion therapy.

The increase in white blood cell count $>30,000/\text{mm}^3$ observed in 65 pts (84%) related to blood erythroblastosis confirmed by blood smear.

Among the 74 patients, 7 (9.4%) died, 2 transferred to other follow-up centers, and 65 are followed regularly with a median survival of 25.2 years.

Conclusion: Splenectomy is an essential indication in polytransfused homozygous thalassemia patients complicated with hypersplenism, however rigorous prophylaxis (vaccination, antibiotic therapy, antiplatelet aggregation) must be instituted to prevent complications mainly thrombosis and infections which can be life-threatening.

Cas clinique

β Thalassémie compliquée d'une alloimmunisation et d'une auto-immunisation : un vrai challenge thérapeutique

Y. Ghassoul-F. Talbi-M. Djillali-H. Mansour-MR. Abbadi-SE. Belakehal-FZ. Ardjoun-K. Djouadi.

Service d'Hématologie- Hôpital Central de l'Armée, Dr Mohamed Seghir Nekkache, Alger.

RESUME

L'alloimmunisation est une complication fréquente de la thérapie transfusionnelle, une AHAI peut être associée et secondaire à l'alloanticorps, elle se caractérise par une baisse de l'hémoglobine avec destruction des globules rouges transfusés et autologues (globules rouges). Nous rapportons le cas d'un patient de 5 ans, suivi pour β thalassémie homozygote, transfusé pour la première fois à l'âge de 31 mois. Le patient présente à l'âge de 3 ans, une alloimmunisation dans le système MNS associé à une auto-immunisation. Des transfusions compatibilisées sont réalisées mais sans être efficace. Un traitement immunosuppresseur est administré : des corticoïdes et des Immunoglobulines intra veineuses, mais sans résultat. L'enfant reçoit par la suite une immunothérapie par le Rituximab hebdomadaire avec une évolution favorable. Une rechute de cette hémolyse acquise est notée, le même schéma thérapeutique est appliqué avec obtention d'une bonne réponse, une splénectomie est réalisée à l'âge de 4,5 ans, puis le patient est mis sous Hydréa pour pouvoir espacer les transfusions, actuellement il nécessite des transfusions compatibilisées au rythme d'une transfusion bimensuelle, en attendant la greffe de CSH haploidentique. L'allo-auto-immunisation se manifeste par une hyperhémolyse qui peut entraîner une inefficacité transfusionnelle. Le traitement est basé sur des transfusions compatibilisées associées à un traitement immunosuppresseur ; il n'existe, à l'heure actuelle, pas de consensus thérapeutique, mais parmi les molécules utilisées, le Rituximab semble être le traitement le plus efficace.

Mots clés : β thalassémie, alloimmunisation, auto-immunisation, traitement immunosuppresseur.

INTRODUCTION

L'allo-immunisation reste une des complications fréquentes lors de la thérapie transfusionnelle de la β thalassémie. Le développement d'allo-anticorps anti-érythrocytaire est responsable de réactions d'hyperhémolyses retardées ou aiguës à l'origine d'une inefficacité transfusionnelle¹. L'association à la fois d'une alloimmunisation et d'une anémie hémolytique auto immune chez le sujet β thalassémique reste très rare et vient grever le pronostic et pose des difficultés de prise en charge. Cette complication immunologique nécessite la transfusion de culots globulaires (CGR) comptabilisés, associée à un traitement de l'AHAI.

Nous rapportons un cas clinique de β thalassémie compliquée à la fois d'une alloimmunisation et d'une AHAI.

OBSERVATION

L'enfant A. W âgé de 5 ans, originaire de Tizi Ouzou et demeurant à Tipaza, issu d'un mariage consanguin de 2^{ème} degré, 4^{ème} d'une fratrie de 4, dont un frère aîné de 17ans β thalassémique homozygote, une sœur de 10 ans β thalassémique hétérozygote et un frère de 12 ans sain.

A.W est suivi en hématologie pour une β thalassémie homozygote, diagnostiquée à l'âge de 14 mois en Juillet 2015. Dans ses antécédents physiologiques on retrouve : une naissance à terme avec un poids de naissance de 3,200 kg, une vaccination correcte selon le calendrier vaccinal national associant : (Pneumovax 23 + HEVAC B). On note un bon développement psychomoteur. Le diagnostic est posé dans le cadre d'une enquête familiale.

Le patient présente sur le plan clinique : une pâleur cutaneomuqueuse modérée, un discret

subictère conjonctival avec une pointe de rate, à l'hémogramme : un taux de GB à 9 000 éléments/mm³, une Hb à 7,9 gr/dl. VGM/ CCMH : 54/33. RDW : 23,9, un taux de plaquettes à 600 000 éléments/mm³ et un taux de réticulocytes à 175 000.

Au Frottis sanguin : GR : anisocytose+/, micro++, macro, hypochromie +++ poikilocytose +++ : cellules cible, elliptocytes, schizocytes, Plaq : +, GB (53- 0- 0- 47- 0), PNN : 4 770/mm³, LYM : 4 230/mm³, à l'électrophorèse de l'hémoglobine : Hb F : 97,3 %, Hb A₂ : 2,7 %.

Le patient est mis sous traitement symptomatique : une antibio-prophylaxie et une supplémentation en acide folique. Il est transfusé par des CG phénotypés et filtrés du même groupage du patient (A Rh + cc ee k (-) depuis l'âge de 31 mois à raison d'une transfusion toutes les 6 semaines avec un taux d'hémoglobine pré transfusionnel de 9 gr/dl.

Mais depuis le mois de Juin 2017, on note une augmentation des besoins transfusionnels à raison de 2 CGR par mois, après un nombre total de 8 transfusions reçues, la RAI met en évidence un allo-anticorps dans le système MNS (S +). Des transfusions compatibles sont alors indiquées et réalisées mais sans aucune efficacité puisque le patient nécessite des transfusions bihebdomadaires avec un taux d'Hb de base à 2.5 gr/dl. Une 2^{ème} RAI est pratiquée, retrouvant le même allo-anticorps et un test de coombs (TCD) est alors pratiqué revenant positif de type Ig G+ Complément, le diagnostic d'une auto-immunisation associé à une allo-immunisation est alors posé. Un traitement par une corticothérapie est instauré en 1^{ère} ligne à raison de 1mg/kg/j est soldé d'un échec. Un traitement est instauré par des perfusions d'immunoglobulines à la dose de 1gr/kg avant chaque transfusion avec obtention d'une réponse transitoire (remontée du taux d'HB pré-transfusionnel de 2.5 à 5 gr/dl).Vue l'âge du patient, la splénectomie ne peut pas être envisagée, d'où l'indication du Rituximab hebdomadaire à raison de 375 mg/m² associé à la Dexaméthasone à 4 mg, le patient a présenté un pic hypertensif à 19/10 cm hg ayant nécessité une hospitalisation et la mise en route d'un traitement antihypertenseur par voie parentérale. Quinze jours plus tard, le Rituximab est repris à une dose initiale de 100 mg/m², avec une augmentation progressive des doses à raison de 50 mg/m² par semaine. La dose totale de 375 mg/

m² est atteinte à la 5^{ème} semaine. Le patient reçoit au total 4 perfusions à dose complète.

Une évolution favorable est notée tant sur le plan clinique (patient moins asthénique, une réduction du débord splénique de 50%) que sur le plan biologique (maintien d'un taux d'hémoglobine pré-transfusionnel à 7 gr/dl, la négativation du TCD). 6 mois plus tard, le patient présente une crise de déglobulisation, une augmentation du débord splénique à 11cm, une chute du taux d'hémoglobine Hb: 4,9 gr/dl, taux de réticulocytes: 56 000 élmt/mm³, sérologie du Parvovirus B19 est négatif et le médullogramme montre une moelle riche, les mégacaryocytes sont présents, la lignée granuleuse est estimée à 28% sans trouble de maturation, lignée érythroblastique à 72%. Le TCD est positif à type d'Ig G + Complément, le même schéma thérapeutique initial est repris (Corticoïdes et Rituximab hebdomadaire à dose progressive. On note une bonne évolution (augmentation du taux d'hémoglobine de base à 7,7 g/dl, nécessité d'une transfusion tous les 3 à 4 semaines par des CGR compatibilisés.

Une splénectomie est pratiquée Octobre 2018, elle s'est déroulée sans incidents, avec une rémission complète de l'AHAI. En Mai 2019 soit 7 mois après la splénectomie, le patient présente une reprise de l'hémolyse acquise, TCD positif à Ig G + Complément. L'Hydréa est introduit à la posologie de 15 mg/kg/j comme alternative à la transfusion. Actuellement le patient présente un taux d'hémoglobine pré-transfusionnel à 6,6 gr/dl et reçoit des transfusions compatibles toutes les 3 semaines. Par ailleurs, une hémochromatose est diagnostiquée avec un taux de ferritine à 6130 ng/ml d'où la mise en route d'une double chélation par le Desferal (50 mg/kg à la SAP) et l'Exjade (30 mg/kg par voie orale).

L'indication d'une allogreffe est posée, mais l'enfant n'a pas de donneur compatible au sein de sa fratrie, une greffe de CSH haploidentique est prévue chez lui.

DISCUSSION

La β thalassémie est une anémie hémolytique héréditaire caractérisée par un déficit génétique totale (β o-thalassémie) ou partielle (β +thalassémie) de la synthèse des chaînes β de globine¹.

Le traitement de ces patients atteints de β thalassémie comprend un programme transfusionnel, une chélation du fer, une splénectomie et une greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques².

L'apparition d'un allo-anticorps, dépisté par une recherche d'agglutinines irrégulières (RAI), est la complication la plus fréquente de la thérapie transfusionnelle, des études rapportent des taux d'allo-immunisation de 5 à 30% chez les patients atteints de thalassémie³.

Dans une étude turque, menée sur 139 patients atteints de thalassémie majeure et intermédiaire, qui ont reçu régulièrement des transfusions de CGR déleucocytés, des allo-anticorps érythrocytaires sont trouvés chez 9 patients (6,4%), et des auto-anticorps chez 17 patients (12,2%)⁴.

Dans la population africaine⁵, les allo-anticorps contre le MNS et Duffy sont les plus fréquents, et c'est l'allo-anticorps (contre le système MNS) retrouvé chez notre patient.

La physiopathologie de survenue de l'allo et auto-immunisation n'est pas élucidé, l'AHAI est secondaire à l'allo-immunisation, plusieurs facteurs sont incriminés : le facteur génétique lié à la présence du marqueur de l'allo-immunisation à proximité des gènes jouant un rôle important dans la régulation immunitaire: STIM1, CD151, TC21 / RRAS2, SIGIRR / TOLL / IL1R8, TRIM21⁶, le statut immunitaire du receveur et la présence d'état inflammatoire favorisent la survenue d'une allo-immunisation⁵. le pouvoir d'immunogénicité des antigènes érythrocytaire est variable (l'antigène le plus immunogène est le Rhésus-D, à un degré moindre les antigènes Kidd, Duffy, MNS et Kell)⁷.

