

*A clear view into the future!*



# ADAMTS-13

## Diagnostic et dosage

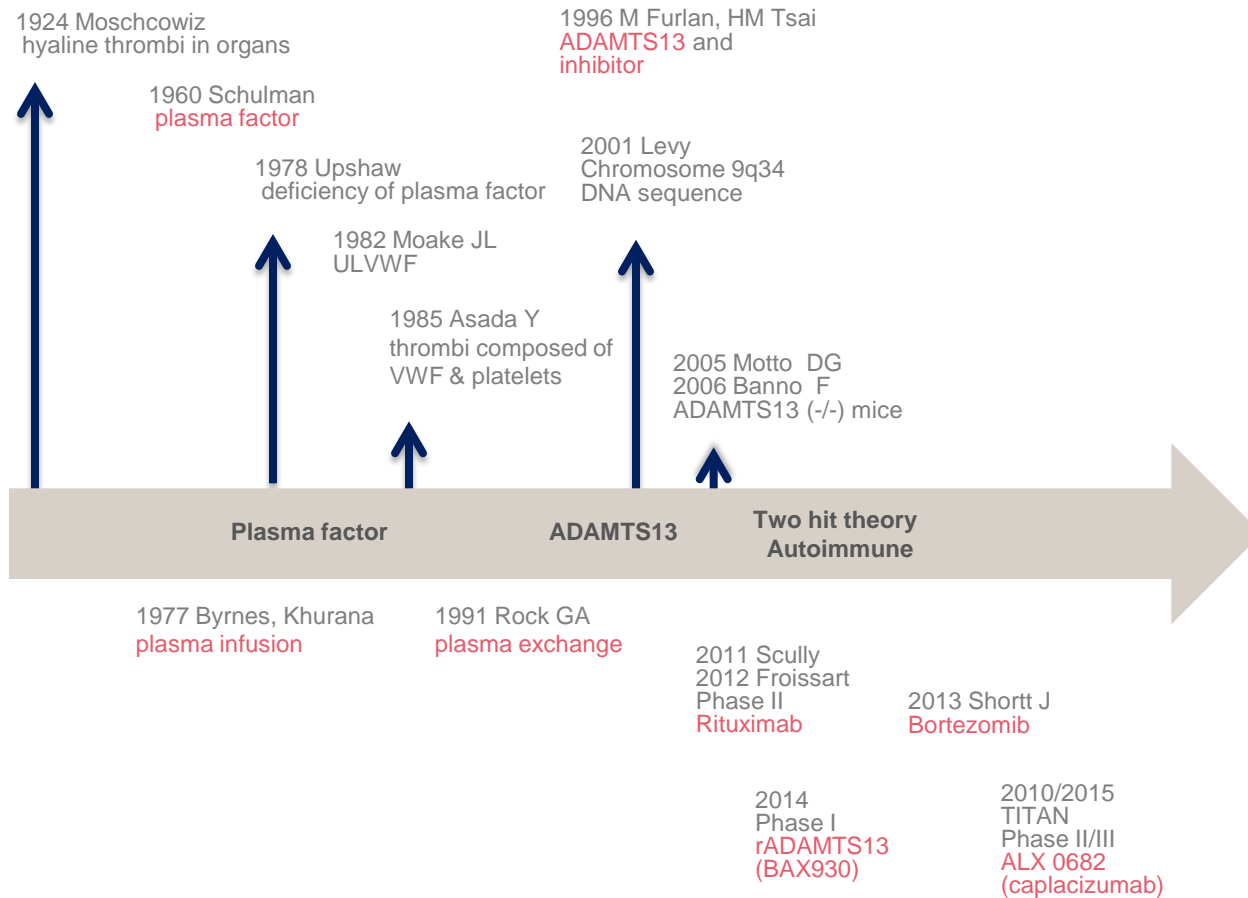
---

Nikolaus Binder, MD PhD  
Technoclone

Norbert Benattar  
Cryopep



# Histoire



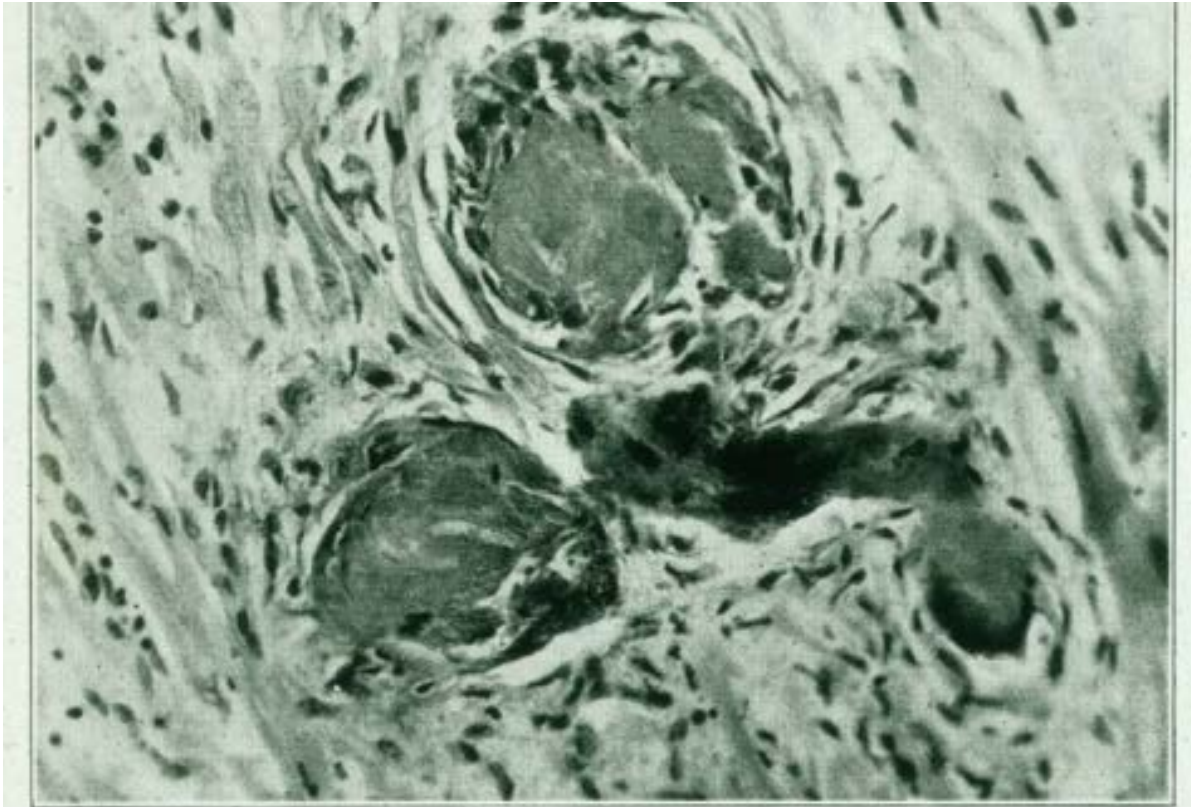


# Définitions

- MAT: micrangiopathie thrombotique; une pathologie entraînant une thrombose des capillaires et des artéioles, due à une lésion endothéliale caractérisée par une anémie hémolytique et une thrombocytopénie
- PTT: purpura thrombocytopénique thrombotique; caractérisé par une anémie hémolytique cliniquement microangiopathique (MAHA), une thrombopénie sans coagulation intravasculaire disséminée (CID) ou une autre cause apparente et sans insuffisance rénale aiguë à la présentation, causée par des thrombus riches en plaquettes dans les petits vaisseaux
- PTT acquis (auto-immun): PTT le plus acquis causé par un auto-anticorps contre ADAMTS13 caractérisé par un déficit sévère en ADAMTS13 (activité <10%). Le PTT acquis est à l'origine de la persistance de multimères de haut poids moléculaire du VWF et de la formation de micro-thrombi
- PTT héréditaire (syndrome d'Upshaw-Schulman)

