



Thrombopénies immunologiques liées à des anticorps anti-plaquettes méthylprednisolone-dépendants

Marie Dubert

► To cite this version:

Marie Dubert. Thrombopénies immunologiques liées à des anticorps anti-plaquettes méthylprednisolone-dépendants. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-02279171

HAL Id: dumas-02279171

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02279171>

Submitted on 5 Sep 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2-L 335.10

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2018

N° 168

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE
DOCTEUR EN MÉDECINE

Thrombopénies immunologiques liées à des anticorps
anti-plaquettes méthylprednisolone-dépendants

Présentée et soutenue publiquement
le 25 septembre 2018

Par

Marie DUBERT

Née le 28 janvier 1987 à Paris (75)

Dirigée par M. Le Professeur Philippe Bierling, PU-PH

Jury :

M. Le Professeur Marc Michel, PU-PH Président

Mme Le Docteur Laure Croisille, PH

Mme Le Professeur Claire Fieschi, PH

Mme Le Professeur Brigitte Ranque, PH

REMERCIEMENTS

A Philippe Bierling qui m'a confié ce travail et a accepté, sans me connaître, de diriger cette thèse. Je le remercie pour sa confiance et sa disponibilité.

A Marc Michel pour avoir accepté de présider cette thèse. Je le remercie également pour l'enseignement que j'ai reçu dans son service et celui de **Bertrand Godeau**.

A Laure Croisille et Emilie Letoriellec, qui ont réalisé l'ensemble des tests décrits dans ce travail. Sans elles il n'aurait pas pu aboutir. Je les remercie de leur expertise et de leur patience.

A Claire Fieschi, qui a généreusement accepté de juger ce travail, aussi spontanément qu'elle m'a initiée à l'immunologie ou qu'elle a approvisionné la garde-robe de mes enfants.

A Brigitte Ranque, dont le sens clinique, la rigueur et l'humanité sont un exemple qui guide ma pratique depuis mes débuts. Je la remercie pour sa confiance, ses conseils et tout ce qu'elle m'a appris et permis.

A tous mes chefs, patrons, collègues et amis qui m'ont inspiré et transmis tout en m'accompagnant de leur bienveillance.

A Catherine et Jean-François, attentifs et protecteurs avec leurs petits-enfants comme ils l'ont toujours été avec moi.

A Fadhila, Thaïs, Gaïa et toutes les autres, qui même de passage, nous ont offerts leur tendresse, expertes en petites voitures comme en chansons douces, présences essentielles et rassurantes.

A mes grands-pères qui auraient été heureux d'être là et à **mes grands-mères** qui sont d'un soutien inconditionnel.

A mes parents et à mes chers frères et sœurs, que j'aime autant que je les admire.

A Albert et à Suzanne, petits amours espiègles.

A Damien.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	9
1. Définition des thrombopénies immunologiques liées à des anticorps médicament-dépendants	9
2. Physiopathologie des thrombopénies immunologiques liées à des anticorps médicament-dépendants	9
a. Le médicament se comporte comme un haptène	10
b. L'anticorps anti-plaquettes ne se fixe qu'en présence du médicament	10
c. Un nouvel épitope sur la Gp plaquettaire apparaît, suite à la fixation du médicament	11
d. Un anticorps spécifique d'un médicament apparaît.....	11
e. Des auto-anticorps sont induits.....	12
f. Des complexes immuns se fixent sur la membrane plaquettaire	12
Un nouvel épitope sur la Gp plaquettaire apparaît, suite à la fixation du médicament	13
3. Epidémiologie.....	14
4. Présentation clinique des thrombopénies immunologiques liées à des anticorps médicament-dépendants	19
5. Cas particulier des thrombopénies à l'oxaliplatine et du « syndrome dys-immunitaire » secondaire	20
MATERIELS ET METHODES	23
1. Identification des cas	23
2. Recueil des données	23
3. Recherche d'anticorps anti-plaquettes	24
a. Recherche d'anticorps par technique d'immunofluorescence (IF)	24
b. Recherche d'anticorps anti-plaquettes sériques par la technique du MAIPA.....	25
4. Test d'adsorption-élution.....	31
a. Objectifs du test d'adsorption-élution	31
b. Technique de l'adsorption-élution.....	31
c. Interprétation des résultats du test d'adsorption-élution	34
5. Analyses effectivement réalisées pour les 6 patients étudiés.....	35
RESULTATS	37
1. Description clinique et biologique des 6 patients avec résultats des recherches d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendants	37
2. Résultats des méthodes d'adsorption-élution.....	58
DISCUSSION	60
CONCLUSION.....	69

BIBLIOGRAPHIE	70
ANNEXES.....	73

LISTE DES FIGURES

Figure 1. TIMD par mécanisme haptène-dépendant ¹	10
Figure 2. TIMD par fixation de l'anticorps en présence du médicament. ²	11
Figure 3. La technique du MAIPA (Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigen assay) ⁵⁰	28
Figure 4. Méthode d'adsorption/élution pour la recherche d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendants	33

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Synthèse des différents mécanismes physiopathologiques de thrombopénies induites par des anticorps anti-plaquettes méthylprednisolone-dépendants.....	13
Tableau 2. Liste des médicaments imputables dans les thrombopénies immunologiques médicament-dépendant ²⁷	16
Tableau 3. Liste des médicaments responsables de thrombopénies immunologiques liées à des anticorps anti-plaquettes médicaments-dépendants et pour lesquels des anticorps anti-plaquettes dépendant du médicament ont été retrouvés ²⁹	18
Tableau 4. Règles d'interprétation des tests d'adsorption/élution	34
Tableau 5. Patients 1, 2 et 3 : description clinique et biologique des épisodes de thrombopénies	41
Tableau 6. Patient 4 : description clinique et biologique des épisodes de thrombopénies.....	44
Tableau 7. Patient 5 : description clinique et biologique des épisodes de thrombopénies.....	48
Tableau 8. Patient 6 : description clinique et biologique des épisodes de thrombopénies survenant chez le patient 6	53
Tableau 9. Résumé clinique et biologique des 6 patients décrits	56
Tableau 10. Résultat des tests d'adsorption-élution (patient 5) réalisé avec le sérum du 18/12/2018, après adsorption avec de la MP puis avec de l'acide folinique.....	58

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1. Structure moléculaire des médicaments imputables dans les épisodes de thrombopénies immunologiques décrits	73
Annexe 2. Description clinico-biologique des épisodes de thrombopénie des deux patients décrit par Curtis et al.	74
Annexe 3. Résultats des tests de MAIPA chez le premier patient (A) et le deuxième patient (B) décrit par Curtis et al. ⁵⁵	76
Annexe 4. Résultats des tests d'adsorption du premier patient (A) et du second patient (B) décrits par Curtis et al. ⁵⁵	77

LISTE DES ABREVIATIONS

- Ac : anticorps
- ADK : adénocarcinome
- A.FOL : acide folinique
- AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien
- BPCO : broncho-pneumopathie chronique obstructive
- DO : densité optique
- DXM : dexaméthasone
- EDTA : acide éthylène-Diamine-tétra-Acétique
- Fab : fragment antigen binding
- Fc : fragment cristallisable
- Gp : glycoprotéine
- HPA : human platelet antigen
- HRP : horseradish peroxydase
- HSHC : hémisuccinate d'hydrocortisone
- IF : immunofluorescence
- IRINO : irinotecan
- MAIPA : monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigen assay
- MP : méthylprednisolone
- OXA : oxaliplatine
- ODS : ondansetron
- PF4 : facteur 4 plaquettaire
- Protocole FOLFOX : protocole de chimiothérapie comprenant de l'oxaliplatine, du 5-FU et de l'acide folinique
- Protocole FOLFIRI : protocole de chimiothérapie comprenant de l'irinotecan du 5-FU et de l'acide folinique
- Protocole XELOX protocole de chimiothérapie comprenant de l'oxaliplatine et de la capécitabine
- PTI : purpura thrombopénique immunologique
- SEP : sclérose en plaque
- TIMD : thrombopénie immunologique médicament-dépendant
- TMB : 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine

INTRODUCTION

1. Définition des thrombopénies immunologiques liées à des anticorps médicament-dépendants

La thrombopénie immunologique liée à des anticorps médicament-dépendants (TIMD) est une cause rare mais potentiellement fatale de thrombopénie périphérique survenant lors de l'administration de certains médicaments. Elle est directement liée à la présence d'anticorps qui, en se fixant sur la membrane plaquettaire uniquement en présence du médicament, provoquent une thrombopénie immunologique, qui guérit en quelques jours après l'arrêt de celui-ci.

2. Physiopathologie des thrombopénies immunologiques liées à des anticorps médicament-dépendants

La TIMD est caractérisée par la présence d'anticorps spécifiques de certaines glycoprotéines (Gp) de la membrane plaquettaire qui ne se fixent qu'en présence d'un médicament. Les glycoprotéines cibles habituellement décrites sont :

- la GpIIb/IIIa, site habituel de fixation du fibrinogène, du facteur Von Willebrand et de la fibronectine et impliquée dans le mécanisme d'agrégation plaquettaire,
- la GpIb/IX, autre site de fixation du facteur Von Willebrand, favorisant l'adhésion des plaquettes au collagène du sous-endothélium.

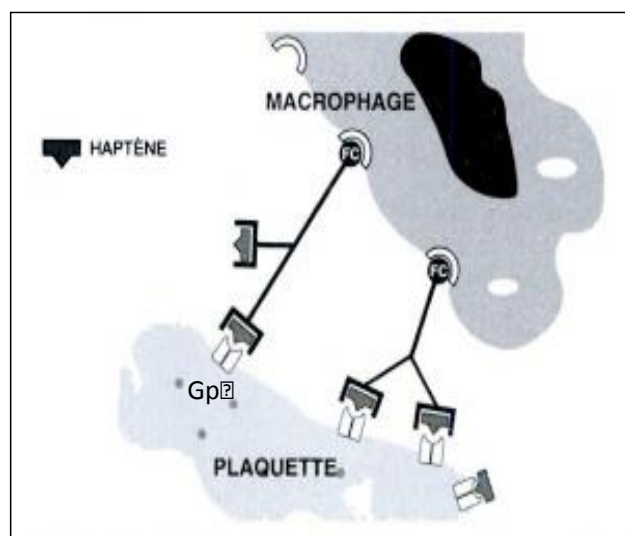
L'anticorps anti-Gp se fixe sur la plaquette via son fragment Fab. Une fois le complexe « anticorps-Gp » formé, les plaquettes sont opsonisées puis détruites essentiellement par phagocytose (activation des macrophages via leur récepteur pour la partie Fc (fragment cristallisable) de l'anticorps fixé sur les plaquettes) et de façon minoritaire via le système du complément.

Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer la nature médicament-dépendante de la liaison anticorps-Gp plaquettaire (**Tableau 1**) :

a. Le médicament se comporte comme un haptène

L'haptène est une molécule de faible poids moléculaire qui n'est immunogène qu'une fois fixé à une protéine porteuse. Ainsi, dans certains cas de TIMD, le médicament n'est pas spontanément immunogène mais le devient une fois fixé aux Gp plaquettaires. La formation des complexes « Gp-médicament » est responsable de la fixation d'anticorps anti-plaquettes (**Figure 1**). Cette hypothèse a été proposée pour expliquer les cytopénies liées à des médicaments de petits poids moléculaire tels que la pénicilline ou les sulfamides.

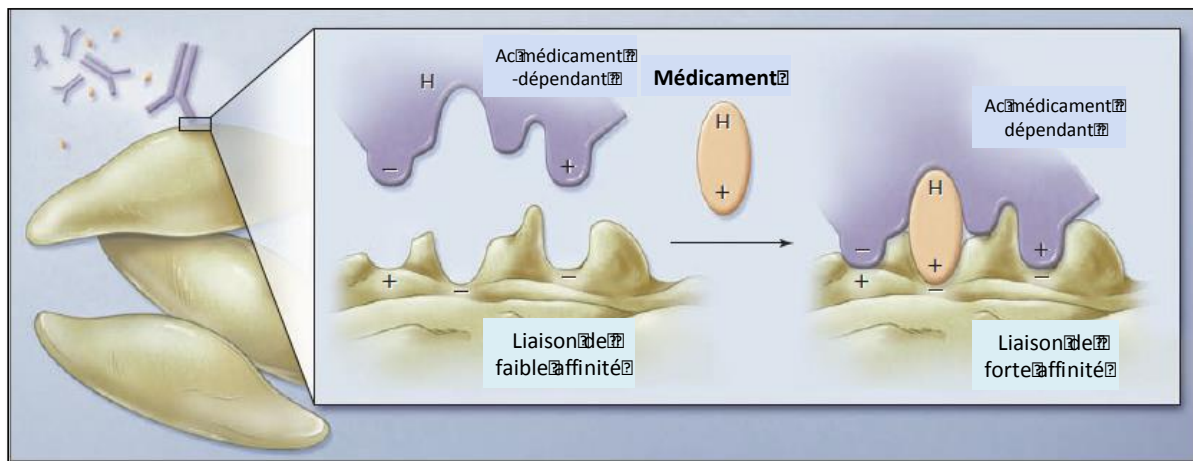
Figure 1. TIMD par mécanisme haptène-dépendant ¹



b. L'anticorps anti-plaquettes ne se fixe qu'en présence du médicament

Il existerait un pool d'anticorps naturels ayant une faible affinité pour leur auto-antigène, ici les Gp plaquettaires. La force de liaison de cette interaction serait trop faible pour permettre à un nombre suffisant d'anticorps de se fixer en l'absence du médicament (liaison de faible affinité). Le médicament aurait une structure moléculaire qui serait complémentaire à la fois d'un site chargé négativement sur la Gp et d'un site hydrophobe (H) sur la partie Fab de l'anticorps. Le médicament favoriserait la liaison entre les deux protéines en augmentant son affinité. Ainsi, la liaison anticorps-médicament-Gp se produirait à des niveaux d'anticorps, d'antigène et de médicament obtenus dans la circulation sanguine après administration du médicament (**Figure 2**). C'est l'exemple de la toxicité de la quinine ou des anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS).

Figure 2. TIMD par fixation de l'anticorps en présence du médicament.²



c. Un nouvel épitope sur la Gp plaquettaire apparaît, suite à la fixation du médicament

Ce nouvel épitope peut être secondaire soit à la formation du complexe médicament-Gp^{3,4}, soit à un changement conformationnel de la Gp plaquettaire une fois le médicament fixé⁵. Ce mécanisme a été proposé pour expliquer les thrombopénies au tirofiban (Agrastat[®], antiagrégant plaquettaire). En effet, le tirofiban est un agoniste de la GpIIb/IIIa utilisé pour prévenir la sténose intra-stent après angioplastie coronaire. Il prévient la thrombose en se fixant spécifiquement sur la GpIIb/IIIa. Ainsi, par compétition, il inhibe l'interaction plaquettes-fibrinogène et donc l'agrégation plaquettaire. La fixation du médicament à la GpIIb/IIIa est responsable d'une modification conformationnelle de la Gp. Les anticorps responsables des thrombopénies reconnaissent les néo-épitopes créés par cette modification de la GpIIb/IIIa. Ces anticorps peuvent être considérés comme « naturels » car peuvent apparaître au décours de la première injection du Tirofiban⁶.

d. Un anticorps spécifique d'un médicament apparaît

L'anticorps est alors spécifique du composant murin du médicament. C'est par exemple le cas de l'abciximab (Reopro[®], antiagrégant plaquettaire), qui bloque la liaison plaquettes-

fibrinogène. L'abciximab est un anticorps chimérique monoclonal 7E3, qui contient une partie Fc murine et un fragment Fab (fragment antigen binding) anti-GpIIb/IIIa humain. La drogue en elle-même n'entraîne pas de thrombopénie car il lui manque la partie Fc humaine requise pour la reconnaissance par les phagocytes et la réaction de phagocytose. La thrombopénie serait due à la présence d'anticorps dirigés contre la partie murine de l'abciximab. Une thrombopénie serait retrouvée chez 1% des patients traités une fois par le médicament et chez 10% de ceux chez qui le médicament a été réintroduit⁷⁻⁹.

e. Des auto-anticorps sont induits

La présence du médicament induit la synthèse d'un auto-anticorps capable de se fixer sur les Gp membranaires. Le médicament induit la formation d'anticorps mais n'intervient pas dans la liaison antigène-anticorps. Il s'agit d'un modèle où les thrombopénies peuvent persister malgré l'arrêt du médicament. Ce mécanisme est proposé pour expliquer les cas de thrombopénie aux sels d'or ou à la L-dopa¹⁰⁻¹².

f. Des complexes immuns se fixent sur la membrane plaquettaire

C'est l'exemple de la thrombopénie induite à l'héparine. Le facteur plaquettaire 4 (PF4) est une protéine présente naturellement dans les granulations plaquettaires. En cas d'activation des plaquettes, le PF4 est libéré dans la circulation et se lie à des polyanions tels que l'héparine. L'héparine s'enroule autour du PF4 qui subit un changement conformationnel et devient immunogène, induisant ainsi la synthèse d'anticorps anti-complexe héparine-PF4¹³. Ces anticorps se fixent par leur partie Fc au récepteur FcγRIIa des plaquettes, entraînant leur activation et le relargage de microparticules pro-coagulantes dont le PF4. Un cercle vicieux s'installe alors entre le relargage de PF4, la formation de nouveaux complexes héparine-PF4, la liaison avec de nouveaux anticorps spécifiques du complexe et l'activation puis l'agrégation plaquettaire^{14,15}. Cette consommation intravasculaire de plaquettes est responsable à la fois d'une thrombopénie et d'un état pro-thrombotique par libération des microparticules pro-coagulantes. Par ailleurs, les anticorps anti "héparines-PF4" activent également les monocytes (en utilisant leur récepteur FcγRIIa) et (directement ou indirectement) les cellules endothéliales, induisant une activation endothéliale favorisant également cet état pro-thrombotique.

Tableau 1. Synthèse des différents mécanismes physiopathologiques de thrombopénies induites par des anticorps anti-plaquettes méthylprednisolone-dépendants.

Mécanisme	Description	Exemple
Le médicament se comporte comme un haptène	Fixation du médicament sur la Gp qui devient une protéine porteuse. Induction d'une réaction immunitaire anti-complexe Gp/médicament.	Pénicillines, sulfamides
L'anticorps anti-plaquettes ne se fixe qu'en présence du médicament	Fixation du médicament sur l'anticorps anti-Gp et sur la Gp augmentant l'affinité de la liaison Ac anti-Gp/Gp	Quinine, AINS
Un nouvel épitope sur la Gp plaquettaire apparaît, suite à la fixation du médicament	Liaison médicament/Gp entraînant un changement conformationnel de la Gp et l'exposition de nouveaux épitopes immunogènes	Tirofiban
Un anticorps spécifique d'un médicament apparaît	Molécules chimériques avec des parties Fab humanisées et des parties Fc murines immunogènes	Abciximab
Des auto-anticorps sont induits	La présence du médicament induit la production d'anticorps anti-Gp	Sels d'or, L-Dopa
Des complexes immuns se fixent sur la membrane plaquettaire	Formation d'un complexe héparine-PF4. Apparition d'Ac anti-complexe héparine-PF4 qui se fixent également sur le récepteur FcγRIIa des plaquettes et les activent.	Héparine

Abréviations : Ac : anticorps ; AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien ; Fab : fragment antigen binding ; Fc : fragment cristallisable ; Gp : glycoprotéines ; PF4 : facteur 4 plaquettaire.

