



HAL
open science

Thrombopénie induite par l'héparine de type 2: bases biologiques et diagnostiques, étude rétrospective des modalités diagnostiques et thérapeutiques, et évaluation d'un nouveau kit de diagnostic fonctionnel

Marie Haddad

► To cite this version:

Marie Haddad. Thrombopénie induite par l'héparine de type 2: bases biologiques et diagnostiques, étude rétrospective des modalités diagnostiques et thérapeutiques, et évaluation d'un nouveau kit de diagnostic fonctionnel. Sciences pharmaceutiques. 2020. dumas-02972285

HAL Id: dumas-02972285

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02972285>

Submitted on 20 Oct 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter la page de DUMAS présentant le document. Si l'auteur l'a autorisé, son adresse mail apparaîtra lorsque vous cliquerez sur le bouton « Détails » (à droite du nom).

Dans le cas contraire, vous pouvez consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine Pharmacie de Grenoble :

bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

Année : 2020

Thrombopénie induite par l'héparine de type 2 : bases biologiques et diagnostiques, étude rétrospective des modalités diagnostiques et thérapeutiques, et évaluation d'un nouveau kit de diagnostic fonctionnel.

THÈSE
PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
DIPLOME D'ÉTAT

Marie HADDAD

[Données à caractère personnel]

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE
GRENOBLE

Le : 08/09/2020

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE

Professeur Pierre ALBALADEJO
Docteur Etienne BRUDIEU
Docteur Raphaël MARLU (Directeur de thèse)
Professeur Pascal MOSSUZ (Président du Jury)
Professeur Gilles PERNOD
Professeur Benoit POLACK

L'UFR de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

Doyen de la Faculté : **M. le Pr. Michel SEVE**

Vice-doyen et Directrice des Etudes :
Mme Christine DEMEILLIERS

Année 2020 - 2021

ENSEIGNANTS – CHERCHEURS

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE
MCF	ALDEBERT	DELPHINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheREx
PU-PH	ALLENET	BENOIT	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheMAS
PU	BAKRI	ABDELAZIZ	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
MAST	BARDET	JEAN-DIDIER	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheMAS
MCF	BATANDIER	CECILE	LBFA – INSERM U1055
PU-PH	BEDOUC	PIERRICK	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheMAS
MCF	BELAIDI-CORSAT	ELISE	HP2, Inserm U1042
MAST	BELLET	BEATRICE	-
MCF	BOUCHERLE	BENJAMIN	DPM - UMR 5063 CNRS
PU	BOUMENDJEL	AHCENE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	BOURGOIN	SANDRINE	LAB – CRI INSERM U823
MCF	BRETON	JEAN	LCIB – UMR E3 CEA
MCF	BRIANCON-MARJOLLET	ANNE	HP2 – INSERM U1042
PU	BURMEISTER	WILHEM	UVHCI- UMI 3265 EMBL CNRS
MCU-PH	BUSSER	BENOIT	Institute for Advanced Biosciences, UGA / Inserm U 1209 / CNRS 5309
Professeur Emérite	CALOP	JEAN	
MCF	CAVAILLES	PIERRE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
MCU-PH	CHANOINE	SEBASTIEN	CR UGA - INSERM U1209 - CNRS 5309
MCF	CHOISNARD	LUC	DPM – UMR 5063 CNRS
MCU-PH	CHOVELON	BENOIT	DPM – UMR 5063 CNRS
PU-PH	CORNET	MURIEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheREx
Professeur Emérite	DANEL	VINCENT	-
PU	DECOUT	JEAN-LUC	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF Emérite	DELETRAZ-DELPORTE	MARTINE	LPSS – EAM 4129 LYON
MCF	DEMEILLERS	CHRISTINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
PU-PH	DROUET	CHRISTIAN	GREPI EA7408
PU	DROUET	EMMANUEL	IBS – UMR 5075 CEA CNRS HIV & virus persistants Institut de Biologie Structurale
MCF	DURMORT	CLAIRE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
PU-PH	FAURE	PATRICE	HP2 – INSERM U1042

Mise à jour le 14/09/2020

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE
MCF	FAURE-JOYEUX	MARIE	HP2 – INSERM U1042
PRCE	FITE	ANDREE	-
MCU-PH	GARNAUD	CECILE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX
PRAG	GAUCHARD	PIERRE-ALEXIS	-
MCU-PH	GERMI	RAPHAELE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS HIV & virus persistants Institut de Biologie Structurale
MCF	GEZE	ANNABELLE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF Emérite	GILLY	CATHERINE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	GODIN-RIBUOT	DIANE	HP2 – INSERM U1042
Professeure Emérite	GRILLOT	RENEE	-
MCF Emérite	GROSSET	CATHERINE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	GUIEU	VALERIE	DPM – UMR 5063 CNRS
AHU	HENNEBIQUE	AURELIE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX
MCF	HININGER-FAVIER	ISABELLE	LBFA – INSERM U1055
MCF	KHALEF	NAWEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
MCF	KOTZKI	SYLVAIN	HP2 – UMR S1042
MCF	KRIVOBOK	SERGE	DPM – UMR 5063 CNRS
AHU	LEENHARDT	JULIEN	INSERM – U1039
PU	LENORMAND	JEAN-LUC	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX
PU	MARTIN	DONALD	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
PRCE	MATTHYS	LAURENCE	-
CDD	MAZET	ROSELINE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	MELO DI LIMA	CHRISTELLE	LECA – UMR CNRS 5553
AHU	MINOVES	MELANIE	HP2 – INSERM U1042
PU	MOINARD	CHRISTOPHE	LBFA - INSERM U1055
PU-PH	MOSSUZ	PASCAL	IAB – INSERM U1209
MCF	MOUHAMADOU	BELLO	LECA – UMR 5553 CNRS
MCF	NICOLLE	EDWIGE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	OUKACINE	FARID	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	PERES	BASILE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	PEUCHMAUR	MARINE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	PEYRIN	ERIC	DPM – UMR 5063 CNRS
AHU	PLUCHART	HELENE	TIMC-IMAG – UMR 5525 CNRS, THEMAS
PU	RACHIDI	WALID	LCIB – UMR E3 CEA
MCF	RAVELET	CORINNE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	RIBUOT	CHRISTOPHE	HP2 – INSERM U1042
PAST	RIEU	ISABELLE	-
Professeure Emérite	ROUSSEL	ANNE-MARIE	-

Mise à jour le 14/09/2020

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE
PU-PH	SEVE	MICHEL	LBFA – INSERM U1055
MCF	SOUARD	FLORENCE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	SPANO	MONIQUE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
MCF	TARBOURIECH	NICOLAS	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
MCF	VANHAVERBEKE	CECILE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	WARTHER	DAVID	DPM – UMR 5063 CNRS
PU Emerite	WOUESSIDDJEW	DENIS	DPM – UMR 5063 CNRS

AHU : Assistant Hospitalo-Universitaire
 ATER : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches
 BCI : Biologie du Cancer et de l'Infection
 CHU : Centre Hospitalier Universitaire
 CIB : Centre d'Innovation en Biologie
 CRI : Centre de Recherche INSERM
 CNRS : Centre National de Recherche Scientifique
 DCE : Doctorants Contractuels Enseignement
 DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire
 HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire
 IAB : Institute for Advanced Biosciences
 IBS : Institut de Biologie Structurale
 LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes
 LBFA : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée
 LCBM : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux
 LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie
 LECA : Laboratoire d'Ecologie Alpine
 LPSS : Laboratoire Parcours Santé Systémique
 LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques
 MAST : Maitre de Conférences Associé à Temps Partiel
 MCF : Maitre de Conférences des Universités
 MCU-PH : Maitre de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers
 PAST : Professeur Associé à Temps Partiel
 PRAG : Professeur Agrégé
 PRCE : Professeur certifié affecté dans l'enseignement
 PU : Professeur des Universités
 PU-PH : Professeur des Universités et Praticiens Hospitaliers
 SyMMES : Systèmes Moléculaires et nanoMatériaux pour l'Energie et la Santé
 TIMC-IMAG : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation
 UMR: Unité Mixte de Recherche
 UVHCI: Unit of Virus Host Cell Interactions

Mise à jour le 14/09/2020

Remerciements,

A mon président de thèse, le Professeur Pascal MOSSUZ,

Pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse.

A mon directeur de thèse, le Docteur Raphaël MARLU,

Je vous remercie d'avoir accepté de diriger ma thèse. Merci pour votre aide, vos conseils, votre disponibilité, pour le temps passé aux relectures et corrections et pour votre soutien tout au long de ce travail. Cela a été pour moi un plaisir et un honneur de travailler avec vous.

A mes juges, le Professeur Pierre ALBALADEJO, le Docteur Etienne BRUDIEU, le Professeur Gilles PERNOD et le Professeur Benoit POLACK,

Pour avoir aimablement accepté de participer à ce jury de thèse. Soyez assurés de l'honneur que vous me faites.

A Maryvonne, Mélissa, Landry et Sylvie,

Merci pour votre précieuse aide pour la partie expérimentale de ma thèse, pour le temps que vous m'avez consacré et surtout pour votre bonne humeur.

Remerciements personnels,

A mes parents,

Vous êtes mon moteur depuis toujours, merci pour votre soutien sans faille, votre optimisme sans limite, votre patience, notre complicité et pour tous les sacrifices que vous faites pour mes sœurs et moi. Vous êtes des parents exceptionnels, ce travail est pour vous.

A mes sœurs,

***Laurie**, merci pour notre complicité de « nuche » j'espère qu'elle durera toujours, je serai toujours là pour toi, je suis fière de toi.*

***Stéphanie**, pour tous les bons moments que l'on passe ensemble, « nos chamailleries » et tes théories toutes plus farfelues les unes que les autres.*

***Nathalie**, merci pour l'énergie que tu mets dans ces bons moments que tu nous invites très régulièrement à partager. Merci d'avoir agrandi notre famille avec un super beau-frère **Pierre-Alex** et les deux terreurs **Antoine et Margot**.*

A mon mari, Corentin,

A cette merveilleuse vie que l'on construit, à notre complicité et ce bonheur infini.

A mes précieux amis,

Lucile, Sandy, Ramzi, Marie, Clarisse, Joséphine, Pauline, Manon, Léa, Michella, Maeva, Lara. A tous les supers moments que l'on passe ensemble !

Table des matières

Table des matières

Liste des tableaux et figures	8
Liste des abréviations	11
Introduction	13
Partie 1 : Bases biologiques et diagnostiques de la TIH de type 2	15
1. Définition	16
2. Épidémiologie	16
3. Physiopathologie	18
3.1. Le Facteur 4 Plaquettaire (PF4)	19
3.2. L'héparine	19
3.3. La formation des complexes ultralarges PF4/héparine immunogéniques	20
3.4. Séroconversion	21
3.5. Activation multicellulaire.....	21
4. Les différentes étapes de la TIH	26
5. Diagnostic	27
5.1. Les signes évocateurs d'une TIH.....	28
5.1.1. Thrombopénie.....	28
5.1.2. Délai de survenue de la thrombopénie.....	29
5.1.3. Thromboses et autres complications.....	30
5.2. Les scores cliniques pré-test.....	31
5.2.1. Score 4T.....	31
5.2.2. HEP score	34
5.2.3. Score de Lillo-Le-Louët	35
5.3. Les tests immunologiques	37
5.3.1. Dosages immuno-enzymatiques (ELISA).....	38
5.3.2. Les tests de dépistage rapides (anticorps anti-PF4).....	41
5.3.2.1. Le test d'agglutination sur gel ID-PaGIA® Heparin/PF4 Antibody Test (Biorad).....	42
5.3.2.2. Le test immunochromatographique à flux latéral STic Expert® HIT (Stago).....	44
5.3.2.3. L'immunofiltration de particules PIFA® Heparin/PF4 Rapid Assay (Akers Biosciences).....	45
5.3.2.4. La chimiluminescence IgG spécifique ou poly-spécifique HemosIL® AcuStar HIT-IgG et HIT-Ab (Werfen)	47
5.3.2.5. Le test d'agglutination au latex HemosIL® HIT-Ab (Werfen)	48
5.4. Les tests fonctionnels d'activation plaquettaire	49
5.4.1. Les tests de libération de la sérotonine	50
5.4.1.1. Le SRA (Test de libération de la sérotonine radiomarquée)	50
5.4.1.2. Tests dérivés du SRA	51
5.4.2. Tests basés sur la mesure de l'agrégation plaquettaire.....	53
5.4.2.1. Le test HIPA	53
5.4.2.2. Le Test d'agrégation plaquettaire en présence d'héparine (TAPH)	56
5.4.2.3. L'agrégométrie à électrodes multiples induite par l'héparine (HIMEA)	56
5.4.3. Autres tests	57

5.4.3.1. Mesure de l'expression des glycoprotéines plaquettaires membranaires.....	57
5.4.3.2. Mesure de la génération de microparticules plaquettaires.....	58
5.4.3.3. Evaluation de l'activité pro-coagulante des plaquettes	58
5.4.3.4. Lumiagrégométrie (ATP Release).....	58
5.4.3.5. Mesure du clivage des récepteurs Fc γ R1a.....	59
5.4.4. Remarques générales sur les tests fonctionnels.....	61
5.5. Algorithmes diagnostiques.....	61
5.5.1. Comparaison des différentes recommandations concernant le diagnostic de la TIH	61
5.5.2. Algorithme du CHUGA	64
6. Surveillance de la numération plaquettaire.....	65
7. Traitements anticoagulants	66
7.1. Phase aigüe de la TIH.....	66
7.1.1. La danaparoïde sodique (Orgaran®)	68
7.1.2. L'argatroban (Arganova®)	70
7.1.3. La bivalirudine.....	73
7.1.4. Le fondaparinux (Arixtra®).....	74
7.1.5. Les anticoagulants oraux directs (AOD)	75
7.1.6. Remarques.....	76
7.2. En cas d'antécédent de TIH	77
Partie 2 : Étude rétrospective des modalités diagnostiques et thérapeutiques dans le cadre d'une suspicion de TIH ou de TIH confirmée	79
1. Introduction/Objectifs.....	80
2. Matériel et Méthode	80
2.1. Population de patients	80
2.2. Diagnostic de la TIH de type 2 au laboratoire	82
3. Résultats.....	83
3.1. Population suspectée de TIH.....	83
3.1.1. Données démographiques.....	83
3.1.2. Services prescripteurs.....	83
3.1.3. Morbidité principale des patients suspects de TIH.....	84
3.1.4. Caractéristiques des traitements hépariniques (type, indication et durée).....	85
3.1.5. Numération plaquettaire	87
3.1.6. Score 4T	88
3.1.7. Résultats des tests immunologiques	89
3.1.8. Résultats du test fonctionnel (TAPH).....	92
3.1.9. Données thérapeutiques	94
3.1.9.1. Traitement au jour de prescription du test.....	94
3.1.9.2. Traitement par danaparoïde	95
3.1.9.3. Traitement par argatroban	96
3.1.9.4. Traitement par fondaparinux	98
3.2. Patients avec une TIH confirmée (TAPH positif).....	98
3.2.1. Données démographiques	98
3.2.2. Services prescripteurs	98
3.2.3. Morbidité principale des patients atteints de TIH	99
3.2.4. Caractéristiques des traitements hépariniques (type, indication et durée).....	100
3.2.5. Numération plaquettaire	101

3.2.6. Score 4T.....	102
3.2.7. Résultats des tests immunologiques.....	103
3.2.8. Données thérapeutiques.....	104
3.2.8.1. Traitement au jour de prescription du test.....	104
3.2.8.2. Traitement par danaparoïde.....	106
3.2.8.3. Traitement par argatroban.....	107
3.2.8.4. Traitement par fondaparinux.....	109
4. Discussion.....	110
5. Conclusion.....	114
6. Tableau récapitulatif.....	116
<i>Partie 3 : Evaluation d'un nouveau kit de diagnostic fonctionnel : test HIT Confirm®</i>	
<i>(Emosis).....</i>	122
1. Introduction.....	123
2. Objectif.....	124
3. Matériel et Méthode :	124
3.1. Population étudiée.....	124
3.2. Préparation des échantillons à tester.....	124
4. Analyse et interprétation des résultats	126
4.1. Analyse.....	126
4.2. Interprétation.....	129
4.3. Résultats.....	131
5. Discussion.....	134
6. Conclusion.....	136
<i>Bibliographie.....</i>	138
<i>Annexes.....</i>	147
<i>RÉSUMÉ :.....</i>	149

Liste des tableaux et figures

Liste des tableaux

Tableau 1 : Niveaux de risque de TIH selon le contexte et le type d'héparine administré	18
Tableau 2 : Description de la TIH en cinq phases	26
Tableau 3 : Score 4T	31
Tableau 4 : le HEP Score	34
Tableau 5 : Score de Lillo-Le-Louët	36
Tableau 6 : Tests ELISA disponibles sur le marché.....	38
Tableau 7 : Tableau récapitulatif des tests fonctionnels	60
Tableau 8 : Comparaison des recommandations du BJH 2012, de l'ASH 2018 et du GIHP/GFHT 2019 concernant le diagnostic clinico-biologique et la posologie de l'anticoagulant	63
Tableau 9 : Danaparoiïde : synthèse des recommandations concernant la durée de traitement et la posologie en cas de traitement prophylactique	68
Tableau 10 : Danaparoiïde : synthèse des recommandations concernant la durée de traitement et la posologie en cas de traitement curatif.....	69
Tableau 11 : Argatroban : synthèse des recommandations concernant la durée de traitement, la posologie et la surveillance biologique	72
Tableau 12 : Tableau d'ajustement de la posologie d'argatroban selon les scores APACHE-II, SOFA-II et SAPS-II.....	73
Tableau 13 : Synthèse des recommandations de l'ASH et du GIHP/GFHT concernant le traitement de la TIH ou d'un événement thromboembolique en cas d'antécédents de TIH en fonction du contexte clinique	78
Tableau 14 : Caractéristiques des patients présentant un TAPH positif.....	116
Tableau 15 : Caractéristiques des traitements chez les patients avec un TAPH positif.....	119
Tableau 16 : Résumé et comparaison des résultats du test HIT Confirm® et TAPH	131
Tableau 17 : Résultats comparatifs des %HEPLA obtenus immédiatement et 2 heures suivant l'immunomarquage	134

Liste des figures

Figure 1 : Représentation de l'équilibre stœchiométrique nécessaire à la formation des ULC	20
Figure 2 : Physiopathologie des thrombopénies induites par l'héparine	22
Figure 3 : Voie de signalisation du récepteur Fc γ R1la	23
Figure 4 : Représentation schématique de l'interaction des IgG de la TIH et des sous-classes d'IgG normales en fonction du polymorphisme du Fc γ R1la	25
Figure 5 : Exemples d'évolution de la numération plaquettaire de deux patients (modèle A et B) après chirurgie cardiaque sous circulation extracorporelle	35
Figure 6 : Carte-ID du test PaGIA schématisant des résultats positifs, négatif, douteux	43
Figure 7 : Principe du test STic Expert® HIT	44
Figure 8 : PIFA® Héparine/PF4 « mini-réacteur »	46
Figure 9 : Principe de la méthode par chimiluminescence.....	47
Figure 10 : "Modèle de l'iceberg"	49
Figure 11 : Principe du test de libération de la sérotonine radiomarquée.....	51
Figure 12 : Principe du test d'activation plaquettaire induit par l'héparine.....	54
Figure 13 : Algorithme décisionnel du CHUGA pour le diagnostic de TIH.....	64
Figure 14 : Flow-chart de la population étudiée	81
Figure 15 : Nombre de prescriptions par service pour le diagnostic de la TIH	84
Figure 16 : Morbidité principale des patients suspects de TIH	85
Figure 17 : Type d'héparine reçue au cours de l'hospitalisation en cours chez les patients suspects de TIH.....	86
Figure 18 : Indication(s) principale(s) du traitement par héparine.....	86
Figure 19 : Durées du traitement par héparine avant suspicion	87
Figure 20 : Taux de diminution de la numération plaquettaire	88
Figure 21 : Score 4T chez les patients suspects de TIH.....	88
Figure 22 : Scores renseignés pour chacun des items du score 4T	89
Figure 23 : Résultats du test rapide ID-PaGIA® Biorad.....	90
Figure 24 : Densité optique de l'ELISA APF4 IgG parmi les ID-PaGIA® Biorad douteux ou positifs et les scores 4T élevés.....	90
Figure 25 : Densité optique ELISA APF4 IgG parmi les ID-PaGIA® Biorad positifs	91
Figure 26 : Densité optique ELISA APF4 IgG parmi les ID-PaGIA® Biorad douteux.....	91
Figure 27 : Densité optique ELISA APF4 IgG parmi les scores 4T élevés	92
Figure 28 : Densité optique ELISA APF4 IgG parmi les ID-PaGIA® Biorad négatifs avec un score 4T élevé	92
Figure 29 : Résultats du TAPH parmi les ELISA positifs chez les patients suspects de TIH	93
Figure 30 : Résultats du TAPH en fonction du résultat de l'ELISA	93
Figure 31 : Traitement au jour de prescription du test chez les patients suspects de TIH	94
Figure 32 : Schéma posologique du danaparoïde à l'initiation du traitement	95
Figure 33 : Fonction rénale des patients suspects de TIH traités par danaparoïde	96
Figure 34 : Posologie de l'argatroban à l'initiation du traitement.....	96
Figure 35 : Fonction hépatique des patients suspects de TIH traités par argatroban	97
Figure 36 : Fonction rénale des patients suspects de TIH traités par argatroban	97
Figure 37 : Posologies du fondaparinux à l'initiation du traitement.....	98
Figure 38 : Nombre de prescriptions par service pour les patients TAPH positifs.....	99
Figure 39 : Morbidité principale des patients TAPH positifs.....	99
Figure 40 : Type d'héparine reçue au cours de l'hospitalisation en cours chez les patients TAPH positifs.....	100
Figure 41 : Indication(s) principale(s) du traitement par héparine chez les patients TAPH positifs....	100
Figure 42 : Durée du traitement par héparine avant suspicion chez les patients TAPH positifs	101
Figure 43 : Taux de diminution de la numération plaquettaire chez les patients TAPH positifs	102
Figure 44 : Résultat du score 4T chez les patients TAPH positifs	102

Figure 45 : Score 4T chez les patients TAPH positifs	103
Figure 46 : Densité optique ELISA APF4 IgG chez les patients TAPH positifs	103
Figure 47 : Traitement au jour de la prescription du test APF4 chez les patients TAPH positifs	105
Figure 48 : Traitement alternatif initié le jour de prescription du test ou les jours suivants chez les patients TAPH positifs	105
Figure 49 : Délai entre la prescription du test APF4 et la mise en place du traitement alternatif chez les patients TAPH positifs	106
Figure 50 : Schéma thérapeutique du danaparoiide à l'initiation du traitement pour les patients TAPH positifs.....	107
Figure 51 : Fonction rénale des patients TAPH positifs traités par danaparoiide.....	107
Figure 52 : Posologies de l'argatroban à l'initiation du traitement pour les patients TAPH positifs	108
Figure 53 : Fonction hépatique des patients TAPH positifs traités par argatroban.....	109
Figure 54 : Fonction rénale des patients TAPH positifs traités par argatroban	109
Figure 55 : Posologies du fondaparinux à l'initiation du traitement pour les patients TAPH positifs ..	110
Figure 56 : Immunomarquage (test HIT Confirm®).....	126
Figure 57 : Analyse cytométrique : sélection de la population plaquettaire (test HIT Confirm®).....	127
Figure 58 : Analyse cytométrique : superposition des plaquettes du "contrôle" négatif et du "contrôle" positif (test HIT Confirm®)	128
Figure 59 : Histogrammes des tubes H0.3 et H100 (Test HIT Confirm®)	128
Figure 60 : Seuils d'interprétation du test HIT Confirm®.....	129
Figure 61 : Résultats du test HIT Confirm® chez les patients avec un TAPH positif	132
Figure 62 : Résultats du test HIT Confirm® chez les patients avec un TAPH négatif.....	132

Liste des abréviations

ADP : Adénosine diphosphate
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
AOD : Anticoagulants Oraux Directs
APACHE-II : Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II
ASH : American Society of Hematology
ATP : Adénosine triphosphate
AVK : Anti-Vitamine K
BJH : British Journal of Hematology
CBP : Cardiopulmonary Bypass
CD : Clusters of Differentiation
CEC : Circulation Extracorporelle
CHUGA : Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes
CMF : Cytométrie en flux
CV : Coefficient de Variation
CXC : Cysteine-X-Cysteine
Da : Dalton
DO : Densité Optique
EFS : Établissement Français du Sang
ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FITC : Fluorescéine Isothiocyanate
FSC : Forward Scatter
GFHT : Groupe Français d'Études sur l'Hémostase et la Thrombose
GIHP : Groupe d'Intérêt en Hémostase Périopératoire
HBPM : Héparine de Pas Poids Moléculaire
HEP : HIT Expert Probability
HIMEA : Heparin-Induced Multiplate Electrode Activation
HIPA : Heparin Induced Platelet Activation test
HNF : Héparine Non Fractionnée
IC : Intervalle de Confiance
Ig : Immunoglobuline
INR : International Normalized Ratio
ITAM : Immunoreceptor Tyrosine-Based Activation Motif
MTEV : Maladie Thromboembolique Veineuse
OR : Odds Ratio
PAR : Protease-Activated Receptors
PE : Phycoérythrine
PF4 : Facteur 4 plaquettaire
PPP : Plasma Pauvre en Plaquettes
PRP : Plasma Riche en Plaquettes
PVS : Polyvinyl Sulfate
RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit
SAPS-II : Simplified Acute Physiology Score II
SOFA-II : Sequential Organ Failure Assessment II

SRA : Serotonin Release Assay
SSC : Sidewards Scatter
TAPH : Test d'Agrégation Plaquettaire en présence d'Héparine
TCA : Temps de Céphaline Activée
TIH : Thrombopénie Induite par l'Héparine
TQ : Temps de Quick
TRAP : Thrombin Receptor Activator Peptide
ULC : UltraLarge Complexes
VCAM : Vascular Cell Adhesion Molecule
VPN : Valeur Prédictive Négative
VPP : Valeur Prédictive Positive

Introduction

L'héparine est un médicament fréquemment utilisé, depuis de nombreuses années, en médecine et en chirurgie que ce soit en traitement prophylactique ou curatif de la maladie thromboembolique.

La TIH de type 2 est une complication iatrogène immuno-allergique et pro-thrombotique potentiellement grave qui complique les traitements par héparine.

Ce syndrome clinico-biologique se caractérise par la présence d'une thrombopénie et parfois des thromboses veineuses et/ou artérielles associées à la présence d'anticorps anti-PF4/héparine pathogènes.

Le diagnostic repose sur une collaboration multidisciplinaire qui consiste d'abord à évaluer la probabilité clinique par le calcul d'un score pré-test et sur la prescription de tests biologiques immunologiques et fonctionnels.

Des algorithmes décisionnels concernant le diagnostic biologique et la prise en charge thérapeutique ont été proposés ces dernières années par des sociétés savantes pour permettre l'uniformisation des pratiques.

Bien que connue depuis plusieurs années, la TIH est une pathologie qui reste complexe tant sur le plan diagnostique que thérapeutique.

Ce travail a pour premier objectif de faire le point sur les connaissances et recommandations actuelles. La seconde partie de mon travail est consacrée à décrire les principales données clinico-biologiques, de la population de patients du CHUGA chez qui une TIH a été suspectée ou confirmée entre janvier 2017 et octobre 2019 et, de décrire leur prise en charge diagnostique et thérapeutique afin d'apprécier les pratiques médicales courantes.

Enfin, la dernière partie de mon travail a consisté à tester un nouveau test fonctionnel réalisé par cytométrie en flux (HIT Confirm® (Emosis)).

Partie 1 : Bases biologiques et diagnostiques de la TIH de type 2

1. Définition

La TIH est une complication iatrogène pro-thrombotique d'origine immunologique potentiellement grave compliquant les traitements hépariniques, associant une thrombopénie et parfois une/des thrombose(s) veineuse et/ou artérielle. C'est donc une complication iatrogène qui constitue un syndrome clinico-biologique qui se diagnostique par la présence d'une thrombopénie et la mise en évidence, dans le plasma ou le sérum du patient, d'anticorps anti-PF4/héparine pathogènes associés ou non à des événements cliniques.

2. Épidémiologie

L'héparine naturelle a été découverte aux États-Unis en 1916 par MacLean, étudiant en médecine, qui a démontré qu'un extrait de foie de chien prolongeait ex vivo le temps de coagulation d'un plasma (1). Elle a été utilisée quelques années plus tard (1937) comme anticoagulant chez l'Homme. Les premiers cas de thromboses liés à l'héparine ont été suspectés et décrits en 1958 par deux médecins (2).

L'incidence de la TIH varie de 0.2% à 5% (3) et elle dépend de différents critères (Tableau 1) : du type d'héparine (HNF ou HBPM) (4), de la composition de l'héparine (5), du schéma d'administration thérapeutique ou prophylactique (6), de la durée du traitement (7), du sexe (8), de l'âge (9) ainsi que de la population médicale exposée (6,10–13).

Le risque de développer une TIH est dix fois plus élevé chez les patients traités par HNF que par HBPM et cette fréquence est d'autant plus élevée si l'héparine est d'origine bovine par rapport à une origine porcine. Le risque est

supérieur lors d'une administration à dose thérapeutique par rapport aux doses prophylactiques et augmente avec la durée du traitement et redevient faible après trente jours.

Les femmes sont deux fois plus à risque de développer une TIH que les hommes et les TIH sont rares avant l'âge de quarante ans.

Le risque de développer une TIH est plus élevé chez les patients de chirurgie par rapport aux patients de médecine. Les patients de chirurgie cardiaque et orthopédique sont les plus impactés par cet effet indésirable avec une séroconversion plus fréquente chez les patients de chirurgie cardiaque mais parmi les patients présentant des anticorps anti-PF4/héparine positifs, la fréquence de TIH est plus élevée chez les patients de chirurgie orthopédique.

Tableau 1 : Niveaux de risque de TIH selon le contexte et le type d'héparine administré d'après les recommandations du GIHP/GFHT pour le diagnostic et prise en charge d'une TIH (6)

	Contexte	Schéma	Faible	Intermédiaire	Elevé
HNF	Chirurgie y compris Césarienne	Prophylactique ou Curatif			+
	Médical/ Obstétrical	Curatif			+
	CEC, EER, ECMO, CPIA				+
	Médical/ Obstétrical	Prophylactique		+	
HBPM	Chirurgie y compris Césarienne	Prophylactique ou Curatif		+	
	Cancer			+	
	Médical/ Obstétrical	Prophylactique ou Curatif	+		

HNF : héparine non fractionnée ; HBPM : Héparine de bas poids moléculaire ; EER : Epuration extra-rénale ; CEC : Circulation extra-corporelle ; ECMO : extracorporeal membrane oxygenation ; CPIA : contre pulsion intra aortique.

3. Physiopathologie

La TIH est une thrombopénie d'origine immunologique atypique (14).

Premièrement, les anticorps de classe IgG, IgM et IgA apparaissent simultanément entre le quatrième et le quatorzième jour après le début de l'exposition à l'héparine, ils sont généralement transitoires et disparaissent dans la majorité des cas trois mois après l'arrêt de l'héparine. Cette première caractéristique fait que la TIH ne correspond ni à une réponse immune primaire au cours de laquelle les IgM apparaissent quelques jours avant les IgG ni à une réponse immune secondaire au cours de laquelle les anticorps perdurent toute la vie ou disparaissent très lentement.

Deuxièmement, il n'existe pas d'immunité mémoire. Lors d'une réexposition à l'héparine suite à une première séroconversion (> 100 jours (15)) l'apparition des anticorps anti-PF4/héparine n'est pas plus rapide que dans la population naïve d'anticorps anti-PF4/héparine (16,17).

3.1. Le Facteur 4 Plaquettaire (PF4)

Le PF4 est une chimiokine de la sous famille des CXC synthétisée par les mégacaryocytes et stockée dans les granules α des plaquettes. Il est libéré dans la circulation sanguine lors de l'activation plaquettaire.

Le PF4 est chargé positivement et a donc une affinité pour les glycosaminoglycanes chargées négativement. Par ordre décroissant d'affinité, le PF4 se lie de façon préférentielle à l'héparine puis à l'héparane sulfate, au dermatane sulfate et à la chondroïtine sulfate (18).

3.2. L'héparine

L'héparine (19–21) est un polysaccharide d'origine naturelle appartenant à la famille des glycosaminoglycanes et présent dans les mastocytes. Pour l'utilisation thérapeutique, deux formes sont commercialisées.

- La première, l'HNF est extraite de la muqueuse d'intestin de porc ou de poumon de bœuf et de poids moléculaire moyen de 15000 Da.
- La deuxième forme correspond aux HBPM de poids moléculaire d'environ 5000 Da, obtenue après traitement par procédé chimique ou enzymatique des chaînes de HNF.

L'activité anticoagulante de l'héparine s'explique par une potentialisation importante de l'activité de l'antithrombine. L'héparine se lie à l'antithrombine et

modifie sa conformation puis l'antithrombine se lie de manière irréversible à la thrombine ou à d'autres enzymes de la coagulation (sérine protéases : Xa, mais également IXa, XIa, XIIa) et inhibe leur activité anticoagulante de manière irréversible. Une fois cette réaction terminée, l'héparine se dissocie du complexe ternaire et peut à nouveau se fixer à une molécule d'antithrombine libre. Les HBPM ont une activité anti-Xa majoritaire alors que l'HNF a une activité anti-Xa équivalente à l'activité anti-IIa, cette différence d'activité pharmacologique s'explique par la différence de poids moléculaire (21). En effet des chaînes polysaccharidiques > 18 saccharides sont nécessaires pour potentialiser l'effet anti-IIa de l'antithrombine (22).

3.3. La formation des complexes ultralarges PF4/héparine (ULC) immunogéniques

L'affinité du PF4 pour l'héparine supérieure aux autres glycosaminoglycanes permet la formation des ULC.