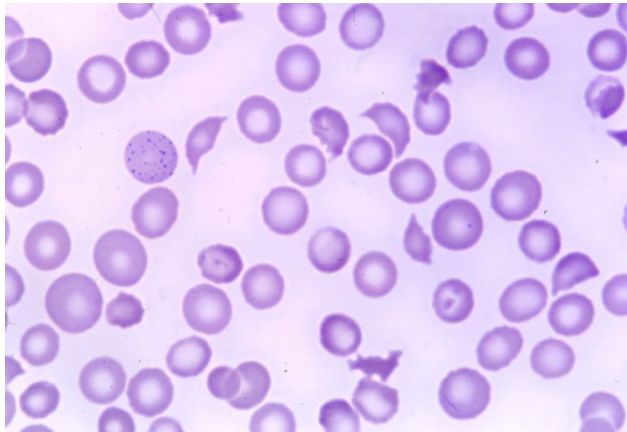


# Thrombose riche en plaquettes dans le PTT

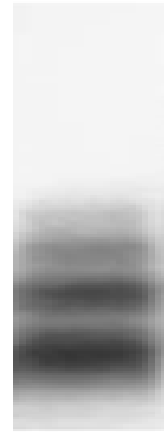


-Section of heart muscle, showing hyaline thrombi with beginning organization.

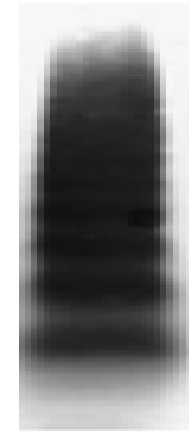
Moschcowitz, Arch. Int. Med.,  
36:89, 1925



cellules fragmentées dans un MAT  
(anémie hémolytique  
microangiopathique avec  
thrombocytopénie



N



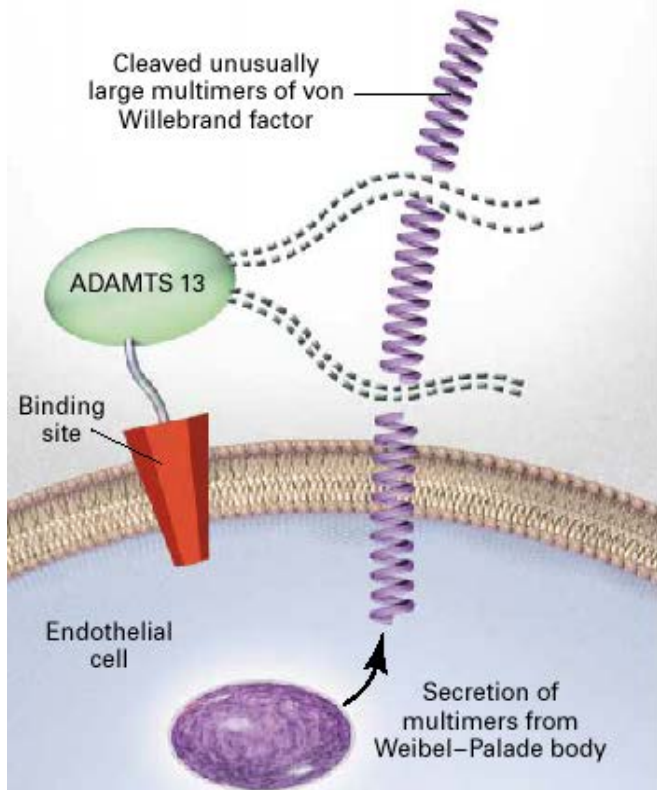
P

N; normal plasma  
P; patient avec ULVWF  
Multimère de vWF inhabituellement volumineux

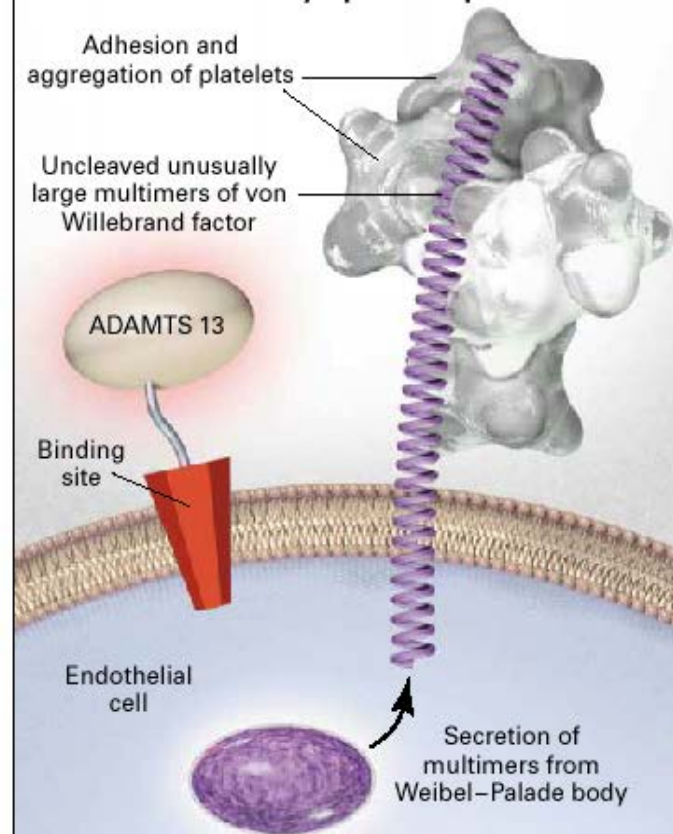




### Normal Subject



### Patient with Thrombotic Thrombocytopenic Purpura





# PTT

## 5 descriptions: la pentade

- anémie hémolytique microangiopathique
- thrombocytopénie
- troubles neurologiques
- insuffisance rénale
- fièvre



# Diagnostic du PTT

- Les 5 descriptions classiques n'étaient présentes que dans 7- 40%
- Un taux élevé de mortalité précoce a été observé sans début de traitement.
- Des critères diagnostiques moins stricts sont nécessaires pour permettre une mise en route plus rapide du traitement.
- Le test d'activité ADAMTS13 doit être effectué..