3. Epidémiologie

L'incidence de la TIMD est probablement largement sous-estimée car souvent confondues avec d'autres causes de thrombopénies aiguës. Chez les patients poly-pathologiques et/ou hospitalisés en soins intensifs, les thrombopénies aiguës sont souvent multifactorielles d'origine septique, toxique ou parfois immunologique liée à la présence d'allo-anticorps (purpura post transfusionnel)¹⁶. Chez les patients d'onco-hématologie, la myélotoxicité directe des chimiothérapies est la cause la plus fréquente de thrombopénie. Enfin, le purpura thrombopénique immunologique « idiopathique » ou secondaire est fréquent et présente un tableau clinique initial parfois indiscernable de celui d'une TIMD¹⁷. Quelques études épidémiologiques ont tenté de déterminer l'incidence des TIMD¹⁸⁻²⁴. Ces études sont cependant difficilement comparables en raison de méthodologie et de critères d'inclusion et d'exclusion différents. Néanmoins, l'incidence des TIMD semble comparable selon ces études et appréciée autour de 10 cas par million d'habitants (population non sélectionnée, non hospitalisée), plus élevée que celle de 4,4 par million d'habitants attribuée à l'agranulocytose médicamenteuse²⁵. Cette incidence augmente probablement dans les populations à risques (hospitalisées, multi-traitées). Par exemple, l'incidence annuelle des TIMD chez les patients traités par diurétiques a été estimée à 1 pour 15000 patients dans une étude suédoise²². Chez les patients traités par quinine, Kauffman *et al.* rapportent une incidence de 26 cas par millions de patients par semaine de traitement²⁴.

Des critères diagnostiques de TIMD ont été proposés par George *et al.* en 1998²⁶ :

1. l'administration du médicament doit précéder la survenue de la thrombopénie
2. la thrombopénie doit être résolutive après l'arrêt de la molécule candidate
- 2 bis. les autres médicaments peuvent être poursuivis sans conséquence sur le taux de plaquettes
3. les autres causes de thrombopénie doivent être éliminées
4. la réexposition au médicament candidat entraîne une récurrence de la thrombopénie

George *et al.* définissent ainsi cinq niveaux de preuve pour le diagnostic de TIMD : « certain » (4 critères remplis), « probable » (2 à 3 critères remplis), « possible » (1 critère rempli), « peu probable » (aucun critère rempli) et « données insuffisantes ».

Les médicaments suspects sont colligés dans une base de données dont les mises à jour ont été publiées en 2009²⁶. Cette base regroupe les données de toxicité de 317 médicaments prescrits

isolements sur 1185 patients et l'information sur 116 articles décrivant des données groupées. En combinant ces données, George *et al.* décrivent des TIMD dites « certaines » ou « probables » pour 451 (35%) des rapports et 446 (34%) avec une association « possible » ou « peu probable ». Plus de 100 médicaments, sans similitude moléculaire ont ainsi été impliqués dans la pathogenèse des TIMD. Parmi ceux-ci, on retrouve essentiellement la quinine et la quinidine, les sels d'or, le trimethoprim/sulfamethoxazole, la rifampicine et certains antiagrégants plaquettaires comme l'abciximab et le tirofiban (Tableau 2).

Tableau 2. Liste des médicaments imputables dans les thrombopénies immunologiques médicament-dépendant ²⁷

Quinine
Quinidine
Trimethoprim-Sulfamethoxazole
Vancomycin
Penicillin
Rifampin
Carbamazepine
Ceftriaxone
Ibuprofen
Mirtazapine
Oxaliplatin
Suramin
Abciximab
Tirofiban
Eptifibatide
Heparin

Ces critères sont utiles pour l'identification d'un médicament imputable dans le diagnostic de TIMD mais ne démontrent pas de lien de causalité entre la présence du médicament et la thrombopénie. Dans certains cas, des anticorps anti-plaquettes dépendants d'un médicament ont été mis en évidence dans le sérum des patients suspects de TIMD. La présence de ces anticorps est un argument supplémentaire pour un lien de causalité entre la survenue de la thrombopénie et l'administration du médicament suspect (**Tableau 3**).

En 2007, une étude sur les TIMD à la vancomycine a permis d'isoler des anticorps anti-plaquettes dépendants de la vancomycine chez 29 patients qui présentait au moins 3 des critères de George et absent chez 500 témoins (ne recevant pas de vancomycine) et chez 25 patients recevant de la vancomycine, sans complication hématologique²⁸. La présence d'anticorps anti-plaquettes dépendant du médicament pourrait être un argument

complémentaire à ajouter aux 4 critères diagnostiques de George pour poser le diagnostic de TIMD²⁷. Ce test est cependant entaché de faux négatifs qui peuvent être dus à l'emploi d'un anticorps monoclonal ne reconnaissant pas la cible de l'anticorps dans le test du MAIPA (cf ci-après), à des problèmes techniques (concentration du médicament dans les lavages, médicament incomplètement soluble) ou au fait que l'anticorps ne reconnaît pas la molécule entière du médicament mais l'un de ses métabolites. Ainsi, ce critère biologique est un argument précieux mais non indispensable au diagnostic de TIMD.

Tableau 3. Liste des médicaments responsables de thrombopénies immunologiques liées à des anticorps anti-plaquettes médicaments-dépendants et pour lesquels des anticorps anti-plaquettes dépendant du médicament ont été retrouvés ²⁹.

Table 3 Drug-dependent, platelet-reactive antibodies detected in 1998–2008		
Drug category	Number	Individual drugs
ACE inhibitor	1–3	Lisinopril
Analgesic	1–3	<i>Acetaminophen*</i> , propoxyphene
Antibiotic	> 15	Sulfamethoxazole, vancomycin
	4–15	Ceftriaxone, levofloxacin, nafcillin, piperacillin, rifampin, trimethoprim
	1–3	Ampicillin, amoxicillin, cefazolin, cefadroxil, cefepime, cefpodoxime, ceftazidime, ceftizoxime, cefpodoxime, ciprofloxacin, ethambutol, lisinopril, loracarbef, metronidazole, nitrofurantoin, sulfisoxazole
Anticonvulsant	> 15	Carbamazepine
	4–15	Phenytoin
	1–3	Lamotrigine, lorazepam, valproic acid
Antidepressant, antipsychotic	1–3	Amitriptyline, bupropion, haldol, olanzapine, paroxetine, sertraline
Antithyroid	1–3	Propylthiouracil
β-Blocker	1–3	Atenolol, propranolol
Cardiac	4–15	Amiodarone
	1–3	Dobutamine
Chemotherapeutic agent	4–15	Oxaliplatin
	1–3	Geldanamycin, irinotecan, suramin
Cinchona alkaloid	> 15	Quinine, quinidine
Diuretic	4–15	Furosemide
GPIIb-IIIa inhibitor	> 15	Abciximab, eptifibatide, tirofiban
	4–15	Orbifiban, xemolifiban
Histamine receptor antagonist	1–3	Fexofenadine, ranitidine
Narcotic	1–3	Fentanyl
Non-steroidal anti-inflammatory	4–15	<i>Naproxen*</i>
	1–3	Celecoxib, ibuprofen, <i>ibuprofen*</i> , oxaprozin
Proton pump inhibitor	1–3	Esomeprazole, lansoprazole, pantoprazole
Thrombin inhibitor	1–3	Argatroban
Vasodilator	1–3	Papaverine

ACE, angiotensin-converting enzyme; GP, glycoprotein. *Italics indicate DDAs specific for drug metabolites only.

4. Présentation clinique des thrombopénies immunologiques liées à des anticorps médicament-dépendants

Une TIMD est suspectée en cas de thrombopénie brutale et profonde survenant après l'exposition au médicament, avec un délai variable de 1 à 7 jours après l'administration²⁷. L'interrogatoire et l'analyse pharmacologique sont alors des éléments essentiels du diagnostic. Une exposition antérieure au médicament est généralement retrouvée, administration pendant laquelle aucun effet secondaire n'avait été déclaré. L'enquête pharmacologique est primordiale et doit consister en un interrogatoire policier permettant de répertorier les différentes molécules administrées au patient.

La survenue brutale de signes cliniques de type anaphylactoïde (fièvre, frissons, douleurs thoraciques ou dorsales, dyspnée), pendant ou immédiatement après l'administration du médicament, est fréquente et à l'inverse inhabituelle lorsque des diagnostics différentiels des TIMD tels que les purpura thrombopéniques immunologiques en sont la cause. La thrombopénie, souvent profonde, peut être responsable d'un syndrome hémorragique clinique avec un purpura, un saignement cutanéomuqueux et plus rarement des saignements profonds pouvant mettre en jeu le pronostic vital^{29,30}.

Biologiquement, la thrombopénie est habituellement isolée, inférieure à 30G/L et l'analyse des autres lignées sanguines est le plus souvent normale¹⁷. La recherche d'anticorps anti-plaquettes est négative sur le sérum du patient et peut être positive en présence du médicament causal. Les différentes techniques utilisées sont détaillées dans la section « Matériels et méthodes ». Les autres tests immunologiques tels que le test de Coombs érythrocytaire ou la recherche d'anticorps antinucléaire sont en règle négatifs. Ces tests immunologiques sont cependant d'un apport restreint pour le diagnostic de thrombopénie en particulier en raison de leur long délai de réalisation. S'ils sont positifs, les résultats sont en effet souvent récupérés *a posteriori*, une fois le diagnostic de TIMD établi par la clinique. De plus, ces techniques sont exposées à un risque de résultats faussement négatifs (cf. section Matériels et méthodes) ce qui les rend peu pertinentes pour le diagnostic en urgence de la thrombopénie.

Si elle est réalisée, l'analyse de la moelle osseuse met en évidence une moelle riche en mégacaryocytes, prouvant son caractère périphérique. La recherche de plaquettes réticulées peut être un argument supplémentaire pour une origine périphérique, même si elle n'est pas réalisée en pratique courante.

Au plan thérapeutique, les transfusions de plaquettes sont inefficaces car sans rendement³¹. La thrombopénie se résout généralement spontanément au bout de 5 à 10 jours après l'arrêt du médicament causal. Le rôle des corticoïdes, souvent administrés dans ce contexte de thrombopénie périphérique, n'a pas été démontré²⁰, de même que l'administration d'immunoglobulines intraveineuses³² ou d'échanges plasmatiques³³. La réexposition au médicament suspect engendrerait la même thrombopénie aigüe, ce qui justifie d'en faire le diagnostic le plus précocement possible.

5. Cas particulier des thrombopénies à l'oxaliplatine et du « syndrome dys-immunitaire » secondaire

L'oxaliplatine est une chimiothérapie de la classe des sels de platine qui comprend du platinium et de l'eloxatine. L'oxaliplatine a été identifiée comme responsable de thrombopénies immunologiques mais aussi d'anémies hémolytiques auto-immunes et de micro-angiopathies thrombotiques³⁴. L'oxaliplatine est utilisée dans le protocole FOLFOX qui comprend, outre l'oxaliplatine, l'injection de 5-Fluorouracile (5-FU) et d'acide folinique. La prémédication de ce protocole inclut classiquement un antiémétique de la classe des setrons ainsi qu'un corticoïde intraveineux³⁵.

En 2000, l'analyse des caractéristiques pharmaco-dynamiques et pharmaco-cinétiques de l'oxaliplatine montrait que le platinium non liée à l'eloxatine avait une période initiale de distribution courte suivie d'une longue période d'élimination (demi-vie de 152-273h). De plus, le platinium serait capable de se fixer aux protéines du sang et aux macromolécules³⁶. Il a été par la suite suggéré que ces métabolites, fixés aux protéines du sang, deviendraient immunogènes et responsables des cytopénies auto-immunes médiées par l'oxaliplatine.

En 2006, Curtis décrit l'observation de 2 patients, traités pour des cancers du colon par le protocole FOLFOX (oxaliplatine-5FU-acide folinique) et présentant des épisodes de thrombopénies périphériques profondes, survenant après une période de sensibilisation (17^e

cycle pour le premier patient et 10^e cycle pour le deuxième patient). Une analyse par immunofluorescence puis par ELISA a permis la détection des anticorps IgG anti-plaquettes dépendant de l'oxaliplatine dans le sérum des deux patients. Des tests par MAIPA (technique détaillée dans la section « Matériel et Méthode ») ont permis de caractériser la nature anti-GpIIb/IIIa de ces anticorps anti-plaquettes dépendants de l'oxaliplatine³¹. Depuis cette description, plusieurs autres cas similaires ont été décrits³⁷⁻⁴⁰.

En 2016, le concept de syndrome dysimmunitaire lié à l'oxaliplatine en regroupant l'ensemble des complications immuno-médiées dues au médicament est proposé par Bencardino *et al.*³⁴. Il regroupe plusieurs complications auto-immunes dépendantes de l'administration d'oxaliplatine : anémies hémolytiques auto-immunes⁴¹⁻⁴⁴, vascularite leucocytoclasique⁴⁵, thrombopénie immunologique, syndrome d'Evans⁴¹ et micro-angiopathie thrombotique^{38,44}.

Bencardino analyse la présentation clinique de 61 patients suspects de TIMD dépendant de l'oxaliplatine. Pour ces patients, le taux moyen d'exposition à l'oxaliplatine avant les premiers événements dysimmunitaires était de 16 cycles (soit 8 mois environ). Ces patients avaient en moyenne 60 ans, étaient des femmes dans 58% des cas, et étaient traités par oxaliplatine pour des cancers colo-rectaux dans 92% des cas. Quatre patients sur 61 sont décédés de la complication immunologique (dont 3 avec une thrombopénie profonde).

Plus récemment, Curtis *et al.*⁴⁶ ont décrit le cas de 2 patients suivis pour des cancers digestifs et présentant une TIMD, associée pour l'un d'entre eux à une anémie hémolytique auto-immune, survenant après l'administration d'oxaliplatine, de dexaméthasone et d'acide folinique pour le premier et d'oxaliplatine, de dexaméthasone, d'acide folinique et d'irinotecan pour le second patient. Chez ces deux patients, la recherche d'anticorps anti-plaquettes par test d'immunofluorescence révélait des anticorps anti-plaquettes en présence d'oxaliplatine, de leucovorine, de dexaméthasone et d'irinotecan. Les anticorps anti-plaquettes les plus affins étaient dépendants de la dexaméthasone et de l'acide folinique pour le premier patient et de l'irinotecan pour le second patient. La recherche d'anticorps anti-plaquettes par technique de MAIPA mettait en évidence des anticorps anti-GpIIb/IIIa en présence de dexaméthasone et d'acide folinique ainsi que des anticorps anti-GpIb/IX en présence d'oxaliplatine pour le premier patient et des anticorps anti-GpIIb/IIIa en présence d'irinotecan pour le second patient. Les auteurs réalisent ensuite des méthodes d'adsorption afin d'éliminer les anticorps anti-plaquettes dépendants d'un médicament. Grâce à cette

technique, ils démontrent que les anticorps médicaments-dépendants retrouvés chez leurs patients sont distincts les uns des autres (cf Annexe 2).

Ce résultat est novateur dans la mesure où les différents cas de TIMD publiés jusqu'à lors concernaient des TIMD uniques, dépendant d'un seul médicament. Dans cette étude, les auteurs retrouvent plusieurs anticorps en présence de plusieurs médicaments. Curtis a complété son analyse par l'analyse de 53 patients suspects de TIMD attribuées à l'oxaliplatine. Cette analyse a permis de retrouver des anticorps dépendant de l'oxaliplatine chez 30 d'entre eux. Parmi ces 30 patients, 12 présentaient également des anticorps dépendant de l'acide folinique, 2 de l'irinotecan, 7 de la dexaméthasone, 4 du palonosetron, 7 de l'ondansetron et 2 du diphenhydramine. Chez les patients n'ayant pas d'anticorps dépendant de l'oxaliplatine (n=23), 3 présentaient des anticorps médiés par d'autres drogues. Aucune corrélation clinico-biologique n'est cependant rapportée pour ces 53 cas. L'hypothèse des auteurs est celle d'une activation initiale du système immunitaire par l'oxaliplatine et ses différents métabolites, qui après l'administration de 10 à 20 cycles de chimiothérapie préalable entraînerait la survenue d'autres anticorps médicament-dépendants.

Nous décrivons dans ce travail les cas de 6 patients présentant des TIMD liées à l'administration de méthylprednisolone (MP), survenant pour 5 d'entre eux dans un contexte de cancer digestif traité par oxaliplatine (protocole FOLFOX), et avec pour 3 d'entre eux des anticorps médicaments-dépendants multiples dirigés contre l'acide folinique et/ou l'oxaliplatine.

MATERIELS ET METHODES

1. Identification des cas

L'identification des patients a été réalisée parmi les sera adressés au laboratoire d'Immunologie plaquettaire de l'Etablissement Français du Sang (EFS) d'Ile de France, situé à Créteil. En septembre 2017, les prélèvements d'un patient atteint d'un cancer colorectal ont été reçus au laboratoire pour suspicion d'une thrombopénie immunologique médicament-dépendant (méthylprednisone-dépendant). Cinq autres patients, ayant aussi une suspicion de thrombopénie liée à la MP et dont les sera avaient été antérieurement transmis au laboratoire pour recherche d'anticorps anti-plaquettes, ont également été inclus dans l'analyse. Pour ces 5 derniers patients, la suspicion de thrombopénie liée à la MP avait déjà été documentée par la présence d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendants.

2. Recueil des données

Les observations cliniques des 6 patients ont été rétrospectivement étudiées. Le cas du premier patient avait déjà été rapporté par l'équipe du laboratoire⁴⁷. L'analyse des dossiers médicaux a permis pour chacun des 6 patients d'identifier différents épisodes suspects de thrombopénies immunologiques liées à des anticorps médicament-dépendants.

Néanmoins, pour certains de ces patients, ces épisodes aigus de thrombopénie survenaient sans exposition à la MP et pour l'un d'entre eux la ré-administration de MP était bien tolérée sur le plan hématologique alors que les épisodes précédents avaient été imputés à la MP. Plusieurs hypothèses ont alors été émises notamment sur l'imputabilité possible des autres médicaments (ondansetron, oxaliplatine, acide folinique, irinotecan) mais aussi sur l'imputabilité des chambres implantables utilisées ou des excipients présents dans les perfusions de chimiothérapie.

En décembre 2017, soit deux mois après le début de ce travail, Curtis *et al.* publient une lettre dans le journal *Hematology* décrivant le cas d'un patient de 83 ans présentant des épisodes de thrombopénies d'allure médicament-dépendante mais liés à plusieurs médicaments : l'oxaliplatine, l'acide folinique et le palonosetron. La recherche d'anticorps IgG anti-

plaquettes par technique d'immunofluorescence puis MAIPA révélait plusieurs anticorps anti-plaquettes médicament-dépendants et non un anticorps unique comme habituellement⁴⁶. A la lumière de cette observation, les observations des 6 patients ont été revues avec pour objectif d'identifier d'éventuelles autres molécules pouvant expliquer la survenue des épisodes de thrombopénies.

