



Monomères de fibrine : quel intérêt en Centre Hospitalier ?

Atelier A7

Colloque National des Biologistes des Hôpitaux
Strasbourg 2013

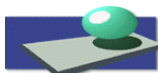
antoine.tournoys@chru-lille.fr

Pôle de Biologie Pathologie Génétique
Service d'Hémostase



Centre Hospitalier Régional
Universitaire de Lille

ACNBH



ODPC N°1495



42^{ème} Colloque National
des Biologistes des Hôpitaux
Strasbourg, 1-4 octobre 2013



DECLARATION D'INTERET DANS LE CADRE DE MISSIONS DE FORMATION REALISEES POUR L'ACNBH

Dr Antoine TOURNOYS

Exerçant au CHU de Lille déclare sur l'honneur

ne pas avoir d'intérêt, direct ou indirect (financier) avec les entreprises pharmaceutiques, du diagnostic ou d'édition de logiciels susceptible de modifier mon jugement ou mes propos, **concernant le DMDIV et le sujet présenté.**

Préambule

Dès qu'un Etablissement de Santé possède

un service d'accueil des urgences,
une réanimation
une maternité
...

Alors son laboratoire doit être en mesure de réaliser un bilan d'hémostase comportant au moins un marqueur d'activation de la coagulation.

Rappels physiologiques

La fibrinogenèse

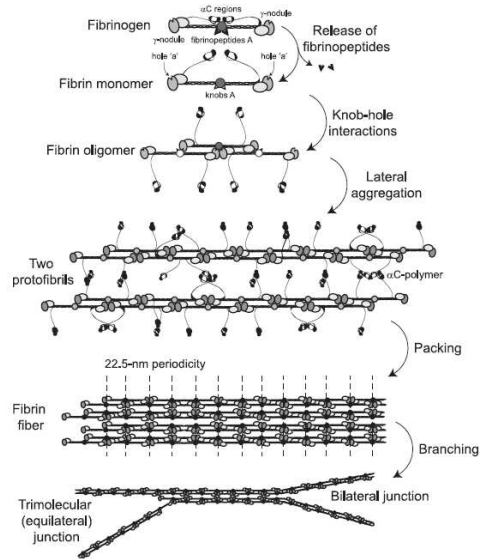
Fibrinogène



« Profibrine »



Fibrine



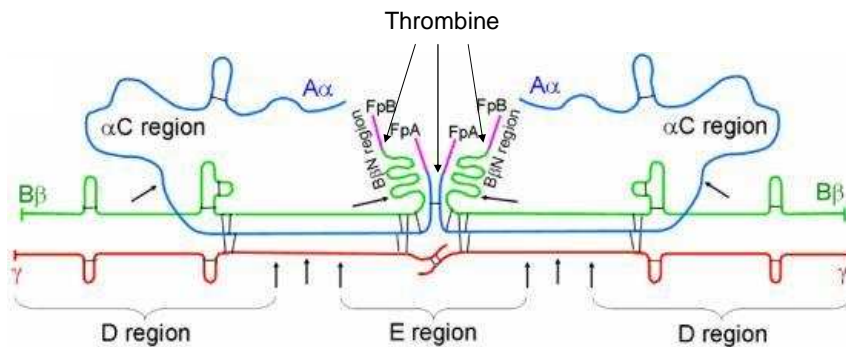
Kurt Apitz 1939

Weisel JW *et al.* 2013

Fibrinogène ($A\alpha_2B\beta_2\gamma_2$)

