



1^{ER} / 3
JUN
2022

CONGRÈS FRANÇAIS
d'HÉMOSTASE



MHEMO



CENTRE DE CONGRÈS CITÉ MONDIALE

Masterclass: modèle d'étude en flux

Nouveau système microfluidique de mesure de la capacité hémostatique en sang total et en condition de flux

Norbort BENATTAR, CRYOPEP

Déclaration de liens d'intérêts

Distributeur exclusif en France du T-TAS pour le compte de la société japonaise Zacros Fujimori



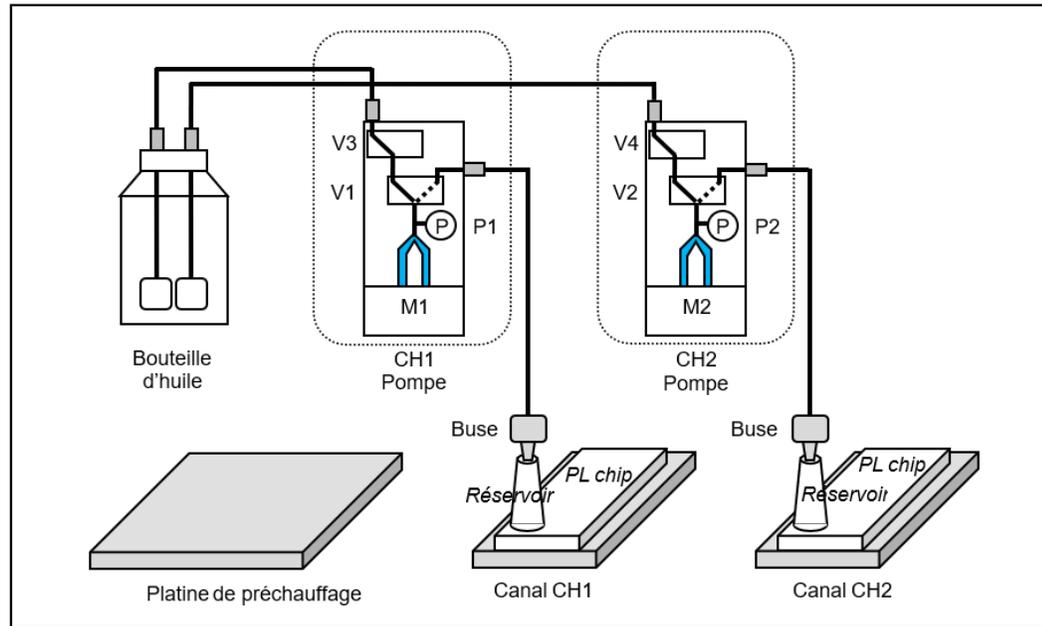
Mesure de la fonction hémostatique
dans une variété de contextes cliniques et de recherche

Le T-TAS[®] 01 : Système

- Système IVD
- Chambre de flux + ordinateur
- Mesure sur sang total
- Condition de shear physiologique
- 3 différents types de chips
- Utilisation de 2 chips simultanément



Le T-TAS[®] 01 : Fonctionnement



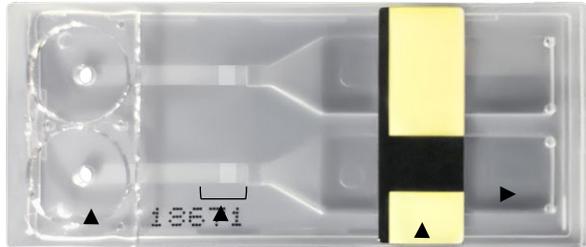
Une pompe de précision (**CH**) composée d'un moteur (**M**) couplée à un capteur de pression (**P**) et deux électrovannes (**V**) qui **maintiennent un débit constant**.

➡ **Le T-TAS mesure l'augmentation de pression du fait de la formation du thrombus**



Le T-TAS[®] 01 : Les consommables

PL Chip (Platelet Chip)



**Coating
collagène**

Zone d'entrée du sang microcapillaires Code-barre

Réservoir sang usagé

Réservoir de recueil de sang

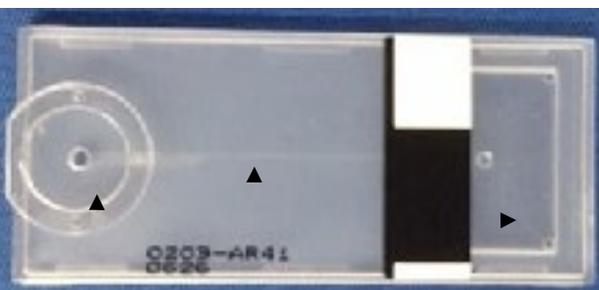


Se place à la zone d'entrée du sang de la Chip

Tube BAPA



AR Chip (Atheroma Chip)



**collagène
+
facteur tissulaire**

Zone d'entrée du sang monocapillaires

Code-barre

Réservoir sang usagé

HD Chip

(similaire à la AR chip)

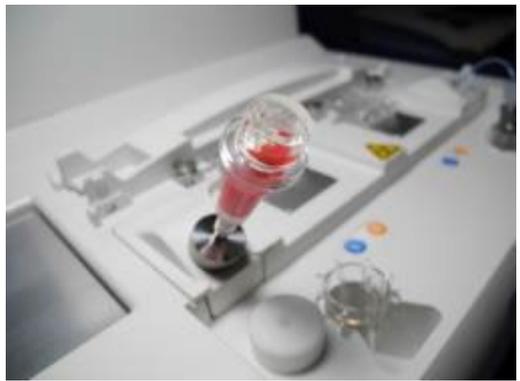


**collagène + facteur
tissulaire**

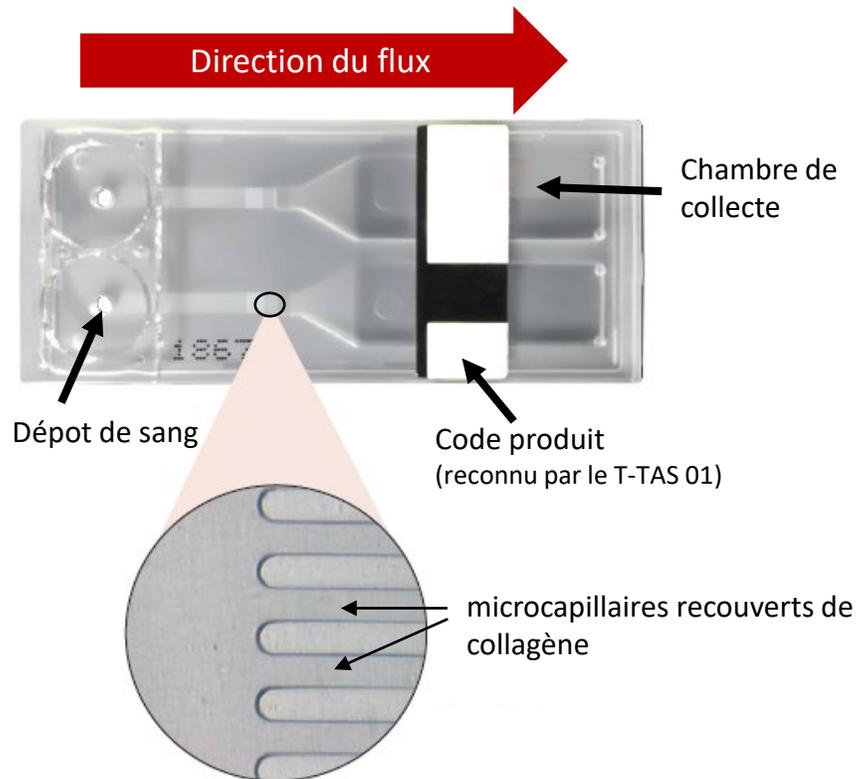
Tube Ca-CTI



Principe de mesure



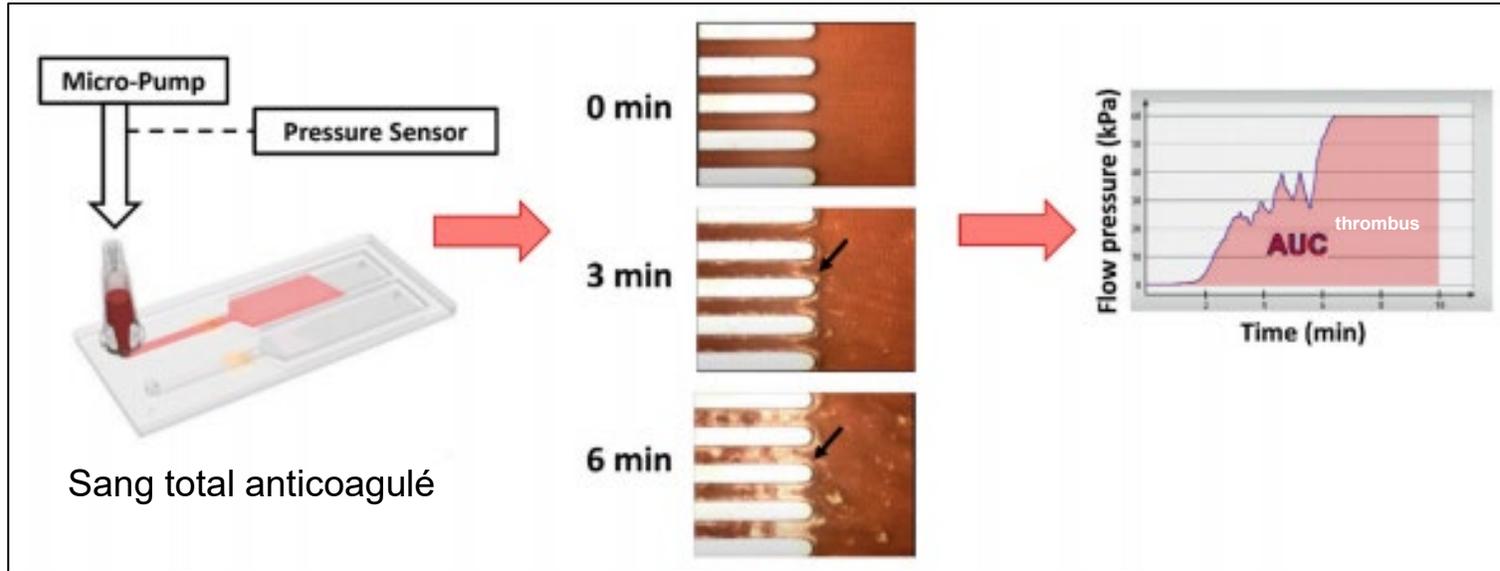
PL Chip: spécifique pour l'hémostase primaire physiologique