Plusieurs publications prouvent que le développement des allo-anticorps est plus élevé dans la thalassémie intermédiaire, chez les patients avec un Rhésus négatif (-), ayant reçus une transfusion initiale > à l'âge de 2 ans avec un intervalle de transfusion > 3 semaines ($p < 0,05$)⁸. Ces données sont retrouvées chez notre malade en dehors du Rhésus négatif.

Le taux de survenue des auto-anticorps augmente chez les patients splénectomisés ($p < 0,05$)⁹ du à la non-filtration des antigènes au niveau de la rate, responsables de ces réactions immunologiques.

La transfusion dans le contexte d'allo-immunisation associée à l'AHAI peut provoquer soit une hé-

molyse extravasculaire retardée de 5 à 7 jours, peu sévère se traduisant par un ictère retardé ou une transfusion inefficace, soit une hyperhémolyse sévère potentiellement mortelle, et ça peut survenir malgré des transfusions avec des produits sanguins compatibilisés⁶.

La transfusion de CGR compatibilisée avec les allo-anticorps connus est nécessaire mais parfois insuffisante, comme le montre notre cas, c'est pour cette raison qu'il faut éviter autant que possible les transfusions et associer un traitement immunosuppresseur.

Le Rituximab est utilisé avec succès chez les adultes atteints d'anémie hémolytique auto-immune idiopathique réfractaire aux stéroïdes et à l'azathioprine⁷ et s'est révélé efficace dans la prévention d'accident d'hyperhémolyse retardée chez les drépanocytaires.

L'efficacité du Rituximab est probablement liée à sa cible spécifique les lymphocytes B circulants soit en empêchant la production d'auto-anticorps par les lymphocytes B auto-réactifs, soit en interférant avec les lymphocytes B coopérant avec les lymphocytes T au cours de l'allo-immunisation.

Une observation est publiée en 2010¹⁰, à propos d'une fille de 18 mois, atteinte de β thalassémie homozygote, mise sous un programme transfusionnel régulier, après la première transfusion, elle développe une hyperhémolyse sévère retardée, malgré le traitement par la prednisone, les immunoglobulines, le Rituximab et de l'Azathioprine l'hémolyse se poursuit. Elle reçoit une greffe de CSH allogénique. En raison d'un rejet ultérieur, elle bénéficie d'une 2^{ème} greffe allogénique. L'hémolyse se poursuit et le TCD reste faiblement positif. Malgré cette suppression immunitaire massive, l'hémolyse n'est ralentie qu'après splénectomie, il a été suggéré peut-être que la suppression immunitaire seule ne suffit pas à guérir cette hyperhémolyse sévère lorsque les transfusions ne peuvent pas être évitées¹⁰.

La prévention de l'allo-immunisation est indispensable, les différentes précautions à prendre pour l'éviter sont: la détermination précise du groupe sanguin, le dépistage des allo-anticorps avant chaque transfusion, l'utilisation de CGR phénotypés (dans le Rhésus et le système Kell) pour tous les patients polytransfusés et chez les femmes en âge de procréer.

CONCLUSION

Les complications immunologiques liées aux transfusions sont fréquentes, et peuvent être graves. Il est essentiel de les rechercher chez les malades polytransfusés afin de poser un diagnostic précoce et une prise en charge optimale.

Leur traitement n'est pas codifié, la prise en charge constitue un vrai challenge, associant des transfusions comptabilisées et un traitement immunosuppresseur ; le Rituximab semble être efficace.

La splénectomie permet d'espacer les transfusions, l'Hydréa permet une solution alternative et l'allogreffe de moelle reste la solution optimale quand elle est possible. ■

RÉFÉRENCES

1. Uhlmann EJ, et al. Transfusion 2013, <http://dx.doi.org/10.1111/trf.12258>.
2. Tangvarasittichai S. Impact de l'allo-immunisation sur les patients transfusionnels-dépendants. Ann Adv Chem. 2017; 1: 070-082. DOI: 10.29328 / journal.aac.1001009
3. Aygun B, Padmanabhan S, Paley C, Chandrasekaran V. Clinical significance of RBC alloantibodies and autoantibodies in sickle cell patients who received transfusions. Transfusion 2002; 42:37-43.
4. Cemil Koçyiğit, et al. Frequency of red cell allo- and autoimmunization in patients with transfusion-dependent beta thalassemia and affecting factors. The Turkish Journal of Pediatrics 2014; 56: 487-492.
5. Fagiolo E. Immunological tolerance loss vs. erythrocyte self antigens and cytokine network dysregulation in autoimmune hemolytic anaemia. Autoimmun Rev 2004; 3:53-9.
6. Mocellin S, Panelli M, Wang E, Rossi CR, Pilati P, Nitti D, et al. IL-10 stimulatory effects on human NK cells explored by gene profile analysis. Genes Immun 2004; 5:621-30.
7. Taylor RP, Lindorfer MA. Drug insight: the mechanism of action of rituximab in autoimmune disease-the immune complex decoy hypothesis. Nat Clin Pract Rheumatol 2007; 3:86-95.
8. Sabahi R, Anolik JH. B-cell-targeted therapy for systemic lupus erythematosus. Drugs 2006; 66:1933-48.
9. Noizat-Pirenne F, et al. Haematologica 2007;92(12):e132-5.<http://dx.doi.org/10.1016/j.revmed.2013.10.218>
10. Sabine E, et al. Delayed hemolytic transfusion reaction with hyperhemolysis after first red blood cell transfusion in child with b-thalassemia: challenges in treatment. Transfusion complications. Volume 50, February 2010.

SUMMARY

Alloimmunisation is a frequent complication of transfusion therapy, an AHAI may be associated and secondary to the alloantibody, it is characterized by a drop in hemoglobin with destruction of transfused and autologous red blood cells (red blood cells). We report the case of a patient 5-year-old, followed for β thalassemia homozygote, transfused for the first time at the age of 31 months, the patient presents at the age of 3 years, an alloimmunization in the MNS system associated with self-immunization. Compatibilized transfusions are carried out but without being effective, an immunosuppressive treatment is administered: corticosteroids and intravenous immunoglobulins, this treatment was without benefit, then the child receives immunotherapy with weekly Rituximab with a favorable course. The patient presents a relapse of this allo-autoimmunization, the same therapeutic scheme is applied, with obtaining a good response, a splenectomy is performed at the age of 4.5 years, then the patient is put on Hydrea to be able to space transfusions, currently it requires compatibilized transfusions at the rate of a fortnightly transfusion, pending a haploidentical CSH transplant.

Allo-autoimmunization is manifested by hyperhemolysis which can lead to transfusion ineffectiveness. Treatment is based on transfusions compatible with immunosuppressive therapy; there is no therapeutic consensus, but among the molecules used, Rituximab seems to be the most effective treatment.

Key words: β thalassemia, alloimmunization, autoimmunization, immunosuppressive therapy.

La classification OMS révisée 2016 des hémopathies lymphoïdes matures : principales modifications apportées

N. Ait Amer

Service Hématologie Greffe de Moelle / Centre Pierre et Marie Curie Alger

1. INTRODUCTION

A lors que l'objectif principal de la classification OMS 2001, était de définir des paramètres permettant un diagnostic reproductible par les pathologistes du monde entier, la classification OMS 2008 a intégré les données cliniques, morphologiques, phénotypiques et génotypiques, elle a distingué de nouvelles entités mais aussi des entités provisoires, elle a aussi souligné le rôle des virus dans la survenue de certains lymphomes(1).

La nouvelle classification 2016 a permis d'ajouter, de modifier et d'entériner certaines entités de la classification 2008 .Elle a incorporé les dernières découvertes sur la biologie, la génétique et la biologie moléculaire (2).

Nous rapportons les principales modifications apportées à la classification précédente à savoir les entités qui ont été ajoutées mais aussi les entités qui ont été provisoires, sont devenues définitives(3).

2. Les principales modifications de la classification des lymphomes B (tableau I)

1.1. Leucémie lymphoïde chronique (LLC) / lymphome lymphocytaire et lymphocytose B monoclonale (MBL)

- Le diagnostic de LLC ne peut pas être établi en l'absence de maladie extra médullaire si la lymphocytose sanguine est $< 5 \times 10^9$ G/L même s'il existe des cytopénies ou des symptômes liés à cette maladie.
- La lymphocytose B monoclonale (MBL) est définie dans la classification OMS 2008 comme la présence d'au plus 5×10^9 G/L lymphocytes circulants pathologiques depuis plus de

3 mois, de phénotype LLC, LLC atypique ou non LLC (CD5-), en l'absence d'autre signe de lymphome. Cette entité dans la plupart des cas préexiste à toute LLC/ lymphome lymphocytaire.

La classification révisée différencie une MBL, à « faible taux » ($< 0.5 \times 10^9$ G/L) risquant peu de progresser vers la LLC, d'une MBL à « taux élevé » qui nécessite un suivi médical annuel

2.2. Les lymphomes folliculaires

La classification des lymphomes folliculaires de grade 1-2, 3a ou 3b n'est pas modifiée. Deux variantes sont reconnues : la néoplasie folliculaire in situ et le lymphome folliculaire de type duodénal.

2.2.1. Néoplasie folliculaire in situ

Nouvelle dénomination du lymphome folliculaire in situ (2008), reflétant le faible risque de progression vers un lymphome folliculaire.

L'aspect morphologique est celui d'une hyperplasie folliculaire avec respect de l'architecture ganglionnaire. Les follicules sont entourés d'une zone de manteau persistante et ne sont pas confluent. Le diagnostic repose sur anticorps anti- bcl2 montrant une absence de marquage de la plupart des centre germinatifs réactionnels avec quelques amas de cellules centrofolliculaires fortement bcl2+ secondaire à t (14;18).

2.2.2. Lymphome folliculaire de type duodénal

Parmi les lymphomes folliculaires du tube digestif considérés comme un variant du lymphome folliculaire, la nouvelle classification isole le lymphome folliculaire de type duodénal ayant

des caractéristiques partagées entre la néoplasie folliculaire in situ et les lymphomes du MALT. Ces patients ont une excellente évolution et sont souvent suivis dans une stratégie de «wait and watch».

2.2.3. Lymphome folliculaire de type pédiatrique

Le lymphome folliculaire pédiatrique est une entité définitive et non plus provisoire dans la classification révisée 2016, renommée lymphome folliculaire de type pédiatrique.

