



1<sup>ER</sup> / 3  
JUN  
2022

CONGRÈS FRANÇAIS  
d'HÉMOSTASE



MHEMO



**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



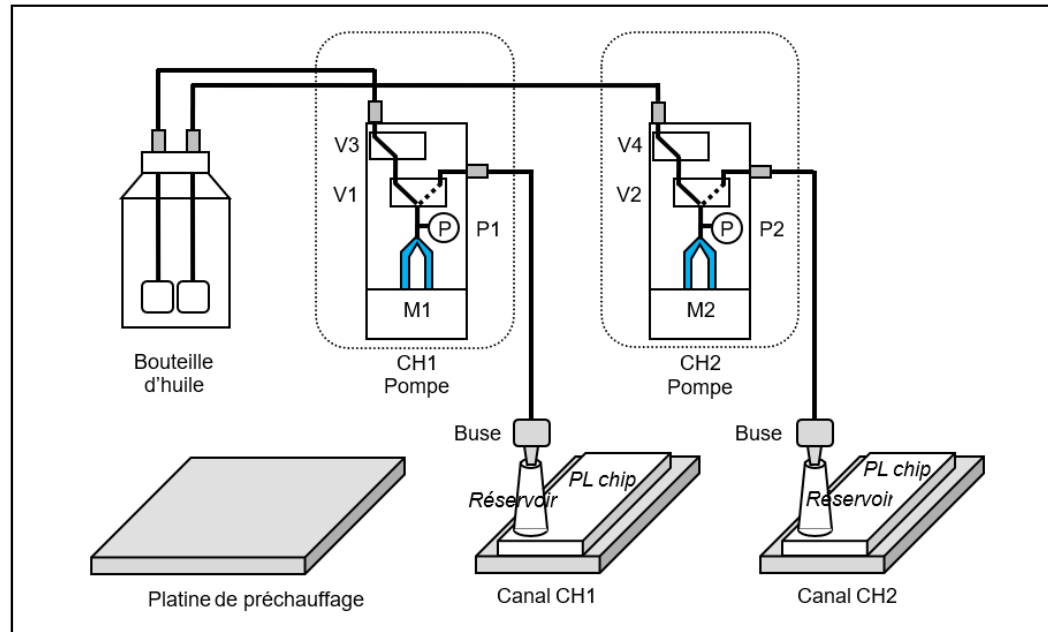
Mesure de la fonction hémostatique  
dans une variété de contextes cliniques et de recherche

# Le T-TAS<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 01 : Fonctionnement



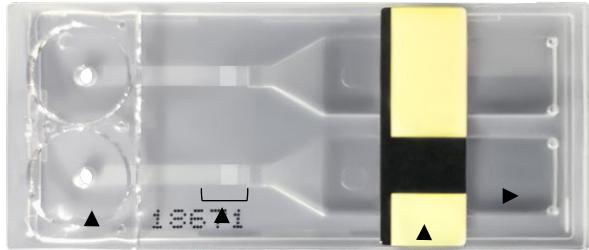
Une pompe de précision (**CH**) composée d'un moteur (**M**) couplée à un capteur de pression (**P**) et deux électrovannes (**V**) qui **maintiennent un débit constant**.

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



# Le T-TAS<sup>®</sup> 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**

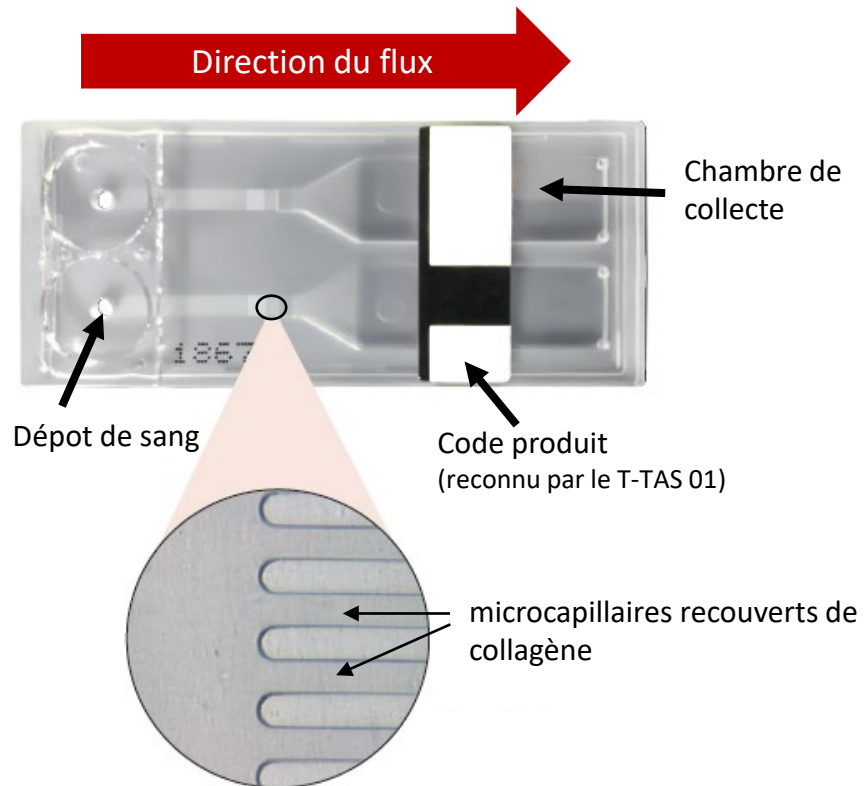
## Tube Ca-CTI



# Principe de mesure



# PL Chip: spécifique pour l'hémostase primaire physiologique

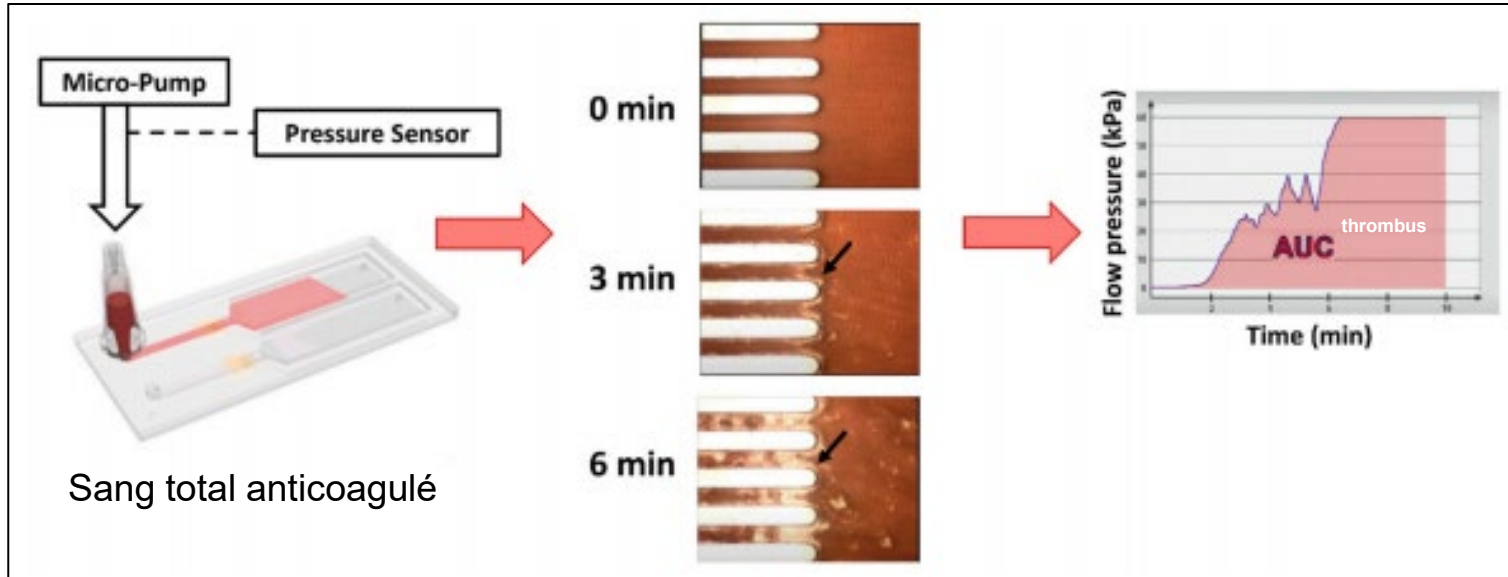


- 320 $\mu$ L de sang anticoagulé au BAPA par chambre de circulation
- Le sang circule à travers les 26 microcapillaires simultanément de taille 40 $\mu$ m x 40 $\mu$ m
- **Coating de collagène de type I**
- Contrainte de cisaillement de 1500 $s^{-1}$  permettant le déploiement du facteur von Willebrand (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