Blombery P. et al. Intern Med J 2016;46:71-79

Sadler JE. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2015;2015:631-636

Galbusera M, et al. Seminar Thromb Haemost 2006;32:81-89





# Importance de l'ADAMTS-13

- Les patients PTT présentant un déficit sévère en ADAMTS13 sont plus susceptibles de rechuter que les patients sans déficit ADAMTS13.
- Diagnostic du PTT
  - Forte corrélation entre ADAMTS13 sévère et PTT
  - Le diagnostic rapide du PTT avec l'ADAMTS13 présente un avantage thérapeutique en évitant l'utilisation d'un échange plasmatique.
  - Le syndrome hémolytique et urémique peut être exclu par l'ADAMTS13.

Sadler JE. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2015;631-636

Hassan S, et al. Br J Haematol 2015

Mannucci PM, Cugno M. Thromb Res. 2015;136:851-854

van der Veen BS, Besseling R, Hoogendoorn M. Transfusion. 2015;55:2511-2515

Vesely SK, et al. Blood 2003;102:60-68

Peyvandi F, et al. Hematologica 2008;93:232-239

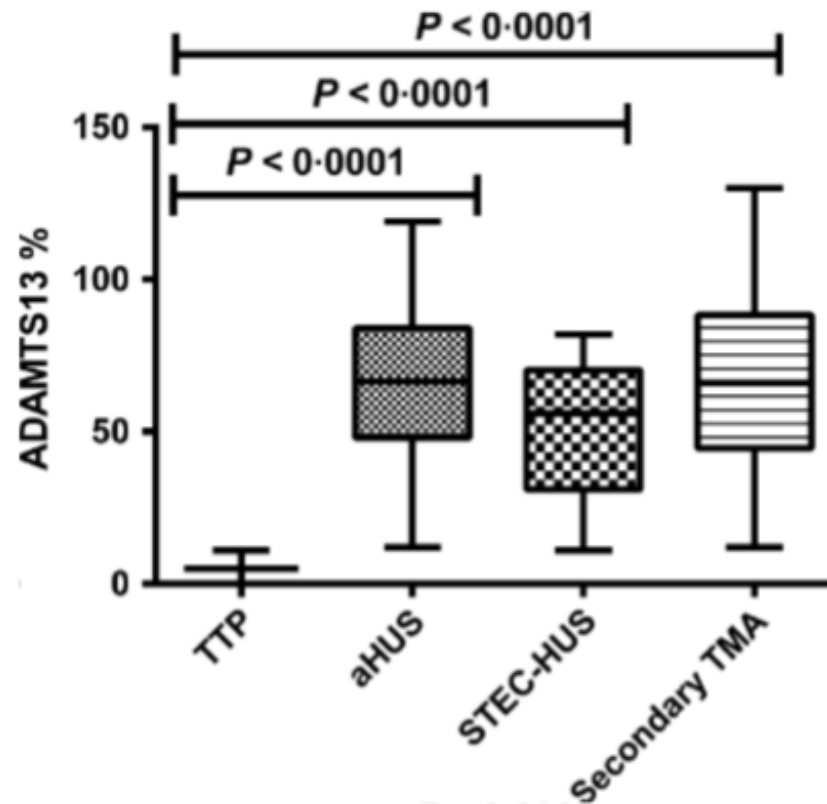
Kremer-Hovinga, et al. Blood 2010;115:1500-1511