Il survient surtout chez l'enfant et plus rarement chez le jeune adulte. Il s'agit d'une entité rare, le plus souvent de forme localisée. Il s'agit d'identifier la présence de follicules lymphoïdes de grande taille au centre germinatif large et expansif, qui ont souvent une cytologie centrofolliculaire blastoïde plutôt que des centroblastes (ou des centrocytes). L'index de prolifération des centres germinatifs est parfois élevé. Les centres germinatifs expriment CD10, BCL6 et l'expression de BCL2 est négative ou faiblement positive (4). Le lymphome folliculaire de type pédiatrique est caractérisé par l'absence de réarrangement des gènes BCL2, MYC et BCL6. Sa morphologie se rapproche du lymphome folliculaire de grade 3a. Il est de bon pronostic. La quasi totalité des cas publiés de lymphome folliculaire de type pédiatrique sont de stade localisé et l'exérèse chirurgicale associée à l'approche «*wait and watch strategy*» sont recommandées

2.2.4. Lymphome à grandes cellules avec réarrangement d'IRF4

La classification révisée 2016 propose une nouvelle entité provisoire nommée lymphome à grandes cellules avec réarrangement d'IRF4. Il survient plus fréquemment chez l'enfant et l'adulte jeune, de topographie localisée, principalement « tête et cou ». L'architecture folliculaire est détruite par une prolifération d'architecture folliculaire et/ou diffuse, composée de lymphocytes B CD20+ de grande taille coexprimant MUM1 et BCL6, avec un taux de prolifération élevé. L'aspect d'ensemble évoque le diagnostic de lymphome folliculaire de grade 3b ou de lymphome diffus à grandes cellules B avec un phénotype du centre prolifératif (CD10/BCL6), une expression de Bcl2 mais sans t(14,18) (q32, q21), une expression de Bcl6 avec réarrangement fréquent et forte expression IFR4

avec réarrangement de IRF4. Leur évolution sous traitement est favorable et ces lymphomes sont considérés de bon pronostic.

1.3. Néoplasie à cellules du manteau in situ

Le lymphome à cellules du manteau in situ est renommé néoplasie à cellules du manteau in situ, reflétant le faible risque de progression et le bon pronostic. Les critères diagnostiques sont inchangés : il s'agit d'identifier la présence de lymphocytes B pathologiques Cycline D1+ dans la zone du manteau. C'est une entité rare qui doit être distinguée du lymphome à cellules du manteau classique présentant une topographie du manteau.

1.4. Lymphomes Diffus à Grandes Cellules B (DLBCL)

- Les DLBCL sans autre spécificité (NOS, not otherwise specified) sont classés selon leur phénotype centro-germinatif (GC) ou type B activé (ABC ou non GC) d'après l'algorithme de Hans (4), défini à partir de l'expression différentielle de CD10, BCL6, MUM-1. Toutefois 10 à 15 % de DLBCL NOS restent non classables. La classification selon la cellule d'origine par immunohistochimie est considérée comme acceptable dans la mesure où les classifications moléculaires ne sont pas accessibles dans tous les laboratoires (tableau II)

- Le lymphome inclassable entre un DLBCL et un lymphome de Burkitt (BCLU), entité provisoire de la classification OMS 2008, a été supprimée. La classification révisée 2016 propose par contre deux nouvelles entités :

- D'une part le lymphome B de haut grade avec réarrangement de MYC et BCL2 et/ou BCL6. Ce lymphome (appelé double ou triple hit) est souvent reconnu comme de très mauvais pronostic et ne répond pas au traitement classique des DLBCL.
- D'autre part le lymphome B de haut grade NOS lorsqu'il n'y a pas de réarrangement de MYC et BCL2 et/ou BCL6, et si la cytologie est soit intermédiaire, soit blastoïde. De principe, une étude de l'expression de la TdT et de la Cycline D1 est impérative afin d'éliminer les lymphomes lymphoblastiques B et les lymphomes à cellules du manteau blastoïdes.

Tableau I : Classification OMS révisée 2016 des néoplasies lymphoïde B matures (2)

Leucémie lymphoïde chronique / Lymphome lymphocytaire	Lymphome folliculaire de type pédiatrique*
Lymphocytose B monoclonale *	Lymphome à grandes cellules B avec réarrangement de IRF4*
Leucémie pro-lymphocytaire B	Lymphome centro-folliculaire cutané primitif
Lymphome de la zone marginale splénique	Lymphome à cellules du manteau
Leucémie à tricholeucocytes	Néoplasie à cellules du manteau in situ*
Lymphome / Leucémie B splénique, non classable	Lymphome diffus à grandes cellules B (DLBCL), sans autre spécificité (NOS)
Lymphome B diffus à petites cellules de la pulpe rouge splénique	de type B du Centre germinatif*
Leucémie à tricholeucocytes - variant	de type Activé B*
Lymphome lymphoplasmocytaire	Lymphome à grandes cellules B riche en lymphocytes T/histiocytes
Macroglobulinémie de Waldenström	DLBCL primitif du système nerveux central
Gammapathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS) IgM*	DLBCL primitif cutané, de type jambe
Maladie des chaines lourdes Mu	DLBCL EBV+, NOS*
Maladie des chaines lourdes gamma	Ulcère cutanéomuqueux EBV+*
Maladie des chaines lourdes alpha	DLBCL associé à une inflammation chronique
Gammapathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS) IgG/IgA*	Granulomatose lymphomatoïde
Myélome multiple	Lymphome à grandes cellules B primitif du médiastin (thymique)
Plasmocytome solitaire osseux	Lymphome à grandes cellules B intravasculaire
Plasmocytome extra-osseux	Lymphome à grandes cellules B ALK positif
Maladie des dépôts d'immunoglobuline monoclonaux*	Lymphome plasmablastique
Lymphome de la zone marginale extra-ganglionnaire du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT)	Lymphome des séreuses
Lymphome de la zone marginale ganglionnaire	DLBCL HHV8+, sans autre spécificité*
Lymphome de la zone marginale ganglionnaire de type pédiatrique	Lymphome de Burkitt
Lymphome folliculaire	Lymphome Burkitt-like avec aberration 11q
Néoplasie folliculaire in situ*	Lymphome B de haut grade avec réarrangement de MYC et BCL2 et/ou BCL6*
Lymphome folliculaire de type duodénal*	Lymphome B de haut grade, NOS*
	Lymphome B inclassable, avec des aspects intermédiaires entre un DLBCL et un lymphome de Hodgkin classique

Les Entités provisoires sont en italique ;
Les modifications par rapport à la classification OMS 2008 comportent un astérisque (*)

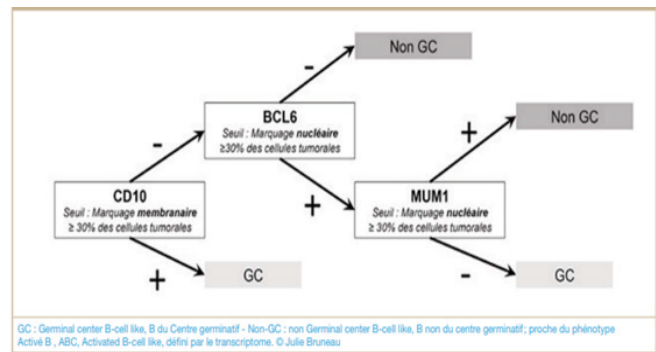
- L'entité provisoire DLBCL EBV+ du sujet âgé a elle aussi été supprimée au profit d'une entité renommée DLBCL EBV+, NOS, car ce lymphome peut survenir chez les sujets jeunes. Cette entité intègre aussi le DLBCL EBV+ du sujet jeune dont l'histologie peut être pléomorphe, associant des cellules de Reed-Sternberg, et le pronostic meilleur que chez le sujet âgé. Cette entité pose le problème de la pratique de la sonde EBER dans les DLBCL. Les autres entités de lymphomes à grandes cellules B associées à l'EBV : la granulomatose lymphomatoïde et le lymphome à grandes cellules B associé à une inflammation chronique, ne sont pas incluses dans les DLBCL EBV+, NOS.

- Une nouvelle entité provisoire a été reconnue, nommée ulcère muco-cutané EBV+. Il s'agit d'une lésion localisée et ulcérée développée aux dépens de la peau et/ou des muqueuses survenant chez l'immunodéprimé ou le sujet âgé(5). Morphologiquement, il s'agit d'une lymphoprolifération polymorphe, on peut observer des cellules de taille petite à moyenne, des cellules immunoblastiques, des cellules de type Hodgkin ou Reed-Sternberg, de phénotype B. Des lésions de nécrose et d'angio-invasion sont également associées. L'expression du CD20 est positive et peut être diminuée sur certaines cellules tumorales. Elles expriment CD30 et LMP, voire CD15. L'index de prolifération Ki67 peut être élevé et l'aspect histologique proche de celui d'un DLBCL. Le pronostic est excellent et certains cas régressent spontanément.

2.5. Le lymphome de Burkitt (3)

Une nouvelle entité provisoire a été reconnue, nommée le lymphome Burkitt-like avec aberration 11q, de morphologie proche d'un lymphome de Burkitt, sans réarrangement de MYC. La morphologie n'est pas toujours typique du lymphome de Burkitt, plus pléomorphe, avec focalement une architecture folliculaire possible et fréquemment une présentation ganglionnaire. Le caryotype est le plus souvent complexe et l'expression de MYC est plus faible.

Tableau II : Algorithme de Hans (3)



3. Les principales modifications de la classification des lymphomes T (tableau II)

Les modifications de la classification révisée 2016 portent sur les lymphomes T périphériques ganglionnaires et les lymphomes T angioimmunoblastique.

3.1. Le lymphome T EBV+ systémique de l'enfance :

Anciennement lymphoprolifération (2008), le terme de lymphome reflète l'agressivité de la pathologie, une présentation clinique bruyante avec souvent un syndrome d'activation macrophagique hémophagocytaire.

3.2. Syndrome lymphoprolifératif de type *hydroa vacciniforme-like*

Anciennement lymphome (2008), le terme de lymphoprolifération reflète le caractère plus indolent de cette pathologie, se rapprochant de l'infection chronique et active à EBV.

3.3. Lymphome T monomorphe épithélioïdote intestinal

Lymphome T intestinal monomorphe épithélioïdote (MEITL) où la prolifération cellulaire est composée de cellules de taille moyenne préférentiellement de phénotype TCRγδ, CD3+, CD8+, CD4-.

3.4. Syndrome lymphoprolifératif T indolent du tube digestif

Une nouvelle entité provisoire a été incluse dans la classification révisée 2016, de phénotype T CD8+ le plus souvent. L'infiltration par

de petits lymphocytes T CD8+ (TCRαβ) de phénotype cytotoxique non activé (TIA1+ et Granzyme B négatif), est limitée à la muqueuse et peut siéger sur l'ensemble du tube digestif. Il n'y a pas d'épithéliotropisme, l'index de prolifération est faible, et cette entité n'est pas associée à l'EBV.

