

JACQUELINE VALADIER*, ELSA TOUITOU*, FLORIAN GUIZ*, LYDIA HAMRI*, ELODIE IZMIRLIAN*,
SABRINA ATTARD*, FABIEN LIOTIER*, BRIGITTE PEDONE*, SAMANTHA GUYON-REBOUL*

Evaluation des performances d'une nouvelle thromboplastine avec un ISI à 1 : la STA-NeoPTimal (Stago)

RÉSUMÉ

Les thromboplastines, réactifs utilisés pour mesurer le temps de Quick, contiennent du facteur tissulaire dont les origines peuvent être très différentes. Du fait de cette disparité, la sensibilité des thromboplastines aux déficits en facteurs peut varier, impactant ainsi les résultats. L'INR et l'ISI ont donc été introduits pour standardiser la mesure chez les patients traités par Anti Vitamine K. Afin de bénéficier d'une sensibilité optimale, la société Stago propose un nouveau réactif, la STA-NeoPTimal avec un ISI proche de 1. Les performances de la STA-NeoPTimal, évaluées sur 413 patients, sont très proches de la STA-Neoplastine CI (Stago) habituellement utilisée au Centre Hospitalier Saint Joseph (Marseille, France) sur STA R Max® (Stago, France). De par ses performances analytiques très satisfaisantes, son ISI à 1, ses différents conditionnements, la STA-NeoPTimal se positionne comme un test pouvant répondre à toutes les activités de laboratoire.

MOTS-CLÉS

Temps de Quick - TP - INR - ISI - Thromboplastine - Neoplastine - NeoPTimal

Evaluating the performance of a new thromboplastin (Stago) with an ISI = 1: STA-NeoPTimal (Stago)

SUMMARY

Thromboplastins, reagents used to measure Quick Time, contain various origins of tissue factor. Because of this disparity, the sensibility of thromboplastins to exogenous factors deficits is varied. This impacts the results. INR and ISI have been introduced to standardize the Quick Time for the follow-up of patients on VKA therapy. In order to respond international recommendations and to benefit from optimum sensibility, Stago proposes a new reagent, STA-NeoPTimal, with an ISI closed to 1. Its performances and its diagnosis agreement, evaluated on 413 patients, are very closed to STA-Neoplastin CI (Stago) currently used in Centre Hospitalier Saint Joseph (Marseille, France) on STA R Max® (Stago, France). This new reagent is thus positioned as a powerful diagnostic test with great improvement for all laboratories.

KEYWORDS

Quick Time - PT - INR - ISI - Thromboplastin - Neoplastin - NeoPTimal

I - INTRODUCTION

1. Le temps de Quick

Le test du Temps de Quick (TQ) représente plus de 50 % des tests d'hémostase réalisés dans le monde. Il explore une partie des facteurs impliqués dans la coagulation, à savoir les facteurs exogènes II, V, VII, X et le fibrinogène.

Sa mesure est indiquée dans le cadre d'un bilan de l'hémostase, en association avec le TCA et la numération plaquettaire, pour diagnostiquer des troubles de l'hémostase et permettre ainsi

d'évaluer le risque hémorragique du patient.

L'allongement du TQ a été observé dans différentes situations cliniques (1) :

- les insuffisances hépatiques (cirrhoses, hépatites) (2),
- les déficits en vitamine K (avitaminose, maladie hémorragique du nouveau-né),
- les déficits congénitaux ou acquis des facteurs II, V, VII, X ou du fibrinogène (3),
- les traitements anticoagulants par Anti Vitamines K (4),
- les traitements par Anticoagulants Oraux Directs (AOD) : dabigatran étéxilate, rivaroxaban, apixaban (effet limité en fonction du réactif et de

* Laboratoire d'hématologie, Centre Hospitalier Saint Joseph - 26 boulevard de Louvain - 13008 Marseille
Pour correspondance : Email : jvaladier@hopital-saint-joseph.fr - Tél. : +33 (0)4 91 80 65 19

la concentration plasmatique du médicament), édoxaban,

- les Coagulations Intravasculaires Disséminées (CIVD) (3),
- la présence d'anticoagulant circulant,
- la présence d'une fibrinolyse.