3. Recherche d'anticorps anti-plaquettes

Il existe plusieurs techniques disponibles pour la recherche d'anticorps anti-plaquettes. Deux sont utilisées en pratique courante : la recherche d'anticorps anti-plaquettes par technique d'immunofluorescence et la technique du MAIPA (Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigen assay)

a. Recherche d'anticorps par technique d'immunofluorescence (IF)

Cette technique peut être utilisée aussi bien pour les tests directs (recherche d'anticorps anti-plaquettes fixés à la plaquette avec utilisation des plaquettes du patient lui-même) que pour les tests indirects (recherche d'anticorps circulant dans le sérum du patient).

Pour les tests indirects, utilisés en pratique courante, le sérum du patient est mis en contact avec des plaquettes d'un pool de donneur puis avec un anticorps anti-Fc des immunoglobulines fluorescent (sans spécificité de glycoprotéine). Cet anticorps détecte les anticorps anti-plaquettes du patient fixés sur les plaquettes du pool de donneur.

La principale limite de cette technique est la présence de faux positifs pouvant être secondaire à la mise en évidence d'autre auto ou allo-anticorps ciblant d'autres molécules que les Gp. Ce test est par exemple d'interprétation difficile chez les patients à risque de développer des allo-anticorps anti-HLA (comme la femme après plusieurs grossesses ou le patient polytransfusé).

b. Recherche d'anticorps anti-plaquettes sériques par la technique du MAIPA

• La technique du MAIPA

Décrit par Kiefel *et al.* en 1987, il s'agit d'un test de dépistage et d'identification des anticorps (IgG) anti-plaquettes sériques ou fixés sur la membrane plaquettaire. Il permet également de définir leur cible avec un niveau de spécificité élevé⁴⁸. Il s'agit du test de référence de recherche d'anticorps anti-plaquettes. Ce test a trois principales indications :

- ***Chez les patients suspects de thrombopénie périphérique immunologique*** : la recherche d'auto-anticorps anti-plaquettes circulant et fixés sur les plaquettes peut s'effectuer par IF puis par MAIPA en cas de positivité ou directement par MAIPA. Le MAIPA a l'avantage d'identifier le complexe glycoprotéine cible de l'auto-anticorps.
- ***Chez les patients suspects de thrombopénie immunologique néonatale, d'état réfractaire aux transfusions plaquettaires ou de purpura post transfusionnel***. Dans ces situations, la thrombopénie peut être due à l'apparition d'allo-anticorps ciblant certains épitopes du système HPA (Human Platelet Antigen), qui sont des antigènes plaquettaires présents le plus souvent sur la GpIIb/IIIa et plus rarement sur la GpIb/IX ou la GPIa/IIa. Plus de 30 systèmes le plus souvent bi-alléliques sont décrits. Dans la population caucasienne, l'antigène HPA-1a est le plus souvent impliqué. Dans les cas des thrombopénies néonatales, les anticorps maternels traversent la membrane placentaire et reconnaissent les antigènes du fœtus transmis par le père avec pour conséquence des thrombopénies fœtales qui peuvent être sévères et responsables d'hémorragie intracérébrale⁴⁹. Le MAIPA permet la recherche d'allo-anticorps anti-HPA responsables de ces allo-immunisations.
- ***Chez les patients suspects de thrombopénies immunologiques médicamenteuses*** : cf ci-après.

• La technique du MAIPA classique

En pratique, la technique du MAIPA classique, telle qu'elle est utilisée dans le laboratoire d'immunologie plaquettaire de l'EFS de l'hôpital Henri Mondor de Créteil, se déroule avec un kit complet ApDia® comprenant les réactifs suivants : un pool de cellules pour le dépistage des anticorps plaquettaires, un panel de cellules pour l'identification des anticorps plaquettaires, le plasma/sérum de contrôle contenant un anticorps plaquettaire, les anticorps monoclonaux, tampon de lavage de cellules et tampon de lyse pour

plaquettes et enfin les anticorps conjugués, tampon de lavage ELISA, substrat (chromogène) et solution d'arrêt.

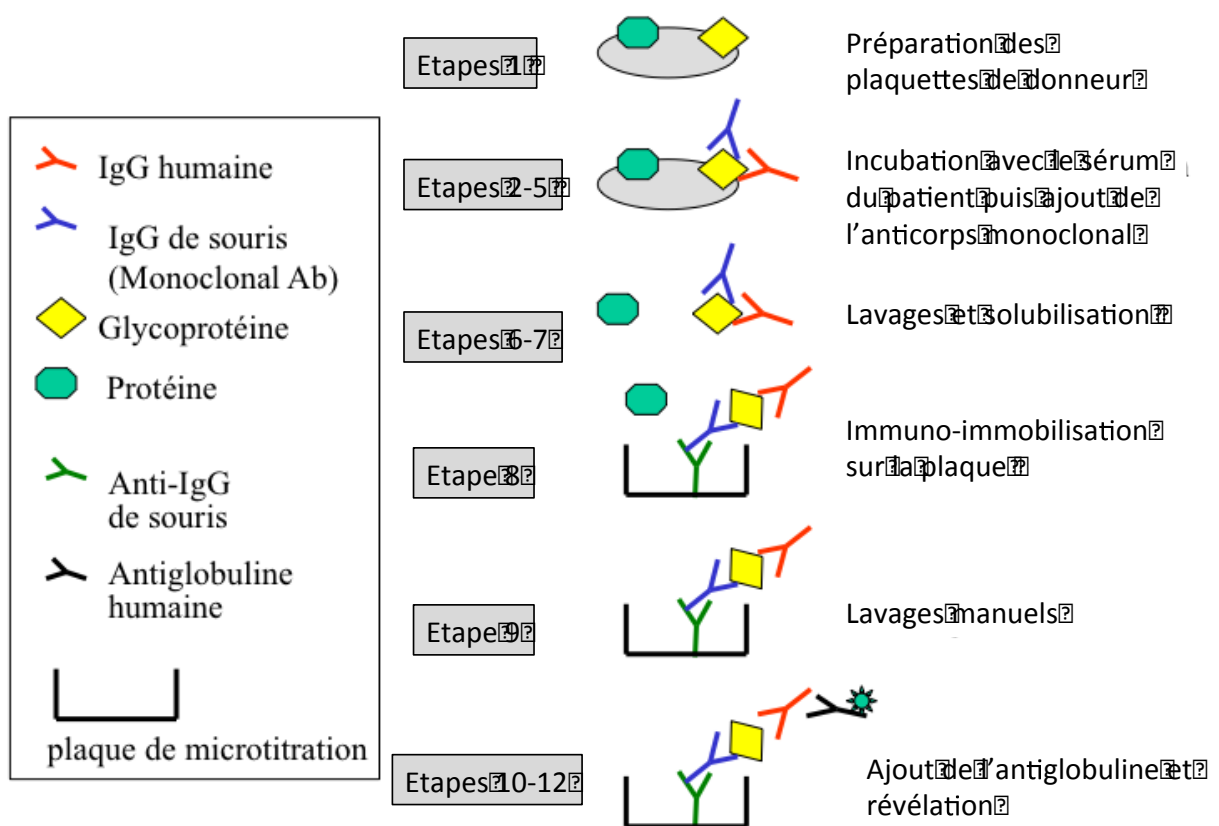
La température du laboratoire dans lequel est utilisé le kit doit se situer entre 19 et 25°C. La totalité de la procédure MAIPA dure environ 6h. Les différentes étapes de la technique sont les suivantes :

1. Préparation des plaquettes pour le test indirect : Vortexer brièvement les différentes suspensions plaquettaires avant utilisation. Centrifuger la microplaque puis vider les puits en retournant la microplaque au-dessus du fût à déchets. Mélanger doucement les plaques en utilisant l'agitateur de microplaque. Laver les plaquettes 2 fois. Les lavages s'effectuent toujours de la manière suivante : Ajouter 200µl de tampon de lavage de cellules « Cell Wash Buffer » dans chaque puits, centrifuger à 1050g $\pm$ 50g pendant 3 minutes, vider les puits par retournement sec et rapide au-dessus du fût à déchets, mélanger doucement les plaques en utilisant l'agitateur de microplaque.
2. Incubation avec le sérum : centrifuger l'ensemble des sera à tester (patients et contrôles) et les placer dans les puits correspondants.
3. Constitution des puits contrôles : ajouter 50µl de sérum des 4 contrôles dans les puits respectifs : anti-HPA-1a (contrôle positif de l'anticorps anti-GPIIb/IIIa), anti-HPA-5b (contrôle positif de l'anticorps monoclonal anti- GpIa/IIa et 2 contrôles négatifs). Mélanger doucement en utilisant un agitateur de microplaque. Incuber pendant 30 minutes à 37°C. Centrifuger la microplaque. Vider les puits par retournement sec et rapide au-dessus du fût à déchets. Mélanger de nouveau doucement les plaquettes en utilisant l'agitateur de microplaque.
4. Lavages : répéter l'étape de lavage (cf précédemment) à 2 reprises.
5. Sensibilisation par les anticorps monoclonaux : pour les anticorps monoclonaux inclus dans le kit, ajouter 50µL de l'anticorps monoclonal adéquat dans chaque puits. Rajouter les contrôles : anti-HPA-1a pour le monoclonal anti-GpIIb/IIIa et anti-HPA-5b pour le monoclonal anti GpIa/IIa. Mélanger doucement en utilisant l'agitateur de microplaque, puis incuber pendant 30 minutes à 37°C, centrifuger la microplaque, vider les puits puis mélanger doucement les plaquettes.
6. Lavages : répéter l'étape de lavages (cf précédemment) à 4 reprises
7. Solubilisation : ajouter 130µl de tampon de lyse de plaquettes dans tous les puits et mélanger énergiquement les culots plaquettaires en agitant par pipetage et

refoulements, à la pipette multicanaux. Incuber pendant 45 minutes à 4°C. Centrifuger à 1050 g pendant 15 minutes. Ne pas éliminer le surnageant. Les complexes (anticorps monoclonaux, glycoprotéines et anticorps humains) restent dans le liquide surnageant alors que les débris de cellules sont au fond du puits.

8. Immuno-immobilisation sur la plaque : prendre le nombre nécessaire de barrettes et les placer dans un support vide, sans oublier les contrôles. Transférer 100µL de lysat cellulaire surnageant dans les puits coatés d'IgG de chèvre anti-souris, sans toucher ni aspirer les débris au fond des puits de la première plaque.
9. Lavages manuels : vider les puits en retournant la microplaque et en tapotant vigoureusement la plaque sur du papier absorbant. Laver la microplaque comme précédemment. Répéter l'étape précédente 5 fois, pour réaliser un total de 6 lavages.
10. Ajout de l'antiglobuline : préparer l'anticorps secondaire (anti-IgG-humain HRP (Horseradish Peroxydase)) juste avant utilisation. Pour 3 barrettes, prélever 3mL d'anticorps secondaire. Ajouter 100µl d'anti-IgG-humain HRP de chèvre conjugué dans chaque puits. Incuber pendant 30 minutes à 37°C, puis répéter l'étape de lavage manuel.
11. Révélation : ajouter 100 µL de solution de révélation TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) dans chaque puits. Veiller à protéger intégralement la solution de TMB de toute source de lumière. Incuber pendant 15 minutes à température 37°C à l'abri de la lumière. Arrêt de la réaction par ajout de 100µl de solution d'arrêt (H₂SO₄) dans chaque puits.
12. Lecture : mesurer la densité optique à 2 longueurs d'onde à l'aide du lecteur de microplaque ELISA et enregistrer les résultats :- 450nm (longueur d'onde du TMB), 620nm (filtre de référence). Faire la soustraction du blanc pour chaque longueur d'onde, puis soustraire les valeurs obtenues à 620nm aux valeurs obtenues à 450nm.

Figure 3. La technique du MAIPA (Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigen assay)⁵⁰.



- ***Validation de la technique du MAIPA***

La validation du test dépend des valeurs de densité optique (DO) des échantillons de contrôles négatifs et positifs. Après soustraction du blanc :

- La valeur de DO pour le contrôle négatif doit être inférieure à 0,100. Si la valeur de cette DO est supérieure à 0.100, l'ensemble de la plaque est à refaire.
- Pour chaque anticorps testé, il doit y avoir 2 contrôles de qualité interne :
 - Le témoin négatif, qui permet de s'assurer qu'il n'y a pas de fixation non spécifique d'immunoglobulines.
 - Les témoins positifs qui reflètent l'utilisation correcte des anticorps monoclonaux et de l'antiglobuline.
- Les valeurs de DO pour les contrôles positifs sont déterminées en fonction des anticorps monoclonaux et du lot utilisé.

- ***Interprétation et validation biologique des résultats pour la recherche d'anticorps anti-plaquettes***

- Les valeurs de DO inférieures à 0,100 sont considérées comme « négatives » sur cellules de dépistage ou d'identification.
- Les échantillons avec des valeurs de DO supérieures à 0,100 sur cellules de dépistage sont à passer en identification et à contrôler sur cellules de dépistage.
- Les échantillons avec des valeurs de DO entre 0,100 et 0,200 sur cellules d'identification nécessitent un contrôle sur un nouveau prélèvement, et sont rendus « indéterminé », « traces » ou « suspicion ».
- Les valeurs de DO supérieures à 0,200 sur cellules d'identification sont considérées comme « positives », et rendues « positif faible » lorsque la DO est comprise entre 0.200 et 0.300.

- ***Limites de la technique du MAIPA***

- a) Il peut exister **des faux-positifs** en cas de contamination bactérienne, de lyse insuffisante, ou en cas d'hémolysines anti-A ou anti-B, si les plaquettes cibles ne sont pas O.
- b) Il peut également exister **des faux négatifs** en cas de co-fixation de l'anticorps recherché et de l'anticorps monoclonal sur le même épitope.

En cas de résultats incohérents avec l'ensemble du dossier clinico-biologique, le test sera répété, soit par une autre technique disponible au laboratoire, soit sur un autre prélèvement, soit exceptionnellement par un autre laboratoire spécialisé en immunologie plaquettaire.

La sensibilité et la spécificité du MAIPA sont élevées mais n'atteignent pas les 100%. Le test est conçu pour détecter les anticorps antiplaquettaires de type IgG uniquement.

- ***Particularités du test en présence d'un médicament***

Les étapes initiales sont les mêmes que celles décrites précédemment.

- A l'étape d'incubation avec le sérum (étape 2) : ajouter le médicament à une concentration de départ de 1mg/mL. Adapter ensuite suivant les résultats obtenus. Le sérum négatif (témoin négatif) doit avoir une DO inférieure à 0.200 à la fin de la technique.
- Réaliser les lavages suivants en présence du médicament, qui se trouve toujours à la même concentration de 1mg/mL (ou concentration adaptée).
- Ajout de nouveau le médicament à la dose adéquate au moment de l'étape de sensibilisation par les anticorps monoclonaux (étape 5).
- De même la solubilisation se fait en présence du médicament.
- L'immobilisation sur la plaque est la même.
- Les lavages post immobilisation s'effectuent toujours de manière manuelle étant donné la présence de médicament dans le tampon ELISA WASH.
- L'ajout de l'antiglobuline s'effectue en présence du médicament
- L'étape de révélation se déroule sans médicament

4. Test d'adsorption-élution

a. Objectifs du test d'adsorption-élution

Pour le patient 5, chez qui les tests de MAIPA révélait des anticorps anti-plaquettes en présence de plusieurs médicaments, des épreuves d'adsorption-élution ont été réalisées afin de déterminer si un ou plusieurs anticorps étaient responsables de cette réactivité.

Cette technique se déroule en plusieurs étapes :

- **L'étape d'adsorption** : il s'agit de l'incubation d'un pool de plaquettes issu de donneurs sains avec le sérum du patient, et ce en présence du médicament A suspect. Elle a pour but de former les complexes « Gp-médicament A-Ac anti-plaquettes médicament A-dépendant ».
- **L'étape d'élution** : une fois ces complexes formés, les plaquettes sont centrifugées et les anticorps sont élués, c'est à dire décrochés de leur antigène cible.

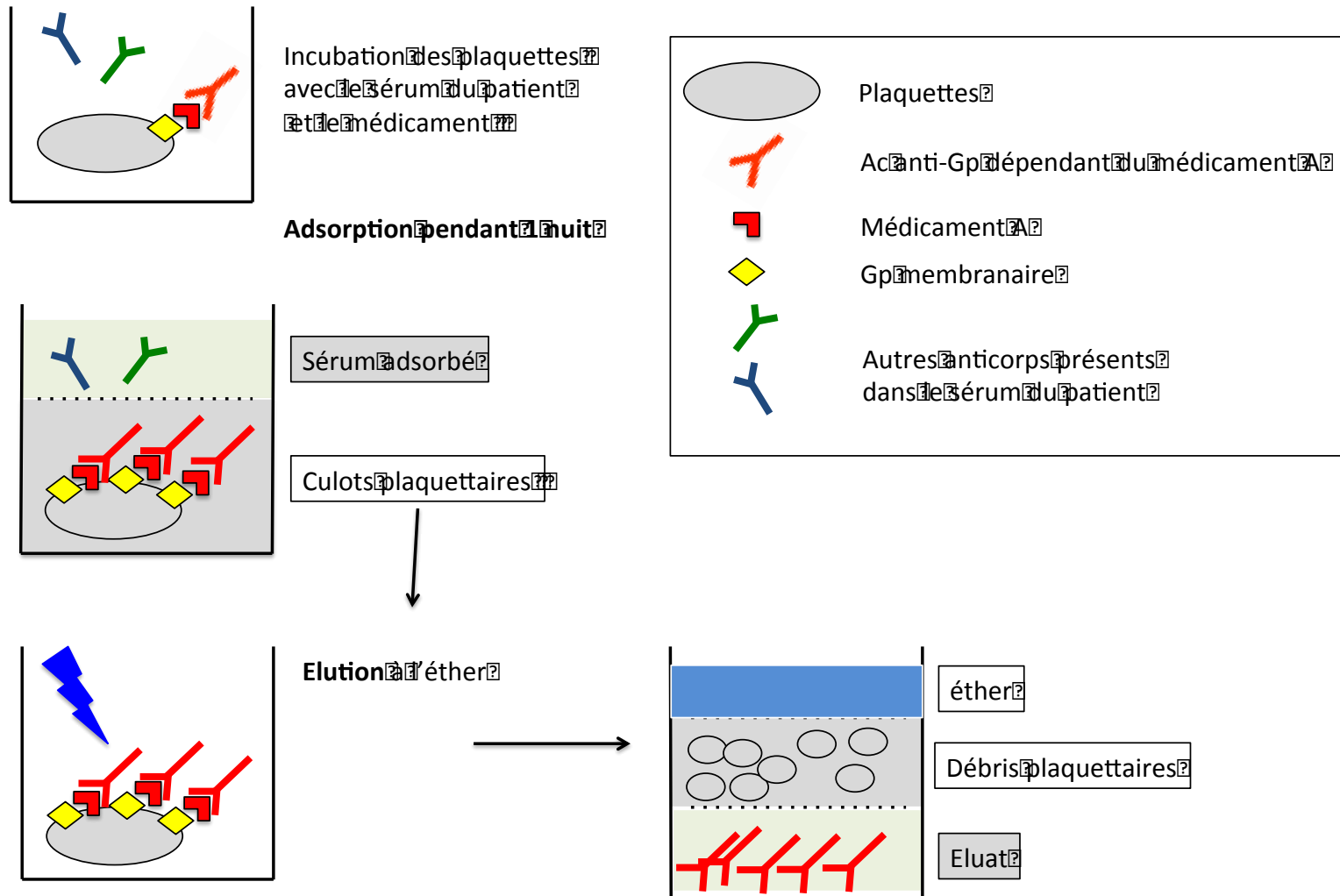
b. Technique de l'adsorption-élution

- Adsorption :
 - Prélever 1ml de plaquettes à la concentration de 500000 plaquettes/ μ L. Les centrifuger et les remettre en suspension dans 1mL de PBS-BSA 2% afin de les laver. Centrifuger à nouveau, éliminer le surnageant. Refaire ces étapes une fois afin de réaliser 2 lavages.
 - Sur le culot plaquettaire obtenu, ajouter 1ml de sérum du patient ainsi que 2mg/ml du médicament A à tester.
 - Laisser incuber une nuit à 37°C.
 - Le lendemain, centrifuger la solution obtenue afin d'obtenir le surnageant correspondant au sérum absorbé et le culot plaquettaire correspondant aux complexes plaquettes-médicament A-anticorps médicament A dépendant.
 - Ajouter 1ml de solution de PBS/BSA/EDTA et 2mg/ml du médicament A. Réaliser 3 lavages afin d'éliminer le sérum résiduel.
- Elution :

- Remettre en suspension le culot plaquettaire dans 1mL de PBS/BSA/EDTA + médicament
- Elution à l'éther avec 2ml d'éther.
- Incubation 30 min à 37° en agitant toutes les 10 min.
- Centrifugation
- Trois phases sont obtenues : la phase supérieure qui correspond à l'éther, la phase intermédiaire qui correspond aux débris de plaquettes et la phase inférieure contenant les anticorps anti-plaquettes élués (éluat)
- Récupérer l'éluat, qui sera testé dans la technique de MAIPA.