3.5. Lymphome T CD8+ primitif cutané acral

Les lymphoproliférations T CD8+ indolente de l'oreille décrite en 2007 ont été incluses dans la

nouvelle classification révisée 2016 sous forme d'une nouvelle entité provisoire : le lymphome T CD8+ primitif cutané acral, évoluant du statut de lymphoprolifération à celui de lymphome. Il s'agit d'une lésion nodulaire de l'oreille ou de topographie acrale, localisée. Histologiquement, il s'agit d'une population dense et monomorphe de petits lymphocytes T CD8+, non épithéliotrope. Des récives locales sont décrites, sans progression, cette pathologie est de bon pronostic.

Tableau III : Classification OMS révisée 2016 des tumeurs du tissu lymphoïde T matures (2)

Néoplasies lymphoïdes T et NK matures
Leucémie prolymphocytaire T
Leucémie T à grands lymphocytes à grains (LGL)
Syndrome lymphoprolifératif chronique à cellules NK
Leucémie agressive à cellules NK
Lymphome T EBV+ systémique de l'enfance*
Syndrome lymphoprolifératif de type hydroa vacciniforme-like*
Leucémie/Lymphome T de l'adulte
Lymphome NK/T extraganglionnaire, de type nasal
Lymphome T associé à une entéropathie
Lymphome T monomorphe épithéliotrope intestinal*
Syndrome lymphoprolifératif T indolent du tube digestif*
Lymphome T hépatosplénique
Lymphome T sous cutané de type panniculite
Mycosis fungoides
Syndrome de Sézary
Syndromes lymphoprolifératifs T CD30+ primitifs cutanés
Papulose lymphomatoïde
Lymphome à grandes cellules anaplasiques primitif cutané
Lymphome T gamma delta primitif cutané
Lymphome T CD8+ cytotoxique agressif épidermotrope, primitif cutané
Lymphome T CD8+ acral primitif cutané*
Syndrome lymphoprolifératif T CD4+ à cellules petites et moyennes primitif cutané*
Lymphome T périphérique, NOS
Lymphome T angioimmunoblastique
Lymphome T folliculaire*
Lymphome T périphérique ganglionnaire de phénotype TFH*
Lymphome à grandes cellules anaplasiques, ALK+
Lymphome à grandes cellules anaplasiques, ALK-*
Lymphome à grandes cellules anaplasique, associé à un implant mammaire*

Les Entités provisoires sont en italique ;

Les modifications par rapport à la classification OMS 2008 comportent un astérisque (*)

3.6. Syndrome lymphoprolifératif T CD4+ à cellules petites et moyennes, primitif cutané

Le lymphome T CD4+ primitif cutané à cellules petites et moyennes est maintenant considéré comme une lymphoprolifération dans la nouvelle classification révisée 2016, cette entité est d'évolution clinique indolente et de potentiel malin incertain. Il s'agit d'une lésion cutanée nodulaire le plus souvent localisée à la tête et au cuir chevelu. Parfois de diagnostic difficile, l'immunophénotypage peut révéler la présence de nombreux lymphocytes B, masquant la lymphoprolifération T de phénotype TFH qui exprime CD3, CD4 et PD1. L'étude de clonalité lymphoïde B et T, révélera la présence d'un réarrangement clonal du TCR et, le plus souvent, l'absence de réarrangement clonal d'IGH. Cette pathologie est de bon pronostic pour les lésions mesurant moins de 3 cm. Les formes disséminées sont rares et nécessitent un traitement systémique.

3.7. Lymphomes T périphériques ganglionnaires avec phénotype TFH (T-cell Follicular Helper)

Nouveau groupe de lymphomes d'origine TFH incluant le lymphome T angioimmunoblastique, le lymphome T folliculaire, le lymphome T périphérique ganglionnaire de phénotype TFH. Les critères diagnostiques sont inchangés. Ces lymphomes TFH doivent exprimer au moins deux marqueurs TFH parmi CD10, BCL6, PD1, CXCL13, SAP et CCR5.

3.8. Lymphome à grandes cellules anaplasiques ALK négatif (ALCL-ALK-)

Entité provisoire de la classification OMS 2008, est aujourd'hui reconnu comme une entité à part entière de la classification révisée 2016. Il doit être reconnu et différencié des PTCL, NOS CD30+. Les ALCL-ALK- partagent les critères morphologiques diagnostiques des ALCL-ALK+. Le pronostic des patients atteints d'ALCL-ALK- est péjoratif.

3.5. Lymphome à grandes cellules anaplasiques, associé à une prothèse mammaire

Une nouvelle entité provisoire incluse dans la classification révisée 2016. Il s'agit d'un lymphome développé au contact de la capsule de l'implant mammaire, avec le plus souvent un envahissement local et plus rarement régional avec métastases ganglionnaires ou systémiques. Ils sont de bon pronostic.

4. Syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation (PTLD)

PTLD de type hyperplasie lymphoïde folliculaire floride (tableau IV)

Nouvelle entité de PTLD associée au virus EBV, se présentant sous la forme d'une hyperplasie lymphoïde folliculaire floride avec présence de nombreuses cellules EBV+ au sein des centres germinatifs (3).

Tableau IV : Classification OMS révisée 2016 : Syndromes lymphoprolifératifs post transplantation

Syndromes lymphoprolifératifs post transplantation (PTLD)
PTLD de type hyperplasie plasmocytaire
PTLD de type mononucléose infectieuse
PTLD de type hyperplasie lymphoïde folliculaire floride*
PTLD de type polymorphe
PTLD de type monomorphe (de type lymphoïde B, T ou NK)
PTLD de type lymphome de Hodgkin classique

Les modifications par rapport à la classification OMS 2008 comportent un astérisque (*). ■

RÉFÉRENCES

1. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA et al. WHO Classification of tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 4th ed. IARC Press, Lyon; 2008
2. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016; 127(20):2375-90.
3. Bruneau J, Canioni D, Molina T. Révision 2016/2017 de la classification OMS des hémopathies lymphoïdes matures : ce qui va changer dans la pratique quotidienne. *Revue Francophone des laboratoires* – Janvier 2017 – N° 488
4. Mareschal S, Ruminy P, Bagacean C et al. Accurate Classification of Germinal Center B Cell-Like/Activated B-Cell-Like Diffuse Large B-Cell Lymphoma Using a Simple and Rapid Reverse Transcriptase-Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification Assay: A CALYM Study. *J Mol Diagn*. 2015; 17(3), 273–283
5. Gratzinger D, Jaffe ES. Mucocutaneous ulcer: a mimic of EBV + diffuse large B cell lymphoma in the immunodeficiency setting. *Leuk Lymphoma*. 2016 57(8):1982-3.

SUMMARY

The 2016 revised WHO classification of mature lymphoid neoplasms: main changes made

While the main objective of the 2001 WHO classification was to define parameters allowing reproducible diagnosis by pathologists around the world, the 2008 WHO classification integrated clinical, morphological, phenotypic and genotypic data, it distinguished new entities but also temporary entities, she also highlighted the role of viruses in the occurrence of certain lymphomas (1).

The new 2016 classification made it possible to add, modify and ratify certain entities of the 2008 classification. It incorporated the latest discoveries in biology, genetics and molecular biology (2).

We report the main changes made to the previous classification, namely the entities that have been added but also the entities that have been provisional, have become definitive.

Profil phénotypique par cytométrie en flux des Syndromes Lymphoprolifératifs Chroniques en conversion leucémique hors Leucémie Lymphoïde Chronique

S. Oukid, S. Taoussi, F. Lamraoui, K.M. Benlabiod, N. Rekab,
Y. M. Bouchakor, M. T. Abad, M. Bradai.

Université BLIDA1, Laboratoire de recherche sur les Hémopathies Malignes et les Hémoglobinoopathies, Faculté de Médecine, B.P 270, Route de Soumaa, Blida, Algérie. Service Hématologie, EHS ELCC CAC Blida.

RESUME

Le diagnostic des Syndromes Lymphoprolifératifs Chroniques (SLPC) repose sur l'analyse cytologique, l'immunophénotypage par cytométrie en flux, une étude histopathologique et dans certains cas une analyse cytogénétique. Nous avons analysé 170 cas de SLPC dont 157 cas (92,4%) sont de type B et 11 cas (6,5%) de type T et dans 02 cas (1,1%), la CMF est non concluante.

La CMF a précisé le profil phénotypique des SLPC dans 82% des cas ; dans 18,8% des cas le classement en variétés n'a pas pu être établi ; le classement de certains de ces cas a été possible par l'approche cytogénétique.

La CMF a été contributive dans le diagnostic des SLPC, en précisant le caractère monoclonal lymphomateux des populations typées dans la majorité des cas. Ainsi l'immunophénotypage par cytométrie de flux doit être systématique devant tout syndrome lymphoprolifératif car il a un intérêt diagnostique.

Mots clés : Syndromes Lymphoprolifératifs Chroniques, Cytométrie en Flux, Immunophénotypage, Antigènes

INTRODUCTION

Le diagnostic des Syndromes Lymphoprolifératifs Chroniques (SLPC) en conversion leucémiques selon la classification actuelle de l'OMS repose sur plusieurs paramètres à savoir une analyse cytologique (aspects morphologiques des cellules), un immunophénotypage par cytométrie en flux (CMF) effectué sur sang périphérique, une analyse immuno-histopathologique sur prélèvement médullaire ou ganglionnaire et dans certains cas une analyse cytogénétique soit conventionnelle (caryotype) soit moléculaires par FISH.

OBJECTIF

L'objectif de notre étude est de déterminer le profil phénotypique des SLPC en conversion Leucémique par CMF hors Leucémies Lymphoïdes Chroniques (LLC).

MATERIELS ET METHODES

Pour chaque patient présentant un tableau évocateur d'un SLPC, nous avons effectué une analyse cytologique des frottis sanguin et médullaire de façon systématique. Un immunophénotypage par CMF est ensuite réalisé sur du sang périphérique prélevé sous EDTA, en utilisant un large panel d'anticorps monoclonaux ciblant les différentes populations lymphoïdes à savoir les lymphocytes B, les lymphocytes T et les lymphocytes NK. Devant une hyperleucocytose franche, une dilution est nécessaire. L'étape de marquage intracytoplasmique et de surface est alors entreprise en tenant compte du nombre de fluorochrome du cytomètre et selon le panel utilisé. L'acquisition et l'analyse ont été effectuées sur un cytomètre de 04 couleurs au début de l'étude et actuellement sur un cytomètre de 08 couleurs.

Le tableau n°I donne les différents marqueurs de lignée lymphoïdes utilisés.