2. Détermination du TQ

Le temps de Quick (TQ) est le temps de coagulation d'un plasma citraté, déplaqué et recalcifié en présence d'un excès de thromboplastine tissulaire et d'une quantité optimale de chlorure de calcium. Les thromboplastines, réactifs utilisés pour mesurer le TQ, contiennent du facteur tissulaire dont le rôle est d'activer la coagulation. L'origine de ce facteur tissulaire peut être humaine, animale ou recombinante. Le Temps de Quick est exprimé en secondes. Un TQ normal se situe entre 11 et 14 secondes.

Pour exprimer le Temps de Quick en Taux de Prothrombine (TP), conversion très spécifique à la France, on reporte le temps de Quick en secondes obtenu pour le plasma testé sur une droite de conversion, dite droite de Thivolle. Le résultat est alors exprimé en pourcentage. Un TP est normalement situé entre 70 et 100 %.

En raison des différentes origines du facteur tissulaire, la sensibilité des thromboplastines aux déficits en facteurs varie. Dans un but d'uniformisation du rendu de résultat, l'INR (*International Normalized Ratio*) a été introduit pour standardiser la mesure du TQ au cours du suivi de patients traités par AVK (5-6). L'INR est calculé selon la formule suivante :

$$\text{INR} = (\text{TQ patient} / \text{TQ témoin})^{\text{ISI}}$$

où l'ISI est l'Indice de Sensibilité International spécifique à chaque réactif. Il est établi par les fabricants par rapport à un standard international fourni par l'Organisation Mondiale de la Santé (5). Chez un patient non traité par AVK, l'INR se situe entre 0,8 et 1,2. Chez les patients traités par AVK, l'intervalle thérapeutique sera défini par le médecin et la pathologie présentée.

La société Stago propose un nouveau réactif, la STA-NeoPTimal pour la mesure du TQ. Thromboplastine d'extraction, la STA-NeoPTimal, disponible en 3 conditionnements (5, 10 et 20 mL) est précalibrée et stable 48 h à bord des automates de la société. Grâce à son ISI très proche de 1, la STA-NeoPTimal répond aux recommandations internationales (6) et bénéficie d'une sensibilité optimale (7) aux déficits en facteurs de la coagulation.

Afin d'évaluer les performances analytiques de ce nouveau réactif, il a été comparé à un réactif couramment utilisé dans le laboratoire, la STA-Neoplastine CI, au cours d'une utilisation quotidienne sur le système STA R Max® (Stago), analyseur de routine du laboratoire.

II - MATERIEL ET METHODES

1. Population

L'étude s'est déroulée entre juin et décembre 2017 et a porté sur 413 patients pour lesquels un bilan préopératoire ou un suivi de traitement par AVK avait été prescrit. Un dosage des taux de facteur II, V, VII et X a été réalisé dans le cadre d'investigation d'une diminution du TP. Tous les dosages ont été réalisés sur les fonds de tube utilisés après la réalisation des analyses prescrites. Aucun prélèvement supplémentaire n'a été effectué dans le cadre de cette étude.

2. Prélèvement

Les prélèvements ont été effectués par ponction veineuse franche. Les échantillons sanguins ont été recueillis sur tubes plastiques de 2,7 mL citraté (BD Vacutainer®) et centrifugés à 2000-2500 g pendant 10 à 15 minutes à 18-22 °C. Les centrifugeuses sont vérifiées métrologiquement (vitesse, temps, température) par un organisme accrédité Cofrac (périodicité annuelle).

3. Réactif

Les réactifs comparés dans le cadre de cette étude sont :

- la STA-Neoplastine CI, réactif utilisé en routine dans le laboratoire (Stago)
- la STA-NeoPTimal (Stago).

