

Caractérisation des plasmas contrôles frais congelés CRYOcheck™ Lupus Négatif (CCLN), positif faible (CCWLP), positif fort (CCLP) pour la détection et la confirmation de la présence des lupus anticoagulants sur les automates STA-R® (Stago) et CS-2400 (Sysmex®)

CHARLOTTE KAWECKI¹, Théo CARPENTIER¹, Norbert BENATTAR¹
¹ : PepReDep, laboratoire R&D, La Roche-Posay, France

Introduction

Le syndrome des antiphospholipides est une maladie auto-immune, provoquant ; thrombopénies, thromboses, AVC ou accidents obstétricaux. Elle est due à la présence d'immunoglobulines hétérogènes qui se lient aux phospholipides et/ou protéines plasmatiques liant les phospholipides, nommées lupus anticoagulants (LA). Ces anticorps induisent un état d'hypercoagulabilité. La détermination de la présence de LA dans le plasma est basée principalement sur des tests de coagulation dépendants des phospholipides (PL). Ces tests sont le dRVVT (*diluted Russell's viper venom time*), le temps de céphaline activée (TCA) sensible aux lupus, les tests du mélange ou les tests intégrés qui regroupent tests de détection et de confirmation. L'utilisation de contrôles pour valider l'ensemble des résultats est un prérequis obligatoire qu'importe la technique ou l'automate utilisés. C'est dans ce but, que nous avons caractérisé 3 contrôles de plasmas congelés présentant ou non des LA.

Matériels et méthodes

Différents lots de plasmas frais congelés de la société *Precision Biologic Inc* (Canada) possédant ou non des LA ont été analysés sur les automates STA-R (STAGO) et CS-2400 (Sysmex). L'ensemble des tests recommandés par l'ISTH pour standardiser la détection et la confirmation des LA ont été réalisés et comparés au contrôle négatif ne possédant pas de LA.

CCLN : CRYOcheck™ Lupus Negative Control
 CCWLP : CRYOcheck™ Weak Lupus Positive Control
 CCLP : CRYOcheck™ Lupus Positive Control

Tests	Réactifs	Fabricants
TCA	PTT-LA	Stago
	APTT-SP	Werfen
	SIRON-LS	Technoclone
	CEPHEN LS	Hyphen
DRVVT	DRVV Screen	Stago
	DRVV Confirm	Stago
	LA Check™	PBI
	LA Sure™	PBI
	LA-1 (détection)	Siemens
	LA-2 (confirmation)	Siemens
Lysat plaquettaire	PNP	PBI
Pool de plasma	CCN-10	PBI
Tampon LS		Cryopep
Test intégré	Hex LA™	PBI

Tests de détection indépendant :

TCA Sensible au lupus

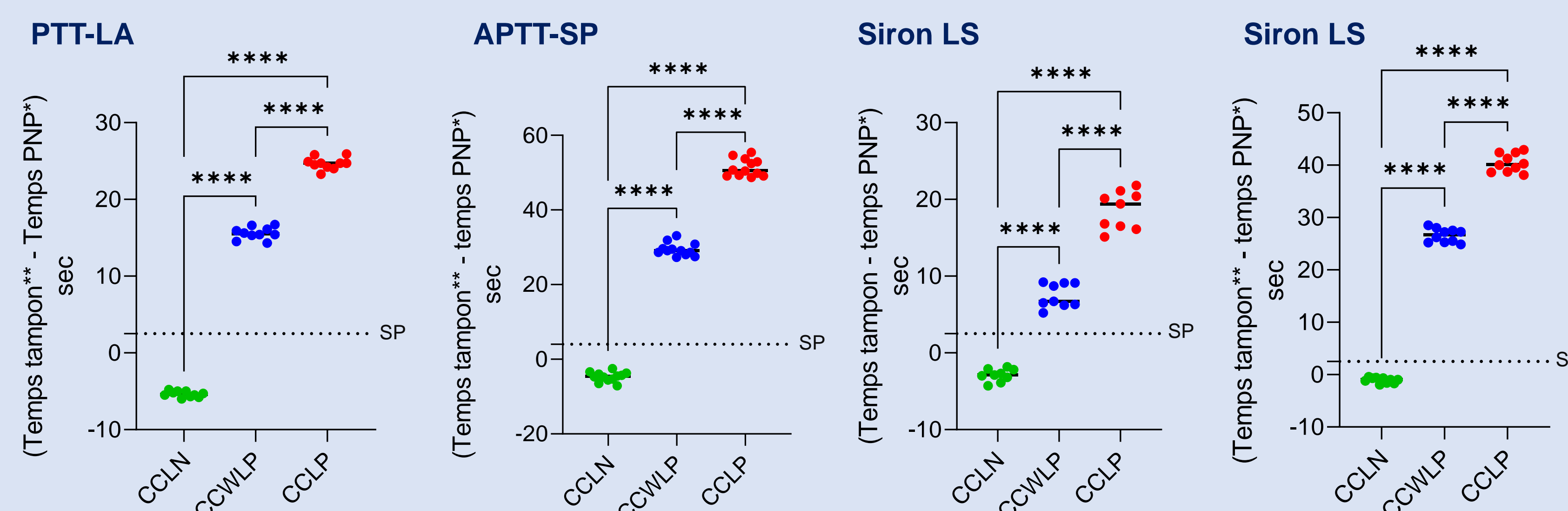
STA-R	CCLN	CCWLP	CCLP	seuil de positivité (sec)	P Value				
Réactifs	n	moy. (sec)	SD (sec)	moy. (sec)	SD (sec)	moy. (sec)	SD (sec)		
PTT-LA	15	34,04	2,8	59,64	6,3	74,23	12,3	30,4 - 40,4	< 0,0001
APTT-SP	15	31,93	0,44	63,47	3,76	87,81	5,41	30,5 - 35,5	< 0,0001
Siron LS	15	25,92	1,52	48,04	4,26	62,31	5,81	25 - 38	< 0,0001

