Evaluation du réactif CRYOCheck Hex-LA™ dans la recherche des anticoagulants circulants de type lupique

Nicolas Sillamy[1], Alexandra Lefebvre[1], Justine Berton[1], Camille Parmentier[1], Eve-Anne Guéry[1], Claire Pouplard[1,2]

[1]Centre Hospitalier Régional Universitaire De Tours, Service d'hématologie-Hémostase - Tours (France)

[2]UMR INSERM 1327 ISCHEMIA, UFR de médecine de Tours (France)

Introduction

Les anticorps (Ac) anti-phospholipides sont des anticorps d'isotype IgG ou IgM dirigés contre des complexes associant des protéines et des phospholipides (PL). Ces Ac peuvent être transitoires et non pathogènes, ou persistants et associés à des risques de thrombose veineuse ou artérielle, d'où l'importance de leur diagnostic. D'après les recommandations de l'ISTH[1], la recherche des anticoagulants circulants de type lupique ou lupus anticoagulant (LA) doit reposer sur deux méthodes de détection, dont un temps de venin de vipère Russell dilué (DRVVT) et un TCA sensibilisé utilisant la silice comme activateur. Dans notre laboratoire, la recherche des LA est effectuée à l'aide d'un PTT-LA® et du DRVV® (Stago). En cas de traitement par héparine ou de difficulté à interpréter ces tests, le Staclot LA® (Stago) est réalisé, mais ce dernier réactif a pour inconvénient de ne pas être automatisé et est sensible à une augmentation de la CRP[2,3].

Objectif de l'étude : Evaluer les performances du réactif Hex LA™ (Cryopep) compartivement à ceux du PTT-LA® et du Staclot LA®

Matériel et méthodes

Echantillons :

- **54 échantillons** issus de 52 patients pour lesquels une recherche de LA avait été réalisée ont été testés avec le réactif Hex LA
- Plasma dépourvu en plaquettes (PDP) obtenu après double centrifugation (11 min, 2250 g, 25 °C) ; sang prélevé sur tube citrate (0,109 M, 9:1)

Réactifs et automates :

- **PTT-LA®** (Stago) : Temps de céphaline sensibilisé avec comme activateur la silice ; technique automatisée réalisée sur STA R Max
- **STA-Staclot DRVV® (Screen et Confirm)** (Stago) : Temps de venin vipère Russell dilué ; technique automatisée réalisée sur STA R Max
- **Staclot LA®** (Stago) : Temps de céphaline sensibilisé avec comme activateur la silice utilisant des PL en phase hexagonale ; technique semi-automatisée réalisée sur Start Max
- **Hex LA™** (Cryopep) : Temps de céphaline sensibilisé avec comme activateur la silice et contenant un inhibiteur d'héparine, utilisant des PL en phase hexagonale ; technique automatisée réalisée sur STA R Max

Stratégie diagnostique au laboratoire :

- **PTT-LA et DRVV systématiquement réalisés en dépistage**
  → sauf en cas de traitement par **héparine** (activité anti-Xa entre 0,10 et 0,80 UI/mL), où le **Staclot LA** est réalisé à la place du PTT-LA
  Recherche de LA non réalisée si anti-Xa > 0,8 UI/mL

- Si DRVV Screen ≥ 1,10 → ajout DRVV Confirm :
  → Si ratio DRVV Screen/DRVV Confirm ≥ 1,20 : présence d'un LA
- Si DRVV négatif et PTT-LA ≥ 1,20 → réalisation d'un **test du mélange** :
  → Si l'indice de Rosner est < 15 : test négatif
  → **Si l'indice de Rosner est ≥ 15 : le Staclot LA est réalisé**

- 3 groupes de patients ont été individualisés en fonction des résultats de la voie du TCA sensibilisé :
  - **PTT-LA négatif (< 1,20) ; n = 12**
  - **Staclot LA négatif (< 8 s) ; n = 17**
  - **Staclot LA positif (≥ 8 s) ; n = 25**

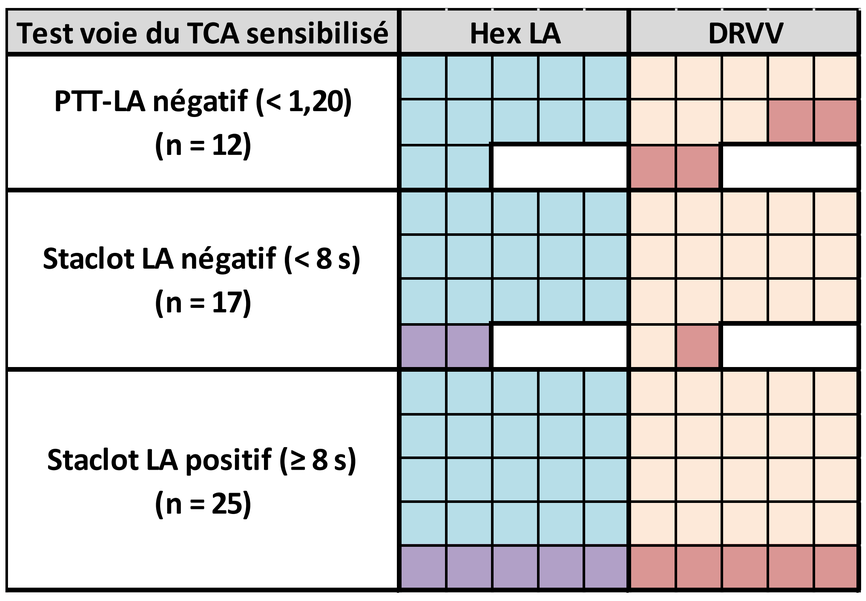
Résultats

Evaluation de la répétabilité et de la reproductibilité du réactif Hex LA™ sur STA R Max