Pour ces 2 réactifs, la précalibration a été utilisée. Le temps du 100 % de la précalibration a été ajusté suivant le temps témoin normal défini selon les recommandations du CLSI H47-A2 (8), en reportant la moyenne géométrique d'au moins 20 échantillons frais provenant de sujets adultes sains sans traitement anticoagulant dans l'automate.

Les contrôles de qualité utilisés pour valider le système automate-réactif sont le STA®-Routine QC et le STA®-System N+P de la même société.

L'ISI, nécessaire au calcul de l'INR, a été défini par Stago selon les recommandations de l'OMS. L'ISI a été enregistré automatiquement dans l'instrument lors du passage du code-barres fourni pour chaque réactif.

Les réactifs du coffret STA-NeoPTimal ont été reconstitués selon les recommandations du fournisseur.

Les STA®-Routine QC et les STA®-System N et P ont été reconstitués par 1 mL d'eau distillée et stabilisés 30 minutes à température ambiante avant d'être placés à bord des automates.

4. Analyse des plasmas

Les analyses ont été réalisées sur des automates STA R Max® (Stago, France).

Chaque échantillon a été analysé en parallèle par les 2 méthodes : avec STA-NeoPTimal et avec STA-Neoplastin CI.

5. Procédure d'analyse des résultats

La fidélité intra-essai a été évaluée sur un minimum de 19 valeurs, la fidélité intermédiaire a été évaluée sur une période de 2,5 mois.

Les résultats obtenus à l'aide des 2 réactifs ont été évalués par un test de corrélation de Spearman. L'agrément entre les méthodes a été apprécié par le graphique de Bland et Altman. Une valeur $p < 0,001$ est considérée comme significative (9-10). Une analyse statistique avec le logiciel MedCalc a été effectuée pour déterminer le pourcentage de concordance entre les 2 méthodes et l'impact

clinique. Cet impact est défini comme cliniquement pertinent si une différence supérieure à 0,5 en INR entre les résultats des 2 méthodes entraîne une modification de la dose d'AVK.

La STA-NeoPTimal existe en plusieurs conditionnements, 5, 10 et 20 mL. Afin de nous assurer de la bonne corrélation des résultats entre les différents conditionnements, nous avons comparé les résultats obtenus entre la STA-NeoPTimal 20 et la STA-Neoplastine CI sur un panel de 75 échantillons répartis sur l'ensemble de la gamme de mesure.

Tableau I

Données de répétabilité de la STA-NeoPTimal sur les 2 STA R Max® du laboratoire

**Données du fournisseur selon le GRAAL (Groupe d'Aide à l'Accréditation des Laboratoires)*

	STA R Max® 1				STA R Max® 2			
	TQ (secondes)				TQ (secondes)			
	STA-System control N	STA-System control P	STA-System control N données fournisseur*	STA-System control P données fournisseur*	STA-System control N	STA-System control P	STA-System control N données fournisseur*	STA-System control P données fournisseur*
Nb valeurs	20	19	-	-	20	20	-	-
Moyenne	14,8	28,2	-	-	14,6	29	-	-
Ecart Type	0,09	0,2	-	-	0,1	0,14	-	-
CV %	0,6	0,7	< 1,5	< 2	0,9	0,48	< 1,5	< 2

Tableau II

Données de fidélité intermédiaire des facteurs II, V, VII et X

**Données du fournisseur selon le GRAAL (Groupe d'Aide à l'Accréditation des Laboratoires)*

	Facteur II		Facteur V		Facteur VII		Facteur X	
	STA-System control N	STA-System control P	STA-System control N	STA-System control P	STA-System control N	STA-System control P	STA-System control N	STA-System control P
Moyenne %	104,21	40,47	98,58	32,21	103,74	45,80	99,79	42,42
Ecart type %	7,30	2,46	6,95	2,66	8,98	4,32	5,66	3,20
CV %	7,00	6,07	7,05	8,25	8,66	9,44	5,67	7,55
CV % critères fournisseur*	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15