CS-2400	CCLN	CCWLP	CCLP	seuil de positivité (sec)	P Value				
Réactifs	n	moy. (sec)	SD (sec)	moy. (sec)	SD (sec)	moy. (sec)	SD (sec)		
CEPHEN LS	9	30,39	0,17	64,29	0,84	83,83	1,69	27 - 36	< 0,0001
Siron LS	9	26,73	1,71	49,88	5,12	65,65	5,41	25 - 38	< 0,0001

Statistiques : Ordinary one-way ANOVA : multiple comparisons

Tests de confirmation indépendant :

procédure de neutralisation par les plaquettes (PNP*)



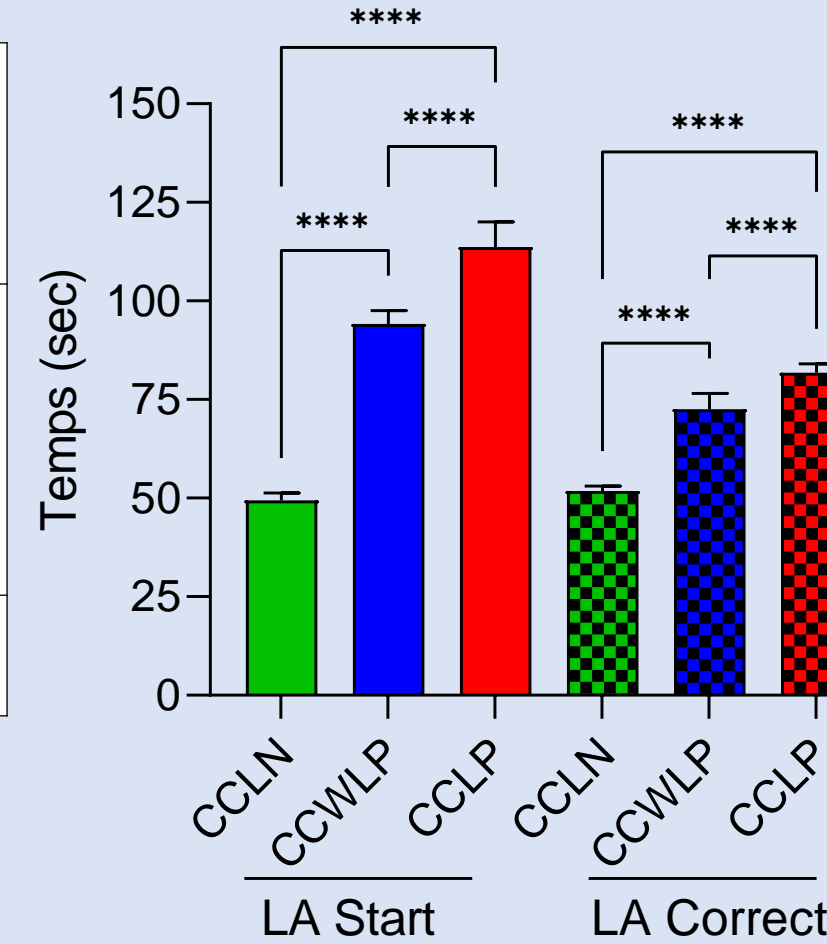
Automate : STA-R & CS-2400 (test Siron LS (gauche))
 Statistiques : Ordinary one-way ANOVA : multiple comparisons. P < 0,0001 : ****
 PNP* : lysat plaquettaire, tampon** : tampon Cryopep LS, SP : seuil de positivité

Test intégré :

Test de neutralisation des PL en phase hexagonale (HPPNA)

STA-R	CCLN	CCWLP	CCLP	SP (sec)				
HEX-LA	n	moy. (sec)	SD (sec)	moy. (sec)	SD (sec)	moy. (sec)	SD (sec)	
LA-START (LA-S)	18	49,46	1,91	94,15	3,40	113,7	6,37	
LA-CORRECT (LA-C)	18	51,84	1,24	72,58	3,97	81,84	2,19	
(LA-S) - (LA-C)	18	-2,39	2,02	31,59	2,1	31,83	7,5	6,66