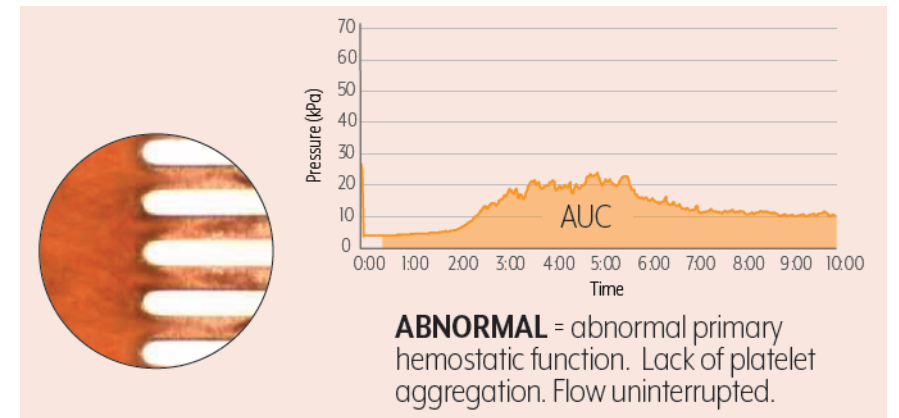
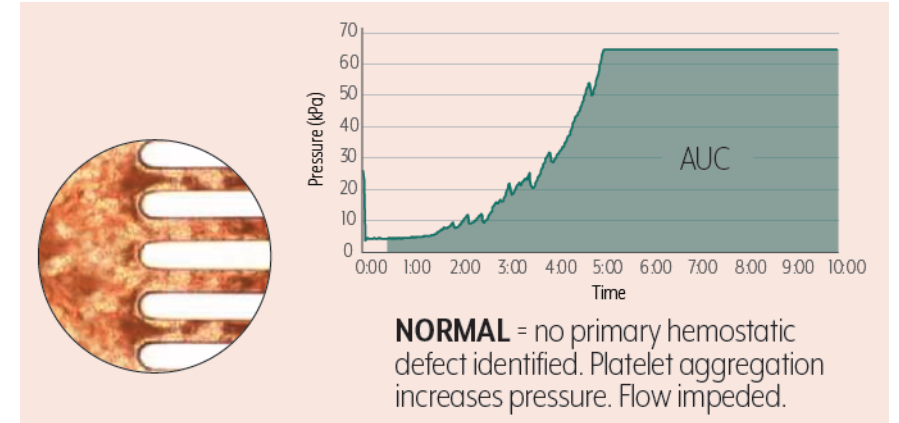


# Principe de mesure de la PL Chip

← flux



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

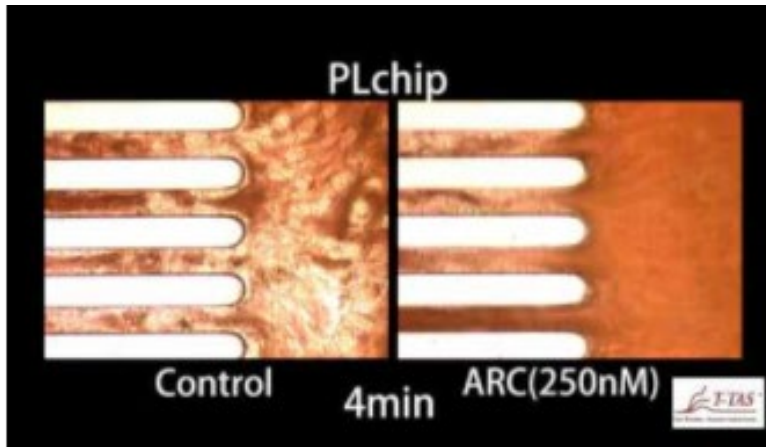


# PL Chip : données de performance

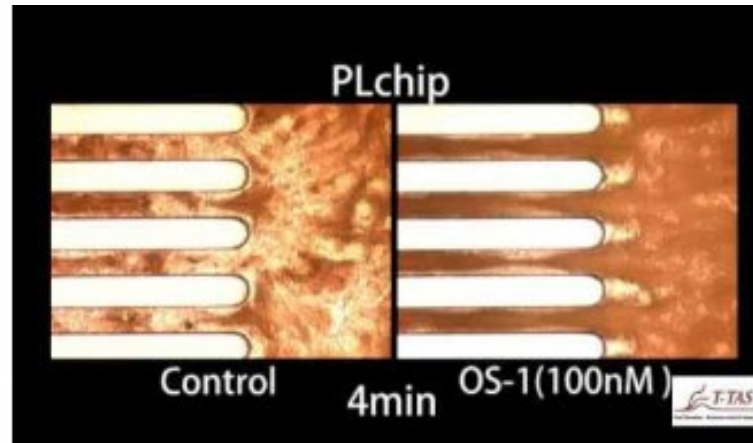
- ✓ Zone de mesure de 0.3 – 467.7 AUC
- ✓ Zone de normalité : 270.0 – 447.7 AUC (CV<15%)
- ✓ Seuil : AUC <260 indique une altération de la fonction hémostatique primaire
- ✓ Données d'utilisation prévues pour le suivi des patients
  - Tendances hémorragiques
  - Anomalies de la fonction hémostatique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

# PL Chip : Exemple de résultats sur T-TAS Recherche

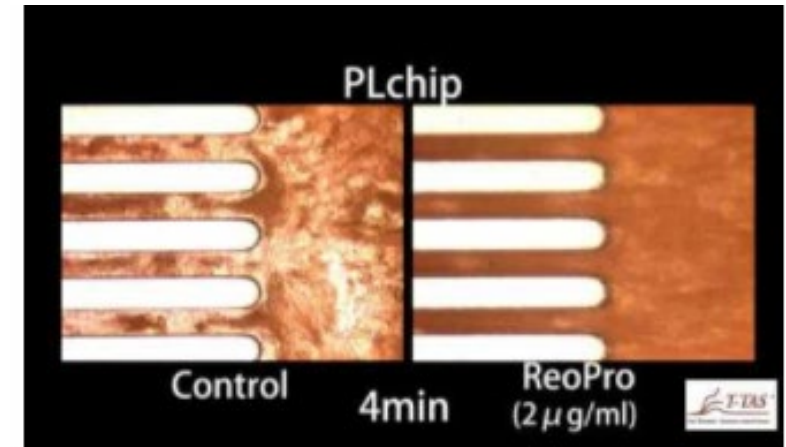
**Formation du thrombus plaquettaire en sang total en absence ou présence d'antagonistes de récepteurs plaquettaires**



**antagoniste du récepteur  
P2Y<sub>12</sub> (ARC)**



**antagoniste du récepteur  
GPIb $\alpha$  (OS-1)**



**antagoniste du récepteur  
GPIIb/III $\alpha$  (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. Dahlen<sup>1</sup>, P. Gurbel<sup>2</sup>, A.H.B. Wu<sup>3</sup>, K. Bliden<sup>2</sup>, C-M. Ong<sup>3</sup>, U. Tantry<sup>2</sup>, K. Hosokawa<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hikari Dx, Inc., San Diego, United States, <sup>2</sup>Sinai Hospital, Baltimore, United States,