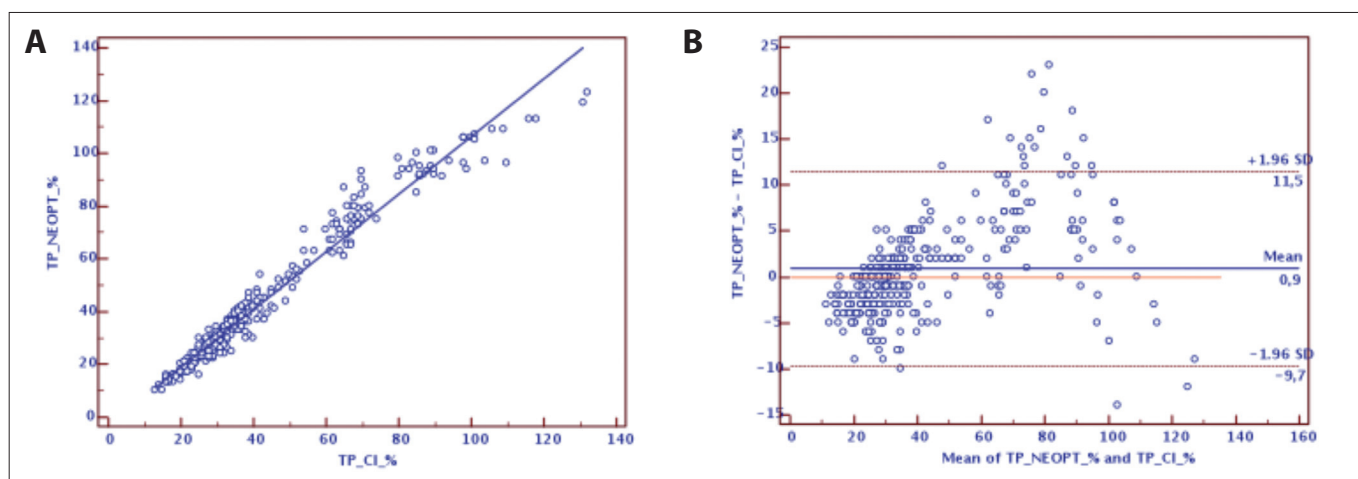


Figure 1
 Comparaison des résultats de mesure du TP entre la STA-NeoPTimal et la STA-Neoplastine : corrélation (A) et agrément (B)

III - RESULTATS

1. Analyse des performances analytiques de la STA-NeoPTimal

Les données de fidélité intra-essai du TQ en secondes, sont présentées dans le tableau I. Les données de fidélité intermédiaire des dosages des facteurs II, V, VII et X, sont présentées dans le tableau II. L'objectif analytique a été le respect des recommandations du référentiel du fournisseur, à savoir le GRAAL (GRoupe d'Aide à l'Accréditation des Laboratoires).

Les données de répétabilité et de fidélité intermédiaire obtenues avec la STA-NeoPTimal sont satisfaisantes.

2. Comparaison des résultats obtenus avec la STA-NeoPTimal et la STA-Neoplastine CI

2.1 Résultats obtenus en TP et en INR

La corrélation des résultats obtenus en TP entre la STA-NeoPTimal et la STA-Neoplastine CI (Figure 1A) est excellente ($r = 0,98$, $STA-NeoPTimal = -3,1661 + 1,0953 STA-Neoplastine CI$, $p < 0,0001$). L'agrément entre ces 2 méthodes, apprécié par le graphique de Bland et Altman est de 95 % (Figure 1B).

La corrélation entre la mesure en INR de patients traités par AVK est elle aussi très satisfaisante (Figure 2). L'agrément entre les 2 méthodes est de 93,4 %. Il n'y a donc aucun impact clinique lors de l'utilisation de la STA-NeoPTimal pour le suivi de patients traités par AVK et dont la zone thérapeutique de l'INR cible se situe entre 2 et 3.