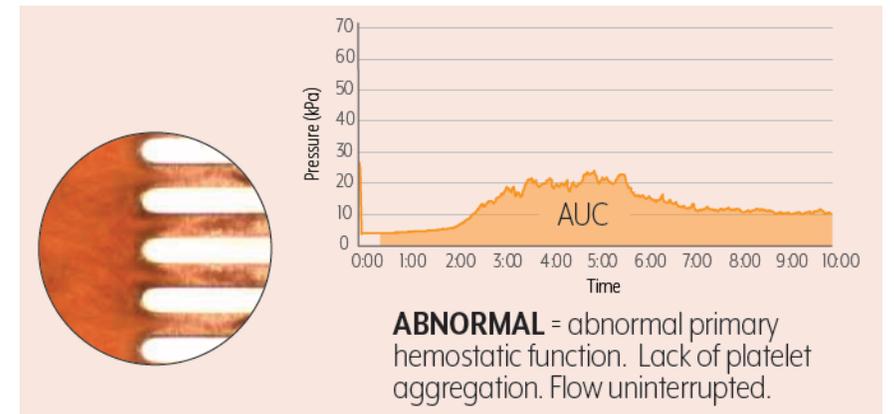
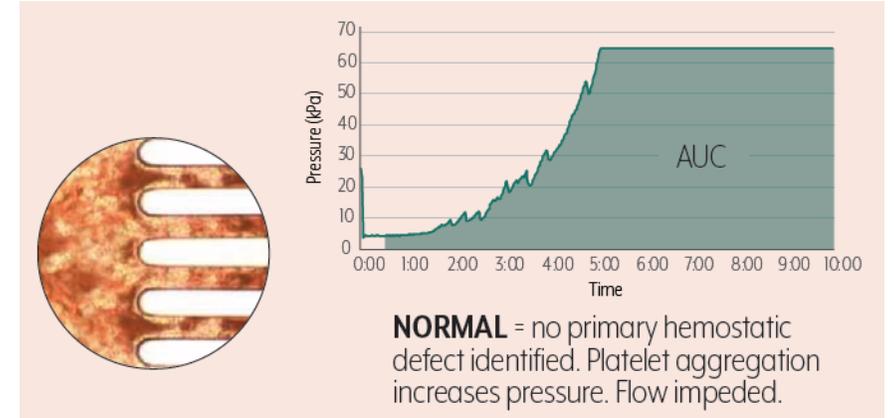
- 320 μ L de sang anticoagulé au BAPA par chambre de circulation
- Le sang circule à travers les 26 microcapillaires simultanément de taille 40 μ m x 40 μ m
- **Coating de collagène de type I**
- Contrainte de cisaillement de 1500 s^{-1} permettant le déploiement du facteur von Willebrand (VWF) pour l'adhérence des plaquettes.
- 2 chambres de circulation par puce soit 2 dosages
- Durée du test \leq 10 minutes
- Thrombus riche en plaquettes

Principe de mesure de la PL Chip

← flux



Le Blanc J. et al, Front Vet Sci, 2020

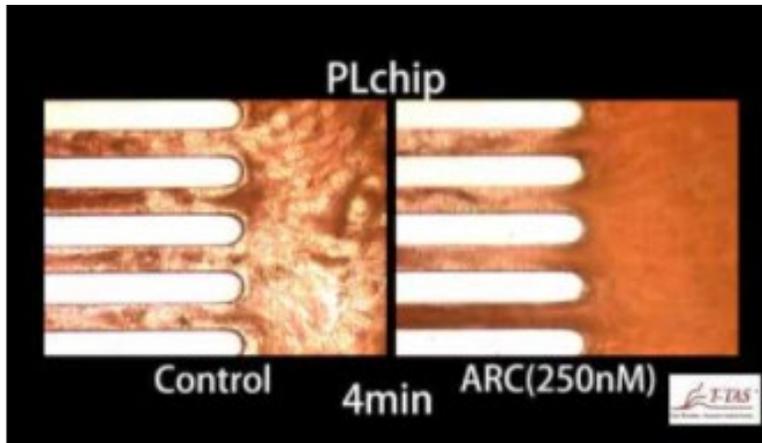


PL Chip : données de performance

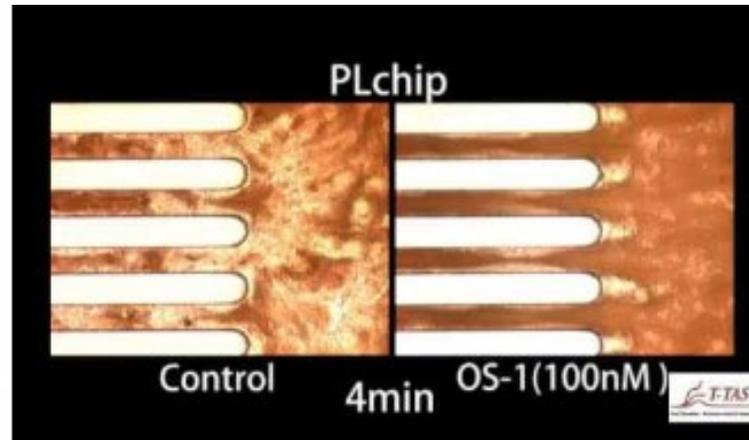
- ✓ Zone de mesure de 0.3 – 467.7 AUC
- ✓ Zone de normalité : 270.0 – 447.7 AUC (CV<15%)
- ✓ Seuil : AUC <260 indique une altération de la fonction hémostatique primaire
- ✓ Données d'utilisation prévues pour le suivi des patients
 - Tendances hémorragiques
 - Anomalies de la fonction hémostatique primaire
 - Thérapie antiplaquettaire
 - Troubles congénitaux plaquettaires

PL Chip : Exemple de résultats sur T-TAS Recherche

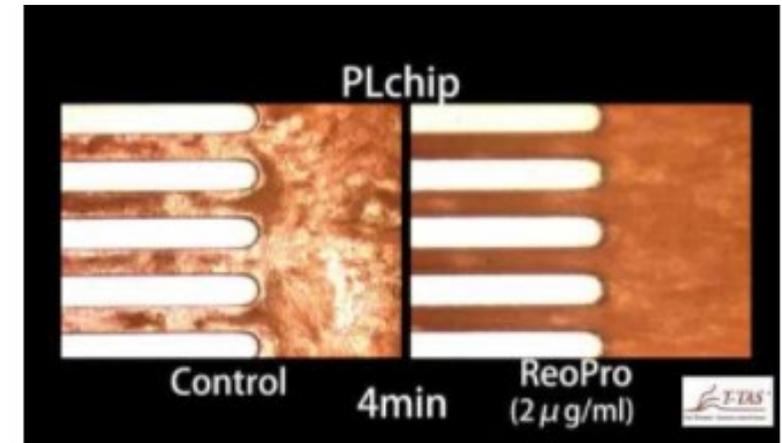
Formation du thrombus plaquettaire en sang total en absence ou présence d'antagonistes de récepteurs plaquettaires



**antagoniste du récepteur
P2Y12 (ARC)**



**antagoniste du récepteur
GPIb α (OS-1)**



**antagoniste du récepteur
GPIIb/III α (ReoPro)**

D'après les vidéos sur le site T-TAS.info

PL Chip: thérapie antiplaquettaire

CLINICAL VALIDATION OF THE T-TAS 01 PL ASSAY IN PATIENTS TAKING ANTIPLATELET THERAPY

J. Dahlen¹, P. Gurbel², A.H.B. Wu³, K. Bliden², C-M. Ong³, U. Tantry², K. Hosokawa⁴

¹Hikari Dx, Inc., San Diego, United States, ²Sinai Hospital, Baltimore, United States,

³University of California, San Francisco, United States, ⁴Fujimori Kogyo Co., Ltd, Tokyo, Japan