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

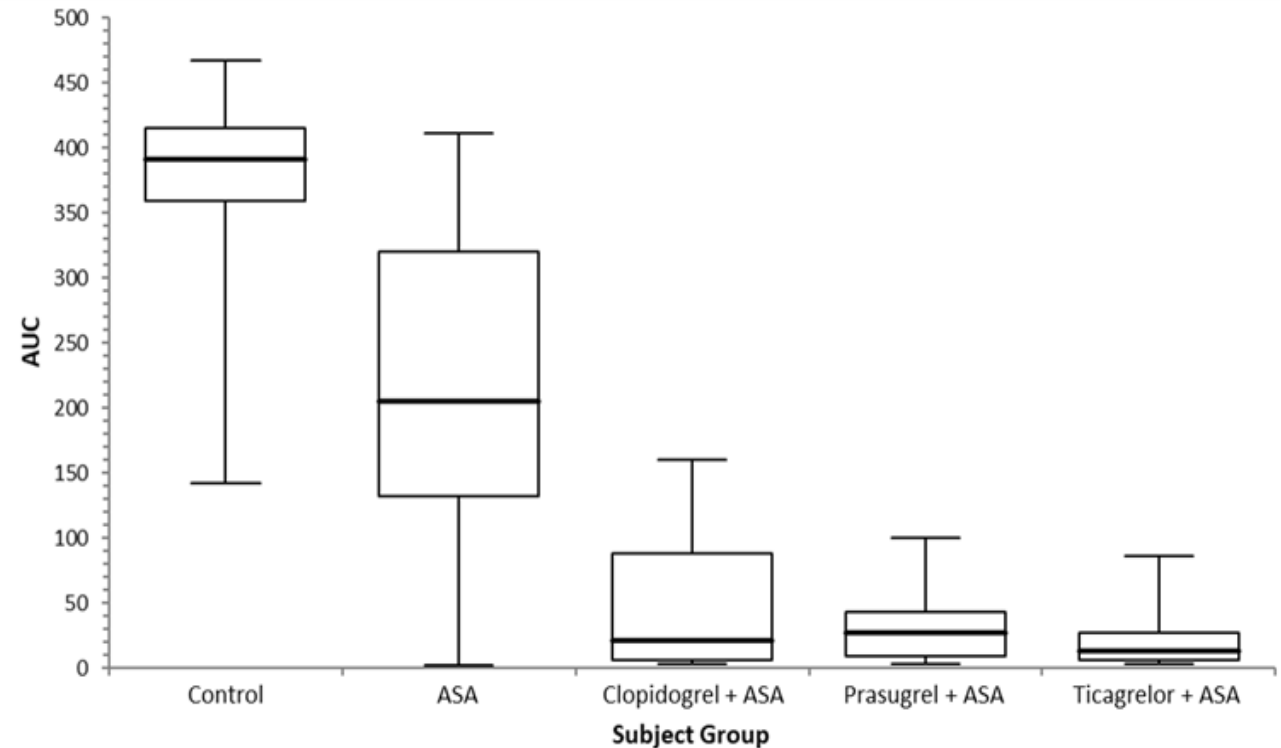
Group	N	Mean	SD	Median	Range
Healthy Donors	142	381.5	55.5	390.9	142.5 – 467.7
AAS Monotherapy	57	218.4	114.4	205.7	2.7 – 410.9
Clopidogrel + AAS	18	46.2	47.3	21.7	3.6 – 159.8
Prasugrel + AAS	15	31.1	26.7	27.1	3.6 – 100.2
Ticagrelor + AAS	14	23.1	25.1	13.6	3.2 – 86.6

### Conclusion sur cette étude :

**Le T-TAS<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 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\*

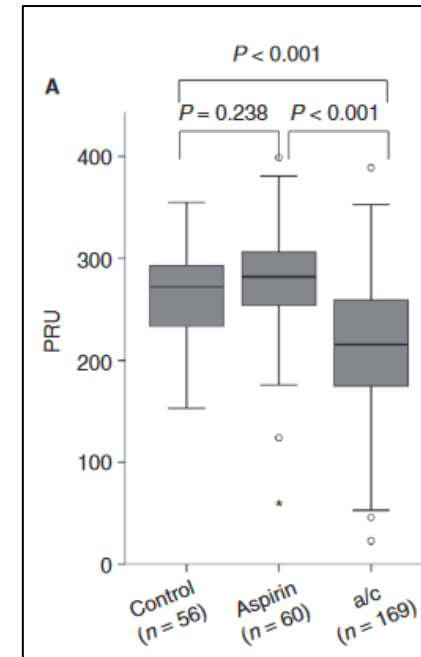
\*Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University, Kumamoto, Japan; and †Division of Pharmacology and Therapeutics, Graduate School of Medical and Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University, Kumamoto, Japan

**PRU** : P2Y12 reaction Unit avec le **système VerifyNow** qui mesure l'agrégation plaquettaire  
**PL<sub>24</sub>-AUC<sub>10</sub>** : Air sous la courbe de la formation du thrombus en PL Chip à 2000<sup>s-1</sup>

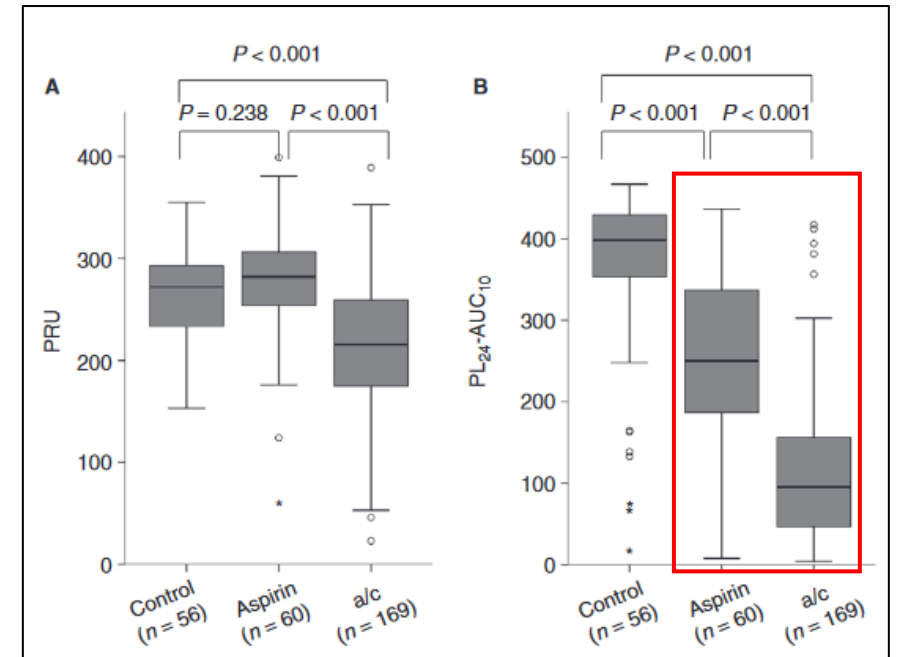
## Conclusion sur cette étude :

**Le T-TAS<sup>®</sup> 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

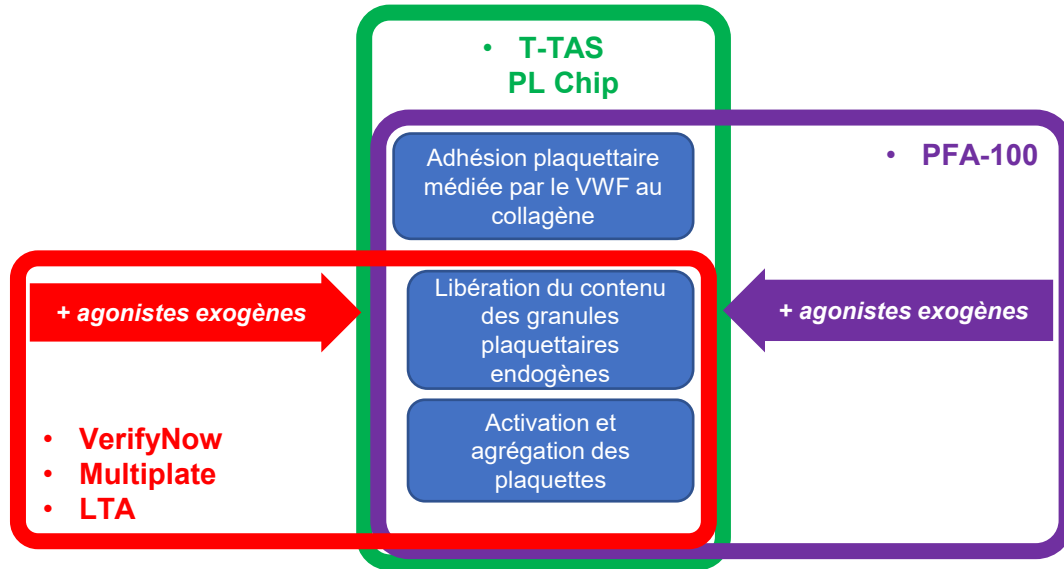


Comparaison des résultats obtenus en PRU et en PL-Chip sur différents types de thérapie antiplaquettaire. a/c : aspirine/clopidogrel



