



11-13
SEPT.
2024

LILLE
GRAND PALAIS

CONGRÈS FRANÇAIS
d'HÉMOSTASE



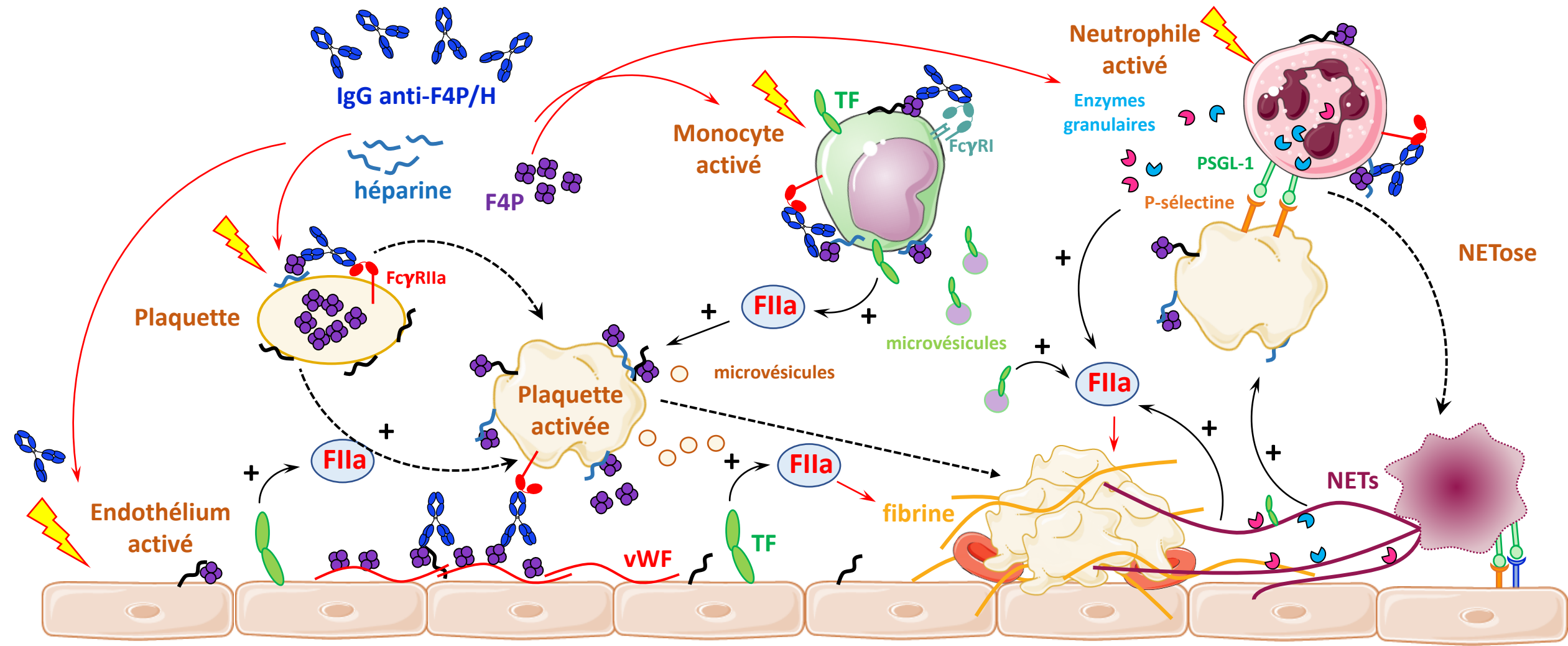
Propositions de standardisation des tests fonctionnels pour le diagnostic des thrombopénies induites par l'héparine

Dorothee Faille, Caroline Vayne, Emmanuel De Maistre, Anne Bateurs, Christine Mouton, Olivier Feugeas, Brigitte Tardy, Yves Gruel, Nadine Ajzenberg, Claire Pouplard