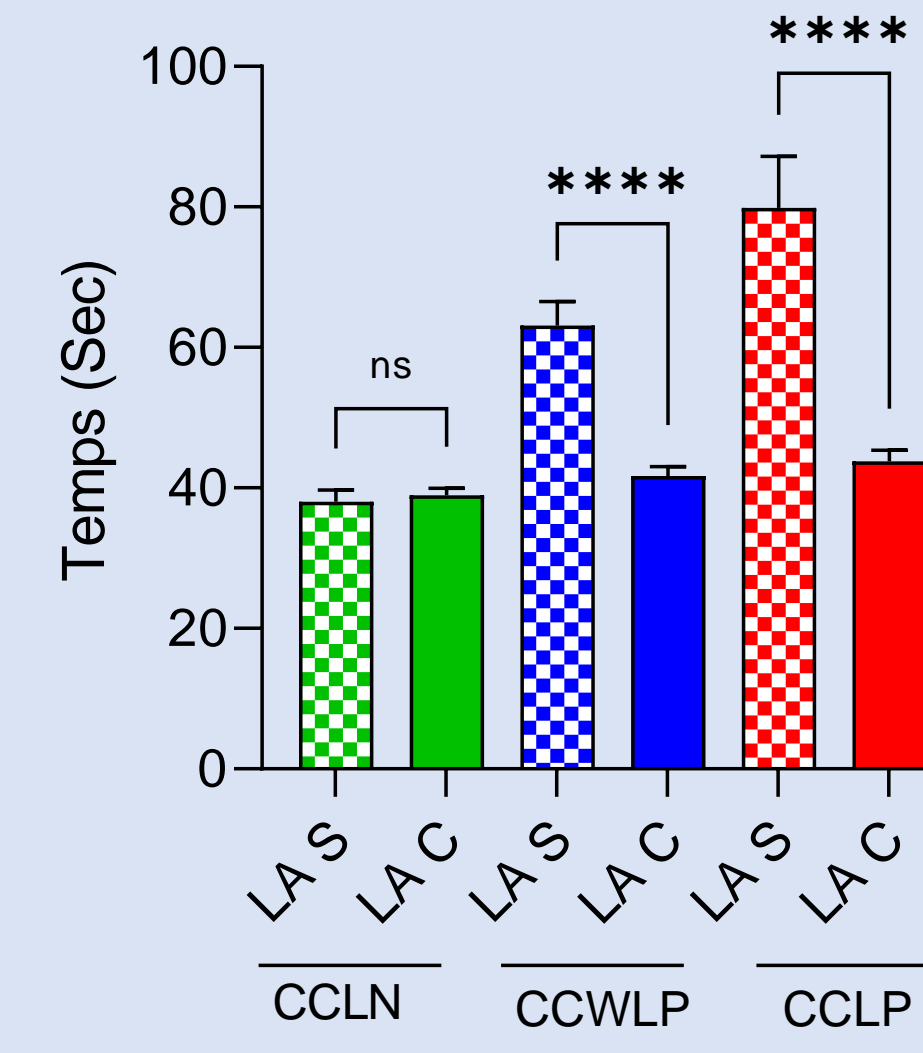
Statistiques : Ordinary one-way ANOVA : multiple comparisons.
 P : < 0,0001 : ****
 SP : seuil de positivité



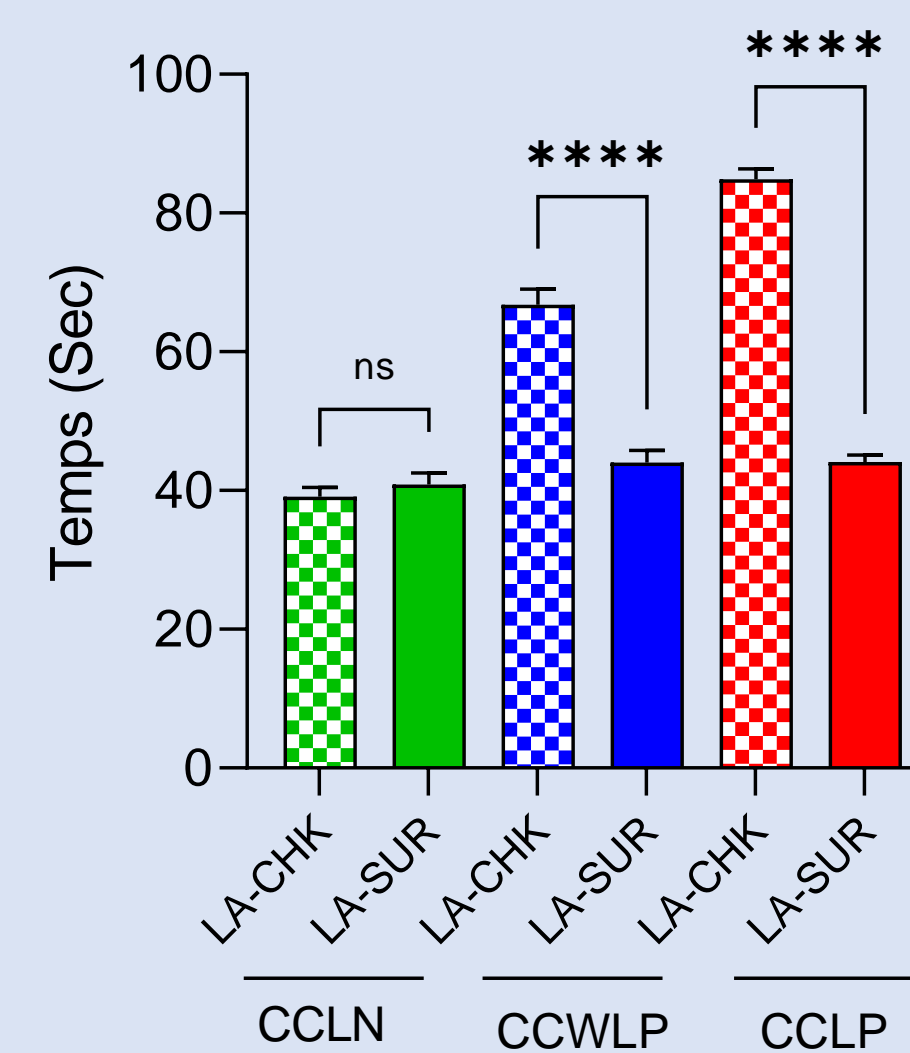
Tests couplés :

Temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT)

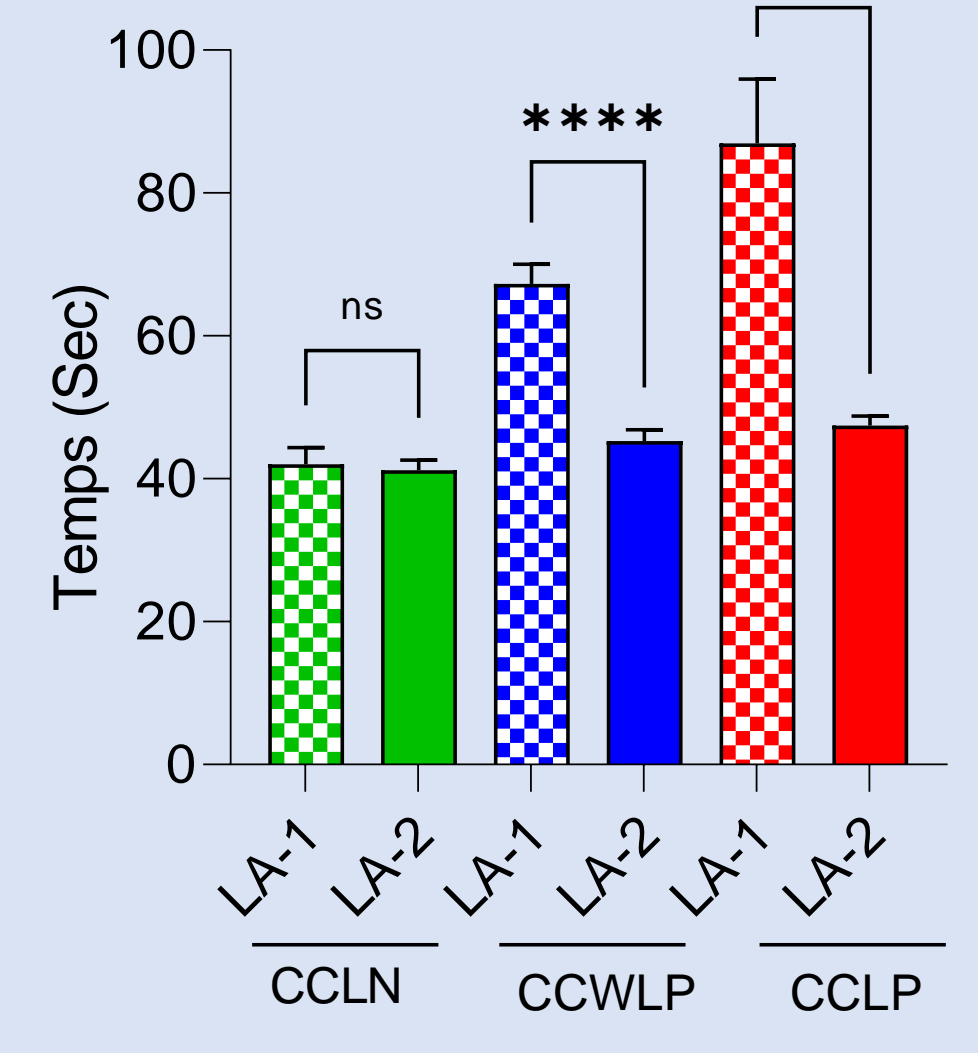
LA Screen & LA Confirm (Stago)