2.2 Résultats obtenus pour le dosage des facteurs exogènes

La corrélation entre la STA-NeoPTimal et la STA-Neoplastine CI pour le dosage du facteur II (Figure 3A) est très satisfaisante ($y = -5,4738 +$

$1,1922 x$, $r = 0,96$, $p < 0,0001$). L'agrément entre les 2 méthodes, apprécié par le graphique de Bland et Altman est de 92,3 %.

La corrélation entre la STA-NeoPTimal et la STA-Neoplastine CI pour le dosage du facteur V (Figure 3B) est excellente ($y = -5,4738 + 1,1922 x$, $r = 0,93$, $p < 0,0001$). L'agrément entre les 2 méthodes, apprécié par le graphique de Bland et Altman est de 94,5 %.

La corrélation entre la STA-NeoPTimal et la STA-Neoplastine CI pour le dosage du facteur VII (Figure 3C) est excellente ($y = -5,6459 + 1,1805 x$, $r = 0,97$, $p < 0,0001$). L'agrément entre les 2 méthodes, apprécié par le graphique de Bland et Altman est de 94,6 %.

Les résultats obtenus entre les 2 méthodes pour le dosage du facteur X montrent une très bonne corrélation :

Figure 2

Comparaison des résultats obtenus chez des patients traités par AVK dont la cible thérapeutique se situe entre 2 et 3

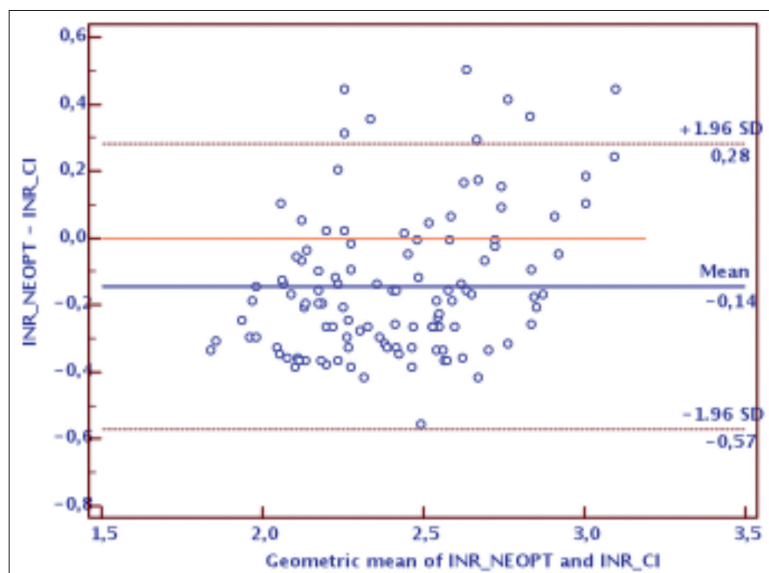


Figure 3

Comparaison des résultats entre la STA-NeoPTimal et la STA-Neoplastine pour le dosage des facteurs exogènes : facteur II (A), facteur V (B), facteur VII (C) et facteur X (D)