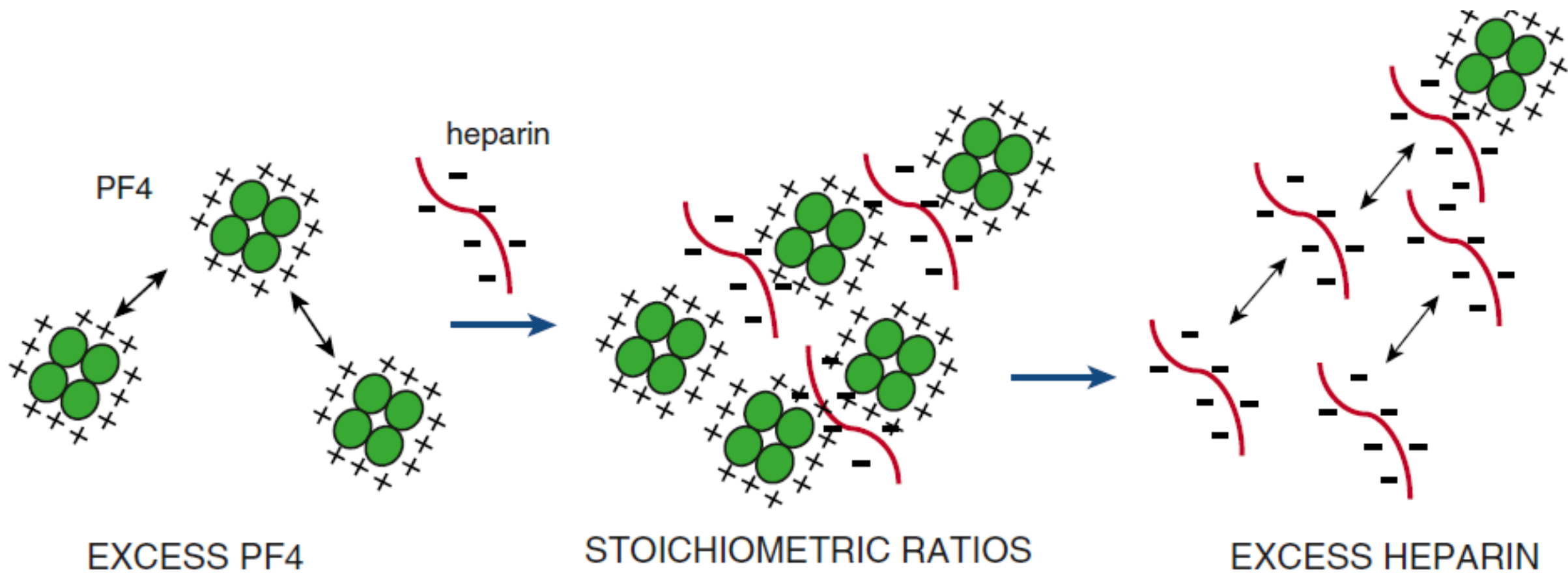
Thrombopénie induite par l'héparine (TIH)

- **Thrombopénie** médicamenteuse **atypique**
- Survient, dans la plupart des cas, après **5 à 10 jours** de traitement par l'héparine
- **Anticorps** dirigés contre une protéine du soi, le facteur 4 plaquettaire (F4P, granules alpha) complexé à l'héparine
- Saignements rares et **complications thrombotiques** fréquentes

Activation pluricellulaire et état hypercoagulable induits par les anticorps anti-F4P/H



Formation des complexes F4P/H à des rapports stœchiométriques bien définis



Un diagnostic clinico-biologique en 3 étapes

- **1/ Probabilité pré-clinique**

- Score des 4T +++, HEP score...
- Chirurgie cardiaque (CEC), ECMO: cinétique plaquettaire +++

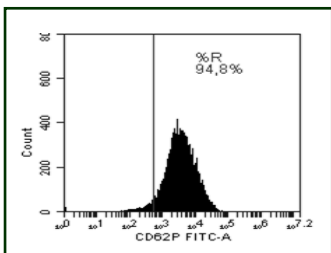


- **2/ Tests immunologiques** => détection des IgG anti F4P/H

- **3/ Tests fonctionnels** => pathogénicité des IgG anti F4P/H

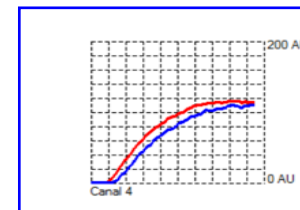
Tests fonctionnels nombreux

Cytométrie en flux (CMF)
 WB PRP
 P-selectin (CD62P), PS...