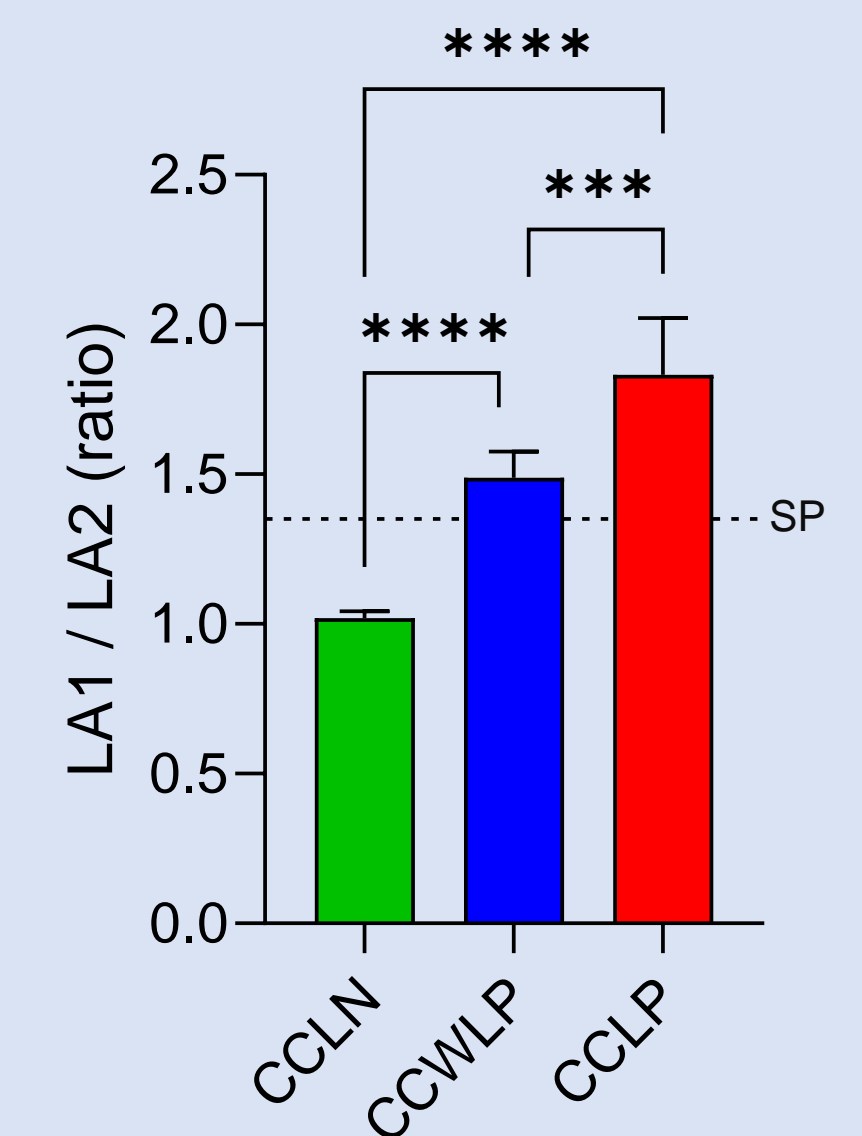
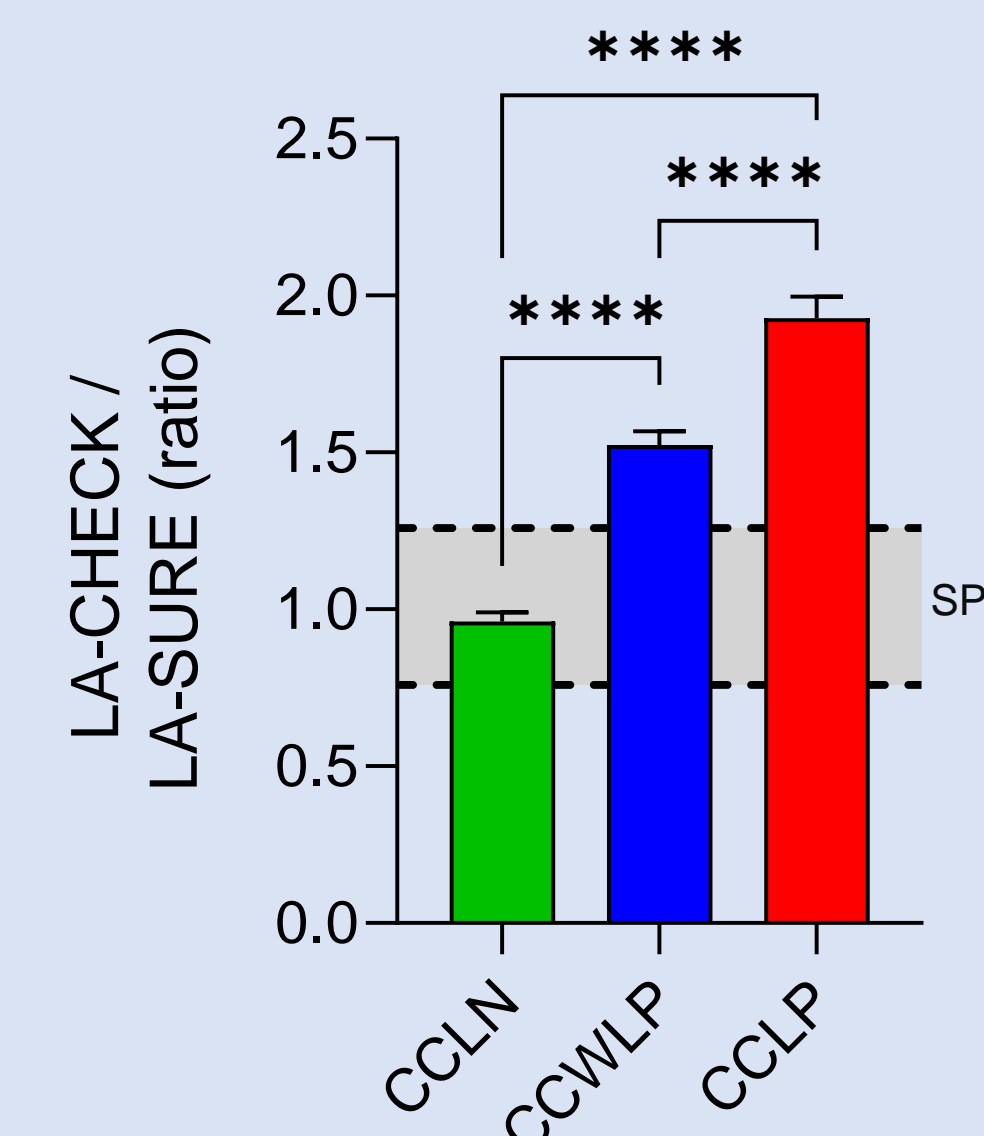