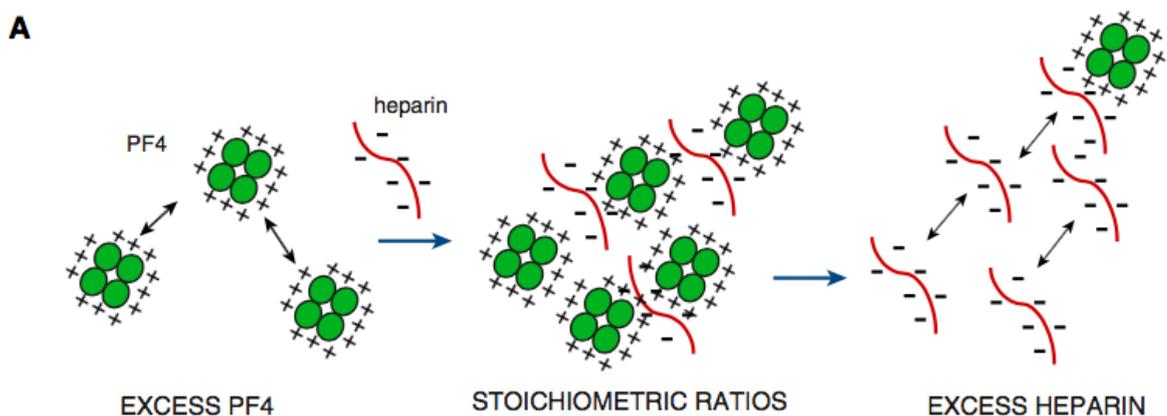


Figure 1 : Représentation de l'équilibre stœchiométrique nécessaire à la formation des ULC (d'après Arepally (23))

Elle est basée sur des interactions électrostatiques entre le PF4 présent sous forme de tétramère et chargé positivement et l'héparine présente sous forme

linéaire et chargée négativement. La stabilité du complexe nécessite un ratio stœchiométrique de 1 :1 pour les HNF et de 1:2 pour les HBPM (24). Une modification de cet équilibre stœchiométrique altère la capacité immunogénique du complexe (23) (Figure 1).

3.4. Séroconversion (anticorps anti-PF4/héparine)

Les anticorps anti-PF4/héparine apparaissent entre le quatrième et quatorzième jour suivant l'introduction de l'héparine avec une moyenne de six jours (16). Les patients qui développent une TIH ont des taux d'anticorps plus élevés que les patients qui font uniquement une séroconversion sans TIH et les anticorps pathogènes sont de la classe IgG (17). Au-delà de cent jours après la séroconversion, les anticorps ne sont généralement plus détectables (16).

Il est important de noter que seule une minorité de patients (10 à 50%) qui font une séroconversion vont développer une TIH (25).

3.5. Activation multicellulaire

Lors d'une TIH, il y a une activation multicellulaire (26) qui implique les plaquettes, les monocytes, les polynucléaires neutrophiles et l'endothélium (Figure 2).

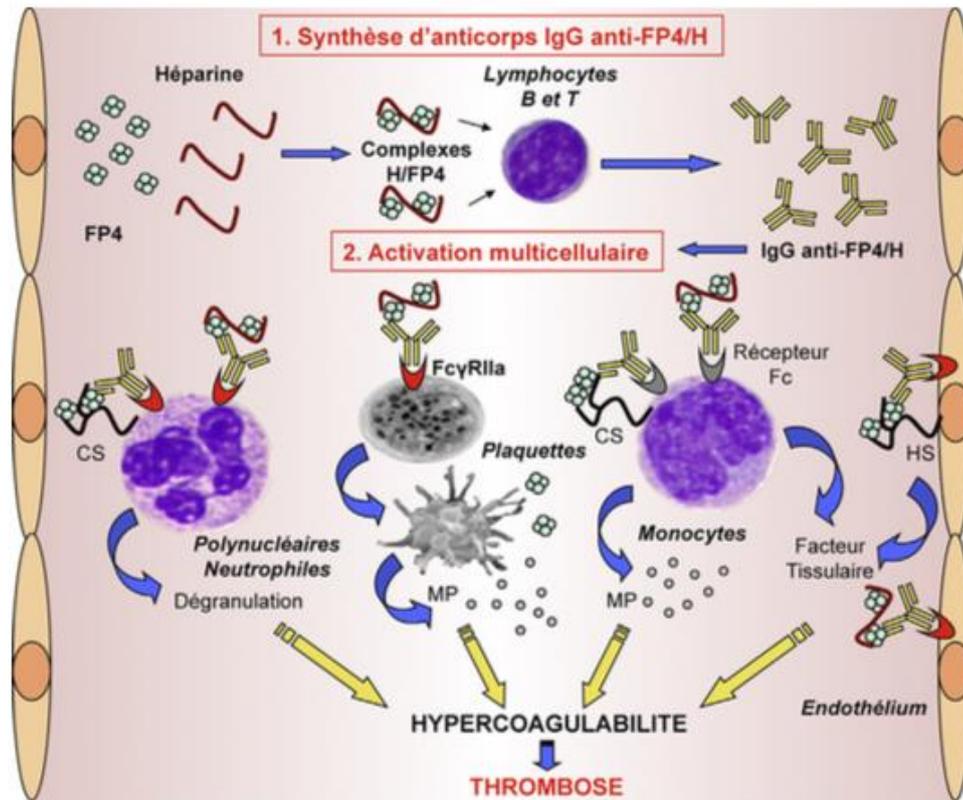


Figure 2 : Physiopathologie des thrombopénies induites par l'héparine (d'après Gruel et al. (26))

- Les plaquettes : elles sont activées via leur récepteur $Fc\gamma RIIa$ (27).

Le récepteur $Fc\gamma RIIa$ est une protéine transmembranaire de 40 kDa comportant deux domaines extracellulaires Ig-like, une courte partie transmembranaire et une longue partie cytoplasmique contenant un motif d'activation des récepteurs immuns basé sur la tyrosine (ITAM) (Figure 3). Suite à la fixation des régions Fc des IgG au récepteur $Fc\gamma RIIa$, celui-ci se dimérise pour former un homodimère.

Après dimérisation, les résidus tyrosine du motif ITAM du récepteur sont phosphorylés par une Src Kinase (Lyn) qui initie la cascade d'activation plaquettaire. La tyrosine kinase Syk se lie alors aux phosphotyrosines du motif ITAM et phosphoryle les résidus tyrosine de la protéine adaptatrice LAT ce qui

aboutit au recrutement et à l'activation de la phospholypase $C_{\gamma 2}$ ($PLC_{\gamma 2}$). La $PLC_{\gamma 2}$ produit d'une part de l'inositol triphosphate (IP_3) qui induit une libération de calcium et d'autre part du diacylglycerol (DAG) qui active la protéine kinase C (PKC) qui va poursuivre l'activation des molécules en aval. La phosphoinositide-3 kinase (PI3K) se fixe au récepteur dimérisé et joue un rôle important dans l'assemblage de l'actine, essentiel à l'agrégation plaquettaire. Cette cascade de signalisation aboutit à l'activation plaquettaire (28).

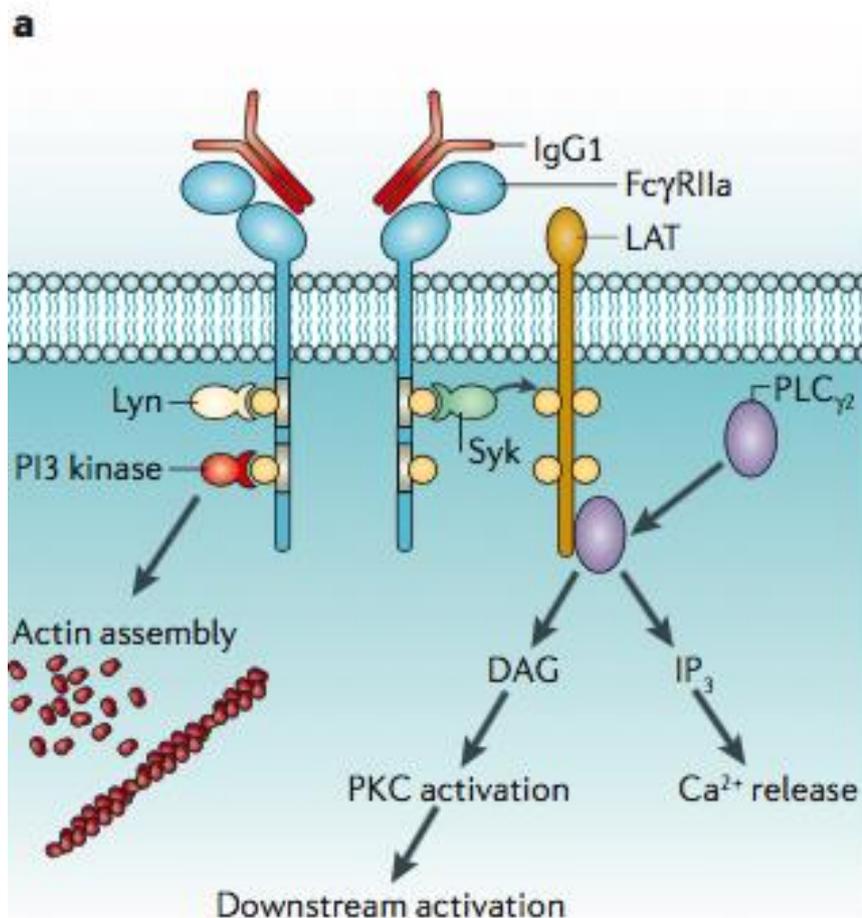


Figure 3 : Voie de signalisation du récepteur $Fc\gamma RIIIa$ (d'après Fitzgerald et al. (28))

La Src kinase (Lyn) est elle-même activée par déphosphorylation de son domaine C-terminale par la protéine phosphatase CD148.

La différence de sensibilité interindividuelle aux anticorps anti-PF4/héparine peut s'expliquer en partie par des polymorphismes au niveau des plaquettes.

Il existe deux isoformes majeures du récepteur Fc γ R11a : 131H et 131R. Les deux isoformes ont une affinité équivalente pour les IgG1 et IgG3 mais l'isoforme 131R a une affinité moindre pour les IgG2 par rapport à l'isoforme 131H. Ce polymorphisme n'influence pas le risque de TIH. En revanche, les patients 131R homozygotes atteints de TIH auraient plus de risque de développer une thrombose. Ainsi, Rollin et al. (29) rapportent en analysant les résultats de cinq études différentes que les patients Fc γ R11a 131RR (homozygotes) auraient un risque de développer des thromboses presque trois fois supérieurs (OR 2,86 : IC95% : 1,7-4,8) que ceux présentant au moins un allèle H.

Le risque thrombotique élevé s'expliquerait par la plus faible affinité des récepteurs plaquettaire Fc γ R11a pour le sous-type IgG2 chez les patients homozygotes 131R (Figure 4). Chez eux, un nombre supérieur de sites seraient laissés libres pour la fixation des IgG anti-PF4/héparine ce qui conduirait à une activation plaquettaire plus puissante et à la libération de substances procoagulantes, notamment facteur tissulaire (30).

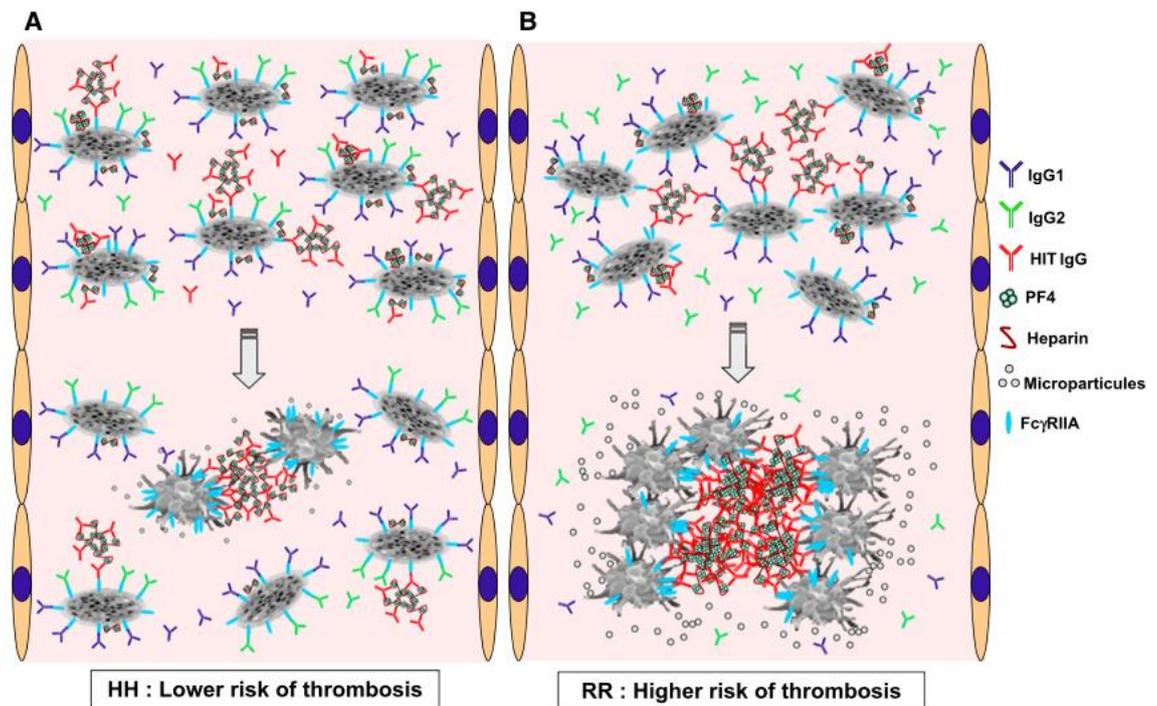


Figure 4 : Représentation schématique de l'interaction des IgG de la TIH et des sous-classes d'IgG normales en fonction du polymorphisme du $Fc\gamma RIIIa$ (d'après Rollin et al. (28))

Concernant la protéine CD148, deux polymorphismes ont été mis en évidence : Q276P et R326Q. Les plaquettes exprimant les isoformes 276P et 326Q sont moins sensibles aux anticorps anti-PF4/héparine que les plaquettes homozygotes 276QQ et 326RR. Cette différence est notamment liée à la différence d'activité phosphatase de la protéine (31).

- Les monocytes : comme les plaquettes, ils sont activés par le récepteur $Fc\gamma RIIIa$ ce qui entraîne la libération de facteur tissulaire et augmente la génération de thrombine. La thrombine d'une part participe à l'effet pro-coagulant et d'autre part amplifie l'activation plaquettaire via les récepteurs PAR-1 et PAR-4. Les monocytes, cellules présentatrices de l'antigène,

pourraient également jouer un rôle dans la réponse immune aux anticorps anti-PF4/héparine (32,33).

- Les polynucléaires neutrophiles sont eux aussi activés de manière $Fc\gamma RIIa$ dépendante ce qui provoque leur dégranulation et la libération de substances procoagulantes (34).

- Les cellules endothéliales sont activées directement par les anticorps anti-PF4/héparine. D'une part, la formation des complexes PF4/héparine diminue la disponibilité du PF4 pour l'activation de la protéine C anticoagulante. D'autre part, l'activation des cellules endothéliales provoque la libération de molécules procoagulantes telle que le facteur tissulaire, l'interleukine 6 et le facteur de Willebrand et l'augmentation de l'expression de molécules d'adhésion à leurs surfaces telles que la P-sélectine, la E-sélectine et la VCAM-1 (32,35).

4. Les différentes étapes de la TIH

Tableau 2 : Description de la TIH en cinq phases (d'après Cuker (36))

	Suspected HIT	Acute HIT	Subacute HIT A	Subacute HIT B	Remote HIT
Platelet count	Decreased	Decreased	Normal	Normal	Normal
Thrombotic risk	?	Increased	Increased?	Increased?	Normal
Functional assay	?	+	+	-	-
Immunoassay	?	+	+	+	-

La TIH peut se décrire en cinq phases :

- La première phase est la phase de suspicion de TIH, en attente de confirmation diagnostique par le laboratoire chez un patient présentant une baisse de la numération plaquettaire sous héparine.
- Lorsque le diagnostic est confirmé par les tests immunologiques et les tests fonctionnels, on parle de TIH aiguë, la numération plaquettaire est abaissée et le risque thrombotique élevé avec un risque maximal durant le premier mois (37).
- La TIH est définie comme subaiguë de la fin du premier mois jusqu'au troisième mois. Au cours de cette période le risque thrombotique est incertain. Cette phase peut se diviser en deux parties :
 - o la phase subaiguë A durant laquelle la numération plaquettaire est normalisée mais les tests immunologiques et fonctionnels sont toujours positifs.
 - o la phase subaiguë B où les tests immunologiques restent positifs mais les tests fonctionnels se négativent.
- la dernière phase, trois mois après l'épisode aigu, est celle où les tests immunologiques et fonctionnels se sont généralement négativés, on parle d'antécédent de TIH.

5. Diagnostic

La phase initiale du diagnostic repose sur le calcul d'un score pré-test pour évaluer la probabilité clinique de TIH et orienter sur les examens de diagnostic

à réaliser. Dans un deuxième temps, deux catégories de tests biologiques sont susceptibles d'être réalisés : les tests immunologiques sensibles mais peu spécifiques qui permettent de faire un « screening » et les tests fonctionnels sensibles et spécifiques permettant de confirmer le diagnostic de TIH lorsqu'ils sont positifs.

5.1. Les signes évocateurs d'une TIH

5.1.1. Thrombopénie

La thrombopénie est la principale manifestation de la TIH. La définition standard de la thrombopénie correspond à une numération plaquettaire inférieure à 150 G/L. Ce seuil est peu utilisé car on tient d'avantage compte de la baisse de la numération plaquettaire que de la valeur brute. Pour de nombreux cas où la TIH a lieu chez des patients en post-opératoire, l'apparition de la TIH coïncide avec la thrombocytose post-opératoire. Ainsi, de nombreux cas pourraient passer inaperçus en tenant compte uniquement du seuil de la numération plaquettaire inférieur à 150 G/L.

Le profil le plus commun est une diminution dans la numération plaquettaire de plus de 50% mais qui reste tout de même, à la différence des autres thrombopénies médicamenteuses d'origine immunes, supérieure à 20 G/L (38).

Le taux de base de la numération plaquettaire à considérer pour l'évaluation de la baisse des plaquettes n'est pas forcément le taux mesuré avant le début du traitement par héparine, notamment en cas de chirurgie où une thrombose post-opératoire peut exister, mais correspond à la numération plaquettaire la plus élevée qui précède la diminution plaquettaire (39).

5.1.2. Délai de survenue de la thrombopénie

Chez les sujets n'ayant pas reçu de traitement par héparine durant les cent derniers jours, les anticorps anti-PF4/héparine apparaissent entre le quatrième et le quatorzième jour après l'introduction de l'héparine en considérant comme jour zéro le jour de l'introduction. La thrombopénie commence minimum 24h et en moyenne 48h après l'apparition des anticorps et la fenêtre d'apparition de la thrombopénie la plus en faveur d'une TIH se situe entre le cinquième et le dixième jour (16,17).

Les patients ayant un antécédent de traitement par héparine datant de moins de cent jours ont potentiellement pu développer encore des anticorps anti-PF4/héparine circulants. Dans ce cas, le délai d'apparition de la thrombopénie est raccourci en cas de réexposition à l'héparine (15).

En cas d'exposition à l'héparine dans les trois mois précédents, une thrombopénie qui débute dans les 24h après le début d'un traitement par héparine doit faire évoquer avec une probabilité plus ou moins forte une TIH selon que le délai depuis le dernier traitement par héparine date des derniers-cinq à trente jours (probabilité forte) ou des trente à cent jours (probabilité moins forte) (15).

Après arrêt de l'héparine, la numération plaquettaire revient à la normale dans la semaine qui suit chez 90% des patients sachant que chez 50% des patients, le retour à la normale se fait dans les quatre jours (40).

A noter qu'un type particulier de TIH a été décrit : la « delayed-onset HIT ». Ce phénomène, vraisemblablement rare, se définit par une diminution de la numération plaquettaire qui débute un à quelques jours après l'arrêt de

l'héparine ou par une aggravation de la thrombopénie après arrêt de l'héparine (40). Elle serait liée à la formation d'un complexe antigénique entre le PF4 et un glycosaminoglycane présent naturellement dans l'organisme, notamment la chondroïtine sulfate, reconnu par les anticorps de la TIH (41).

5.1.3. Thromboses et autres complications

La thrombose est l'un des signes cliniques les plus fréquents de la TIH, il existe des thromboses veineuses et artérielles dans un rapport de 4 :1. Les thromboses les plus fréquentes sont les thromboses veineuses profondes proximales des membres inférieurs et l'embolie pulmonaire (42).

D'autres manifestations cliniques moins typiques sont possibles :

- Les lésions cutanées inflammatoires ou nécrotiques au site d'injection de l'héparine ou à distance (plus rare (43)) qui apparaissent cinq jours après le début du traitement par héparine (44).
- Les réactions anaphylactoïdes aiguës dans les trente minutes suivant le bolus intraveineux ou dans les deux heures suivant l'injection sous-cutanée d'héparine (40).
- Les nécroses hémorragiques des surrénales (45).
- La gangrène veineuse des membres qui survient notamment lors de traitement par AVK ce qui s'explique par le déficit induit en protéine C anticoagulante, protéine vitamine K dépendante, dont la demi-vie est plus courte que la plupart des facteurs vitamine K dépendants et dont le taux est le premier à baisser sous AVK (40).

5.2. Les scores cliniques pré-test

5.2.1. Score 4T

Tableau 3 : Score 4T (d'après Warkentin)

	Score = 2	Score = 1	Score = 0
Thrombocytopenia Compare the highest platelet count within the sequence of declining platelet counts with the lowest count to determine the % of platelet fall. (Select only 1 option)	<input type="radio"/> >50% platelet fall AND a nadir of ≥ 20 AND no surgery within preceding 3 days	<input type="radio"/> >50% platelet fall BUT surgery within preceding 3 days OR <input type="radio"/> any combination of platelet fall and nadir that does not fit criteria for Score 2 or Score 0 (e.g., 30-50% platelet fall or nadir 10-19)	<input type="radio"/> <30% platelet fall <input type="radio"/> any platelet fall with nadir <10
Timing (of platelet count fall or thrombosis*) Day 0 = first day of most recent heparin exposure (Select only 1 option)	<input type="radio"/> platelet fall day 5-10 after start of heparin <input type="radio"/> platelet fall within 1 day of start of heparin AND exposure to heparin within past 5-30 days	<input type="radio"/> consistent with platelet fall day 5-10 but not clear (e.g., missing counts) <input type="radio"/> platelet fall within 1 day of start of heparin AND exposure to heparin in past 31-100 days <input type="radio"/> platelet fall after day 10	<input type="radio"/> platelet fall \leq day 4 without exposure to heparin in past 100 days
Thrombosis (or other clinical sequelae) (Select only 1 option)	<input type="radio"/> confirmed new thrombosis (venous or arterial) <input type="radio"/> skin necrosis at injection site <input type="radio"/> anaphylactoid reaction to IV heparin bolus <input type="radio"/> adrenal hemorrhage	<input type="radio"/> recurrent venous thrombosis in a patient receiving therapeutic anticoagulants <input type="radio"/> suspected thrombosis (awaiting confirmation with imaging) <input type="radio"/> erythematous skin lesions at heparin injection sites	<input type="radio"/> thrombosis not suspected
Other cause for thrombocytopenia** (Select only 1 option)	<input type="radio"/> no alternative explanation for platelet fall is evident	Possible other cause is evident: <input type="radio"/> sepsis without proven microbial source <input type="radio"/> thrombocytopenia associated with initiation of ventilator <input type="radio"/> other:	Probable other cause present: <input type="radio"/> within 72 hours of surgery <input type="radio"/> confirmed bacteremia/fungemia <input type="radio"/> chemotherapy or radiation within past 20 days <input type="radio"/> DIC due to non-HIT cause <input type="radio"/> posttransfusion purpura (PTP) <input type="radio"/> thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) <input type="radio"/> platelet count < 20 AND given a drug implicated in causing D-ITP (see list) <input type="radio"/> non-necrotizing skin lesions at LMWH injection sites (presumed DTH) <input type="radio"/> other:
Drugs implicated in drug-induced immune thrombocytopenia (D-ITP)			
Relatively Common: glycoprotein IIb/IIIa antagonists (abciximab, eptifibatide, tirofiban); quinine, quinidine, sulfa antibiotics, carbamazepine, vancomycin Less Common: actinomycin, amitriptyline, amoxicillin/piperacillin/nafcillin, cephalosporins (cefazolin, ceftazidime, ceftriaxone), celecoxib, ciprofloxacin, esomeprazole, fexofenadine, fentanyl, fucidic acid, furosemide, gold salts, levofloxacin, metronidazole, naproxen, oxaliplatin, phenytoin, propranolol, propoxyphene, ranitidine, rifampin, suramin, trimethoprim. Note: this is a partial list.			

Le score 4T (40) a été développé par Théodore Warkentin et permet lors d'une suspicion de thrombopénie induite à l'héparine d'aider les cliniciens à stratifier ce risque grâce au calcul d'une probabilité clinique pré-test.

Il est basé sur quatre critères :

- la thrombopénie
- le délai de survenue de la thrombopénie suite au début du traitement par héparine

- la présence de thromboses et autres complications (lésions cutanées, réactions anaphylactoïdes, nécroses hémorragiques des surrénales et gangrène veineuse des membres)
- les autres causes possibles de thrombopénie

Elles sont nombreuses et il s'agit d'un paramètre sujet aux variabilités inter-observateurs au même titre que le critère début de survenue de la thrombopénie. Les infections bactériennes, la coagulation intravasculaire disséminée, un antécédent de chimiothérapie et radiothérapie datant de moins de vingt jours, un purpura post-transfusionnel sont des diagnostics différentiels possibles (Tableau 3).

Pour chaque critère, un score de 0 à 2 est attribué ; 2 si le paramètre est fortement évocateur d'une TIH, 0 si le paramètre est un argument n'évoquant pas du tout une TIH. Lors de l'addition des points, le score total permet d'identifier trois niveaux de probabilité de TIH, faible (0-3 points), intermédiaire (4-5 points) ou élevé (6-8 points).

Selon une méta-analyse réalisée par Cuker et al. (46), un score faible ≤ 3 est associé à une VPN $> 99\%$ alors que la VPP associée à un score intermédiaire n'est que de 14% et celle associée à un score élevé est de 64%. Dans les deux cas cette VPP reste relativement modérée et dépend de la prévalence de la TIH dans la population étudiée.

L'inconvénient principal de ce score est l'accord inter-observateur limité. Cette variabilité inter-observateur a été observée notamment pour les critères délai de survenue de la thrombopénie et autres causes possibles de thrombopénie (47).

La question de la fiabilité du score 4T s'est également posée pour les patients de soins intensifs. L'incidence des TIH dans cette population est de 0.4%, plus faible que dans la population générale mais la TIH est souvent sur-diagnostiquée.

Cela s'explique d'une part par l'utilisation très fréquente de l'héparine chez ces patients et d'autre part par les étiologies multiples de thrombopénie (48).

Des études ont été menées pour évaluer l'intérêt du score 4T chez les patients de soins intensifs et au même titre que dans la population générale, la valeur prédictive négative supérieure à 90% pour un score ≤ 3 permet de limiter l'arrêt de l'héparine non justifié, l'introduction de traitements anticoagulants alternatifs à risque hémorragique et de limiter le surcoût des tests d'exploration complémentaire de la TIH (48,49).

5.2.2. HEP score

Tableau 4 : le HEP Score (d'après Cuker)

Table 2 HIT Expert Probability (HEP) Score

Clinical feature	Score
1. Magnitude of fall in platelet count (measured from peak platelet count to nadir platelet count since heparin exposure)	
a. < 30%	-1
b. 30%–50%	1
c. > 50%	3
2. Timing of fall in platelet count	
<i>For patients in whom typical onset HIT is suspected</i>	
a. Fall begins < 4 days after heparin exposure	-2
b. Fall begins 4 days after heparin exposure	2
c. Fall begins 5–10 days after heparin exposure	3
d. Fall begins 11–14 days after heparin exposure	2
e. Fall begins > 14 days after heparin exposure	-1
<i>For patients with previous heparin exposure in last 100 days in whom rapid onset HIT is suspected</i>	
f. Fall begins < 48 h after heparin re-exposure	2
g. Fall begins > 48 h after heparin re-exposure	-1
3. Nadir platelet count	
a. $\leq 20 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$	-2
b. $> 20 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$	2
4. Thrombosis (Select no more than one)	
<i>For patients in whom typical onset HIT is suspected</i>	
a. New VTE or ATE ≥ 4 days after heparin exposure	3
b. Progression of pre-existing VTE or ATE while receiving heparin	2
<i>For patients in whom rapid onset HIT is suspected</i>	
c. New VTE or ATE after heparin exposure	3
d. Progression of pre-existing VTE or ATE while receiving heparin	2
5. Skin necrosis	
a. Skin necrosis at subcutaneous heparin injection sites	3
6. Acute systemic reaction	
a. Acute systemic reaction after intravenous heparin bolus	2
7. Bleeding	
a. Presence of bleeding, petechiae or extensive bruising	-1
8. Other causes of thrombocytopenia (Select all that apply)	
a. Presence of a chronic thrombocytopenic disorder	-1
b. Newly initiated non-heparin medication known to cause thrombocytopenia	-2
c. Severe infection	-2
d. Severe DIC (defined as fibrinogen $< 100 \text{ mg dL}^{-1}$ and D-dimer $> 5.0 \mu\text{g mL}^{-1}$)	-2
e. Indwelling intra-arterial device (e.g. IABP, VAD, ECMO)	-2
f. Cardiopulmonary bypass within previous 96 h	-1
g. No other apparent cause	3

VTE, venous thromboembolism; ATE, arterial thromboembolism; DIC, disseminated intravascular coagulation; IABP, intra-aortic balloon pump; VAD, ventricular assist device; ECMO, extracorporeal membrane oxygenation.

Le score HEP (50) a été construit en se basant sur une revue de la littérature qui a permis d'identifier huit critères cliniques pertinents dans le diagnostic de la TIH et sur l'avis de 26 d'experts qui ont pondéré chaque item en utilisant une échelle allant de -3 (non compatible avec un diagnostic de TIH) à +3 (compatible avec une TIH). Le score HEP est compris entre -7 et +15 points. La probabilité de TIH est faible entre -7 et +1, intermédiaire de +2 à +4 et élevée de +5 à +15 (50).

Comparativement au score 4T, chaque item a été rédigé de manière à laisser moins de place à la subjectivité de l'opérateur.

Le score HEP a été comparé au score 4T dans une étude rétrospective par Pishko et al. (51) qui n'a montré aucune différence statistiquement significative concernant les performances diagnostiques entre les deux scores si ce n'est que le score HEP a montré une supériorité par rapport au score 4T pour les patients de soins intensifs et dans les cas où l'opérateur est peu expérimenté. Les VPP et VPN sont comparables pour les deux scores. Des études à plus grande échelle sont cependant nécessaires.

5.2.3. Score de Lillo-Le-Louët

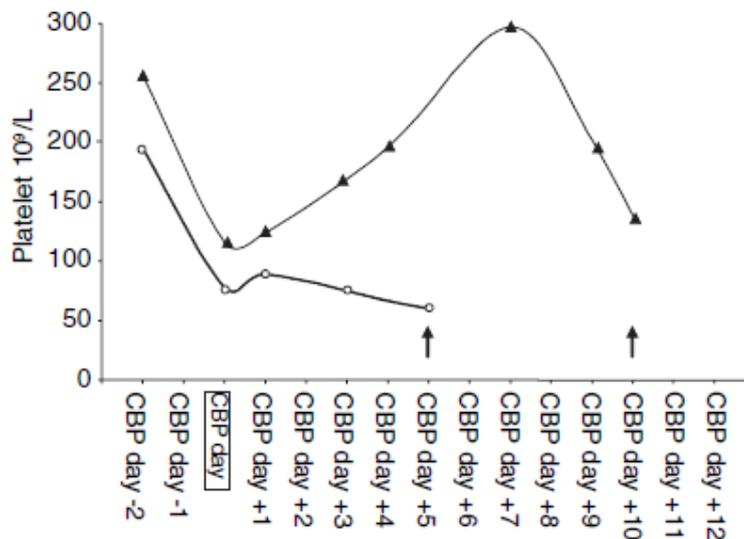


Fig. 1. Example of platelet time courses from 2 distinct patients. Representation of one pattern A (biphasic pattern, solid triangles), characterized by a fall in the platelet count more than 4 days after CPB (the initial fall immediately after CPB is followed by a rise within 5 days and then by a further fall) and one pattern B (open circles), characterized by post-CPB thrombocytopenia persisting beyond day 4. Platelet counts are reported until the index date (first day of suspected HIT, arrows).

Figure 5 : Exemples d'évolution de la numération plaquettaire de deux patients (modèle A et B) après chirurgie cardiaque sous circulation extracorporelle (52)

Tableau 5 : Score de Lillo-Le-Louët pour le diagnostic des TIH chez les patients thrombocytopéniques (<150 G/L ou diminution de la numération plaquettaire > 40%) après circulation extracorporelle (52)

Variables	Score
Platelet count time course	
Pattern A	2
Pattern B	1
Time from CPB to index date	
≥ 5 days	2
< 5 days	0
CPB duration	
≤ 118 min	1
> 118 min	0
	Total score
Classification	
High probability of HIT	≥ 2
Low probability of HIT	< 2

Les chirurgies cardiaques sous CEC entraînent une activation des voies intrinsèques et extrinsèques de la coagulation et donc un risque de thromboses élevé qui nécessite une anticoagulation efficace. Les HNF sont les anticoagulants de choix car ils ont l'avantage non négligeable d'avoir un antidote, la protamine. De plus, l'HNF, en plus de neutraliser la thrombine et le facteur Xa, inhibe le facteur XIIa généré lors de l'activation de la voie contact au cours des CEC.

La fréquence des TIH est de seulement 2% malgré une séroconversion anti-PF4 dans 30 à 50% des cas en post CEC (53). Le diagnostic de TIH est difficile car la CEC est elle-même responsable d'une thrombopénie liée à l'hémodilution et à la consommation des plaquettes par destruction mécanique, par adhésion à la surface du circuit et séquestration dans les organes (54).

Un score de probabilité post-CEC pour la TIH a donc été proposé par Lillo-Le-Louët (Tableau 5). Il est calculé à partir de 3 variables indépendantes :

- la cinétique d'évolution de la numération plaquettaire dont on distingue 2 profils (Figure 5) :
 - Profil A : Bi-phasique avec une chute de la numération plaquettaire immédiate après la chirurgie et une augmentation d'au moins 30% dans les cinq jours puis de nouveau une chute de la numération plaquettaire plus importante.
 - Profil B : Monophasique avec une chute de la numération plaquettaire immédiate après la chirurgie qui perdure ou s'empire après quatre jours post chirurgie.
- Le délai entre la CEC et la suspicion de la TIH (≥ 5 jours ou <5 jours)
- La durée de la CEC (≤ 118 min ou > 118 min)

Le score total est compris entre 1 et 5. Si le score est inférieur à 2, la probabilité que le patient ait une TIH est faible et au-delà, la probabilité est élevée. Le paramètre le plus évocateur d'une TIH en post CEC est le profil bi-phasique de la numération plaquettaire. Lillo-le-Louët et al. (52) rapportent une VPN de 97% et une VPP de 62% mais peu d'études semblent avoir évalué ce score.

5.3. Les tests immunologiques

Les tests immunologiques sont basés sur la détection des anticorps anti-PF4/héparine. Divers tests sont disponibles sur le marché avec des différences concernant la méthode de détection, le ou les isotypes d'anticorps détectés, les seuils de positivité, les tests de confirmation et enfin la rapidité.