Les tests utilisant de l'oxaliplatine ont été réalisés dans un laboratoire L2, répondant aux normes de sécurité pour l'utilisation des chimiothérapies.

Figure 4. Méthode d'adsorption/élution pour la recherche d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendants



c. Interprétation des résultats du test d'adsorption-élution

A l'issue des étapes d'adsorption et d'élution, trois échantillons sont récupérés pour être testés à nouveau lors d'un MAIPA en présence de médicament.

Tableau 4. Règles d'interprétation des tests d'adsorption/élution

MAIPA initial

	MAIPA sans médicament	MAIPA avec le médicament A	MAIPA avec le médicament B
Sérum pur	Négatif	Positif	Positif

Interprétation : le test confirme la présence d'anticorps anti-plaquettes dépendant du médicament 1 et du médicament 2.

Tableau 4a. Résultats après test d'adsorption/élution avec le médicament A, si l'activité anti-plaquette retrouvée avec les deux médicaments est liée à un seul anticorps.

	MAIPA avec le médicament A	MAIPA avec le médicament B
Sérum adsorbé	Positif mais plus faiblement que le sérum pur, peut être négatif	Positif mais plus faiblement que le sérum pur, peut être négatif
Eau de lavage	Négatif	Négatif
Eluat	Positif	Positif

Interprétation : Si un seul anticorps est responsable de la réactivité médicament-dépendante vis à vis des deux médicaments :

- (1) **Le sérum adsorbé** en présence du médicament A doit retrouver une quantité moindre voire absente d'anticorps anti-médicament A et B
- (2) **la dernière eau de lavage des plaquettes** juste avant l'étape d'élution est théoriquement dépourvue d'anticorps anti-plaquettes circulants, témoignant de l'absence de sérum résiduel dans l'éluat obtenu après adsorption.
- (3) **L'éluat** doit contenir les anticorps anti-plaquettes actifs en présence des médicaments A et B.

Tableau 4b. Résultats après test d'adsorption/élution avec le médicament A si l'activité anti-plaquette retrouvée avec les 2 médicaments est liée à deux anticorps différents.

	MAIPA avec le médicament A	MAIPA avec le médicament B
Sérum adsorbé	Positif mais plus faiblement que le sérum pur, peut être négatif	Positif
Eau de lavage	Négatif	Négatif
Eluat	Positif	Négatif

Interprétation : Si deux anticorps distincts, actifs en présence des deux médicaments A et B, étaient présents dans le sérum initial, les résultats obtenus sont les suivants :

- (1) **le sérum adsorbé** en présence du médicament A doit contenir une quantité moindre voire absente d'anticorps anti-plaquettes dépendants du médicament A. La positivité vis-à-vis du médicament B ne doit pas changer.
- (2) **la dernière eau de lavage des plaquettes** doit être dépourvue d'anticorps anti-plaquettes.
- (3) **l'éluat** doit contenir de façon isolée les anticorps anti-plaquettes dépendants du médicament A, sans réactivité en présence du médicament B.

Les réactions inverses sont observées en cas d'adsorption avec le médicament B.

5. Analyses effectivement réalisées pour les 6 patients étudiés

Pour les six patients décrits dans ce travail, la recherche d'anticorps anti-plaquettes a été réalisée par la technique de MAIPA, initialement sans médicament, pour vérifier l'absence d'allo ou d'auto-anticorps anti-plaquettes, puis en présence du ou des médicaments potentiellement incriminés. Les différentes concentrations de médicaments utilisées étaient de 1mg/mL, sauf pour l'acide folinique utilisé à 1.5mg/mL (la concentration de 1mg/mL étant en deçà de la concentration physiologique théorique). Les tests de MAIPA ont initialement été réalisés avec des anticorps monoclonaux anti-GpIIb/IIIa et anti-GpIb/IX pour l'ensemble des médicaments suspects, et anti-GpIa/IIa uniquement en présence de MP.

Secondairement, des tests d'adsorption-élution ont été réalisés sur les sera du patient 5 afin de déterminer si un ou plusieurs anticorps médicament-dépendants étaient responsables des épisodes de thrombopénies constatés.

RESULTATS

1. Description clinique et biologique des 6 patients avec résultats des recherches d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendants

Les données cliniques et biologiques des 6 patients sont résumées dans le Tableau 9.

- **Patient 1 (Tableau 5a) :** Monsieur B., 63 ans, est suivi pour une sclérose en plaques primaire progressive traitée par bolus mensuel de MP. Dix bolus de 1 g de méthylprednisolone (MP) lui sont administrés sans complication entre décembre 2006 et mars 2008. En avril 2008, immédiatement après la onzième administration de MP, il présente un purpura des membres inférieurs et une thrombopénie sévère (26 G/L). Celle-ci est isolée sur la NFS et spontanément résolutive en 4 jours. Au décours du bolus suivant réalisé un mois après, le patient est hospitalisé pour un purpura diffus et des gingivorragies survenant quelques heures après la perfusion de MP. L'interrogatoire ne révèle pas d'autres prises médicamenteuses, de remèdes à base de plantes ou de compléments alimentaires. La NFS met en évidence une thrombopénie à 7 G/L, une hémoglobine à 15,7 g/dL et des leucocytes à 12 G/L (dont 80% de polynucléaires neutrophiles). Le reste du bilan biologique (créatinine, tests hépatiques, CRP, LDH, schizocytes, EPP, sérologie VIH, VHB, VHC) est normal ou négatif. Dans l'hypothèse d'un purpura thrombopénique immunologique, le patient reçoit 40 g d'immunoglobulines intraveineuses associées à de la prednisone par voie orale. Le taux de plaquettes se normalise en moins de 7 jours. La prescription de MP est alors définitivement contre-indiquée dans l'hypothèse d'une association entre la thrombopénie et l'administration du bolus de MP. Aucune récurrence de thrombopénie aiguë sévère ne sera ensuite décrite. L'étude du dossier médical du patient ne retrouve pas d'administration de dexaméthasone, d'ondansetron, d'acide folinique ou d'oxaliplatine.

En l'absence de médicament, la recherche d'anticorps anti-plaquettes est négative. La recherche d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendant par technique de MAIPA pratiquée sur des sera du 11/06/2008 et du 7/10/2008 avec un anticorps monoclonal anti-GpIIb/IIIa est positive en présence de MP et négative en présence de dexaméthasone,

d'ondensetron, d'acide folinique et d'oxaliplatine. La recherche d'anticorps anti-plaquettes avec l'anticorps monoclonal anti-GpIa/IIa et avec l'anticorps monoclonal anti-GpIb/IX en présence de MP est négative (Tableau 5b).

- **Patient 2 (Tableau 5a) :** Monsieur S., 50 ans, est suivi pour un carcinome urothélial infiltrant métastatique diagnostiqué en mars 2015 de façon concomitante à un adénocarcinome pulmonaire. Le patient est aussi suivi pour une bronchopneumopathie chronique obstructive post-tabagique. Le patient est hospitalisé le 14 avril 2015 pour une première cure de chimiothérapie par carboplatine et gemcitabine. Le taux de plaquettes avant la séance de chimiothérapie est égal à 391 G/L. Alors que la prémédication de la chimiothérapie (par ondensetron et MP) est en cours de perfusion, le patient se plaint de douleur thoracique associée à une dyspnée avec bronchospasme motivant l'arrêt du protocole de chimiothérapie. La NFS réalisée 1h15 après le début de la perfusion met en évidence une thrombopénie isolée à 107 G/L, puis 41 G/L le lendemain matin. La thrombopénie se corrige spontanément en 5 jours. Quinze jours plus tard, le patient est à nouveau hospitalisé pour l'administration de chimiothérapie. Son taux de plaquettes avant traitement est de 448 G/L. La même prémédication (ondensetron et MP) est administrée à 15h suivie de la perfusion de carboplatine puis de gemcitabine. Une heure après le début du traitement, le patient se plaint de dyspnée et d'une hématurie totale. La NFS réalisée à 17h met en évidence une thrombopénie à 25 G/L puis 2 G/L le lendemain à 8h. Le reste de la NFS est inchangée. Un traitement par transfusion de plaquettes et immunoglobulines intraveineuses est administré. Malgré la correction de la thrombopénie en 5 jours, l'hématurie se complique d'une insuffisance rénale aiguë obstructive par « caillottage » des voies urinaires justifiant un transfert en réanimation pour hemodialyse. Son hospitalisation se complique de multiples épisodes infectieux entraînant le report de la chimiothérapie. Le patient décède le 25/06 sans qu'aucune nouvelle chimiothérapie n'ait pu être administrée.

En l'absence de médicament, la recherche d'anticorps anti-plaquettes est négative. La recherche d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendant par technique de MAIPA, pratiquée sur les sera du 5 et 10 juin 2015, et avec un anticorps monoclonal anti-GpIIb/IIIa est positive en présence de MP et négative en présence de dexaméthasone. La recherche d'anticorps en présence d'ondensetron n'a pas pu être réalisée en raison d'une quantité insuffisante de sérum. La recherche d'anticorps anti-plaquettes avec l'anticorps monoclonal anti-GpIa/IIa et avec l'anticorps monoclonal anti-GpIb/IX en présence de MP est négative (Tableau 5b).

- **Patient 3 (Tableau 5a) :** Madame C., 49 ans, est suivie pour un adénocarcinome colique métastatique, opérée en juin 2005 puis traitée par bevacizumab jusqu'en 2008. En raison d'une progression tumorale, un traitement par protocole FOLFOX (oxaliplatine 85mg/m², acide folinique 400mg/m², 5FU 400mg/m² puis en débit continu 2400mg/m² sur 46h avec prémédication par MP et ondansetron) – bevacizumab est initié en septembre 2008. Au décours de la prémédication (ondansetron et MP) de la 12^e cure la patiente présente un épisode de frissons isolé. La chimiothérapie est cependant administrée et la NFS faite de façon systématique à H24 met en évidence une thrombopénie à 18 G/L isolée et asymptomatique, spontanément résolutive en 10 jours. Les 2 cures suivantes sont réalisées sans complication rapportée et sans NFS systématique. Lors de la 15^e cure (4/8/2009), des frissons et un purpura diffus apparaissant à la fin de la séance de chimiothérapie motivent la réalisation d'une NFS qui met en évidence une thrombopénie à 5 G/L (versus 133 G/L avant chimiothérapie). La patiente est hospitalisée et reçoit à nouveau une injection de MP (60 mg), sans réaction clinique particulière, ainsi que des transfusions de concentrés plaquettaires et de la prednisone orale pendant 10 jours. La thrombopénie se corrige en 8 jours. Le traitement par oxaliplatine est suspendu et la chimiothérapie est poursuivie par capécitabine puis panitumumab (sans prémédication préalable) qu'elle reçoit jusqu'en septembre 2010 sans complication. En raison d'une progression tumorale, une nouvelle ligne de chimiothérapie par panitumumab et irinotecan est débutée le 22/09/2010 avec la même prémédication par ondansetron et MP. Les plaquettes avant traitement sont à 179 G/L. Lors de cette première cure, la patiente se plaint de dyspnée et d'une douleur épigastrique survenant au décours de la prémédication par MP. La NFS retrouve une thrombopénie profonde à 7 G/L. L'irinotecan n'est pas administré. La patiente reçoit un traitement par hémisuccinate d'hydrocortisone, polaramine et ranitidine. La thrombopénie se corrige progressivement en 5 jours. L'administration de MP est par la suite suspendue car suspecte d'être la cause des épisodes de thrombopénies, et les prémédications des cycles suivants sont réalisées à l'aide de dexaméthasone. La patiente reçoit de l'irinotecan puis à nouveau de l'oxaliplatine sans complication.

En l'absence de médicament, la recherche d'anticorps anti-plaquettes est négative. La recherche d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendant par technique de MAIPA, pratiquée sur le sérum du 7/10/2010, avec un anticorps monoclonal anti-GpIIb/IIIa est positive en présence de MP et négative en présence de dexaméthasone, d'ondansetron, d'acide folinique et d'oxaliplatine. La recherche d'anticorps anti-plaquettes avec un anticorps monoclonal anti-GpIb/IX en présence d'oxaliplatine et de MP est négative. La

recherche d'anticorps anti-plaquette avec l'anticorps monoclonal anti-GpIa/IIa en présence de MP est négatif (Tableau 5b).

Tableau 5. Patients 1, 2 et 3 : description clinique et biologique des épisodes de thrombopénies

Tableau 5a. Description clinique des épisodes de thrombopénies chez les patients 1, 2 et 3.

Identité	Patient n°1, M. B., 63ans	Patient n°2, M.S., 50ans	Patiente n°3, M me C. ,49ans
Pathologie principale	SEP	Carcinome urothélial et Cancer du poumon BPCO	Cancer colique métastatique
Traitements reçus avant le 1 ^{er} épisode de thrombopénie	11 bolus de MP entre 2006 à 2008	ATCD de corticothérapie? (Pas de chimiothérapie avant 1 ^{re} réaction)	FOLFOX 6 mois en 2005-2006 FOLFOX-Avastin depuis septembre 2008
N épisodes de thrombopénie	2 (18/4/08 et 28/5/08)	2 (14/4/15 et 28/4/15)	3 (3/6/2009, 4/8/09 et 22/9/10)
MP	XX	XX	XXX
DXM			0
ODS		XX	XX
OXA			X0
5-FU + A.FOL			XX
IRINO			0
CARBO		X	
GEMTB		X	

Abréviations : A.FOL : acide folinique ; BPCO : broncho-pneumopathie chronique obstructive ; CARBO : carboplatine ; DXM : dexaméthasone ; FOLFOX : protocole de chimiothérapie comprenant de l'oxaliplatine du 5-FU et de l'acide folinique ; GEMTB : gemcitabine ; IRINO : irinotecan ; MP : méthylprednisolone ; ODS : ondansétron ; OXA : oxaliplatine ; SEP : sclérose en plaque ; 5-FU : 5-Fluorouracile.

Légendes

X : administration du médicament lors des épisodes de thrombopénie

0 : administration du médicament sans conséquence sur le taux de plaquettes

Tableau 5b. Recherche d'anticorps anti-plaquettes en présence des différents médicaments chez les patients 1, 2 et 3.

Recherche d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendants par MAIPA						
Identité	Patient n°1, M. B., 63ans		Patient n°2, M.S., 50ans		Patiente n°3, M me C. ,49ans	
Date du sérum	11/06/08 et 7/10/08		5 et 10/6/15		7/10/10	
Avec anticorps monoclonal anti-GpIIb/IIIa	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Positif	Négatif
	MP	DXM ODS A.FOL OXA	MP	DXM	MP	DXM ODS A.FOL OXA
Avec anticorps monoclonal anti-GpI/bIX		MP		MP ?		OXA MP
Avec anticorps monoclonal anti-GpIa/IIa		MP		MP ?		MP

Abréviations

A.FOL : acide folinique ; DXM : dexamethasone ; MAIPA : Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigen assay ; MP : méthylprednisolone ; ODS : ondansetron ; OXA : oxaliplatine.

- **Patient 4 (Tableau 6a) :** Monsieur D., 64 ans, est suivi pour un adénocarcinome colique depuis 2003. Il est traité par le protocole FOLFOX (oxaliplatine-5FU-acide folinique) entre 2003 et 2004 puis FOLFIRI (irinotecan-5FU-acide folinique) de 2006 à 2010, puis FOLFIRI en association avec du bévacizumab puis avec du cetuximab. En mai 2010, une nouvelle ligne de traitement par oxaliplatine-capécitabine est débuté, associé à une prémédication par MP et ondansetron. Lors de la première cure, une thrombopénie profonde est mise en évidence de façon fortuite sur un bilan systématique réalisé 24 heures après traitement (plaquettes à 5 G/L versus 104 G/L avant traitement). Un traitement par transfusion de plaquettes, immunoglobulines intraveineuses à la dose de 1g/kg et 21 jours de prednisone est instauré. Les plaquettes se normalisent en 10 jours. A la suite de cet épisode, l'oxaliplatine est arrêtée avant d'être reprise en mars 2011 en raison d'une progression tumorale. Le 31/03/2011, pendant la prémédication de la chimiothérapie (par MP et ondansetron), le patient se plaint de fièvre et de frissons. La NFS révèle une thrombopénie profonde et isolée à 5 G/L avant même la perfusion d'oxaliplatine, qui n'est donc pas administrée. Un traitement par transfusion plaquettaire, immunoglobulines intraveineuses et prednisone est débuté. La thrombopénie se corrige en 12 jours. Par la suite, le patient va présenter 6 autres épisodes de thrombopénie aiguë, 3 après perfusion d'oxaliplatine (le 4/08/2011 sans prémédication par MP, le 3/5/2012 associée à de l'hémisuccinate d'hydrocortisone, du 5-FU et de l'acide folinique et le 16/5/2012 en perfusion isolée), 2 après administration de MP seul (la première lors d'un test encadré de réintroduction médicamenteuse le 14/09/2011, la seconde lors d'une hospitalisation en neurochirurgie le 28/3/2012), et enfin une après perfusion concomitante en Y d'irinotecan et d'acide folinique le 9/08/2012. Le patient reçoit par ailleurs des perfusions d'ondansetron seul, de sérum physiologique seul et d'irinotecan seul sans complication. L'ensemble des épisodes de thrombopénie se complique de signes cliniques au cours de la perfusion : fièvre, frissons, prurit, hypotension artérielle et/ou dyspnée. Un purpura des membres inférieurs était présent au cours de 5 des 6 épisodes de thrombopénie sans survenue de complication hémorragique viscérale grave.