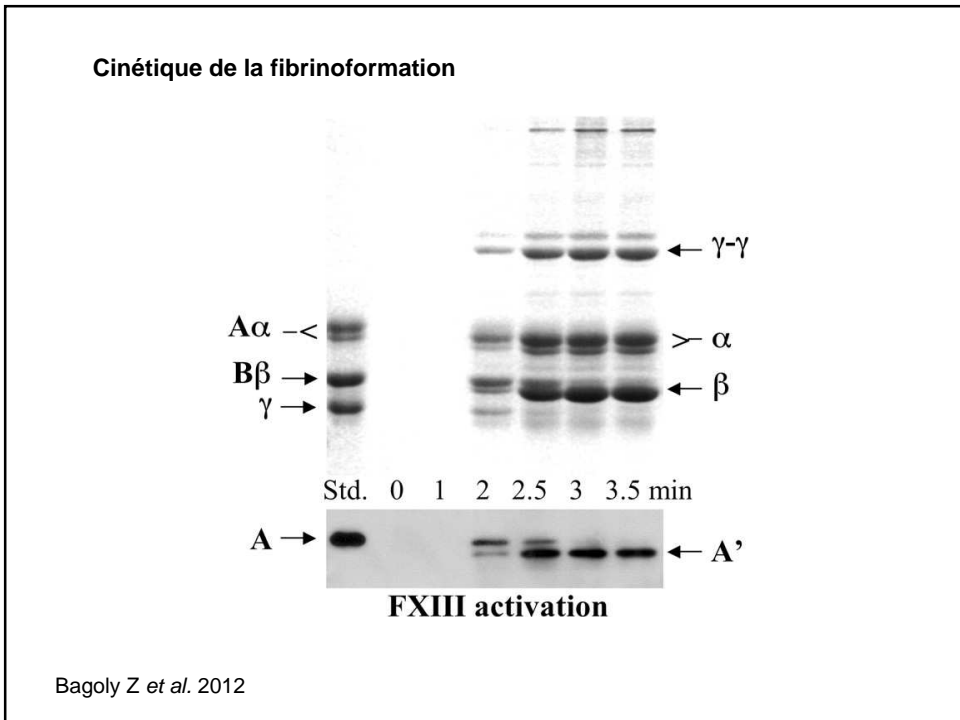
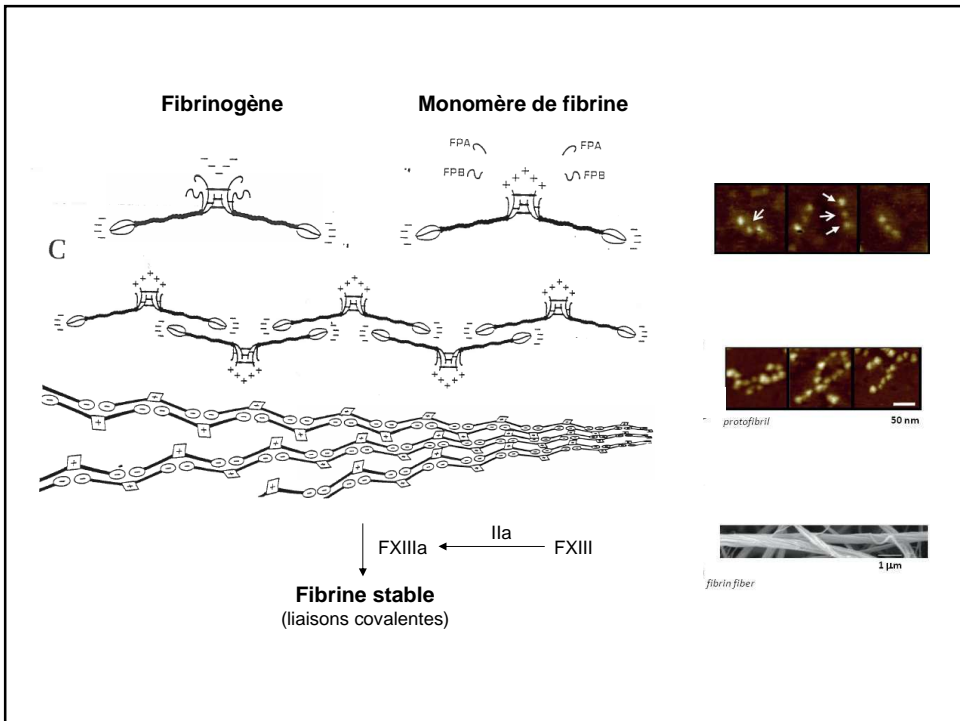


Monomère de fibrine ($\alpha_2\beta_2\gamma_2$)

