

**Réunion annuelle du CNR-MAT
17 octobre 2014**

**Le laboratoire ADAMTS13
du CNR-MAT**

Agnès Veyradier

**Service d'Hématologie biologique
Laboratoire ADAMTS13 du CNR-MAT
Groupe hospitalier Saint Louis-Lariboisière-F.Widal, site Lariboisière
Paris**



**ASSISTANCE
PUBLIQUE**  **HÔPITAUX
DE PARIS**

**Expérience 1999-2014
du laboratoire ADAMTS13
du CNR-MAT**

(Centre National de Référence des MicroAngiopathies Thrombotiques)

Laboratoire ADAMTS13 du CNR-MAT : historique

De la recherche clinique au diagnostic médical

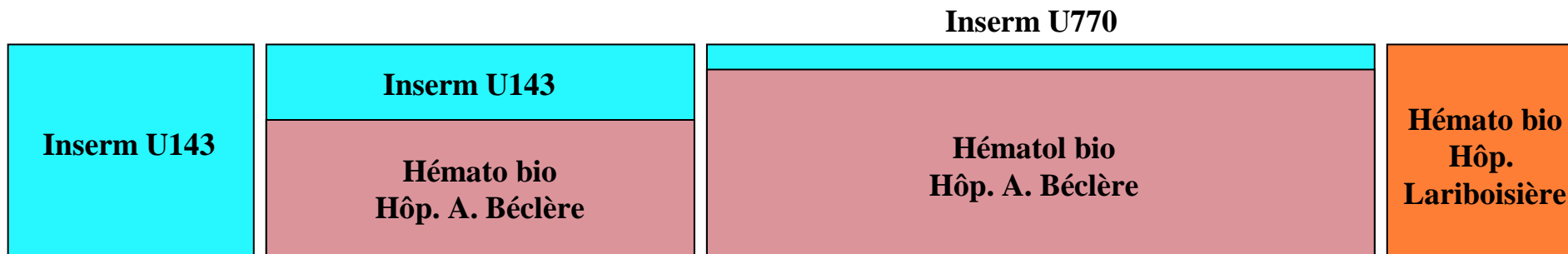
Réseau clinico-biologique des MAT



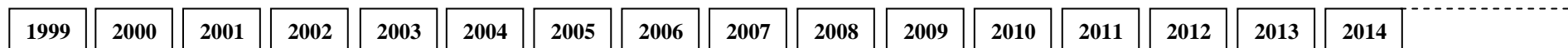
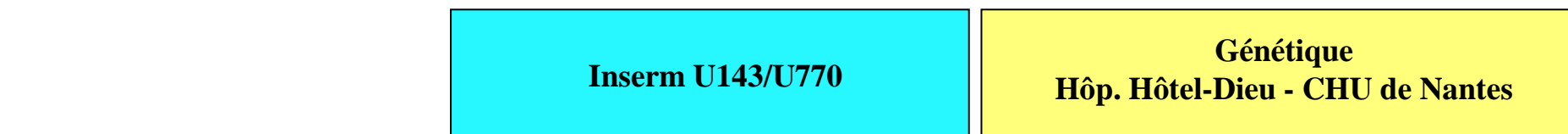
Centre National de Référence des MAT (PNMR)