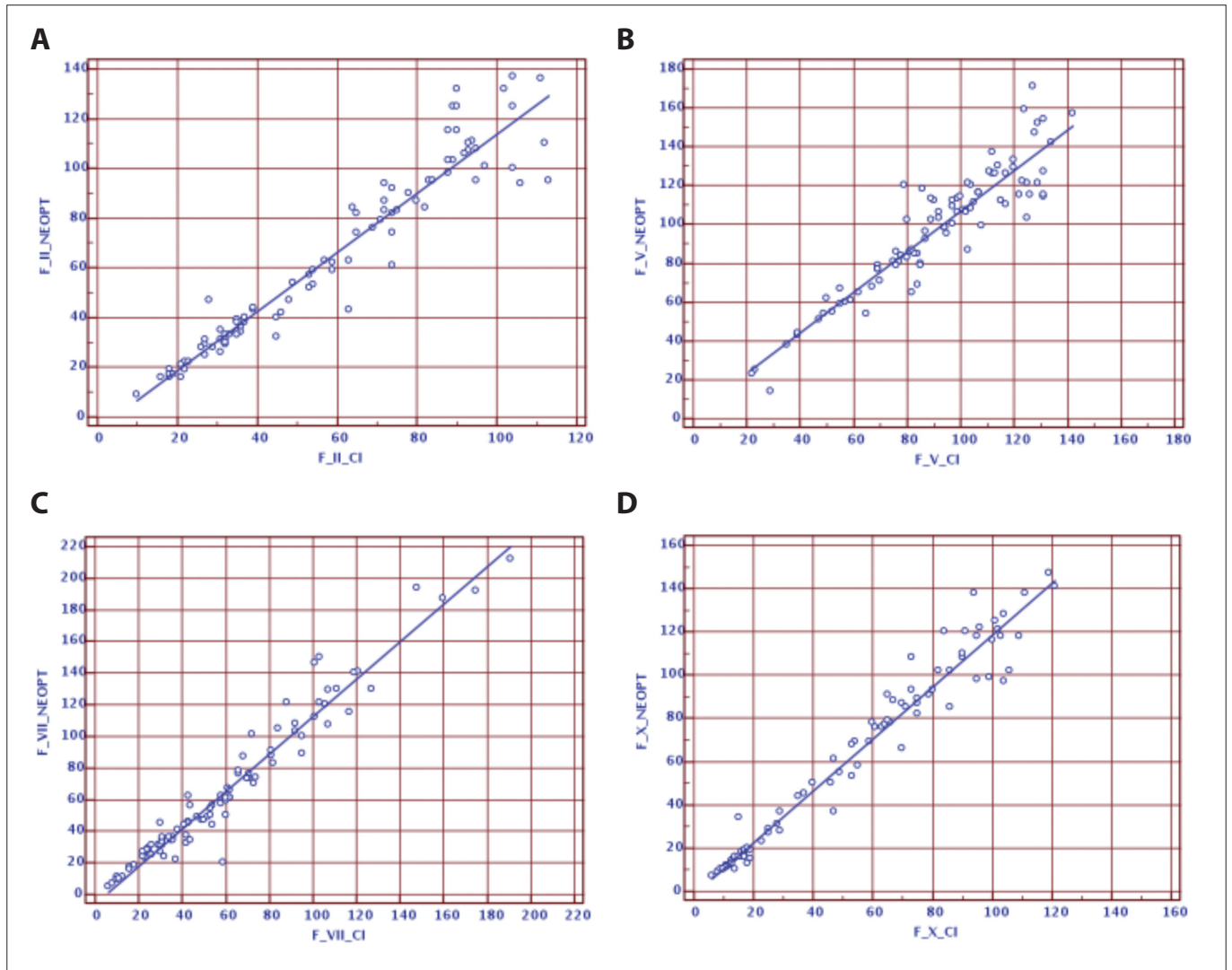
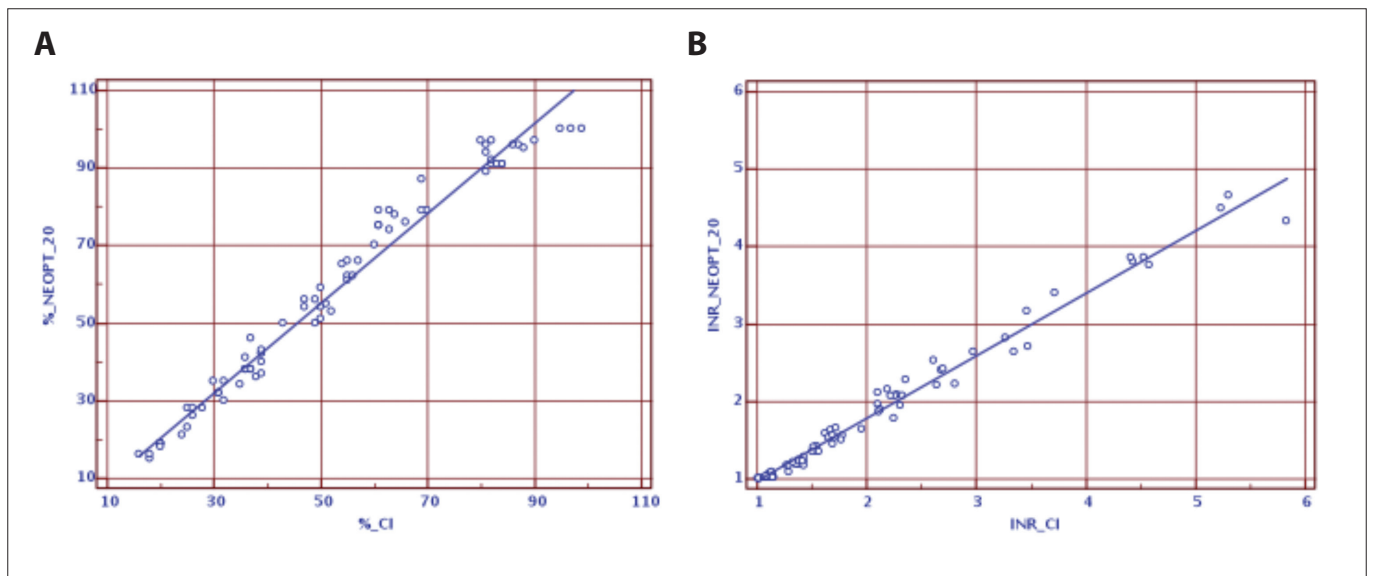