Meilleure discrimination des patients sous thérapies antiplaquettaires avec le T-TAS<sup>®</sup> 01 et les PL-Chip

# Comparaison T-TAS<sup>®</sup> 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
<b>Type de test</b>	Test spécifique à la voie	Test spécifique à la voie	Test dépendant de la voie	Test global
<b>Flux sanguin</b>	Condition sans flux	Condition sans flux	<b>Condition flux artériel</b>	<b>Condition flux artériel</b>
<b>Activateurs plaquettaires</b>	Agonistes solubles exogènes	Agonistes solubles exogènes	Agonistes solubles exogènes Surface de collagène Shear stress	<b>Surface de collagène</b> Shear stress
<b>Analyse</b>	Agglutination Agrégation	Adhésion non-spécifique Agrégation	Adhésion Agrégation	<b>Formation de thrombus</b>
<b>Paramètres</b>	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<sup>®</sup> 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 <sup>-1</sup> )	✓ (5 000 s <sup>-1</sup> )

\*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 A<sub>2</sub>, 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



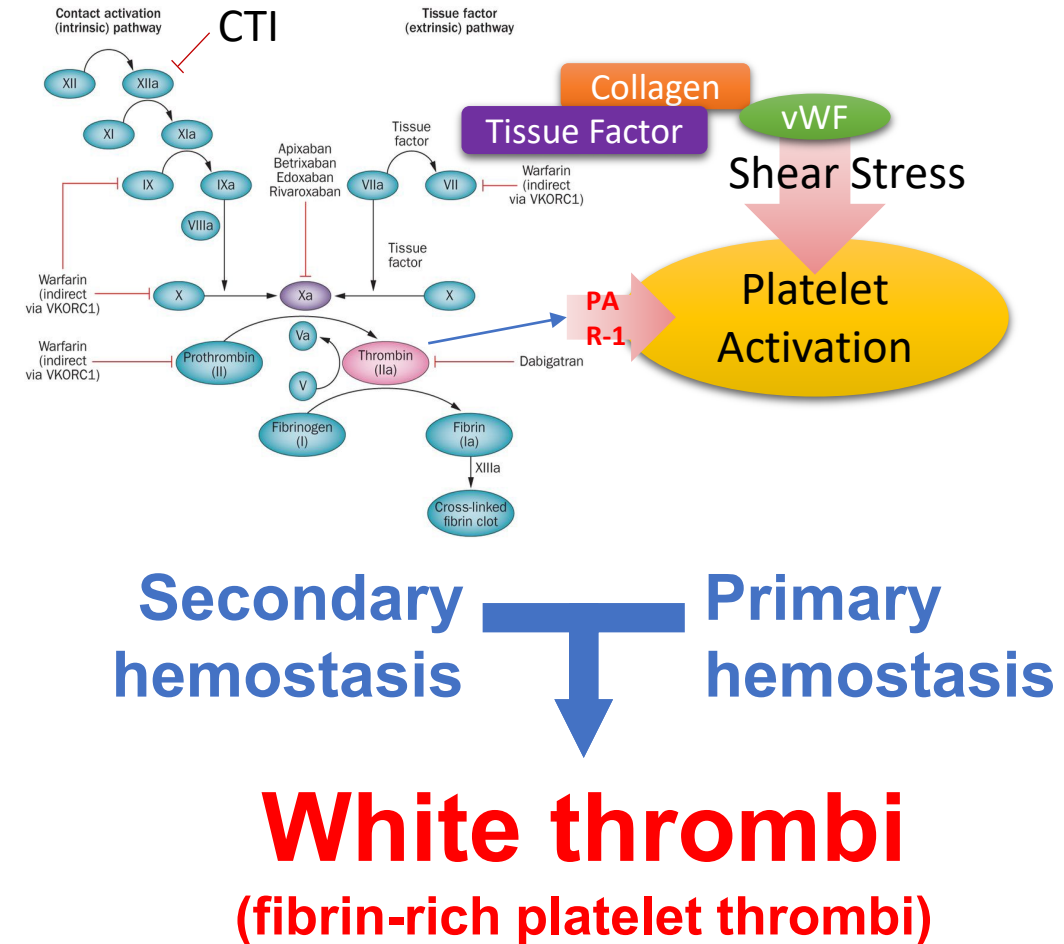
- ✓ Coating sur collagène thrombogène de type I et facteur tissulaire (thromboplastine)
- ✓ Mesure sur sang total avec plaquettes  $> 90\,000 /\mu\text{L}$
- ✓ **Analyse l'hémostase primaire et secondaire.**
- ✓ Formation d'un thrombus blanc riche en fibrine
- ✓ Taux de cisaillement de  $600\text{s}^{-1}$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



# AR Chip : Principe du test

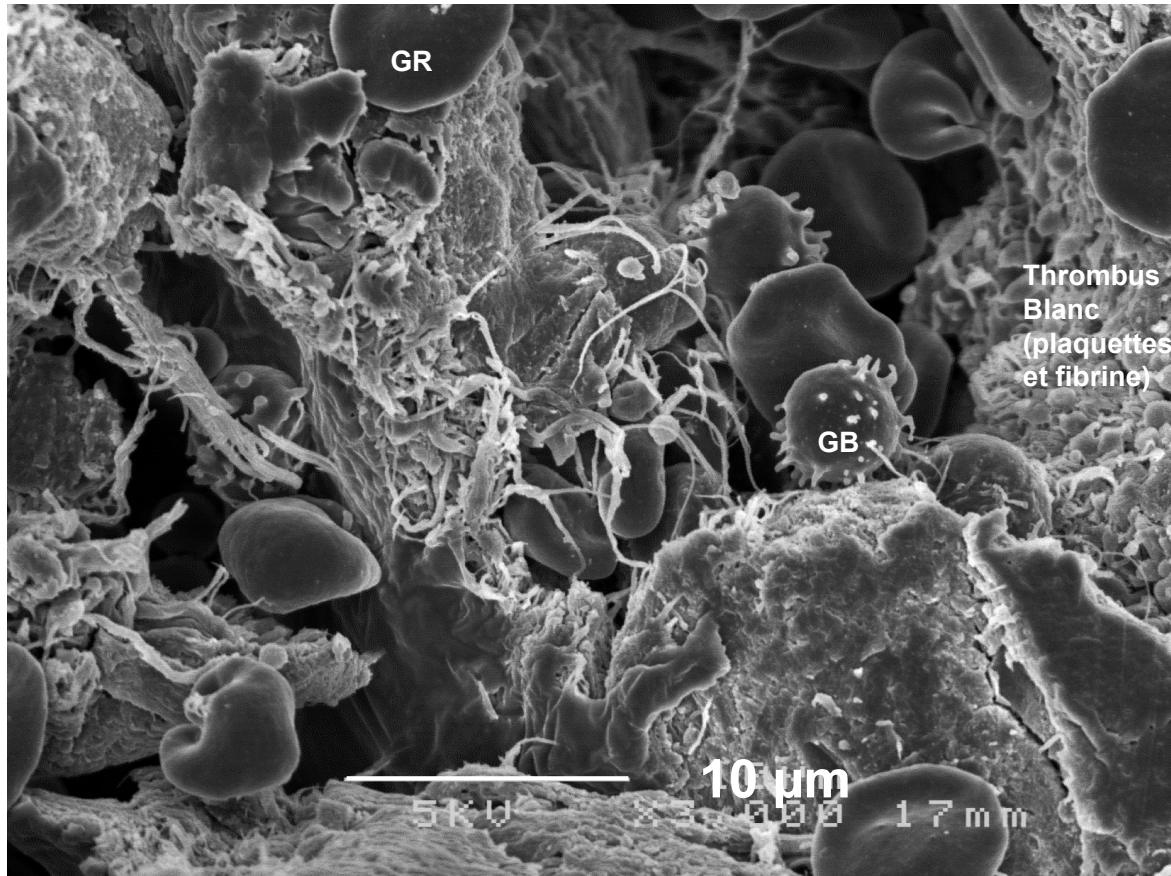
## Principe :

- ✓ 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).