Shah N, et al. Br J Hematol 2013;163:514-519

Connell NT, et al. Transfusion 2016;56:354-359

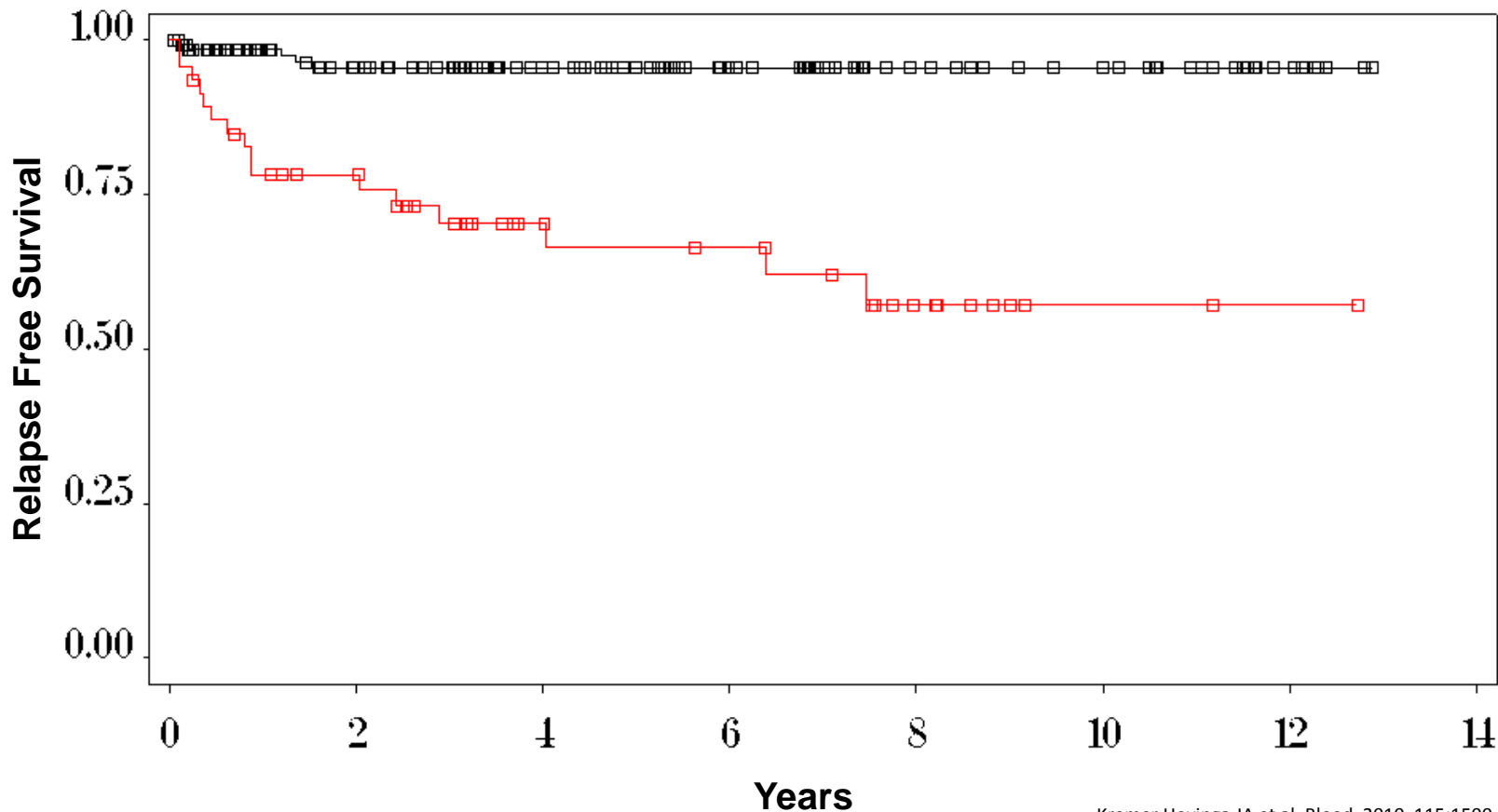


# Utilité diagnostique du déficit ADAMTS-13





# Rechute liée à un déficit en ADAMTS-13





# Critères diagnostiques actuels du PTT

(1) MAHA (anémie hémolytique microangiopathique, thrombocytopénie)

(2) activité ADAMTS13 <10%

ou plaquettes <  $30 \times 10^9/L$

et

créatinine sérique < 2.26 mg/L

**Tests auxiliaires (pas toujours nécessaires)**

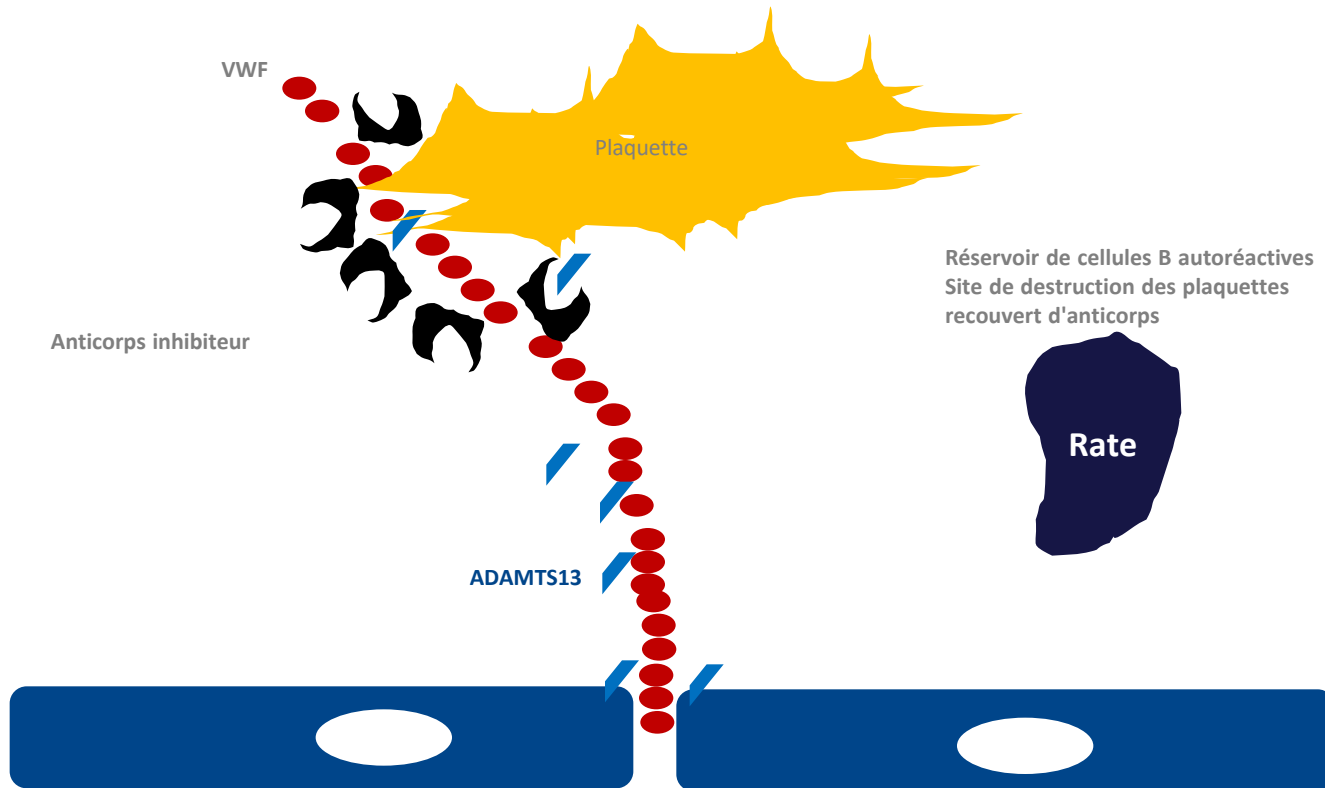
(3) autoanticorps contre ADAMTS13 ou

(4) anomalie génétique du gène ADAMTS13 (5)

Exclusion d'une autre cause de MAT



# Pathogenèse du PTT





# Principes de traitement

- Remplacement de l'ADAMTS13 déficient
- Élimination des auto-anticorps





# Options de traitement du PTT

- Échange plasmatique (PEX)
- Glucocorticoïdes (diminution de l'activité autoimmune)
- Rituximab (anticorps monoclonal chimérique dirigé contre la molécule de surface CD20 (présente sur la plupart des cellules B)).
- Splénectomie
- Caplacizumab : nanobody humanisé (petit fragment fonctionnel d'une chaîne lourde d'immunoglobuline) qui cible le domaine A1 du VWF et inhibe l'adhésion des plaquettes
- rADAMTS13