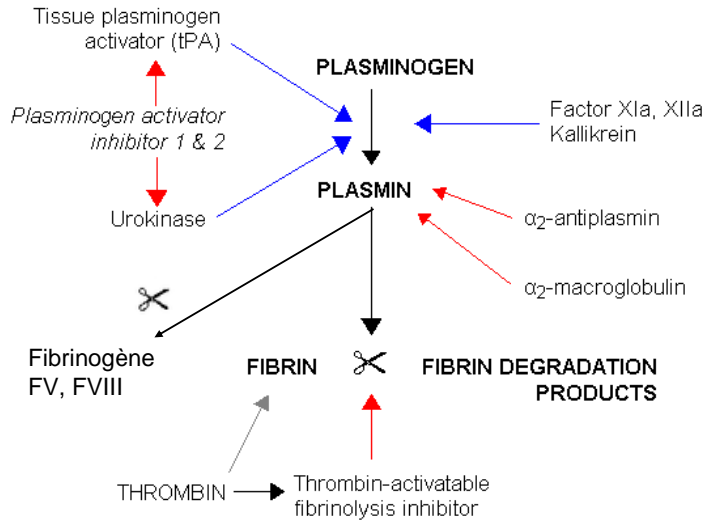


→ Site d'action de la plasmine

Medved L, Weisel JW. J Thromb Haemost 2009



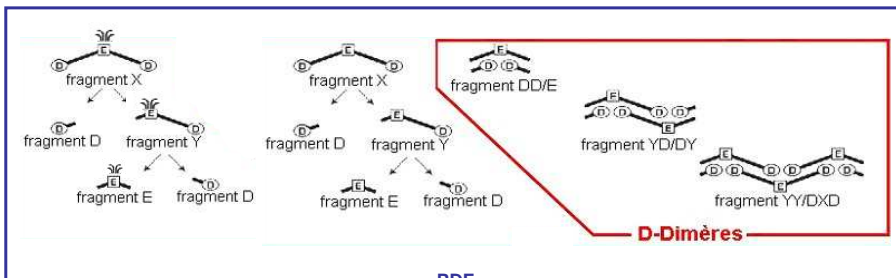
La fibrinolyse



FIBRINOGENE

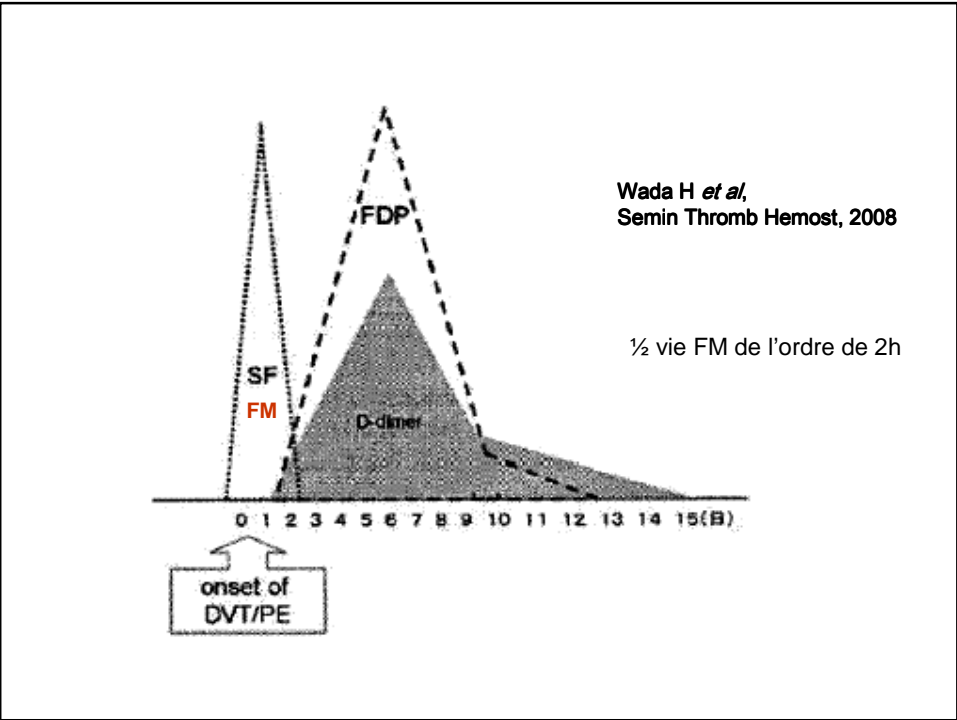


FIBRINE



PDF

- Une hétérogénéité de taille et de composition des fragments
- Une durée de vie des fragments proportionnelle à leur taille
- Un élément commun **D=D** pour caractériser les D-Dimères



Les dosages

Méthodes non immunologiques :

Tests faciles à mettre en œuvre mais
peu sensibles, non automatisés et semi-quantitatifs

- test de gélification en présence d'éthanol
(Godal, 1966)
- test au sulfate de protamine
(Lipinski, 1968)
- test d'agglutination d'hématies sensibilisées
(Largo, 1976) *F.S. Test (Stago)*

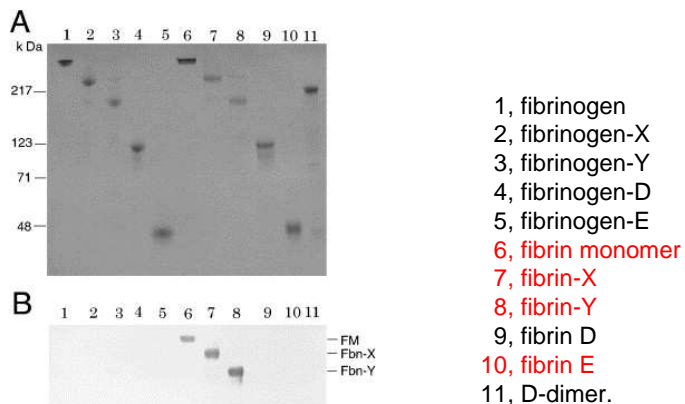
Méthodes immunologiques avec anticorps monoclonaux :