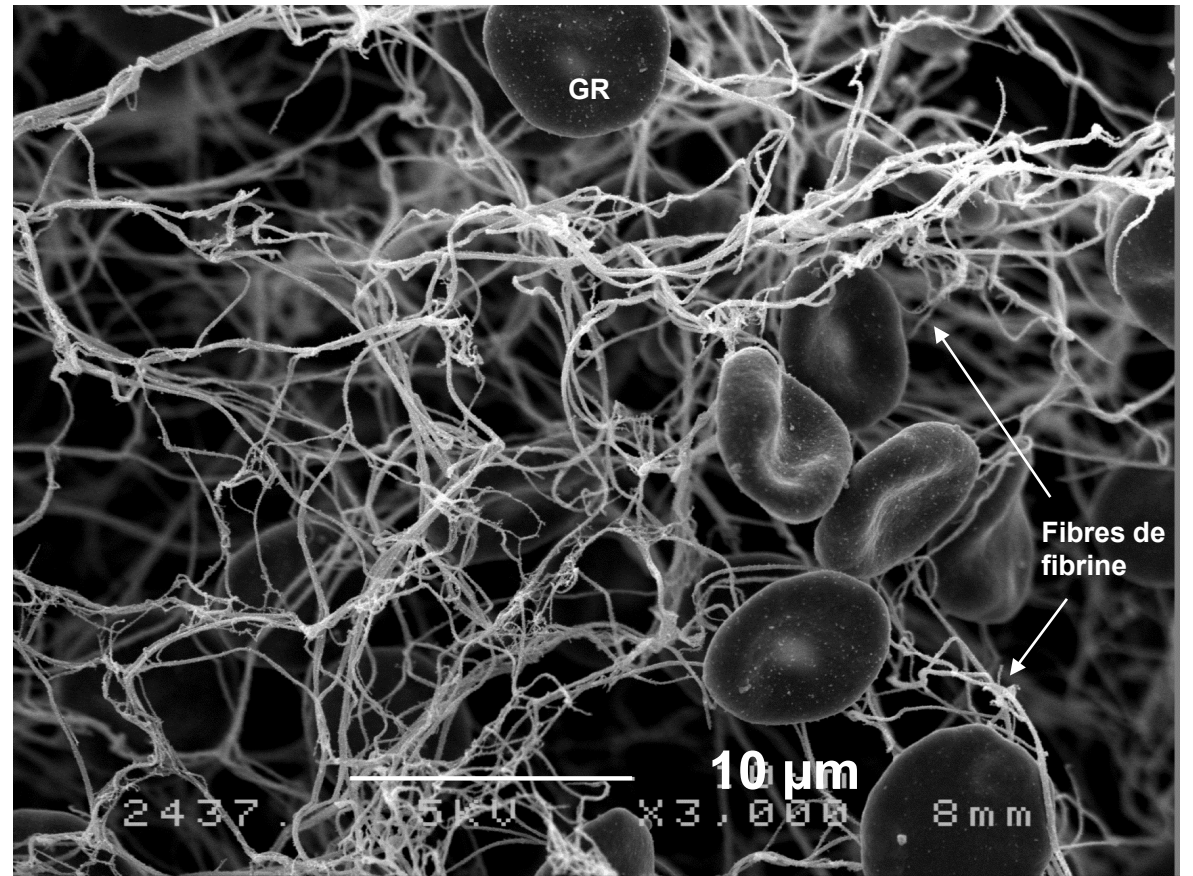


# Photo comparative du thrombus en MEB en conditions de flux ou statique

Condition de flux : AR Chip sur T-TAS



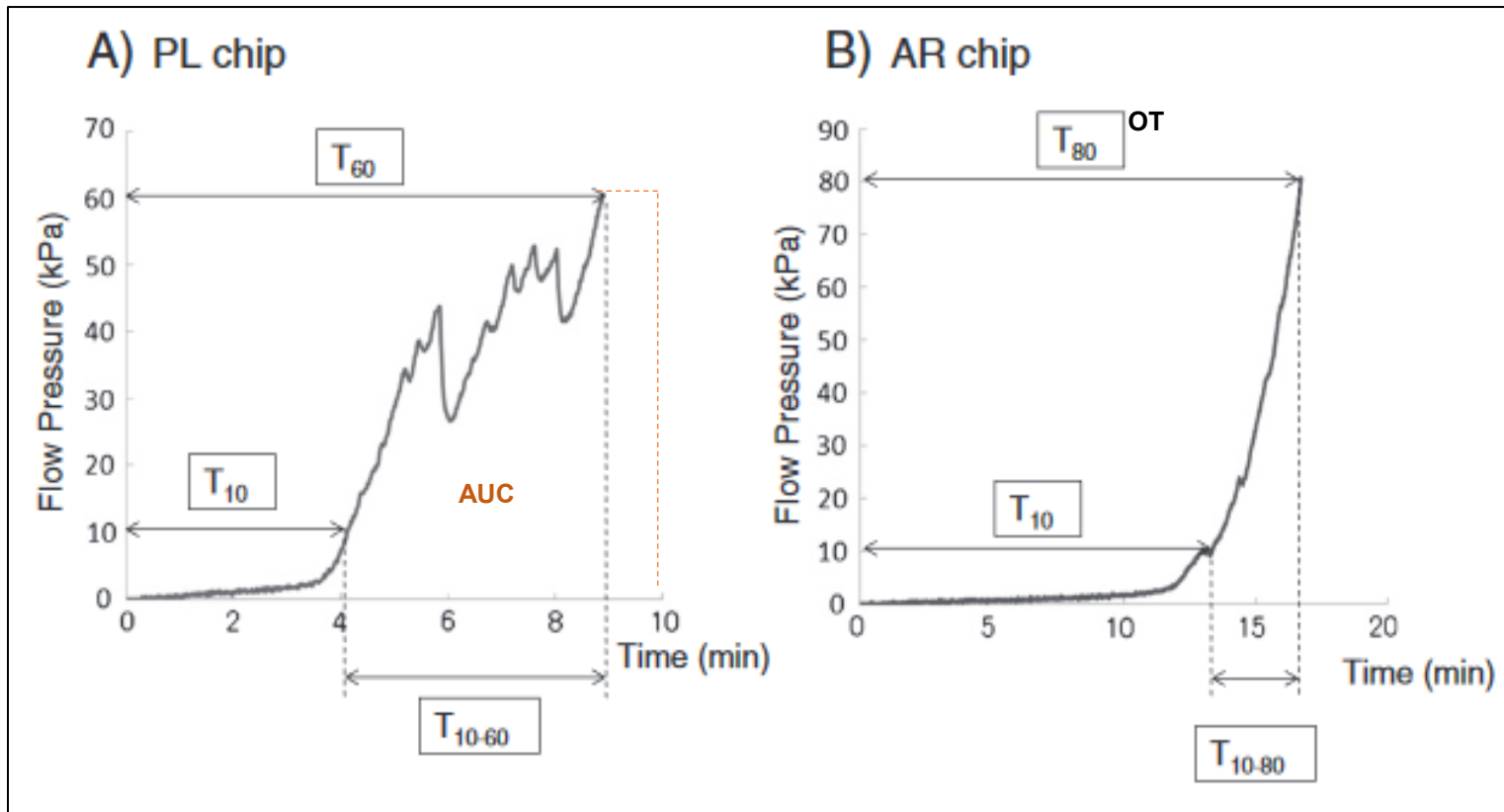
Condition statique



*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

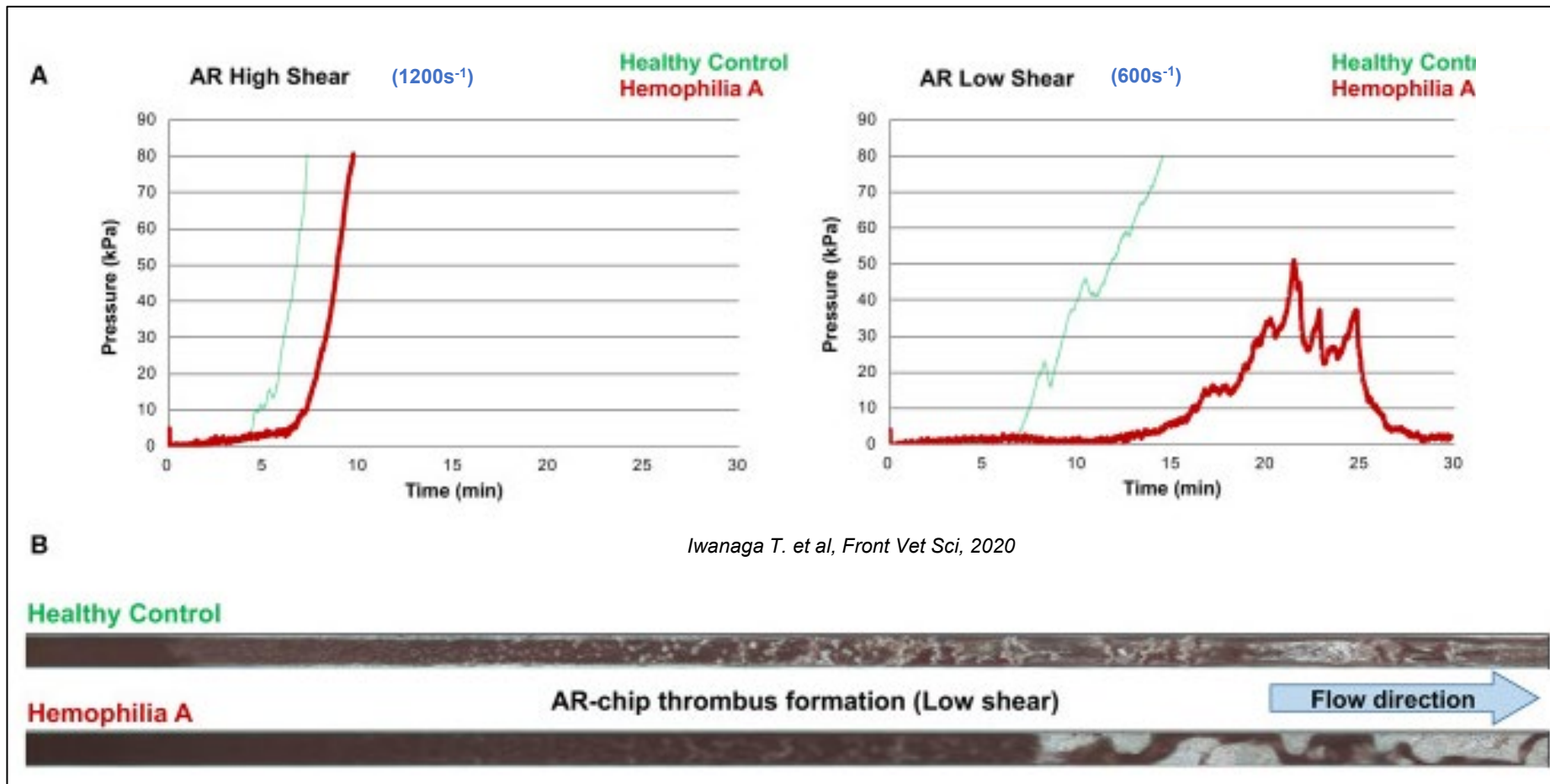
- T10 : Temps pour que la pression de base atteigne 10 kPa (temps de départ de la Formation du Thrombus Plaquettaire)
- T60 : Temps pour atteindre 60 kPa (temps d'occlusion)
- T10-60 : Temps de croissance de la FTP
- AUC<sub>10</sub> : Aire sous la courbe de pression de flux pour 10 min