Tableau 6. Patient 4 : description clinique et biologique des épisodes de thrombopénies

Tableau 6a. Description clinique des épisodes de thrombopénies chez le patient 4.

PATIENT n°4, M. D., 64 ans, cancer colorectal Chimiothérapie préalable : 2003-2004 : FOLFOX puis FOLFIRI, 2006 : FOLFIRI-Avastin puis FOLFIRI-Erbitux, 2010 : XELOX												
Date	15/6/10	31/3/11	1/7/11	4/8/11	14/9/11 Test de Réintroduction		28/3/12	3/5/12	16/5/12	31/05/12 Au 12/07/12	9/8/12	23/8/12
MP	X	X				X	X					
DXM				X								
ODS	X	X	0		0					0		
HSHC								X				
OXA	X			X				X	X			
IRINO										0	X	0
5-FU								X				
A.FOL								X			X	

Abréviations : A.FOL : acide folinique ; DXM : dexaméthasone ; FOLFIRI : protocole de chimiothérapie comprenant de l'irinotecan du 5-FU et de l'acide folinique ; FOLFOX : protocole de chimiothérapie comprenant de l'oxaliplatine du 5-FU et de l'acide folinique ; HSHC : hemisuccinate d'hydrocortisone ; IRINO : irinotecan ; MAIPA : Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigen assay ; MP :

méthylprednisolone ; OXA : oxaliplatine ; ODS : ondansetron ; XELOX: protocole de chimiothérapie comprenant de l'oxaliplatine et de la capécitabine ; 5-FU : 5-Fluorouracile.

Légende

X : administration du médicament lors des épisodes de thrombopénie

0 : administration du médicament sans conséquence sur le taux de plaquettes

En l'absence de médicament, la recherche d'anticorps anti-plaquettes est négative. La recherche d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendant par technique de MAIPA, réalisée sur le sérum du 22/6/2011, avec un anticorps monoclonal anti-GpIIb/IIIa est positive en présence de MP et d'oxaliplatine, et négative en présence de dexaméthasone, d'ondansetron, d'acide folinique et d'irinotecan. Le test de MAIPA avec anticorps monoclonal anti-GpIb/IX en présence d'irinotecan et de MP est négatif. Le test de MAIPA avec l'anticorps monoclonal anti-GpIa/IIa en présence de MP est négatif (tableau 6b).

Tableau 6b. Recherche d'anticorps anti-plaquettes en présence des différents médicaments chez le patient 4.

Recherche d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendants par test de MAIPA		
Date du sérum	22/6/11	
MAIPA	Positif	Négatif
Avec anticorps monoclonal anti-GpIIb/IIIa	MP OXA	DXM IRINO ODS A.FOL
Avec anticorps monoclonal anti-GpIb/IX		IRINO MP
Avec anticorps monoclonal anti-GpIa/IIa		MP

Abréviations : A.FOL : acide folinique ; DXM : dexaméthasone ; IRINO : irinotecan ; MAIPA : Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigen assay ; MP : méthylprednisolone ; OXA : oxaliplatine ; ODS : ondansetron.

- **Patient 5 (Tableau 7) :** Monsieur R., 75 ans, est suivi pour un adénocarcinome bilio-pancréatique compliqué d'une carcinose péritonéale. Il est traité par le protocole FOLFOX et gemcitabine par intermittence entre Août 2014 et Juillet 2017. Lors du 7^e cycle et au décours de l'administration de la prémédication par ondansetron et MP, le patient présente des frissons et des lombalgies. La NFS montre une thrombopénie profonde à 4 G/L versus 145 G/L avant traitement. Les perfusions d'oxaliplatine de 5-FU et d'acide folinique ne sont pas administrées. Le patient reçoit une transfusion de concentrés plaquettaires. La thrombopénie se corrige en 8 jours. Quinze jours plus tard (24/7/2017), la perfusion d'oxaliplatine, précédée d'une prémédication par MP, est interrompue prématurément en raison de frissons, lombalgies et gingivorragies. Le taux de plaquettes est alors à 3 G/L (*versus* 169 G/L avant chimiothérapie) et se corrige en 7 jours, sans rendement des transfusions de concentrés plaquettaires. Le patient présente ensuite 5 épisodes de thrombopénies aiguës après administration de MP seule (le 10/8/2017 et le 21/8/2017), d'acide folinique (associé à de l'oxaliplatine et du 5-FU le 21/09/2017, à de l'irinotecan le 20/10/2017, et en injection seule le 6/11/2017). Le patient reçoit de l'irinotecan seul et du 5-FU seul sans complication. Les épisodes de thrombopénies sont tous précédés de frissons, fièvre, céphalées, flush et/ou lombalgies. Les complications hémorragiques sont minimales avec du purpura ou des gingivorragies isolées. Tous ces épisodes sont résolutifs entre 5 et 12 jours après l'arrêt du médicament et sans rendement des transfusions de concentrés plaquettaires.

Tableau 7. Patient 5 : description clinique et biologique des épisodes de thrombopénies

Tableau 7a. Description clinique des épisodes de thrombopénies chez le patient 5.

PATIENT n°5, M.R., 75 ans, cancer biliopancréatique Chimiothérapie antérieures : 2014-2016 : FOLFOX 02/2016 à 03/2017 : Gemzar Reprise du protocole FOLFOX depuis avril 2017								
Date	10/7/17	24/7/17	10/8/17	21/9/17	20/10/17	21/10/17	6/11/17	11/17 à 01/18
MP	X	X	X			X		
ODS	X							
OXA	X	X		X				
IRINO					X			0
5-FU				X				0
A.FOL				X	X		X	

Abréviations : A.FOL : acide folinique ; DXM : dexaméthasone ; FOLFOX : protocole de chimiothérapie comprenant de l'oxaliplatine du 5-FU et de l'acide folinique ; IRINO : irinotecan ; MP : méthylprednisolone ; OXA : oxaliplatine ; ODS : ondansétron ; 5-FU : 5-Fluorouracile.

Légende

X : administration du médicament lors des épisodes de thrombopénie

0 : administration du médicament sans conséquence sur le taux de plaquettes

En l'absence de médicament, la recherche d'anticorps anti-plaquettes est négative. La recherche d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendant par technique de MAIPA, réalisée sur les sera du 14/8/17, du 9/11/17 et du 9/12/17, avec l'anticorps monoclonal anti-GpIIb/IIIa est positive en présence de MP et d'acide folinique. Ce test réalisé sur le sérum du 9/12/17 est négatif en présence de dexaméthasone, d'ondansetron, d'oxaliplatine et d'irinotecan. Sur le même sérum, la recherche d'anticorps anti-plaquettes avec un anticorps monoclonal anti-GpIb/IX est négative en présence d'oxaliplatine, de MP et d'irinotecan. La recherche d'anticorps anti-plaquettes avec un anticorps anti-GpIa/IIa en présence de MP est négative (Tableau 7b).

Tableau 7b. Recherche d'anticorps anti-plaquettes en présence des différents médicaments chez le patient 5.

Recherche d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendants par test de MAIPA								
Date du sérum	14/8/17			9/11/17			9/12/17	
MAIPA	Positif	Négatif		Positif	Négatif		Positif	Négatif
Avec anticorps monoclonal anti-GpIIb/IIIa	MP A.FOL	DXM		MP A.FOL	DXM ODS OXA			IRINO
Avec anticorps monoclonal anti-GpIb/IX		MP			MP			OXA IRINO MP
Avec anticorps monoclonal anti-GpIa/IIa		MP			MP			MP

Abréviations : A.FOL : *acide folinique* ; DXM : *dexamethasone* ; IRINO : *irinotecan* ; MAIPA : *Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigen assay* ; MP : *méthylprednisolone* ; OXA : *oxaliplatine* ; ODS : *ondansetron* ; 5-FU : *5-Fluorouracile*.

- **Patiente 6 (Tableau 8) :** Madame F., 49 ans, est suivie pour un adénocarcinome colique métastatique diagnostiqué en janvier 2010. Elle est reçue 26 cures de chimiothérapie par le protocole FOLFOX (oxaliplatine-5-FU-acide folinique). Lors de la séance du 7/2/11 (27^e cure), la patiente présente des frissons et des lombalgies fébriles, 3 heures après la prémédication par ondansétron et MP et 2 heures après la perfusion d'oxaliplatine. La perfusion de 5-FU est interrompue. Le taux de plaquettes est égal à 2 G/L *versus* 123 G/L avant traitement. Les plaquettes se normalisent spontanément en 4 jours. Le protocole FOLFOX est arrêté et relayé par un protocole FOLFIRI (irinotecan 180mg/m² IV 90min, acide folinique 400mg/m² en Y avec l'irinotecan, puis 5-FU bolus 400mg/m² puis en débit continu 2400mg/m² sur 46h) avec la même prémédication par MP et ondansétron. La patiente présente la même réaction d'intolérance clinique et biologique le 1/3/11 lors de la 1^{re} cure de FOLFIRI. Après deux mois sans chimiothérapie, la patiente est hospitalisée pour un test de réintroduction des différents médicaments. L'injection de MP puis de dexaméthasone et de 5-FU n'entraîne pas de réaction clinico-biologique. Le 8/6/11, le protocole FOLFOX est repris et une récurrence de thrombopénie à 9 G/L est observée le soir même de la chimiothérapie (*versus* 156 G/L avant chimiothérapie). L'oxaliplatine est définitivement arrêtée et remplacée par le protocole FOLFIRI avec la même prémédication par MP et ondansétron, malgré la réaction survenue en mars 2011. La patiente reçoit 6 séances de cette chimiothérapie, entre le 23/6/11 et 25/10/11, sans complication majeure, mais avec des épisodes de frissons et des thrombopénies modérées (134 *versus* 333 G/L avant chimiothérapie, 86 G/L *versus* 228 G/L avant chimiothérapie). Au décours de la 7^e séance de FOLFIRI le 8/11/11, une thrombopénie franche est constatée sur le contrôle NFS post chimiothérapie (21 G/L *versus* 260 G/L avant chimiothérapie), sans signe clinique associé. Après normalisation de la NFS, un deuxième test de réintroduction est réalisé avec des NFS de contrôle avant et 1 heure après chacune des molécules administrées. Les injections d'ondansétron, de bevacizumab, de MP et d'irinotecan n'entraînent aucune variation du taux de plaquettes. L'injection d'acide folinique entraîne une chute des plaquettes de 138 G/L à 49 G/L en une heure puis à 17 G/L à deux heures. Il est alors décidé de poursuivre les cures de FOLFIRI en allongeant la durée des séances sur 2 jours et en réduisant de moitié la dose d'acide folinique administrée. Trois cures sont ainsi réalisées sans complications. La 4^e (1/5/12) se complique d'un épisode de thrombopénie sévère. Après l'arrêt de l'oxaliplatine, la diminution de la dose d'acide folinique, la MP est suspectée et est remplacée par de la dexaméthasone. La patiente est ainsi traitée par protocole FOLFIRI avec prémédication

par ondasetron et dexaméthasone et demi-dose d'acide folinique pendant 4 cures entre mai et juin 2012 sans complications, puis le même protocole est poursuivi entre novembre 2012 et février 2014. En raison d'une progression tumorale, il est décidé de reprendre le protocole FOLFOX sans MP. Dès la première séance le 16/3/15, la thrombopénie récidive à 19 G/L en fin de séance *versus* 249 G/L avant. Une deuxième séance est réalisée 15 jours plus tard et se complique d'une thrombopénie (0 G/L *versus* 230 G/L avant chimiothérapie). La patiente reçoit ensuite 4 cures supplémentaires de FOLFIRI avec prémédication par dexaméthasone sans complications. Devant l'évolution tumorale, une nouvelle cure de FOLFOX est réalisée le 21/10/15, après prémédication par dexaméthasone et immunoglobulines intraveineuses à la dose de 1g/kg et se complique à nouveau d'une thrombopénie à 17 G/L. La patiente décèdera 3 jours plus tard d'une pneumonie d'inhalation. Aucun des épisodes de thrombopénie ne s'est compliqué de syndrome hémorragique grave.

Tableau 8. Patiente 6 : description clinique et biologique des épisodes de thrombopénies survenant chez le patient 6

Tableau 8a. Description clinique des épisodes de thrombopénies chez la patiente 6.

PATIENTE n°6 : M me F., 49ans, cancer colique Chimiothérapies antérieures FOLFOX Avastin 26 cures															
Date	7/2/11	1/3/11	21/5/11 Test de reintroduction Plaquettes avant traitement=188 G/L	8/6/11	23/6/11 au 25/10/11 (6 cures)	8/11/11	1/3/12 Test de reintroduction Plaquettes avant traitement=183 G/L	17/3/12 au 16/4/12 (3 cures)	1/5/12	5/12 à 6/12 (4 cures)	11/12 à 09/14 (36 cures)	16/3/15	30/3/15	07/15 à 09/15 (4 cures)	21/10/15
MP	X	X	X? Plaquettes=110G/L		X*	X	0	0	X						
DXM			0	X						0	0	X	X	0	
HSHC															
ODS	X	X		X	X*	X	0								
OXA	X			X								X	X		X
IRINO		X			X*	X	0	0	X		0			0	
5-FU	X	X	0		X*	X		0	X	0	0	X		0	X
A.FOL	X	X	0		X*	X	X Plaquettes=40G/L	0 ^s	X ^s	0	0	X		0	X

Légendes :

-13/9/2011: frissons, plaquettes=128 G/L en fin de chimiothérapie

-28/9/2011 : pas de symptômes, plaquettes =276 G/L en fin de chimiothérapie

-11/10/2011 : pas de symptômes, plaquettes =134 G/L en fin de chimiothérapie (versus 333 G/L avant)

-25/10/2011 : frissons, plaquettes =86 G/L en fin de chimiothérapie (versus 228 G/L avant)

§ : Acide folinique administré à demi-dose.

Abréviations

A.FOL : acide folinique ; DXM : dexaméthasone ; FOLFOX : protocole de chimiothérapie comprenant de l'oxaliplatine du 5-FU et de l'acide folinique ; HSHC : hemisuccinate d'hydrocortisone ; IRINO : irinotecan ; MAIPA : Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigen assay ; MP : méthylprednisolone ; OXA : oxaliplatine ; ODS : ondansétron ; 5-FU : 5-Fluorouracile.

Légende

***X** : administration du médicament lors des épisodes de thrombopénie*

***0** : administration du médicament sans conséquence sur le taux de plaquettes*

La recherche d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendant par technique de MAIPA avec l'anticorps monoclonal anti-GpIIb/IIIa, réalisée sur les prélèvements de 2011 (7/3/11, 19/4/11 et 9/11/11), est positive en présence de MP, d'acide folinique et d'oxaliplatine. Ce test est négatif en présence de dexaméthasone et d'ondensetron. Le MAIPA pratiqué sur le sérum du 9/11/11 avec l'anticorps monoclonal anti-GpIb/IX est négatif en présence de MP. La recherche d'anticorps anti-plaquettes réalisée sur le sérum du 9/11/11 avec l'anticorps monoclonal anti-GpIa/IIa en présence de MP est négative. Les résultats du MAIPA obtenus sur les différents prélèvements varient d'un sérum à l'autre. En effet, le MAIPA pratiqué avec l'anticorps monoclonal anti-GpIIb/IIIa est négatif en présence d'oxaliplatine sur le sérum du 16/10/15 et négatif en présence de d'acide folinique sur le sérum du 23/10/15. Sur ce dernier sérum, le test en présence d'oxaliplatine n'a pas pu être réalisé en raison d'une quantité insuffisante de sérum (Tableau 8b).

Tableau 8b. Recherche d'anticorps anti-plaquettes en présence des différents médicaments chez la patiente 6.

Recherche d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendants par test de MAIPA														
Date du sérum	7/3/11			19/4/11			9/11/11			16/10/15			23/10/15	
MAIPA	Positif	Négatif		Positif	Négatif		Positif	Négatif		Positif	Négatif		Positif	Négatif
Avec anticorps monoclonal anti-GpIIb/IIIa	MP A.FOL OXA	DXM ODS MP		MP A.FOL	DXM		MP A.FOL	DXM			OXA		MP	A.FOL
Avec anticorps monoclonal anti-GpIb/IX	non testé	non testé		non testé	non testé			MP		non testé	non testé		non testé	non testé
Avec anticorps monoclonal anti-GpIa/IIa	non testé	non testé		non testé	non testé			MP		non testé	non testé		non testé	non testé

Abréviations : A.FOL : acide folinique ; DXM : dexaméthasone ; IRINO : irinotecan ; MAIPA : Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigen assay ; MP : méthylprednisolone ; OXA : oxaliplatine ; ODS : ondensetron

Tableau 9. Résumé clinique et biologique des 6 patients décrits

Identité	Histoire clinique					Recherche d'anticorps anti-plaquettes par test du MAIPA en présence des différents médicaments ci dessous					
	Antécédent	Nombre de thrombopénie	Signes cliniques	Sd hémorragique	Médicaments suspects cliniquement	MP	DXM	ODS	OXA	IRINO	A.FOL
Patient 1 Homme 63 ans	SEP bolus de MP mensuel	3	0	Purpura, gingivorragies	MP	Positif (IIb/IIIa)	Négatif	Négatif	Négatif	NT	Négatif
Patient 2 Homme 50 ans	BPCO. Carcinome urothélial et ADK pulmonaire	2	Douleur thoracique, fièvre, frissons, dyspnée	Hématurie caillottante	MP Odensetron*	Positif (IIb/IIIa)	Négatif	NT	NT	NT	NT
Patient 3 Femme 49 ans	ADK colique FOLFOX bevacizumab	3	Douleur épigastrique, fièvre, frissons, dyspnée	Purpura	MP	Positif (IIb/IIIa)	Négatif	Négatif	Négatif	NT	Négatif
Patient 4 Homme 64 ans	ADK colique FOLFOX FOFIRI	8	Fièvre frissons, hypotension artérielle dyspnée, prurit	Purpura	MP Oxaliplatine Acide folinique [§]	Positif (IIb/IIIa)	Négatif	Négatif	Positif (IIb/IIIa)	Négatif	Négatif
Patient 5 Homme 75 ans	ADK biliopancréatique FOLFOX Gemcitabine	7	Fièvre, frissons, flush, lombalgie	Purpura, gingivorragie	MP Acide folinique	Positif (IIb/IIIa)	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif (IIb/IIIa)
Patient 6 Femme 49 ans	ADK colique FOLFOX bevacizumab	9	Fièvre, frissons, lombalgies	Purpura	MP Oxaliplatine, Acide folinique	Positif (IIb/IIIa)	Négatif	Négatif	Positif (IIb/IIIa)	NT	Positif (IIb/IIIa)

* : médicament suspect d'après l'histoire clinique mais dont les tests par MAIPA n'ont pas pu être réalisés en raison d'un manque de sérum

§: test par MAIPA en présence d'acide folinique réalisé avant la survenue d'une thrombopénie imputable à l'acide folinique (test négatif sur le sérum de juin 2011 et thrombopénie survenue en août 2012 sans sérum disponible au laboratoire).