Figure 4

Corrélation des résultats entre la STA-NeoPTimal 20 et la STA-Neoplastine CI en TP (A) et en INR (B)



$y = -1,4067 + 1,1984 x$ ($r = 0,98$, $p < 0,0001$) (Figure 3D) avec 96,5 % des valeurs dans les critères d'acceptation.

2.3 Résultats obtenus sur toute la gamme de mesure

Le panel comprenait 75 échantillons répartis sur l'ensemble de la gamme de dosage. La comparaison des résultats obtenus en TP et en INR avec les 2 méthodes, STA-NeoPTimal 20 et STA-Neoplastine CI montre une excellente corrélation (Figures 4A et 4B). Les coefficients de corrélation sont respectivement de 0,98 et de 0,99. L'agrément entre les 2 méthodes, apprécié par le graphique de Bland et Altman, est respectivement de 96 % pour le dosage en TP (Figure 5A) et de 95 % pour le dosage en INR (Figure 5B).

IV - CONCLUSION

L'évaluation des performances du nouveau réactif STA-NeoPTimal (Stago) réalisée au sein du laboratoire du CH St Joseph, montre d'excellentes performances analytiques.

La comparaison de résultats obtenus entre ce réactif et la méthode utilisée dans le laboratoire, la STA-Neoplastine CI, montre une très bonne équivalence entre les 2 réactifs et une très bonne concordance diagnostique. Que ce soit pour le dosage du TP, de l'INR ou des facteurs extrinsèques, la STA-NeoPTimal montre d'excellentes performances.

Ces résultats sont par ailleurs confirmés avec le conditionnement en 20 mL de la STA-NeoPTimal 20.