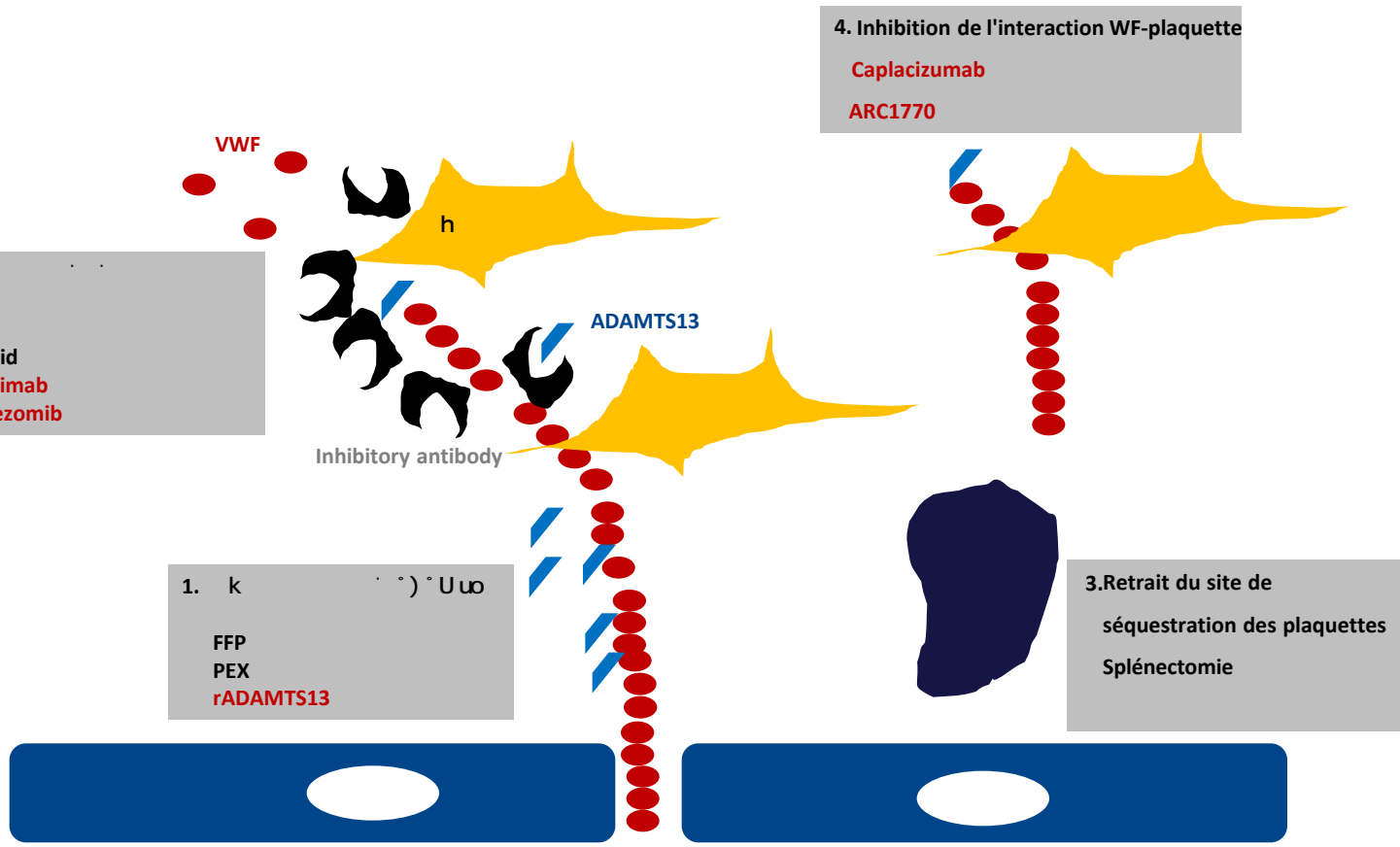
# Gestion du PTT

2. /  
 PEX  
 steroïd  
 Rituximab  
 Bortezomib

1. k  
 FFP  
 PEX  
 rADAMTS13

4. Inhibition de l'interaction WF-plaquette  
 Caplacizumab  
 ARC1770

3. Retrait du site de  
 séquestration des plaquettes  
 Splénectomie





# Résumé

- La définition du PTT est en train de devenir un concept étroit de MAT déficient en ADAMTS13 sévère en fonction de sa pathogénèse et de la réponse différente au traitement par PEX..
- La mesure du test ADAMTS13 est désormais obligatoire avant et pendant la prise en charge du PTT.
- Deux principes de traitement importants sont (1) le remplacement de l'activité ADAMTS13 déficiente et (2) l'élimination de l'autoanticorps contre ADAMTS13.
- Les options de traitement initial les plus importantes sont le PEX et les stéroïdes.
- Le rituximab est indiqué chez les patients réfractaires ou en rechute avec PTT
- Caplacizumab prévient la phase initiale de formation du thrombus et augmente la clairance du VWF, ce qui explique son potentiel intérêt à la phase précoce des PTT



# Pourquoi est-ce toujours un problème?

- Patients gravement malades au moment de la présentation
- Recommandation pour obtenir le résultat ADAMTS-13 dans les 24 heures
- Le délai d'obtention du résultat (diagnostic) varie de 6 heures à 3 semaines



# ADAMTS-13

## les différents dosages

- Dosage Activité et Antigène en fluorescence FRET
- Dosage Activité en colorimétrie
- Dosage Antigène en colorimétrie
- Dosage de l'inhibiteur anti ADAMTS-13 en colorimétrie
- Dosage Unitaire de l'activité en test rapide



# Standardisation

- Les calibrateurs et les contrôles sont préparés à partir de plasmas normaux
- Les calibrateurs et les contrôles sont étalonnés par rapport à l'étalon international OMS pour ADAMTS-13