Abréviations : A.FOL : acide folinique ; ADK : adénocarcinome ; DXM : dexaméthasone ; FOLFIRI : protocole de chimiothérapie comprenant de l'irinotecan du 5-FU et de l'acide folinique ; FOLFOX : protocole de chimiothérapie comprenant de l'oxaliplatine du 5-FU et de l'acide folinique ; IRINO : irinotecan ; MAIPA : Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigen assay ; MP : méthylprednisone ; NT : non testé ; OXA : oxaliplatine ; ODS : ondansétron ; TIMD : thrombopénie immunologique médicament-dépendante ; 5-FU : 5-Fluorouracile

2. Résultats des méthodes d'adsorption-élution

En raison de la quantité insuffisante de sérum disponible pour certains patients, cette technique n'a pas pu être réalisée chez l'ensemble des patients. Nous présentons ici les résultats du patient 5 dont l'histoire clinique fait suspecter une thrombopénie immunologique liée à des anticorps actifs en présence de MP et d'acide folinique.

Tableau 10. Résultat des tests d'adsorption-élution (patient 5) réalisé avec le sérum du 18/12/2018, après adsorption avec de la MP puis avec de l'acide folinique.

Tableau 10a. Résultat sur sérum non adsorbé.

	MAIPA sans médicament	MAIPA en présence de 2mg/ml de MP	MAIPA en présence de 2mg/ml de d'acide folinique
DO	0,000	3,876	1,692

Interprétation : ces résultats affirment la présence d'anticorps anti-plaquettes actifs en présence de MP et d'acide folinique (DO>0,200).

Tableau 10b. Résultats après adsorption en présence de méthylprednisolone

	MAIPA en présence de 2mg/ml de MP	MAIPA en présence de 2mg/ml de d'acide folinique
Sérum adsorbé (DO)	3,612	0,297
Eau de lavage (DO)	0,297	0,000
Eluat (DO)	1,800	0,000

Interprétation : Après adsorption en présence de méthylprednisolone, on constate que :

- le sérum adsorbé reste fortement positif en présence du MP en raison d'un fort titre d'anticorps anti-plaquettes MP-dépendant. Le titre de l'anticorps acide folinique-dépendant diminue après adsorption en présence de MP du fait d'un effet de dilution.
- L'eau de lavage reste faiblement positive lors de la réalisation du MAIPA avec la MP témoignant de la persistance dans cette eau de lavage d'une activité résiduelle anti-

plaquettes dépendant de la MP, et donc d'un lavage insuffisant pour un anticorps à très fort titre.

- L'éluat est positif en présence de MP et négatif en présence d'acide folinique. Ce résultat oriente vers la présence d'anticorps anti-plaquettes dépendants de la MP et d'anticorps anti-plaquettes dépendants de l'acide folinique différents.

Tableau 10c. Résultat après adsorption en présence d'acide folinique.

	MAIPA avec 2mg/ml de MP	MAIPA avec 2mg/ml d'acide folinique
Sérum adsorbé (DO)	3,137	0,473
Eau de lavage (DO)	0,029	0,000
Eluat (DO)	0,064	0,234

Après adsorption en présence d'acide folinique, on constate que :

- le sérum absorbé reste positif en présence d'acide folinique en raison de la présence d'anticorps anti-plaquettes acide folinique-dépendant en excès dans ce sérum absorbé et également positif en présence de MP.
- L'eau de lavage est négative lors de la réalisation d'un lavage satisfaisant.
- L'éluat reste positif en MAIPA avec l'acide folinique et négatif en MAIPA avec la MP témoignant de la présence de deux types d'anticorps anti-plaquettes distincts dépendant d'une part de la MP et d'autre part de l'acide folinique.

DISCUSSION

Nous rapportons les cas de 6 patients présentant des thrombopénies immunologiques liées à des anticorps médicament-dépendants. Chez l'ensemble de ces patients, la recherche d'anticorps anti-plaquettes par test de MAIPA avec l'anticorps monoclonal anti-GpIIb/IIIa était négative en l'absence de tout médicament et positive en présence de méthylprednisolone. Il s'agit de la première série décrite de thrombopénie immunologique médicament-dépendante liée à la présence de méthylprednisolone. Cette étude confirme le cas du patient 1, décrit en 2010 et confirme que la MP doit être considérée comme l'un des médicaments pourvoyeur de thrombopénie médicamenteuse.

En dehors de l'administration du médicament, d'autres facteurs déclenchants ont été initialement évoqués pour expliquer ces épisodes de thrombopénies immunologiques :

1. *la présence d'un composé antigénique ou d'un excipient commun entre les différents médicaments incriminés qui seraient reconnus par l'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendant.* Cependant, les structures moléculaires de la MP, de l'oxaliplatine, de l'irinotecan et l'ondansetron sont différentes (**Annexe 1**), sans qu'il soit retrouvé de composé antigénique commun. Le seul excipient commun retrouvé entre la MP, l'oxaliplatine et l'acide folinique est l'hydroxyde de sodium qui est aussi présent dans d'autres traitements reçus par les patients et bien tolérés. Dans cette hypothèse d'excipient commun, les tests d'adsorption-élution auraient dû orienter vers un même anticorps médicament-dépendant, ce qui n'a pas été le cas.
2. *Le rôle du contenant et non du contenu.* Le cathéter central utilisé (port-a-cath) lors de l'administration des chimiothérapies aurait pu être incriminé dans ces épisodes de thrombopénies par le biais d'un composant allergène responsable des accidents immunologiques. Nous n'avons pas pu établir de lien entre l'utilisation du port-a-cath et les épisodes de thrombopénies, certains épisodes survenant après des perfusions sur voie périphérique et à l'inverse, des perfusions sur PAC ont été réalisées sans conséquence sur le taux plaquettaire.
3. *Le contexte néoplasique.* Cet élément est remarquable puisque 5 des 6 patients décrits sont traités pour des cancers digestifs. Cette constatation peut laisser supposer une activité antigénique de la tumeur elle-même ou d'un contexte particulier dys-immunitaire secondaire à la néoplasie qui serait responsable d'une activation du système immunitaire et donc de l'apparition de ces anticorps anti-plaquettes. Pour certaines pathologies néoplasiques un lien avec une ou des maladies auto-immunes

(leucémies lymphoïdes chronique et cytopénies auto-immunes⁵¹, myosites auto-immunes et certains cancers solides⁵²) a été décrit. Cependant les cancers digestifs n'ont jamais été rapportés comme possiblement associés à des maladies auto-immunes.

Finalement, l'analyse des 6 observations et les données des tests de MAIPA puis d'adsorption-élution ont permis de privilégier l'hypothèse de thrombopénies immunologiques médicament-dépendantes.

L'histoire clinique du premier patient retrouve une exposition quasi exclusive à la méthylprednisolone pour le traitement d'une sclérose en plaque. Le patient reçoit 10 bolus de MP avant de présenter la première TIMD. A deux reprises, le 18 avril et le 25 mai 2008, une thrombopénie profonde survient immédiatement après l'administration de MP. Ces épisodes ont les caractéristiques cliniques typiques d'une thrombopénie immuno-allergique : elles surviennent après un temps d'exposition préalable au médicament, elles sont brutales, profondes, résolutive spontanément et en une semaine à l'arrêt du médicament et la récurrence est immédiate à la réexposition du médicament impliqué. La recherche d'anticorps anti-plaquettes chez ce patient, réalisée sur deux prélèvements différents (juin et octobre 2008), révèle des anticorps anti-GpIIb/IIIa présents uniquement en présence de MP. Malgré l'absence d'autre exposition médicamenteuse décrite, nous avons également recherché des anticorps anti-GpIIb/IIIa en présence d'autre médicament et notamment en présence d'ondansetron, d'oxaliplatine et d'acide folinique : cette recherche s'est avérée négative.

Pour la totalité des 5 autres patients, les épisodes de TIMD surviennent dans un contexte de néoplasie digestive active et au décours d'une séance de chimiothérapie.

Le deuxième patient a une histoire carcinologique courte puisque les diagnostics de carcinome urothelial infiltrant et d'adénocarcinome pulmonaire concomitant sont posés quinze jours avant le premier épisode de thrombopénie. Le premier épisode de TIMD survient lors de la première séance de chimiothérapie au décours de la prémédication (par MP et ondansetron) et avant même l'administration de la chimiothérapie. Le deuxième épisode de TIMD survient 15 jours plus tard au décours de la première séance de chimiothérapie effectivement réalisée et comprenant la même prémédication par MP et ondansetron et l'administration de carboplatine et gemcitabine. Les tests de MAIPA, réalisés deux mois après les épisodes cliniques, révèlent des anticorps anti-GpIIb/IIIa en présence de MP. Ce test est négatif en présence de dexaméthasone. En raison d'une quantité insuffisante de sérum disponible, le test n'a pas pu être réalisé en présence d'ondansetron qui était la seconde

molécule potentiellement imputable dans la survenue de ces deux épisodes. Chez ce patient comme chez le premier décrit, il existe une bonne corrélation entre l'histoire clinique et les résultats du MAIPA. Dans l'histoire décrite, on ne retrouve pas dans de délai d'exposition préalable au médicament suspect, théoriquement indispensable pour la sensibilisation au médicament. Néanmoins, l'antécédent de bronchite chronique obstructive post-tabagique peut laisser penser à une exposition antérieure aux corticoïdes et en particulier à la méthylprednisolone. Enfin, ce patient est le seul sur les 6 décrits à présenter une complication hémorragique grave de la thrombopénie, probablement favorisée par la pathologie vésicale sous-jacente (insuffisance rénale aiguë obstructive par hématurie massive et « caillottage » des voies urinaires).

La troisième patiente est suivie pour un adénocarcinome colique et traitée par le protocole FOLFOX (avec prémédication par MP et ondansetron) entre 2005 et 2006 (12 cures) puis la chimiothérapie est interrompue et réinitiée en 2008. La patiente est traitée par le protocole FOLFOX pendant 11 cures avant le premier épisode de TIMD. Des signes cliniques immuno-allergiques frustrés apparus au décours de la 12^e cure font réaliser une NFS qui authentifie une thrombopénie. Néanmoins, en l'absence de signes cliniques décrits lors de la 13^e et la 14^e cure, la NFS n'est pas contrôlée en post chimiothérapie. C'est au décours de la 15^e cure que des frissons et l'apparition d'un purpura motivent la réalisation d'une NFS de contrôle qui révèle une thrombopénie profonde. Dans l'hypothèse d'un purpura thrombopénie immunologique, la patiente reçoit immédiatement une seconde dose de méthylprednisolone ainsi que des corticoïdes oraux. Il n'est pas noté de signes cliniques immuno-allergiques particuliers lors de l'administration de ce 2^e bolus de MP. Après ces deux épisodes, l'oxaliplatine suspecte d'être responsable des thrombopénies est interrompue, et la patiente reçoit des chimiothérapies orales ne nécessitant pas de prémédication. Un an plus tard, l'évolution tumorale nécessite la reprise d'une chimiothérapie intraveineuse par le protocole FOLFIRI. Au décours de la première prémédication (MP seule, sans ondansetron) et avant même l'administration de la chimiothérapie des signes cliniques immuno-allergiques font réaliser une NFS qui révèle une thrombopénie. Au final, cette patiente présente 3 épisodes de TIMD dont le seul dénominateur commun est la MP. L'oxaliplatine initialement imputée est finalement ré-administrée avec une prémédication par dexaméthasone sans complication. Les tests biologiques mettent en évidence la présence d'anticorps anti-GpIIb/IIIa uniquement en présence de MP, permettant de conclure à une bonne corrélation clinico-biologique.

Le quatrième patient reçoit plusieurs années de chimiothérapie par les protocoles FOLFOX et FOLFIRI avant les premiers signes d'intolérance. Il présente en tout 8 épisodes de TIMD

entre juin 2010 et mai 2012. Sur ces 8 épisodes, 7 suivent l'administration soit de MP (4 après perfusion de MP, dont deux administrés isolément), soit d'oxaliplatine (4 après perfusion d'oxaliplatine, dont une administrée isolément). Après le premier épisode en juin 2010, aucune administration de MP ou d'oxaliplatine n'est réalisée sans la survenue de thrombopénie. A l'inverse, le patient a reçu des perfusions d'ondansetron et d'irinotecan seul sans complication. Le dernier épisode de thrombopénie survient en août 2012 au cours de la perfusion concomitante d'irinotecan et d'acide folinique et sans administration préalable de MP. Biologiquement, on retrouve des anticorps anti-GpIIb/IIIa dépendants de la MP et des anticorps anti-GpIIb/IIIa dépendants de l'oxaliplatine qui concordent avec l'histoire clinique. Le test fait en présence d'acide folinique est négatif mais il est pratiqué sur un sérum de juin 2011 donc avant l'épisode clinique potentiellement imputable à l'acide folinique. Aucun sérum n'a été envoyé après le dernier épisode de thrombopénie en août 2012. Nous pouvons supposer que celui-ci aurait montré l'apparition d'anticorps anti-plaquettes dépendant de l'acide folinique et il est possible que ce patient ait présenté des TIMD à 3 médicaments distincts : la MP, l'oxaliplatine et l'acide folinique. Le MAIPA n'a pas été testé en présence d'irinotecan car ce traitement a été administré de façon isolée et sans complications avant et après la thrombopénie d'août 2012.

Le cinquième patient est le patient, le plus récent, est celui qui a motivé la réalisation de ce travail. Après deux ans de protocole FOLFOX, le patient a présenté le premier épisode de TIMD en juillet 2017. Sept épisodes de TIMD seront observés, soit au décours de perfusions contenant de la MP (pour 4 épisodes, dont 2 administrés isolément) soit au décours de perfusions contenant de l'acide folinique (pour 3 épisodes dont 1 administré isolément). Biologiquement des anticorps anti-GpIIb/IIIa dépendants de la MP et de l'acide folinique sont retrouvés. Les tests d'adsorption-élution mettent en évidence des anticorps anti-plaquettes dépendant de la MP distincts des anticorps anti-plaquettes dépendant de l'acide folinique. L'oxaliplatine, bien que suspectée et interrompue, n'a jamais été administrée de façon isolée. Les 3 injections ont été compliquées de thrombopénie mais associées soit à la MP, soit à l'acide folinique. La recherche d'anticorps anti-GpIIb/IIIa et anti-GpIb/IX dépendant de l'oxaliplatine est négative. Enfin, l'irinotecan a par la suite été administré sans MP ni acide folinique et sans complications. La corrélation clinico-biologique est établie pour ce patient, qui présente cliniquement et biologiquement une TIMD dépendante de la MP et de l'acide folinique. En revanche, il n'y a pas de démonstration clinico-biologique de responsabilité de l'oxaliplatine dans la survenue des différents épisodes de thrombopénies.

Enfin, la sixième patiente a une longue histoire carcinologique débutant avec le diagnostic de cancer en 2010 et se terminant à son décès en 2015. Après 18 cures de protocole FOLFOX, elle présente en février 2011 un premier épisode de TIMD et en présentera par la suite douze autres. A l'inverse des 5 autres patients, l'histoire clinique de cette patiente ne permet pas d'identifier de façon certaine les différentes molécules imputables et les résultats des tests de MAIPA réalisés en présence des différents médicaments suspects varient avec le temps, ce qui rend l'interprétation de ses résultats délicate. Il s'agit du seul cas où la corrélation entre la présence d'un anticorps anti-plaquettes dépendant de la MP et la thrombopénie ne peut être établie avec certitude. On peut néanmoins observer que l'ensemble des 5 administrations d'oxaliplatine réalisées entre février 2011 et octobre 2015 se compliquent d'une thrombopénie. Pour le reste des épisodes de thrombopénie, les médicaments imputables sont l'acide folinique, la MP et l'irinotecan. Néanmoins, ces molécules ont également été administrées ensemble sans complications, ce qui pose la question de la labilité des anticorps anti-plaquettes médicament-dépendants. C'est le cas par exemple de la MP, administrée le 1/3/11 dans cadre du protocole FOLFOX et suivie d'une thrombopénie sévère, avec biologiquement des anticorps anti-GpIIb/IIIa puis ré-administrée deux mois plus tard sans thrombopénie profonde au décours (110 G/L après perfusion *versus* 188 G/L avant). De même, la négativité des anticorps anti-plaquettes dépendants de l'oxaliplatine sur le dernier sérum du 16/10/15, soit à 7 mois de la dernière injection, pourrait suggérer une clairance des anticorps à distance de l'exposition du médicament causal. Néanmoins, la survenue d'une thrombopénie après l'injection d'oxaliplatine réalisée 5 jours plus tard montre l'absence de corrélation parfaite chez cette patiente entre la clinique et le résultat du MAIPA. La recherche d'anticorps anti- GpIIb/IIIa sur le sérum du 23/10/15 n'a pas pu être réalisée en raison d'une quantité insuffisante de sérum. Il existe également chez cette patiente des épisodes de thrombopénies peu profondes et asymptomatiques authentifiés par des contrôles systématiques réalisés après chaque séance de chimiothérapie. Ces thrombopénies relatives pourraient être liées à des anticorps médicaments-dépendants ayant une faible affinité pour la cible plaquettaire.

Au final, hormis chez cette sixième patiente, il existe une corrélation parfaite entre les épisodes de thrombopénie et les résultats du MAIPA. Trois des six des patients décrits présentent des thrombopénies immunologiques liées à plusieurs anticorps médicament-dépendants différents les uns des autres.

Cette série de 6 cas de thrombopénie dépendante de la MP est la première décrite. En 2010, Royer et al. rapportaient isolément le cas du patient numéro 1⁴⁷. Depuis, à notre connaissance, il n'y a eu aucun cas similaire imputable à la méthylprednisolone.

Le caractère multi-médicament dépendant des thrombopénies décrites dans notre série est également un élément atypique, rarement décrit au décours des thrombopénies médicamenteuses. La majorité des cas de thrombopénies médicamenteuses décrites dans la littérature sont en effet liées à un médicament unique. Il existe cependant deux autres cas décrits de thrombopénies médicamenteuses dépendantes de plusieurs antibiotiques (vancomycine et piperacilline)^{53,54}. Chez ces deux patients, l'histoire clinique était évocatrice de TIMD à la vancomycine et à la piperacilline. Des recherches d'anticorps anti-plaquettes par immunofluorescence révélaient dans les deux cas, une faible activité anti-plaquettes sur les sera sans médicament et qui devenait forte en présence de vancomycine et de piperacilline. Outre l'activité anti-plaquettes retrouvée en l'absence de médicament, ces observations souffrent de l'absence d'identification des anticorps par une technique de MAIPA et de l'absence de démonstration de la présence de deux anticorps distincts.

