



Surveillance du traitement par héparine non fractionnée dans différents groupes de patients (étude DEXHEP) : impact du FP4 sur la mesure de l'activité anti-Xa

P. Savard¹, E. Curis², I. Gouin-Thibault³, M. Toussaint-Hacquard⁴, C. Delassasseigne⁵, A. Bauters⁶, C. Flaujac⁷, V. Eschwege⁴, C. Mouton⁵, T. Lecompte^{1,2,8}, E. de Maistre¹, D. Lasne⁹, V. Siguret¹⁰
¹CHU Dijon — Dijon (France), ²UR 7537 BioSTM Université Paris Cité & Hôpital Lariboisière — Paris (France), ³CHU Rennes — Rennes (France), ⁴CHRU Nancy — Nancy (France), ⁵CHU Bordeaux — Bordeaux (France), ⁶CHU Lille — Lille (France), ⁷CH Versailles — Versailles (France), ⁸Faculté de Médecine, Université de Lorraine & Université de Namur — Nancy (France), ⁹Hôpital Necker — AP-HP - Paris (France), ¹⁰Hôpital Lariboisière — AP-HP & UMR-S-1140 — Paris (France)

INTRODUCTION

Le traitement par héparine non fractionnée (HNF) nécessite une surveillance biologique (TCA, activité anti-Xa). La mesure de l'activité anti-Xa est considérée comme plus spécifique que le TCA mais des différences sont observées en fonction du tube (citrate ou CTAD), du temps écoulé entre le prélèvement et la centrifugation, avec des résultats discordants en fonction des réactifs (*Desconclois Thromb Res 2014, Billoir J Thromb Thrombolysis 2019, Smahi J Thromb Haemost 2020, Amiral Biomedicines 2021*). La majorité des réactifs contiennent du sulfate de dextran, qui dissocie l'héparine des protéines présentes dans le plasma, qu'elles soient endogènes (non seulement le facteur plaquettaire 4 - FP4, mais tout l'interactome) ou médicamenteuses (protamine). L'attention a déjà été attirée depuis des années sur l'impact en fin de Circulation ExtraCorporelle (CEC) après administration de protamine (*Mouton Thromb Res 2003*). L'objectif de l'étude DEXHEP est d'évaluer l'effet du dextran sur la mesure de l'activité anti-Xa dans différents contextes cliniques, et de rechercher les facteurs pouvant influencer les résultats, notamment la concentration en FP4 plasmatique [FP4] et l'utilisation du tube CTAD qui limite la libération ex-vivo de FP4.

PATIENTS ET METHODES

- Etude prospective, multicentrique avec 7 centres : APHP Lariboisière, APHP Necker, Bordeaux, Dijon, Lille, Nancy, Rennes, Versailles (NCT04700670 ; approuvé par un CPP)
- Inclusion des patients dans 4 groupes :
 - Groupe 1 (G1) : post-CEC, 5-10 minutes après protamine**
 - Groupe 2 (G2) : post-Chirurgie cardiaque (J+1 à J+5)**
 - Groupe 3 (G3) : réanimation médicale, ECMO**
 - Groupe 4 (G4) : médecine (cardiologie, néphrologie, médecine interne)**
- Prélèvement en tubes citrate 0,109M et CTAD 0,105M. Double-centrifugation dans l'heure après le prélèvement et congélation du plasma à -70°C
- Mesure de l'activité anti-Xa avec plusieurs combinaisons réactifs / coagulomètres
 - Réactifs avec dextran** : Hemosil® Liquid anti-Xa Werfen, Biophen® Heparin LRT Hyphen Biomed, Innovance® Heparin Siemens, Berichrom® Heparin Siemens
 - Réactifs sans dextran** : STA® Liquid anti-Xa Stago, Berichrom® Heparin Siemens (non commercialisé)
 - Coagulomètres** : ACL TOP 750® Werfen, STA R Max® Stago, CS 5100® Sysmex
- Mesure centralisée du FP4 plasmatique : trousse Zymutest™ PF4 Hyphen Biomed

RESULTATS

165 patients ont été inclus dans l'étude (G1=39, G2=35, G3=53 et G4=38)

75% des tubes ont été centrifugés dans l'heure et 87% dans les 2 heures après le prélèvement

Mesures anti-Xa réalisées selon 7 combinaisons réactifs / coagulomètre :

Berichrom Heparin avec et sans dextran / CS 5100
 Hemosil Liquid anti-Xa / ACL TOP 750
 STA Liquid anti-Xa / STA R Max
 Biophen Heparin / ACL TOP 750 et STA R Max
 Innovance Heparin / CS 5100

Comparaison des réactifs avec ou sans dextran

(résultats en cours de publication)