Tableau I : Les marqueurs des lignées lymphoïdes

	Cellules B	Cellules T	Cellules NK
Molécules de différenciation	CD19, CD20 , CD24, CD22,	CD7, CD5, CD2 , CD4, CD8	CD16, CD56, CD57
Récepteur à l'Ag	Ig de surface (μ, δ, γ, λ, κ), CD79b	CD3, TCR αβ, TCRγδ.	
Marqueurs de sous populations	CD5, CD10, FMC-7		
Marqueurs d'activation	CD23, CD25	HLA DR, CD25	

L'analyse des résultats de l'immunophénotypage des SLPC débute par la détermination de l'expression du CD19 qui un marqueur lymphoïdes Pan B. Si le CD19 est exprimé, cela est en faveur d'un SLPC de phénotype B ; on analyse ensuite le CD5 : si le CD5 est exprimé, on analyse alors les autres marqueurs. Ainsi, si le CD23 est exprimé en faveur d'une LLC par contre si le CD23 est négatif c'est en faveur d'un Lymphome de Manteau. Dans le cas où les lymphocytes sont CD19+ et CD5-, on analyse le CD10 : s'il est exprimé, cela est en faveur d'un Lymphome Folliculaire, par contre si le CD10 est négatif, cela est en faveur des autres SLPC B. (Tableau II et III).

Tableau II : Analyse des Lymphocytes CD19+/CD5+.

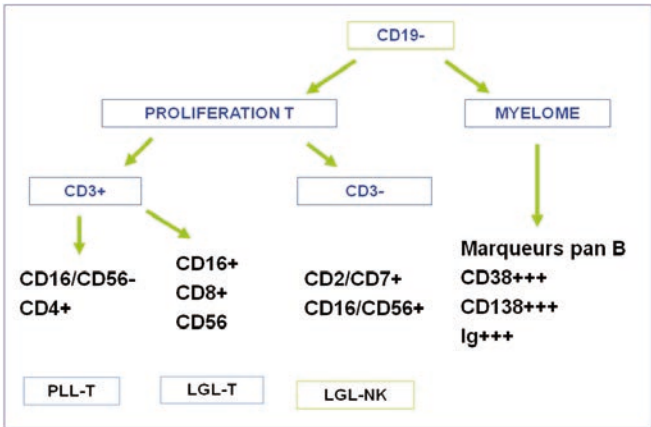
CD19+ / CD5+					
CD23+ fort		CD23- ou faible			
CD20 CD22 IgS	faible	CD20 CD22 IgS	moyen fort	CD20 CD22 IgS	fort
FMC7 - / + CD10 -		FMC7 + / - CD10 -		FMC7 +++ CD10 - / +	
Score 4 et 5		Score 3 et 4			
LLC		LLC mixte		MCL	

Tableau III : Analyse des Lymphocytes CD19+/CD5-.

CD19+ / CD 5 -			
CD10 +	CD10 -		
CD23 - / + CD20 fort CD22 faible IgS ++	CD20 fort CD22 fort IgS +++ FMC7 +++ CD103 - / +	CD20 +++ CD22 +++ IgS +++ FMC7 +++ CD103 ++ CD10 - / +	CD20 ++ CD22 ++ IgS +++ FMC7 ++ CD23 -
Score 0 / 1	Score 0	Score 0	Score 0
LF	SLVL	HCL	PLL

Par contre, si le CD19 est négatif cela peut être en faveur soit d'un myélome (Leucémie à Plasmocyte) d'où intérêt d'analyser le CD38 et CD138 ou soit en faveur d'un SLPC de phénotype T, dans ce cas, intérêt d'analyser le CD3 qui est positif dans les SLPC T et négatif en cas de SLPC NK. (Tableau IV).

Tableau IV : Analyse des lymphocytes CD19-.



Le score de Matutes

Il attribue un score à chacun des 5 marqueurs suivants (Tableau V)

Tableau V : Le score de Matutes

Antigène (Ag)	1 point pour chaque Ag Si	0 point pour chaque Ag Si
CD5	Positif (+)	Négatif (-)
CD23	Positif (+)	Négatif (-)
CD22 (ou CD79b)	Expression faible	Expression non faible
FMC7	Négatif (-)	Positif (+)
Ig de surface	Expression faible	Expression non faible

Ainsi une LLC doit avoir un score total ¹ 4.

Des scores < 3 excluent une LLC (correspondent à des LNH-B leucémisés)

la LLC et le LNH du manteau sont tous deux CD5 +, les autres LNH disséminés sont CD5 -.

- Le pourcentage de la positivité.
- L'intensité de la positivité des marqueurs monoclonaux. (Figure 1).

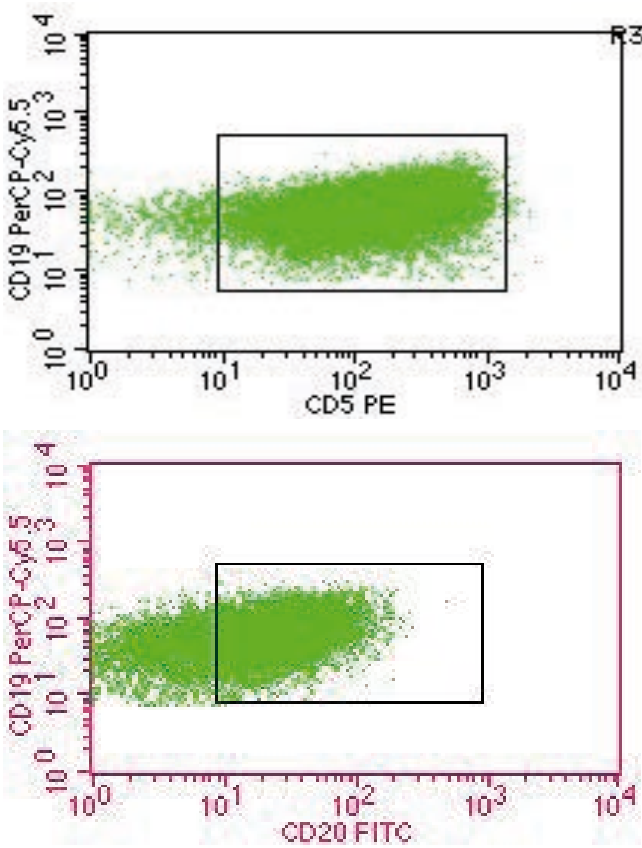


Figure 1 : Expression forte du CD5 et expression faible du CD20.

- Marqueurs le plus souvent exprimés dans les différents syndromes lymphoprolifératifs B et T : (Tableau VI).

CD	LLC	LNH du manteau	LNH folliculaire	LNH de la zone marginale MZL	L à pro-lymphocytes LPL	L à tricholeucocytes HCL	SLVL ly. villosus splénique
CD19	+	+	+	+	+	+	+
CD5	+(- 5%)	+	-	-	+/-	-	-/+
CD22	-/+	+	+	+	+	++	++
CD23	+	-	-/+	-	-	-	-/+
Ig	+/- faible	++ forte	++ forte	++ forte	++ forte	+++ forte	+++ forte
FMC7	-/+	++	++	++	++	+++	+++
CD79b	-	++	++	++	++	+++	+++
CD10	-	-	+ (- 40%)	-	-/+	-	-
CD25	-/+	-	-/+	-/+	-	+ (- variant)	-
CD11c	-/+	-	-/+	-/+	-	+	+
CD103	-	-	-	-	-	+	-

CD	LNHT AB	LNHT GD	L +/- PL T	LLTA ou HTLV1	Sézary	LGL T	LGL à NK
CD7	+	+	+/-	-	-(80%)	+/-	-/+
CD2	+	+	+	+	+	+	+
CD5	+	+	+	+	+	+/-	-
CD3	+	+	+	+	+	+	-
TCRAB	+	-	+/-	+	+	+(80%)	-
TCRGD	-	+	-/+	-	-	-/+	-
CD4	+/-	-	+/-	+	+	-	-
CD8	+/-	-	-/+	-	-	+	+/-
CD45	CD45 RO + OU RA+			RO+	RO+	+	+
CD25	-	-	-/+	+	-	-	-
HLA Dr	-	-	-	+	-	-	+/-
CD56	-	+/-	-	-	-	-/+	+
CD16	-	+/-	-	-	-	+/-	+
CD57	-	-	-	-	+/-	+	+/-

Tableau VI : Expression des différents marqueurs selon les SLPC.

RESULTATS

De Janvier 2007 à Février 2015, nous avons analysé 494 cas de SLPC.

L'immunophénotypage par cytométrie en flux à conclu à :

- une Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC) dans 312 cas soit 63% des cas
- une Leucémie à Tricholeucocytes (CL) dans 12 cas soit 2,5% des cas
- un Syndrome Lymphoprolifératif Chronique en conversion leucémique (SLPC) dans 170 cas soit 34,5% des cas.

Nous présentons les caractéristiques des ces 170 cas de SLPC hors LLC et HCL.

• Répartition selon le sexe :

Il s'agit de 113 Hommes et 57 femmes avec un Sex ratio (H/F) = 1,98.

• Age moyen des patients = 66,3 ans (29 - 88).

- Analyse Clinique : Absence de syndrome tumoral dans 12,7% ; présence d'une splénomégalie isolée dans 24,7% et présence d'adénopathies dans 62,6% associées dans 56% des cas à une splénomégalie.

• Hémogramme :

Le taux moyen de globules blancs (GB) est de $62\,732 /^2l$ (1 900 - 579 710) avec une hyperlymphocytose sanguine $> 4\,000 /^2l$ dans 147 cas soit 86,5% des cas.

• Analyse cytologique :

L'analyse morphologique des frottis sanguins a évoqué un aspect en faveur d'une LLC dans 71 cas soit 41,7% des cas et un autre SLPC dans 99 cas soit 58,3% des cas.

• Résultats de la CMF :

L'immunophénotypage à conclu à un SLPC en conversion leucémique dans 168 cas soit 98,9% des cas et il est non concluant dans 2 cas soit 1,1% des cas. L'immunophénotypage par CMF a conclu à un SLPC de phénotype B dans 157 cas soit 92,4% des cas, et un SLPC de phénotype T dans 11 cas soit 6,5% des cas.

• Répartition des SLPC selon les données de la CMF :

Les données de l'immunophénotypage par CMF des 168 cas sont scindées en 02 groupes selon le phénotype B ou T.

• 1^{er} groupe : SLPC B : 157 cas (93,5%) : (Figure 2).

L'immunophénotypage par CMF a conclu à un :

- LNH de Manteau dans 52 cas soit 33,2% des cas.
- LNH de la Zone marginale dans 30 cas soit 19% des cas.
- LNH Villeux dans 28 cas soit 17,8% des cas.
- LNH Folliculaire dans 14 cas soit 8,9% des cas.
- Leucémie Prolymphocytaire (LPL) dans 06 cas soit 3,8% des cas.
- SLPC de phénotype B sans aucune autre caractéristique dans 25 cas soit 16% des cas.
- LNH Lymphocytaire B dans 02 cas (1,3%) sachant que ces cas étaient initialement une atteinte ganglionnaire isolée sans hyperlymphocytose sanguine. (Figure 2).