Les tests immunologiques sont réalisables en routine à des fréquences variables selon les méthodes et leur rapidité d'exécution. Leur sensibilité est bonne mais leur spécificité vis-à-vis du diagnostic de TIH est limitée car ces tests ne sont pas capables de distinguer les anticorps pathogènes c'est-à-dire capables d'activer les plaquettes, des anticorps non pathogènes.

5.3.1 Dosages immuno-enzymatiques (ELISA)

Tableau 6 : Tests ELISA disponibles sur le marché

Fabricants	Nom du test	« Coating »	Spécificité (Isotype)
Genetic testing institute [GTI] (Diagnostics, Waukesha, WI, USA)	GTI-PF4	PF4-PVS	Poly-spécifique
	HAT		
	PF4-Enhanced		
	GTI-IgG		IgG-spécifique
Hyphen-BioMed, (Neuville-Sur-Oise, France)	Zymutest HIA IgGAM	Lysat plaquettaire + HNF	Poly-spécifique
	Zymutest HIA IgG		IgG-spécifique
Diagnostica Stago, (Asnières-sur-Seine, France)	Asserachrom HPIA IgG	PF4 + héparine	IgG-spécifique
Gen-Probe, (Waukesha, WI, USA)	Gen-Probe PF4	PF4 + PVS	Poly-spécifique
Technoclone (GmbH, Vienna, Austria)	Technozym HIT IgG ELISA	Non renseigné	IgG-spécifique

Il s'agit de tests ELISA indirects où l'antigène cible PF4/héparine est fixé à une phase solide sur laquelle le sérum/plasma du patient est ajouté. Afin de révéler la présence d'anticorps anti-PF4/héparine, un anticorps de détection marqués par une enzyme (généralement une peroxydase) est ajouté. Enfin, on ajoute un substrat transformé par la peroxydase en produit de réaction

coloré. La densité optique du milieu est mesurée par un spectrophotomètre. La concentration d'anticorps est proportionnelle à la densité optique.

Des différences existent en fonction des fabricants (Tableau 6) : les types d'anticorps détectés (IgG ou IgG, A et M), le composé poly-anionique qui participe à la formation de l'antigène (héparine ou PVS), la nature du PF4 (recombinant ou d'origine plaquettaire – lysat ou purifié –), l'enzyme de la réaction de détection, le seuil de positivité de la densité optique. Ces différences n'influencent que peu la détection des anticorps (55).

Selon la méta-analyse de Nagler (56), au seuil de positivité de la densité optique fournie par les fournisseurs, la sensibilité de l'ELISA (IgG spécifique et poly-spécifique) est supérieure à 95%. Cette très bonne sensibilité du test s'explique par le fait que les antigènes PF4/héparine d'un patient atteint de TIH sont des complexes stables et présents en grande quantité. La spécificité, elle, varie en fonction des tests et de la population étudiée mais reste faible, inférieure à 90%. Cette faible spécificité s'explique par le fait que le test détecte tous les anticorps anti-PF4/héparine sans différencier les pathogènes, capables d'activer les plaquettes. Uniquement une partie des patients ayant un test ELISA positif présentent une TIH.

Concernant les rapports de vraisemblance, le rapport de vraisemblance positif est supérieur à cinq et le rapport de vraisemblance négatif est proche de zéro. La VPP est variable selon les études car elle dépend de la prévalence de la maladie qui n'est pas la même en fonction des populations étudiées (57). La VPN est généralement très bonne.

Le manque de spécificité du test est responsable de diagnostic de TIH par excès. Ce sur-diagnostic n'est pas anodin et peut avoir des conséquences

néfastes puisqu'une contre-indication à l'héparine complexifie la prise en charge pour certaines interventions où l'héparine est l'anticoagulant de choix, par exemple pour la CEC. La substitution de l'héparine par les inhibiteurs directs de la thrombine majore d'une part le risque de saignement et d'autre part le coût de la prise en charge du patient (58).

Différentes solutions ont été proposées afin de palier à cette faible spécificité du test.

- l'utilisation de trousse de dosages IgG spécifiques : en utilisant le seuil de densité optique (DO) fournisseur, les tests ELISA IgG sont plus spécifiques que les ELISA IgGAM mais ne perdent pas pour autant en sensibilité. Cette supériorité s'explique par le fait que seule la classe G des immunoglobulines est capable d'activer les plaquettes (59).

- la prise en compte de la DO qui est le reflet de la quantité d'anticorps.

Dans la plupart des kits ELISA commerciaux le seuil de positivité d'un test est établi à 0.4. De nombreux auteurs (60–63) ont démontré que la positivité forte du test ELISA était corrélée d'une part à une probabilité élevée de TIH et d'autre part à la présence de thromboses. Il est donc recommandé de considérer la DO lors de l'interprétation d'un test ELISA. Moins de 5% des ELISA sont confirmés par un test fonctionnel lorsque la DO est inférieure à 1 alors que plus de 90% sont confirmés lorsque la DO est supérieure à 2 (64). L'élévation du seuil de positivité de 0.4 à 1 (65,66) et une classification en trois niveaux des valeurs de DO en fonction de la probabilité de TIH ont donc été proposés. Si la DO est inférieure à 1, la

probabilité d'une TIH est faible, entre 1 et 2 la probabilité est intermédiaire et avec une DO supérieure à 2 la probabilité est élevée (67).

Il est recommandé pour chaque laboratoire, en fonction du test ELISA qu'il a choisi d'utiliser et de son matériel (spectrophotomètre), de déterminer le seuil de positivité et les différents niveaux de probabilité en fonction de la DO mesurée, en réalisant une comparaison avec le test de relargage de la sérotonine radiomarquée (Serotonin Release Assay (SRA)), considéré comme le gold-standard (64).

- Certains auteurs proposent de réaliser un test de neutralisation à l'héparine en cas de positivité du test ELISA. Le test ELISA peut alors être effectué une seconde fois après ajout d'héparine en excès (100 UI/mL) qui perturbe l'équilibre et la formation des ULC. Une inhibition de l'absorbance supérieure à un seuil fixé en général à 50% par une très forte concentration d'héparine laisse à penser que les anticorps détectés par le test ELISA sont bien héparine-dépendants. Une inhibition d'absorbance inférieure au seuil correspond aux cas où les anticorps détectés par l'ELISA ne sont pas héparine dépendants et donc non responsables de TIH (68,69). Cependant, cette méthode reste assez controversée et son application limitée car en contrepartie d'une augmentation de spécificité, la sensibilité du test pourrait être diminuée notamment dans les cas où les taux d'anticorps sont élevés (70).

5.3.2. Les tests de dépistage rapides (anticorps anti-PF4)

Les tests ELISA réalisés manuellement sont chronophages (3-4h pour une série) et nécessitent du personnel qualifié. Ils sont réalisés en série pour

limiter les coûts ce qui explique des délais de rendu habituellement de plusieurs jours. Des tests rapides (et pour certains unitaires) ont été développés pour pallier à ces inconvénients. Les premiers disponibles sur le marché sont réalisés manuellement et donnent généralement un résultat uniquement qualitatif. Plus récemment, certains fournisseurs ont proposé des tests automatisés. Cinq tests rapides sont actuellement disponibles :

- trois sont manuels : le test d'agglutination sur gel, le test immunochromatographique à flux latéral et l'immunofiltration de particules.
- deux sont automatisés : la détection par chimiluminescence IgG spécifique ou poly-spécifique et le test d'agglutination au latex.

Leur avantage principal est qu'ils sont réalisables 24/24h et 7/7j avec un délai de rendu généralement inférieur à trente minutes. Leur excellente sensibilité et valeur prédictive négative en font des très bons tests de screening bien que leur spécificité soit modérée (71).

5.3.2.1. Le test d'agglutination sur gel ID-PaGIA® Heparin/PF4 Antibody Test (Biorad)

Pour ce test, des particules de polymères colorées sont sensibilisées avec un complexe PF4/héparine, la présence d'anticorps anti-PF4/héparine provoque une agglutination des particules. Après centrifugation de la carte contenant les puits réactionnels, les particules agglutinées sont retenues à la surface du gel ou distribuées dans celui-ci alors que les particules non agglutinées forment un culot au fond du microtube (72) (Figure 6).

D'après les résultats de la méta-analyse de Sun et al. publiée en 2016 (71), la sensibilité du test est de 98% et la spécificité de 88%.

Cette méthode présente cependant plusieurs inconvénients. Premièrement, la technique n'est pas automatisée et la lecture se fait visuellement, source d'une variabilité inter-opérateur. Deuxièmement, le résultat est uniquement qualitatif : positif, négatif, douteux. En cas de résultat douteux ou positif, un test quantitatif supplémentaire est nécessaire pour titrer les anticorps. Troisièmement, le test est poly-spécifique et détecte les IgGAM. La spécificité du test n'est donc pas optimale.

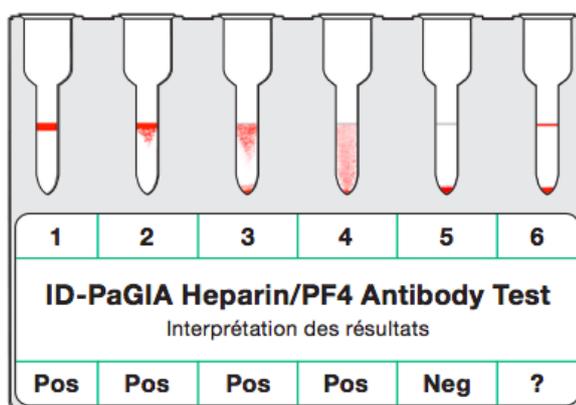


Figure 6 : Carte-ID du test PaGIA schématisant des résultats positifs, négatifs, douteux (d'après la notice fournisseur (72))

Deux études (73,74) ont montré que la performance du test pourrait être améliorée en rendant le résultat de manière semi-quantitative en réalisant des dilutions en série des échantillons positifs ou douteux jusqu'à négativation du test pour titration des anticorps. Nellen et al. rapportent que la performance (exactitude) du test semi-quantitatif, avec une sensibilité de 98,9% et une spécificité de 95,9%, pour un seuil de titration ≥ 4 (c'est-à-dire que l'échantillon devient négatif pour une dilution $\geq 1/4$) est meilleure que celle du test qualitatif non modifié et serait équivalente à la performance d'un test ELISA au seuil optimisé ($DO \approx 1$). Strobel et al. ont suggéré d'augmenter la spécificité du test

en réalisant un test de neutralisation à l'héparine. La réalisation de cette étape supplémentaire doit cependant être évaluée sur des études à plus grande échelle afin de confirmer son impact sur la spécificité du test (75).

5.3.2.2. Le test immunochromatographique à flux latéral STic Expert® HIT (Stago)

Ce test est IgG-spécifique et est basé sur l'immobilisation de nanoparticules d'or recouvertes d'un complexe PF4/héparine qui migre par capillarité le long d'une membrane de nitrocellulose.

Principe : exemple d'un test positif

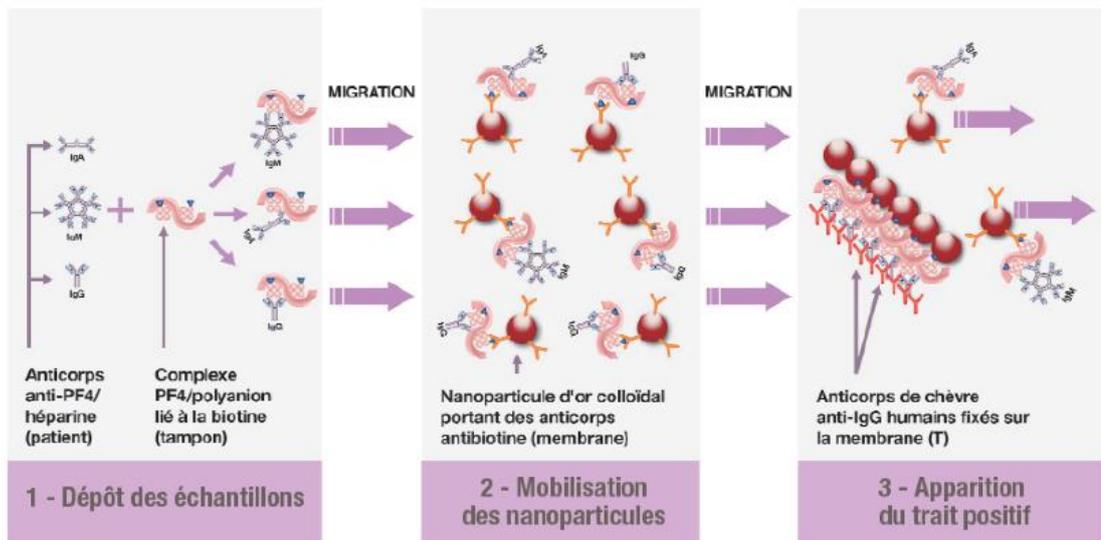


Figure 7 : Principe du test STic Expert® HIT (d'après Stago (76))

Le test est composé de trois zones (Figure 7) :

- la zone de dépôt recevant l'échantillon de sérum du patient et le tampon qui contient des complexes formés de PF4/polyanion liés à la biotine.

- la membrane de nitrocellulose qui contient des nanoparticules d'or conjuguées à des anticorps anti-biotine, qui vont se fixer au complexe PF4/polyanion du tampon par la biotine.
- les deux lignes de réaction : la ligne test au niveau de laquelle sont fixés des anticorps anti-IgG humains et la ligne contrôle qui témoigne de la bonne migration de l'échantillon à travers la membrane et au niveau de laquelle sont fixés des anticorps anti-ligand. Si les anticorps anti-PF4/héparine sont présents, la ligne test se colore grâce à l'immobilisation du complexe PF4/héparine contenant les nanoparticules d'or (77).

D'après les résultats de Sun et al., la sensibilité du test est de 97% et sa spécificité est de 91% (71).

Les inconvénients du test sont que la technique n'est pas automatisée, la lecture se fait visuellement, source de variabilité inter-opérateur et le résultat est qualitatif : positif ou négatif.

Sachs et al. (78) ont donc proposé d'utiliser un lecteur scanner pour une lecture automatique de la bande « test » pour s'affranchir de la variabilité de lecture inter-opérateur. Ce lecteur permet de rendre les résultats de manière quantitative (volts) : dans cette étude, le seuil de 137 mV permettait d'obtenir un compromis optimal entre la sensibilité et la spécificité dont les valeurs étaient de 97% et 95%.

5.3.2.3. L'immunofiltration de particules PIFA® Heparin/PF4 Rapid Assay (Akers Biosciences)

Ce test manuel est constitué de trois parties successives : une chambre de réaction, une membrane de filtration et une fenêtre de résultat (test et

contrôle). Dans la chambre de réaction, des microparticules colorées sont recouvertes de PF4. Si le sérum du patient contient des anticorps spécifiques anti-PF4, il y a formation d'agrégats dans la chambre qui ne passent pas la membrane de filtration et n'entraîne pas de changement de couleur au niveau de la fenêtre de résultat. Si les anticorps spécifiques sont absents, les microparticules traversent la membrane de filtration et la fenêtre de résultat se colore en bleu (79). Ce test est poly-spécifique et qualitatif et requiert une lecture visuelle.

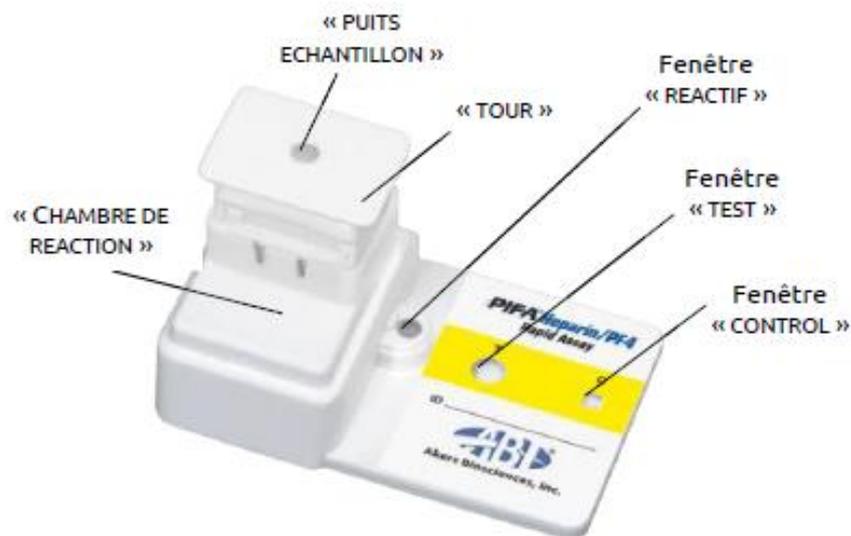


Figure 8 : PIFA® Héparine/PF4 « mini-réacteur » (79)

Peu d'études ont été réalisées pour déterminer la sensibilité et spécificité de ce test et les résultats sont discordants, la première datant de 2014 rapporte une sensibilité et spécificité de 100% et 70% (80) alors que la deuxième étude de 2018 rapporte une sensibilité et une spécificité de 50% et 73.5% respectivement (81).

5.3.2.4. La chimiluminescence IgG spécifique ou poly-spécifique HemosIL® AcuStar HIT-IgG et HIT-Ab (Werfen)

Le principe de ce test (Figure 9) repose sur l'utilisation de particules magnétiques recouvertes de PF4/PVS qui fixent les anticorps anti-PF4/héparine du patient. Un anticorps secondaire (IgG-spécifique ou poly-spécifique en fonction du test) marqué à l'isoluminol est ajouté à la réaction. L'émission de lumière, après ajout du réactif déclencheur, est proportionnelle à la concentration en anticorps anti-PF4/héparine. Les résultats sont exprimés en unités internationales par millilitre (UI/mL). Le seuil de positivité proposé par le fabricant pour le test IgG-spécifique est de 1 UI/mL pour obtenir un rapport sensibilité/spécificité optimal (82).

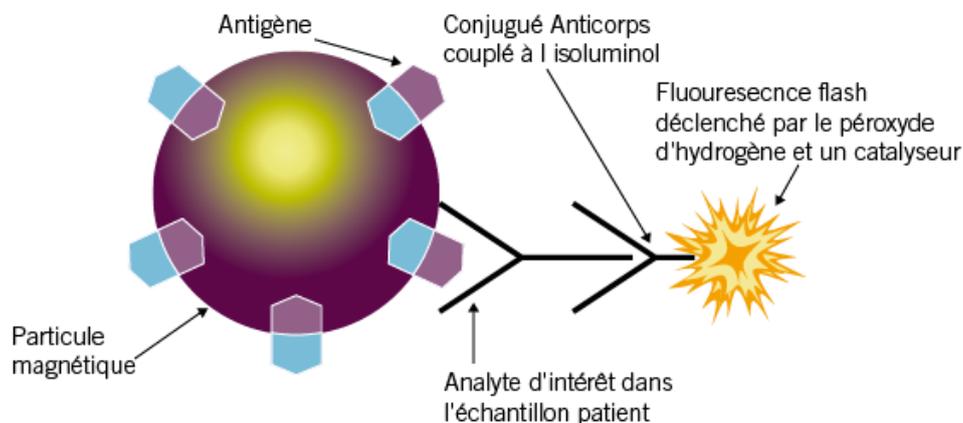


Figure 9 : Principe de la méthode par chimiluminescence (d'après Werfen (83))

D'après les résultats de Sun (71), la sensibilité du test est supérieure à 95% et la spécificité est de 82% pour le test poly-spécifique et de 94% pour le test IgG-spécifique.

Le test a l'avantage d'être automatisé avec une très bonne reproductibilité inter-laboratoire et une très bonne sensibilité. En revanche il est plus coûteux que l'ELISA ou le test d'agglutination sur gel. Toutefois une étude a démontré une réduction du coût total de la prise en charge des patients (diminution du nombre de tests fonctionnels et de patients traités par anticoagulant non-héparinique) lorsque le screening était fait par un test de chimiluminescence IgG-spécifique seul par rapport à une association des tests d'agglutination sur gel et d'ELISA IgG-spécifique (84).

Dans une étude récente (85), trois niveaux ont été proposés par Warkentin pour le test de chimiluminescence IgG-spécifique. Entre 1 et 4.99 UI/mL la probabilité de TIH est de 45.5%. Entre 5 et 19.99 UI/mL, elle est de 90.9% et lorsque le résultat est supérieur ou égal à 20 UI/mL elle est de 100%. D'autres études semblent toutefois nécessaires pour confirmer ces trois niveaux.

5.3.2.5. Le test d'agglutination au latex HemosIL® HIT-Ab (Werfen)

Ce test immunoturbodimétrique automatisé, repose sur l'utilisation des particules de latex recouvertes d'anticorps anti-PF4/héparine mises en présence des complexes PF4/PVS et du plasma du patient. Si l'échantillon patient contient des anticorps anti-PF4/Héparine, une réaction d'agglutination compétitive se met en place. L'agglutination est inversement proportionnelle à la concentration d'anticorps de l'échantillon. Le seuil de positivité défini par le fournisseur est de 1 UI/mL (86).

Trois études (87–89) rapportent une sensibilité comprise entre 96 et 100% et une spécificité de 75 à 94% pour une valeur seuil définie à 1 UI/mL.

Le caractère poly-spécifique du test peut expliquer sa faible spécificité. Le principal avantage de ce test est qu'il est entièrement automatisé ce qui diminue les variabilités inter-opérateur et intra-laboratoire.

Des études complémentaires sont nécessaires afin d'étudier l'impact sur les performances diagnostiques du test d'une élévation du seuil de positivité proposé par le fabricant. Althaus et al. (87) ont décrit qu'une élévation du seuil à 3.85 UI/L améliorerait grandement la spécificité (98.9% vs 75.6%) sans trop impacter la sensibilité (95% vs 100%). La probabilité de TIH semble corrélée à la force de positivité du test (89).

5.4. Les tests fonctionnels d'activation plaquettaire

Ces tests évaluent la capacité des anticorps anti-PF4/héparine du patient à activer les plaquettes en présence d'héparine. Ces tests ont une meilleure spécificité que les tests immunologiques (90).

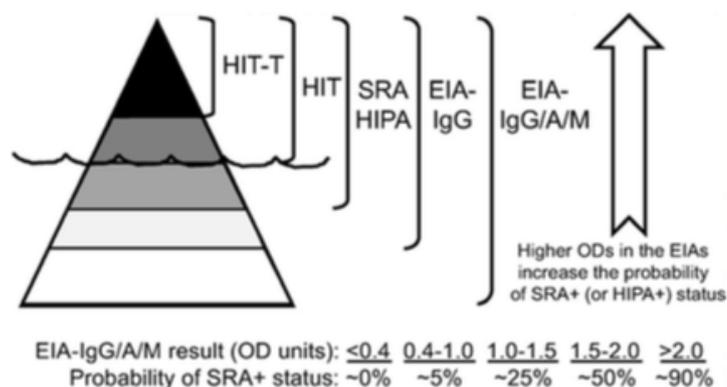


Figure 10 : "Modèle de l'iceberg" (d'après Warkentin (91))

Ce sont des tests complexes qui ne peuvent pas être réalisés en première ligne lors du diagnostic de TIH mais sont généralement réalisés en seconde

intention afin de confirmer le diagnostic en cas de positivité des anticorps anti-PF4/héparine (92,93).

Warkentin a décrit le « modèle de l'iceberg » (Figure 10) afin de mettre en évidence que les tests immunologiques sont moins spécifiques de la TIH que les tests fonctionnels (SRA et HIPA) même si cette spécificité peut être améliorée grâce à des tests IgG-spécifiques plutôt que poly-spécifique et en prenant en compte la valeur de la DO.

Actuellement, les trois principaux tests sont le test de libération de la sérotonine radiomarquée (SRA), le test d'activation plaquettaire induit par l'héparine sur plaquettes lavées (HIPA) et l'équivalent sur plasma riche en plaquettes (PRP) qui correspond au test d'agrégation plaquettaire en présence d'héparine (TAPH). Le SRA fait office de gold-standard. Le Tableau 7 récapitule l'ensemble des tests fonctionnels existants.

5.4.1. Les tests de libération de la sérotonine

5.4.1.1. Le SRA (Test de libération de la sérotonine radiomarquée)

Le plasma riche en plaquettes d'un donneur sain est incubé en présence de sérotonine marquée au carbone 14 (Figure 11). Les plaquettes absorbent la sérotonine et la stocke dans leurs granules. Les plaquettes sont ensuite lavées. Le sérum ou le plasma du patient subit une étape de chauffage visant à éliminer les traces de thrombine pour éviter une agrégation non spécifique. Puis, l'échantillon patient est incubé pendant soixante minutes en présence des plaquettes lavées du donneur et d'héparine à concentration thérapeutique et supra-thérapeutique dans une plaque de micro-titration sur agitateur de plaques. Le mélange réactionnel est ensuite centrifugé et la radioactivité est

mesurée dans le surnageant. Le résultat est exprimé en pourcentage de libération de sérotonine radio-marquée par rapport à un taux de 100% mesuré après lyse des plaquettes par un détergent. Le test est considéré comme positif s'il est > 20% en présence d'héparine à concentration thérapeutique et <20 % à concentration supra-thérapeutique en héparine (94).

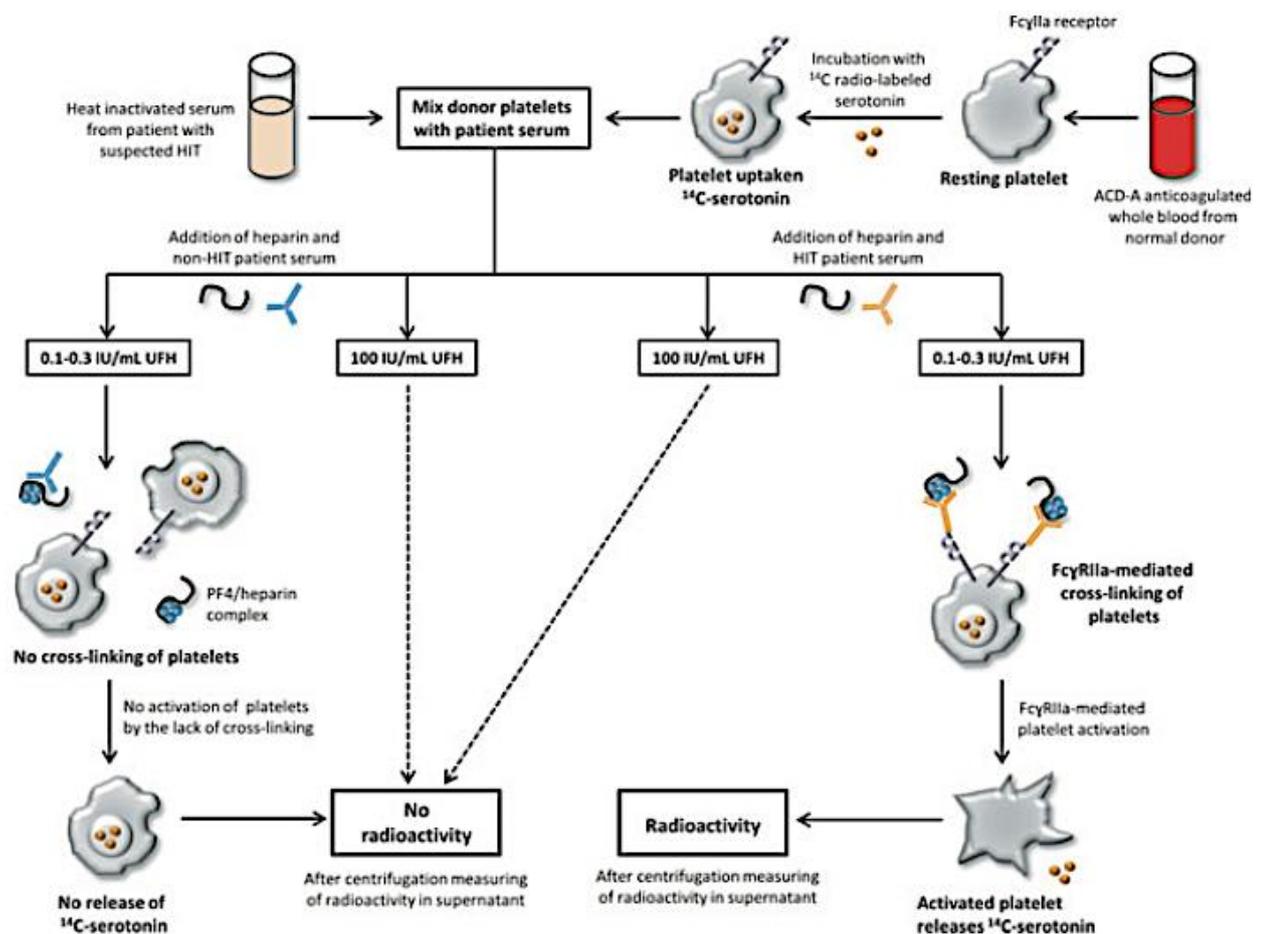


Figure 11 : Principe du test de libération de la sérotonine radiomarquée (d'après Bakchoul (92))

5.4.1.2. Tests dérivés du SRA

L'inconvénient principale de la technique SRA classique est lié à l'utilisation de matériel radioactif dans un laboratoire très spécialisé et agréé avec du

personnel qualifié. Des alternatives au SRA classique ont été proposées ; trois techniques sont ainsi basées sur la mesure de la libération de sérotonine non radiomarquée. Cependant, peu d'études ont été réalisées à ce jour.

- La première technique est une analyse par CMF (95). Après incubation de l'échantillon à tester avec du PRP du donneur en présence d'héparine, la méthode consiste à mesurer la baisse de concentration de sérotonine intra-plaquettaire qui fait suite à la sécrétion des granules denses après activation plaquettaire au moyen d'un anticorps anti-sérotonine couplé à un fluorochrome.
- La deuxième méthode est un test ELISA (96) ; la technique est la même que pour le test de libération de sérotonine radiomarquée à la seule différence qu'au lieu d'incuber les plaquettes du donneur avec de la sérotonine radiomarquée, elles sont incubées avec de la sérotonine marquée par un analyte biochimique. La détection se fait grâce à un anticorps dirigé contre cet analyte.
- La troisième technique est la mesure par chromatographie en phase liquide à haute performance de la sérotonine libérée dans le surnageant après incubation du plasma du patient avec du PRP de donneur en présence d'héparine (97,98).

5.4.2. Tests basés sur la mesure de l'agrégation plaquettaire

5.4.2.1. Le test HIPA

Les plaquettes de plusieurs (généralement quatre) donneurs sains sont lavées et incubées avec le sérum ou plasma du patient et de l'héparine à concentration thérapeutique et supra-thérapeutique avec une agitation magnétique. La formation d'agrégats plaquettaires est mesurée optiquement par un agrégomètre qui mesure la transmittance pendant quarante-cinq minutes (Figure 12). Le test est positif si des agrégats sont formés en moins de trente minutes en présence d'héparine à concentration thérapeutique (mais pas à concentration supra-thérapeutique) avec les plaquettes d'au moins deux des donneurs. En pratique, de nombreux laboratoires semblent retenir le diagnostic quand le test est positif avec un seul donneur (92).

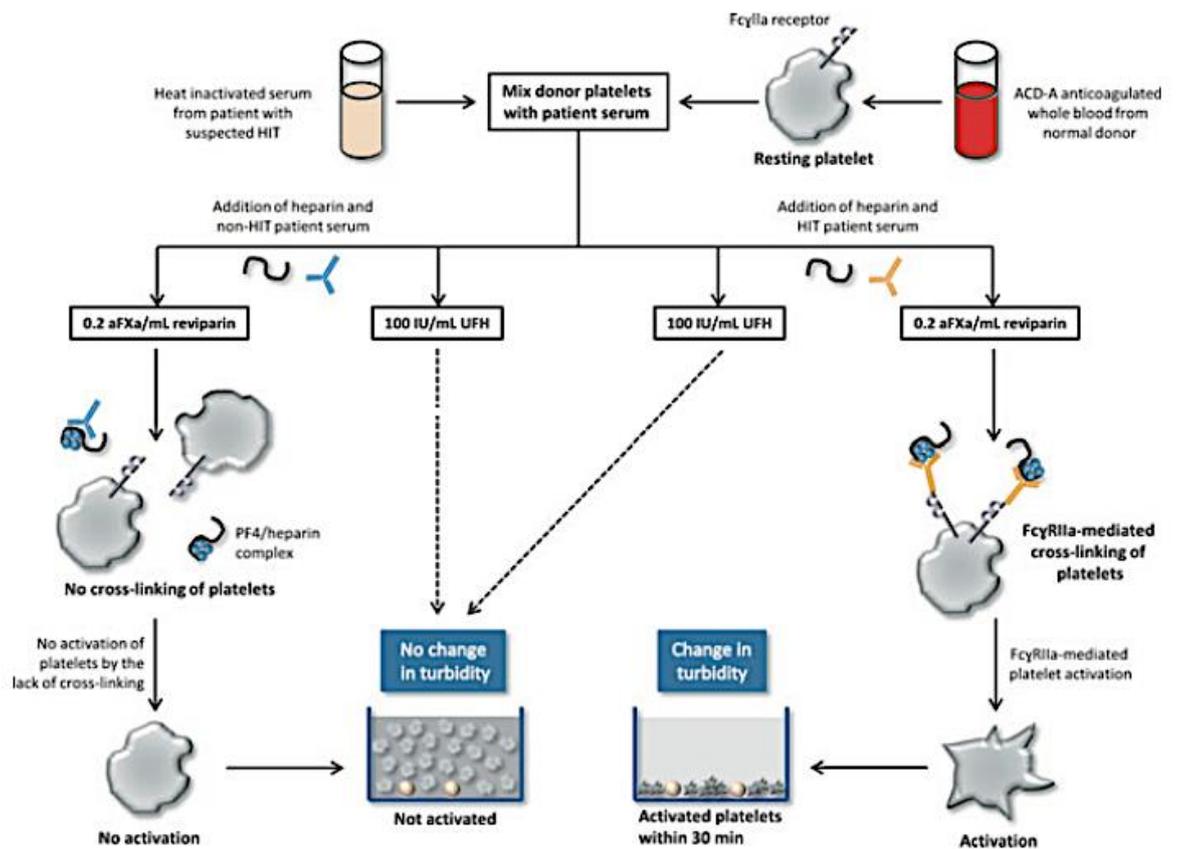


Figure 12 : Principe du test d'activation plaquettaire induit par l'héparine (d'après Bakchoul (92))

Pour les tests fonctionnels sur plaquettes lavées (SRA et HIPA), les héparines recommandées sont les héparines non fractionnées et la reviparine ou l'énoxaparine (93) pour les héparines de bas poids moléculaire à une concentration thérapeutique comprise entre 0.1 et 0.3 UI/mL et une concentration supra-thérapeutique de 100 UI/mL.

Pour augmenter la spécificité des tests fonctionnels, l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-Fc γ RIIa a été proposée pour vérifier que l'activation des plaquettes est bien dépendante des récepteurs Fc γ RIIa (93).