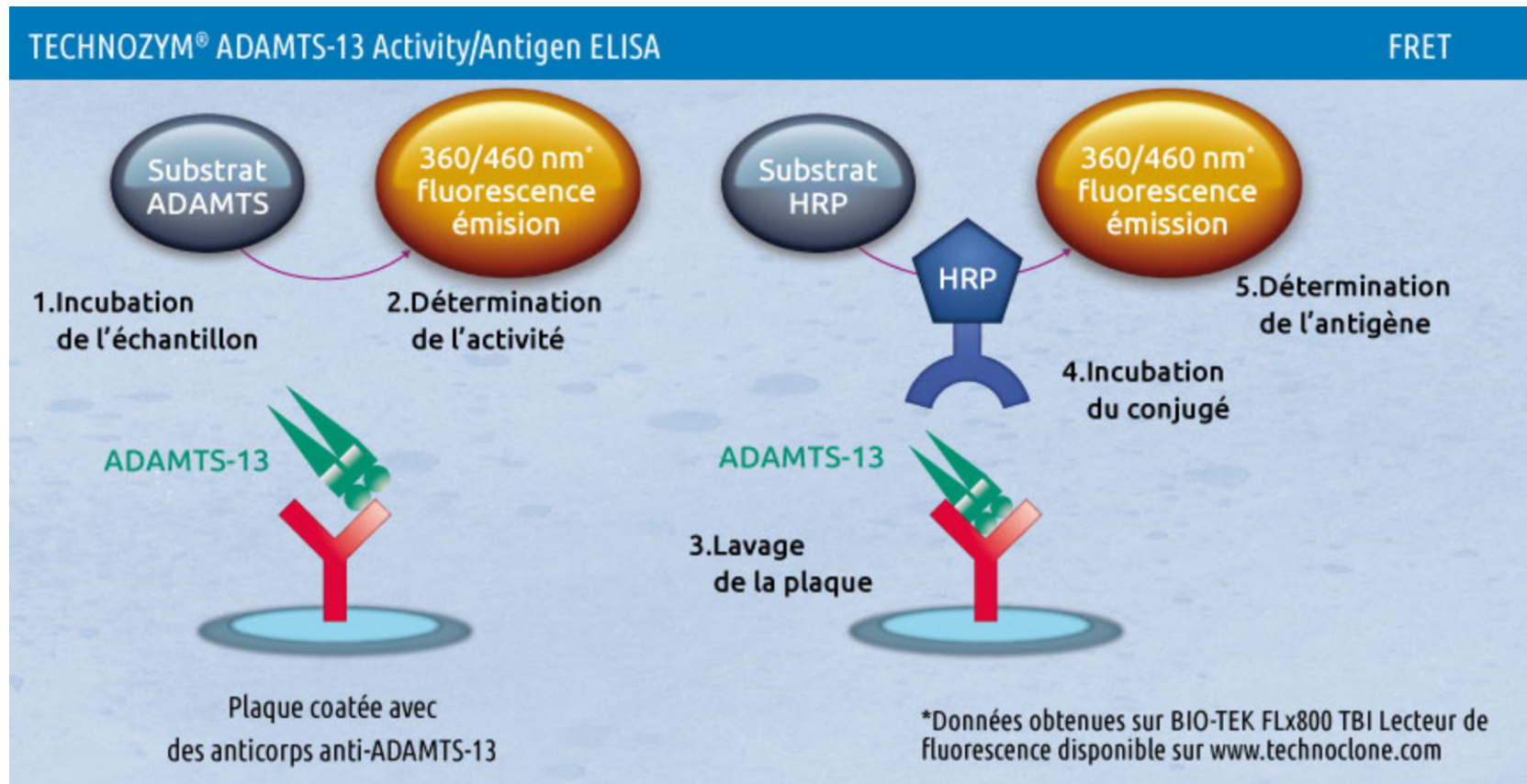


# Dosage de l'activité ADAMTS-13 en FRET TECHNOZYM® ADAMTS-13 Activity/Antigen

- Coffret : TECHNOZYM® ADAMTS-13 Activity/  
Antigen ELISA  
référence: 4-5450501 ou 4-5450551  
Méthode ELISA: 12 x 8 tests ou 6 x 8 tests
- Calibrateur : TECHNOZYM® ADAMTS-13  
Activity/Antigen Cal Set  
référence: 4-5450561
- Contrôles : TECHNOZYM® ADAMTS-13 Activity/Antigen  
Control Set  
référence: 4-5450563



# Dosage Activité et Antigène en fluorescence FRET TECHNOZYM® ADAMTS-13 Activity/Antigen





# Dosage de l'activité ADAMTS-13 en colorimétrie TECHNOZYM® ADAMTS-13 Activité

- Coffret : TECHNOZYM® ADAMTS-13 Activité  
référence: 4-5450701  
Méthode ELISA: 12 x 8 tests
- Calibrateur : TECHNOZYM® ADAMTS-13  
Activity Cal Set  
référence: 4-5450761
- Contrôles : TECHNOZYM® ADAMTS-13 Activity  
Control Set  
référence: 4-5450763





# TECHNOZYM® ADAMTS-13

## Activité

Échantillons suspects PTT		PTT		
		présent	absent	total
ADAMTS-13	<0.1IU/mL	78	3	81
	>0.1 IU/mL	1	39	40
	total	79	42	121

Paramètre	Valeurs	95% CI
Sensibilité	98.73%	93.15% to 99.97%
Specificité	92.86%	80.52% to 98.50%
Valeur Prédictive Positive	96.30%	89.73 % to 98.72%
Valeur Prédictive Négative	97.50%	84.74% to 99.64%



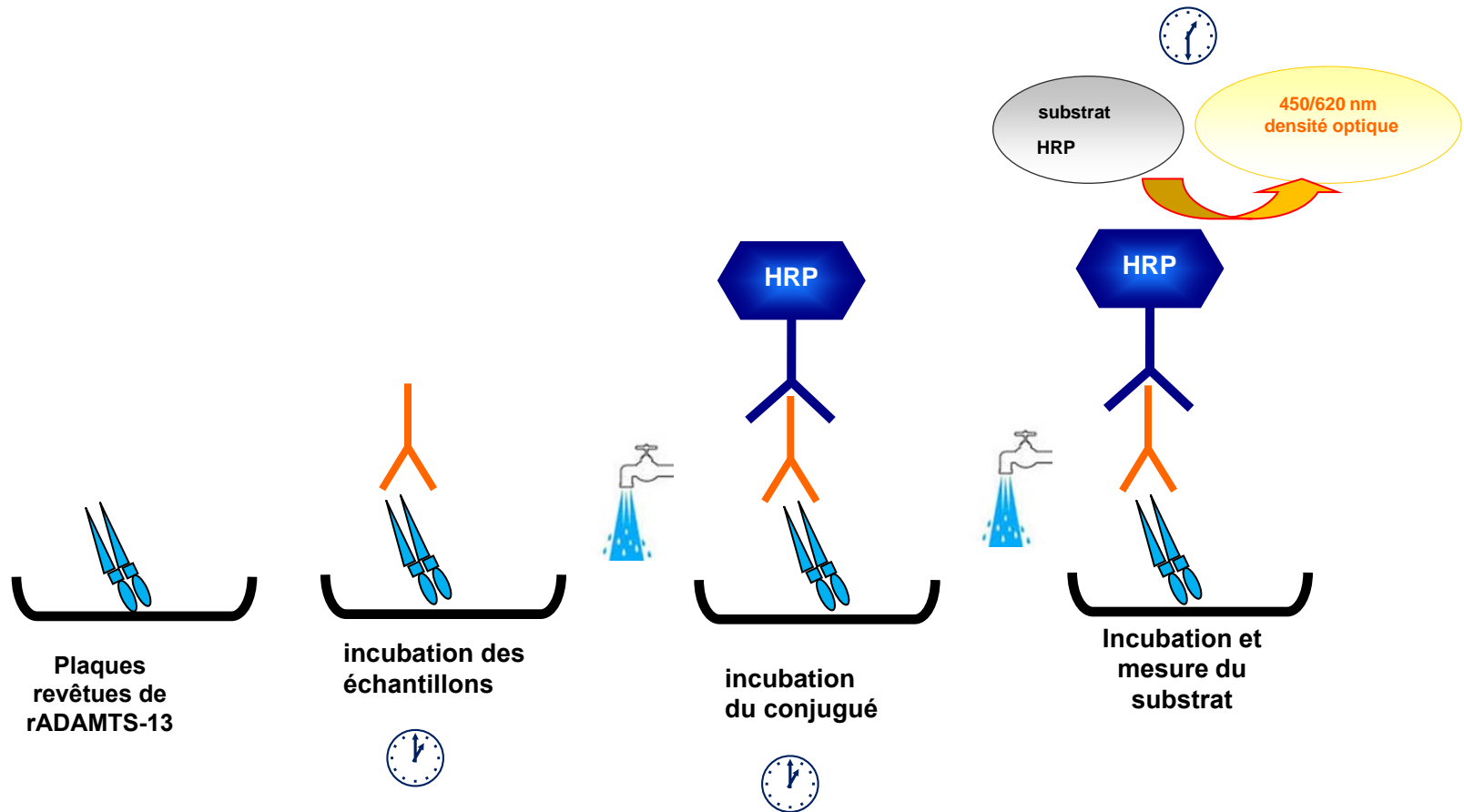
# Dosage des anti-ADAMTS-13 en colorimétrie TECHNOZYM® ADAMTS-13 INH