Tests quantitatifs, automatisables et plus sensibles

- type ELISA
- type agglutination particules sensibilisées
(Hamano, 2002) *STA®-Liatest® FM (Stago)*

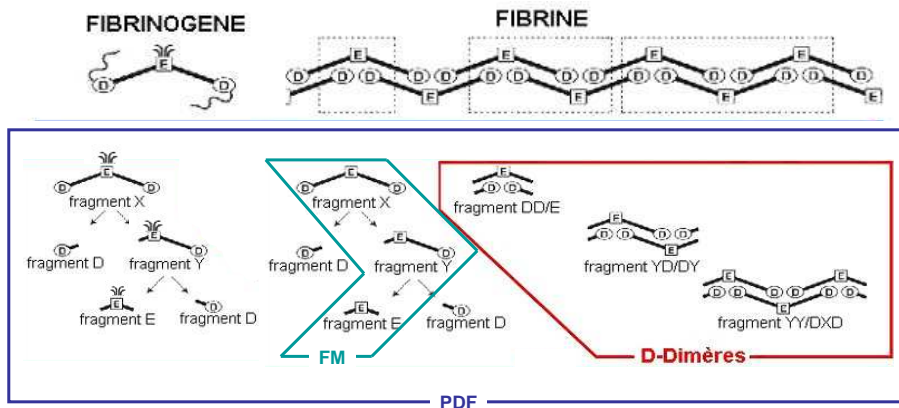
Attention à la spécificité des anticorps

STA®-Liatest® FM : spécificité de l'anticorps



Antigen specificity of **MoAb/F405**. Panels (A) and (B) show the CBB-staining of proteins and the results of immunoblotting after SDS-PAGE under non-reducing conditions, respectively.

STA®-Liatest® FM : spécificité de l'anticorps



- L'épitope de l'anticorps F405 est situé dans la région **N-term de la chaîne α**
- L'anticorps reconnaît certains produits de dégradation de la fibrine (sauf le domaine D)
- L'anticorps reconnaît le monomère de fibrine seul et au sein des complexes solubles

STA®-Liatest® FM : caractéristiques de la méthode

Préanalytique

Méthode plasmatique sur prélèvement citraté
 = *adaptation difficile en biologie délocalisée*

Bonne conservation du paramètre dans le temps sur tube centrifugé ou non

Sensibilité à l'activation lors du prélèvement
 = *interprétation prudente lors des prélèvements difficiles*

Sensibilité au fibrinogène (fibrine) néonatal ?
 = *interprétation prudente chez le NN*

	Nouveau-né	Adulte
I activité (g/L)	1,68 (0,95-2,45)	3 (1,78-4,5)
I Ag (g/L)	2,65 (1,68-3,60)	3,5 (2,50-5,20)

Reverdieu-Moalic, 1997

- Fibrinogène « foetal » défaut de polymérisation
- des résidus d'acide sialique
- Elévation à J5

Andrew, 1987

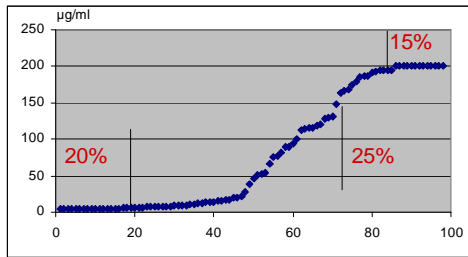
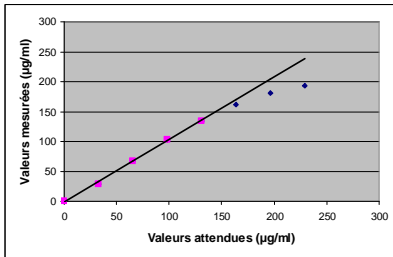
STA®-Liatest® FM : caractéristiques de la méthode

-Analytique

Automatisable sur gamme STA® en lecture turbidimétrique
intérêt potentiel d'adaptation sur d'autres automates?