Plusieurs difficultés demeurent :

- Le lavage des plaquettes préconisé et réalisé dans le HIPA et le SRA est une procédure longue et complexe qui nécessite de réaliser le prélèvement sur un tube spécifique et le traitement se fait ensuite par centrifugations successives et remise en suspension dans des tampons différents. Le lavage des plaquettes a de nombreux avantages par rapport au PRP car l'absence de plasma limite l'agrégation des plaquettes indépendantes de l'héparine (liée aux IgG, fibrinogène), les centrifugations permettent la libération de PF4 ce qui améliore la formation des complexes PF4/héparine, et l'apyrase contenue dans le premier tampon évite l'accumulation d'ADP qui a tendance à désensibiliser les plaquettes à ce nucléotide. Enfin, les concentrations physiologiques de calcium dans le second tampon induisent une activation plaquettaire optimale (93).
- La réponse aux tests fonctionnels dépend des plaquettes des donneurs testés. La sélection de donneurs est difficile et impacte sur la sensibilité et la spécificité du test et la variabilité inter-laboratoire. Aucune recommandation internationale n'aborde ce point de façon précise. Tous les individus ne répondent pas de la même manière aux anticorps anti-PF4/héparine. Cette variabilité interindividuelle peut être liée aux récepteurs Fc γ RIIa (31) ou à la prise de traitements inhibant les plaquettes (anti-inflammatoires non stéroïdiens) (98). La sélection de « bons répondeurs » peut être faite en testant les plaquettes avec un échantillon patient TIH très fortement positif et un faiblement positif. Dans le cas où aucun échantillon n'est connu positif par le laboratoire, des anticorps anti-

CD9 ALB6 capables d'activer les plaquettes pourraient être utilisés pour évaluer la réactivité Fc γ RIIa dépendante des plaquettes du donneur (99). La variabilité liée aux plaquettes selon les donneurs peut être limitée en testant simultanément plusieurs donneurs (93).

5.4.2.2. Le Test d'agrégation plaquettaire en présence d'héparine (TAPH)

Le principe du test est le même que celui du test HIPA à la différence que l'analyse est réalisée à partir du PRP du donneur et non de plaquettes lavées. Il est recommandé d'utiliser une concentration thérapeutique d'héparine comprise entre 0.5 et 1 UI/mL et une concentration supra-thérapeutique de 100 UI/mL. En cas d'inhibition partielle de l'agrégation, cette concentration peut être augmentée jusqu'à 500 UI/mL (93). Comme pour tous les tests fonctionnels, il est recommandé de tester le PRP de plusieurs donneurs afin d'augmenter la sensibilité du test (100).

5.4.2.3. L'agrégométrie à électrodes multiples induite par l'héparine (HIMEA)

Le HIMEA est un test fonctionnel émergent qui a la particularité par rapport aux autres tests d'être réalisé sur du sang total en réalisant un mélange de sang du patient avec du sang de donneur. La mesure de l'agrégation se fait par impédancemétrie : le changement de conductivité entre deux électrodes plongées dans le milieu réactionnel est mesuré. Les plaquettes activées se lient aux électrodes et font varier l'impédance. La durée de l'analyse est de quinze minutes et le résultat est exprimé en unités arbitraires d'une aire sous la courbe (101). L'avantage majeur d'utiliser du sang total est une étape pré-

analytique moins complexe et moins longue. Il faut en revanche respecter la compatibilité ABO pour le mélange des sang totaux patient-donneurs : un donneur de groupe sanguin O est nécessaire (102). De la même manière que pour les plaquettes lavées, le sang du donneur influe sur la sensibilité du test et la sélection doit donc être faite de façon à ce que seuls les bons répondeurs soient testés. D'après une étude de Morel-Kopp et al. (103), le sang total du donneur doit être prélevé préférentiellement sur tube hirudine pour augmenter la sensibilité du test du fait de la disponibilité des cations divalents mais le prélèvement peut également se faire sur tube citrate. D'après Morel-Kopp al., en prenant comme référence le SRA, la sensibilité et spécificité de l'HIMEA sont de 90,3% et de 89% respectivement (103).

5.4.3. Autres tests

D'autres tests, pour la plupart non validés pour le diagnostic de TIH, ont été proposés pour évaluer l'activation des plaquettes de donneurs en présence d'héparine par le sérum ou le plasma du patient suspect de TIH.

5.4.3.1. Mesure de l'expression des glycoprotéines plaquettaires membranaires

Il est possible par CMF de mesurer l'activation des plaquettes en mesurant la densité membranaire de certains marqueurs d'activation (ex : CD62) au moyen d'anticorps marqués par un fluorochrome. Le sang total ou le plasma riche en plaquettes du donneur est mis en présence de l'échantillon patient (plasma ou sérum), d'héparine à différentes concentrations et de deux marqueurs de surface (un marqueur plaquettaire et un marqueur d'activation

plaquettaire) (104). Dans la 3^{ème} partie du travail, nous évaluerons l'une de ces méthodes (Test HIT Confirm® (Emosis))

5.4.3.2. Mesure de la génération de microparticules plaquettaires

Les plaquettes activées libèrent des microparticules qui servent de surface catalytique pour la génération de thrombine. Ces microparticules peuvent être quantifiées par CMF selon le même principe que celui utilisé pour la mesure de l'expression des glycoprotéines plaquettaires membranaires en les sélectionnant par leur taille, pour les différencier des plaquettes (105).

5.4.3.3. Evaluation de l'activité pro-coagulante des plaquettes

Comme décrit précédemment, les microparticules libérées par les plaquettes activées sont procoagulantes et servent de surface catalytique pour la génération de thrombine. Tardy et al. ont proposé l'utilisation d'un test de génération de thrombine afin d'évaluer cette activité pro-coagulante. Après incubation de l'échantillon patient avec du plasma témoin et de l'héparine, la réaction nécessite l'ajout de facteur tissulaire, calcium et d'un substrat fluorogénique de la thrombine. La thrombine générée hydrolyse le substrat fluorogénique (106).

5.4.3.4. Lumiagrégométrie (ATP Release)

Cuker et al. ont développé un test fonctionnel basé sur l'ATP libérée lors de l'activation plaquettaire, qui en réagissant avec la luciférase entraîne l'émission de lumière mesurée par chimiluminescence (107).

5.4.3.5. Mesure du clivage des récepteurs Fc γ RIIa

Navi et al. sont partis du principe que la fixation aux récepteurs Fc γ RIIa des complexes IgG agonistes entraînerait leur protéolyse et la rétention membranaire d'un composé de 32 kDa. Le clivage des récepteurs Fc γ RIIa reflète donc leur activation. Après incubation de l'échantillon patient avec les plaquettes du donneur et l'héparine, un inhibiteur de protéase est ajouté et les plaquettes sont lysées. Puis, la mesure du clivage des récepteurs Fc γ RIIa se fait par une technique de western-blot (108).

Tableau 7 : Tableau récapitulatif des tests fonctionnels

Test	Principe	Méthode	Nature de l'échantillon témoin
Tests de libération de la sérotonine			
SRA	Mesure de la libération de sérotonine radiomarquée	Radio-analyse	Plaquettes lavées
Tests dérivés du SRA	Mesure de la diminution de la concentration de sérotonine intra-plaquettaire	Cytométrie en flux	
	Mesure de la libération de sérotonine marquée par un analyte biochimique	ELISA	
	Mesure de la libération de sérotonine	Chromatographie liquide haute performance	
Tests basés sur la mesure de l'agrégation plaquettaire			
HIPA	Mesure de la diminution de la transmittance liée à la formation d'agrégats	Agrégométrie	Plaquettes lavées
TAPH	Mesure de la diminution de la transmittance liée à la formation d'agrégats	Agrégométrie	PRP
HIMEA	Mesure de la variation d'impédance liée à l'activation plaquettaire	Impédancemétrie	Sang total
Autres tests			
Mesure de l'expression des glycoprotéines plaquettaires membranaires		Cytométrie en flux	Sang total ou PRP
Mesure de la génération de microparticules plaquettaires		Cytométrie en flux	Sang total ou PRP
Evaluation de l'activité pro-coagulante des plaquettes		Test de génération de thrombine	Plasma
Mesure de l'ATP libérée lors de l'activation plaquettaire		Lumiagrégométrie	Plasma
Mesure du clivage des récepteurs Fc γ RIIa		Western-Blot	Sérum

5.4.4. Remarques générales sur les tests fonctionnels

L'inconvénient de l'utilisation de plasma riche en plaquettes ou de sang total du donneur et non de plaquettes lavées, notamment pour les tests TAPH et HIMEA est la possible diminution de la spécificité liée à une interférence des IgG, du calcium ou de protéines de la phase aiguë de l'inflammation qui peuvent conduire à un test faussement positif (93).

Les performances des tests, sensibilité et spécificité ne sont pas clairement définies et peuvent varier d'une étude à l'autre. Cela s'explique d'une part par un manque de standardisation de la définition des patients TIH positifs dans les études (patients TIH définis cliniquement ou par test biologique gold-standard ou non) et d'autre part par l'influence majeure de plaquettes des donneurs.

5.5. Algorithmes diagnostiques

5.5.1. Comparaison des différentes recommandations concernant le diagnostic de la TIH

Ces dernières années, des recommandations pour le diagnostic de la TIH ont été proposées ; au Royaume-Uni en 2012 dans le British Journal of Haematology (BJH) (109), aux États-Unis en 2018 par la Société américaine d'hématologie (ASH) (110) et en 2019 en France par le groupe d'intérêt en Hémostase Périopératoire (GIHP) et le groupe Français d'études sur l'Hémostase et la Thrombose (GFHT) (Annexe 1 (6)).

Une comparaison de ces recommandations est proposée dans le Tableau 8 concernant le diagnostic clinico-biologique. Les recommandations américaines

CHEST 2012 n'abordant pas de façon précise la partie diagnostiques n'ont pas été prises en compte.

La principale différence que nous avons relevée concerne la réalisation d'un test fonctionnel chez les patients avec un score 4T élevé : lorsque le test immunologique est négatif le GIHP/GFHT propose dans son algorithme sa réalisation alors que l'ASH et les recommandations britanniques ne proposent pas de réaliser de test fonctionnel considérant qu'un test immunologique hautement sensible est suffisant pour exclure le diagnostic. La société française justifie cette recommandation par le risque de faux négatifs du test immunologique qui pourraient être liés aux cas exceptionnels et controversés de TIH avec des anticorps anti-interleukine 8. Les recommandations de l'ASH et du GIHP/GFHT s'accordent pour dire qu'un test fonctionnel n'est pas indispensable pour retenir le diagnostic si la densité optique des anticorps anti-PF4 est supérieure à 2 en présence d'une probabilité clinique élevée.

Tableau 8 : Comparaison des recommandations du BJH 2012, de l'ASH 2018 et du GIHP/GFHT 2019 concernant le diagnostic clinico-biologique et la posologie de l'anticoagulant

	BJH 2012	ASH 2018	GIHP/GFHT 2019
Score 4T			
Recommandé	Oui	Oui	Oui (hors contexte de chirurgie cardiaque)
Score 4T faible <3			
Le diagnostic de TIH peut être exclu	Oui	Oui	Oui
Arrêt de l'héparine	NR	Non	Non
Tests biologiques	Non	Non (sauf si score 4T incertain car données manquantes)	Non (sauf si score 4T incertain car données manquantes)
Score 4T intermédiaire (4 – 5)			
Arrêt de l'héparine	Oui	Oui	Oui Poursuite de l'héparine possible si résultat du test immunologique <3h
Anticoagulation non héparinique	Oui	Oui	Oui
Schéma d'administration	Curatif	Curatif : si risque de saignement faible Prophylactique : si risque de saignement élevé et pas d'autre indication d'une anticoagulation curative	Curatif
Réalisation de tests immunologiques	Oui	Oui	Oui
Test immunologique négatif	TIH exclue si ELISA ou équivalent négatif	Arrêt de l'anticoagulation non héparinique et réintroduction de l'héparine si indiquée	Poursuite ou reprise de l'héparine
Test immunologique positif	NR	Poursuite de l'anticoagulation non héparinique à dose curative pour tous les patients	Poursuite ou instauration d'une anticoagulation non héparinique
Réalisation de tests fonctionnels	Si test immunologique de haute sensibilité positif	Uniquement si test immunologique positif	Uniquement si test immunologique positif
Score 4T élevé (≥6)			
Arrêt de l'héparine	Oui	Oui	Oui
Anticoagulation non héparinique	Oui	Oui	Oui
Schéma d'administration	Curatif	Curatif	Curatif
Réalisation de tests immunologiques	Oui	Oui	Oui
Test immunologique négatif	TIH exclue si test immunologique de haute sensibilité	Arrêt de l'anticoagulation non héparinique et réintroduction de l'héparine si indiquée Si forte suspicion : réévaluation clinique + répéter le même test immunologique ou en réaliser un autre +/- test fonctionnel	Test fonctionnel proposé
Test immunologique positif	NR	Poursuite de l'anticoagulation non héparinique à dose curative pour tous les patients	Si la DO du test immunologique est > 2, le diagnostic de TIH peut être retenu sans test fonctionnel
Réalisation de tests fonctionnels	Si test immunologique de haute sensibilité positif	Uniquement si test immunologique positif Sauf si DO > 2 le test fonctionnel n'est pas nécessaire	Oui Sauf si DO > 2 le test fonctionnel n'est pas nécessaire

NR : non renseigné

5.5.2. Algorithme du CHUGA

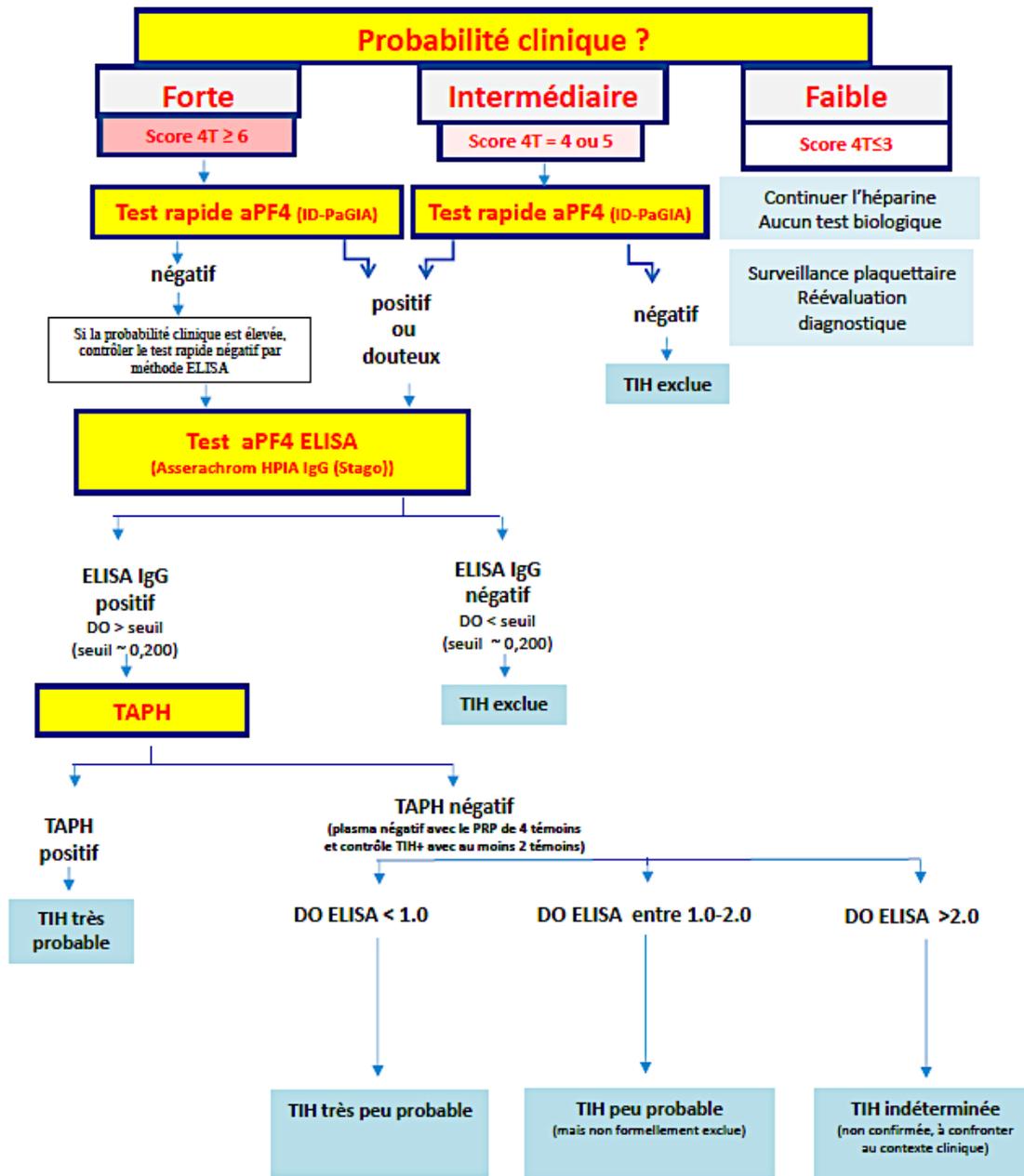


Figure 13 : Algorithme décisionnel du CHUGA pour le diagnostic de TIH (111)

Concernant l'algorithme décisionnel utilisé au laboratoire du CHUGA (Figure 13) :

- Dans le cas où le score 4T est faible, il est recommandé de poursuivre le traitement héparinique sans réaliser d'analyses biologiques complémentaires.
- Dans le cas où le score 4T est intermédiaire ou élevé, il est recommandé d'arrêter l'héparine et d'initier une anticoagulation non héparinique (111). Concernant l'exploration biologique de la TIH, un test immunologique rapide est réalisé (ID-PaGIA® immunogel (Biorad)) en première intention ; si le score 4T est intermédiaire et que le test est négatif, le diagnostic de TIH est éliminé et l'héparine peut être reprise. En revanche, si le score 4T est intermédiaire et que le test immunologique rapide est positif ou si le score 4T est élevé quel que soit le résultat du test rapide il est recommandé de réaliser un test immunologique de type ELISA IgG-spécifique (Asserachrom® IgG (Stago)). Si le test ELISA est négatif, la TIH est éliminée et le traitement héparinique est repris si nécessaire. Si le test ELISA est positif, un test fonctionnel de type TAPH est réalisé pour confirmer le diagnostic en cas de positivité.

6. Surveillance de la numération plaquettaire

Une numération plaquettaire de base doit être effectuée dans l'idéal avant de débiter le traitement par héparine afin d'avoir une valeur de référence (6,109). Comme représenté précédemment sur le Tableau 1 de la partie épidémiologie, il existe trois niveaux de risque de TIH. Le risque de TIH peut être faible (<0.1%), intermédiaire (0.1 – 1 %) ou élevé (>1%). Ces 3 niveaux

de risques ont servi de base pour les recommandations de l'ASH (110) et du GIHP/GFHT (6) concernant la surveillance de la numération plaquettaire.

- Si le risque de TIH est faible, aucune surveillance n'est recommandée.
- Si le risque de TIH est intermédiaire ou élevé, il est recommandé de réaliser une surveillance de la numération plaquettaire du quatrième au quatorzième jour ou jusqu'à l'arrêt de l'héparine si l'héparine est arrêtée avant le quatorzième jour. L'ASH recommande de débiter cette surveillance dès le premier jour de traitement pour les patients ayant reçu de l'héparine durant les trente derniers jours et le GIHP/GFHT recommande de poursuivre la surveillance jusqu'à trente jours avec une surveillance « allégée » après le quatorzième jour. En cas de risque intermédiaire, la numération doit être contrôlée tous les deux à trois jours. En cas de risque élevé, les recommandations de l'ASH sont de contrôler la numération toutes les 48h.

7. Traitements anticoagulants

7.1. Phase aigüe de la TIH

Le traitement d'une TIH suspectée ou avérée nécessite l'arrêt de l'héparine et l'introduction d'une anticoagulation efficace par un anticoagulant non héparinique.

- Pour les patients ayant une TIH sans évènement thromboembolique, l'ASH (110) recommande de traiter les patients au minimum jusqu'au retour à la normale de la numération plaquettaire (150 G/L) et au maximum pour une durée de trois mois. Le GIHP/GFHT (6) recommande une durée de traitement au minimum de quatre semaines.

- Pour les patients ayant une TIH avec évènement thromboembolique, la durée de traitement recommandée par l'ASH et le GIHP/GFHT est de trois à six mois (6,110).

Le choix du traitement anticoagulant est fonction de plusieurs facteurs. Les facteurs déterminants sont notamment la présence d'une insuffisance hépatique et/ou rénale, la présence de thrombose, le risque hémorragique et la stabilité clinique, la disponibilité du traitement, la voie d'administration et les modalités de surveillance biologique, la demi-vie et la voie d'élimination (6).

Plusieurs médicaments anticoagulants sont susceptibles d'être utilisés :

- Deux ont l'AMM en France et peuvent être utilisées en relai de l'héparine à la phase aiguë de la TIH : l'argatroban (Arganova®) et la danaparoïde sodique (Orgaran®)
- Un n'était plus disponible en France depuis quelques années : la bilavirudine (Angiox®) et est de nouveau disponible sous forme générique.
- Le fondaparinux n'a pas l'AMM mais plusieurs sociétés savantes indiquent qu'il est possible de l'utiliser à la phase aiguë chez les patients stables et en cas de thromboses non sévères, ou en cas d'antécédents de TIH.
- Le rivaroxaban pourrait également être utilisé chez ce profil de patients d'après les recommandations de l'ASH 2018 et le GIHP/GFHT 2019.

7.1.1. La danaparoïde sodique (Orgaran®)

La danaparoïde sodique est un mélange de glycosaminoglycanes sulfatés de bas poids moléculaire extraits de la muqueuse intestinale de porc, renfermant du sulfate d'héparane, du sulfate de dermatane et du sulfate de chondroïtine. Son rapport activité anti-Xa/anti-IIa est élevé (>20). La molécule n'a pas d'effet sur le temps de Quick TQ mais allonge modérément le TCA. L'élimination est rénale et les demi-vies sont de 25h pour l'activité anti-Xa et de 7h pour l'activité anti-IIa. La danaparoïde s'administre par voie sous-cutanée ou intraveineuse, l'administration n'est pas recommandée en 1^{ère} intention en cas d'insuffisance rénale sévère et le suivi biologique se fait en mesurant l'activité anti-Xa (en association à des numérations plaquettaires répétées). Le traitement prophylactique ou curatif des manifestations thromboemboliques à la phase aigüe d'une TIH ou en cas d'antécédents de TIH fait partie des indications pour lesquelles le médicament a reçu une autorisation de mise sur le marché.

Tableau 9 : Danaparoïde : synthèse des recommandations concernant la durée de traitement et la posologie en cas de traitement prophylactique d'après les RCP (112)

	Traitement prophylactique	
	TIH aigüe ¹	Antécédents de TIH
Modalité d'administration	Sous-cutanée	
Durée	7 à 10 jours ou jusqu'à diminution du risque thromboembolique ²	
≤ 90 kg	750 U anti-Xa 3x/jour	750 U anti-Xa 2x/jour
> 90 kg	1250 U anti-Xa 3x/jour	1250 U anti-Xa 2x/jour

¹Le schéma prophylactique décrit dans les RCP n'est pas recommandé par les sociétés savantes où un schéma curatif est le plus souvent indiqué. Toutefois l'ASH 2018 propose ce schéma chez les patients à risque hémorragique élevé en l'absence d'autres indications curatives.

²La durée préconisée en cas de TIH aigüe sans thrombose est au minimum la durée nécessaire jusqu'au retour à la normale de la numération plaquettaire (150 G/L) pour l'ASH et de 4 semaines pour le GIHP/GFHT.

Tableau 10 : Danaparoïde : synthèse des recommandations concernant la durée de traitement et la posologie en cas de traitement curatif d'après les RCP (112)

	Traitement curatif	
	TIH aigue	Antécédents de TIH
	BOLUS	
≤ 55 kg	1250 U anti-Xa	
55-90 kg	2500 U anti-Xa	
> 90 kg	3750 U anti-Xa	
ENTRETIEN		
Modalité d'administration	Intraveineuse (IV)	Sous-cutanée (SC)
Durée	5 à 7 jours	
≤ 55 kg	400 U/h pendant 4h, 300 U/h pendant 4h, 150 à 200 U/h à adapter en fonction de l'activité anti-Xa	1500 U anti-Xa 2x/jour
55-90 kg		2000 U anti-Xa 2x/jour
> 90 kg		1750 U anti-Xa 3x/jour
Relai par AVK	<p>Pour les patients en traitement IV ; passage à la voie SC ≤ 55 kg : 750 U anti-Xa 2x/jour 55-90 kg : 1000 U anti-Xa 2x/jour > 90 kg : 1250 U anti-Xa 2x/jour Après 5 à 7 jours de traitement Plaquettes > 100 G/L Administration des 2 traitements en parallèle > 72h INR à contrôler avant l'injection de danaparoïde du matin INR dans la zone thérapeutique 2 jours de suite : arrêt du danaparoïde</p>	

Concernant la surveillance biologique, lors de traitements prophylactiques, la surveillance biologique de l'activité anti-Xa d'après les RCP n'est pas nécessaire en dehors de cas particuliers tels que les insuffisants rénaux ou en cas de poids extrêmes.

Lors de traitements curatifs, la surveillance biologique de l'activité anti-Xa est recommandée dans les RCP en cas de surpoids, cachexie, insuffisance rénale ou de risque hémorragique élevé. Toutefois, le GIHP/GFHT recommande cette surveillance de façon systématique. Si l'administration se fait par voie intraveineuse, l'activité plasmatique pendant le traitement d'entretien (trois à cinq jours après le début du traitement) doit être comprise entre 0,5 et 0,8 unités/mL. Si l'administration se fait par voie sous-cutanée,

l'activité anti-Xa plasmatique mesurée après trois jours de traitement et à mi-chemin entre deux injections doit être comprise entre 0,4 et 0,8 unités/mL.

Dans tous les cas, la numération plaquettaire doit être réalisée quotidiennement jusqu'à son retour à la normale.

Du fait de l'existence d'une réactivité croisée rare avec les anticorps de la TIH, le traitement doit être arrêté et remplacé par un traitement alternatif en cas d'apparition d'une nouvelle thrombose, d'extension d'une thrombose préexistante, d'absence de correction de la numération plaquettaire ou d'aggravation de la thrombopénie après avoir vérifié que le traitement était administré à la bonne concentration (113,114).

Avant d'effectuer un relai par un AVK, une modification de traitement sera effectuée pour les patients recevant le traitement aux posologies les plus élevées ou par voie intraveineuse afin de limiter le risque hémorragique puis le relai se fera au minimum après 5 jours de traitement par danaparoïde et à conditions que les plaquettes soient supérieures à 100-150 G/L. Les deux traitements sont administrés de manière concomitante pendant minimum 72h avec un contrôle de l'INR qui doit être dans les cibles thérapeutiques deux jours de suite pour pouvoir arrêter l'anticoagulation par danaparoïde (112).

7.1.2. L'argatroban (Arganova®)

L'argatroban est un inhibiteur direct de la thrombine, il agit de manière sélective, réversible et indépendamment de l'antithrombine en inhibant la thrombine libre ou liée au thrombus. Il n'existe pas de réaction croisée avec l'héparine. L'efficacité et l'innocuité de l'argatroban ont été décrites dans deux études prospectives multicentriques chez des patients ayant une TIH avec ou sans thrombose en comparaison à des contrôles historiques (115,116).

L'administration se fait par perfusion intraveineuse (intraveineuse à la seringue électrique) et la demi-vie d'élimination est courte de 52 ± 16 min avec une métabolisation hépatique et une élimination digestive donc sans influence de l'insuffisance rénale. En revanche, l'administration d'argatroban est contre-indiquée chez les insuffisants hépatiques sévères (score de Child-Pugh C) et la posologie doit être adaptée chez les insuffisants hépatiques modérés (score de Child-Pugh B). La molécule entraîne un allongement du TQ et du TCA et le suivi biologique se fait par la surveillance du TCA selon les RCP mais le suivi peut se faire aussi en surveillant l'activité anti-IIa.

Il est recommandé de réaliser un TCA initial avant l'administration d'argatroban et après l'arrêt de l'héparine. Un dosage de TCA doit être réalisé 2 heures après l'initiation du traitement afin de vérifier que le TCA soit dans l'intervalle cible de 1.5 à 3 fois sa valeur initiale et sans dépasser cent secondes. Et enfin le suivi se fait par mesure du TCA au minimum une fois par jour après avoir mesuré deux TCA consécutifs dans la fourchette cible. La posologie recommandée chez les patients non critiques, sans risque hémorragique et sans insuffisance hépatique est de $2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ d'après les RCP et de $1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ d'après les recommandations du GIHP/GFHT. La posologie doit être adaptée pour certaines populations (117).

Tableau 11 : Argatroban : synthèse des recommandations concernant la durée de traitement, la posologie et la surveillance biologique d'après les RCP (117)

	Patients standards	Patients avec insuffisance hépatique sévère Patients critiques (soins intensifs avec défaillances multi-viscérales) Patients après une chirurgie cardiaque
Débit de perfusion	2 µg/kg/min ¹	0.5 µg/kg/min
TCA cible	1.5 à 3 fois la valeur initiale (sans dépasser 100 secondes)	
TCA < 1.5 fois la valeur initiale	↑ 0.5 µg/kg/min Contrôle TCA à 2h	↑ 0.1 µg/kg/min Contrôle TCA à 4h ²
TCA > 3 fois la valeur initiale	Arrêt de la perfusion jusqu'à avoir un TCA cible Reprendre la perfusion avec un débit inférieur de moitié au débit antérieur	
	Contrôle TCA à 2h	Contrôle TCA à 4h
Dose maximale recommandée	10 µg/kg/min	
Durée maximale de traitement	14 jours	
Relai par AVK	<p>Réduire le débit de perfusion à 2 µg/kg/min avant de débiter le relai</p> <p>Plaquettes > 100 G/L Administration des 2 traitements en parallèle > 5 jours Surveillance quotidienne de l'INR Arrêt de l'argatroban si INR > 4 deux jours de suite Contrôle de l'INR 4 à 6 heures après arrêt de l'argatroban et reprise de l'argatroban si INR < 4</p>	

¹La posologie initiale recommandée par l'ASH et le GIHP/GFHT est de 1 µg/kg/min

²État d'équilibre atteint plus tardivement du fait de l'altération de la fonction hépatique

Concernant la surveillance biologique, la recommandation de réaliser un suivi biologique par mesure du TCA est controversée (118) d'une part du fait de la difficulté d'obtenir un TCA normal en prétraitement par argatroban chez les patients ayant reçu de l'héparine et ayant possiblement une coagulopathie (119) et d'autre part à cause de l'influence des réactifs (120) sur les valeurs du TCA. C'est pourquoi une mesure de l'activité anti-IIa par le temps de thrombine dilué (dTT) ou le temps d'écarine (ECT) est proposée (121). Un test chromogénique est également commercialisé (Ecarin Chromogenic Assay). Les valeurs sont exprimées en concentration d'argatroban. En revanche il n'existe pas de consensus concernant les concentrations thérapeutiques

cibles d'argatroban bien qu'un intervalle thérapeutique allant de 0.4 à 1.2 µg/mL ait été proposé en 2016 par une équipe américaine (122) puis plus récemment de 0.5 à 1.5 µg/mL par le GIHP/GFHT (6).

Afin de limiter le temps de titration chez ces patients qui nécessitent une anticoagulation efficace rapidement, le débit de perfusion peut être calculé à partir des scores de gravité APACHE-II, SAPS-II et SOFA-II (Tableau 11).

Tableau 12 : Tableau d'ajustement de la posologie d'argatroban selon les scores APACHE-II, SOFA-II et SAPS-II. (Adapté par le GIHP/GFHT (6) d'après Alatri (121))

Score APACHE II	Argatroban (µg/kg/min)	Score SOFA	Argatroban (µg/kg/min)	SAPS	Argatroban (µg/kg/min)
15	1,25	10	1,28	30	1,16
16	1,19	11	1,19	32	1,10
17	1,13	12	1,10	34	1,04
18	1,07	13	1,01	36	0,98
19	1,01	14	0,92	38	0,92
20	0,95	15	0,83	40	0,86
21	0,89	16	0,74	42	0,82
23	0,77	17	0,65	44	0,74
25	0,65	18	0,56	46	0,68
27	0,53	19	0,47	50	0,56
29	0,41	20	0,38	55	0,41
32	0,23	21	0,29	60	0,26

Concernant le relai par AVK, les RCP recommandent d'obtenir un INR à 4 juste avant d'arrêter l'argatroban pour obtenir un INR entre 2 et 3 sous AVK seul.

7.1.3. La bivalirudine

La bivalirudine est un inhibiteur direct et sélectif de la thrombine, qui se lie à la fois au site catalytique et à l'exosite de liaison des anions de la thrombine en phase liquide et liée aux caillots. La liaison de la bivalirudine à la thrombine

est réversible. La bivalirudine entraîne un allongement du TQ. Son administration se fait par voie intraveineuse. La demi-vie est courte, d'environ 25 minutes, et est allongée en cas d'insuffisance hépatique mais pas en cas d'insuffisance rénale. Le GIHP/GFHT et l'ASH mentionnent toutefois que la bivalirudine peut être utilisée à la phase aigüe de la TIH bien qu'il n'y ait pas d'AMM dans cette indication (6,110). Les recommandations CHEST 2012 préconisent également l'utilisation de la bivalirudine en cas de TIH aigüe ou subaigüe chez les patients nécessitant une chirurgie cardiaque urgente ou une intervention coronaire percutanée (123).

D'autres molécules sont également utilisées pour le traitement de la TIH bien qu'elles n'aient pas l'AMM dans cette indication : le fondaparinux et les anticoagulants oraux directs.

7.1.4. Le fondaparinux (Arixtra®)

Le fondaparinux est un inhibiteur sélectif du Xa dépendant de l'antithrombine. C'est un pentassacharide de synthèse. Il n'a pas d'AMM pour le traitement des TIH mais son utilisation à la phase aigüe de la TIH a été proposée dès 2012 comme une option thérapeutique par certaines sociétés savantes. Le groupe d'experts de l'ASH et du GIHP/GFHT en 2018 et 2019 indiquent qu'il est possible de l'utiliser chez les patients stables cliniquement avec un risque hémorragique faible (6,110). En dehors du contexte de TIH, les posologies utilisées sont de 2.5 mg/jour en prophylactique et de 7.5 mg/jour en thérapeutique avec une adaptation à 5 mg/jour chez les patients de moins de 50 kg et à 10 mg/jour chez les patients pesant plus de 100 kg. Cependant, dès 2012, les BJH Guidelines préconisaient plutôt l'utilisation du fondaparinux à

dose thérapeutique en cas de TIH (109). Le fondaparinux n'influence pas le TCA et le TP. L'administration se fait par voie sous-cutanée, la demi-vie d'élimination est de 19h environ et l'élimination est majoritairement rénale. L'utilisation du fondaparinux est contre-indiquée en cas d'insuffisance rénale sévère (Clairance < 30 mL/min) et à utiliser avec précaution en cas d'insuffisance rénale modérée. En revanche, il peut être utilisé quel que soit le niveau d'insuffisance hépatique (112). De nombreuses études ont réalisé une comparaison entre le fondaparinux et les traitements actuellement autorisés pour le traitement de la phase aigüe de la TIH, danaparotide et argatroban, et ont montré une efficacité comparable pour la prévention des risques thromboemboliques sans différences concernant les risques hémorragiques chez ces patients (124–129). Le risque de TIH ou de réaction croisée lors d'un traitement par fondaparinux est négligeable (129). D'exceptionnels cas de TIH au fondaparinux ont cependant été rapportés (130). Le contrôle quotidien de la numération plaquettaire est recommandé afin d'évaluer l'efficacité thérapeutique.