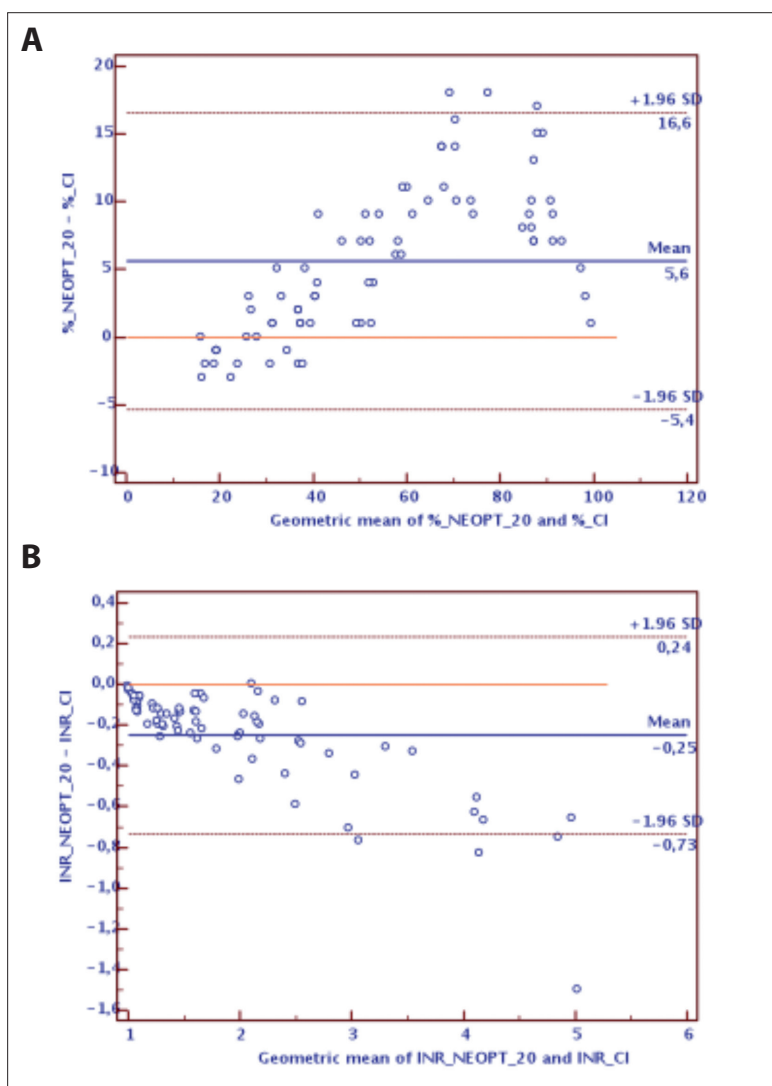
Ce nouveau réactif, disponible en 3 conditionnements (5, 10 et 20 mL) et avec un ISI très proche de 1 permet de répondre à toutes les activités des laboratoires.

RÉFÉRENCES

(1) KAMAL *et al.*, How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults, *Mayo Clin Proc*, 2007, 82:864-873
 (2) TROTTER, Coagulation abnormalities in patients who have liver disease, *Clin Liver Dis*, 2008, 10:665-678
 (3) LUSHER, Screening and diagnosis of coagulation disorders, *Am J Obstet Gynecol*, 1998, 175:778-783
 (4) RILEY *et al.*, Clinical utilization of International normalized ratio (INR), *J Clin Lab Anal*, 2000, 14:101-114
 (5) WHO, Technical Report Series, N°889, 1999
 (6) AGENO *et al.*, Oral anticoagulant therapy, *Chest*, 2012 141(2) suppl:e445-e885

Figure 5

Agrément des résultats obtenus entre la STA-NeoPTimal 20 et la STA-Neoplastine CI en TP (A) et en INR (B)



(7) POLLER, INR: the first 20 years, *JTH*, 2:849-860
 (8) WAYNE, CLSI, One stage Prothrombin Time (PT) test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT); approved guidelines-second edition, *Clinical and laboratory standard institute*, 2008
 (9) GREINER *et al.*, Comparaison de 2 méthodes de mesure d'une même grandeur : méthode de Bland et Altman, *Annales Françaises d'anesthésie et de réanimation*, 2000, 2(19):128-135
 (10) SYLVESTRE, Faire et analyser un graphique de Bland et Altman pour évaluer la concordance entre 2 instruments ou plus, *Service de consultations en biostatistiques du CRCHUM*, janvier 2011, en ligne