Curtis *et al.*⁵⁵ ont récemment décrit le cas de deux patients présentant des thrombopénies immunologiques liées à plusieurs anticorps médicament-dépendants. Le premier patient est un homme de 74 ans traité pour un cancer gastrique par le protocole de chimiothérapie FOLFOX avec prémédication par dexaméthasone et palonosetron. Au décours du 20^e cycle de chimiothérapie, le patient présente une thrombopénie profonde associée à une anémie hémolytique auto-immune avec un test de Coombs faiblement positif. Le patient reçoit trois jours de dexaméthasone, ainsi que des transfusions de plaquettes et de concentrés globulaires. Le taux de plaquettes reste bas puis se normalise à l'arrêt de la dexaméthasone. La thrombopénie récidive au 21^e cycle (prémédication par dexaméthasone et acide folinique) malgré l'arrêt de l'oxaliplatine, puis au 22^e cycle (prémédication par dexaméthasone) malgré l'arrêt de l'oxaliplatine, remplacé par de l'irinotecan, et de l'acide folinique. Lors de ce 3^e épisode, le patient reçoit comme traitement une nouvelle administration de dexaméthasone associée à des immunoglobulines intraveineuses et à des transfusions de concentrés plaquettaires. La thrombopénie se corrige en dix jours (**Annexe 2**).

La recherche d'anticorps anti-plaquettes par IF met en évidence des anticorps anti-plaquettes actifs en présence de dexaméthasone et d'acide folinique. Le test de MAIPA avec des anticorps anti-GpIIb/IIIa est positif en présence de dexaméthasone et d'acide folinique et celui

avec anticorps anti-GpIb/IX est faiblement positif en présence d'oxaliplatine (**Annexe 3**). Enfin, les auteurs réalisent des tests d'adsorption avec la dexaméthasone, qui permet d'éliminer les anticorps dépendant de la dexaméthasone et constatent la persistance des anticorps dépendant de l'oxaliplatine et de l'acide folinique. Les adsorptions avec l'acide folinique et l'oxaliplatine retrouvent également des résultats orientant vers la présence d'anticorps anti-plaquettes médicament-dépendants différents les uns des autres (**Annexe 4**).

Le deuxième patient décrit dans l'article est un homme de 53 ans suivi pour un cancer du colon est traité par le protocole FOLFIRINOX (protocole comprenant du 5-FU, de l'acide folinique, de l'irinotecan et de l'oxaliplatine) avec prémédication par dexaméthasone et ondansétro. Au décours du 18^e cycle, le patient présente un premier épisode de thrombopénie, qui récidive au 19^e cycle malgré l'arrêt de l'irinotecan seul et au 20^e cycle, malgré l'arrêt de l'oxaliplatine seul. Au 21^e cycle, le patient reçoit de l'irinotecan seul associé à de la dexaméthasone (sans 5-FU, ni acide folinique) et récidive un épisode de thrombopénie. Le 22^e cycle est réalisé comme le 19^e, sans irinotecan et se complique également d'une thrombopénie. Enfin, le patient reçoit du 5-FU seul sans complication (**Annexe 1**). La recherche d'anticorps anti-plaquettes dépendant de l'oxaliplatine, de la dexaméthasone et de l'acide folinique était faible mais positive en IF. Le test de MAIPA retrouvait des anticorps anti-GpIIb/IIIa en présence d'irinotecan (**Annexe 3**). Néanmoins, chez ce deuxième patient, les auteurs réalisent des techniques d'adsorption avec l'irinotecan, l'acide folinique et l'oxaliplatine dont la pertinence est discutable en raison du caractère isolé de l'anticorps anti-plaquettes dépendant de l'irinotecan retrouvé en MAIPA (**Annexe 4**). Ils concluent à la présence de trois anticorps différents également chez ce deuxième patient.

L'étude est complétée par l'analyse des prélèvements de 53 patients suspectés cliniquement de thrombopénie à l'oxaliplatine, chez qui des tests par IF sont réalisés. Trente patients ont une recherche d'anticorps anti-plaquettes positive en présence d'oxaliplatine. Parmi ces 30 patients, 14 (47%) présentaient également des anticorps anti-plaquettes dépendant d'autres médicaments avec un total de 34 autres anticorps anti-plaquettes médicaments dépendant retrouvés (12 avec l'acide folinique, 7 avec la dexaméthasone, 7 avec l'ondansétro, 4 avec le panolosetron, 2 avec la diphenhydramine antihistamine et 2 avec l'irinotecan). Les auteurs ne précisent pas les détails cliniques de ces 30 patients, rendant ainsi impossible toute corrélation clinico-biologique.

Pour la première fois, cette étude évoque la possibilité d'anticorps médicament-dépendants multiples, responsables de TIMD chez un même patient. Les données de ces 2 patients diffèrent de notre série par certains points. La corrélation clinico-biologique entre les épisodes de thrombopénie et la présence des anticorps médicament-dépendants semble moins claire chez les deux patients décrits qu'elle ne l'est chez ceux que nous décrivons. Les auteurs ne précisent pas les signes cliniques ou complications hémorragiques éventuelles notamment pour les 53 patients supplémentaires étudiés. Pour leur premier patient, la réexposition à la dexaméthasone lors du 3^e épisode ne semble pas retarder la résolution de la thrombopénie malgré des anticorps anti-plaquettes dépendant de la dexaméthasone retrouvés biologiquement. Quant au second patient, il présente des thrombopénies après des administrations de chimiothérapie autres que l'irinotecan alors qu'il ne présente qu'un anticorps anti-plaquettes dépendant de l'irinotecan. De plus, les tableaux clinico-biologiques des 2 patients, bien que peu décrits, semblent un peu différents de ceux que nous décrivons, avec des durées de thrombopénies plus longues (dix jours contre moins d'une semaine pour les patients de notre étude) et surtout d'autre cytopénies auto-immunes associée (leur premier patient présente, outre la thrombopénie, une anémie avec test de Coombs faiblement positif, complication que nous n'avons jamais observée chez les patients que nous décrivons). Enfin, Curtis émet l'hypothèse que ces thrombopénies entrent dans le cadre de syndrome dys-immunitaire secondaire à l'oxaliplatine expliquée notamment par la transformation de l'oxaliplatine en de nombreux métabolites potentiellement immunogènes et responsables de l'apparition d'anticorps anti-plaquettes. Dans notre série, le dénominateur commun à tous les patients est l'administration de méthylprednisolone et la présence systématique d'anticorps MP-dépendants. Bien que 4 des 6 patients aient reçus préalablement de l'oxaliplatine, 2 (patients 1 et 2) n'en avaient jamais reçu avant le premier épisode de TIMD, et seuls 2 présentent des anticorps anti-plaquettes oxaliplatine-dépendants. De plus, la physiopathologie du syndrome dys-immunitaire à l'oxaliplatine est questionnée par la présence in vitro d'anticorps anti-plaquettes dépendant de l'oxaliplatine et donc directement de la forme initiale du médicament. Ce résultat met en évidence le caractère immunogène de la molécule d'oxaliplatine entière puisqu'aucune dégradation in vitro n'a été décrite. Enfin, les observations des deux patients décrits par Curtis pourraient être interprétées autrement que secondaires aux administrations d'oxaliplatine mais plutôt comme des thrombopénies immunologiques dépendantes de la dexaméthasone, survenant, comme 5 des patients que nous décrivons, dans un contexte de néoplasie digestive active. En effet, les 8 épisodes de thrombopénies survenant chez les deux patients décrits surviennent au décours d'une injection

de dexamethasone, corticoïde injectable de choix utilisé aux Etats-Unis, ce qui en fait le dénominateur commun à tous ces épisodes.

Nos observations permettent d'affirmer l'imputabilité de la méthylprednisolone dans ces accidents immuno-allergiques et en même temps d'observer l'absence de réaction croisée entre la méthylprednisolone et d'autres corticoïdes, tel que la dexamethasone ou l'hémisuccinate d'hydrocortisone. Ces thrombopénies immunologiques surviennent après une période d'exposition prolongée à la méthylprednisolone et l'on peut supposer que l'absence de réaction à la dexamethasone soit due à l'absence d'exposition préalable. Néanmoins, les deux observations de Curtis suggèrent que la dexamethasone pourraient également être responsables de TIMD. Cette information est primordiale pour les cliniciens confrontés à de telles complications immuno-allergiques.

CONCLUSION

Nous décrivons les cas de 6 patients présentant une thrombopénie immunologique liée à des anticorps médicament-dépendants actifs en présence de méthylprednisolone. Cinq d'entre eux étaient en cours de traitement par chimiothérapie pour des cancers digestifs. Comme rapporté dans la littérature, les thrombopénies que nous décrivons surviennent toujours après une période d'exposition au médicament causal. Ces thrombopénies sont brutales (survenant dans l'heure suivant la perfusion du médicament), profondes ($<10\text{G/L}$) et accompagnées de symptômes immuno-allergiques. Elles peuvent être responsables de syndrome hémorragique cutanéomuqueux et, plus rarement, de saignement profond. Ces thrombopénies sont de courte durée, spontanément résolutive à l'arrêt du médicament causal. Les transfusions de concentrés plaquettaires, les corticoïdes oraux ou les immunoglobulines intraveineuses sont inefficaces. Des anticorps anti-plaquettes se fixant uniquement en présence de méthylprednisolone sont retrouvés chez les six patients. De plus, trois de ces six patients présentaient des épisodes de thrombopénies survenant après des perfusions comprenant de l'acide folinique ou de l'oxaliplatine. De plus, chez ces 3 patients, on retrouve des anticorps anti-plaquettes actifs, soit en présence d'acide folinique, soit en présence d'oxaliplatine, différents des anticorps anti-plaquettes dépendant de la méthylprednisolone. Ces données permettent de conclure à une bonne corrélation clinico-biologique. Cette complication rare est importante à connaître en raison de sa gravité immédiate comme des ses conséquences sur les choix des thérapeutiques ultérieures.

BIBLIOGRAPHIE

1. Jobin F. L'hémostase. Presses Université Laval; 1995.
2. Aster RH, Bougie DW. Drug-induced immune thrombocytopenia. *N. Engl. J. Med.* 2007;357(6):580–587.
3. Mueller-Eckhardt C, Salama A. Drug-induced immune cytopenias: a unifying pathogenetic concept with special emphasis on the role of drug metabolites. *Transfus Med Rev.* 1990;4(1):69–77.
4. Shulman NR, Reid DM. Mechanisms of drug-induced immunologically mediated cytopenias. *Transfus Med Rev.* 1993;7(4):215–229.
5. Aster RH. Drug-induced immune cytopenias. *Toxicology.* 2005;209(2):149–153.
6. Aster RH. Immune thrombocytopenia caused by glycoprotein IIb/IIIa inhibitors. *Chest.* 2005;127(2 Suppl):53S–59S.
7. Tcheng JE, Kereiakes DJ, Lincoff AM, et al. Abciximab readministration: results of the ReoPro Readministration Registry. *Circulation.* 2001;104(8):870–875.
8. Curtis BR, Divgi A, Garritty M, Aster RH. Delayed thrombocytopenia after treatment with abciximab: a distinct clinical entity associated with the immune response to the drug. *J. Thromb. Haemost.* 2004;2(6):985–992.
9. Curtis BR, Swyers J, Divgi A, McFarland JG, Aster RH. Thrombocytopenia after second exposure to abciximab is caused by antibodies that recognize abciximab-coated platelets. *Blood.* 2002;99(6):2054–2059.
10. Garner SF, Campbell K, Smith G, et al. Teicoplanin-dependent antibodies: detection and characterization. *Br. J. Haematol.* 2005;129(2):279–281.
11. Bougie DW, Wilker PR, Aster RH. Patients with quinine-induced immune thrombocytopenia have both “drug-dependent” and “drug-specific” antibodies. *Blood.* 2006;108(3):922–927.
12. Aster RH. Can drugs cause autoimmune thrombocytopenic purpura? *Semin. Hematol.* 2000;37(3):229–238.
13. Li ZQ, Liu W, Park KS, et al. Defining a second epitope for heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis antibodies using KKO, a murine HIT-like monoclonal antibody. *Blood.* 2002;99(4):1230–1236.
14. Arepally GM, Ortel TL. Clinical practice. Heparin-induced thrombocytopenia. *N. Engl. J. Med.* 2006;355(8):809–817.
15. Arepally GM. Heparin-induced thrombocytopenia. *Blood.* 2017;129(21):2864–2872.
16. Rousan TA, Aldoss IT, Cowley BD, et al. Recurrent acute thrombocytopenia in the hospitalized patient: sepsis, DIC, HIT, or antibiotic-induced thrombocytopenia. *Am. J. Hematol.* 2010;85(1):71–74.
17. Neylon AJ, Saunders PWG, Howard MR, et al. Clinically significant newly presenting autoimmune thrombocytopenic purpura in adults: a prospective study of a population-based cohort of 245 patients. *Br. J. Haematol.* 2003;122(6):966–974.
18. van den Bemt PMLA, Meyboom RHB, Egberts ACG. Drug-induced immune thrombocytopenia. *Drug Saf.* 2004;27(15):1243–1252.
19. Pedersen-Bjergaard U, Andersen M, Hansen PB. Drug-specific characteristics of thrombocytopenia caused by non-cytotoxic drugs. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1998;54(9-10):701–706.
20. Pedersen-Bjergaard U, Andersen M, Hansen PB. Drug-induced thrombocytopenia: clinical data on 309 cases and the effect of corticosteroid therapy. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1997;52(3):183–189.
21. Pedersen-Bjergaard U, Andersen M, Hansen PB. Thrombocytopenia induced by

- noncytotoxic drugs in Denmark 1968-91. *J. Intern. Med.* 1996;239(6):509–515.
22. Böttiger LE, Böttiger B. Incidence and cause of aplastic anemia, hemolytic anemia, agranulocytosis and thrombocytopenia. *Acta Med Scand.* 1981;210(6):475–479.
23. Danielson DA, Douglas SW, Herzog P, Jick H, Porter JB. Drug-induced blood disorders. *JAMA.* 1984;252(23):3257–3260.
24. Kaufman DW, Kelly JP, Johannes CB, et al. Acute thrombocytopenic purpura in relation to the use of drugs. *Blood.* 1993;82(9):2714–2718.
25. Risks of agranulocytosis and aplastic anemia. A first report of their relation to drug use with special reference to analgesics. The International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study. *JAMA.* 1986;256(13):1749–1757.
26. George JN, Raskob GE, Shah SR, et al. Drug-induced thrombocytopenia: a systematic review of published case reports. *Ann. Intern. Med.* 1998;129(11):886–890.
27. Arnold DM, Nazi I, Warkentin TE, et al. Approach to the diagnosis and management of drug-induced immune thrombocytopenia. *Transfus Med Rev.* 2013;27(3):137–145.
28. Von Drygalski A, Curtis BR, Bougie DW, et al. Vancomycin-induced immune thrombocytopenia. *N. Engl. J. Med.* 2007;356(9):904–910.
29. Aster RH, Curtis BR, McFarland JG, Bougie DW. Drug-induced immune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis, and management. *J. Thromb. Haemost.* 2009;7(6):911–918.
30. George JN, Aster RH. Drug-induced thrombocytopenia: pathogenesis, evaluation, and management. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2009;153–158.
31. Curtis BR, Kaliszewski J, Marques MB, et al. Immune-mediated thrombocytopenia resulting from sensitivity to oxaliplatin. *Am. J. Hematol.* 2006;81(3):193–198.
32. Ray JB, Brereton WF, Nullet FR. Intravenous immune globulin for the treatment of presumed quinidine-induced thrombocytopenia. *DICP.* 1990;24(7-8):693–695.
33. Pourrat O, Touchard G, Robert R, et al. A kidney biopsy is clearly mandatory to confirm the indication of plasma exchanges in adult haemolytic uraemic syndrome. *Ann Med Interne (Paris).* 1994;145(5):369–372.
34. Bencardino K, Mauri G, Amatu A, et al. Oxaliplatin Immune-Induced Syndrome Occurs With Cumulative Administration and Rechallenge: Single Institution Series and Systematic Review Study. *Clin Colorectal Cancer.* 2016;15(3):213–221.
35. Colucci G, Gebbia V, Paoletti G, et al. Phase III randomized trial of FOLFIRI versus FOLFOX4 in the treatment of advanced colorectal cancer: a multicenter study of the Gruppo Oncologico Dell'Italia Meridionale. *J. Clin. Oncol.* 2005;23(22):4866–4875.
36. Graham MA, Lockwood GF, Greenslade D, et al. Clinical pharmacokinetics of oxaliplatin: a critical review. *Clin. Cancer Res.* 2000;6(4):1205–1218.
37. Beg MS, Komrokji RS, Ahmed K, Safa MM. Oxaliplatin-induced immune mediated thrombocytopenia. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2008;62(5):925–927.
38. Bautista MA, Stevens WT, Chen C-S, et al. Hypersensitivity reaction and acute immune-mediated thrombocytopenia from oxaliplatin: two case reports and a review of the literature. *J Hematol Oncol.* 2010;3:12.
39. Fontão-Wendel R, Hoff PM, Lazar A, et al. Immune-mediated pancytopenia induced by oxaliplatin: a case report. *Transfusion.* 2010;50(7):1453–1459.
40. Erdem GU, Dogan M, Demirci NS, Zengin N. Oxaliplatin-induced acute thrombocytopenia. *J Cancer Res Ther.* 2016;12(2):509–514.
41. Desrame J, Broustet H, Darodes de Tailly P, Girard D, Saissy JM. Oxaliplatin-induced haemolytic anaemia. *Lancet.* 1999;354(9185):1179–1180.
42. Taleghani BM, Meyer O, Fontana S, et al. Oxaliplatin-induced immune pancytopenia. *Transfusion.* 2005;45(5):704–708.
43. Cobo F, De Celis G, Pereira A, et al. Oxaliplatin-induced immune hemolytic anemia: a

case report and review of the literature. *Anticancer Drugs*. 2007;18(8):973–976.

44. Arndt P, Garratty G, Isaak E, Bolger M, Lu Q. Positive direct and indirect antiglobulin tests associated with oxaliplatin can be due to drug antibody and/or drug-induced nonimmunologic protein adsorption. *Transfusion*. 2009;49(4):711–718.

45. Quack H, Erpenbeck L, Wolff HA, et al. Oxaliplatin-Induced Leukocytoclastic Vasculitis under Adjuvant Chemotherapy for Colorectal Cancer: Two Cases of a Rare Adverse Event. *Case Rep Oncol*. 2013;6(3):609–615.

46. Curtis SA, Curtis BR, Lee AI, et al. A patient with oxaliplatin immune-induced syndrome (OIS) who also developed leucovorin and palonosetron-associated thrombocytopenia. *Hematology*. 2018;23(7):429–432.

47. Royer B, Lee K, Gruson B, et al. Methylprednisolone-induced immune thrombocytopenia. *Blood*. 2010;115(26):5431–5432.