7.1.5. Les anticoagulants oraux directs (AOD)

L'utilisation des AOD dans les TIH est récente. Les données restent peu nombreuses bien que quelques études suggèrent que le rivaroxaban serait efficace avec des données de sécurité rassurantes quant au risque hémorragique. Linkins et al. (131) ont évalué de manière prospective, pendant trente jours chez douze patients l'utilisation du rivaroxaban à la phase aigüe de la TIH. Les résultats montrent une évolution favorable de la numération plaquettaire et l'absence d'événement hémorragique chez tous les patients, sauf un, décédé d'un cancer gastrique métastatique. Concernant les

événements thromboemboliques, un patient a présenté une possible extension de thrombose veineuse profonde d'évolution favorable après ablation du cathéter. Warkentin et al. (132) ont également étudié l'innocuité de l'utilisation du rivaroxaban utilisé en première ou seconde intention à la phase aiguë de la TIH chez seize patients ; aucun d'entre eux n'a développé d'évènement thrombotique ou hémorragique à trente jours.

Comme pour le fondaparinux, leur utilisation est recommandée chez les patients stables à faible risque hémorragique (110). On dispose surtout de données avec le rivaroxaban. Le GIHP/GFHT préconise son utilisation à doses curatives soit 15 mg 2x/jour pendant trois semaines ou jusqu'à correction complète et stable de la thrombopénie puis 20 mg/jour jusqu'au trentième jour de traitement (6). Les deux avantages majeurs de ces traitements sont leur administration par voie orale et à dose fixe et l'absence de surveillance biologique.

7.1.6. Remarques

Les AVK ne doivent pas être utilisés à la phase aiguë de la TIH car ils favorisent la survenue de thromboses, gangrènes et nécroses cutanées mais uniquement en relai d'un traitement anticoagulant efficace et lorsque la numération plaquettaire est corrigée. Si le patient est sous AVK au moment du diagnostic, une administration de vitamine K par voie intraveineuse a été proposée par certains auteurs afin d'inverser l'effet, parallèlement à l'instauration d'un traitement alternatif à l'héparine (109,110).

La transfusion de plaquettes n'est pas recommandée car elle risque de majorer la thrombose, la transfusion de plaquettes doit être envisagée uniquement en cas d'hémorragie importante (6,109,110).

7.2. En cas d'antécédent de TIH

Lorsqu'une anticoagulation prophylactique ou curative est nécessaire chez un patient ayant un antécédent de TIH, l'ASH recommande de prescrire en première intention un anticoagulant non héparinique (110). Le GIHP/GFHT recommande plus précisément d'utiliser en première intention, de par leur facilité d'emploi, un anticoagulant oral (AVK ou AOD) ou le fondaparinux et en deuxième intention un anticoagulant injectable non héparinique tel que la danaparoïde, l'argatroban ou la bivalirudine (6).

Dans certaines situations particulières telles que la chirurgie cardiaque avec CEC, l'héparine est l'anticoagulant idéal. Dans ce cas, si un test de type ELISA a objectivé l'absence d'anticorps anti-PF4/héparine, l'administration d'héparine est possible sur une courte durée (6), durant l'opération uniquement et préférer une anticoagulation non héparinique en pré et post-opératoire (109).

Tableau 13 : Synthèse des recommandations de l'ASH et du GIHP/GFHT concernant le traitement de la TIH ou d'un événement thromboembolique en cas d'antécédents de TIH en fonction du contexte clinique

TIH aiguë		
	ASH	GIHP/GFHT
Insuffisance hépatique sévère	Argatroban à éviter ou à utiliser à posologies inférieures	Danaparoïde Fondaparinux Bivalirudine
Insuffisance rénale sévère		Argatroban
Patient stable sans risque hémorragique	Fondaparinux AOD	Fondaparinux Rivaroxaban
Patient peu stable avec hémorragique et possibilité d'intervention en urgence	Argatroban Bivalirudine	Argatroban Bivalirudine
Antécédents de TIH		
1^{ère} intention	Danaparoïde Fondaparinux AOD AVK	AVK AOD Fondaparinux
2^{ème} intention		Argatroban Danaparoïde Bivalirudine

**Partie 2 : Étude rétrospective des
modalités diagnostiques et thérapeutiques
dans le cadre d'une suspicion de TIH ou de
TIH confirmée**

1. Introduction/Objectifs

Le diagnostic biologique de la TIH repose actuellement au laboratoire d'hémostase sur la réalisation de trois tests biologiques (test rapide ID-PaGIA® par immunofiltration, test ELISA Asserachrom® HPIA IgG spécifique et un test d'agrégation plaquettaire en présence d'héparine).

L'objectif de notre étude est de décrire les principales données clinico-biologiques, de la population de patients du CHUGA chez qui une TIH a été suspectée ou confirmée et, de décrire leur prise en charge diagnostique et thérapeutique. Cette étude a pour objectif d'apprécier les pratiques médicales courantes.

2. Matériel et Méthode

2.1. Population de patients

Cette étude est observationnelle, rétrospective et descriptive. Elle a été réalisée sur une période de 34 mois entre le 01/01/2017 et le 30/10/2019. Sur cette période, 569 demandes d'exploration de la TIH ont été adressées au laboratoire du CHUGA.

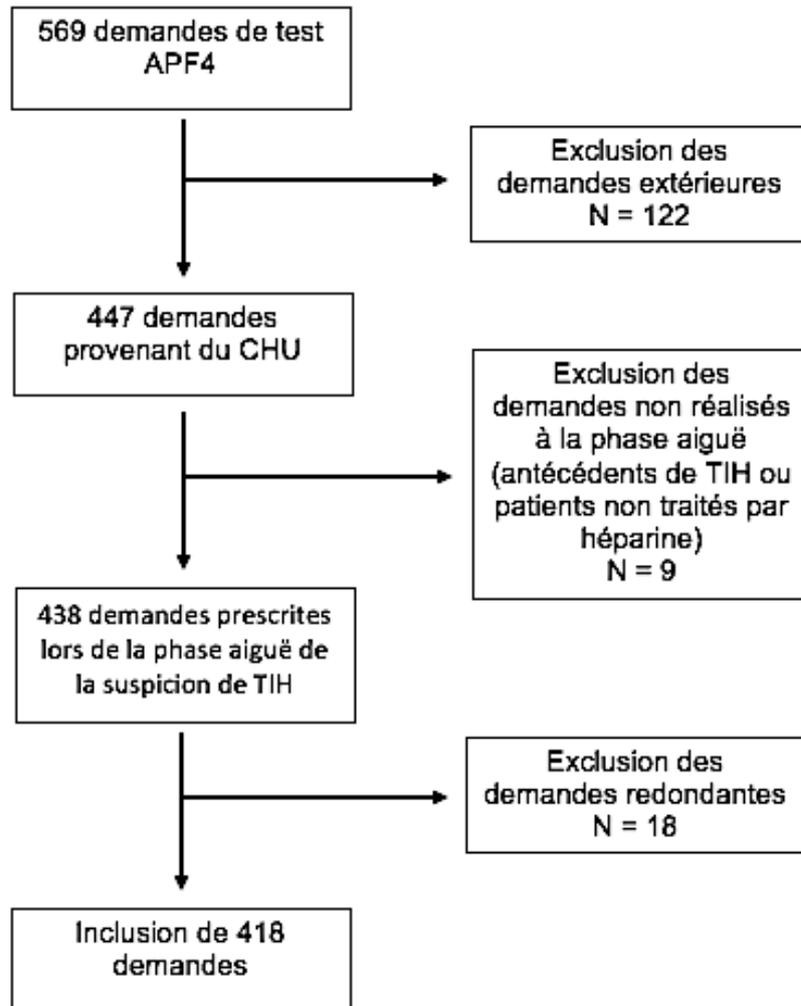


Figure 14 : Flow-chart de la population étudiée

Sur ces 569 demandes, 151 demandes ont été exclues de l'étude pour les raisons suivantes (Figure 14) :

- 122 demandes provenant de laboratoires ou d'établissements extérieurs au CHUGA en raison de l'absence d'informations clinico-biologiques ou de la difficulté à recueillir ces informations. De plus, certains laboratoires extérieurs n'envoient au CHU qu'une partie des tests nécessaires au diagnostic.
- 6 demandes pour des patients non traités dernièrement par héparine mais chez qui un traitement par danaparoiïde ou fondaparinux était en cours.

- 3 demandes pour des patients avec antécédents de TIH afin d'objectiver la disparition des anticorps anti-PF4/héparine.
- 18 demandes redondantes : la prescription redondante suit ou précède de peu une autre prescription (<7 jours), les résultats des tests diagnostiques sont identiques ou non réalisés.

Au total, sur les 569 demandes adressées au laboratoire, seulement 418 demandes ont été incluses dans l'étude ce qui correspond à 395 patients car certains patients ont été suspectés plusieurs fois.

2.2. Diagnostic de la TIH de type 2 au laboratoire (Figure 13)

Lors d'une suspicion de TIH de type 2, le premier test réalisé est la recherche d'un anticorps anti-PF4/héparine par méthode rapide par immunofiltration (ID-PaGIA® (Biorad)). En cas de positivité du test ou si le score 4T est élevé, les anticorps anti-PF4/héparine sont contrôlés par méthode ELISA (kit Asserachrom® HPIA IgG (Stago)). Le test ELISA est réalisé au laboratoire tous les 3-4 jours et est considéré positif lorsque la DO est supérieure à 0.2 (cette valeur varie d'un lot à l'autre et est redéterminée à chaque série d'ELISA mais est généralement comprise entre 0.18 et 0.22). En cas de positivité du test ELISA, un TAPH est réalisé. Pour le TAPH, le PPP du patient est testé avec le PRP de quatre témoins différents (donneurs sains de l'EFS) dans chaque série. Le résultat du TAPH est considéré positif en cas de positivité avec le PRP d'un seul témoin sur les 4 testés. Le diagnostic de TIH de type 2 est considéré comme confirmé en cas de positivité du TAPH.

3. Résultats

Dans une première partie, je présenterai les résultats de l'ensemble de la population suspecte de TIH. Dans une seconde partie seront présentés les résultats des patients avec un TAPH positif correspondant à un diagnostic de TIH confirmé au CHUGA.

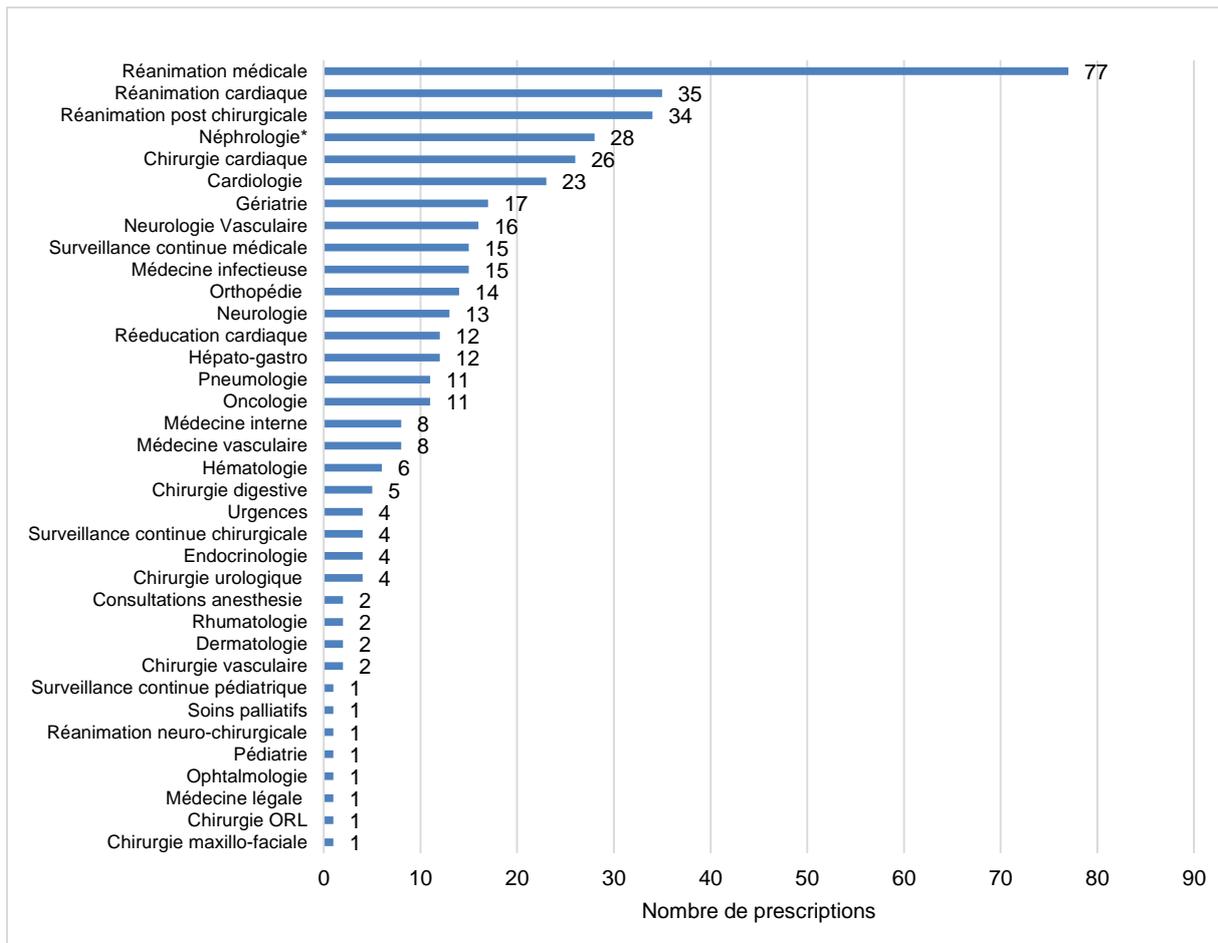
3.1. Population suspectée de TIH

3.1.1. Données démographiques

L'étude comprenait 254 hommes (60.8%) et 164 femmes (39.2%). La moyenne d'âge était de 68 ± 15 ans.

3.1.2. Services prescripteurs

Les prescriptions provenaient principalement des services de réanimation médicale (18.4%), cardiaque (8.4%) et post chirurgicale (8.1%), de néphrologie (6.7%), de chirurgie cardiaque (6.2%) et de cardiologie (5.5%) (Figure 15).



*Néphrologie : néphrologie/hémodialyse/transplantation rénale

Figure 15 : Nombre de prescriptions par service pour le diagnostic de la TIH

3.1.3. Morbidité principale des patients suspects de TIH

Concernant la morbidité principale des patients suspects de TIH (Figure 16) : 21% d'entre eux avaient une pathologie infectieuse, 16% étaient atteints de cancer, 10% étaient hospitalisés pour remplacement de valve, 10% avaient une pathologie cardiaque, 9% une pathologie vasculaire, 9% une pathologie hépatique et environ 7% une pathologie rénale. Concernant les autres morbidités présentées sur le graphique ci-dessous, elles concernent chacune moins de 3% de la population étudiée.

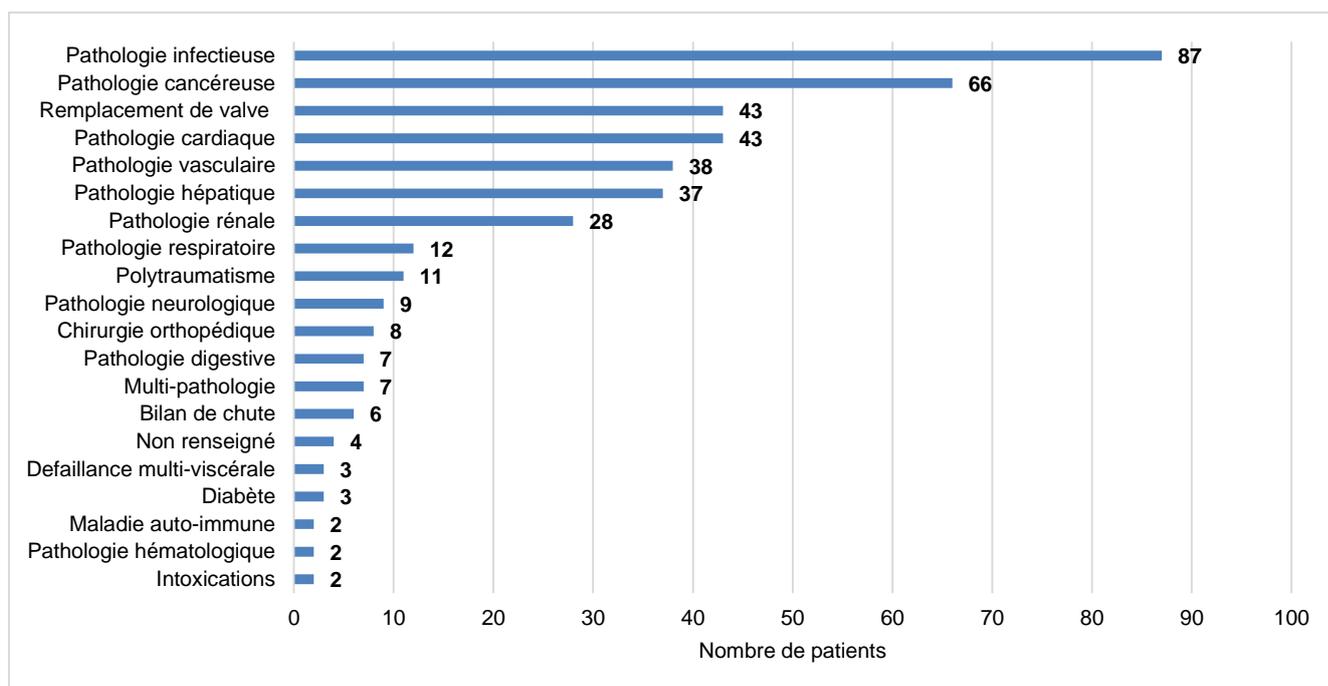


Figure 16 : Morbidité principale des patients suspects de TIH

3.1.4. Caractéristiques des traitements hépariniques (type, indication et durée)

Concernant le type d'héparine (Figure 17), il s'agit de la dernière héparine reçue au cours de l'hospitalisation en cours. Pour les patients ayant reçu successivement de l'HNF et de l'HBPM, les deux traitements ont été rapportés. La proportion de patients de l'étude ayant reçu de l'HBPM (37%) est similaire à la proportion de patients ayant reçu de l'HNF (39%) et 20% ont reçu les deux types d'héparine.

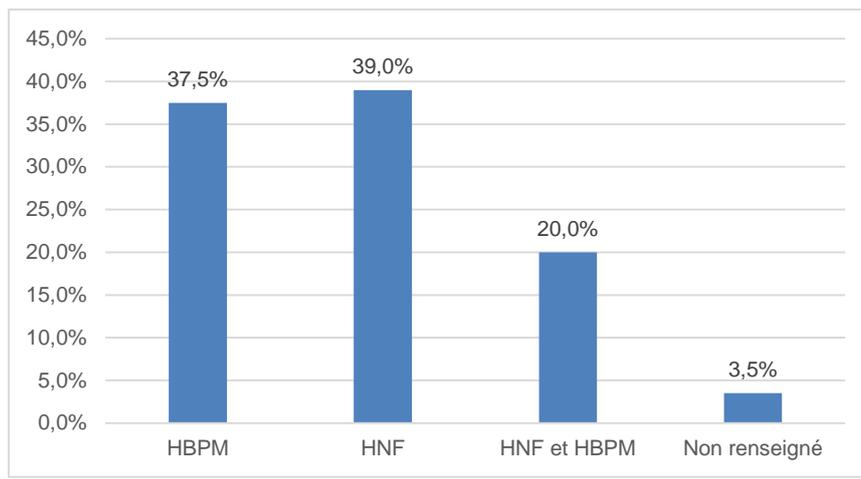
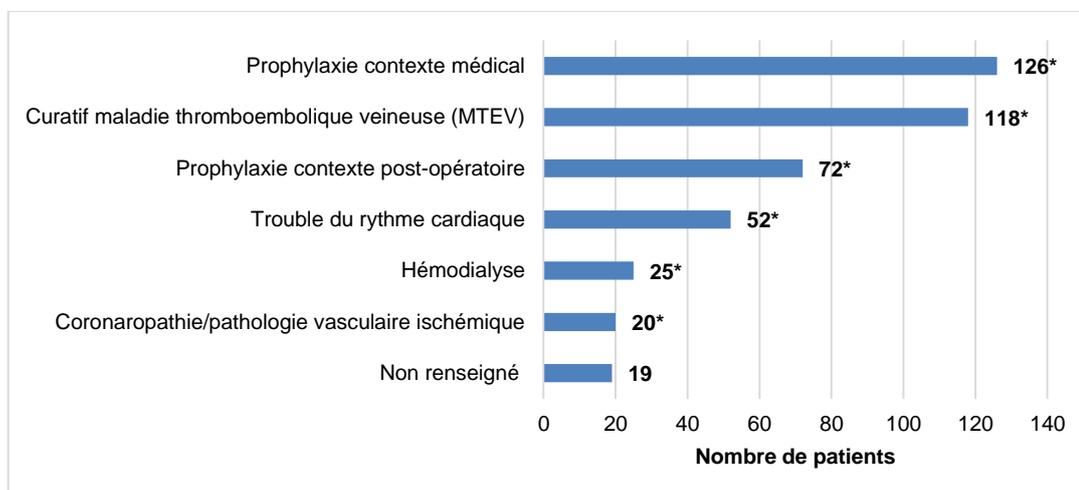


Figure 17 : Type d'héparine reçue au cours de l'hospitalisation en cours chez les patients suspects de TIH

La majorité des patients ont reçu un traitement héparinique dans un contexte de prophylaxie médicale ou de traitement curatif de maladie thromboembolique veineuse (Figure 18).



*Certains de ces patients ont des indications de traitement multiples

Figure 18 : Indication(s) principale(s) du traitement par héparine

La durée du traitement par héparine avant suspicion a été déterminée en considérant le premier jour du traitement par héparine comme le jour zéro et le jour de la prescription du test APF4 comme le jour de suspicion. Pour 38% des patients, la durée de traitement avant la suspicion était comprise entre 5 et 14 jours, 30% ont été suspectés au bout de 1 à 4 jours de traitement et 25% au minimum 15 jours après l'initiation de l'héparinothérapie (Figure 19).

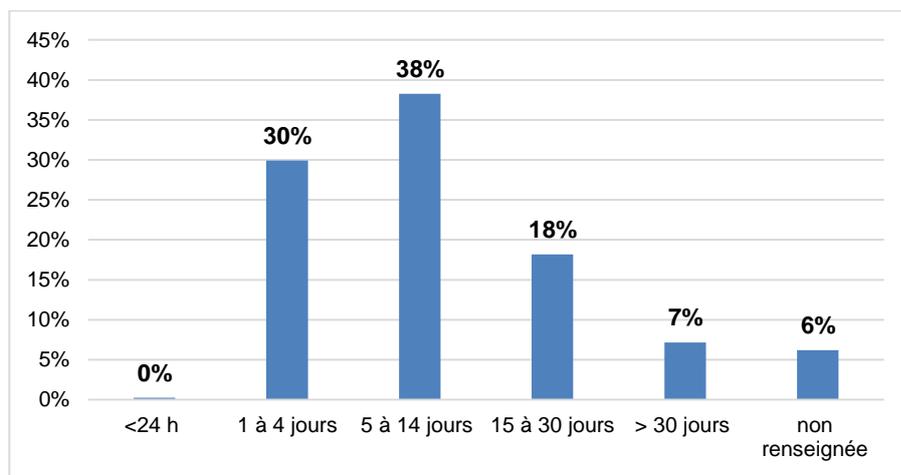


Figure 19 : Durées du traitement par héparine avant suspicion

3.1.5. Numération plaquettaire

Le taux de diminution de la numération plaquettaire a été redéterminé pour tous les bilans y compris pour ceux où le score 4T n'était pas renseigné. Ce taux est calculé à partir de la valeur initiale de la numération plaquettaire et du nadir. La valeur initiale correspond soit à la valeur mesurée avant le début du traitement par héparine soit au pic qui précède la chute de la numération plaquettaire. La numération plaquettaire initiale moyenne était de 198 ± 117 G/L avec une valeur minimale à 8 G/L et une valeur maximale à 807 G/L. La numération plaquettaire moyenne au nadir était de 66 ± 40 G/L avec une valeur minimale à 0 G/L et une valeur maximale à 260 G/L.

La numération plaquettaire des deux tiers (63%) des patients avait chuté d'au moins 50% (Figure 20).

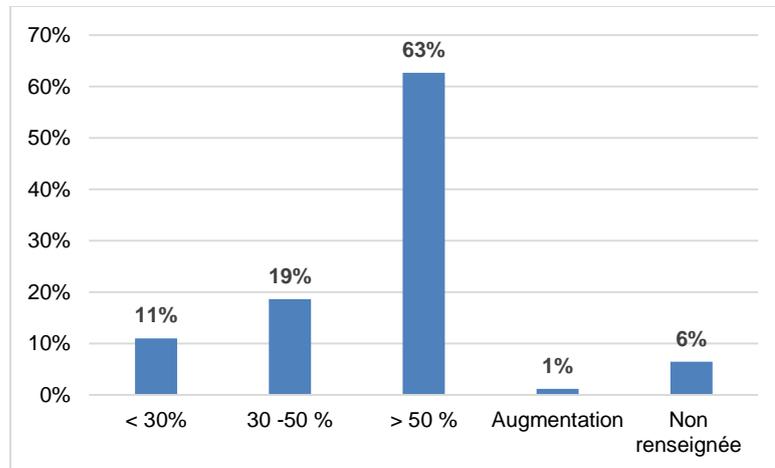


Figure 20 : Taux de diminution de la numération plaquettaire

3.1.6. Score 4T

Le score 4T n'était pas renseigné chez environ un patient sur six. Parmi les patients dont le score 4T était renseigné, 88% des patients avaient un score intermédiaire ou élevé (Figure 21).

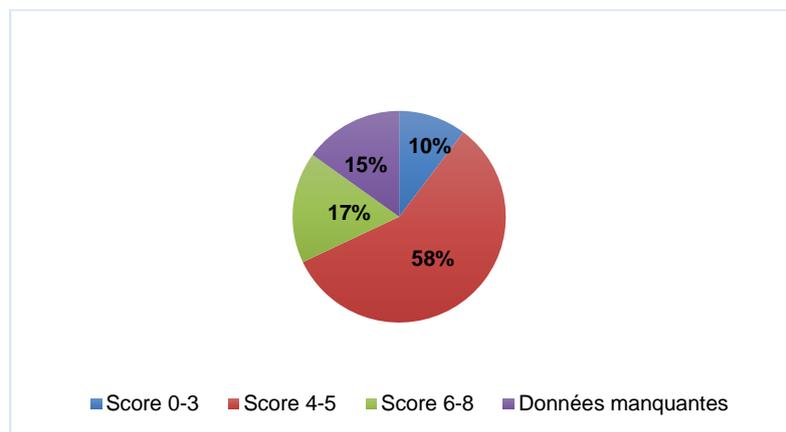


Figure 21 : Score 4T chez les patients suspects de T1H

L'analyse en détails des différents items du score 4T montre que la majorité des patients avaient un score à 2 pour les items thrombopénie et timing. Dans 61% des cas, il n'y avait ni suspicion de thrombose ni thrombose documentée apparue sous héparinothérapie (Figure 22).

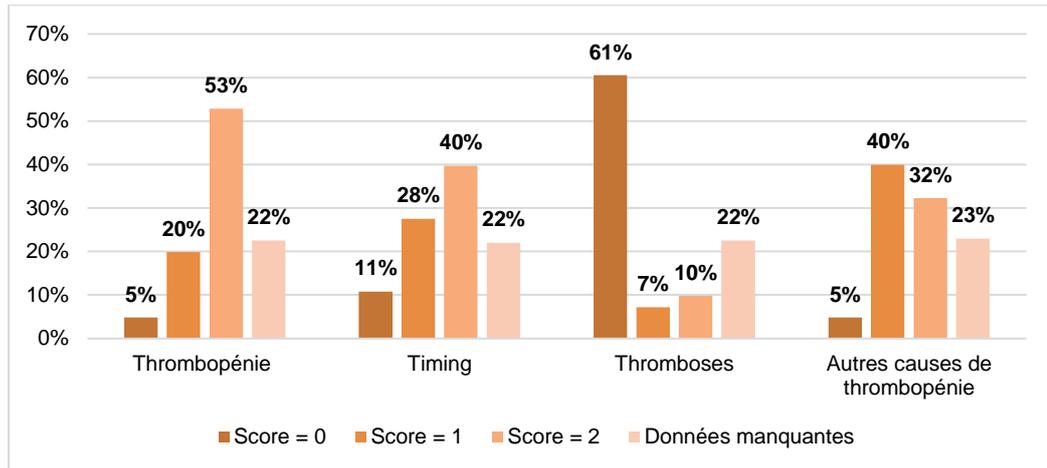


Figure 22 : Scores renseignés pour chacun des items du score 4T

3.1.7. Résultats des tests immunologiques

Selon le schéma diagnostique utilisé au laboratoire, le test rapide (ID-PaGIA® (Biorad)) est réalisé en première intention.

Le test rapide, réalisé chez tous les patients suspects de TIH était négatif pour 58% des patients, positif pour 25% et douteux pour 17% (Figure 23).

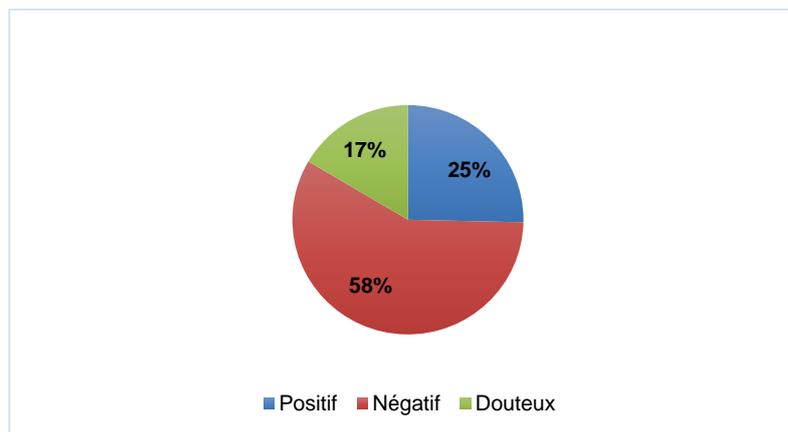


Figure 23 : Résultats du test rapide ID-PaGIA® Biorad

Lorsque le test rapide était positif ou douteux ou que le score 4T était élevé, un test ELISA était réalisé : les deux tiers des tests rapides (64%) ont un résultat négatif en ELISA (DO < 0.2) et 13% un résultat faiblement positif (DO 0.2 – 0.5) (Figure 24).

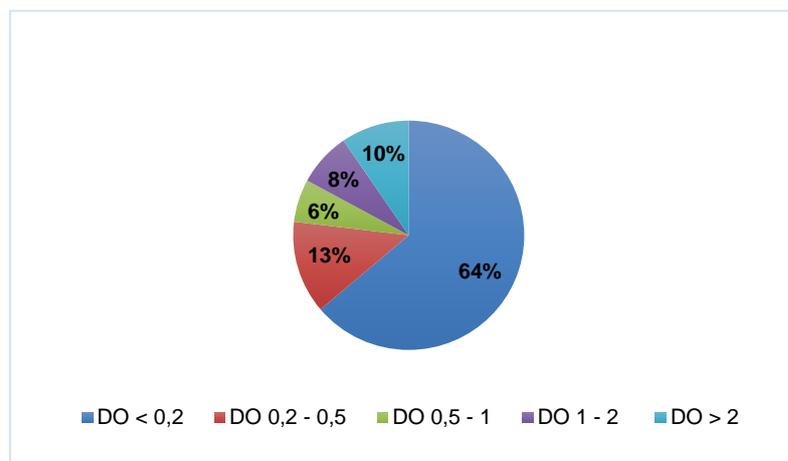


Figure 24 : Densité optique de l'ELISA APF4 IgG parmi les ID-PaGIA® Biorad douteux ou positifs et les scores 4T élevés

Seulement 31% des patients avec un résultat de test rapide positif ont une DO supérieure à 1 (Figure 25).

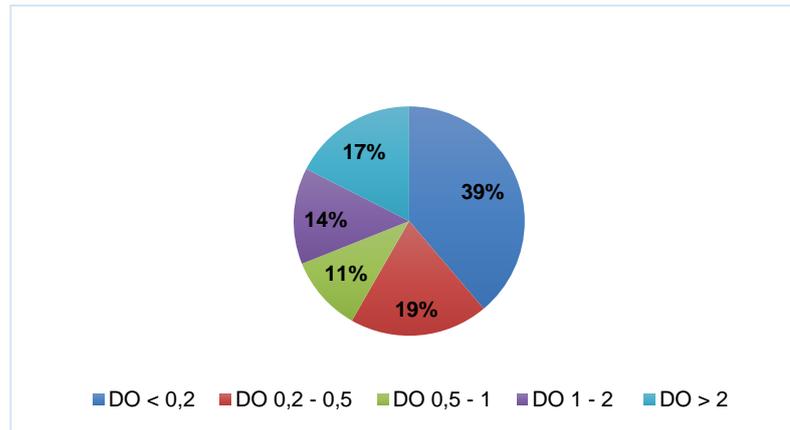


Figure 25 : Densité optique ELISA APF4 IgG parmi les ID-PaGIA® Biorad positifs

Quatre-vingt-huit pourcents des patients avec un résultat de test rapide douteux ont un test ELISA négatif (DO < 0.2) (Figure 26).

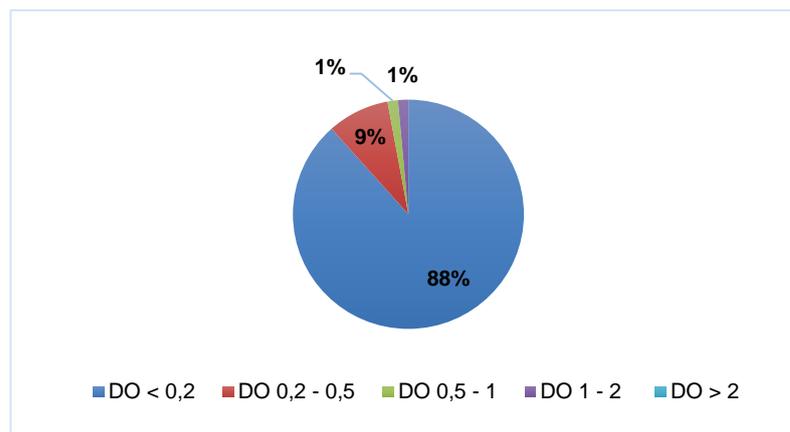


Figure 26 : Densité optique ELISA APF4 IgG parmi les ID-PaGIA® Biorad douteux

61% des patients avec un score 4T élevé avaient un test ELISA APF4 IgG négatif et 33% avaient une DO > 1 (Figure 27).