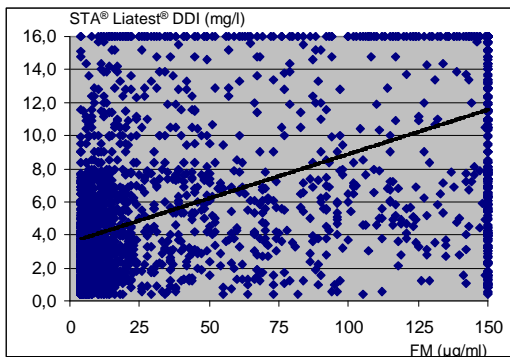
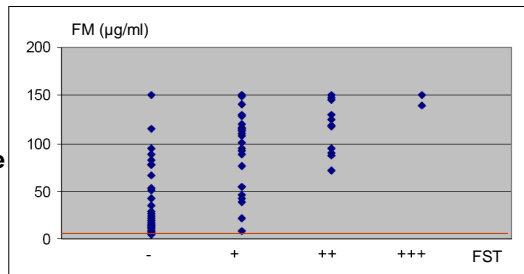
Fidélité intermédiaire satisfaisante (n=20)
contrôle bas CV 5,6% contrôle haut CV 2,4%

Linéarité limitée entre 5 et 150 µg/ml
valeur de référence = seuil détection
pas de dilution



STA®-Liatest® FM : relation avec les autres marqueurs

FM/FST (n=150)
Deux techniques différentes
pour doser un marqueur similaire



FM/DDI (n = 2512)
r = 0.58
Deux techniques similaires pour
doser des marqueurs différents

Score « overt DIC »

1. Risk assessment: does the patient have an underlying disorder known to be associated with overt DIC?

If yes: Proceed.

If no: Do not use this algorithm.

2. Order global coagulation tests (platelet count, prothrombin time, fibrinogen, fibrin-related marker).

3. Score global coagulation test results.

- Platelet count
($> 100 = 0$; $< 100 = 1$; $< 50 = 2$)
- Elevated fibrin related marker (e.g. D-dimers; fibrin degradation products)
(no increase = 0; moderate increase = 2; strong increase = 3)
- Prolonged prothrombin time
($< 3 s = 0$; > 3 but $< 6 s = 1$; $> 6 s = 2$)
- Fibrinogen level
($> 1.0g L^{-1} = 0$; $< 1.0g L^{-1} = 1$)

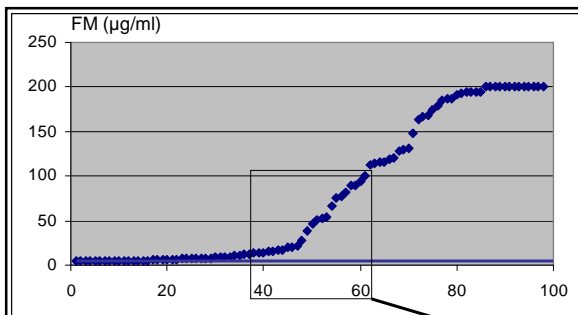


5. Calculate score

If ≥ 5 : compatible with overt DIC: repeat score daily

If < 5 : suggestive (not affirmative) for non-overt DIC: repeat next 1–2 days.

Taylor FB *et al.* 2001



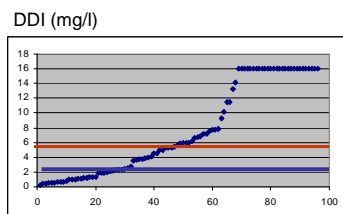
STA®-Liatest® FM :
choix des seuils

Approche par les percentiles

Gris JC *et al.*, 2011

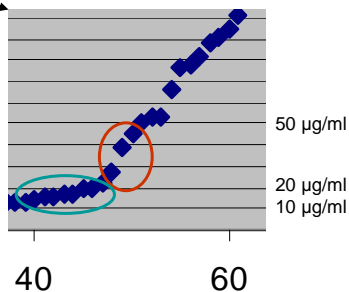
seuil 3 points ?

6 µg/ml = 2 points



6 mg/l = 3 points

2 mg/l = 2 points

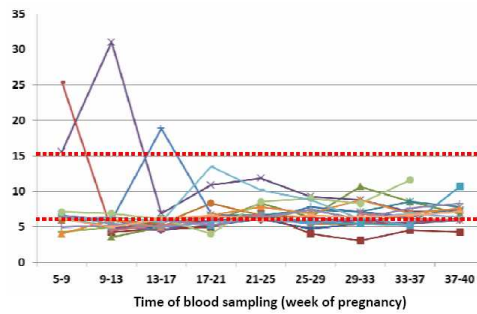


STA@-Liatest® FM : interprétation médicale

- Post analytique

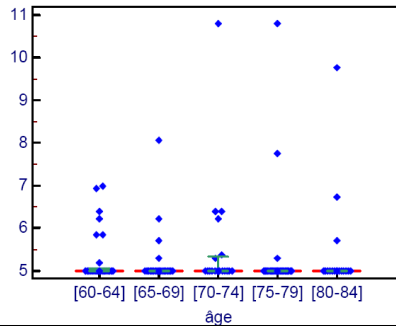
Peu de modification
pendant la grossesse