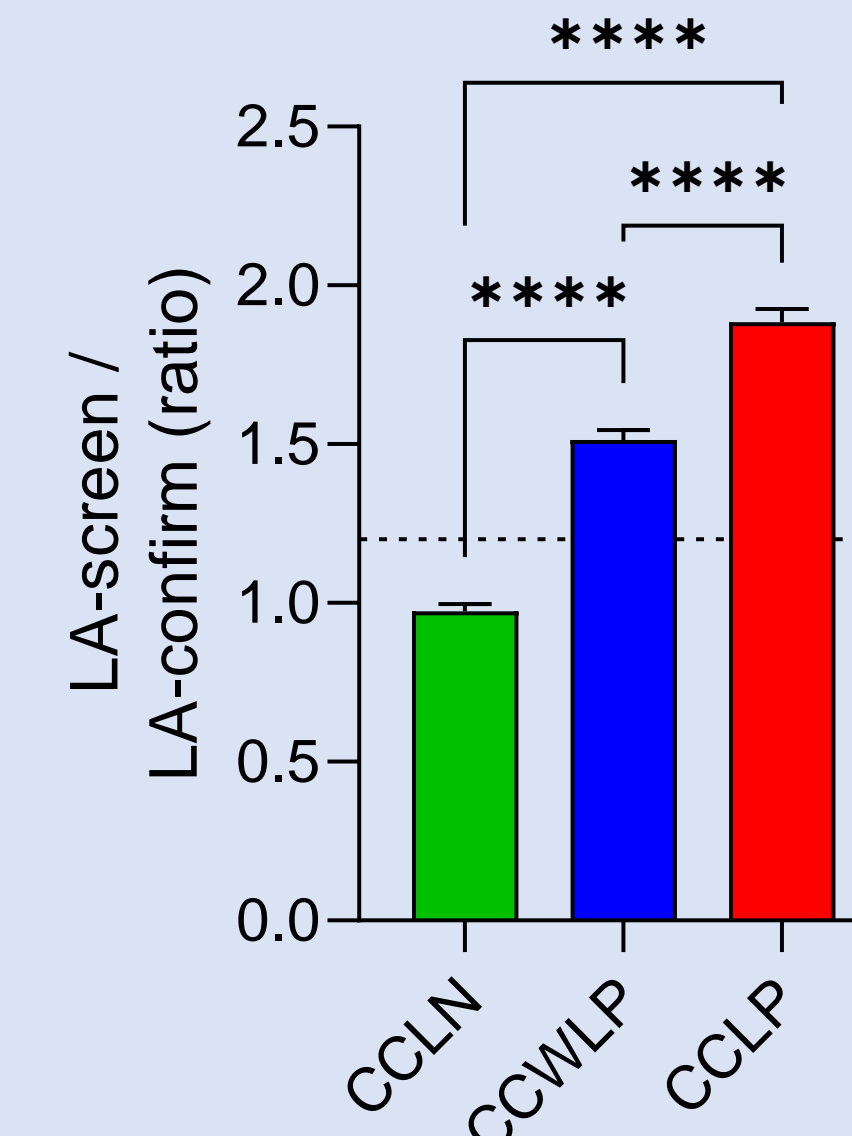
LA CHECK & LA SURE (PBI)