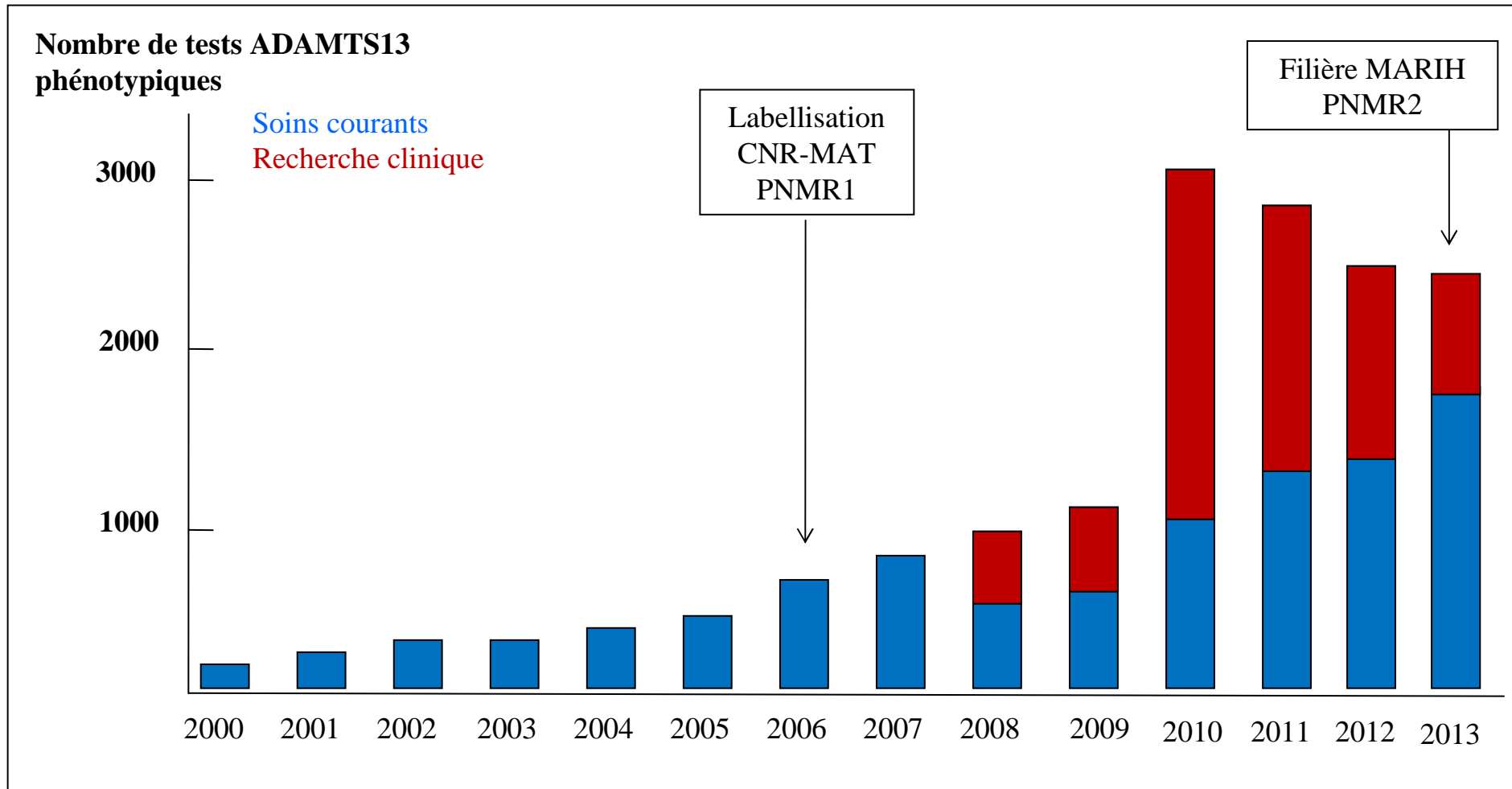
Tests phénotypiques pour les patients



Tests génotypiques pour les patients



Laboratoire ADAMTS13 du CNR-MAT : activité



- . Total sur 14 ans : environ 15 000 tests phénotypiques
- > recrutement national
- > 1 à 3 séries d'ADAMTS13 activité / semaine
- > compte rendus spécialisés experts
- > avis spécialisé (tel, email) dans 30% des cas

Exploration biologique d'ADAMTS13

I- Etapes pré-analytiques

II- Méthodes biologiques

- . Activité d'ADAMTS13**
- . Antigène d'ADAMTS13**
- . Auto-anticorps anti-ADAMTS13**
- . Gène d'ADAMTS13**

I- Etapes pré-analytiques

. Etude phénotypique (activité, antigène, recherche d'auto-Ac)

- Plasma citraté ou serum
- Si absence de ttt extemporané : congélation à -20°C ou -80°C
- Si ttt sur un site extérieur, envoi dans la carboglace

- Limites :

communes à toutes les techniques

- . EDTA : inactivation d'ADAMTS13 *in vitro*
- . Hémolyse : inactivation d'ADAMTS13 *in vitro*

propres aux méthodes VWF full-length

- . Taux de VWF:Ag > 300 UI/dl

propres aux méthodes fluorimétriques

- . Autofluorescence de certains plasma/serum ?
- . Hyperbilirubinémie

. Etude génétique

- Sang total EDTA ou citraté conservés à +4°C pdt 72 h ou -20°C
- Consentement éclairé du patient

II- Méthodes biologiques : Activité d'ADAMTS13 (1)

Principe

Dégradation d'un substrat exogène (VWF full-length ou courts peptides de VWF) par l'ADAMTS13 du plasma testé.