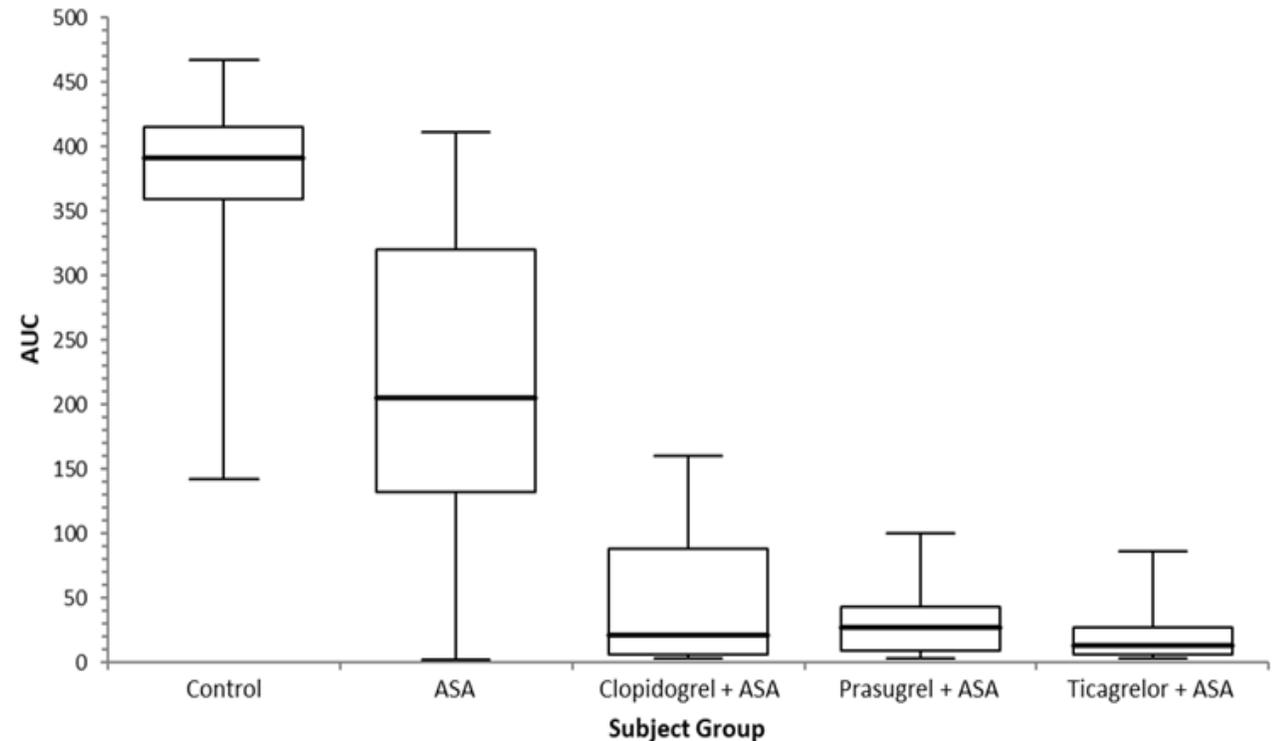
Group	N	Mean	SD	Median	Range
Healthy Donors	142	381.5	55.5	390.9	142.5 – 467.7
AAS Monotherapy	57	218.4	114.4	205.7	2.7 – 410.9
Clopidogrel + AAS	18	46.2	47.3	21.7	3.6 – 159.8
Prasugrel + AAS	15	31.1	26.7	27.1	3.6 – 100.2
Ticagrelor + AAS	14	23.1	25.1	13.6	3.2 – 86.6

Conclusion sur cette étude :

Le T-TAS[®] 01 montre une discrimination correcte de la fonction plaquettaire chez les patients sous double traitement antiplaquettaire.

AAS ou ASA (acide acétylsalicylique)

Le prasugrel et le ticagrelor sont des **inhibiteurs** du récepteur **P2Y12** à l'ADP.



Comparaison T-TAS[®] 01 _ PL Chip versus VerifyNow

Journal of Thrombosis and Haemostasis, 14: 850-859

DOI: 10.1111/jth.13256

ORIGINAL ARTICLE

Assessment of platelet-derived thrombogenicity with the total thrombus-formation analysis system in coronary artery disease patients receiving antiplatelet therapy

Y. ARIMA,* K. KAIKITA,* M. ISHII,* M. ITO,* D. SUETA,* Y. OIMATSU,* K. SAKAMOTO,* K. TSUJITA,* S. KOJIMA,* K. NAKAGAWA,† S. HOKIMOTO* and H. OGAWA*

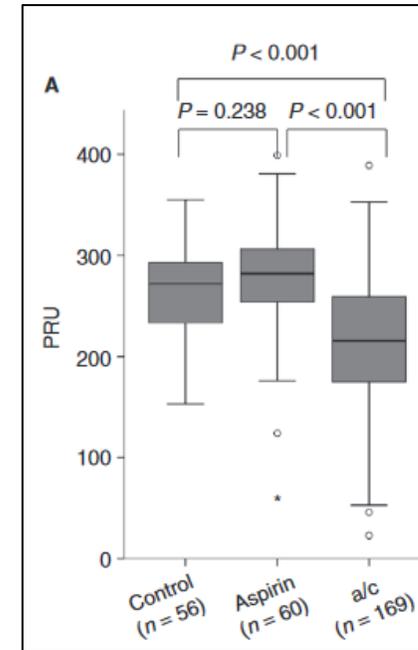
*Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University, Kumamoto, Japan; and †Division of Pharmacology and Therapeutics, Graduate School of Medical and Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University, Kumamoto, Japan

PRU : P2Y12 reaction Unit avec le **système VerifyNow** qui mesure l'agrégation plaquettaire
PL₂₄-AUC₁₀ : Air sous la courbe de la formation du thrombus en PL Chip à 2000^{s-1}

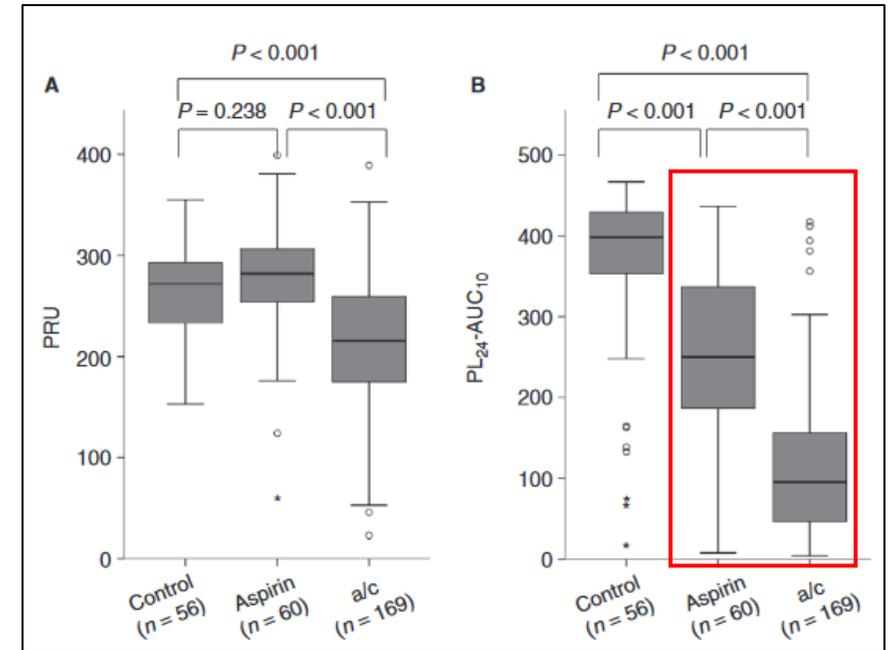
Conclusion sur cette étude :

Le T-TAS[®] 01 est un système fiable pour l'évaluation de la capacité de formation de thrombus plaquettaire chez les patients recevant différents types de traitement antiplaquettaire.

système VerifyNow



système T-TAS

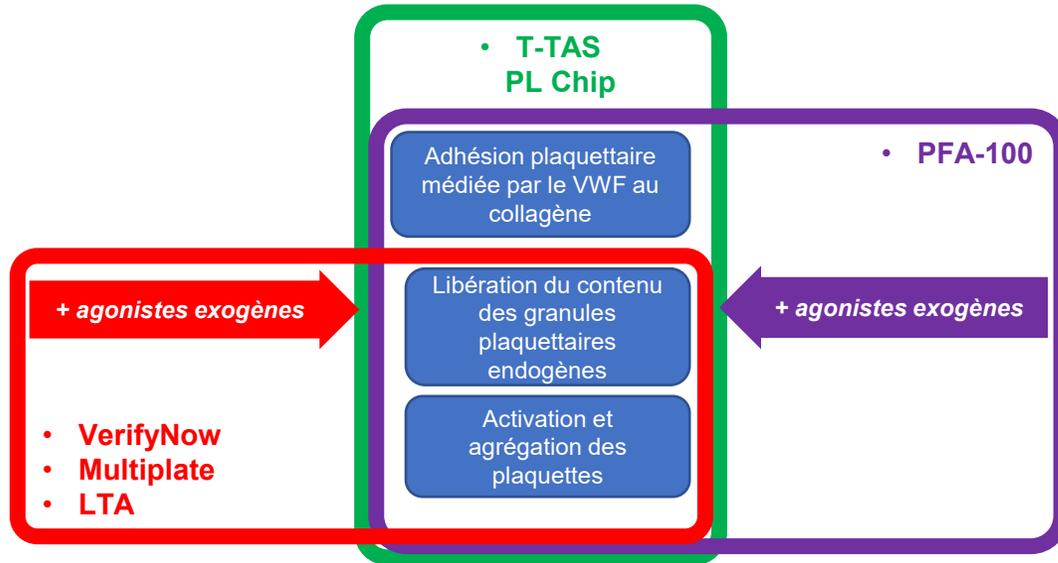


Comparaison des résultats obtenus en PRU et en PL-Chip sur différents types de thérapie antiplaquettaire. a/c : aspirine/clopidogrel



Meilleure discrimination des patients sous thérapies antiplaquettaires avec le T-TAS[®] 01 et les PL-Chip

Comparaison T-TAS® 01 _ PL Chip versus méthodes avec agonistes



- Les dosages à base d'agonistes solubles contiennent de grandes concentrations d'agonistes plaquettaires exogènes pour atteindre rapidement une activation plaquettaire maximale.
- La puce PL Chip mesure l'hémostase primaire physiologique globale.