Kristoffersen *et al.*
Poster ISTH 2013



Pas de modification
chez le sujet âgé

Raobison *et al.*
Poster CNBH 2012



STA@-Liatest® FM et accréditation

- Examen « innovant » hors Nomenclature
(présent au référentiel Montpellier E152 BHN 30)

- Validation médicale en cours

- Pas d'évaluation clinique et médico-éco par la Haute Autorité de Santé

➔ **Donc, à ce jour, accréditation non obligatoire (loi du 30 mai 2013)**

- Par contre si l'examen est soumis à l'accréditation, il faudra prévoir la mise en place d'un contrôle externe interlaboratoire (pas d'EEQ commerciale)

Intérêts cliniques

1- diagnostic et suivi des CIVD

Situations cliniques	Incidence %
Infections	
• Purpura fulminans à méningocoque et pneumocoque	90-100
• Choc septique évolué	70
• Fièvres hémorragique virales	Rare à constante
• Parasitaires : Accès pernicieux à Plasmodium falciparum	Rare
• Infections fongiques	?
Domages tissulaires	
• Traumatismes étendus	> 60 ?
• Embolie graisseuse	?
• Brûlures étendues	?
Causes obstétricales	
• Pré-éclampsie	5
• Eclampsie et HELLP syndrome	5-8
• Hématome rétro-placentaire	60
• Embolie amniotique	100 ?
• Stéatose hépatique aiguë gravidique	Rare
• Mort foetale et rétention du foetus in utero	Fréquente
• Hémorragies graves du péripartum	?
Néoplasies	
• Leucémie aiguë promyélocytaire (LAM3)	60
• Leucémie aiguë lymphoblastique (au diagnostic)	10
• Tumeurs solides : prostate, poumon, ovaire, sein, intestin	2
Troubles de la régulation thermique	
• Hypothermie	?
• Hyperthermies malignes	100 ?
Pathologies vasculaires	
• Anévrismes des gros vaisseaux (aorte)	0,5
Divers	
• Insuffisance hépatique aiguë	?
• Morsures de serpents	?
• Syndrome hémophagocytaire	?
• Pancréatite aiguë nécrosante	?
• Hémolyses intravasculaires aiguës	?

Etiologie des CIVD :
Grande diversité clinique

Les éléments de diversité : la physiopathologie sous-jacente

1- Les CIVD « de lésion » : relargage de FT

- degré d'extension des lésions
- richesse de l'organe en facteur tissulaire
- cinétique de libération de FT

Exemple type : trauma crânien, embolie amniotique...

2- Les CIVD « de déplétion » : ischémie-reperfusion

- intensité hémorragie (\pm choc)
- intensité ischémie (libération FT)
- transfusions massives (déséquilibre GR/PFC)

Exemple type : H post-partum, trauma hémorragique...

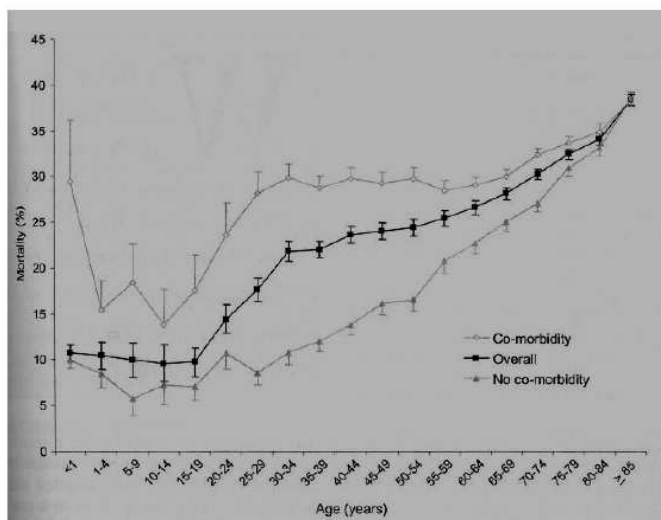
3- Les CIVD « d'inflammation » : libération de cytokines

- intensité libération et production des médiateurs
- intensité de l'atteinte endothéliale
- rôle anti-inflammatoire des inhibiteurs de la coagulation
- rôle amplificateur de la thrombine