Les produits de dégradation du VWF clivé par ADAMTS13 sont mesurés par des techniques :

- électrophorétiques (**multimères** ou fragments)
- immunologiques (**CBA, VWF:Ag, Chr-VWF73**)
- d'agrégation plaquettaire (VWF:RCo)
- **fluorimétriques (FRETs-VWF73)**
- de spectrométrie de masse (SELDI-TOF)

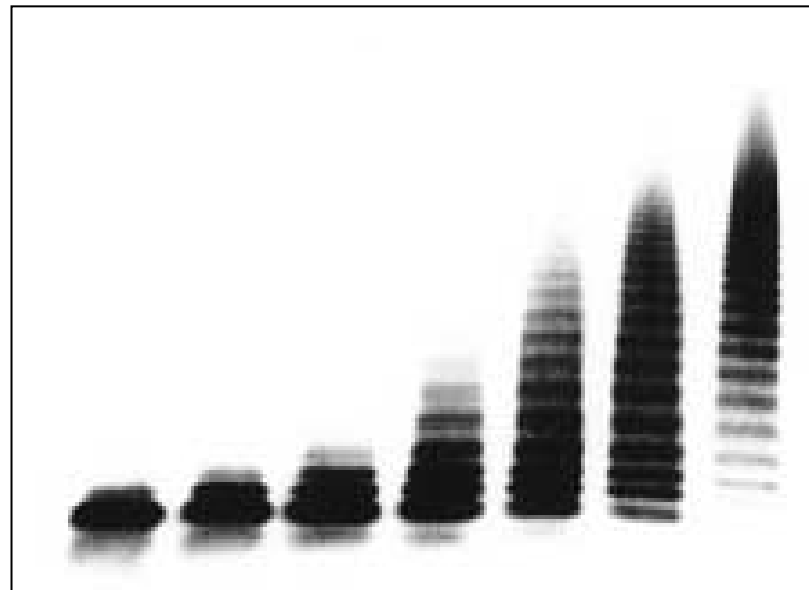
Normes : 50 – 150 %

Objectif

Détection des déficits fonctionnels sévères: activité d'ADAMTS13 <10%

Mesure précise des taux d'ADAMTS13 entre 11% et 100%

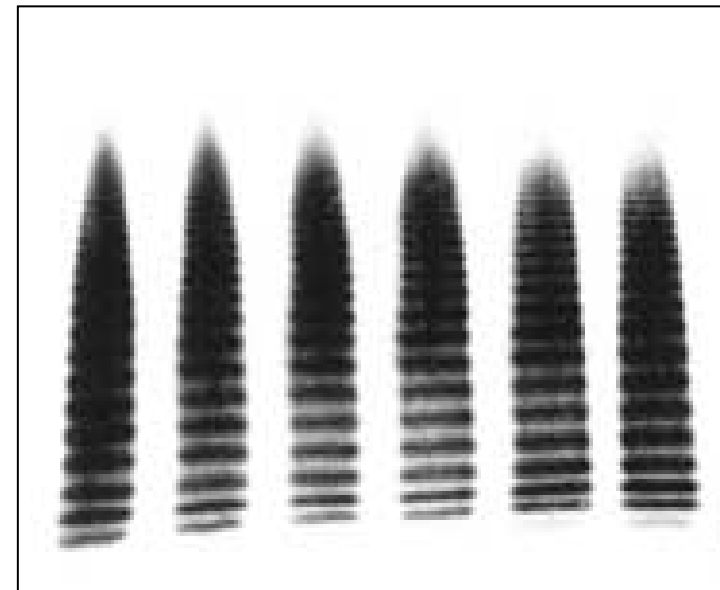
Méthodes électrophorétiques (VWF full-length) Multimères du VWF (SDS-agarose)