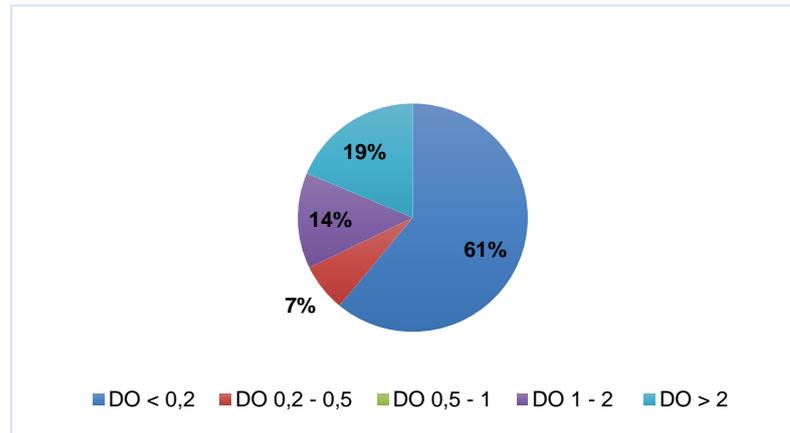


Figure 27 : Densité optique ELISA APF4 IgG parmi les scores 4T élevés

A noter qu'aucun des patients avec un score 4T élevé et un test rapide négatif n'avait de test ELISA positif (Figure 28).

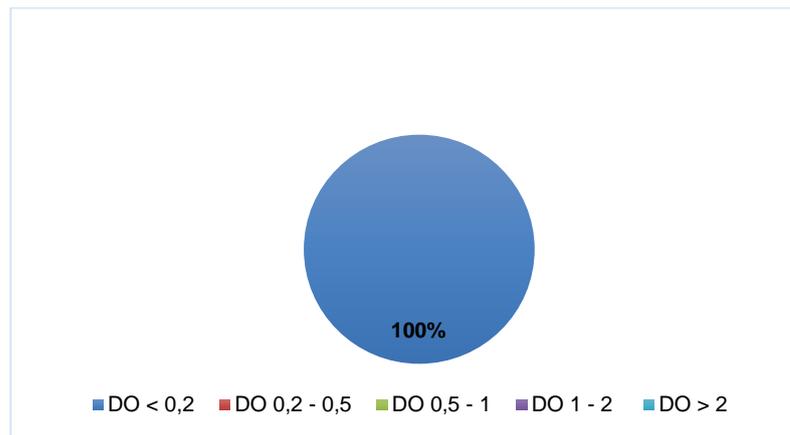


Figure 28 : Densité optique ELISA APF4 IgG parmi les ID-PaGIA® Biorad négatifs avec un score 4T élevé

3.1.8. Résultats du test fonctionnel (TAPH)

Le résultat du TAPH était positif pour 38% des patients dont le test ELISA APF4 IgG était positif (Figure 29).

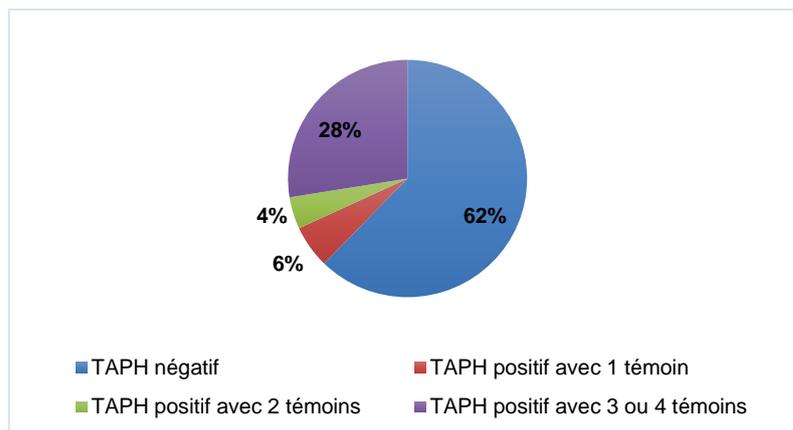


Figure 29 : Résultats du TAPH parmi les ELISA positifs chez les patients suspects de TIH

Plus la valeur de la DO augmente, plus la probabilité d'avoir un TAPH positif est élevé. Lorsque la DO était supérieure à 2, 95% des patients avaient un TAPH positif (Figure 30).

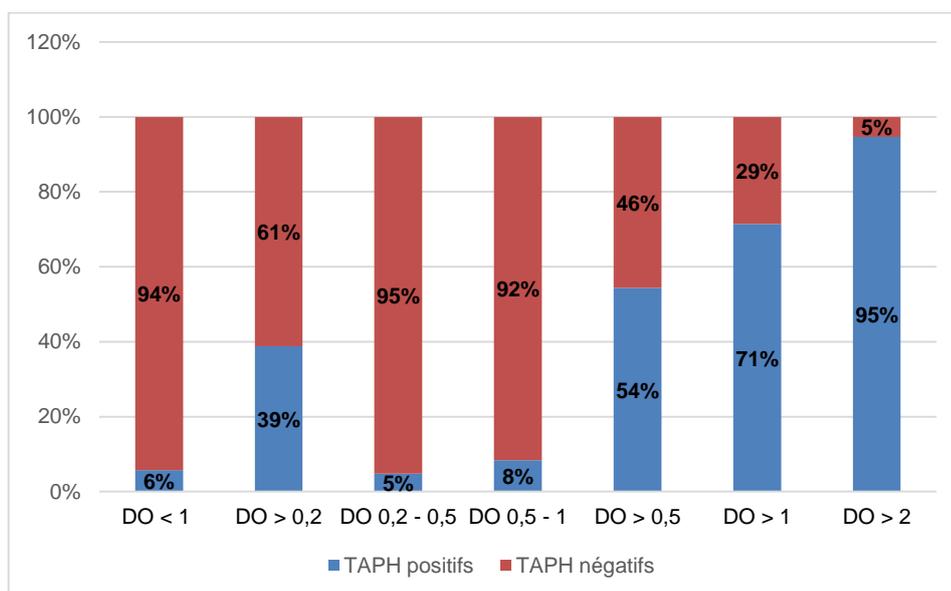


Figure 30 : Résultats du TAPH en fonction du résultat de l'ELISA

3.1.9. Données thérapeutiques

3.1.9.1. Traitement au jour de prescription du test

Le jour de la prescription du test APF4, c'est-à-dire le jour de la suspicion de TIH, pour les deux tiers des patients le traitement par héparine était poursuivi (48%) ou arrêté sans instauration d'un traitement relai (20%). Un traitement par danaparoïde, argatroban, fondaparinux, AVK ou AOD était mis en place chez 27% des patients suspects (Figure 31).

Il faut noter que pour 9 des patients pour qui l'héparine avait été poursuivie ou arrêtée sans relai, un traitement alternatif par danaparoïde (4 patients), argatroban (2 patients) ou fondaparinux (3 patients) a été mis en place le jour du rendu de l'ELISA ou quelques jours après. Un patient pour qui l'héparine avait été poursuivie jusqu'à 6 jours après le rendu d'un résultat positif de TAPH a reçu 6 jours plus tard un traitement alternatif par danaparoïde. En raison de ce relai tardif, il a été exclu de l'analyse de données thérapeutiques.

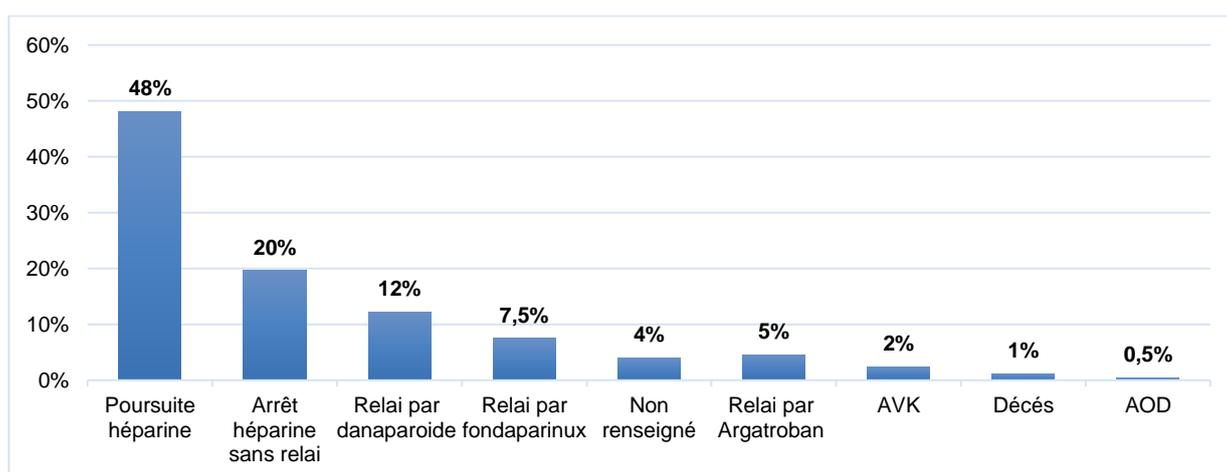


Figure 31 : Traitement au jour de prescription du test chez les patients suspects de TIH

3.1.9.2. Traitement par danaparoïde

Cinquante-cinq patients (13%) étaient traités par danaparoïde selon un schéma curatif (56%), un schéma prophylactique (42%) ou hors schéma thérapeutique avec 1250 UI 1x/jour (2%) (Figure 32).

La durée moyenne du traitement était de 6 ± 5 jours. Le suivi biologique du traitement par danaparoïde par la mesure d'une activité anti-Xa a été réalisé au moins une fois au cours du traitement pour 47% des patients.

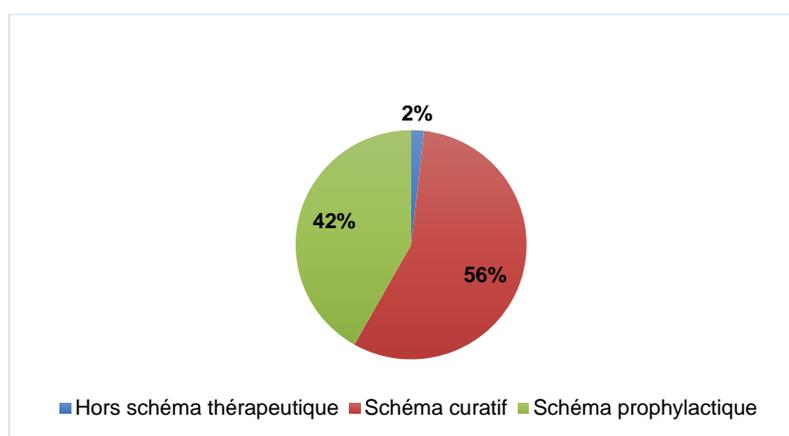


Figure 32 : Schéma posologique du danaparoïde à l'initiation du traitement

Le danaparoïde est déconseillé pour les patients atteints d'insuffisance rénale sauf s'il n'existe pas d'autre alternative thérapeutique. Parmi les patients ayant reçu du danaparoïde, 9 patients avaient une insuffisance rénale sévère dont 4 une insuffisance rénale terminale (Figure 33). Deux patients sur les 9 atteints d'insuffisance rénale avaient également une insuffisance hépatique.

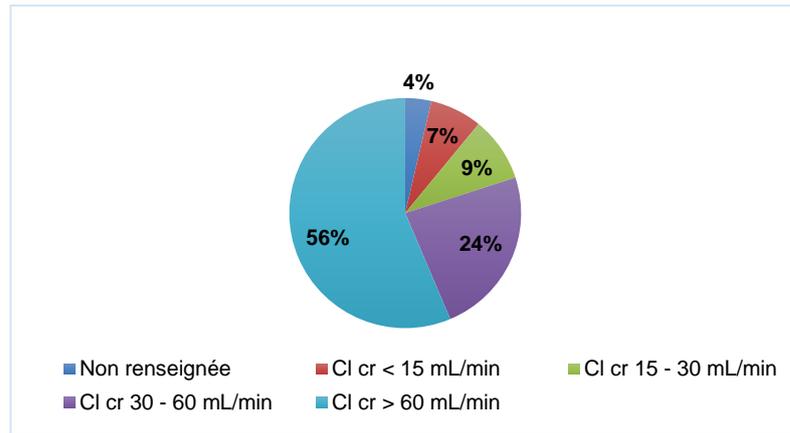


Figure 33 : Fonction rénale des patients suspects de TIH traités par danaparoïde

3.1.9.3. Traitement par argatroban

Vingt-et-un patients (5%) ont été traités par argatroban. Lors de l'initiation du traitement, environ la moitié des patients ont reçu l'argatroban à une posologie inférieure ou égale à 0,5 µg/kg/min (Figure 34).

La durée moyenne du traitement était de 8 ± 7 jours et tous les patients ont eu un suivi biologique au moins une fois au cours du traitement. Le suivi biologique consistait en une mesure du TCA (81%) ou en une mesure du TCA associée à un dosage de l'argatroban (19%).

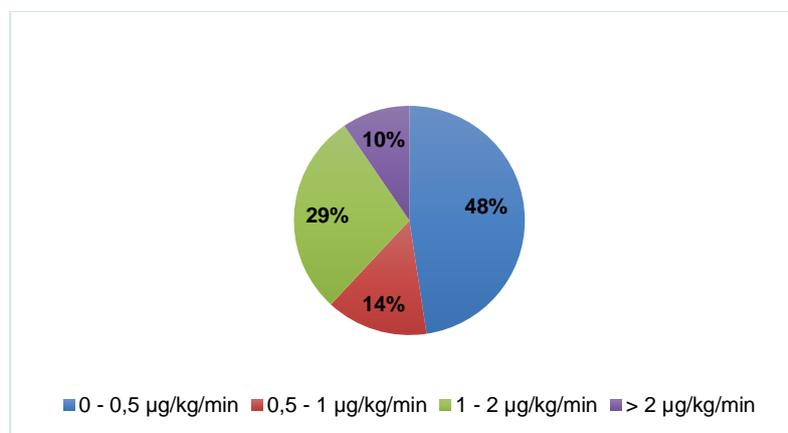


Figure 34 : Posologie de l'argatroban à l'initiation du traitement

L'argatroban est contre-indiqué chez les patients atteints d'insuffisance hépatique sévère et son utilisation est à privilégier par rapport au danaparoiide en cas de TIH aigue dans un contexte d'insuffisance rénale sévère.

Parmi les patients traités par argatroban, 19% avaient une insuffisance hépatique (sur les quatre patients, un avait une insuffisance rénale sévère et un autre une insuffisance rénale modérée) et seulement 19% avaient une insuffisance rénale sévère (Figures 35 et 36). La sévérité de l'insuffisance hépatique est difficile à déterminer mais semble être dans la plupart des cas légère à modérée. Pour tous les patients présentant une insuffisance hépatique, le TP était supérieur à 50%.

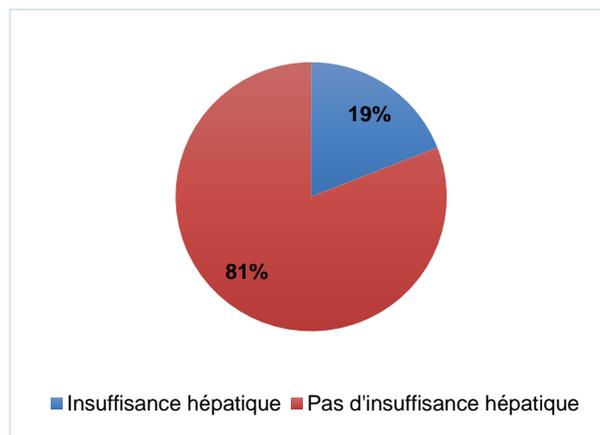


Figure 35 : Fonction hépatique des patients suspects de TIH traités par argatroban

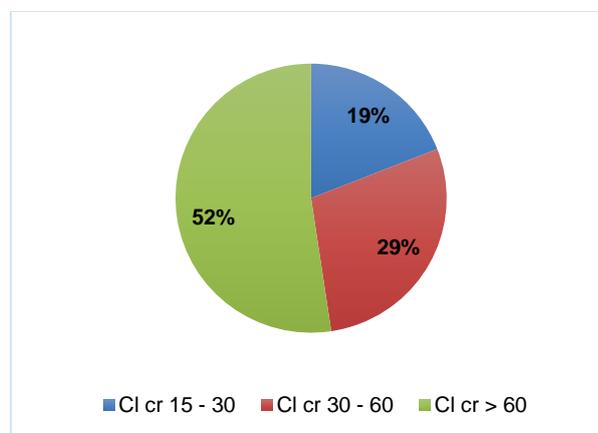


Figure 36 : Fonction rénale des patients suspects de TIH traités par argatroban

3.1.9.4. Traitement par fondaparinux

Trente-quatre patients (8%) étaient traités par fondaparinux, les posologies majoritairement administrées étaient de 2.5 mg/jour (53%) et de 7.5 mg/jour (32%) (Figure 37). La durée moyenne du traitement était de 11 ± 11 jours. Seulement 15% des patients ont eu un suivi biologique au cours de leur traitement par la mesure d'une activité anti-Xa.

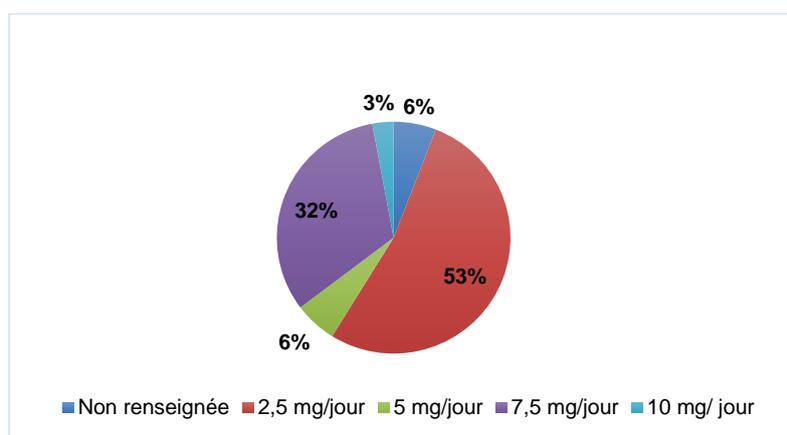


Figure 37 : Posologies du fondaparinux à l'initiation du traitement

3.2. Patients avec une TIH confirmée (TAPH positif) (Tableau 14 et 15)

3.2.1. Données démographiques

Le diagnostic de TIH a été confirmé par un TAPH positif pour 27 patients : 20 patients étaient des hommes et 7 des femmes. L'âge moyen des patients était de 69 ± 16 ans.

3.2.2. Services prescripteurs

Les deux tiers des patients (18/27 patients) étaient hospitalisés dans les services de chirurgie cardiaque, réanimation cardiaque, réanimation médicale ou orthopédie au moment de la suspicion (Figure 38).

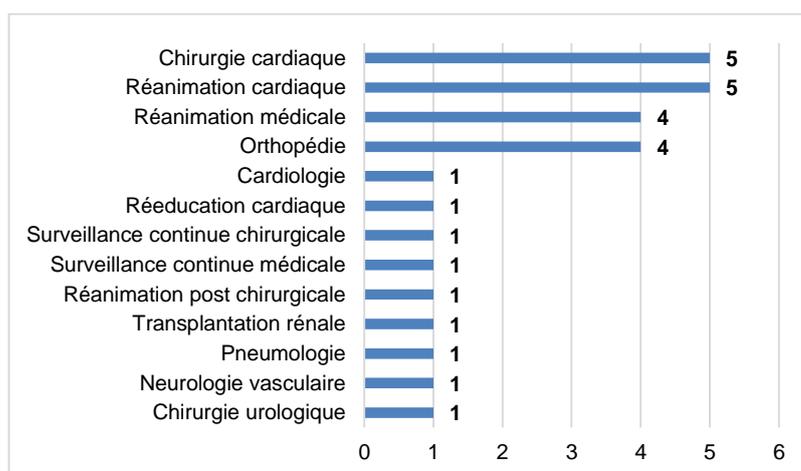


Figure 38 : Nombre de prescriptions par service pour les patients TAPH positifs

3.2.3. Morbidité principale des patients atteints de TIH

Concernant la morbidité principale des patients atteints de TIH : 8 patients étaient hospitalisés pour un remplacement de valve, 4 avaient une pathologie infectieuse, 3 une pathologie cancéreuse, 3 patients étaient hospitalisés pour une chirurgie orthopédique et 3 avaient une pathologie cardiaque. Deux patients étaient hospitalisés pour un polytraumatisme, 2 avaient une pathologie vasculaire, 1 une pathologie rénale et 1 une pathologie respiratoire (Figure 39).

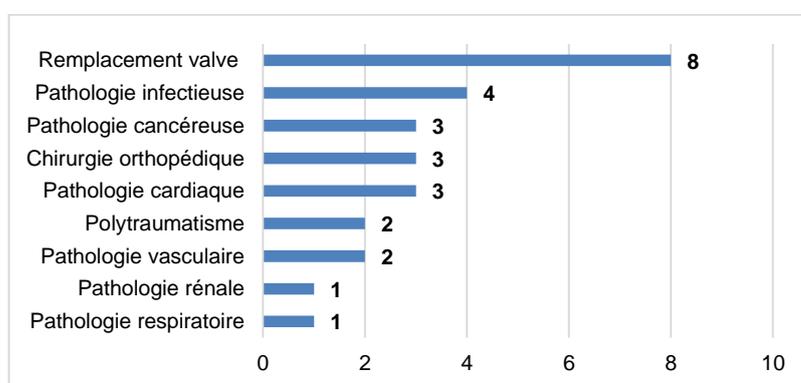


Figure 39 : Morbidité principale des patients TAPH positifs

3.2.4. Caractéristiques des traitements hépariniques (type, indication et durée)

La proportion de patients ayant reçu de l'HNF (44%) est similaire à la proportion de patients ayant reçu de l'HNF et de l'HBPM (41%). En revanche, seulement 15% des patients avaient reçu uniquement de l'HBPM (Figure 40).

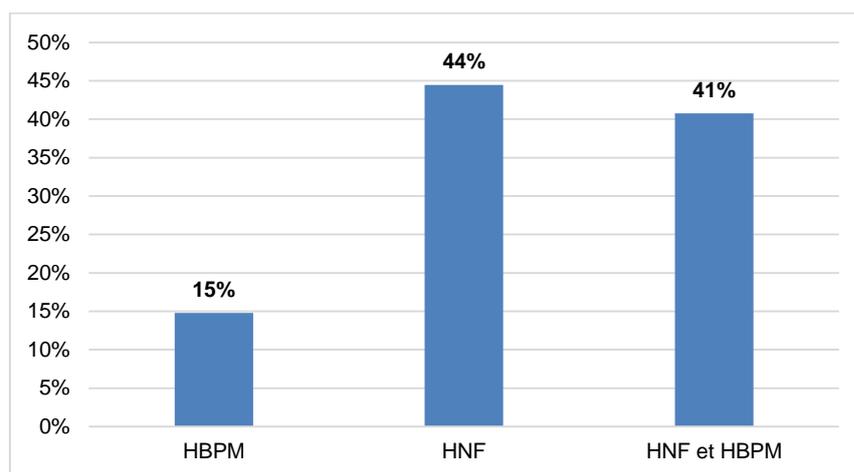
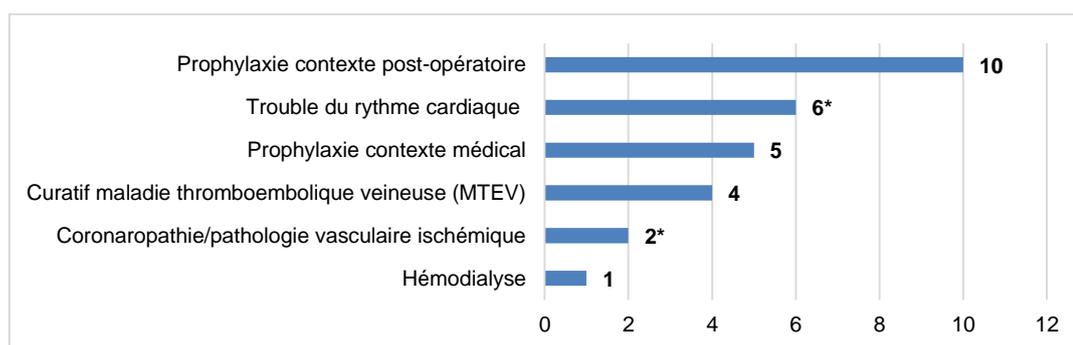


Figure 40 : Type d'héparine reçue au cours de l'hospitalisation en cours chez les patients TAPH positifs

La majorité des patients ont reçu un traitement héparinique dans un contexte de prophylaxie post-opératoire (Figure 41).



*Certains de ces patients ont des indications de traitement multiples

Figure 41 : Indication(s) principale(s) du traitement par héparine chez les patients TAPH positifs

La durée moyenne de traitement avant la suspicion était de 11 ± 5 jours, pour 89% des patients comprise entre 5 et 14 jours et 11% ont été suspectés après 15 jours de traitement (Figure 42).

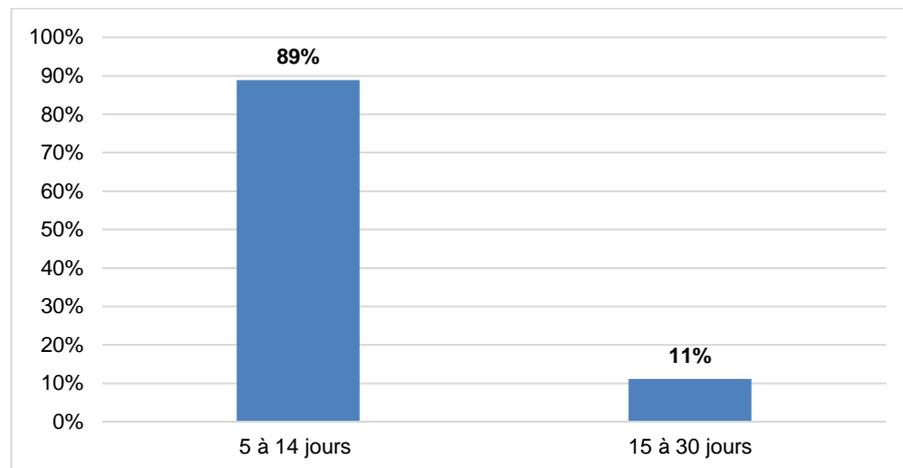


Figure 42 : Durée du traitement par héparine avant suspicion chez les patients TAPH positifs

3.2.5. Numération plaquettaire

La numération plaquettaire initiale moyenne était de 249 ± 128 G/L avec une valeur minimale à 92 G/L et une valeur maximale à 682 G/L. La numération plaquettaire moyenne au nadir était de 59 ± 28 G/L avec une valeur minimale à 13 G/L et une valeur maximale à 121 G/L.

Quatre-vingt-neuf pourcents des patients avaient une diminution de leur numération plaquettaire supérieure à 50% (Figure 43).

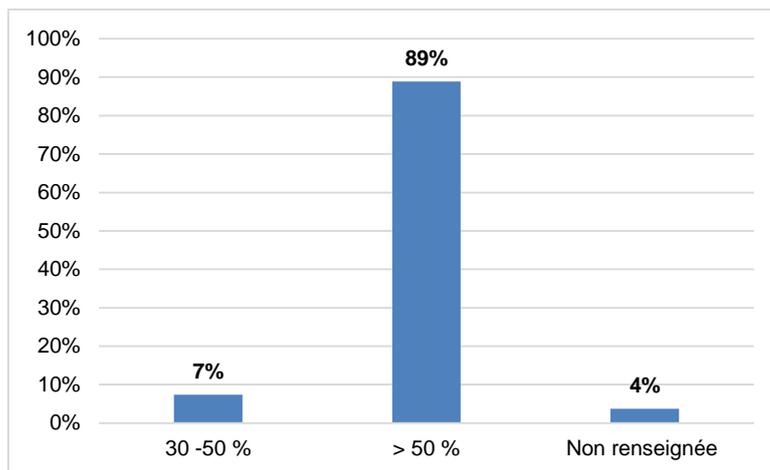


Figure 43 : Taux de diminution de la numération plaquettaire chez les patients TAPH positifs

3.2.6. Score 4T

Tous les patients TAPH positifs avaient un score 4T intermédiaire ou élevé avec une majorité de scores élevés (15/27 patients) (Figure 44).

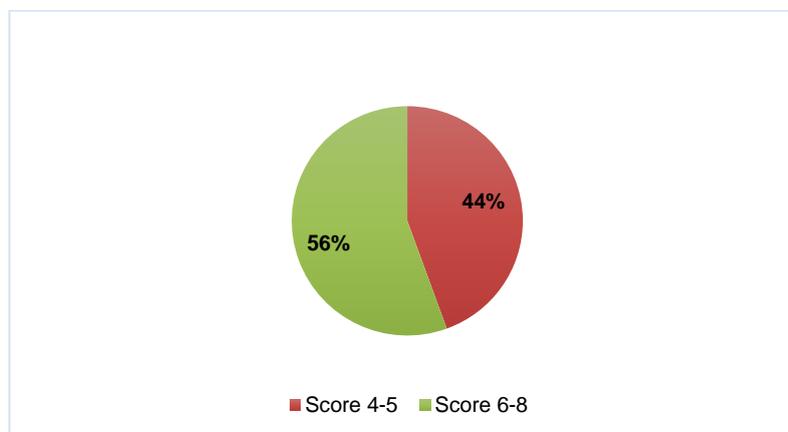


Figure 44 : Résultat du score 4T chez les patients TAPH positifs

L'analyse en détails des différents items du score 4T (Figure 45) montre que la majorité des patients avaient un score à 2 pour les items thrombopénie et timing. Trente pour cent des patients avec une TIH confirmé avaient une thrombose survenue sous héparine documentée lors de la prescription des anticorps anti-PF4.

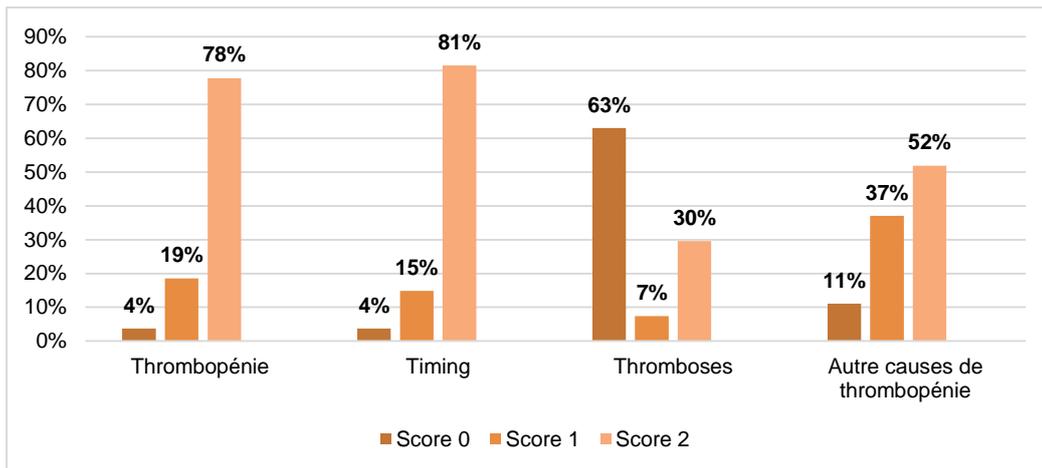


Figure 45 : Score 4T chez les patients TAPH positifs

3.2.7. Résultats des tests immunologiques

Tous les patients avec un TAPH positif avaient un résultat de test rapide ID-PaGIA® Biorad positif.

Parmi les patients avec un diagnostic de TIH confirmé, tous avaient logiquement un test ELISA positif puisque le TAPH n'est réalisé qu'en cas de test ELISA positif au laboratoire. La DO moyenne était de 2.117 ± 0.547 . Quatre-ving-douze pourcents d'entre eux avaient une DO supérieure à 1 et 69% une DO supérieure à 2 (Figure 46).

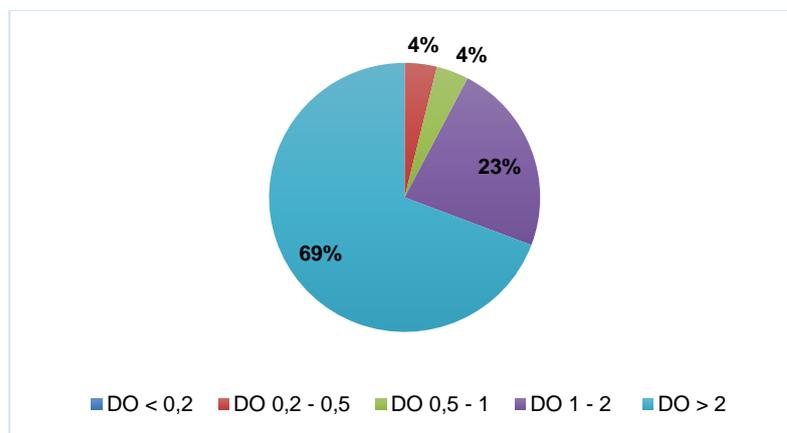


Figure 46 : Densité optique ELISA APF4 IgG chez les patients TAPH positifs

3.2.8. Données thérapeutiques

3.2.8.1. Traitement au jour de prescription du test

Le jour de la prescription du test, l'héparine était remplacée par un traitement alternatif pour 22 patients sur les 27 chez qui le diagnostic de TIH a été confirmé par la suite par un test TAPH positif. Le traitement anticoagulant alternatif consistait en un traitement par danaparoïde (33%), argatroban (26%), fondaparinux (18,5%) ou par AVK (4%) (Figure 47). Trois patients sur les 5 pour qui l'héparine avait été maintenue le jour de la prescription du test APF4 ont débuté un traitement alternatif dans les 24h suivant le rendu de l'ELISA (un patient a été traité par danaparoïde, un par argatroban et un par fondaparinux). Pour un patient, l'héparine a été poursuivie jusqu'à l'obtention du résultat du TAPH avec un relai par danaparoïde instauré que 6 jours plus tard. En raison de ce relai tardif il a été exclu de l'analyse de données.

Concernant le dernier patient chez qui le traitement par héparine a été maintenu, la thrombopénie était antérieure de plusieurs jours à la suspicion et s'est corrigée spontanément malgré la poursuite de l'héparine. L'héparine a été poursuivie pendant 9 jours après la suspicion sans récurrence de thrombopénie. Le test ELISA était très positif avec une DO à 1.93. Il ne s'agissait donc pas d'une TIH (faux positif du test TAPH) (Figure 48).