- Coffret : TECHNOZYM® ADAMTS-13 INH  
référence: 4-5450401 ou 4-5450451  
Méthode ELISA: 12 x 8 tests ou 6 x 8 tests
- Calibrateur : TECHNOZYM® ADAMTS-13 INH  
Calibrator Set  
référence: 4-5450461
- Contrôles : TECHNOZYM® ADAMTS-13 INH  
Control Set référence:  
4-5450463



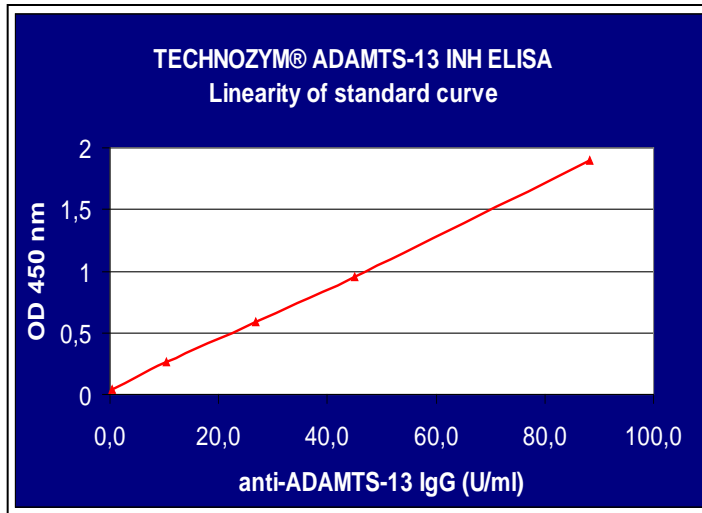


# TECHNOZYM® ADAMTS-13 INH

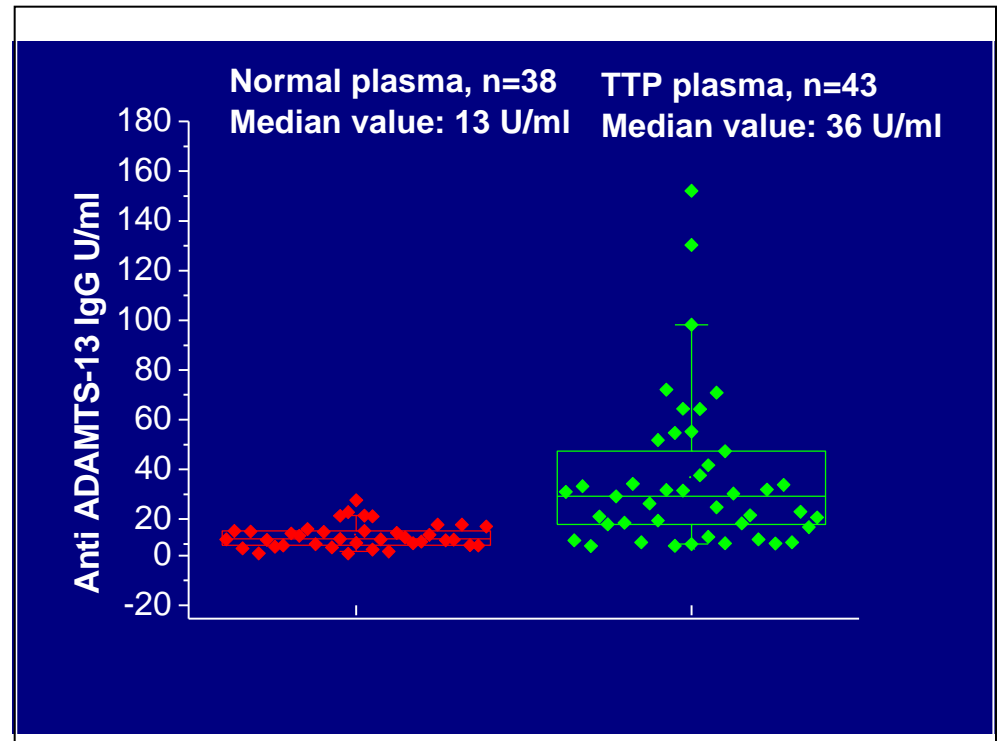




# TECHNOZYM® ADAMTS-13 INH



⇒ la linéarité de la courbe ( $R^2 = 0,999$ ) permet une mesure précise et sensible de l'ADAMTS-13 INH



La détermination des IgG anti-ADAMTS-13 montre une différence significative de concentration d'ADAMTS-13 INH entre les patients normaux et les patients PTT (T-value = 4.78)