Dilutions
plasmatiques

1/20 1/40 1/80 1/160 1/320 1/640 Tp

Sujet normal
Activité d'ADAMTS13 100%

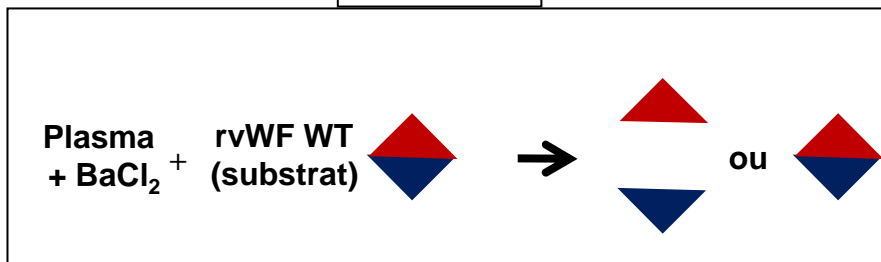


1/20 1/40 1/80 1/160 1/320 1/640

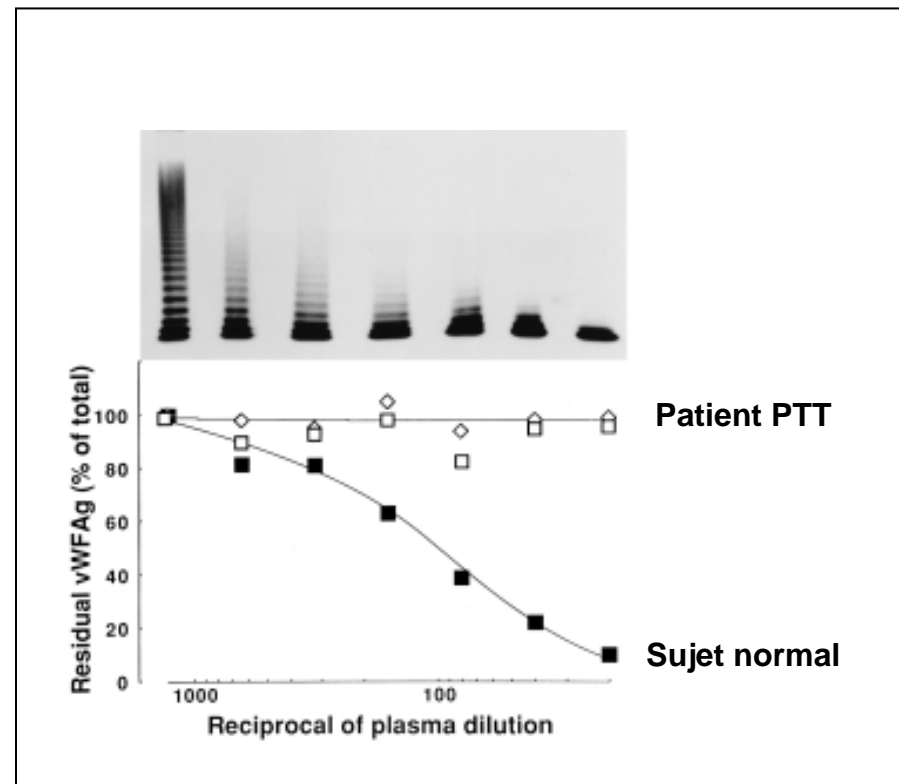
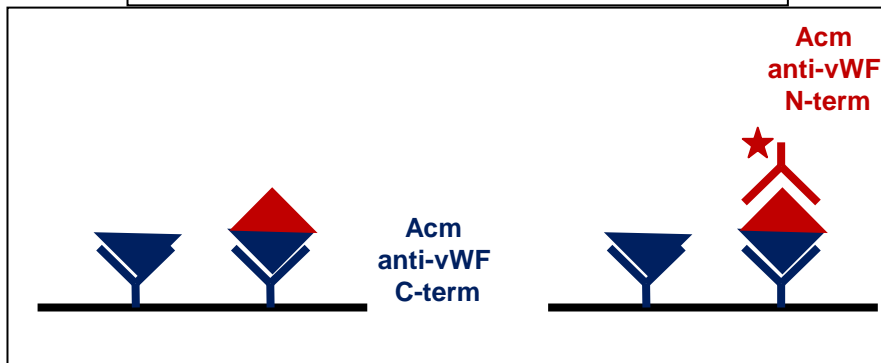
Patient PTT
Activité d'ADAMTS13 <10%