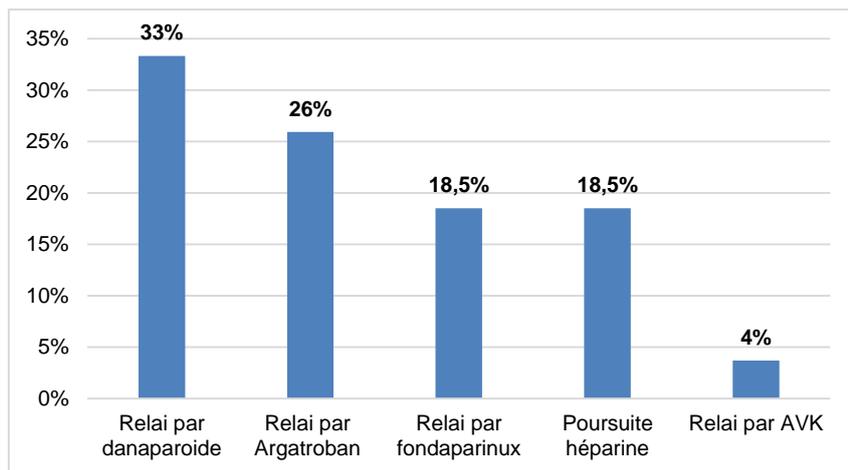
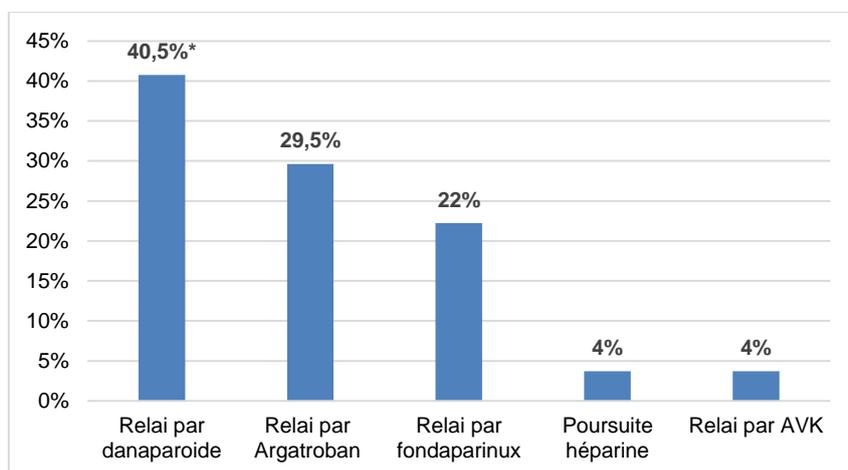


Figure 47 : Traitement au jour de la prescription du test APF4 chez les patients TAPH positifs



*Dont un patient exclu de l'analyse de données en raison d'une poursuite de l'héparine et d'un relai tardif par danaparouïde (6 jours après le rendu du TAPH)

Figure 48 : Traitement alternatif initié le jour de prescription du test ou les jours suivants chez les patients TAPH positifs

Le traitement alternatif a été mis en place au maximum dans les 24 heures suivant le rendu du résultat du test rapide positif pour 73% des patients avec un TAPH positif (Figure 49).

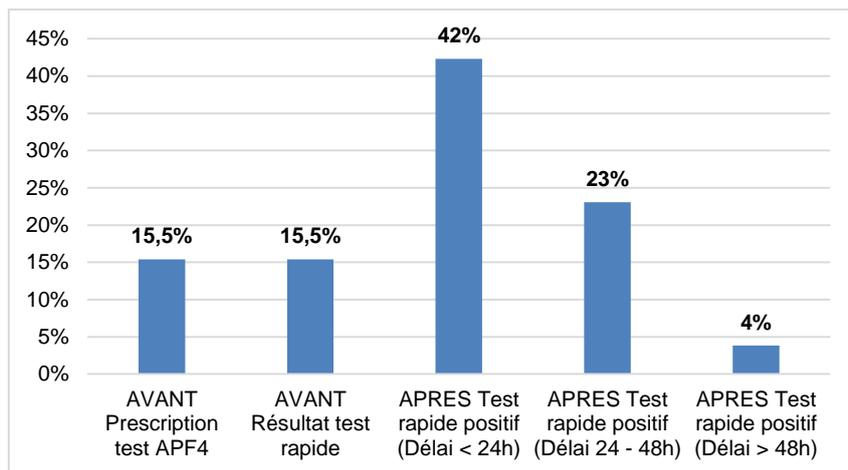


Figure 49 : Délai entre la prescription du test APF4 et la mise en place du traitement alternatif chez les patients TAPH positifs

3.2.8.2. Traitement par danaparoïde

Dix patients sur 27 (37%) présentant une TIH confirmée ont été traités par danaparoïde. A l'initiation du traitement, le traitement était administré selon un schéma curatif (70%) ou un schéma prophylactique (30%). Il n'y a pas eu de modification de schéma thérapeutique entre l'initiation et l'arrêt du traitement (Figure 50).

La durée moyenne du traitement était de 9 ± 7 jours. Le suivi biologique de l'activité anti-Xa (Orgaran) a été réalisé au moins une fois au cours du traitement pour 70% des patients.

A l'issue du traitement par danaparoïde, 3 patients ont reçu du fondaparinux, 3 patients des AVK, 2 des AOD, 1 n'a pas eu de traitement relai et l'information était manquante pour le 10^{ème} patient.

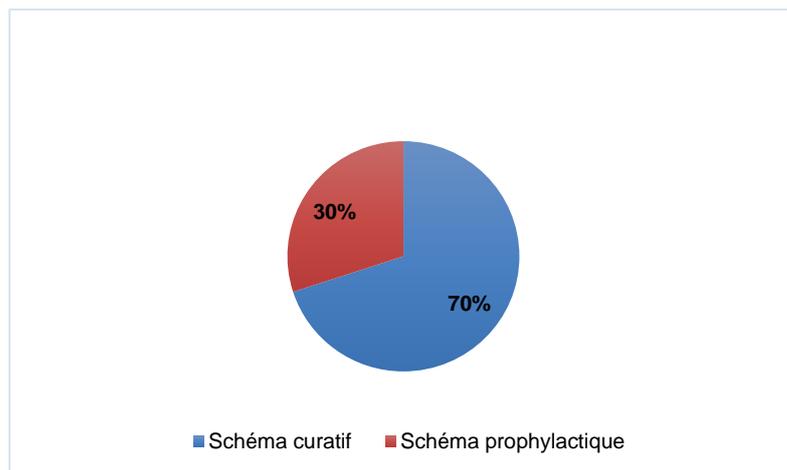


Figure 50 : Schéma thérapeutique du danaparoïde à l'initiation du traitement pour les patients TAPH positifs (n=10)

Parmi les patients ayant reçu du danaparoïde, 30% avaient une insuffisance rénale sévère dont 10% une insuffisance rénale terminale (Figure 51).

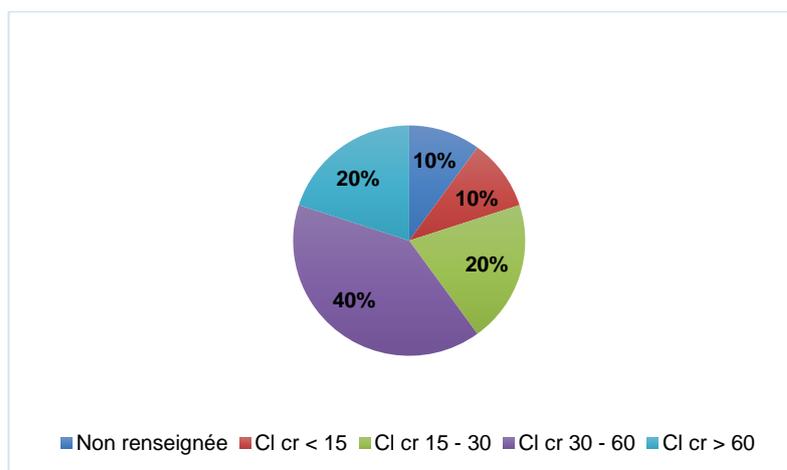


Figure 51 : Fonction rénale des patients TAPH positifs traités par danaparoïde

3.2.8.3. Traitement par argatroban

Huit patients (14%) étaient traités par argatroban. Lors de l'initiation du traitement, la posologie administrée était inférieure ou égale à 1 µg/kg/min pour la moitié des patients (51%), un quart des patients ont reçu de l'argatroban à une posologie

comprise entre 1 et 2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ et un quart à une posologie supérieure à 2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ (Figure 52).

A l'initiation, la moyenne des posologies de l'argatroban était de $1.3 \pm 0,8 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ avec une valeur maximale de 2.3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ et une valeur minimale de 0.48 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. Certaines adaptations de posologies ont été réalisées en cours de traitement. A l'arrêt du traitement, la moyenne était de $1.0 \pm 0,9 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ avec une valeur maximale de 2.3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ et une valeur minimale de 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$.

La durée moyenne du traitement était de 11 ± 6 jours et tous les patients ont eu un suivi biologique au moins une fois au cours du traitement. Le suivi biologique a consisté en une mesure du TCA (7 patients). Un seul patient a bénéficié d'un dosage d'argatroban en plus de la mesure du TCA.

A l'arrêt du traitement par argatroban, 3 patients ont reçu du fondaparinux, 3 autres des AVK, 1 des AOD et 1 est décédé.

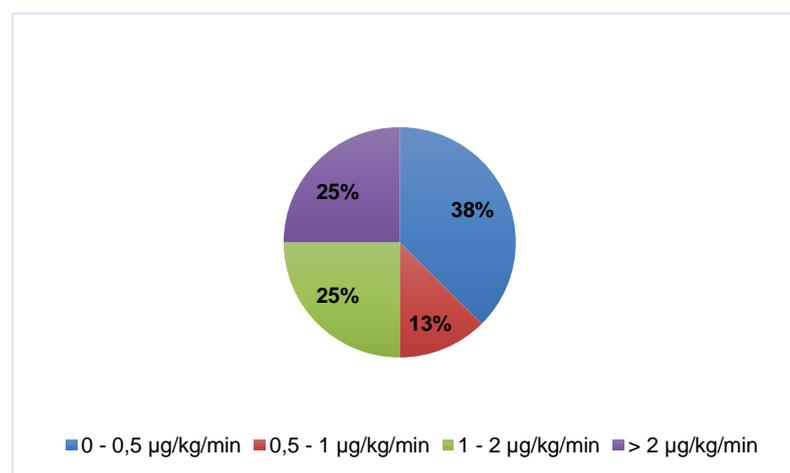


Figure 52 : Posologies de l'argatroban à l'initiation du traitement pour les patients TAPH positifs (n=8)

Parmi les patients traités par argatroban, 25% avaient une insuffisance hépatique (Figure 53) et seulement 13% avaient une insuffisance rénale sévère (Figure 54). Les 2 patients présentant une insuffisance hépatique avaient cependant un TP supérieur à 50 % (Figure 53).

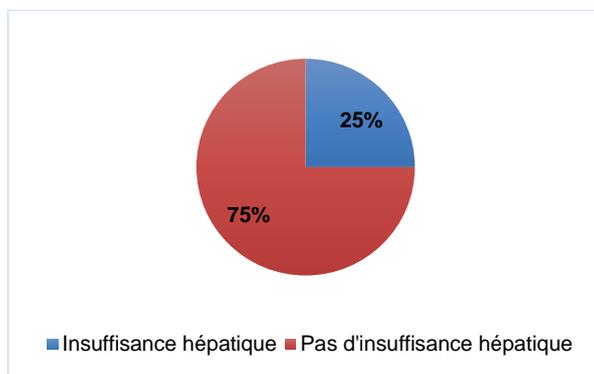


Figure 53 : Fonction hépatique des patients TAPH positifs traités par argatroban

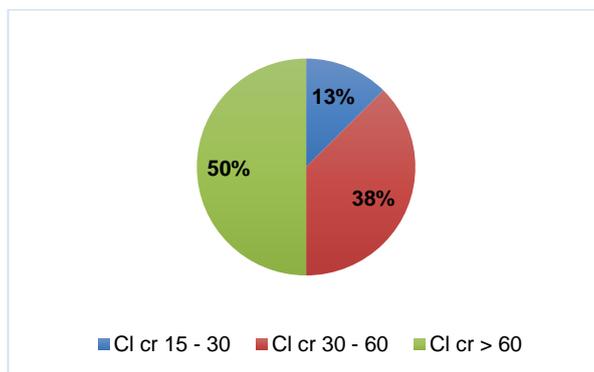


Figure 54 : Fonction rénale des patients TAPH positifs traités par argatroban

3.2.8.4. Traitement par fondaparinux

Six patients étaient traités par fondaparinux : 1 patient avait reçu 7.5 mg/jour, 2 patients 5 mg/jour et 3 patients 2.5 mg/jour (Figure 55). La durée moyenne du traitement était de 13 ± 10 jours et un seul patient a eu un dosage de l'activité anti-Xa et du fondaparinux au cours de son traitement. Deux patients sur 6 avaient une insuffisance rénale légère, les autres patients ne présentaient pas d'atteinte rénale.

A l'arrêt du traitement, la posologie était de 7.5 mg/jour pour 4 patients sur 6, la posologie ayant été maintenue à 5 mg/jour pour un des patients et à 2.5 mg/jour pour un autre.

Un événement thromboembolique est survenu chez 4 patients sur les 5 traités par une dose curative de fondaparinux (5 ou 7.5 mg/jour).

A propos des traitements relais du fondaparinux, 3 patients ont reçu des AVK, 1 de l'argatroban, 1 des AOD et 1 n'a pas reçu de traitement relai.

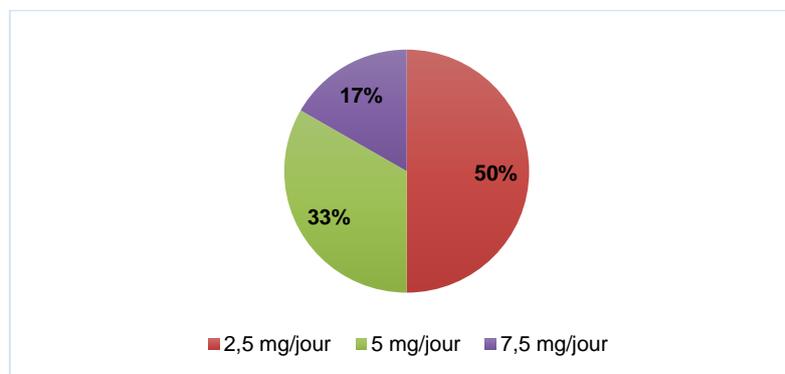


Figure 55 : Posologies du fondaparinux à l'initiation du traitement pour les patients TAPH positifs (n=6)

4. Discussion

L'objectif de cette étude est de décrire le profil des patients hospitalisés au CHUGA chez qui une TIH était suspectée ou confirmée, ainsi que les résultats des tests diagnostiques de la TIH et les traitements anticoagulants utilisés dans cette population.

Concernant les données démographiques et clinico-biologiques, la prévalence de la TIH dans notre population suspecte est de 6.5% ce qui est légèrement supérieur aux chiffres rapportés dans la littérature (0.2 à 5% (3)). La majorité des patients atteints

sont des hommes alors que le sex-ratio habituellement rapporté est de 2 femmes pour 1 homme (8). Un seul patient sur les 27 cas confirmés de TIH a moins de 40 ans. La majorité des patients sont hospitalisés dans des services de chirurgie ou de réanimation. Ces données sont en accord avec celles de la littérature.

Selon la littérature (4), le risque de TIH est dix fois plus élevé en cas de traitement par HNF que par HBPM. Dans notre étude, la fréquence de la TIH est trois fois plus élevée en cas de traitement par HNF seule que par HBPM seule. Ce calcul ne tient pas compte des patients ayant reçu de l'HNF et de l'HBPM en raison de la difficulté d'apprécier l'implication de l'une des héparines plus que l'autre.

En accord avec la littérature, pour la grande majorité des patients, la TIH apparaît au bout de 5 à 14 jours de traitement par héparine et la numération plaquettaire chute de plus de 50%.

Concernant l'évaluation de la probabilité clinique de TIH, le score pré-test (Score 4T) était insuffisamment renseigné avec 15% de données manquantes pour le score total et 22% de données manquantes pour les différents items du score.

D'après les résultats obtenus, la VPP d'un score intermédiaire était de 5% et celle d'un score élevé de 21%. Cuker et al. rapportent une VPP de 14% pour un score intermédiaire et de 64% pour un score élevé (46). Les VPP et VPN sont influencées par la prévalence de la maladie, ce qui pourrait expliquer la différence entre nos résultats et ceux de Cuker et al. Cependant, nos résultats mettent en évidence que plus le score 4T est élevé, plus la probabilité de conclure à une TIH est élevée.

En revanche, il n'est pas possible de déterminer la VPN d'un score 4T faible car cette étude descriptive n'est pas faite pour cela. En effet, selon l'algorithme utilisé au

CHUGA, un score 4T faible ne donne normalement pas lieu à une prescription de tests APF4.

Concernant la positivité de l'ELISA, plus elle est élevée plus la probabilité d'avoir un TAPH positif est élevé. Il est important de préciser que lorsque la DO est inférieure à 1, seulement 6% des TAPH étaient positifs et que lorsque la DO est supérieure à 2, 95% des TAPH sont positifs.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Warkentin et al. (64) qui avaient rapportés que moins de 5% des tests fonctionnels étaient positifs lorsque la DO de l'ELISA était inférieure à 1 et que plus de 90% des tests fonctionnels étaient positifs lorsque la DO de l'ELISA était supérieure à 2.

Concernant les traitements alternatifs, compte-tenu de l'utilisation de tests rapides au CHUGA, l'arrêt de l'héparine au profit d'un traitement alternatif n'est pas toujours immédiat ce qui explique, au moins en parti, que le jour de la prescription du test APF4 beaucoup de patients ont toujours de l'héparine.

Le danaparoïde est classiquement déconseillé en cas d'insuffisance rénale sévère, or 9 patients sur 55 traités par cette molécule présentaient une insuffisance rénale sévère. Le GIHP/GFHT (6) recommande l'utilisation d'argatroban dans ce cas-là. Sur les 9 patients insuffisants rénaux, 1 avait une insuffisance hépatique associée, 1 avait été transplanté hépatique, ce qui a pu faire privilégier ce traitement malgré l'insuffisance rénale. Les 7 autres patients ne présentaient pas d'atteinte hépatique associée.

Trente pour cent des patients avec un TAPH positif ont reçu du danaparoïde selon un schéma prophylactique conformément à ce qui est indiqué dans le RCP du VIDAL bien que plusieurs recommandations (British Guidelines 2012, ASH 2018 et GIHP/GFHT 2019) proposent dans ce cas un schéma thérapeutique curatif en phase aiguë de TIH.

Concernant l'argatroban, 4 patients ont reçu de l'argatroban alors qu'ils présentaient une insuffisance hépatique légère à modérée, un seul d'entre eux présentait une insuffisance rénale sévère, un autre une insuffisance rénale modérée, les deux derniers n'étant pas atteints d'insuffisance rénale. Les recommandations de l'ASH (110) et du GIHP/GFHT (6) diffèrent un peu sur l'utilisation de l'argatroban en cas d'insuffisance hépatique sévère, l'ASH recommandant d'éviter d'utiliser l'argatroban ou de l'utiliser à doses inférieures et le GIHP/GFHT recommandant dans ce cas l'utilisation du danaparoïde ou du fondaparinux.

L'ASH (110) place l'argatroban en première intention à la phase aiguë des patients instables quelle que soit la fonction rénale et le GIHP/GFHT (6) recommande l'argatroban en cas d'insuffisance rénale sévère en alternative au danaparoïde. La plupart des patients de notre étude (17 sur 21) traités par argatroban ne présentaient pas d'insuffisance rénale sévère. Pour ces patients, essentiellement hospitalisés dans des services de chirurgie et réanimation, la demi-vie plus courte de l'argatroban (52 ± 16 min) par rapport au danaparoïde (25h pour l'activité Xa et 7h pour l'activité IIa) pourrait avoir motivé ce choix en permettant une plus grande maniabilité en période post-opératoire du fait de la réversion rapide de l'effet anticoagulant à l'arrêt du pousse-seringue électrique.

Les 21 patients traités par argatroban ont eu un suivi biologique du traitement par mesure du TCA conformément aux RCP du VIDAL.

Seulement 4 patients se sont vu prescrire au moins un dosage d'argatroban bien que ce dosage semble plus fiable que le TCA (120).

Il est important de noter que 34 patients (28% des patients traités) ont été traités par fondaparinux malgré l'absence d'AMM mais conformément aux recommandations de plusieurs sociétés savantes. En revanche, aucun patient n'a été traité par AOD. Leur utilisation n'a été proposée que récemment par quelques sociétés savantes (ASH, GIHP/GFHT).

En raison du recueil rétrospectif des informations, notre étude présente quelques limites. Premièrement, il y a des données manquantes notamment pour le score 4T et les informations cliniques (scoring de certains items du score 4T). Deuxièmement, du fait du recueil rétrospectif et de l'utilisation d'un logiciel différent par les services de réanimation, des biais d'informations peuvent exister. Troisièmement, il est impossible de calculer les VPN car l'étude n'est pas conçue pour cela. En effet, l'algorithme du CHUGA ne recommande pas la prescription d'un TAPH en cas de test immunologique ELISA négatif.

5. Conclusion

Au total, cette étude descriptive souligne que la TIH survient le plus souvent en post-opératoire et sous HNF chez des patients présentant des comorbidités et notamment une fonction rénale altérée. Elle confirme la forte VPP d'une DO élevée ($DO > 1$) d'un dosage des anticorps anti-PF4/héparine IgG par méthode ELISA.

Cette étude met en évidence la complexité de choix du traitement alternatif selon le contexte et le profil du patient, la détermination de la posologie ainsi que le

monitoring biologique. Une prise en charge multidisciplinaire est essentielle pour garantir une prise en charge optimale des patients.

Le biologiste médical a un rôle important dans la mise en place, le choix et le conseil, l'exécution et l'interprétation des tests biologiques diagnostiques et des tests permettant de monitorer les différents traitements de la TIH.

6. Tableau récapitulatif

Tableau 14 : Caractéristiques des patients présentant un TAPH positif (n = 27)

Paramètres	Nombre de patients (%)
Âge moyenne \pm écart type [min ; max] (ans)	69 \pm 16 [38 ; 96]
> 40 ans	26 (96%)
Sexe	
Homme	20 (74%)
Femme	7 (26%)
Morbidité principale	
Remplacement de valve	8 (30%)
Pathologie infectieuse	4 (15%)
Pathologie cancéreuse	3 (11%)
Chirurgie orthopédique	3 (11%)
Pathologie cardiaque	3 (11%)
Polytraumatisme	2 (7%)
Pathologie vasculaire	2 (7%)
Pathologie rénale	1 (4%)
Pathologie respiratoire	1 (4%)
Type d'héparine	
HNF	12 (44%)
HBPM	4 (15%)
HNF et HBPM	11 (41%)
Indication principale du traitement (n=29*) <i>*Un patient a une double indication de traitement</i>	
Prophylaxie contexte post-opératoire	10 (36%)
Trouble du rythme cardiaque*	6 (21%)
Prophylaxie contexte médical	5 (18%)
Curatif maladie thromboembolique veineuse	4 (14%)
Coronaropathie/Pathologie vasculaire ischémique*	2 (7%)
Hémodialyse	1 (4%)

<p>Durée de l'héparinothérapie moyenne \pm écart type [min ; max] (jours)</p> <p>5 – 14 jours</p> <p>15 – 30 jours</p>	<p>12 \pm 5 [6 ; 29]</p> <p>24 (89%)</p> <p>3 (11%)</p>
<p>Numération plaquettaire moyenne \pm écart type [min ; max] (G/L)</p> <p>Basale (n=25)</p> <p>Au nadir (n=27)</p>	<p>249 \pm 128 [92 ; 682]</p> <p>59 \pm 28 [13 ; 121]</p>
<p>Taux de diminution de la numération plaquettaire (n=26)</p> <p>30 – 50 %</p> <p>> 50 %</p>	<p>2 (8%)</p> <p>24 (92%)</p>
<p>Score 4T</p> <p>Faible : 0 – 3</p> <p>Intermédiaire : 4 – 5</p> <p>Élevée : 6 – 8</p>	<p>0 (0%)</p> <p>12 (44%)</p> <p>15 (56%)</p>
<p>Items du score 4T</p> <p>Thrombopénie</p> <p>0</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>Timing</p> <p>0</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>Thromboses</p> <p>0</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>Autres causes de thrombopénie</p> <p>0</p>	<p>1 (4%)</p> <p>5 (19%)</p> <p>21 (78%)</p> <p>1 (4%)</p> <p>4 (15%)</p> <p>22 (81%)</p> <p>17 (63%)</p> <p>2 (7%)</p> <p>8 (30%)</p> <p>3 (11%)</p>

1	10 (37%)
2	14 (52%)
DO ELISA Moyenne \pm écart type [extrêmes]	2,117 \pm 0,547 [0,446 ; 2,732]
< 0,2	0 (0%)
0,2 – 0,5	1 (4%)
0,5 – 1	1 (4%)
1 – 2	6 (23%)
> 2	18 (69%)

Tableau 15 : Caractéristiques des traitements chez les patients avec un TAPH positif (n = 27)

<p align="center">Traitement alternatif</p> <p align="center">Danaparöide</p> <p align="center">Argatroban</p> <p align="center">Fondaparinux</p> <p align="center">AVK (déjà initié le jour de la prescription du test)</p> <p align="center">Poursuite héparine</p>	<p align="right">11 (40,5%)</p> <p align="right">8 (29,5%)</p> <p align="right">6 (22%)</p> <p align="right">1 (4%)</p> <p align="right">1 (4%)*patient TAPH+ avec une DO = 1.93 dont la numération plaquettaire s'est corrigée sous héparine</p>
<p align="center">Danaparöide (n = 10)¹</p> <p>Schéma thérapeutique (Identique début/fin de traitement)</p> <p align="center">Curatif</p> <p align="center">Prophylactique</p> <p>Durée du traitement Moyenne ± écart type [min ; max] (jours)</p> <p align="center">Monitoring biologique du traitement (Activité anti-Xa Orgaran)</p> <p align="center">Insuffisance hépatocellulaire</p> <p align="center">Clairance de la créatinine* (n = 9)</p> <p align="center">< 15 µmol/L</p> <p align="center">15 – 30 µmol/L</p> <p align="center">30 – 60 µmol/L</p> <p align="center">> 60 µmol/L</p>	<p align="right">7 (70%)*dont 2 sans autre indication curative</p> <p align="right">3 (30%)</p> <p align="right">9 ± 7 [4 ; 26]</p> <p align="right">7 (70%)</p> <p align="right">0 (0%)</p> <p align="right">1 (10%)</p> <p align="right">2 (20%)</p> <p align="right">4 (40%)</p> <p align="right">2 (20%)</p>
<p align="center">Argatroban (n = 8)</p> <p align="center">Posologie Moyenne ± écart type [min ; max]</p>	

($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$)	
A l'initiation	1.3 \pm 0,8 [0.48 ; 2.3]
A l'arrêt	1 \pm 0.9 [0.1 ; 2.3]
Durée du traitement Moyenne \pm écart type [min ; max] (jours)	11 \pm 6 [4 ; 20]
Monitoring biologique du traitement* Une mesure du TCA et de l'argatroban ont été réalisés pour un patient	8 (100%)
TCA	8 (100%)
Dosage de l'Argatroban	1 (12.5%)
Insuffisance hépatocellulaire	2 (25%)
Clairance de la créatinine selon la formule de Cockcroft & Gault	
15 – 30 $\mu\text{mol}/\text{L}$	1 (13%)
30 – 60 $\mu\text{mol}/\text{L}$	3 (38%)
> 60 $\mu\text{mol}/\text{L}$	4 (50%)
Fondaparinux (n=6)	
Posologie à l'initiation	
2.5 mg/jour	3 (50%)
5 mg/jour	2 (33%)
7.5 mg/jour	1 (17%)
Posologie à l'arrêt	
2.5 mg/jour	1 (16,5%)
5 mg/jour	1 (16,5%)
7.5 mg/jour	4 (67%)
Durée du traitement Moyenne \pm écart type [min ; max] (jours)	13 \pm 10 [5 ; 32]
Monitoring biologique (activité anti-Xa)	1 (17%)
Clairance de la créatinine selon la formule de	

Cockcroft & Gault	
30 – 60 $\mu\text{mol/L}$	2 (33%)
> 60 $\mu\text{mol/L}$	4 (67%)

¹ le patient traité tardivement n'a pas été inclus dans l'analyse de données

Partie 3 : Evaluation d'un nouveau kit de diagnostic fonctionnel : test HIT Confirm® (Emosis)

1. Introduction

Le diagnostic biologique de la TIH repose sur la réalisation de tests « spécifiques ».

Le diagnostic biologique s'effectue classiquement en deux étapes :

- Une première étape qui consiste à doser les anticorps anti-PF4/héparine par un test immunologique (test de dépistage rapide et/ou dosage immunoenzymatique de type ELISA).
- Une seconde étape qui consiste en un test fonctionnel si les anticorps anti-PF4/héparine sont positifs.

Nous avons précédemment vu dans la partie 1 qu'il existait trois principaux tests fonctionnels (SRA, HIPA et TAPH), complexes à réaliser et chronophages.

Récemment, la société Emosis (Illkirch-Graffenstaden, France) a développé le test HIT Confirm® pour le diagnostic de la thrombopénie induite par l'héparine. Il s'agit d'un test fonctionnel réalisé en cytométrie en flux. Il est basé sur la mesure de l'activation de plaquettes de témoins par le plasma du patient en présence d'héparine. Le niveau d'activation plaquettaire est mesuré en cytométrie de flux grâce à deux marqueurs de surface : un marqueur plaquettaire CD41 et un marqueur d'activation plaquettaire CD62.

D'après Tardy et al. (133), les performances du test HIT Confirm® obtenues par comparaison au diagnostic fait par un groupe d'experts est comparable à celui du SRA. Dans l'étude de Tardy et al., la sensibilité et spécificité étaient respectivement de 83% et 97% pour le test HIT Confirm® et de 88% et 97% pour le SRA.

2. Objectif

Evaluation du nouveau test fonctionnel HIT Confirm® par cytométrie en flux pour le diagnostic de la TIH. Comparaison des méthodes HIT Confirm® et TAPH. Comparaison des résultats HIT Confirm® obtenus avec le PRP de 2 donneurs.

3. Matériel et Méthode :

3.1. Population étudiée

Seize plasmas issus de fond de tubes provenant de patients qui avaient au préalable bénéficié en routine d'un TAPH, en raison d'un test ELISA APF4 IgG positif. Le TAPH avait été réalisé au CHUGA en testant en présence d'héparine le plasma des patients suspects de TIH systématiquement avec le PRP de 4 donneurs sains (EFS).

Seize plasmas ont été testés avec le kit HIT Confirm® : 9/16 avaient un TAPH positif et 7/16 un TAPH négatif. Tous avaient précédemment été testés positifs en test rapide ID-PaGIA® Biorad et en ELISA IgG (DO moyenne = 1.600 ± 1.000 , min = 0.302, max = 2.51)

Les patients testés par la technique HIT Confirm® avaient un score 4T moyen à 5 (minimum 4 et maximum 7).

3.2. Préparation des échantillons à tester

Les plasmas, conservés à -80°C, ont été décongelés au bain marie à 37°C puis filtrés à 0.2 µm afin d'éliminer les contaminants susceptibles d'activer artificiellement les plaquettes et/ou d'interférer directement avec l'analyse en cytométrie.

A chaque série de patients, le PRP de deux témoins a été testé sauf pour la première série (2 patients) où un seul PRP a été testé comme recommandé par le fournisseur.

Dans chaque série au moins un témoin positif a été testé (DO APF4 ELISA IgG > 1.5 et TAPH positif).

Le PRP a été préparé dans le respect des recommandations du fournisseur (centrifugation à 200g, 5 minutes, entre 20 et 25°C, sans frein).

Une fois les PRP des témoins et les plasmas des patients prêts, nous avons préparé les échantillons à analyser selon les instructions du fournisseur :

- Premièrement, préparation du mélange initial (Figure 56) constitué de :
 - o le PRP du témoin (donneur de sang à l'EFS)
 - o un anticorps anti-CD41 marqué à la phycoérythrine (PE)
 - o un anticorps anti-CD62 marqué à la fluorescéine isothiocyanate (FITC)
 - o le tampon de dilution

- Deuxièmement, préparation des tubes à analyser en cytométrie en flux :
 - o Pour chaque série, un « contrôle » négatif (tampon) et un « contrôle » positif (TRAP) sont réalisés :
 - Tube « Contrôle négatif » : mélange initial + tampon de dilution
 - Tube « Contrôle positif » : mélange initial + tampon de dilution + TRAP (qui active fortement les plaquettes)

 - o Chaque plasma de patient est testé en présence d'héparine 0.3 UI/mL et 100 UI/mL (concentrations finales)
 - Patient H0.3 : mélange initial + plasma patient + héparine 3 UI/mL

- Patient H100 : mélange initial + plasma patient + héparine 1000 UI/mL

- Troisièmement : les tubes « contrôle négatif » et « contrôle positif », H0.3 et H100 sont mis à l'abri de la lumière pendant 30 minutes puis le tampon de dilution est ajouté et la lecture au cytomètre réalisée.

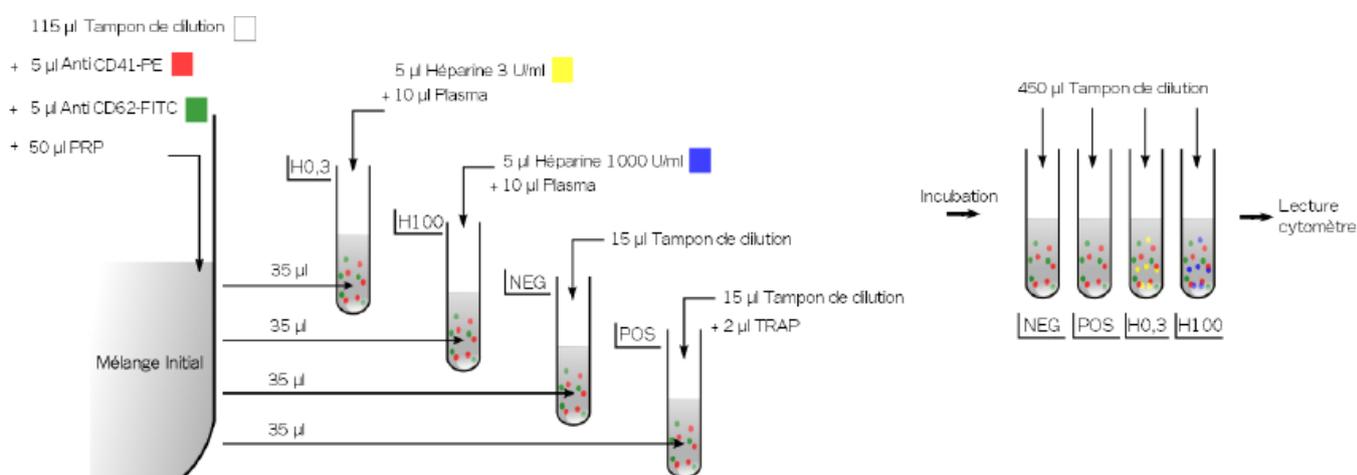


Figure 56 : Immunomarquage (test HIT Confirm®) (d'après la notice fournisseur (134))

4. Analyse et interprétation des résultats

4.1. Analyse

Les tests ont été réalisés sur un cytomètre de flux FACS CANTO™ II (Becton Dickinson).