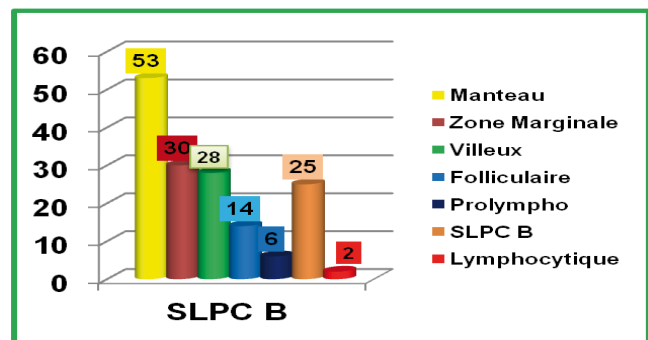


Figure n°02 : Répartitions des SLPC B

• Données de la CMF dans les SLPC B :

- > L'application du score de Matutes a retrouvé un score à 0 à 2 dans 80,9%.

La répartition des scores est comme suite :

- 0/5 : 13 cas (8,3%).
- 1/5 : 53 cas (33,7%).
- 2/5 : 61 cas (38,9%).
- 3/5 : 28 cas (17,9%).
- 5/5 : 02 cas (1,2%) (LNH Lymphocytaire Leucémique).

➤ Expression de la monoclonalité :

Dans notre étude, la monoclonalité a été notée dans plus de 88% des cas et absente dans 11,2%. La monoclonalité dominante dans notre étude est l'expression de la chaîne Kappa dans 63,4% des cas puis Lambda dans 36,6% des cas.

➤ Expression de la monoclonalité selon le type du SLPC B (Tableau VII)

Dans notre étude on note une forte expression des chaînes légères dans les Lymphomes Prolymphocytaires et Villeux avec prédominance d'expression de la chaîne Kappa.

Tableau VII : Expression de la monoclonalité selon le type du SLPC

	Kappa	Lambda	Non Exprimé
Manteau	29	18	05
Zone Marginale	15	10	05
Villeux	16	12	
Folliculaire	08	05	01
Pro-lymphocytaire	05	01	
SLPC B	14	05	06
Lymphocytaire B	01		01
Total	88	51	18

• Illustration par des images d'immunophénotypage par CMF des SLPC B : (Figure 3).

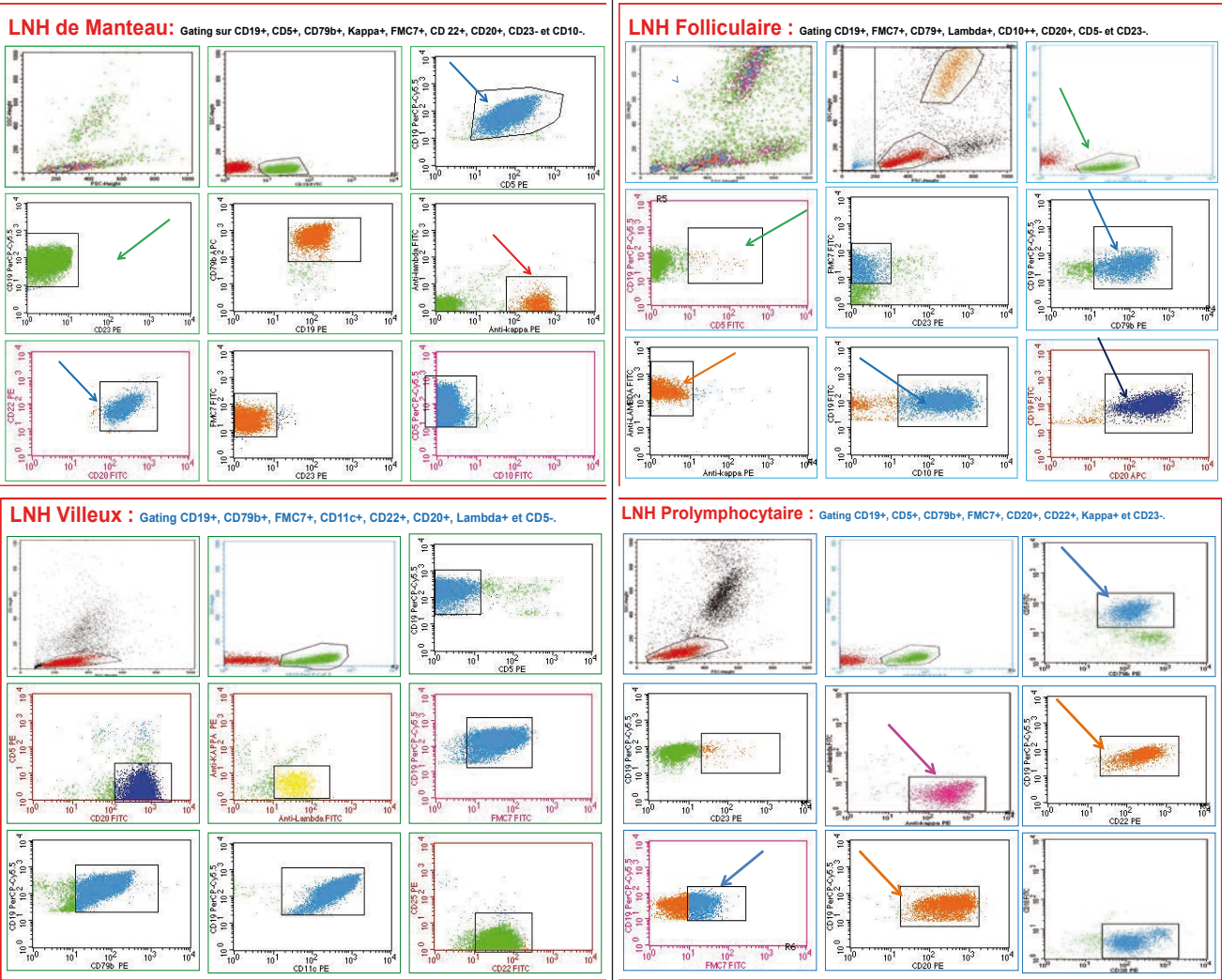


Figure 3 : Illustration des cas de SLPC B

• 2^{ème} groupe : SLPC T: 11 cas (6,5%) :

Dans notre étude nous avons noté 6.5% des cas de SLPC de phénotype T, dans la répartition selon les données immunophénotypique sont comme suit :

- > SLPC T (sans précision du type) : 05 cas.
- > LPL T : 02 cas.
- > Syndrome de Sézary : 02 cas.
- > LNH T αβ : 01 cas.
- > LNH T γδ : 01 cas.

• Illustration par un cas de SLPC T par immunophénotypage par CMF : (Figure n°4).

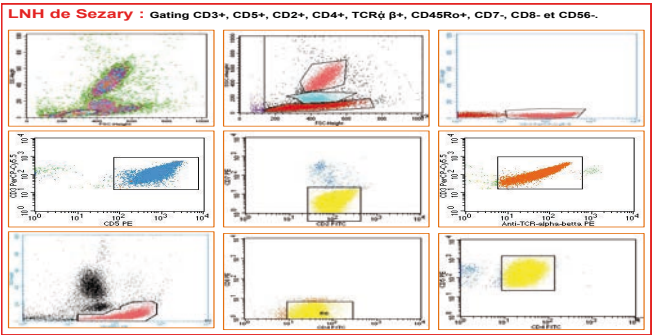


Figure 4 : Illustration des cas de SLPC T

COMMENTAIRES

Nous avons comparé nos résultats à trois études Algériennes qui ont noté la prédominance des SLPC B à 96%, 87% et à 93,2% dans les différentes études. (1-2-3).(TableauVIII).

Tableau VIII : Résultats d’immunophénotypage des SLPC selon les études Algérienne.

	CAC Blida (168)	CPMC (87) (2)	HCA (31) (1)	Oran (44) (3)
SLPC B	157 (93,5%)	84 (96%)	27 (87%)	41 (93,2%)
SLPC T	11 (6,5%)	03 (4%)	04 (13%)	03 (6,8%)

Dans notre étude, on note une prédominance de l’expression de la chaîne légère Kappa qui rejoint l’étude de l’HCA par contre l’étude de CPMC a noté la prédominance de la chaîne Lambda. (1-2). (Tableau IX).

Tableau IX : Expression de la monoclonalité

	CAC Blida (157)	CPMC (64) (2)	HCA (20) (1)
Kappa	56,3%	29,6%	45%
Lambda	32,5%	70,4%	40%
Non exprimé	11,2%		15%

Dans notre étude, cette prédominance d’expression des chaînes légères kappa est dominante quelque soit le type du SLPC ce qui rejoint l’étude de George Z. Rassidakis qui retrouve une prédominance d’expression de la chaîne Kappa dans les lymphomes Folliculaires (Kappa : 58 cas et Lambda : 29 cas) et les LNH de Manteau (Kappa : 10 cas et Lambda : 05 cas). (4). La prédominance des LNH du Manteau dans notre étude rejoint les deux études de l’HCA et Oran. (1-2-3). (Tableau X).

Tableau X : Répartition des LNH Manteau

	CAC Blida (157)	CPMC (84) (2)	HCA (27) (1)	Oran (41) (3)
LNH Manteau	52 (33%)	48 (57%)	07 (26%)	13 (32%)

La CMF a précisé le profil phénotypique des SLPC dans 82% des cas ; sachant que dans 18,8% des cas le classement en variétés n’a pas pu être établi ; par contre le classement de certains de ces cas a été possible par l’approche cytogénétique. Pour les LNH du Manteau, la fréquence que nous avons présentée doit être modulée vue que nous n’avions pas analysé le CCND1; nous savons que le LNH du Manteau ne peut être affirmé que par la surexpression de la CCND1 ou par la présence de la translocation t (11 ; 14).