	VerifyNow	Multiplate	PFA-100	T-TAS PL chip
Type de test	Test spécifique à la voie	Test spécifique à la voie	Test dépendant de la voie	Test global
Flux sanguin	Condition sans flux	Condition sans flux	Condition flux artériel	Condition flux artériel
Activateurs plaquettaires	Agonistes solubles exogènes	Agonistes solubles exogènes	Agonistes solubles exogènes Surface de collagène Shear stress	Surface de collagène Shear stress
Analyse	Agglutination Agrégation	Adhésion non-spécifique Agrégation	Adhésion Agrégation	Formation de thrombus
Paramètres	Unité de réaction spécifique à la voie	Aire sous la courbe d'impédance/temps	Temps de coagulation	Aire sous la courbe de pression/temps

T-TAS[®] 01_PL Chip: Comparaison des mesures en flux

Paramètre	T-TAS 01 PL	PFA-100
Le résultat indique la fonction hémostatique primaire globale	✓	✗
Le résultat intègre la réaction de libération des plaquettes	✓	✗
Mesure l'effet des inhibiteurs de P2Y12 *	✓	✗
Mesure l'effet de la DAPT **	✓	✗
Utilise uniquement des agonistes plaquettaires endogènes	✓	✗
Le test maintient les niveaux de calcium physiologiques	✓	✗
Volume d'échantillon (µL)	320	800
Stabilité de l'échantillon (à température ambiante)	6 hours	4 hours
Temps d'obtention du résultat	< 10 min	< 8 min
Contrainte de cisaillement physiologique en flux	✓ (1 500 s ⁻¹)	✓ (5 000 s ⁻¹)

*Le récepteur **P2Y12** est responsable de l'achèvement et de l'amplification de la réponse à l'ADP et à tous les agonistes plaquettaires, y compris le thromboxane A₂, la thrombine et le collagène. Le récepteur **P2Y12** joue donc un **rôle** central dans la formation et la stabilisation d'un thrombus.

Double antiagrégation plaquettaire (DAPT**) pour le traitement de la maladie coronarienne

AR Chip : Evaluation du risque hémorragique



- ✓ Coating sur collagène thrombogène de type I et facteur tissulaire (thromboplastine)
- ✓ Mesure sur sang total avec plaquettes $> 90\,000 /\mu\text{L}$
- ✓ **Analyse l'hémostase primaire et secondaire.**
- ✓ Formation d'un thrombus blanc riche en fibrine
- ✓ Taux de cisaillement de 600s^{-1} (~ grosse artère)
- ✓ Surveillance directe de patients **avec des anticoagulants oraux (AOD)** couplé ou non avec un traitement antiplaquettaire.
- ✓ Durée du test ≤ 30 minutes
- ✓ Résultats donnés en temps d'occlusion du capillaire (OT).

AR Chip : Principe du test

Principe :

- ✓ Dosage entre 30 minutes et 3 heures après le prélèvement.
- ✓ Mesure l'effet combiné de l'activation puis agrégation plaquettaire et de la coagulation.
- ✓ **Cible l'hémostase primaire et secondaire.**
- ✓ L'additif utilisé (Ca-CTI) dans le sang total citraté permet :
 - De recalifier le sang pour faciliter la formation du thrombus.
 - La CTI (corn thrypsin inhibitor) inhibe le FXIIa (blocage de la voie intrinsèque).

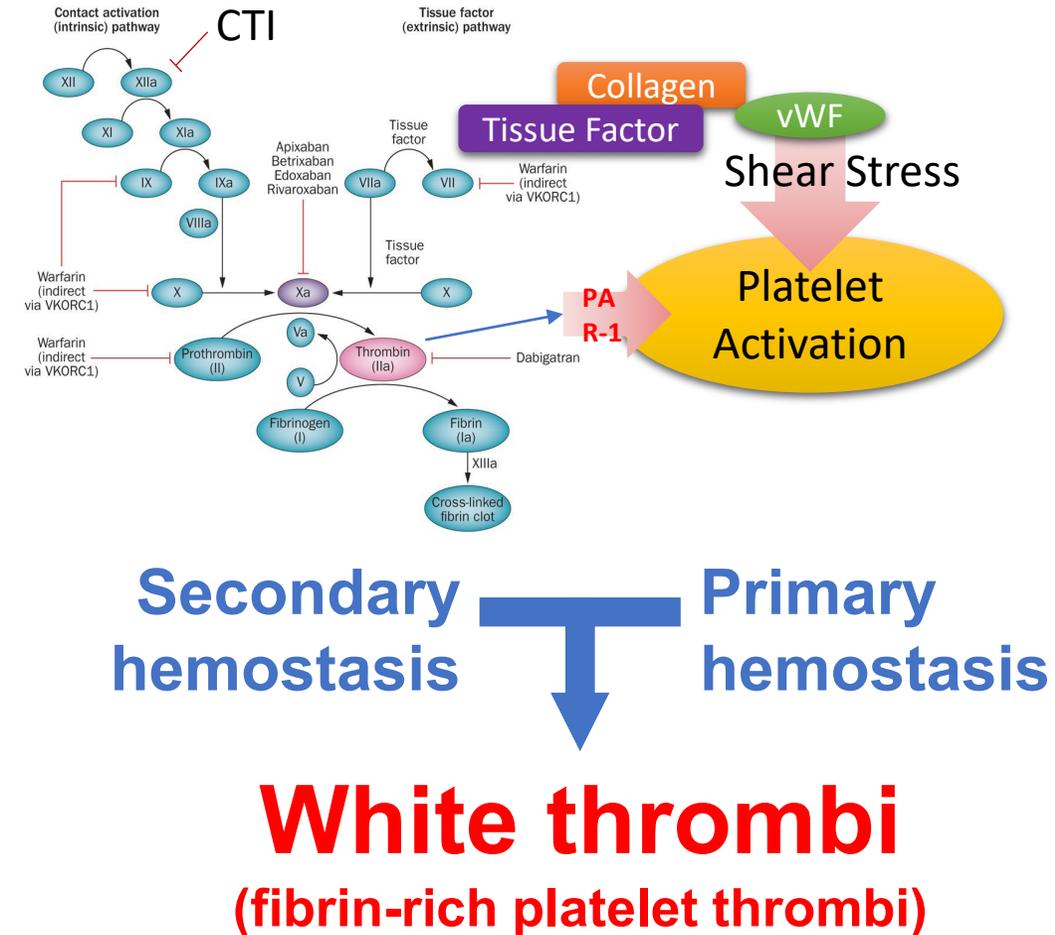
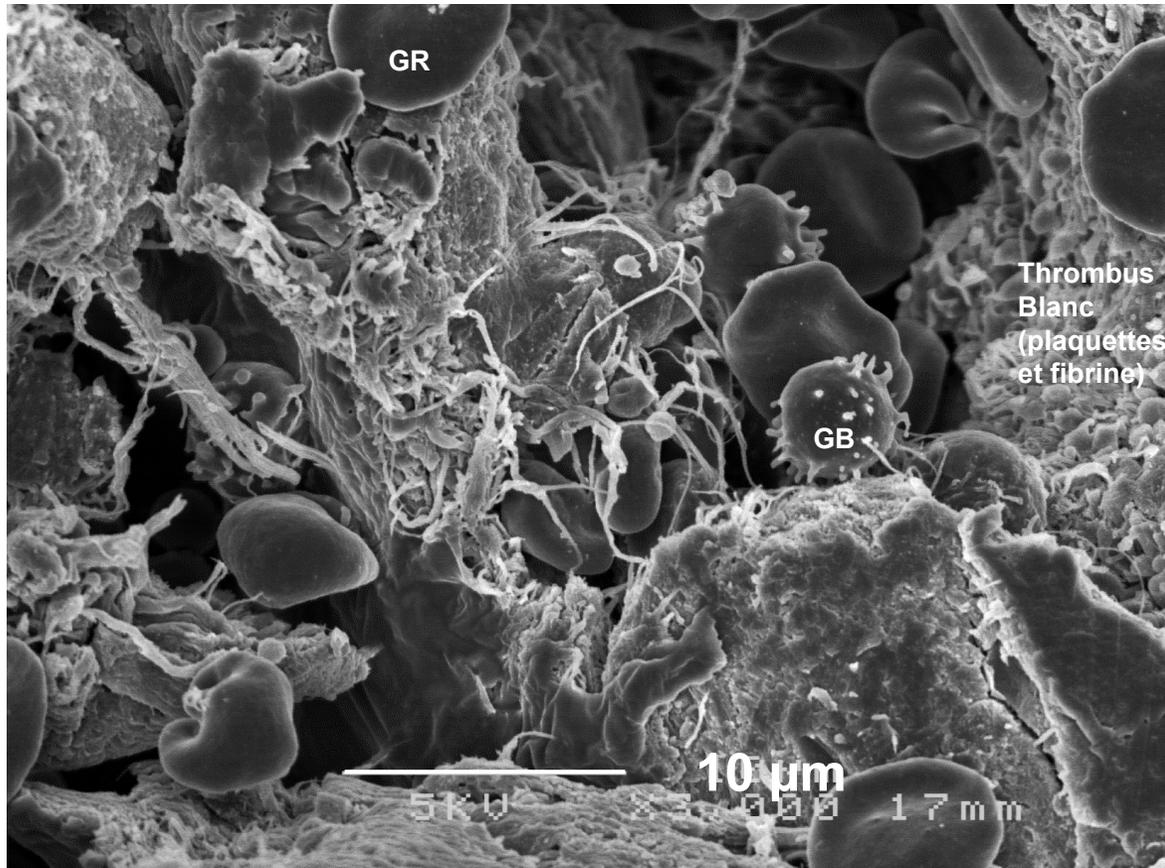
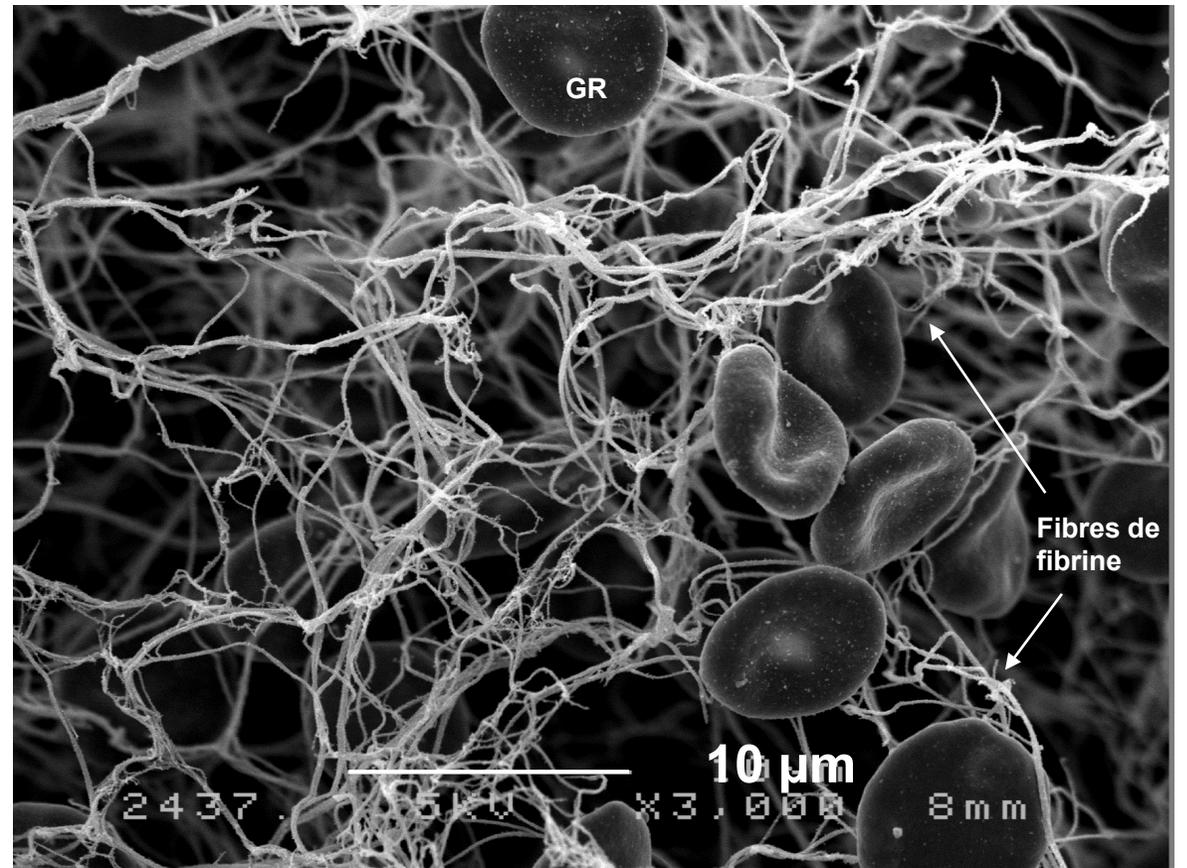