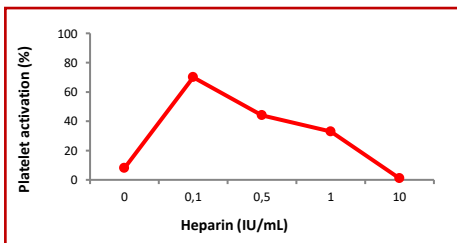


Manuels, longs, peu standardisés

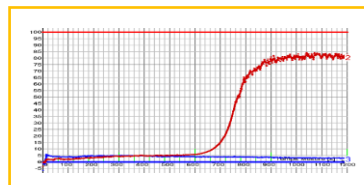
Heparin-Induced Multiple Electrode Impedance (HIMEA)
 Impédancemétrie
 WB



Serotonin Release Assay (SRA)
 WP
¹⁴C-5HT release
 Gold-standard



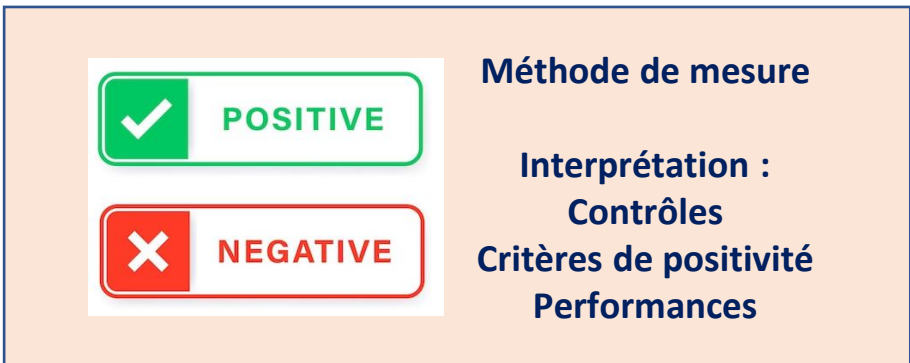
Test d'agrégation plaquettaire (TAP)
 Transmission de lumière (LTA)
 PRP WP



Heparin-Induced Platelet Activation (HIPA)
 Mesure visuelle
 WP



Sources de variabilité



- Donneurs: sélectionnés ou pas ? combien ?
- Préparation des plaquettes : PRP, plaquettes lavées (protocole ?) ou sang total ?
- Echantillon patient : Plasma ou sérum ? Chauffé ou non ?
- Concentrations d'héparine ?
- Mesure de l'activation plaquettaire
- Contrôles ?
- Critères de positivité ?
- Performances ?



Objectifs

- Emettre des propositions claires pour la **réalisation** et **l'interprétation** des tests fonctionnels
- Faciliter le rôle du biologiste dans le choix et l'interprétation des tests

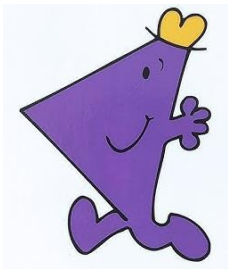
Méthodes



- 31 propositions rédigées par le groupe de travail
- Votées par 25 membres de la SFTH réalisant des tests fonctionnels dans leur laboratoire
- 27 ont reçu un accord professionnel fort :



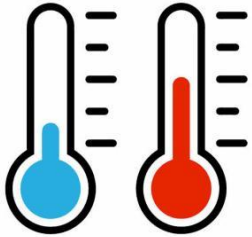
Quel délai entre la suspicion de TIH et la réalisation d'un test fonctionnel ?



- Les tests fonctionnels d'activation plaquettaire doivent être réalisés **le plus précocement possible** par rapport à la suspicion clinique de TIH, idéalement sur le même prélèvement que celui utilisé pour le test immunologique.

(SFTH 2024; Accord FORT)

Plasma ou du sérum ?