Méthodes immunologiques (VWF full-length) ELISA VWF:Ag

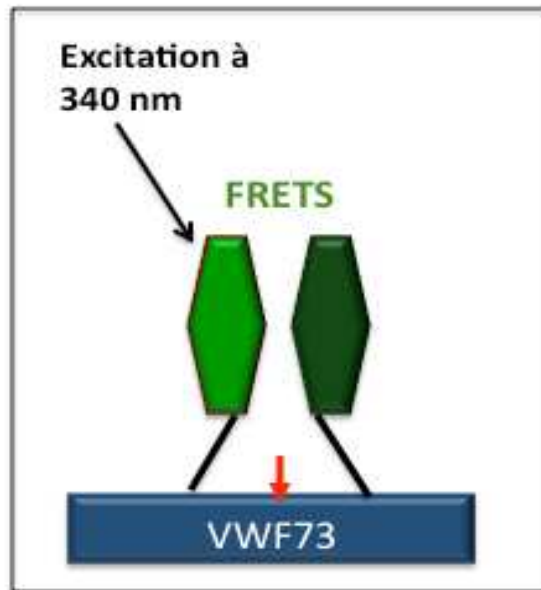
Protéolyse



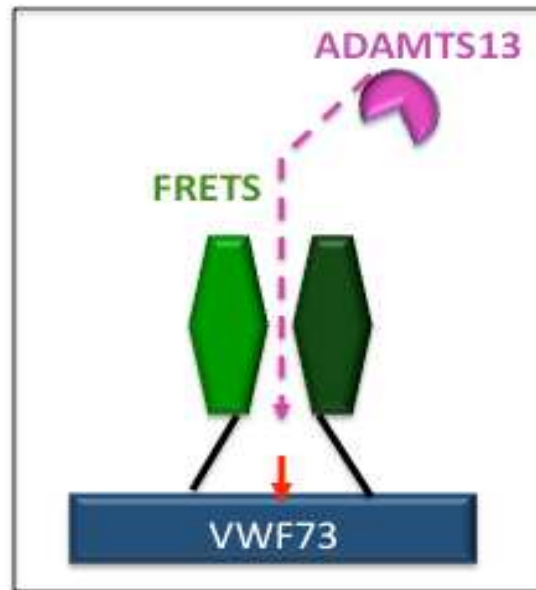
Mesure du VWF:Ag résiduel par ELISA



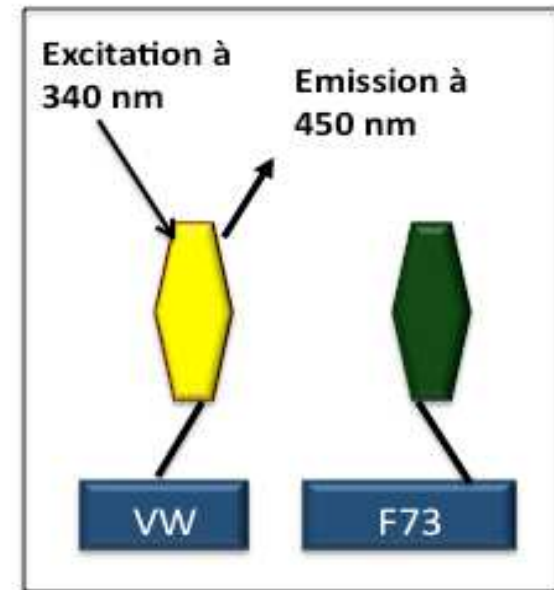
Méthode Fluorimétrique (VWF-73) FRETS-VWF73



Pas d'émission de fluorescence



ADAMTS13 clive le substrat VWF73



Emission d'un photon par le fluorophore

Evaluations menées par le laboratoire ADAMTS13 du CNR-MAT en 2013-2014

EVALUATION DE 2 KITS COMMERCIAUX

. *Projet initial*

**Evaluation en parallèle du kit Genprobe[®] et du kit Technoclone[®] ...
mais rupture de stock du kit Technoclone[®] pendant 6 mois**

. *Finalement*

. *Evaluation du kit Genprobe[®] début 2013*

Thouzeau-Benghezal S, Capdenat S, Stepanian A, Coppo P, Veyradier A. Thromb. Haemostasis 2013

. *Evaluation du kit Technoclone[®] fin 2013-début 2014*

Joly B, Stepanian A, Hajage D, Thouzeau-Benghezal S, Capdenat S, Coppo P, Veyradier A. Thromb. Research, 2014

. *NB : auto-financement des réactifs (pas de conflit d'intérêt)*

PARTICIPATION AU STANDARD INTERNATIONAL

. (NIBSC, United Kingdom) sous l'égide du SSC VWF/ADAMTS13 de l'ISTH

. Très bons résultats

Equipe ADAMTS13 Hôpital Lariboisière, Paris

Mlle Sophie Capdenat

Mme Sandrine Benghezal

Dr Alain Stepanian

Mme Sylvaine Savigny