Photo comparative du thrombus en MEB en conditions de flux ou statique

Condition de flux : AR Chip sur T-TAS



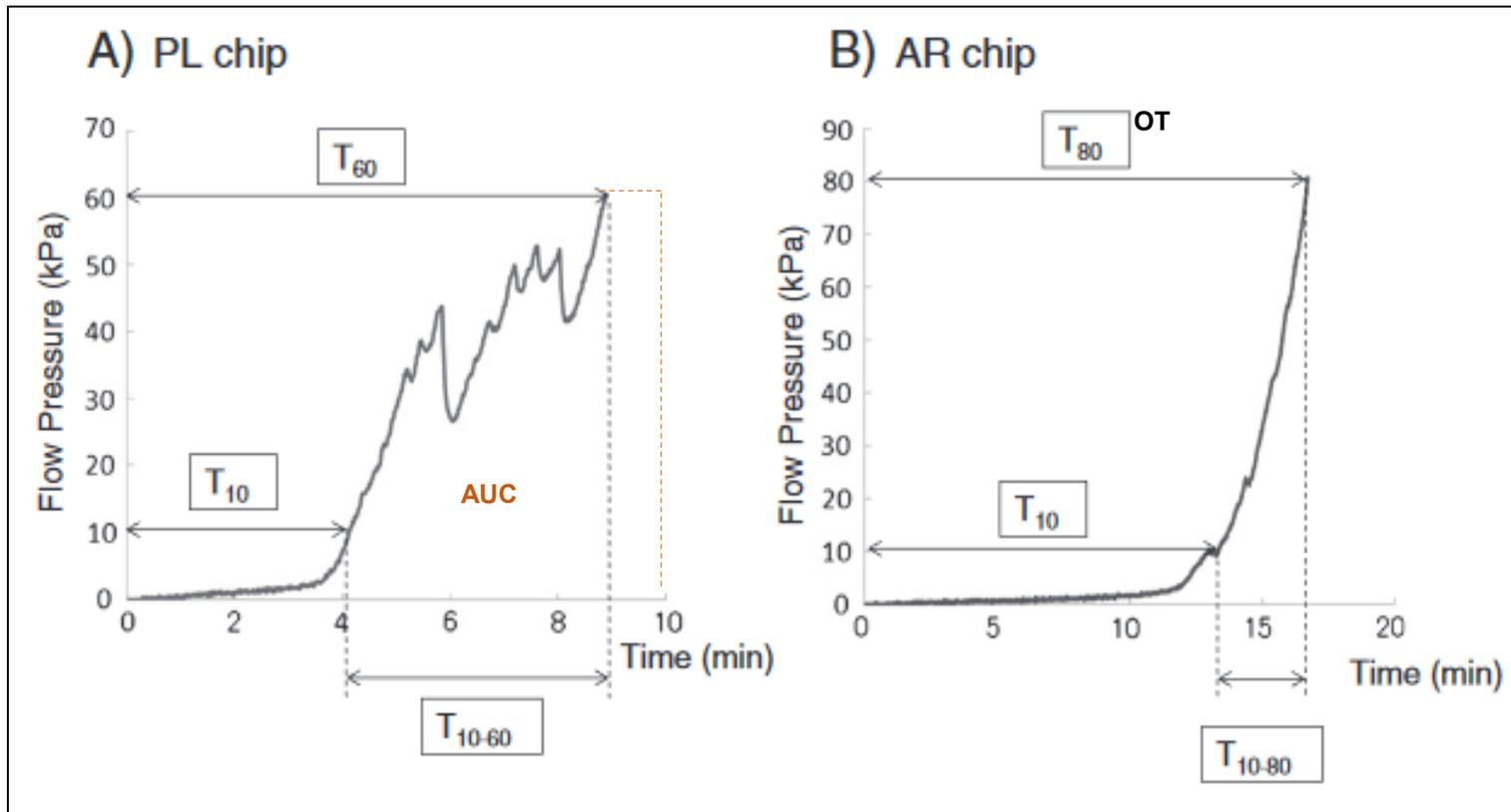
Condition statique



Images obtenues sur le site t-tas.info

Les thrombus obtenus sous flux avec la puce AR Chip sont riches en fibrine et en plaquettes activées. Ils sont plus représentatifs des conditions physiologiques.