- Les tests diagnostiques peuvent être réalisés sur **plasma citraté** ou sur **sérum** mais ne peuvent pas être réalisés sur CTAD. Le nombre de cycles de congélation/décongélation des échantillons doit être limité afin d'éviter la formation d'agrégats d'IgG.
- Il est possible d'acheminer le plasma ou le sérum vers le laboratoire en charge des analyses à **température ambiante**, les anticorps étant très stables dans cette condition.

(SFTH 2024; Accord FORT)

Les échantillons doivent-ils être chauffés à 56°C ?



- Pour tous les tests fonctionnels, il est recommandé de chauffer le plasma ou le sérum à **56° C pendant 30 minutes** à 1 heure puis centrifugé afin minimiser le risque d'activation plaquettaire non spécifique.

(SFTH 2024; Accord FORT)



Doit-on sélectionner les donneurs ? Si oui, comment ? Quel CIQ ?



VALIDÉ

- Afin de pallier aux variabilités de réponse des plaquettes aux anti-F4P/H:
 - Il est proposé de **sélectionner**, si possible, des donneurs de plaquettes « bons répondeurs ».
 - La sélection d'un donneur « bon répondeur » peut être réalisée avec un échantillon de **patient TIH** ou en utilisant l'anticorps monoclonal **5B9** (entre 100 et 200 µg/ml).
 - Il est nécessaire de s'assurer que le donneur n'a pris **aucun médicament** impactant les fonctions plaquettaires au cours de la semaine précédant le prélèvement.
- Il est nécessaire de vérifier la fonctionnalité de la **voie FcYRIIA** des plaquettes des donneurs **lors de chaque série** de test. un échantillon de patient TIH ou l'anticorps monoclonal 5B9 peuvent être utilisés comme **contrôle positif**, dans les mêmes conditions que l'échantillon du patient.

(SFTH 2024; Accord FORT)

Quel délai entre le prélèvement du donneur et la réalisation des tests ?

Les tests fonctionnels doivent être réalisés dans un délai de moins de **4 heures** après le prélèvement du donneur de plaquettes.

(SFTH 2024; Accord FORT)



Quelles concentrations d'héparine doivent être testées ?



- **Deux concentrations faibles d'héparine** (entre 0,1 et 1 UI/mL) doivent systématiquement être testées.
- Si le test d'activation plaquettaire est positif aux faibles concentrations d'héparine :
 - **Une forte concentration d'héparine** (≥ 10 UI/ml)
 - Une activation des plaquettes **sans héparine** peut être associée à une plus forte pathogénicité des anticorps et par conséquent à un tableau clinique plus sévère.

(SFTH 2024; Accord FORT)

Faut-il tester systématiquement les plaquettes de plusieurs donneurs ? Si oui, combien ?

- Sauf cas particulier, il est nécessaire de tester les plaquettes d'**au moins 2 donneurs** différents.
- Un test d'activation plaquettaire **positif sur un seul donneur** peut suffire à confirmer le diagnostic de TIH sous réserve : de la validation des contrôles internes, d'un test immunologique positif et d'une probabilité clinique élevée ou intermédiaire de TIH.
- En cas de test fonctionnel négatif et de probabilité élevée de TIH et/ou de fort titre d'anticorps détecté par un test immunologique, il est recommandé de tester l'échantillon sur **au moins 3 donneurs** avant de conclure que le test fonctionnel est **négatif** ou d'avoir recours à un autre test fonctionnel plus sensible (SRA, HIPA).

(SFTH 2024; Accord FORT)



Conclusions

- Les tests fonctionnels doivent répondre à des exigences strictes de qualité.
- Une confrontation clinico-biologique est toujours nécessaire pour décider de leur réalisation et pour les interpréter.



Remerciements

- Caroline Vayne
- Emmanuel De Maistre
- Anne Bauters
- Christine Mouton
- Olivier Feugeas
- Brigitte Tardy
- Yves Gruel
- Nadine Ajzenberg
- Claire Pouplard
- Elodie Boissier
- Dominique Helley
- Alain Stepanian