LA-1 & LA-2 (Siemens)



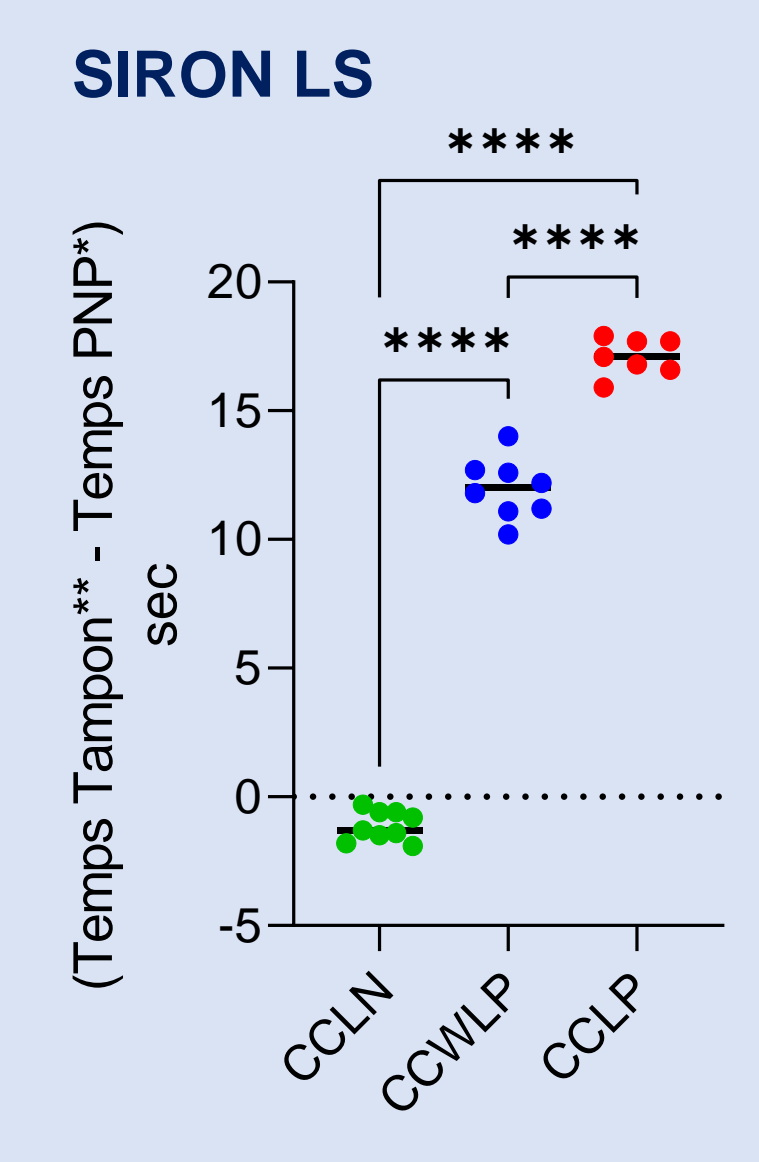
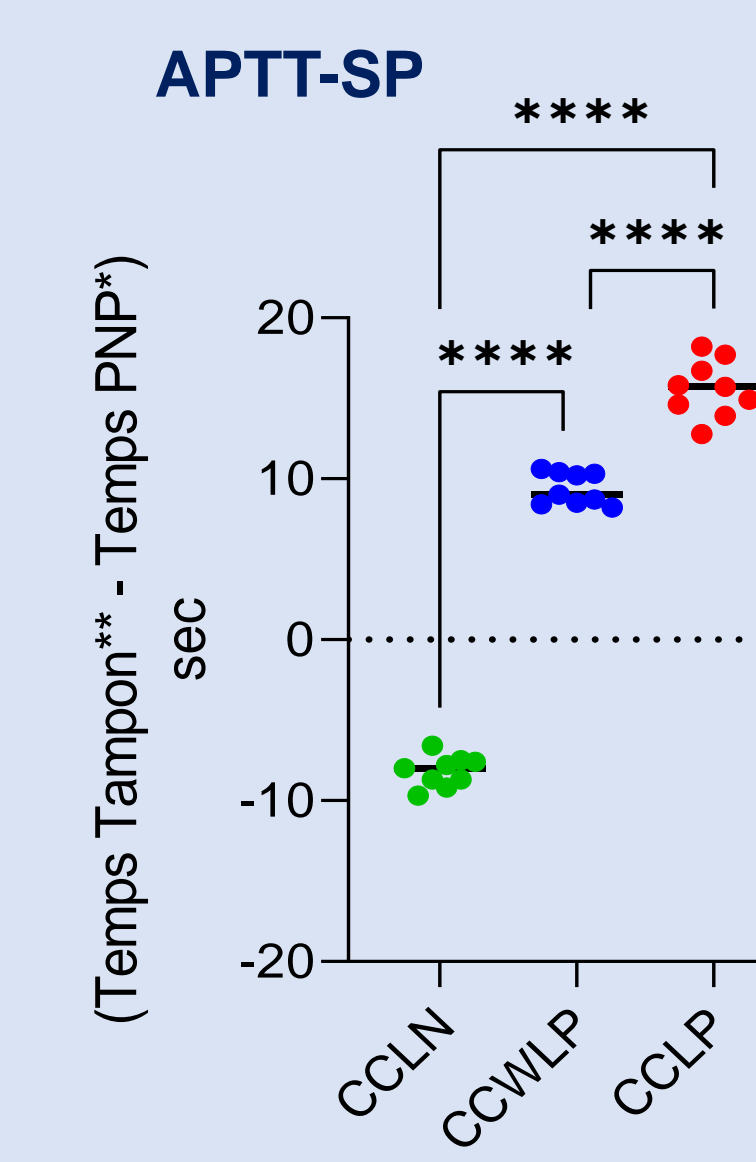
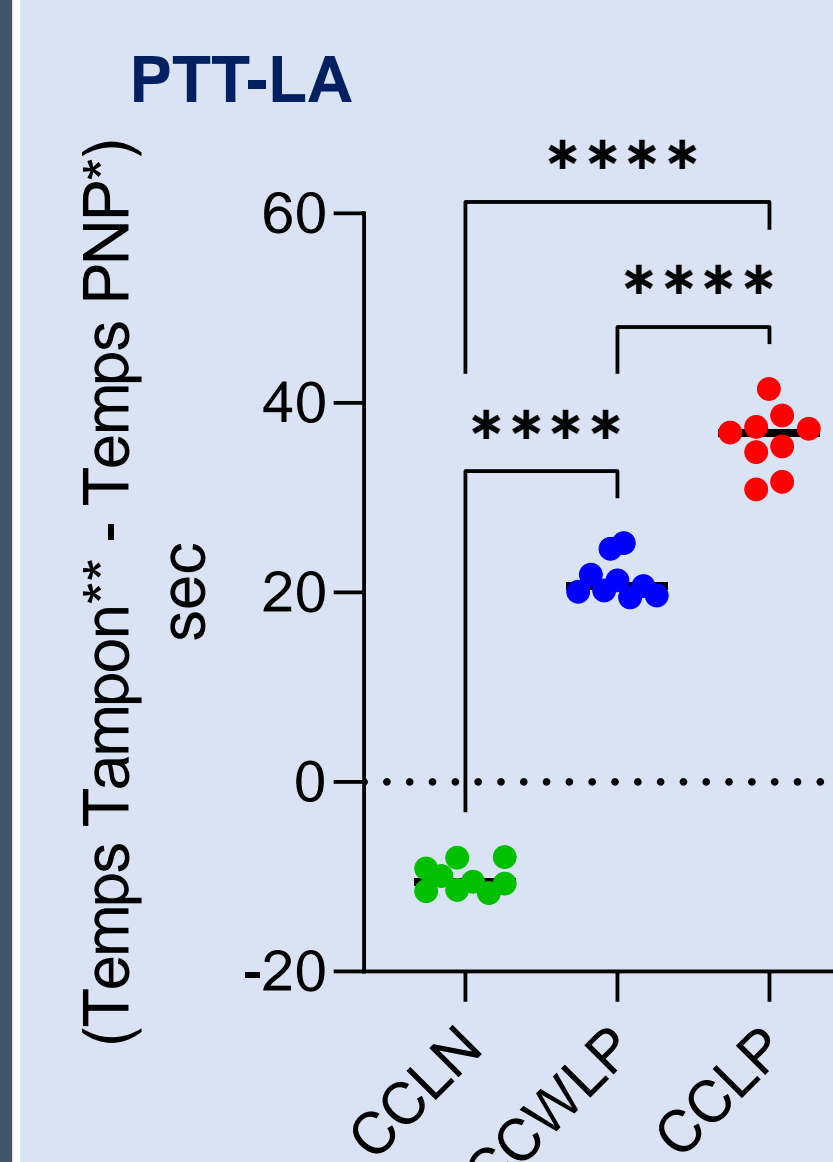
RATIO