PL / AR Chip : résultats



A) PL chip

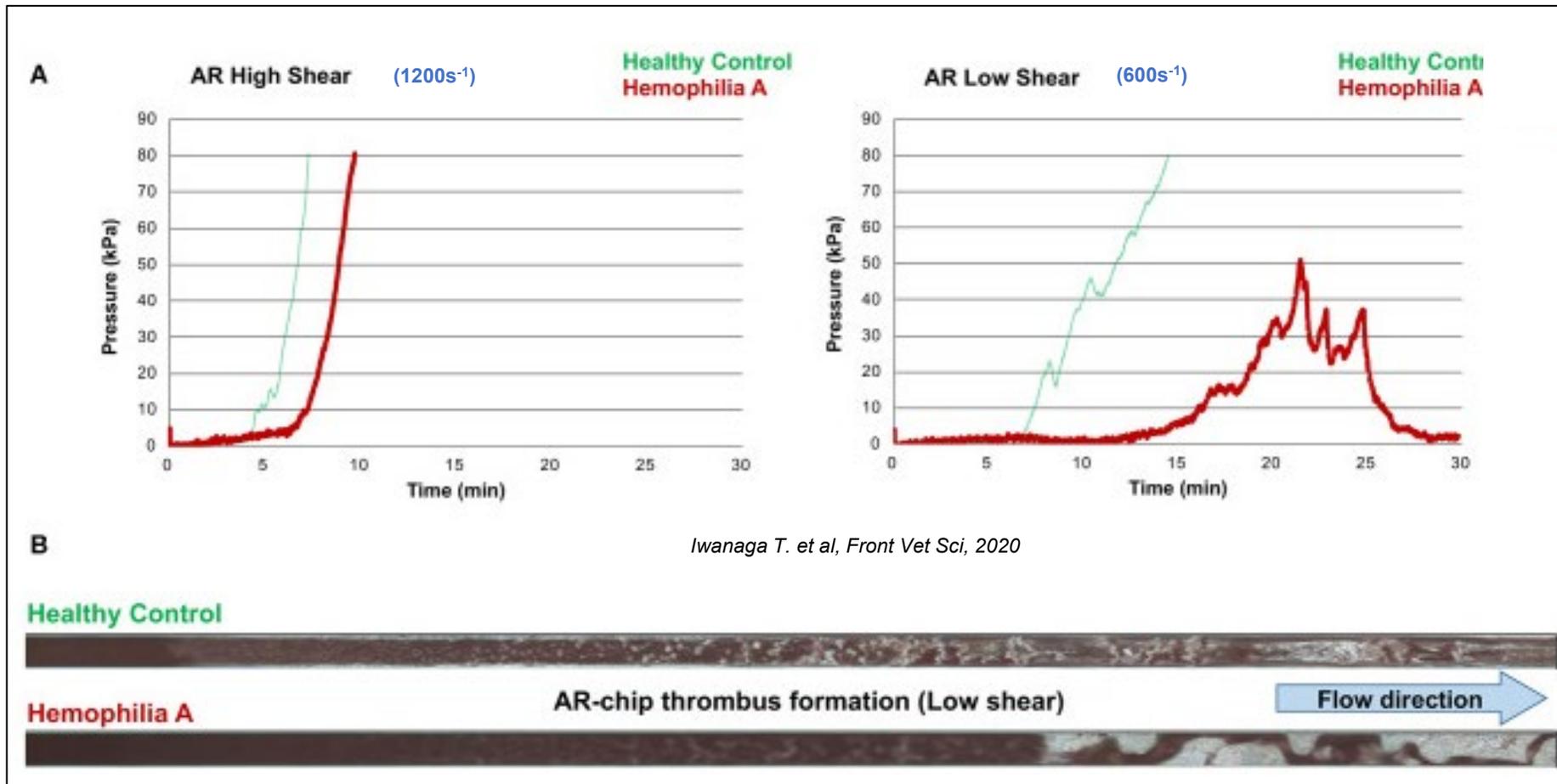
- T10 : Temps pour que la pression de base atteigne 10 kPa (temps de départ de la Formation du Thrombus Plaquettaire)
- T60 : Temps pour atteindre 60 kPa (temps d'occlusion)
- T10-60 : Temps de croissance de la FTP
- AUC₁₀ : Aire sous la courbe de pression de flux pour 10 min

B) AR chip

- T10 : Temps pour que la pression de base atteigne 10 kPa (temps de départ de la Formation du Thrombus Plaquettaire)
- T80 : Temps pour atteindre 80 kPa (temps d'occlusion = OT)
- T10-80 : Temps de croissance du thrombus

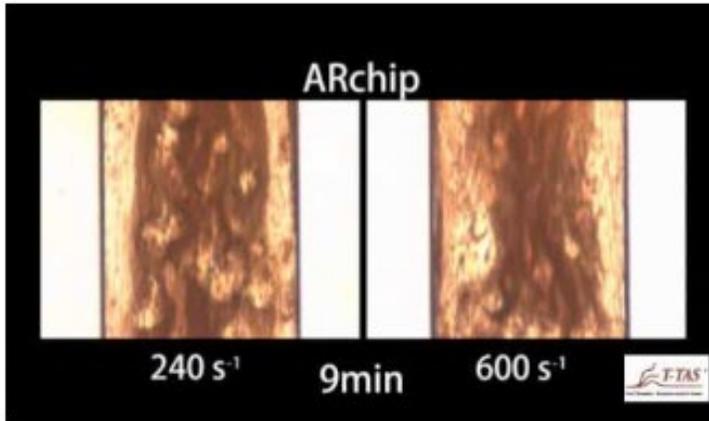
AR Chip : Exemple de résultats

Formation du thrombus blanc (WTF) en sang total à des taux de cisaillements différents chez des chiens atteints d'hémophilie A.

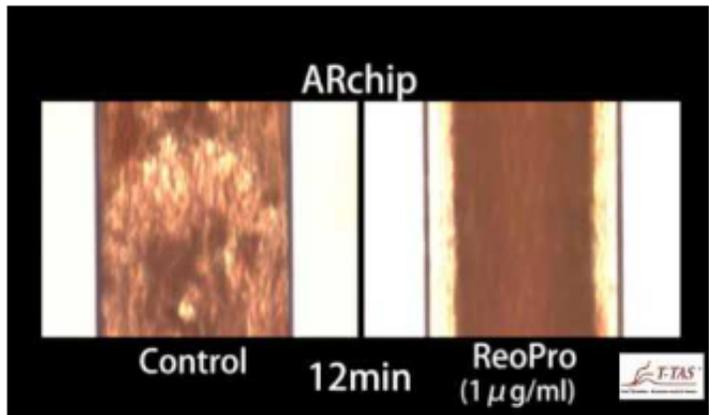


Le shear à $600s^{-1}$ permet une meilleure distinction des deux groupes

AR Chip : Exemple de résultats

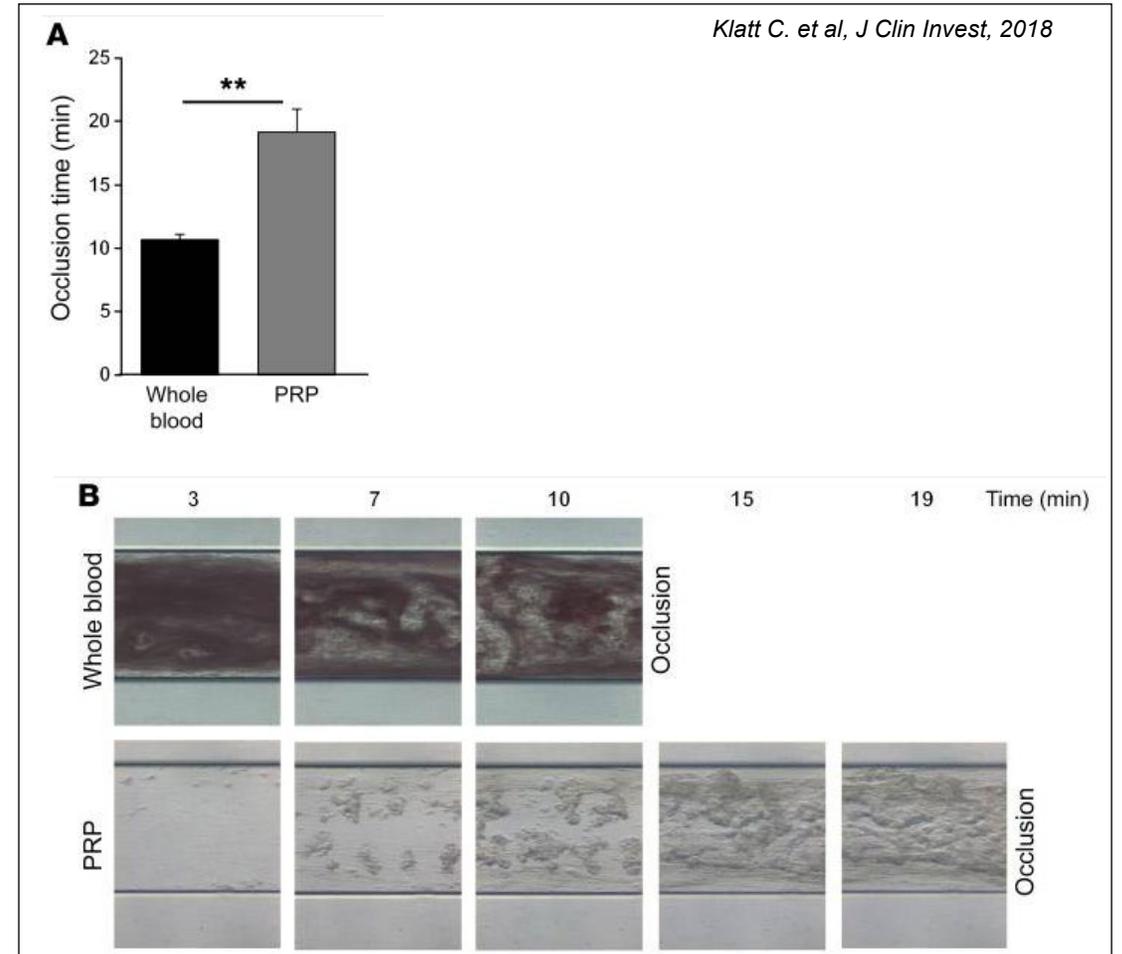


Formation du thrombus blanc (WTF) en sang total à des taux de cisaillements différents.