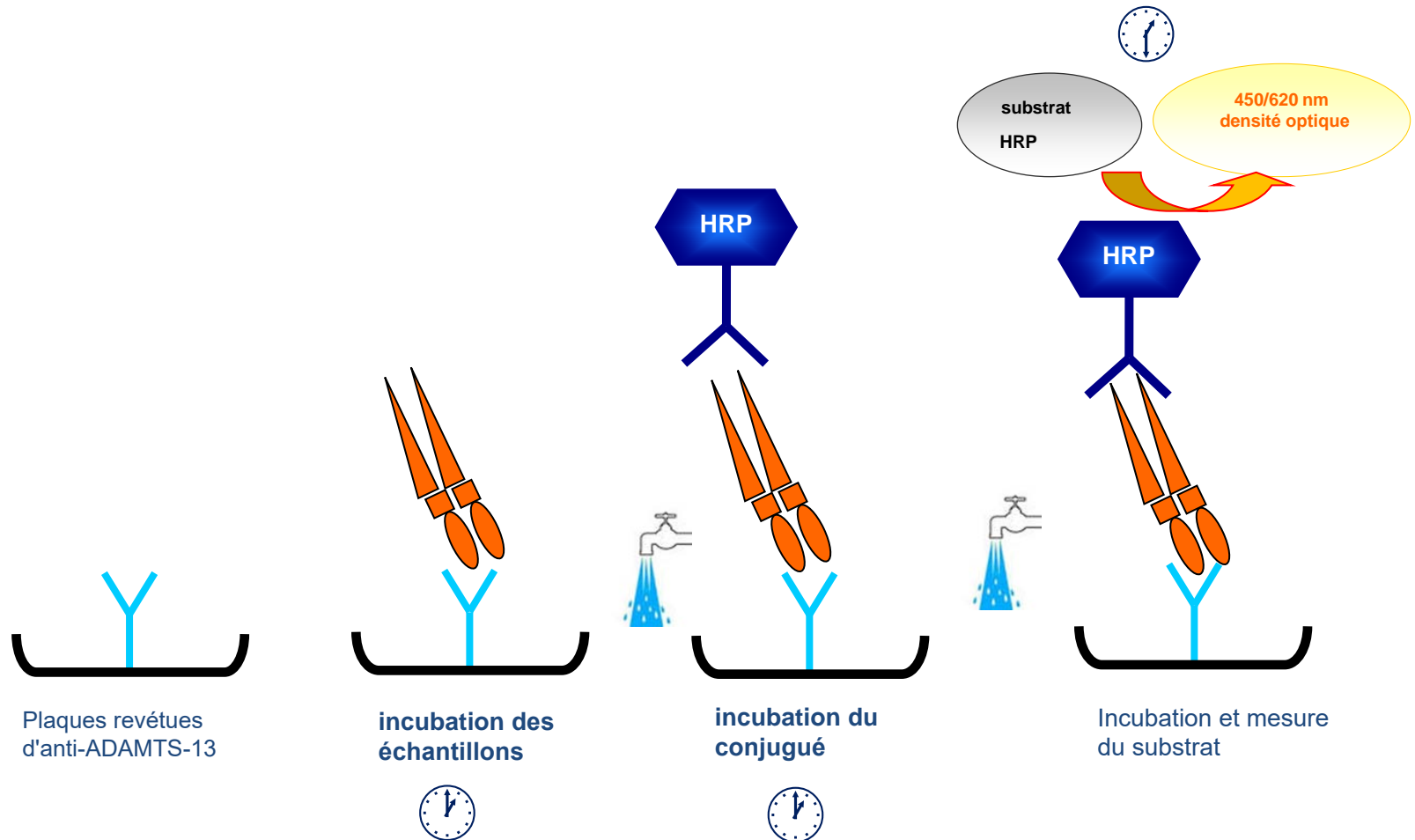


# Dosage de l'antigène ADAMTS-13 en colorimétrie TECHNOZYM® ADAMTS-13 Antigen

- Coffret : TECHNOZYM® ADAMTS-13 Antigen ELISA  
référence: 4-5450601  
Méthode ELISA: 12 x 8 tests
- Calibrateur : TECHNOZYM® ADAMTS-13 Antigen  
Calibrator Set  
référence: 4-5450661
- Contrôles : TECHNOZYM® ADAMTS-13 Antigen  
Control Set  
référence: 4-5450663

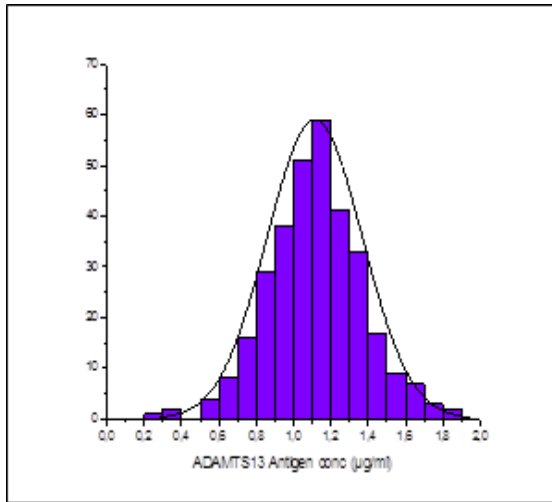


# TECHNOZYM® ADAMTS-13 Antigène

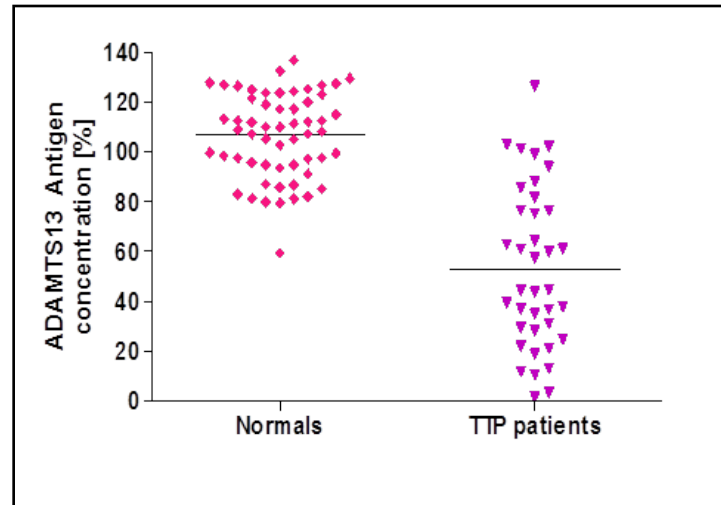




# TECHNOZYM® ADAMTS-13 Antigène



**La plage normale d'antigène  
ADAMTS-13 varie dans une large  
plage: 0,6 à 1,6 µg / mL (70 à 160%)**



**Les niveaux d'antigène  
ADAMTS-13 chez les patients  
PTT sont considérablement  
réduits.**



# ADAMTS-13

## Exemple de résultats

<b>Echantillon</b>	<b>ADAMTS-13 activity</b> Zone Normale 0.4 – 1.3 IU/mL	<b>ADAMTS-13 Inhibitor</b> Cut-off 12 – 15 U/mL	<b>ADAMTS-13 antigen</b> Zone Normale 0.5- 1.4 IU/mL	<b>Interprétation</b>
1	0.6 IU/mL	10 U/mL	0.8 IU/mL	normal
2	0.02 IU/mL	80 U/mL	0.6 IU/mL	PTT acquis sévère
3	0.1 IU/mL	5 U/mL	0.3 IU/mL	PTT congénital le plus probable
4	0.55 IU/mL	10 U/mL	0.5 IU/mL	aHUS?
5	1.0 IU/mL	80 U/mL	1 IU/mL	Combinaison très improbable - test INH faussement positif ??

aHUS: Syndrome hémolytique et urémique atypique





# Dosage Unitaire de l'activité ADAMTS-13 en test rapide

## TECHNOSCREEN® ADAMTS-13 Activité

- Coffret : TECHNOSCREEN® ADAMTS-13  
Activité  
référence: 4-5700100  
Méthode ELISA: 10 x 1 tests

Le test unitaire TECHNOSCREEN® ADAMTS-13 est un système semi-quantitatif pour la détermination de l'activité de la protéase ADAMTS-13 dans le plasma humain citraté. Ce test a été conçu pour être utilisé en première intention pour estimer rapidement l'activité de l'ADAMTS-13.



# Dosage Unitaire de l'activité ADAMTS-13 en test rapide TECHNOSCREEN®

## ADAMTS-13 Activité