Automate : STA-R
 Statistiques : Ordinary one-way ANOVA : multiple comparisons.
 P : < 0,0001 : **** ; P : 0,0005 : *** ; ns : non significatif, SP : seuil de positivité

Tests du mélange :

TCA + PNP + pool de plasma normal¹



Automate : STA-R
 *PNP : lysat plaquettaire, tampon** : tampon Cryopep LS
¹ Pool de plasma : 2 lots différents de CCN-10 mélangés vol/vol

Tests du mélange :

dRVVT + pool de plasma normal¹

	Screen / Confirm			LA-1 / LA-2		
	Moy.	SD	P Value	Moy.	SD	P Value
CCLN	1,00	0,03		1,04	0,02	
CCWLP	1,32	0,06	< 0,0001	1,40	0,02	< 0,0001
CCLP	1,45	0,06	< 0,0001	1,54	0,03	< 0,0001

Statistiques : Ordinary one-way ANOVA : multiple comparisons.
 P : < 0,0001 : **** (comparé au CCLN)
 Automate : STA-R
¹ Pool de plasma : 2 lots différents de CCN-10 mélangés vol/vol

Conclusion

Les plasmas frais congelés avec des LA en faible (CCWLP) ou forte (CCLP) concentration du fabricant *Precision Biologic Inc*, présentent une très bonne discrimination entre les contrôles positifs et le négatif (CCLN) dans les tests indépendants sur les 2 automates avec les différents réactifs de TCA. De la même manière, les différences entre le contrôle négatif et les positifs restent élevées dans les tests dRVVT et les tests du mélange sur le STA-R®, la même observation a été obtenue sur le CS-2400 (données non présentes). De plus, l'utilisation du test intégré (Hex LA™), test rapide, prêt à l'emploi, très sensible aux LA et insensible à l'héparine, mêlant tests de détection, de confirmation et du mélange dans un seul kit, montre une excellente discrimination entre les 3 différents contrôles. Les résultats des 3 coffrets commerciaux marqués CE sont très similaires entre les 2 automates sur les différents réactifs testés. Ils sont donc de très bons candidats pour la validation des méthodes de dosage des LA et en tant que contrôles qualités sur les 2 automates STA-R® et CS-2400. L'absence de reconstitution des plasmas CRYOcheck™ Lupus control, leurs utilisations immédiates après décongélation et la pertinence des résultats, ajoutent une plus-value non négligeable à leurs utilisations comme contrôles dans la validation des tests de coagulation.