Formation du thrombus blanc en sang total en présence ou absence d'antagoniste au GPIIb/IIIa.

Comparaison AR chip en sang total ou PRP



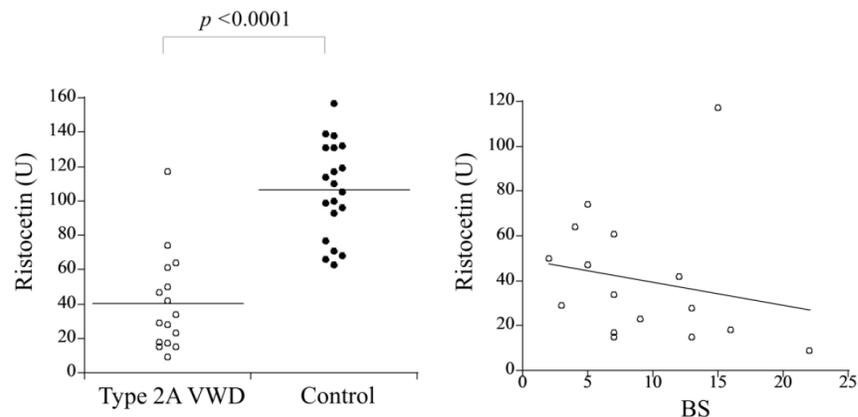
Exemple comparatif PL & AR chip

A microchip flow-chamber assay screens congenital primary hemostasis disorders

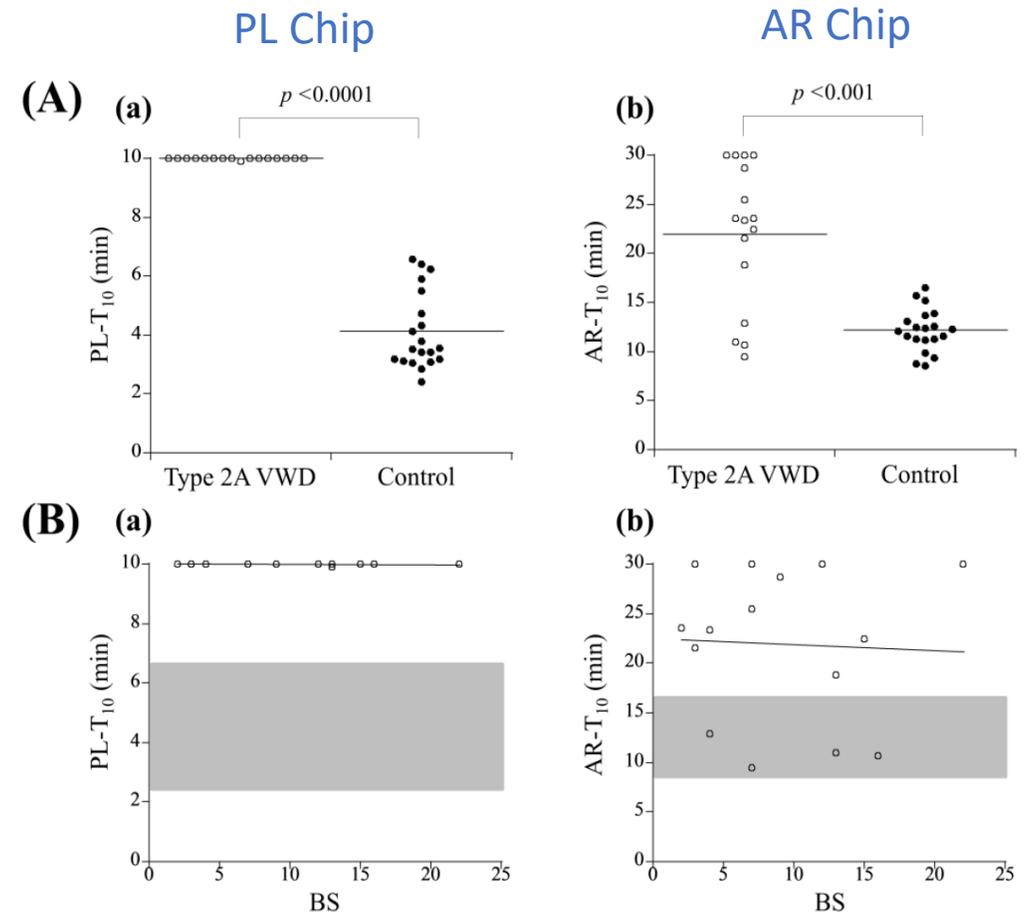
Yuto Nakajima, MD,¹ Koji Yada, MD, PhD,^{1,2} Kenichi Ogiwara, MD, PhD,¹ Shoko Furukawa, MD, PhD,^{1,3} Naruto Shimonishi, MD,¹ Midori Shima, MD, PhD,¹ Keiji Nogami, MD, PhD¹

Methods: Microchips coated with collagen (PL-chip) and collagen/thromboplastin (AR-chip) were utilized to evaluate platelet thrombus formation (PTF) at high shear and fibrin-rich PTF at low shear, respectively, in whole bloods from 22 VWD (16 type 2A, 4 type 2B, 2 type 3) and 4 PFDs (2 Bernard-Soulier syndrome, 2 Glanzmann's thrombasthenia) patients. The time-to-increase by 10 kPa (T_{10}) was calculated from flow pressure curves. Also, whole blood-induced platelet aggregation was assessed by Multiplate[®].