## 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

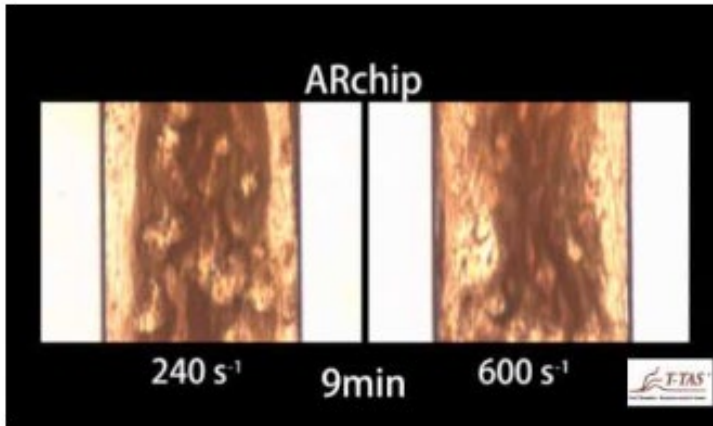
# AR Chip : Exemple de résultats

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

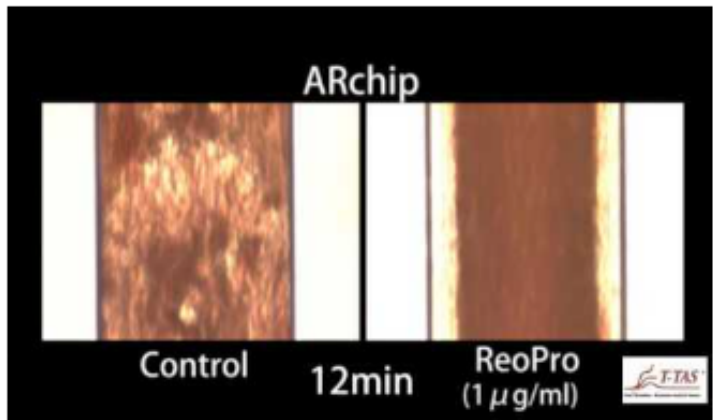


Le shear à  $600s^{-1}$  permet une meilleure distinction des deux groupes

# AR Chip : Exemple de résultats

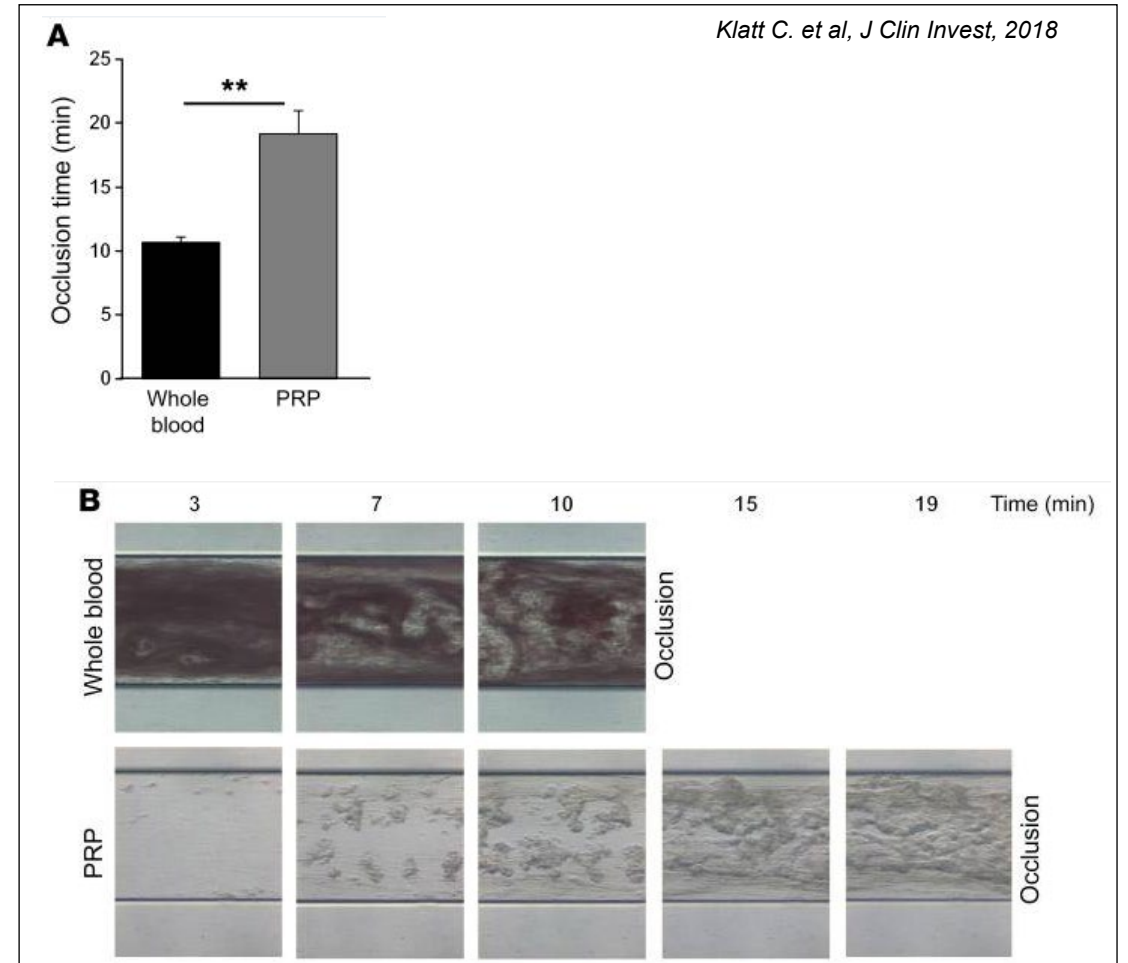


Formation du thrombus blanc (WTF) en sang total à des taux de cisaillements différents.



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

## Comparaison AR chip en sang total ou PRP



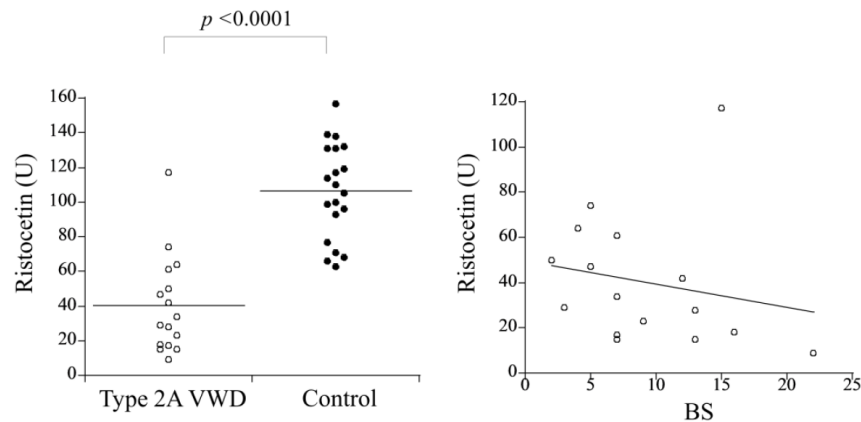
# Exemple comparatif PL & AR chip

## A microchip flow-chamber assay screens congenital primary hemostasis disorders

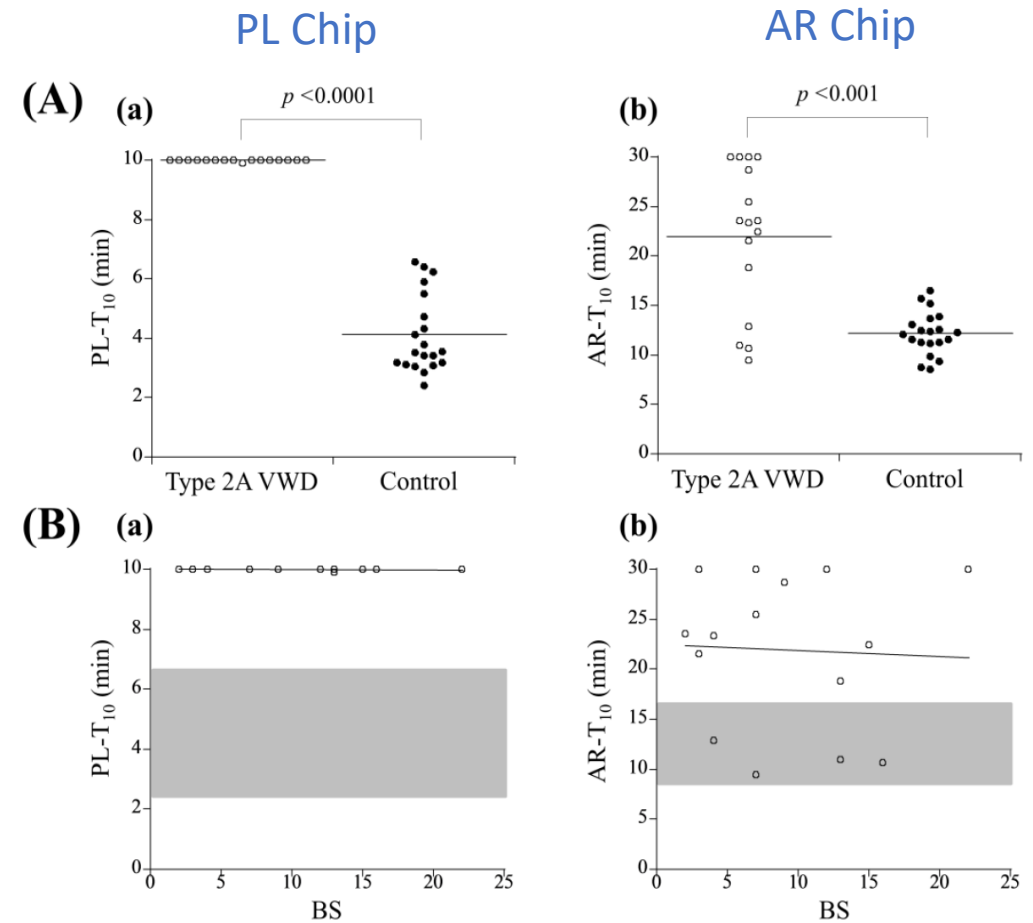
Yuto Nakajima, MD,<sup>1</sup> Koji Yada, MD, PhD,<sup>1,2</sup> Kenichi Ogiwara, MD, PhD,<sup>1</sup> Shoko Furukawa, MD, PhD,<sup>1,3</sup> Naruto Shimonishi, MD,<sup>1</sup> Midori Shima, MD, PhD,<sup>1</sup> Keiji Nogami, MD, PhD<sup>1</sup>