Exemple type : sepsis

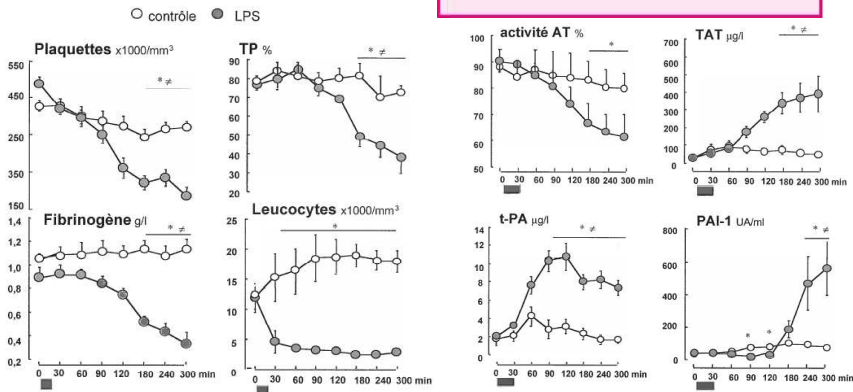
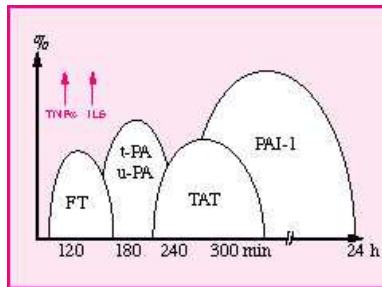
Les éléments de diversité : âge, comorbidités...

Mortalité des syndromes septiques graves



La CIVD septique : cinétique d'activation de l'hémostase (choc expérimental)

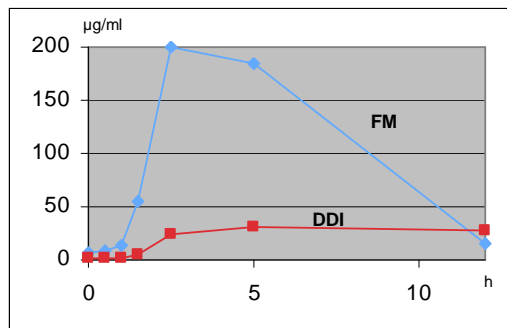
Fourrier F, Jourdain M, Tournoy A.



Cinétique des marqueurs de production de fibrine lors d'un choc septique

expérimental →

clinique ↓



	Entrée	6h	24h	48h
FM (µg/ml)	105	>150	>150	39
DDI (mg/l)	3	20	20	13

- FM plus spécifique = reflet direct de l'activation de la coagulation
- FM plus précoce = avantage mineur pour le diagnostic (VPP +)
- FM ½ vie courte = avantage majeur pour suivre l'efficacité thérapeutique (VPN+++)

Cinétique des marqueurs de production de fibrine lors d'un hématome rétro-placentaire

césarienne

	entrée	T6h	T9h	T18h	T24h	T48H
NP 10.9/l	133	49	44	43	53	72
TP%	27	50	62	77	80	89
FII%	70	48	51	62	74	87
FV%	43	23	37	113	120	173
Fib g/l	0,3	0,9	1,5	2,8	3,6	5,2
FM µg/ml	104	154	172	185	176	<5
DDI µg/ml	>500	192	100	26	18	5,4
Lyse (T>120')	45'					

CIVD/fibrinolyse

Fibrinogenolyse +++

CIVD

Rem : Inactivation du FV (et du FVIII) par la plasmine (Kalafatis M *et al.* 2001)

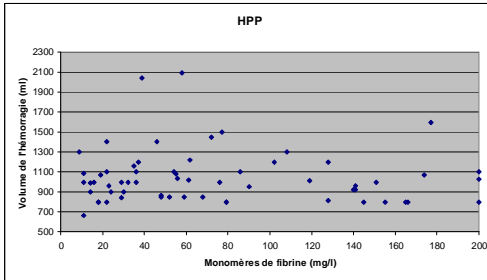
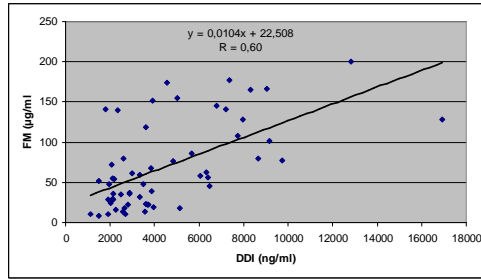
Défaut de spécificité du dosage des DDI en présence de fortes quantités de PDF

Intérêts cliniques

2- Autres applications

FM et hémorragie du post-partum (données personnelles)