48. Kiefel V, Santoso S, Weisheit M, Müller-Eckhardt C. Monoclonal antibody--specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet-reactive antibodies. *Blood*. 1987;70(6):1722–1726.

49. Delbos F, Bertrand G, Croisille L, et al. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: predictive factors of intracranial hemorrhage. *Transfusion*. 2016;56(1):59–66; quiz 58.

50. Kiefel V. The MAIPA assay and its applications in immunohaematology. *Transfus Med*. 1992;2(3):181–188.

51. Visco C, Ruggeri M, Laura Evangelista M, et al. Impact of immune thrombocytopenia on the clinical course of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2008;111(3):1110–1116.

52. Aussy A, Boyer O, Cordel N. Dermatomyositis and Immune-Mediated Necrotizing Myopathies: A Window on Autoimmunity and Cancer. *Front Immunol*. 2017;8:992.

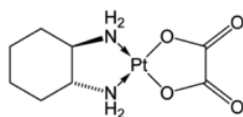
53. Bose S, Wurm E, Popovich MJ, Silver BJ. Drug-induced immune-mediated thrombocytopenia in the intensive care unit. *J Clin Anesth*. 2015;27(7):602–605.

54. Anand A, Chauhan HKC. Piperacillin and vancomycin induced severe thrombocytopenia in a hospitalized patient. *Platelets*. 2011;22(4):294–301.

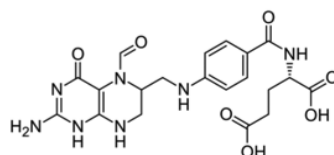
55. Curtis BR, Hsu Y-MS, Podoltsev N, et al. Patients treated with oxaliplatin are at risk for thrombocytopenia caused by multiple drug-dependent antibodies. *Blood*. 2018;131(13):1486–1489.

ANNEXES

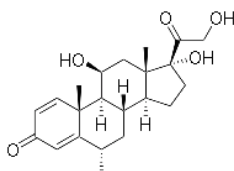
Annexe 1. Structure moléculaire des médicaments imputables dans les épisodes de thrombopénies immunologiques décrits



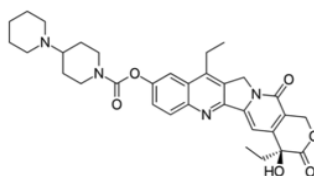
Oxaliplatine®



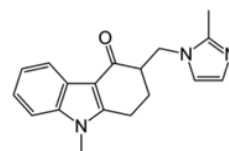
Acide folinique®



Méthylprednisolone®



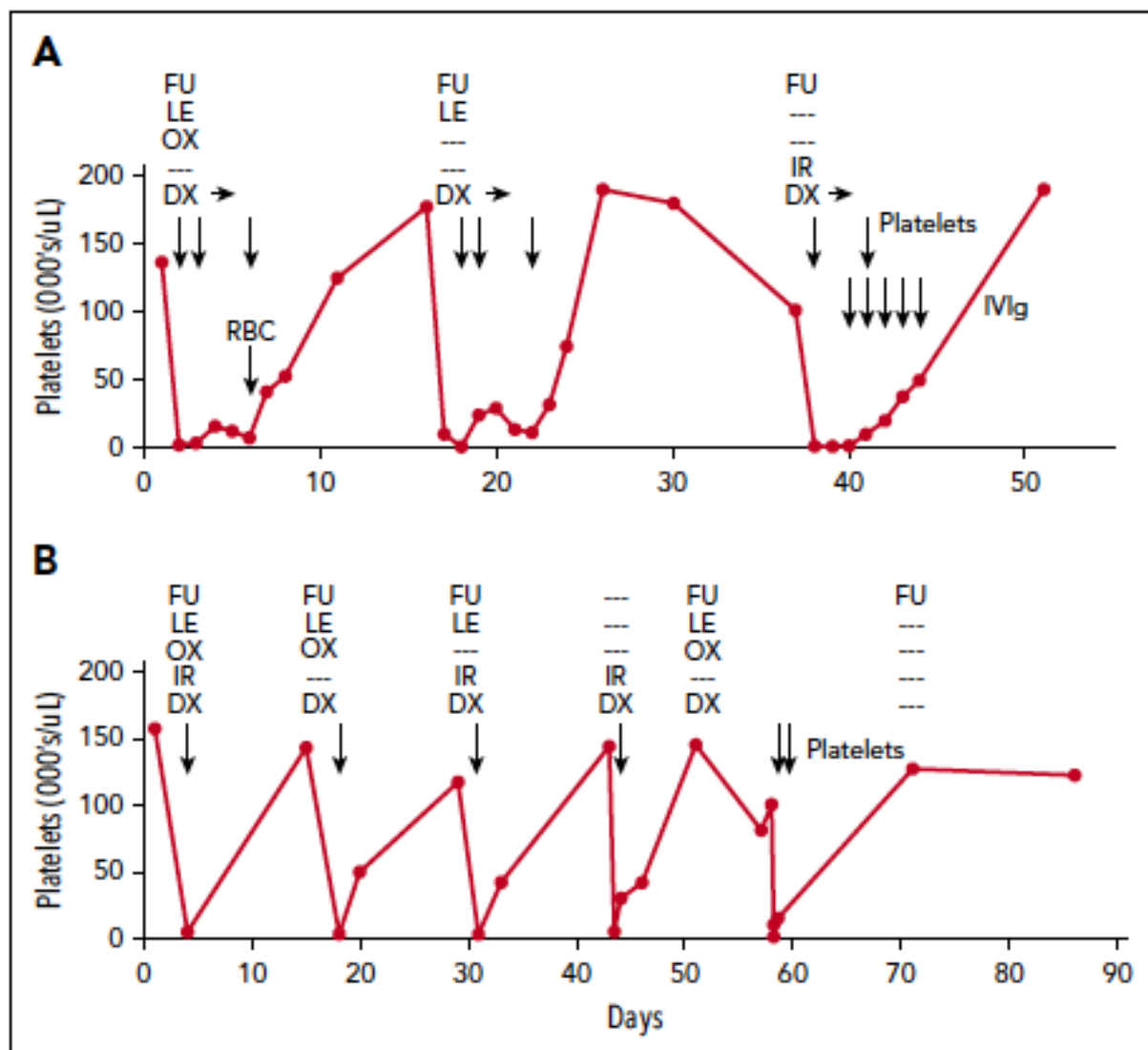
Irinotecan®



Ondansetron®

Annexe 2. Description clinico-biologique des épisodes de thrombopénie des deux patients décrit par Curtis et al.

55



Abréviations

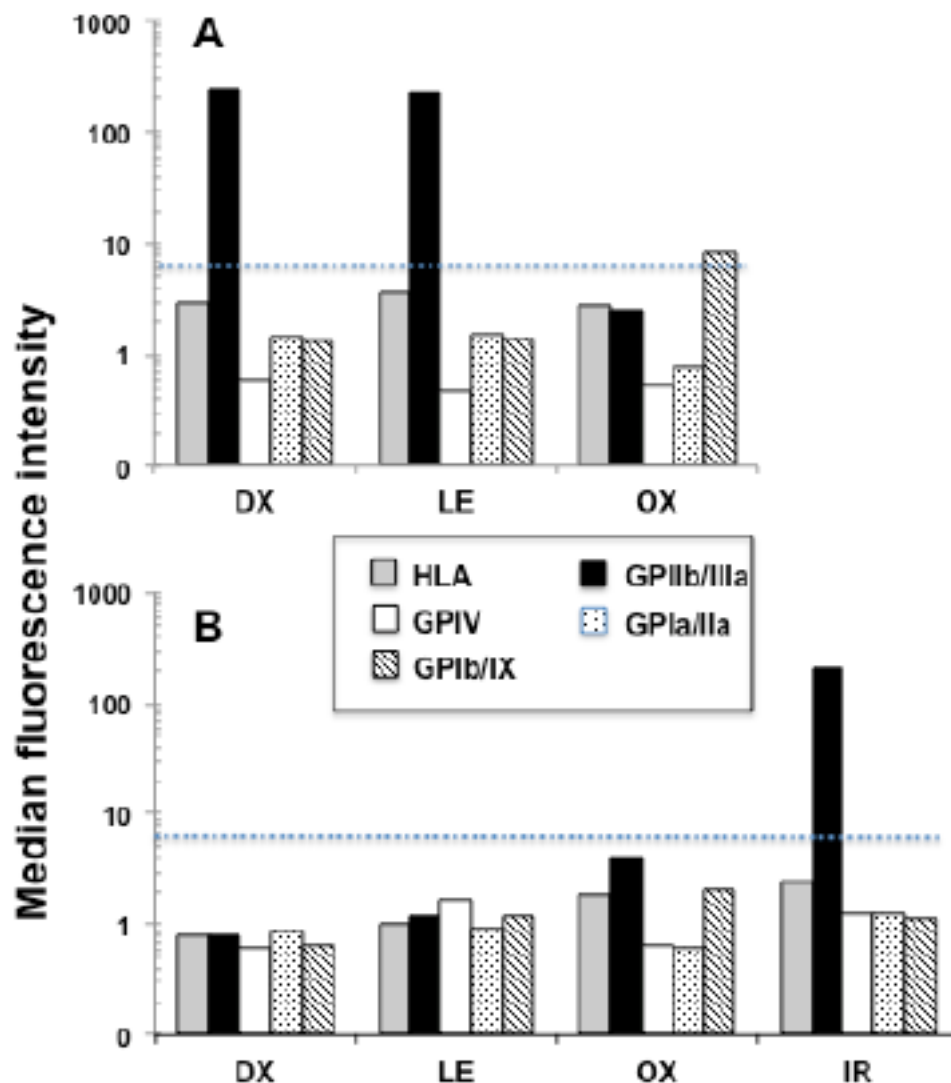
FLU : 5FU ; LE : leucovorine ou acide folinique ; OX : oxaliplatine ; IR : irinotecan ; DX : dexaméthasone ; RBC : red blood cell ou transfusion de culots globulaire rouge ; IVIg : immunoglobulines intraveineuses.

Interprétation : Le premier patient est un homme de 74 ans traité pour un cancer gastrique par le protocole de chimiothérapie FOLFOX avec prémédication par dexaméthasone et palonosetron. Au décours du 20^e cycle de chimiothérapie, le patient présente une thrombopénie profonde associée à une anémie auto-immune avec un test de Coombs

faiblement positif. Le patient reçoit alors 3 jours de dexaméthasone, ainsi que des transfusions de plaquettes et de concentrés globulaires. Le taux de plaquettes reste bas les 3 premiers jours puis se normalise à l'arrêt de la dexaméthasone. La thrombopénie récidive au 21^e cycle malgré l'arrêt de l'oxaliplatine (mais même prémédication par dexaméthasone et acide folinique), puis au 22^e cycle malgré l'arrêt de l'oxaliplatine, remplacé par de l'irinotecan, et l'arrêt de l'acide folinique (et prémédication par dexaméthasone). Lors de ce 3^e épisode, le patient reçoit une nouvelle administration de dexaméthasone associée à des immunoglobulines intraveineuses et des transfusions de concentrés plaquettaires. Cette nouvelle injection de dexaméthasone ne semble pas retarder la correction de la thrombopénie qui s'effectue en une dizaine de jours

Le deuxième patient décrit dans l'article est un homme de 53 ans suivi pour un cancer du colon est traité par le protocole FOLFIRINOX (protocole comprenant du 5-FU, de l'acide folinique, de l'irinotecan et de l'oxaliplatine) avec prémédication par dexaméthasone et ondansetron. Au décours du 18^e cycle, le patient présente un premier épisode de thrombopénie, qui récidive au 19^e cycle malgré l'arrêt de l'irinotecan seul (équivalent du protocole FOLFOX) et au 20^e cycle, malgré l'arrêt de l'oxaliplatine seul (équivalent du protocole FOLFIRI). Au 21^e cycle, le patient reçoit de l'irinotecan seul associé à de la dexaméthasone (sans 5-FU, ni acide folinique) et récidive la thrombopénie. Le 22^e cycle est réalisé comme le 19^e, sans irinotecan (équivalent du protocole FOLFOX) et se complique également de thrombopénie. Enfin, le patient reçoit du 5-FU seul sans complications.

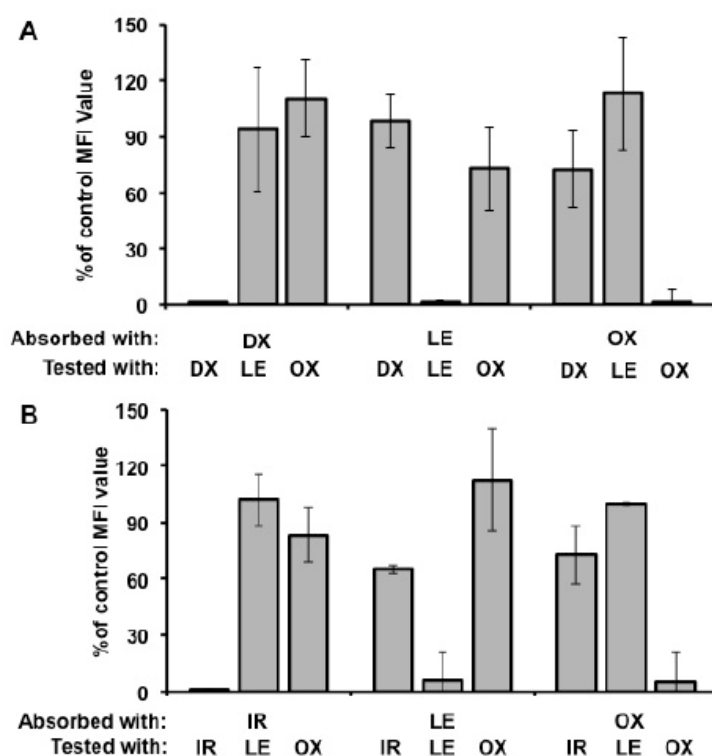
Annexe 3. Résultats des tests de MAIPA chez le premier patient (A) et le deuxième patient (B) décrit par Curtis et al. ⁵⁵



Abréviations : DX : dexamethasone ; LE : leucovorine ou acide folinique ; OX : oxaliplatine ; IR, irinotecan

Interprétation : Les tests de MAIPA réalisés chez le premier patient (A) mettent en évidence des anticorps anti-GpII/IIIa dépendant de la dexamethasone et de l'acide folinique ainsi que des anticorps anti-GPIb/IX dépendant de l'oxaliplatine. Les tests de MAIPA réalisés chez le second patient (B) mettent en évidence des anticorps anti-GpIIb/IIIa en présence d'irinotecan.

Annexe 4. Résultats des tests d'adsorption du premier patient (A) et du second patient (B) décrits par Curtis et al.⁵⁵



Abréviations : DX : dexamethasone ; LE : leucovorine ou acide folinique ; OX : oxaliplatine ; IR, irinotecan

Interprétation : Les tests d'adsorption réalisés chez le premier patient (A) en présence de dexamethasone, acide folinique ou oxaliplatine permettent la négativation des anticorps anti-plaquettes spécifiques de chacune des drogues utilisées pour l'adsorption et la persistance des autres anticorps anti-plaquettes médicaments-dépendants. Des résultats similaires sont retrouvés pour le second patient (B) après adsorption en présence d'irinotecan, d'acide folinique et d'oxaliplatine. L'axe des ordonnées indique la médiane de l'intensité de fluorescence obtenue par test de cytométrie de flux pour l'anticorps anti-plaquettes, et est exprimé en pourcentage de la valeur obtenue lorsque le sérum est absorbé avec les plaquettes seules. Les barres d'erreur indiquent +/- 1,0 SD.

Titre en français

Thrombopénies immunologiques liées à des anticorps anti-plaquettes méthylprednisolone-dépendants

Résumé

Introduction : Les thrombopénies immunologiques liées à des anticorps (Ac) anti-plaquettes médicament-dépendants (TIMD) sont des causes rares de thrombopénies, liées à la présence d'Ac qui, en se fixant sur la membrane plaquettaire uniquement en présence d'un médicament, entraînent leur destruction.

Matériels et méthodes : Six patients adultes suspects de TIMD à la méthylprednisolone (MP) et dont les sérums ont été adressés au laboratoire de l'EFS de l'hôpital Mondor entre 2009 et 2017, ont été inclus. Leurs dossiers médicaux ont été rétrospectivement analysés et des Ac anti-plaquettes médicament-dépendants ont été recherchés par des tests immunologiques puis identifiés par une méthode d'adsorption-élution.

Résultats : Les 6 patients décrits ont présenté des thrombopénies précoces, profondes, résolutive en une semaine et survenant au décours de perfusions de MP. Des Ac anti-plaquettes ont été retrouvés chez les 6 patients en présence de MP. Tous avaient été déjà exposés à la MP sans complication. Cinq sur 6 patients étaient traités par chimiothérapie pour des cancers digestifs. Trois patients présentaient aussi des thrombopénies après administration d'oxaliplatine ou d'acide folinique. Chez ces 3 patients, les tests retrouvaient également des Ac anti-plaquettes dépendants de l'acide folinique et/ou de l'oxaliplatine. L'analyse par adsorption-élution suggérait la présence d'Ac médicament-dépendant distincts les uns des autres.

Conclusion : Nous rapportons le cas de six patients présentant des TIMD à la MP associée pour 3 d'entre eux à des TIMD liées à l'acide folinique et/ou à l'oxaliplatine et médiées par des Ac anti-plaquettes médicament-dépendants différents.

Mots clés

Thrombopénie immunologique médicament-dépendante, anticorps anti-plaquettes, MAIPA, méthylprednisolone

Titre en anglais

Methylprednisolone drug-induced immune thrombocytopenia

Abstract

Introduction : Drug-induced immune thrombocytopenia is due to anti-platelet antibodies active only on the presence of the suspected treatment. They are usually associated with a unique drug.

Material and methods : Between 2009 and 2017, six adult patients with a suspected methylprednisolone (MP)-induced immune thrombocytopenia for which sera were addressed to the Mondor hospital EFS unit were included. Their medical charts were retrospectively reviewed. Drug-induced anti-platelet antibodies were screened by the MAIPA test and identified by an adsorption-elution method.

Results : The six patients presented with acute and profound thrombocytopenia occurring after a MP infusion and resolving in a week. MP-induced antiplatelet antibodies were found in the blood of all the six patients. All had been previously exposed to MP without adverse events. Five out of 6 patients had chemotherapy for neoplasia. Three out of the 5 patients had associated thrombocytopenia induced by oxaliplatin or folinic acid anti-platelets antibodies. Adsorption-elution analysis of 2 patients suggested the presence on 2 different drug-induced anti-platelets antibodies (MP and folinic acid or MP and oxaliplatin).

Conclusion : We report 6 cases of MP-induced immune thrombocytopenia. Three of them had associated folinic acid or oxaliplatin-induced thrombocytopenia mediated by different drug-induced anti-platelets antibodies.

Keywords

Drug induced immune thrombocytopenia, MAIPA, anti-platelets antibodies, methylprednisolone

**Université Paris Descartes
Faculté de Médecine Paris Descartes
15, rue de l'Ecole de Médecine
75270 Paris cedex 06**