CONCLUSION

La cytométrie en flux a été contributive dans le diagnostic des Syndromes Lymphoprolifératifs Chronique en conversion leucémique, en précisant le caractère monoclonal lymphomateux des populations typées dans la majorité des cas. L’immunophénotypage par cytométrie de flux doit être systématique devant tout syndrome lymphoprolifératif car il a un grand intérêt diagnostique. Dans les LNH de Manteau, la

recherche de la surexpression de la CCND1 doit être systématique soit par cytométrie en flux et/ou par immunohistochimie avec la recherche de la translocation t (11 ; 14). ■

RÉFÉRENCES

- 1- Belakehal. S. E. Apport de la cytométrie en flux dans le diagnostic et la classification des lymphomes. Thèse pour l'obtention de Doctorat en Sciences Médicales. 2008. Alger.
- 2- F. Harieche, N. Abdennebi, F. Boukhemia, A. Talbi, S. Akhrouf, S. Abderrahmani, F. Boumansour, H. Bouarab, S. Bellataf, L. Kouici, L. Chikhi, F. Zerhouni, R.M. Hamladji. Caractérisation des syndromes lymphoprolifératifs chroniques en conversion leucémique par cytométrie en flux. Deuxième Journée d'hématologie de l'EHS ELCC, Blida 14 Février 2010.
- 3- Saidi.D¹ ; Brahimi. M² ; Kehal.S¹ ; Bekadja.MA² ; Touhami.H¹. Apport de la Cytométrie en flux aux Syndromes Lymphoprolifératifs Chroniques. ¹ Service Hématologie CHU Oran. ² Service Hématologie EHU Oran. 2èmes journées scientifiques de Blida. 14 Février 2010.
- 4- George Z. Rassidakis M.D et al. Diagnosis and subclassification of follicle center and mantle cell lymphomas on fineneedle aspirates A cytologic and immunocytochemical approach based on the Revised European–American Lymphoma (REAL) Classification. Laboratory of Histology and Embryology, University of Athens Medical School, Athens, Greece. Cancer Cytopathology : 10 November 2000.

SUMMARY

Phenotypic profile by flow cytometry of Chronic Lymphoproliferative Syndromes in leukemic conversion excluding Chronic Lymphoid Leukemia.

The diagnosis of Chronic Lymphoproliferative Syndromes (CLPS) is based on cytological analysis, immunophenotyping by flow cytometry, histopathological study and in some cases cytogenetic analysis. We analyzed 170 cases of SLPC of which 157 cases (92.4%) are of type B and 11 cases (6.5%) of type T and in 02 cases (1.1%), the CMF is inconclusive.

FCM specified the phenotypic profile of SLPCs in 82% of cases; in 18.8% of cases the classification into varieties could not be established; the classification of some of these cases has been possible by the cytogenetic approach.

FCM has been contributive in the diagnosis of SLPCs, specifying the monoclonal lymphomatous character of the typed populations in the majority of cases. Thus immunophenotyping by flow cytometry must be systematic in front of any lymphoproliferative syndrome because it has a diagnostic interest.

Résultats préliminaires de l'évaluation du Posaconazole en prophylaxie primaire des IFI au cours des leucémies aigües myéloïdes

Bekadja MA¹, Benzineb B², Mesli N², Yafour N¹, Krim A¹, Ouldjeriouat H¹, Mazari MA¹, Serradj F¹, Talhi S¹, Amani K¹, Osmani S¹, Brahimi M¹, Arabi A¹, Bouhass RA¹.

1 : Service d'Hématologie et de Thérapie Cellulaire, EHU 1er Novembre, Oran.

2 : Service d'Hématologie, CHU Tlemcen.

RESUME

Les infections fongiques invasives (IFI) sont une complication grave survenant au cours des phases d'aplasie post chimiothérapie des leucémies aigües myéloïdes (LAM). Leur diagnostic est difficile, souvent tardif, ce qui compromet les résultats thérapeutiques. La prophylaxie primaire est amplement justifiée et le Posaconazole est recommandé dans les phases d'induction et de consolidation des LAM. Une étude prospective (Avril 2017-Septembre 2017) portant sur l'utilisation du Posaconazole à la dose de 200 mgx3/jour en prophylaxie primaire des LAM, en multicentrique (EHU Oran-CHU Tlemcen), chez 39 patients, a montré une diminution significative de l'incidence des IFI, de 15% par rapport à 36% dans une cohorte rétrospective ($p=0,05$). Par ailleurs, en termes d'incidences cumulées des IFI, elle est de 32% sous Posaconazole et de 35% sous Fluconazole avec une différence significative, $p=0,046$. Enfin, en terme d'évolution, parmi les 23 épisodes d'aspergilloses invasives, 7 (30%) ont conduit au décès, tous sous prophylaxie primaire par Fluconazole et aucun décès n'a été dans le groupe ayant reçu une prophylaxie primaire par Posaconazole.

Nos résultats sont préliminaires, et nécessitent un plus grand nombre de patients et plus de recul (6 mois) mais nous incitent à utiliser le Posaconazole dans la prophylaxie primaire des IFI au cours des LAM.

INTRODUCTION

Les leucémies aigües myéloïdes (LAM) sont des hémopathies malignes de mauvais pronostic. Leur incidence en Europe et aux USA, varie de 3 à 5 pour 100.000 habitants par an (1-2), alors qu'elle est plus faible en Algérie, avec une incidence de 0,91 pour 100.000 habitants par an (3). La LAM est fréquente chez l'adulte, avec un âge moyen au diagnostic de 44 ans et sans prédominance de sexe (3). Elle occupe la troisième place parmi les hémopathies malignes (4) avec un nombre de nouveau cas annuel de l'ordre de 500 à 600 patients (4).

Les conséquences précoces de la chimiothérapie d'induction, comme l'anémie, la thrombopénie, et la leuco neutropénie, sont responsables d'un état d'immuno suppression extrême avec l'émergence d'infections dites « opportunistes », les infections fongiques invasives (IFI) telles les candidoses ou les aspergilloses invasives (AI).

L'AI, de loin la plus grave des infections fongiques invasives, est secondaire à un champignon filamenteux (*A. fumigatus* (80%)), qui est une moisissure de l'environnement, appelée conidies de 2 μ m de diamètre, en suspension dans l'air et dans l'eau. Dans les conditions physiologiques normales, cette levure est inoffensive lors de son inhalation permanente, et est évacuée par le tapis muco-ciliaire. Elle ne devient pathogène qu'en cas d'immuno suppression, lors de sa germination, entraînant un envahissement vasculaire et une nécrose tissulaire.

L'AI est une affection fongique grave de mauvais pronostic, qui s'accompagne d'un taux très élevé de mortalité et nécessite une prise en charge dans des unités de soins intensifs. Son diagnostic de

certitude est difficile à établir et ne l'est souvent qu'en post mortem, ce qui justifie la mise en place d'un traitement antifongique précoce, sur uniquement des éléments de présomption clinique (fièvre), biologiques (neutropénie sévère ; sérologie galactomannane) et/ou radiologiques (lésions pulmonaires et signe du halot). Malgré cette attitude, les décès secondaires aux IFI demeurent élevés. Aussi les recommandations internationales actuelles, envisagent la mise en place de la prévention primaire des IFI et en particulier de l'AI par des antifongiques au cours de la chimiothérapie d'induction au cours des LAM (5). Cette prévention primaire est assurée au cours des LAM, par un agent azolé, le Posaconazole (5).

L'objectif de cette étude est l'évaluation de la prévention primaire par le Posaconazole, en termes d'incidence des IFI au cours des inductions des LAM, dans la vraie vie en dehors des essais thérapeutiques contrôlés.

PATIENTS ET METHODES

Ce travail porte sur l'évaluation comparative de l'incidence des IFI au cours des chimiothérapies d'induction des LAM sur deux périodes, l'une rétrospective et la seconde prospective, et en multicentrique (service d'Hématologie du CHU de Tlemcen et le service d'Hématologie et de Thérapie Cellulaire de l'EHU 1^{er} Novembre d'Oran).

Étude rétrospective (2014-2016) :

Durant cette période, ont été inclus tous les patients âgés de plus de 15 ans et présentant une LAM de novo. Tous les patients ont reçu en prophylaxie primaire, du Fluconazole à raison de 400 mg/jour, à partir de J1 de la phase d'induction et ce, jusqu'à la sortie de la phase d'aplasie, caractérisée par un taux de PNN¹1500/²l.

Étude prospective (Avril- Septembre 2017) :

Le Posaconazole a été introduit en Algérie à partir du mois de mars 2017. Cette étude prospective a porté sur l'utilisation du Posaconazole en prophylaxie primaire au cours des inductions de LAM chez des patients âgés de plus de 15 ans. Le Posaconazole a été administré dès le J1 de la phase d'induction, à la dose de 200 mgx3/ jour, en suspension orale, au milieu des repas,

afin d'en améliorer l'absorption. La prophylaxie primaire a été maintenue jusqu'à la sortie d'aplasie caractérisée par un taux de PPN¹1500/²l. Une surveillance de la tolérance et de la toxicité du Posaconazole a été assurée par un examen clinique quotidien et des examens biologiques, en particulier un bilan rénal et hépatique bihebdomadaire.

L'évaluation et la comparaison des incidences ont été réalisées à l'aide des tests statistiques du Khi2 à l'aide du logiciel SPSS version 19.

RESULTATS

Étude rétrospective:

Durant la période 2014-2016, 187 patients atteints de LAM ont été colligés au niveau des deux centres, et ont reçu une prophylaxie par Fluconazole. Sous prophylaxie primaire, 57 patients ont présenté une IFI, soit 31% (Figure 1) et 69% n'ont pas présenté d'IFI (figure 2).

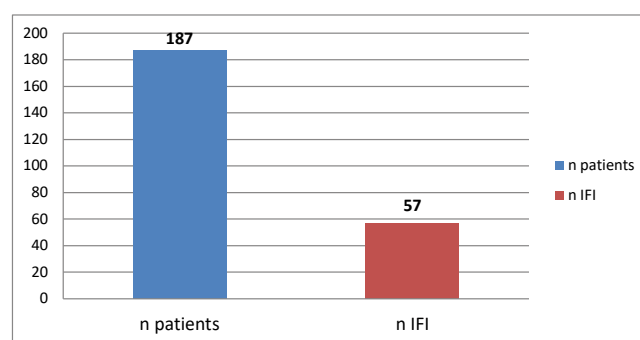


Figure 1 : nombre d'IFI chez les patients sous prophylaxie primaire par Fluconazole.

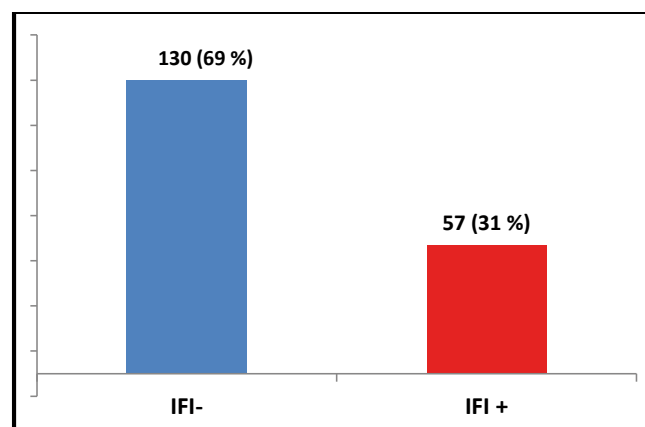


Figure 2 : Incidence des IFI au cours de la prophylaxie primaire par Fluconazole au cours des LAM.

Parmi les IFI, 77% sont des aspergilloses invasives (AI) et 23% des candidoses invasives (Figure 3).