- Valeurs anti-Xa systématiquement plus élevées avec les réactifs contenant du dextran
- Valeurs plus élevées avec le tube CTAD, mais l'effet dextran persiste
- Niveaux d'anti-Xa différents selon les groupes de patients :
- Proportion de valeurs inférieures à la limite inférieure de quantification (< 0,1 UI/mL) plus faible avec les réactifs dextran, avec une différence très forte dans G1 : 6% avec dextran versus 77% sans dextran

Valeurs anti-Xa et combinaisons réactif / coagulomètre (avec ou sans dextran)									
		Hemosil liquid anti-Xa® (Werfen)	Biophen heparin LRT® (Hyphen Biomed)	Biophen heparin LRT® (Hyphen Biomed)	Innovance heparin® (Siemens)	Berichrom heparin® (Siemens)	Berichrom heparin® (Siemens)	STA-Liquid anti-Xa® (Stago)	
		Présence						Absence	
Dextran		Werfen ACL TOP®			Stago STA R®		Sysmex CS®		
Coagulomètres									
Citrate	n	162	164	162	164	164	164	165	
	Médiane (UI/mL)	0,32	0,30	0,28	0,23	0,25	0,15	0,05	
	min-max	0,05-1,76	0,05-2,60	0,05-1,89	0,05-1,50	0,05-2,16	0,05-1,84	0,05-1,75	
CTAD	n	159	163	160	161	161	161	163	
	Médiane (UI/mL)	0,36	0,35	0,34	0,29	0,27	0,20	0,13	
	min-max	0,05-1,71	0,05-2,68	0,05-1,81	0,05-1,45	0,05-2,02	0,05-1,80	0,05-1,84	

Valeurs anti-Xa et groupes patients (Proportion de valeurs < limite inférieure de quantification)

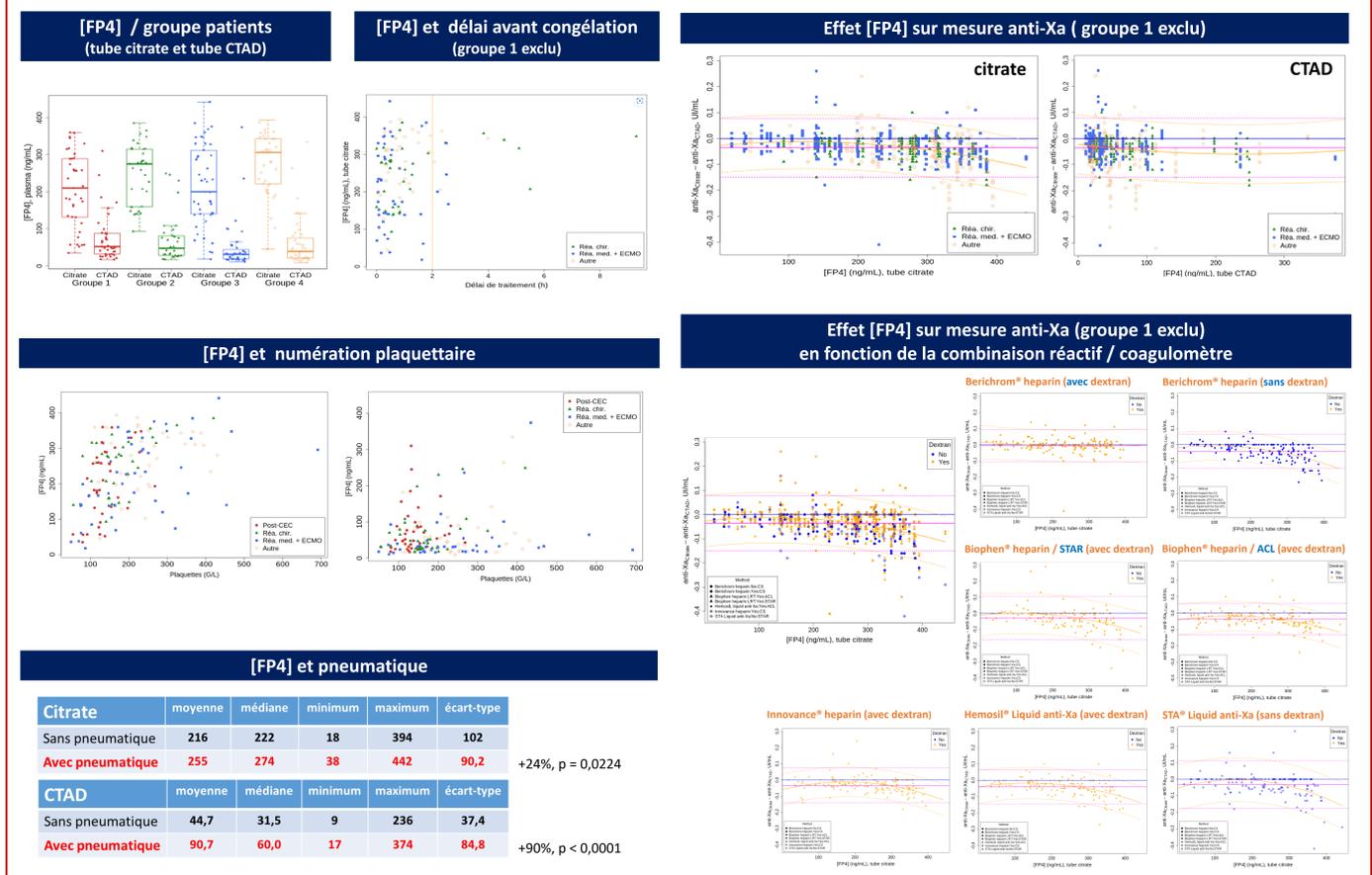
		Activité anti-Xa (UI/mL)	Post-CEC 5-10 min après protamine	Réa chirurgie cardiaque 1-5 jours post chirurgie	Réanimation médicale, soins intensifs	Médecine autres
Réactifs sans dextran	citrate	médiane 0,05 min-max 0,05 - 1,62 limite < 0,1 77%	0,05 0,05 - 1,62 77%	0,05 0,05 - 0,35 64%	0,22 0,05 - 1,84 28%	0,47 0,05 - 1,75 26%
	CTAD	médiane 0,05 min-max 0,05 - 1,46 limite < 0,1 73%	0,05 0,05 - 1,46 73%	0,12 0,05 - 0,42 43%	0,26 0,05 - 1,80 17%	0,56 0,05 - 1,84 18%
Réactifs avec dextran	citrate	médiane 0,32 min-max 0,05 - 1,60 limite < 0,1 6%	0,32 0,05 - 1,60 6%	0,05 (0,05 - 0,71) 50%	0,31 0,05 - 2,60 7%	0,55 (0,05 - 2,16) 14%
	CTAD	médiane 0,34 min-max 0,05 - 1,52 limite < 0,1 4%	0,34 0,05 - 1,52 4%	0,13 0,05 - 0,67 33%	0,34 (0,05 - 2,68) 5%	0,59 0,05 - 2,12 13%