	Répétabilité						Reproductibilité					
	LA1			LA2			LA1			LA2		
	START (s)	CORR (s)	Delta (s)	START (s)	CORR (s)	Delta (s)	START (s)	CORR (s)	Delta (s)	START (s)	CORR (s)	Delta (s)
Moyenne (s)	38,77	43,50	-4,73	121,12	53,72	67,40	38,58	42,50	-3,92	122,56	57,48	65,08
Ecart-Type (s)	0,43	1,41		1,20	1,78		0,58	1,31		1,22	4,74	
CV (%)	1,11	3,24		0,99	3,32		1,50	3,09		0,99	8,25	
CV fabricant (%)	2,30	2,90		4,10	3,20		3,20	5,20		4,80	6,00	

- Résultats obtenus sur 9 passages de contrôles LA1 (négatif) et LA2 (positif) (Stago)
- CV (reproductibilité) recommandé par le GEHT pour le TCA : **3,9 %** (< 40 s), **4 %** ([40 ; 45[s); **4,7 %** (≥ 45s)
- Delta LA START - LA CORR toujours négatif (< 7 s) pour le LA 1 et positif (> 7 s)pour le LA2

Comparaison des résultats des tests PTT-LA® et Staclot LA® à ceux du Hex LA™ et du STA-Staclot DRVV®



Hex LA négatif (< 7 s)

Hex LA positif (≥ 7 s)

DRVV négatif (DRVV screen < 1,10 ou ratio Screen/Confirm < 1,20)

DRVV positif (≥ 1,20)

- 1 carré = 1 patient
- Même position = même patient

- **100 % (12/12) de concordance entre PTT-LA négatif et Hex LA**
- **88 % (15/17) de concordance entre Staclot LA négatif et Hex LA**
- **20 % (5/25) de concordance entre Staclot LA positif et Hex LA**

Comparaison des résultats Staclot LA® et Hex LA™ en fonction de la CRP

Hex LA négatif (< 7 s)

Hex LA positif (≥ 7 s)

Staclot LA négatif (< 8 s)

Staclot LA positif (≥ 8 s)

* : CRP dosée dans les 6 heures avant ou après la recherche d'ACC

Sur les 42 échantillons avec un résultat de Staclot LA :
→ 6 exclus car connus pour ACC persistants (tous DRVV positifs)
→ 8 exclus car CRP dosée à plus de 6 heures de la recherche d'ACC ou non dosée
→ **28 échantillons étudiés**

→ Discordance entre Staclot LA (positif) et Hex LA (négatif) presque systématique lors d'une CRP > 110 mg/L

N° patient	CRP	Staclot LA (s)	Hex LA (s)
1	0,9	-2	-2,3
2	5,2*	16	2,8
3	5,9	-4	-1,7
4	15,7	0	-3,4
5	37,7*	4	-7,7
6	68,8	6	-0,7
7	70,2*	6	0,9
8	71,5	7	-1,2
9	75,2	9	1
10	99,7*	6	-0,4
11	102	5	1,4
12	108	5	-0,3
13	109,5*	9	-0,7
14	116*	9	-2,4
15	149	10	-0,3
16	149,6	9	1,1
17	150	5	2,2
18	153,3	15	-1,4
19	167,4	8	-0,9
20	176	12	2,4
21	176	24	-0,7
22	178,3	9	-0,7
23	178,4	5	-1,3
24	183*	12	1,2
25	200,7	13	-0,1
26	231	13	2,3
27	279	12	2,8
28	300*	15	2,2

Discussion/Conclusion

Nos résultats montrent une bonne répétabilité et reproductibilité du test Hex LA sur l'automate STA R Max. Parmi les 25 cas de Staclot LA positifs, le Hex LA n'est positif que dans 5 cas, qui correspondent à des cas d'ACC lupiques diagnostiqués avec le DRVV. La comparaison des résultats du Hex LA à ceux du Staclot LA en fonction de la CRP met en évidence une forte discordance entre les deux tests en cas de CRP augmentée. L'interférence de la CRP sur les résultats du Staclot LA est décrite dans la littérature, ce qui suggère que les résultats positifs avec le Staclot LA dans notre étude sont en grande partie des faux positifs. L'utilisation d'un test peu sensible à la CRP comme le Hex LA présente un réel intérêt puisqu'il permettrait de réduire le nombre de bilans de contrôle. En pratique, le PTT-LA semble être une bonne option comme test de dépistage du fait de son coût peu élevé et de la parfaite concordance entre PTT-LA négatif et Hex LA négatif dans notre étude. L'utilisation du Hex LA en test de confirmation permettrait d'améliorer la spécificité dans des contextes inflammatoires. Des tests complémentaires sur un nombre plus important d'échantillon sont toutefois nécessaires afin de confirmer la bonne concordance entre PTT-LA négatif et Hex LA négatif.

Références :

1. Devreese KMJ, de Groot PG, de Laat B, Erkan D, Favaloro EJ, Mackie I, Martinuzzo M, Ortel TL, Pengo V, Rand JH, Tripodi A, Wahl D, Cohen H. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. J Thromb Haemost. 2020 Nov;18(11):2828-2839.
2. Schouwers SM, Delanghe JR, Devreese KM. Lupus Anticoagulant (LAC) testing in patients with inflammatory status: does C-reactive protein interfere with LAC test results? Thromb Res. 2010 Jan;125(1):102-4. doi: 10.1016/j.thromres.2009.09.001.
3. Mize R, Mueller S, Roth M, Montgomery G, Battinelli EM, Uljon S. False positive lupus anticoagulant tests in patients with high C-reactive protein: A comparison of two hexagonal phase reagents. Int J Lab Hematol. 2024 Apr;46(2):411-414. doi: 10.1111/ijlh.14224.