**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<sup>®</sup>.

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



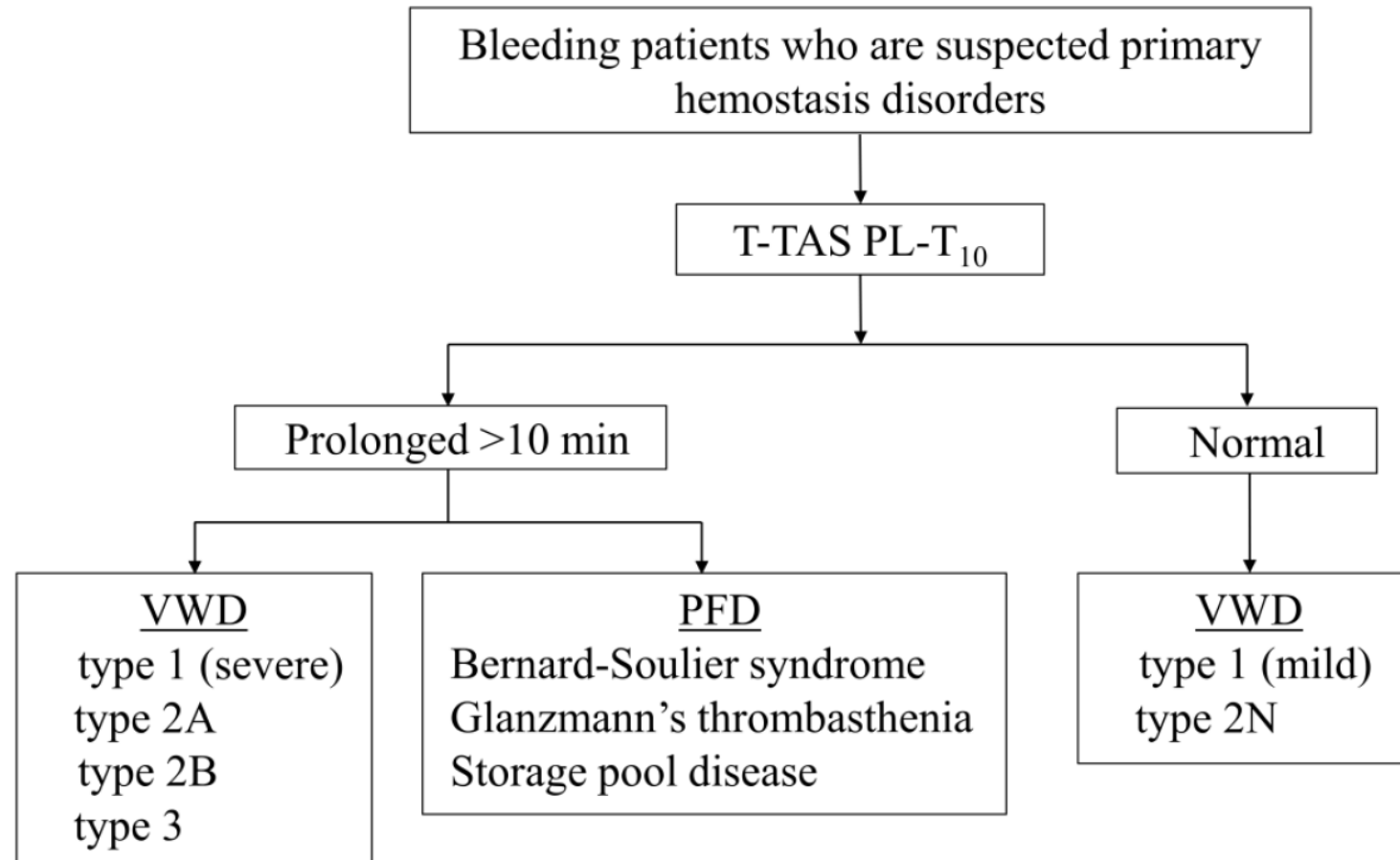
Multiplate



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 / $\mu$ 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)

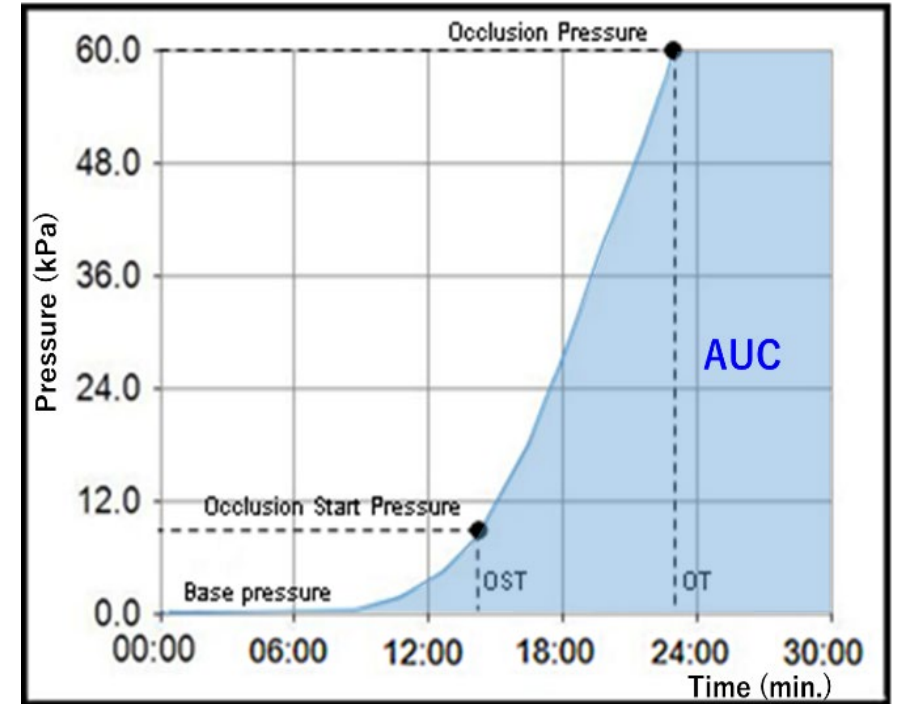


# HD Chip : Evaluation du risque hémorragique dans le cas de thrombocytopénie

**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

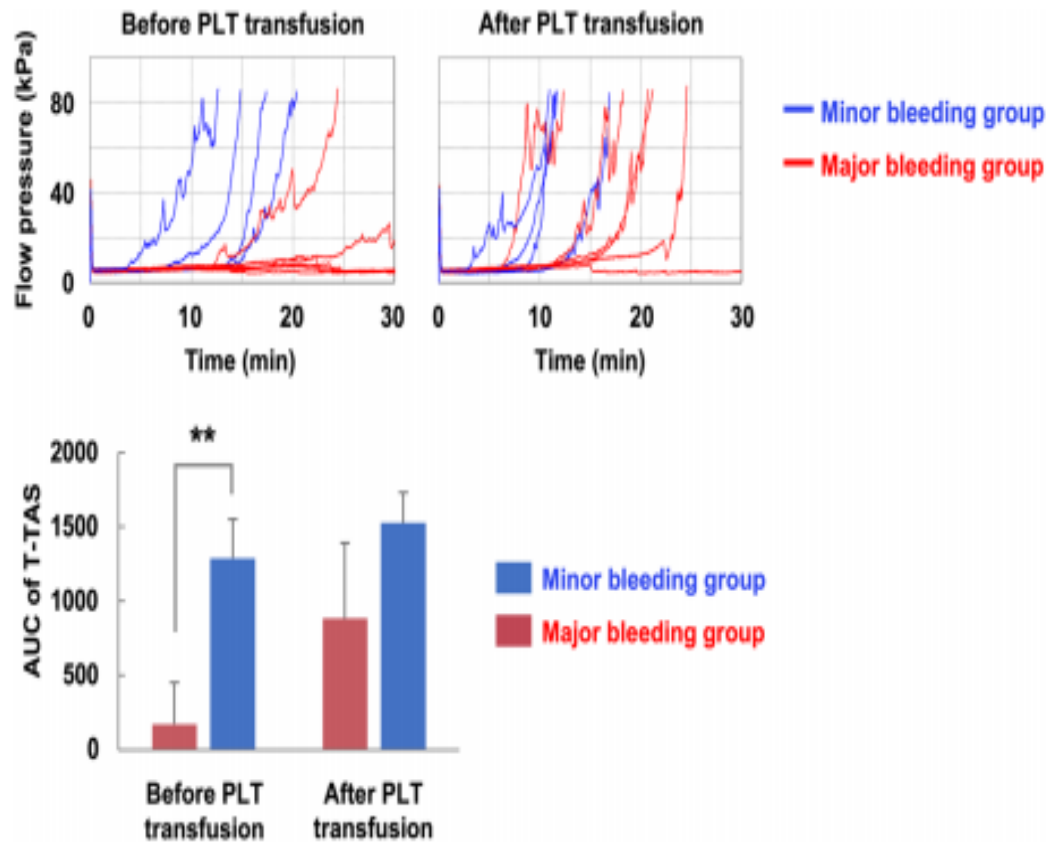
*La plupart des autres tests qui impliquent la mesure de l'activité plaquettaire ont des restrictions sur la numération plaquettaire minimale (la thrombocytopénie est contre-indiquée).*



**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 Atari<sup>1</sup>, Takashi Ito<sup>2\*</sup>, Tomoka Nagasato<sup>3</sup>, Tomoko Ohnishi<sup>3</sup>, Kazuya Hosokawa<sup>3</sup>, Tomotsugu Yasuda<sup>1</sup>, Ikuro Maruyama<sup>2</sup> and Yasuyuki Kakihana<sup>1</sup>

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

# T-TAS<sup>®</sup> 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 Ożegowska<sup>1</sup>, Urszula Mantaj<sup>2</sup>, Patrycja Rojewska<sup>3</sup>,  
Maciej Osinski<sup>4</sup>, Leszek Pawelczyk<sup>1</sup>, Małgorzata Kędzia<sup>4</sup>

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

**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