Pediatr Int, 2021 Feb;63(2):160-167



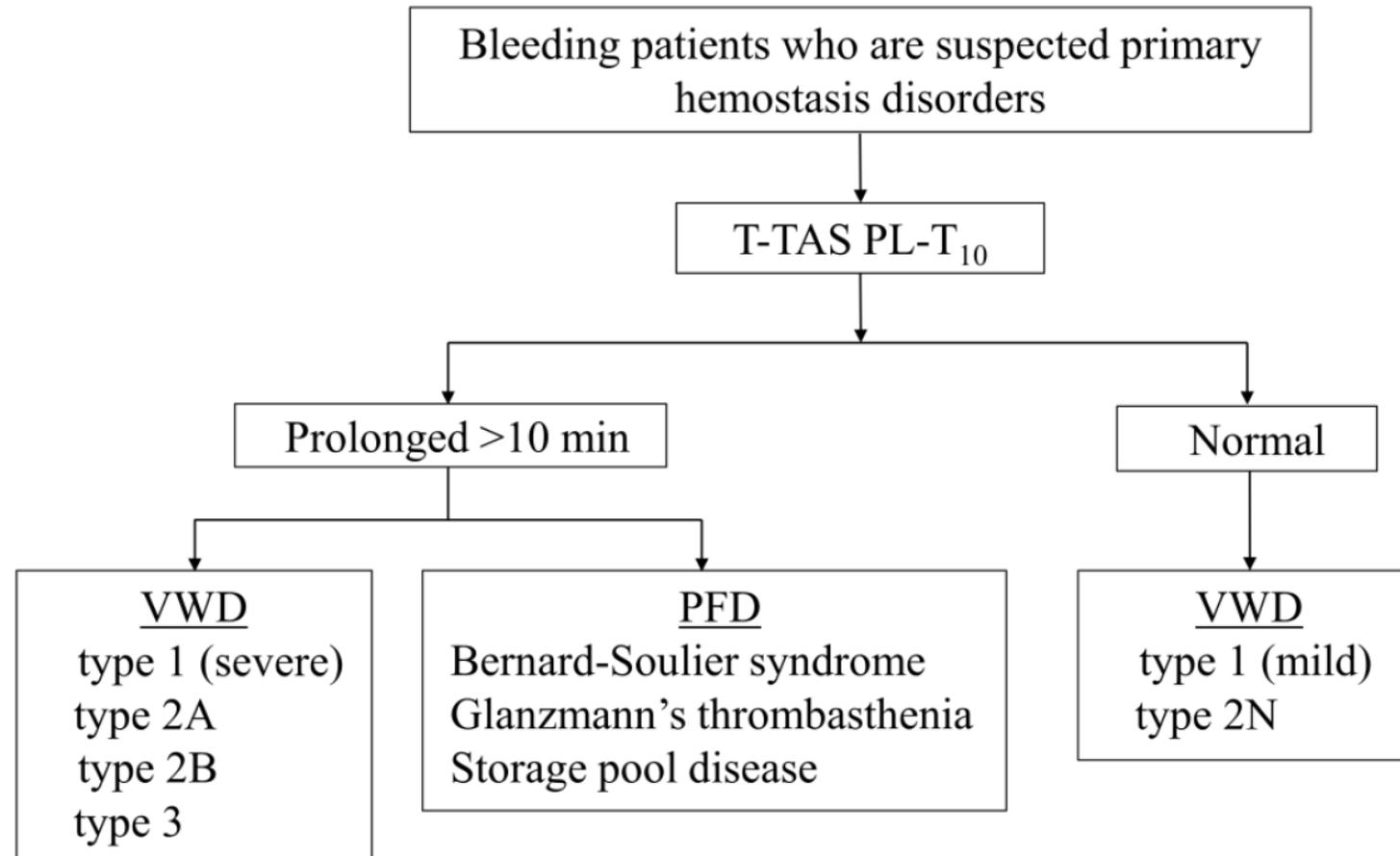
Multiplate



T-Tas01

Exemple comparatif PL & AR chip

Pediatr Int, 2021 Feb;63(2):160-167



HD Chip : Evaluation du risque hémorragique dans le cas de thrombocytopénie



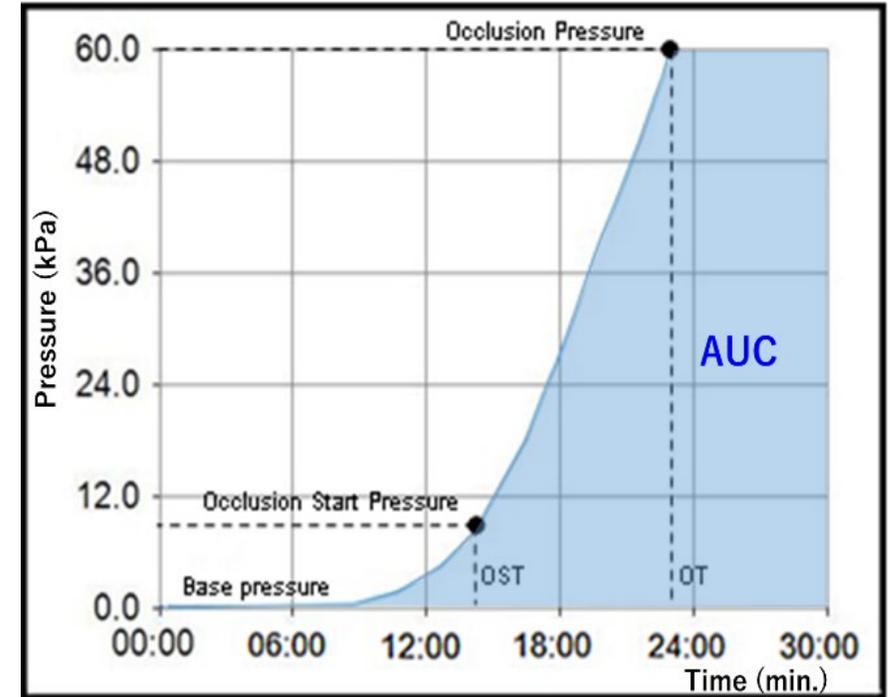
- ✓ Coating sur collagène thrombogène de type I et facteur tissulaire (thromboplastine)
- ✓ **Mesure sur sang total avec plaquettes < 90 000 / μ L**
- ✓ Analyse l'hémostase primaire et secondaire.
- ✓ Taux de cisaillement de **1200 s^{-1}** (~ artère)
- ✓ Permet la mesure de la thrombogenicité avec des taux faibles de plaquettes
- ✓ Formation d'un thrombus blanc
- ✓ Durée du test \leq 30 minutes
- ✓ Résultats donnés en aire sous la courbe (AUC)

HD Chip : Evaluation du risque hémorragique dans le cas de thrombocytopénie

C'est le premier test à mesurer de manière fiable la thrombogénicité dans le sang total d'un patient ayant une thrombocytopénie

- ✓ Dosage entre 30 minutes et 3 heures après le prélèvement.
- ✓ Mesure les augmentations de pression d'écoulement associées à la formation d'un thrombus riche en fibrine (**hémostase primaire et secondaire**).
- ✓ Ajout de Ca-CTI dans le sang total citraté

La plupart des autres tests qui impliquent la mesure de l'activité plaquettaire ont des restrictions sur la numération plaquettaire minimale (la thrombocytopénie est contre-indiquée).



Trois résultats sont disponibles :

- AUC : aire sous la courbe de pression d'écoulement sur 30 minutes
- OT : temps d'occlusion qui atteint 60 kPa
- OST : temps de début d'occlusion à 10kPa

HD Chip : domaines de recherche

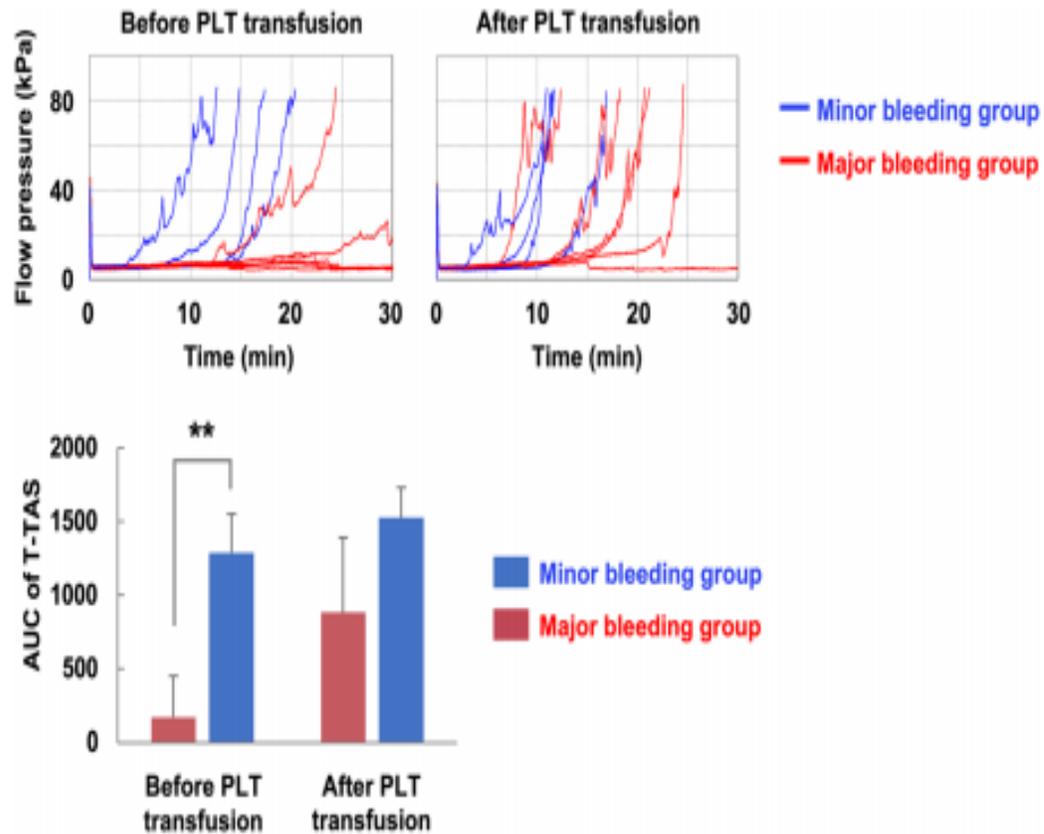


Fig. 2 T-TAS discriminates hemostatic function of major bleeding patients from that of minor bleeding patients. Overlays of T-TAS waveforms of 10 patients requiring platelet (PLT) transfusion, upper panel. Blue and red lines indicate waveforms in the minor bleeding ($n = 4$) and major bleeding ($n = 6$) patients, respectively. The area under the curve (AUC) of the T-TAS, expressed as mean \pm standard deviation, lower panel. The significance of the difference between the major and minor bleeding groups was analyzed with the Student t test. ****** $P < 0.01$

RESEARCH

Open Access

A modified microchip-based flow chamber system for evaluating thrombogenicity in patients with thrombocytopenia

Bengo Atari¹, Takashi Ito^{2*}, Tomoka Nagasato³, Tomoko Ohnishi³, Kazuya Hosokawa³, Tomotsugu Yasuda¹, Ikuro Maruyama² and Yasuyuki Kakihana¹



- ✓ Thrombocytopénie
- ✓ Évaluation de la thrombogénicité et du risque hémorragique avant et après une transfusion plaquettaire

T-TAS[®] 01

Total Thrombus formation Analysis System



- ➔ Fonction hémostatique altérée
- ➔ Surveillance des anticoagulants & traitement antiplaquettaire
- ➔ Thrombolyse & fibrinolyse
- ➔ Thrombocytopénie
- ➔ Evaluation des risques hémorragiques
- ➔ Autres (gynécologique)

Can the Total Thrombus-formation Analysis System (T-TAS) better predict coagulation disorders than conventional laboratory measurements in patients with polycystic ovary syndrome?

Katarzyna Ożegowska¹, Urszula Mantaj², Patrycja Rojewska³,
Maciej Osinski⁴, Leszek Pawelczyk¹, Małgorzata Kędzia⁴

Endometriosis is associated with an increased whole-blood thrombogenicity detected by a novel automated microchip flow-chamber system (T-TAS®)

Authors: Małgorzata Kędzia, Maciej Osinski, Urszula Mantaj, Ewa Wender-Ożegowska

Congrès

- ISTH 2022

- Stand Zacros



- ✓ Présentation de plus de 10 nouvelles communications

- ESC Août, 2022

- ✓ Cardiovascular / Antithrombotic therapy

Accès aux publications

<https://www.t-tas.info/pub/>



**ESC Congress 2022
Barcelona**

ONSITE & ONLINE,
26-29 AUGUST



THE MAGIC
OF CARDIOLOGY
#ESCCongress