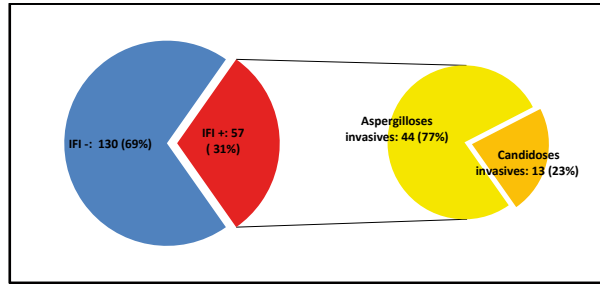


Figure 3 : Type des IFI (AI/ candidoses invasives)

Selon les éléments de diagnostic de présomption, 88% sont des IFI probables et seulement 12% des IFI possibles (Figure 4).

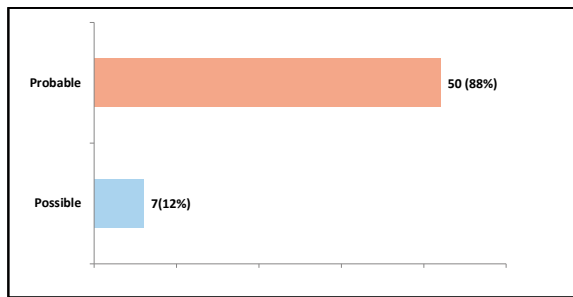


Figure 4 : Diagnostic de présomption des IFI.

Étude prospective:

Le Posaconazole a été introduit en Algérie au mois de Mars 2017. L'étude prospective a débuté au mois d'avril 2017 et la date de point de ces premiers résultats préliminaires a été arrêtée au 30 Septembre 2017. Durant cette période, 39 patients atteints de LAM ont été inclus dans l'étude et ont reçu une prophylaxie primaire par Posaconazole pendant la phase d'induction. 6 patients ont présenté une IFI (15%), principalement des AI (100%) (Figure 5).

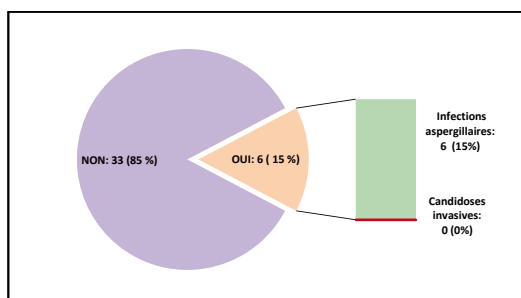


Figure 5 : Incidence des IFI au cours de la prophylaxie par Posaconazole.

Parmi les AI, 67% étaient probables et 33% possibles (Figure 6).

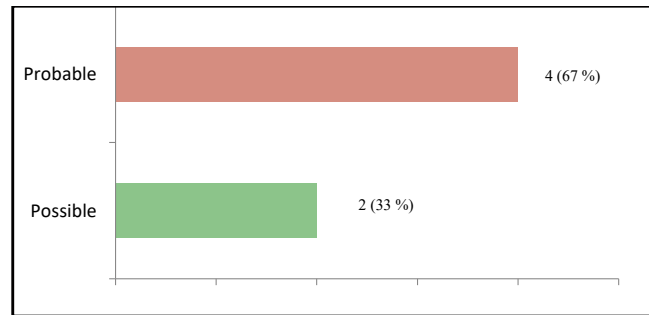


Figure 6 : Diagnostic de présomption des AI au cours de la prophylaxie primaire par Posaconazole.

Afin de pouvoir comparer les incidences des IFI au cours des deux périodes, nous avons procédé à un appariement des deux séries de patients selon l'âge et le sexe. Les résultats obtenus en termes de comparaison des incidences montre un taux d'IFI faible (15%) versus 36% en faveur de la prophylaxie primaire par le Posaconazole avec une différence statistiquement significative ($p=0,05$) (Figure 7).

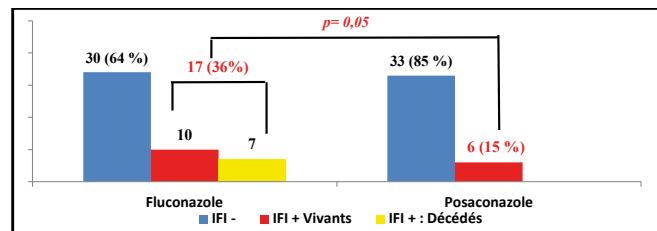
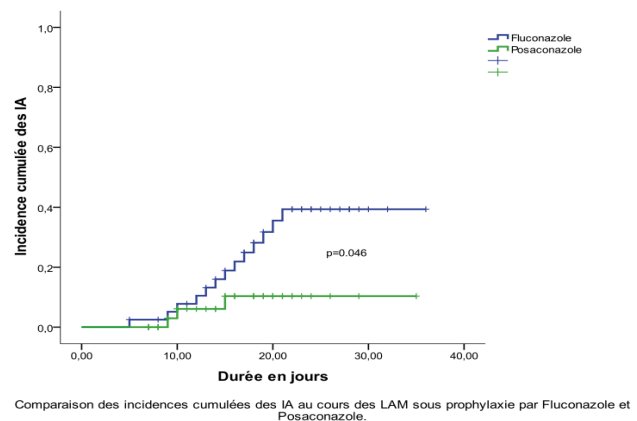


Figure 7 : Comparaison des incidences des IFI au cours de la prophylaxie primaire par Fluconazole et Posaconazole.

En termes d'incidences cumulées des IFI, la figure ci-dessous, montre une incidence cumulée de 32% sous Posaconazole et de 35% sous Fluconazole avec une différence significative, $p=0,046$ (Figure 8).



En terme d'évolution, le tableau ci-dessous, montre le devenir des AI. On remarque ainsi que parmi les 23 épisodes d'AI, 7 (30%) ont conduit au décès, tous sous prophylaxie primaire par

Fluconazole et aucun décès n'a été enregistré parmi les AI, dans le groupe ayant reçu une prophylaxie primaire par Posaconazole. (Tableau 1).

Infections Aspergillaires		Fluconazole	Posaconazole
Non		30	33
Oui	Vivants	10	6
	Décédés	7	0
Total		47	39

Tableau 1 : Évolution des AI au cours des prophylaxies primaires par Fluconazole et Posaconazole.

DISCUSSION

Les IFI sont une complication grave survenant au cours des phases d'aplasie post chimiothérapie des LAM. Leur diagnostic est difficile, souvent tardif, ce qui compromet les résultats thérapeutiques. La prophylaxie primaire est amplement justifiée et le Posaconazole est recommandé dans les phases d'induction et de consolidation des LAM. Le Posaconazole est un antifongique de la classe des azolés, dont le mécanisme d'action porte sur la destruction de la membrane au niveau de l'ergostérol (stérol prédominant de la membrane fongique). De nombreux essais thérapeutiques portant sur la prophylaxie primaire des IFI au cours des LAM, ont mis en évidence l'intérêt de la prophylaxie primaire par la réduction drastique des IFI et ont conduit à l'élaboration de recommandations internationales (6).

Cette étude a montré en premier lieu, une prédominance de l'AI par rapport aux candidoses invasives au cours des LAM, ce qui est rapporté par la littérature (7). Par ailleurs, l'incidence des IFI est diminuée de façon significative par le Posaconazole (p=0,05), ainsi que l'incidence cumulée des IFI (p=0,046). Ces résultats sont également rapportés dans les séries de Michallet M et al (8-9). De même, cette étude a montré une diminution significative de la sévérité des IFI en termes de décès, vu qu'aucun décès par AI n'a été enregistré parmi les patients sous prophylaxie primaire par Posaconazole. Enfin, nos résultats sont préliminaires, et nécessitent un plus grand nombre de patients et plus de recul (6 mois).

REMERCIEMENTS

Je remercie, les équipes soignantes des services d'Hématologie du CHU de Tlemcen et de l'EHU 1^{er} Novembre d'Oran, ainsi que les patients et leurs familles.

RÉFÉRENCES

1. Yamamoto JF et al. Patterns of leukemia incidence in the united states by subtype and demographic characteristics, 1997-2002 ; Cancer Causes Control, 2008 ; 19 : 379-390.
2. Visser O. Incidence, survival and prevalence of myeloid malignancies in Europe. Eur. J. Cancer, 2012 ; 48, 17 : 3257-66.
3. Bekadja MA et al. Approche épidémiologique des leucémies aiguës myéloïdes en Algérie. Revue Algérienne d'Hématologie, 2012, 6/7 : 6-10.
4. Hamladji RM. État des lieux de la prise en charge des hémopathies malignes en Algérie. Revue Algérienne d'Hématologie, 2013, 8/9.
5. Tissot F, Agrawal S, Pagano L et al. ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. Haematologica. 2016 Dec 23.
6. M. Michallet , T. Bénet, M. Sobh, S. Kraghel, M. El Hamri, G. Cannas et al. Invasive aspergillosis: an important risk factor on the short- and long-term survival of acute myeloid leukemia (AML)

patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2012) 31:991–997.

7. Bitar D et al. Bull Epidemiol Hebdo 2013
8. Mauricette Michallet , Mohamad Sobh, St E Phane Morisset, Samira Kraghel, Franck-Emanuel Nicolini, Xavier Thomas, et al. Risk factors for invasive aspergillosis in acute myeloid leukemia patients prophylactically treated with posaconazole. Medical Mycology October 2011, 49, 681–687.
9. Oliver A. Cornely, M.D., Johan Maertens, M.D., Drew J. Winston, M.D., John Perfect, M.D., Andrew J. Ullmann, M.D., Thomas J. Posaconazole vs. Fluconazole or Itraconazole Prophylaxis in Patients with Neutropenia. N Eng J Med. 2007; 356 : 348-35

SUMMARY

Invasive fungal infections (IFI) are a serious complication occurring during post-chemotherapy aplasia of acute myeloid leukemia (AML). Their diagnosis is difficult, often late, which compromises the therapeutic results. Primary prophylaxis is amply justified and Posaconazole is recommended in the induction and consolidation phases of AML. A prospective study (April 2017-September 2017) on the use of Posaconazole at the dose of 200 mgx3 / day in primary prophylaxis of AML, in multicenter (EHU Oran-CHU Tlemcen), in 39 patients, showed a significant decrease the incidence of IFIs was 15% versus 36% in a retrospective cohort ($p = 0.05$). Moreover, in terms of the cumulative impact of the IFIs, it is 32% under Posaconazole and 35% under Fluconazole with a significant difference, $p = 0.046$. Finally, in terms of evolution, among the 23 episodes of invasive aspergillosis, 7 (30%) led to death, all under primary prophylaxis with Fluconazole and no deaths were in the group that received primary prophylaxis with Posaconazole.

Our results are preliminary, and require more patients and more follow-up (6 months) but encourage us to use Posaconazole in the primary prophylaxis of IFIs during AML.

NOTES