LIQ: limite inférieure de quantification (0,1 UI/mL)
 Par convention, toutes les valeurs < 0,1 UI/mL ont été écrites à 0,05 UI/mL

Effet de la [FP4] sur la mesure anti-Xa

La [FP4] a été mesurée dans les échantillons de 144 patients (10 séries, dilution plasma 1/20)

- [FP4] significativement plus élevée avec le tube citrate par rapport au tube CTAD (+ 335%, p < 10⁻⁴), dans les 4 groupes
- Corrélation entre [FP4] et la numération plaquettaire avec le tube citrate
- Pas d'influence du délai de réalisation des tests (mais 87% des tubes centrifugés dans les 2 heures)
- Effet du pneumatique : [FP4] plus élevée avec tube citrate (+24%, p=0,0224) et tube CTAD (+90%, p<10⁻⁴, mais [FP4] moins élevées)
- Dans le tube citrate, si [FP4] > 200 ng/mL : différence significative des valeurs d'anti-Xa entre les tubes citrate et CTAD (particulièrement dans le G4) indépendamment de la présence de dextran dans le réactif



CONCLUSION

- Les réactifs avec dextran sont associés à des valeurs anti-Xa significativement plus élevées. Des valeurs plus élevées sont également observées avec le tube CTAD (mais de façon moindre).
- Dans le contexte particulier de la fin CEC, après neutralisation par la protamine, les réactifs avec dextran ne sont pas recommandés (surestimation notable du résultat).
- Comme attendu, nous observons des [FP4] très élevées en tube citrate, par rapport au tube CTAD (+ 335%), liées à la libération de FP4 par les plaquettes, très rapidement après le prélèvement (plasmas préparés et congelés dans l'heure qui suit le prélèvement dans 75% des cas), et sans majoration en cas de durée plus longue. Avec le tube CTAD, la sécrétion de FP4 n'est pas totalement prévenue (cf. l'augmentation de la [FP4] en cas d'envoi des tubes par pneumatique). La présence de FP4 à forte concentration (> 200 ng/mL) peut affecter la mesure anti-Xa en tube citrate (en particulier le groupe 4, lorsque les mesures d'anti-Xa sont dans la zone thérapeutique), mais elle n'explique pas à elle seule les différences observées entre les réactifs avec ou sans dextran.
- L'influence du dextran dans la mesure de l'activité anti-Xa nécessite des explorations supplémentaires.