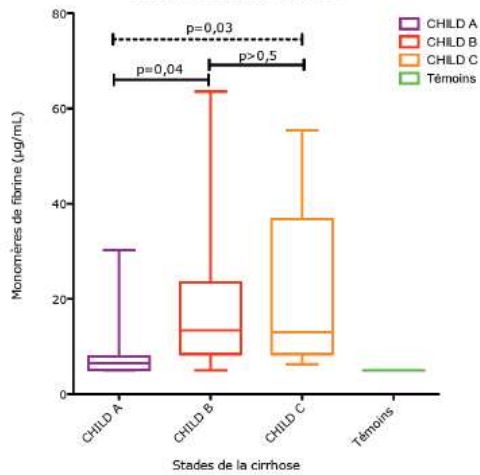
Une corrélation FM/ DDI proche
de celle de l'activité générale



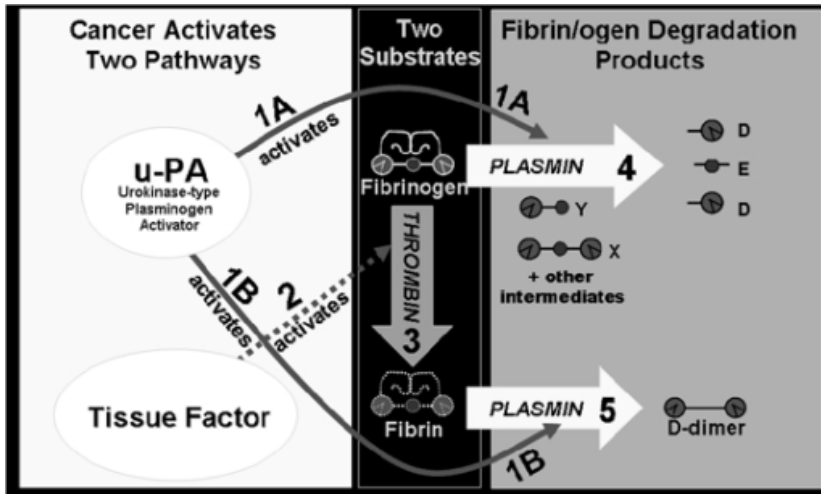
Absence de relation entre FM
et volume de l'hémorragie

FM et cirrhose

Répartition des valeurs des monomères de fibrine
selon le stade de la cirrhose

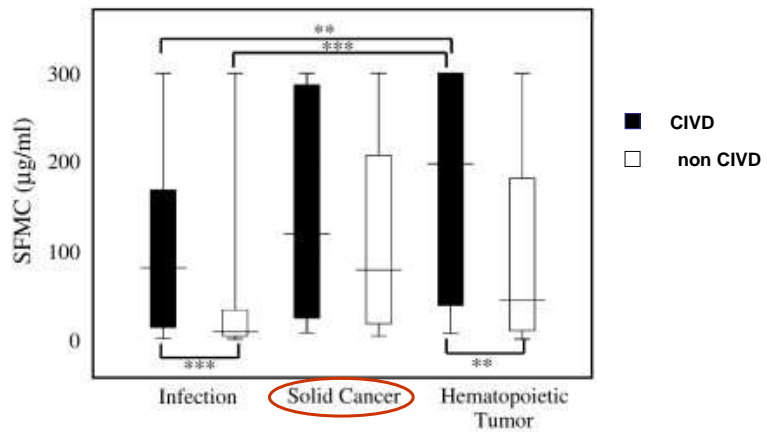


FM et cancer



Small-Howard AL *et al.* 2010

FM et cancer



Kawasugi K *et al.* 2011

FM et diagnostic de thrombose

Inconvénients par rapport aux DDI

½ vie courte
seuil de détection trop haut

Intérêt médical potentiel

Situations cliniques avec seuil d'exclusion DDI non applicable
(NN, grossesse, sujet âgé...)

	Age		
	Day 1	Day 3	1 month - 1 year
D-Dimers (µg/ml)	1.47* (0.41-2.47)	1.34* (0.58-2.74)	0.22 (0.11-0.42)
	N=20 (10F / 10M)	N=23 (12F / 11M)	N=20 (7F / 13M)

NOTE: Andrew et al results shown for day 3 are actually day 5 results. M = males, F = females

→ A évaluer en diagnostic positif avec un seuil de détection plus faible

Conclusion

- Le dosage des monomères de fibrine présente un intérêt majeur dans **le diagnostic et surtout le suivi des CIVD aigües**
- L'association avec le dosage des D-dimères permet une analyse physiopathologique et cinétique plus fine
- Les autres applications demandent une évaluation clinico-biologique