Une première sélection des cellules est faite en fonction de leur taille (Forward Scatter, FSC) et de leur structure (Side Scatter, SSC) pour obtenir la population P1 colorée en rouge (Figure 57). Puis l'émission de fluorescence par le fluorochrome PE

lié aux anticorps anti-CD41 permet de sélectionner la population plaquettaire CD41 positive (nommée P2 et colorée en vert sur le graphique (Figure 57)).

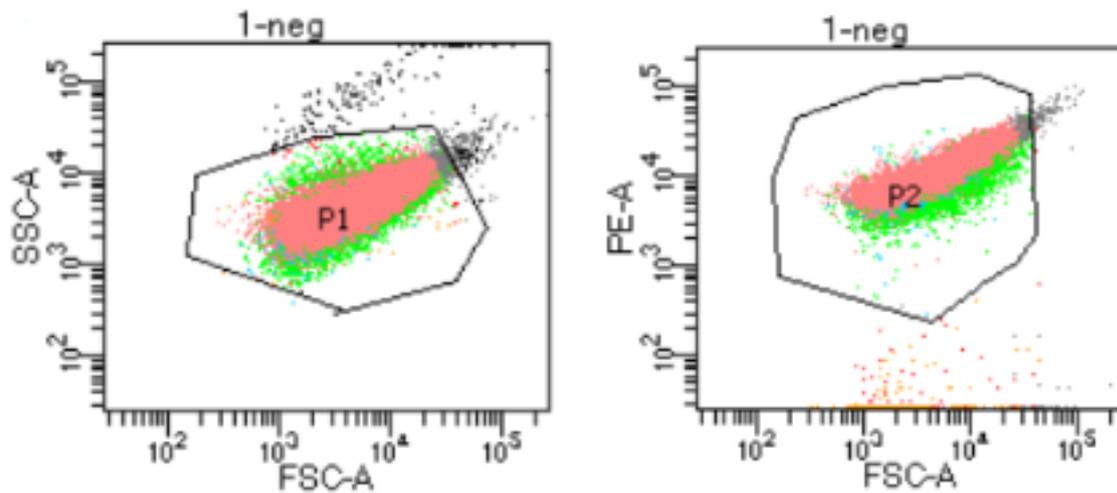


Figure 57 : Analyse cytométrique : sélection de la population plaquettaire. En rouge (P1) : sélection SSC/FSC. En vert (P2) : plaquettes sélectionnées correspondant à une sous-population CD41+ de P1 (test HIT Confirm®).

Une fois la population plaquettaire sélectionnée, les « contrôles » positifs et négatifs sont passés. Sur la Figure 64, on observe en ordonnée le nombre d'évènements enregistrés par le cytomètre (= nombre de cellules analysées) et en abscisse l'intensité de fluorescence par le fluorochrome FITC associé à l'anticorps anti-CD62, marqueur d'activation plaquettaire.

On observe deux populations distinctes (Figure 58) :

- À gauche, la population verte représente les plaquettes inactives. Le signal FITC est très faible.
- À droite, la population grise représente les plaquettes activées avec une émission de fluorescence importante en FITC.

La zone d'intersection entre les deux courbes permet de définir un seuil au-dessus duquel se situe la population de plaquettes activées, P3.

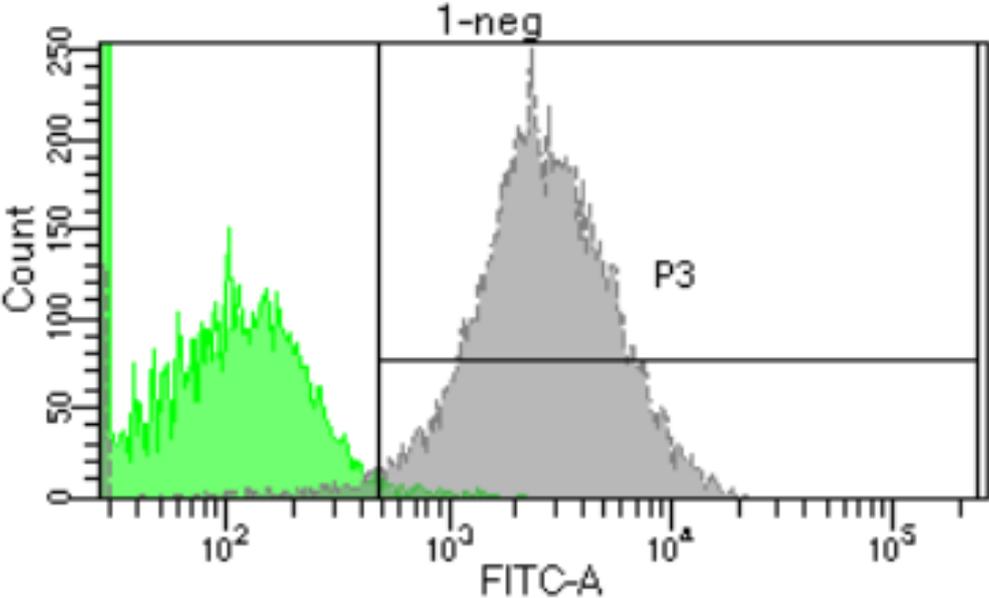


Figure 58 : Analyse cytométrique : superposition des plaquettes du "contrôle" négatif (en vert) et du "contrôle" positif TRAP (en gris) (test HIT Confirm®)

Les tubes du patient H0.3 et H100 sont ensuite analysés et les pourcentages de population P3 recueillis. Par exemple, concernant le patient représenté ci-dessous, pour l'échantillon patient H0.3, P3 est égal à 24.3% et pour l'échantillon patient H100, P3 est égal à 7.9% (Figure 59). Ces pourcentages permettent ainsi de calculer le %HEPLA.

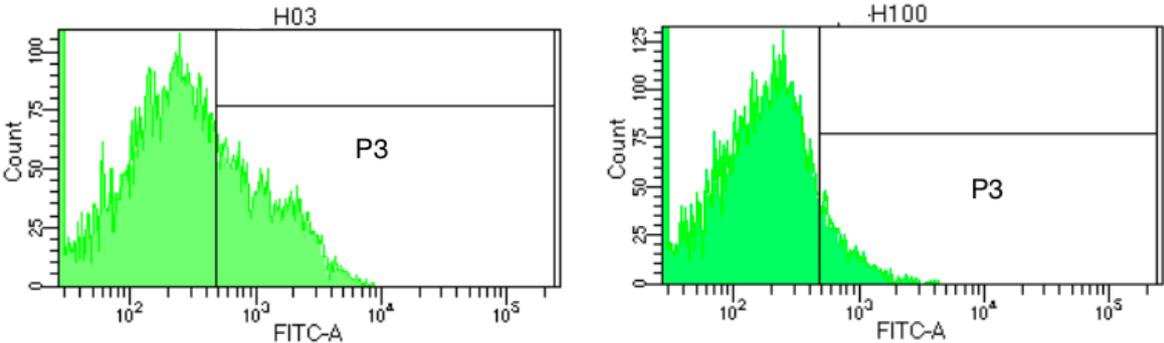


Figure 59 : Histogrammes des tubes H0.3 et H100 (test HIT Confirm®)

Le signal mesuré avec le tube H100 en présence d'héparine à forte concentration correspond à une activation non spécifique des plaquettes puisque de fortes concentrations d'héparine dissocient le complexe héparine/PF4 (69)

4.2. Interprétation

Les résultats s'interprètent en calculant l'index d'activation plaquettaire en présence d'héparine (%HEPLA) selon la formule : $\%HEPLA = \frac{\%H0.3 - \%H100}{\%POS - \%NEG} \times 100$ avec %H0.3 le pourcentage de plaquettes activées présentes dans le tube patient H0.3, %H100 celui du tube patient H100, %POS celui du « contrôle positif » TRAP et %NEG celui du « contrôle négatif ».

Le fournisseur recommande que le %NEG se situe dans l'intervalle]2.9% ; 19.3%[et que le %POS soit supérieur à 84.9%. Si ces valeurs ne sont pas atteintes, il recommande de répéter l'analyse avec un PRP différent.

Le résultat d'un échantillon est considéré négatif si %HEPLA < 9.6%, douteux s'il est compris entre 9.6 et 13% et positif si %HEPLA > 13% (Figure 60).

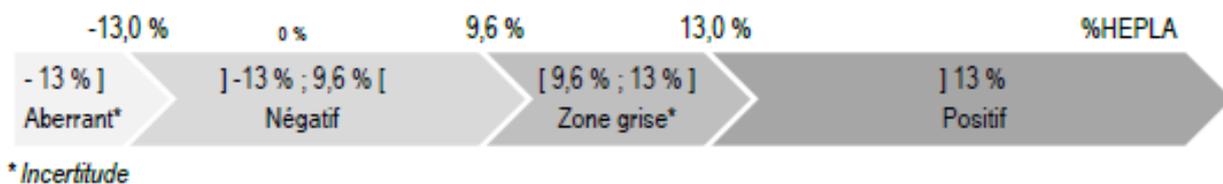


Figure 60 : Seuils d'interprétation du test HIT Confirm (d'après les données fournisseur) (134)

Selon les recommandations fournisseur, il n'est pas nécessaire de sélectionner des donneurs pour le PRP. En cas de réalisation du test sur plusieurs PRP de donneurs différents, le fournisseur préconise de conclure à la positivité du test si les résultats sont discordants avec au moins un des résultats positifs.

Pour nos tests effectués avec le PRP de deux donneurs différents, en cas de résultat discordant entre deux PRP avec un résultat douteux et un résultat négatif, nous avons considéré le résultat final comme négatif.

4.3. Résultats

Tableau 16 : Résumé et comparaison des résultats du test HIT Confirm® et TAPH

Patient	Date du HIT Confirm®	4 T	ID-PaGIA® Biorad	DO ELISA	TAPH	HIT Confirm® %HEPLA PRP1		HIT Confirm® %HEPLA PRP2		Conclusion PRP1 et PRP2	Accord avec la TAPH
1	12/12/19	5	Positif	0.381	Négatif	1.5	Négatif	NR	NR	Négatif	Oui
2		5	Positif	2.313	Positif	17.4	Positif	NR	NR	Positif	Oui
3	10/01/20	4	Positif	2.461	Positif	33.2	Positif	33.7	Positif	Positif	Oui
4		NR	Positif	0.644	Négatif	7.8	Négatif	2.6	Négatif	Négatif	Oui
5	14/01/20	NR	Positif	1.900	Positif	13	Douteux	5.1	Négatif	Négatif	Non
6		5	Positif	0.879	Positif	17.6	Positif	8.9	Négatif	Positif	Oui
7		7	Positif	2.51	Négatif	9.7	Douteux	2.1	Négatif	Négatif	Oui
8		7	Positif	1.845	Positif	22.9	Positif	5.7	Négatif	Positif	Oui
9	21/01/20	4	Positif	1.933	Négatif	12.2	Douteux	5.8	Négatif	Négatif	Oui
10		5	Positif	2.307	Positif	40.8	Positif	12.6	Douteux	Positif	Oui
11		4	Positif	2.222	Positif	54.7	Positif	25.5	Positif	Positif	Oui
12		6	Positif	0.309	Négatif	33.6	Positif	11	Douteux	Positif	Non
13	31/01/20	5	Positif	1.916	Positif	11.9	Douteux	-1.2	Négatif	Négatif	Non
14		6	Positif	1.313	Négatif	7.7	Négatif	11.4	Douteux	Négatif	Oui
15		6	Positif	1.700	Positif	46.6	Positif	27.3	Positif	Positif	Oui
16		NR	Positif	0.302	Négatif	-0.5	Négatif	0	Négatif	Négatif	Oui

Pour la réalisation du test HIT Confirm®, 5 séries de tests ont été réalisées (Tableau 16) et deux PRP ont été testés à chaque série sauf pour la première série où un seul PRP a été testé.

Parmi les 9 patients positifs en TAPH, 59% des tests HIT Confirm® sont positifs, 23% négatifs et 18% douteux en tenant compte de l'interprétation des résultats des deux PRP (Figure 61). Parmi les 7 patients négatifs en TAPH, 62% des conclusions des tests HIT Confirm® sont négatives, 30% positives et 8% douteuses (Figure 62).

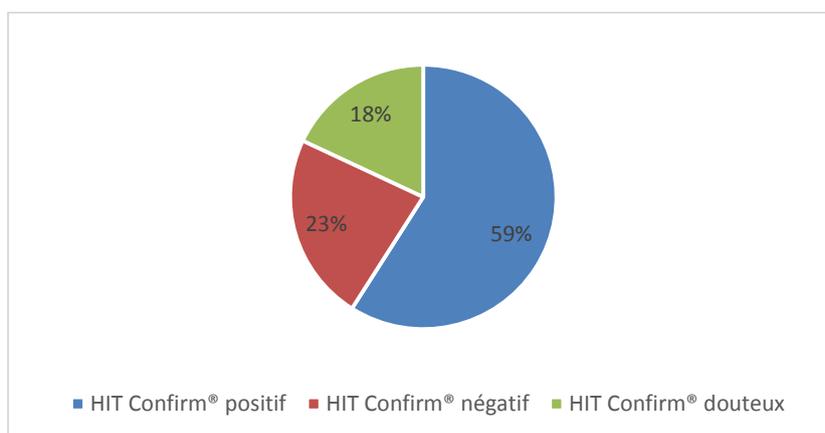


Figure 61 : Résultats du test HIT Confirm® chez les patients avec un TAPH positif

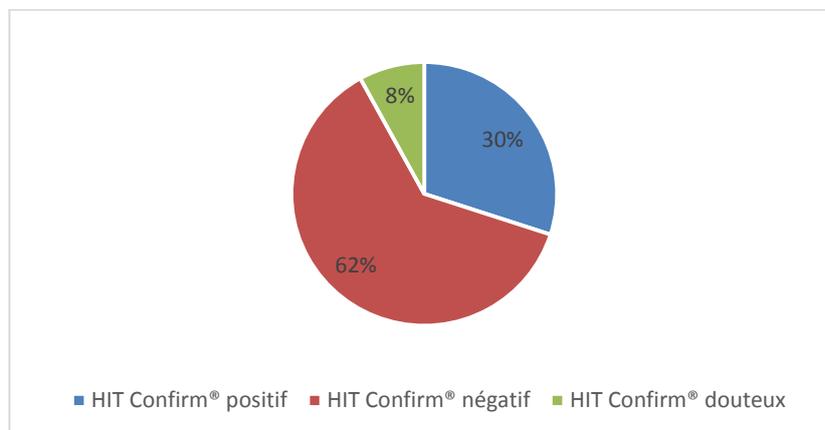


Figure 62 : Résultats du test HIT Confirm® chez les patients avec un TAPH négatif

Sur les 14 patients pour lesquels deux PRP ont été testés, 9 (64%) ont un résultat discordant entre le PRP témoin 1 et le PRP témoin 2 dont 2 avec une discordance de résultat de type positif + négatif et 7 avec une discordance de résultat de type douteux + positif ou douteux + négatif.

Au total, 3 conclusions sur 14 plasmas testés en HIT Confirm® (réalisé sur deux PRP différents) sont discordantes avec la conclusion du TAPH : deux résultats TAPH positifs sont négatifs en HIT Confirm® (ces 2 patients avaient des DO élevées de 1.900 et 1.916 respectivement) et un échantillon TAPH négatif est trouvé positif en HIT Confirm® (DO faible 0.309).

De plus, bien que le fournisseur préconise de réaliser l'analyse cytométrique immédiatement après avoir réalisé les mélanges réactionnels et l'immunomarquage, nous avons souhaité évaluer l'impact d'un délai de 2 heures avant l'analyse cytométrique. Nous avons comparé les valeurs de %HEPLA obtenues chez 6 patients en réalisant l'analyse cytométrique immédiatement (H0) puis 2 heures plus tard dans la limite de validité d'utilisation du PRP (délai < 3h). Les différences de valeurs sont notables avec des %HEPLA plus faible à H2 (Tableau 17). Il faut donc bien respecter les préconisations fournisseurs en analysant les échantillons immédiatement.

Tableau 17 : Résultats comparatifs des %HEPLA obtenus immédiatement et 2 heures suivant l'Immunomarquage

Patients	HIT Confirm® %HEPLA PRP1 H0	HIT Confirm® %HEPLA PRP1 H2	Conclusion PRP1 H0 et H2	HIT Confirm® %HEPLA PRP2 H0	HIT Confirm® %HEPLA PRP2 H2	Conclusion PRP2 H0 et H2
3	33.2	29.3	Positif/Positif	33.7	36.2	Positif/Positif
4	7.8	4.7	Négatif/Négatif	2.6	-16.6	Négatif/Aberrant
13	11.9	8.2	Douteux/Négatif	-1.2	-12.6	Négatif/Négatif
14	7.7	-0.4	Négatif/Négatif	11.4	13.1	Douteux/Positif
15	46.6	42.8	Positif/Positif	27.3	14.9	Positif/Positif
16	-0.5	-3.5	Négatif/Négatif	0	-1.7	Négatif/Négatif

5. Discussion

Le test HIT Confirm® présente les avantages d'être assez rapide (environ soixante minutes) et de ne nécessiter ni étapes de lavages de plaquettes ni matériel radioactif.

Cependant, plusieurs discordances de résultats ont été relevées lors de cette étude.

- Premièrement, nous avons observé plusieurs discordances de résultats entre les 2 PRP témoins utilisés comme sources de plaquettes. Cela souligne l'influence importante du PRP témoin et soulève la nécessité de multiplier ou de sélectionner les donneurs (PRP) alors que le fournisseur indique qu'il n'est pas nécessaire de sélectionner des plaquettes de donneurs réactives. De plus, la fiche technique mentionne certes une

bonne reproductibilité inter-donneur pour un plasma positif fort (CV = 6%) mais celle-ci est beaucoup moins bonne pour un plasma positif moyen (CV = 44.8%).

- Deuxièmement, nous avons observé des discordances entre les résultats de TAPH et du test HIT Confirm®. Trois patients sur seize ont un résultat discordant.

Les deux premières discordances concernent le patient 5 et le patient 13 chez qui les tests ELISA étaient fortement positifs (DO = 1,900 et 1,916 respectivement) et les tests TAPH positifs étaient fortement en faveur d'une TIH et chez qui, les tests HIT Confirm® se sont avérés négatifs.

La troisième discordance concerne le patient 12 pour lequel le TAPH était négatif avec un test ELISA faiblement positif (DO = 0,309) alors que le résultat du test HIT Confirm® est positif. Dans ce cas, compte-tenu de la faible DO, la probabilité de TIH de type 2 est vraisemblablement très faible. Il s'agit probablement d'un faux positif du HIT Confirm®.

Enfin, le coût du test HIT Confirm® est élevé, le prix d'un coffret de 20 tests indépendants est d'environ 1000 euros soit environ 100 euros/patient testé avec 2 PRP (sans inclure un témoin positif). Multiplier les PRP et l'inclusion de témoins positifs augmenteraient encore le prix.

Notre étude comporte quelques limites. D'une part, l'effectif de patients inclus dans l'étude est faible. D'autre part, le test HIT Confirm® n'a pas été comparé au gold-standard SRA mais seulement au TAPH utilisé au laboratoire du CHUGA. En enfin, la répétabilité et reproductibilité n'ont pas été évaluées, notamment à cause de la stabilité limitée du PRP dans le temps.

6. Conclusion

Le test HIT Confirm® est certes rapide et relativement simple, mais au vu de nos résultats et des nombreux résultats douteux et des discordances entre les résultats obtenus avec deux PRP différents, il semble difficile d'envisager de n'utiliser qu'un ou deux PRP témoin. Tester un nombre bien supérieur de PRP (trois ou quatre) permettrait peut-être, au détriment du coût déjà relativement élevé, de conclure plus facilement en obtenant au moins 2 résultats totalement concordants.

THÈSE SOUTENUE PAR : Marie HADDAD

TITRE : Thrombopénie induite par l'héparine de type 2 : bases biologiques et diagnostiques, étude rétrospective des modalités diagnostiques et thérapeutiques, et évaluation d'un nouveau kit de diagnostic fonctionnel.

CONCLUSION :

La TIH est une complication iatrogène pro-thrombotique d'origine immunologique potentiellement grave compliquant les traitements hépariniques, associant une thrombopénie et parfois une/des thrombose(s) veineuse et/ou artérielle.

Il s'agit d'une pathologie complexe où le diagnostic est encore aujourd'hui difficile. Les nombreux tests immunologiques et fonctionnels disponibles ont des performances diagnostiques ainsi que des avantages et inconvénients variables. Les tests fonctionnels requièrent généralement une grande expertise technique. L'objectif dans les années à venir serait d'évoluer vers des tests fonctionnels plus rapides.

Le test fonctionnel (HIT Confirm®) que nous avons évalué en cytométrie de flux présente ces avantages mais les résultats obtenus sur un petit effectif de patients ont abouti à plusieurs résultats douteux et des résultats dépendants des plaquettes des témoins testés. Une évaluation à plus large échelle en sélectionnant les plaquettes de donneurs paraît nécessaire.

L'étude rétrospective réalisée au cours de cette thèse sur 395 patients suspects de TIH et attachée à décrire les résultats des tests diagnostiques ainsi que la prise en charge thérapeutique anticoagulante illustre la complexité de cette pathologie notamment concernant le choix et la posologie du traitement anticoagulant alternatif et de son monitoring biologique.

Les récentes recommandations des sociétés savantes pour le diagnostic et la prise en charge des TIH permettront sans doute l'uniformisation de la prise en charge de cette pathologie.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le : 02/07/2020

LE DOYEN Michel SEVE :

LE DIRECTEUR DE THESE Raphael MARLU :



Bibliographie

1. Mclean J. The Discovery of Heparin. *Circulation*. janv 1959;19(1):75- 8.
2. Weismann RE. Arterial Embolism Occurring During Systemic Heparin Therapy. *Arch Surg*. 1 févr 1958;76(2):219.
3. Cuker A. Heparin-induced thrombocytopenia: present and future. *J Thromb Thrombolysis*. avr 2011;31(3):353- 66.
4. Martel N, Lee J, Wells PS. Risk for heparin-induced thrombocytopenia with unfractionated and low-molecular-weight heparin thromboprophylaxis: a meta-analysis. *Blood*. 15 oct 2005;106(8):2710- 5.
5. Francis JL, Palmer GJ, Moroosse R, Drexler A. Comparison of bovine and porcine heparin in heparin antibody formation after cardiac surgery. *The Annals of Thoracic Surgery*. janv 2003;75(1):17- 22.
6. GIHP et GFHT 2019 diagnostic et prise en charge d'une HIT.pdf.
7. Oliveira GBF. Incidence and Prognostic Significance of Thrombocytopenia in Patients Treated With Prolonged Heparin Therapy. *Arch Intern Med*. 14 janv 2008;168(1):94.
8. Warkentin TE, Sheppard J-AI, Sigouin CS, Kohlmann T, Eichler P, Greinacher A. Gender imbalance and risk factor interactions in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*. 1 nov 2006;108(9):2937- 41.
9. Stein PD, Hull RD, Matta F, Yaekoub AY, Liang J. Incidence of Thrombocytopenia in Hospitalized Patients with Venous Thromboembolism. *The American Journal of Medicine*. oct 2009;122(10):919- 30.
10. Warkentin TE, Sheppard J-AI, Horsewood P, Simpson PJ, Moore JC, Kelton JG. Impact of the patient population on the risk for heparin-induced thrombocytopenia. 2000;96(5):7.
11. Cuker A, Cines DB. How I treat heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*. 8 mars 2012;119(10):2209- 18.
12. Sagaram D, Siddiq Z, Eisenberger A, Ananth C, Wright J, D'Alton M, et al. Heparin-Induced Thrombocytopenia during Obstetric Hospital Admissions. *Amer J Perinatol*. juill 2018;35(09):898- 903.
13. Obeng EA, Harney KM, Moniz T, Arnold A, Neufeld EJ, Trenor CC. Pediatric Heparin-Induced Thrombocytopenia: Prevalence, Thrombotic Risk, and Application of the 4Ts Scoring System. *The Journal of Pediatrics*. janv 2015;166(1):144-150.e1.
14. Pötschke C, Selleng S, Bröker BM, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia: further evidence for a unique immune response. *Blood*. 15 nov 2012;120(20):4238- 45.
15. Warkentin TE. Temporal Aspects of Heparin-Induced Thrombocytopenia. *The New England Journal of Medicine*. 2001;7.

16. Greinacher A, Kohlmann T, Strobel U, Sheppard J-AI, Warkentin TE. The temporal profile of the anti-PF4/heparin immune response. *Blood*. 14 mai 2009;113(20):4970- 6.
17. Warkentin TE, Sheppard J-AI, Moore JC, Cook RJ, Kelton JG. Studies of the immune response in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*. 14 mai 2009;113(20):4963- 9.
18. Zucker MB, Katz IR. Platelet Factor 4: Production, Structure, and Physiologic and Immunologic Action. *Experimental Biology and Medicine*. 1 nov 1991;198(2):693- 702.
19. Hirsh J, Raschke R. Heparin and Low-Molecular-Weight Heparin. *Chest*. sept 2004;126(3):188S-203S.
20. Hirsh J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, Anand SS, Halperin JL, Raschke R, et al. Heparin and Low-Molecular-Weight Heparin Mechanisms of Action, Pharmacokinetics, Dosing, Monitoring, Efficacy, and Safety. *Chest*. janv 2001;119(1):64S-94S.
21. Elalamy I. Héparines : structure, propriétés pharmacologiques et activités. *EMC - Hématologie*. janv 2010;5(3):1- 12.
22. Lane DA, Denton J, Flynn AM, Thunberg L, Lindahl U. Anticoagulant activities of heparin oligosaccharides and their neutralization by platelet factor 4. *Biochemical Journal*. 15 mars 1984;218(3):725- 32.
23. Arepally GM. Heparin-induced thrombocytopenia. 2017;129(21):10.
24. Rauova L, Poncz M, McKenzie SE, Reilly MP, Arepally G, Weisel JW, et al. Ultralarge complexes of PF4 and heparin are central to the pathogenesis of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*. 1 janv 2005;105(1):131- 8.
25. Warkentin TE. How I Diagnose and Manage HIT. *Hematology*. 10 déc 2011;2011(1):143- 9.
26. Gruel Y, Rollin J, Leroux D, Pouplard C. Les thrombocytopénies induites par l'héparine : données récentes. *La Revue de Médecine Interne*. mars 2014;35(3):174- 82.
27. Chong BH, Fawaz I, Chesterman CN, Berndt MC. Heparin-induced thrombocytopenia: mechanism of interaction of the heparin-dependent antibody with platelets. *Br J Haematol*. oct 1989;73(2):235- 40.
28. Fitzgerald JR, Foster TJ, Cox D. The interaction of bacterial pathogens with platelets. *Nat Rev Microbiol*. juin 2006;4(6):445- 57.
29. Rollin J, Pouplard C, Gruel Y. Risk factors for heparin-induced thrombocytopenia: Focus on Fcγ receptors. *Thromb Haemost*. sept 2016;116(11):799- 805.
30. Rollin 2015 increased risk of thrombosis in FcγRIIA 131RR patients with TIH due to defective control of platelet activation by plasma IgG2.pdf.
31. Rollin J, Pouplard C, Gratacap M-P, Leroux D, May M-A, Aupart M, et al. Polymorphisms of protein tyrosine phosphatase CD148 influence FcγRIIA-dependent platelet activation and the risk of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*. 9 août 2012;120(6):1309- 16.
32. Madeeva D, Cines DB, Poncz M, Rauova L. Role of monocytes and endothelial cells in

heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost.* sept 2016;116(11):806- 12.

33. Poupard C, Iochmann S, Renard B, Hérault O, Colombat P, Amiral J, et al. Induction of monocyte tissue factor expression by antibodies to heparin–platelet factor 4 complexes developed in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood.* 15 mai 2001;97(10):3300- 2.
34. Xiao Z, Visentin GP, Dayananda KM, Neelamegham S. Immune complexes formed following the binding of anti–platelet factor 4 (CXCL4) antibodies to CXCL4 stimulate human neutrophil activation and cell adhesion. *Blood.* 15 août 2008;112(4):1091- 100.
35. Blank M, Shoenfeld Y, Tavor S, Praprotnik S, Boffa MC, Weksler B, et al. Anti-platelet factor 4/heparin antibodies from patients with heparin-induced thrombocytopenia provoke direct activation of microvascular endothelial cells. *International Immunology.* févr 2002;14(2):121- 9.
36. Cuker A. Management of the multiple phases of heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost.* sept 2016;116(11):835- 42.
37. GIHP et GFHT 2019 diagnostic et prise en charge d'une HIT.pdf.
38. Warkentin TE. Drug-Induced Immune-Mediated Thrombocytopenia — From Purpura to Thrombosis. *N Engl J Med.* mars 2007;356(9):891- 3.
39. Warkentin TE, Roberts RS, Hirsh J, Kelton JG. An Improved Definition of Immune Heparin-Induced Thrombocytopenia in Postoperative Orthopedic Patients. *Arch Intern Med.* 10 nov 2003;163(20):2518.
40. Warkentin TE. Clinical picture of heparin-induced thrombocytopenia (HIT) and its differentiation from non-HIT thrombocytopenia. *Thromb Haemost.* sept 2016;116(11):813- 22.
41. Padmanabhan A, Jones CG, Bougie DW, Curtis BR, McFarland JG, Wang D, et al. Heparin-independent, PF4-dependent binding of HIT antibodies to platelets: implications for HIT pathogenesis. *Blood.* 1 janv 2015;125(1):155- 61.
42. Warkentin TE, Kelton JG. A 14-year study of heparin-induced thrombocytopenia. *The American Journal of Medicine.* nov 1996;101(5):502- 7.
43. Tassava T, Warkentin TE. Non-injection-site necrotic skin lesions complicating postoperative heparin thromboprophylaxis: Skin necrosis distant from heparin injection sites. *Am J Hematol.* août 2015;90(8):747- 50.
44. Warkentin TE, Roberts RS, Hirsh J, Kelton JG. Heparin-Induced Skin Lesions and Other Unusual Sequelae of the Heparin-Induced Thrombocytopenia Syndrome. *Chest.* mai 2005;127(5):1857- 61.
45. Warkentin TE, Safyan EL, Linkins L-A. Heparin-Induced Thrombocytopenia Presenting as Bilateral Adrenal Hemorrhages. *N Engl J Med.* 29 janv 2015;372(5):492- 4.
46. Cuker A, Gimotty PA, Crowther MA, Warkentin TE. Predictive value of the 4Ts scoring system for heparin-induced thrombocytopenia: a systematic review and meta-analysis. *Blood.* 15 nov 2012;120(20):4160- 7.
47. Prospective evaluation of the interobserver reliability of the 4Ts score in patients with

suspected heparin-induced thrombocytopenia. :2.

48. Pierce W, Mazur J, Greenberg C, Mueller J, Foster J, Lazarchick J. Evaluation of Heparin-induced Thrombocytopenia (HIT) Laboratory Testing and the 4Ts Scoring System in the Intensive Care Unit. 2013;43(4):7.

49. Wanat M, Fitousis K, Hall J, Rice L. PF4/Heparin Antibody Testing and Treatment of Heparin-Induced Thrombocytopenia in the Intensive Care Unit. Clin Appl Thromb Hemost. juin 2013;19(3):297- 302.

50. Cuker A, Arepally G, Crowther MA, Rice L, Datko F, Hook K, et al. The HIT Expert Probability (HEP) Score: a novel pre-test probability model for heparin-induced thrombocytopenia based on broad expert opinion: HEP Score. Journal of Thrombosis and Haemostasis. déc 2010;8(12):2642- 50.

51. Pishko AM, Fardin S, Lefler DS, Paydary K, Vega R, Arepally GM, et al. Prospective comparison of the HEP score and 4Ts score for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. Blood Advances. 27 nov 2018;2(22):3155- 62.

52. Lillo-Le Louet A, Boutouyrie P, Alhenc-Gelas M, Le Beller C, Gautier I, Aiach M, et al. Diagnostic score for heparin-induced thrombocytopenia after cardiopulmonary bypass. J Thromb Haemost. nov 2004;2(11):1882- 8.

53. Warkentin TE, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia and cardiac surgery. The Annals of Thoracic Surgery. août 2003;76(2):638- 48.

54. Day JRS, Taylor KM. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass. International Journal of Surgery. 2005;3(2):129- 40.

55. Warkentin TE, Greinacher A, Gruel Y, Aster RH, Chong BH, on behalf of the scientific and standardization committee of the international society on thrombosis and haemostasis. Laboratory testing for heparin-induced thrombocytopenia: a conceptual framework and implications for diagnosis: Laboratory testing for heparin-induced thrombocytopenia. Journal of Thrombosis and Haemostasis. déc 2011;9(12):2498- 500.

56. Nagler M, Bakchoul T. Clinical and laboratory tests for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. Thromb Haemost. sept 2016;116(11):823- 34.

57. Arnaud DC. EVALUATION DES PROCEDURES DE DEPISTAGE. :11.

58. Marler J. Consequences of treating false positive heparin-induced thrombocytopenia. :3.

59. Husseinzadeh HD, Gimotty PA, Pishko AM, Buckley M, Warkentin TE, Cuker A. Diagnostic accuracy of IgG-specific versus polyspecific enzyme-linked immunoassays in heparin-induced thrombocytopenia: a systematic review and meta-analysis. J Thromb Haemost. juin 2017;15(6):1203- 12.

60. Baroletti S, Hurwitz S, Conti NAS, Fanikos J, Piazza G, Goldhaber SZ. Thrombosis in Suspected Heparin-induced Thrombocytopenia Occurs More Often with High Antibody Levels. The American Journal of Medicine. janv 2012;125(1):44- 9.

61. Kim SY, Kim HK, Han KS, Kim I, Yoon S-S, Park S, et al. Utility of ELISA Optical

Density Values and Clinical Scores for the Diagnosis of and Thrombosis Prediction in Heparin-induced Thrombocytopenia. *Korean J Lab Med.* 2011;31(1):1.

62. Weiss BM, Shumway NM, Howard RS, Ketchum LK, Reid TJ. Optical density values correlate with the clinical probability of heparin induced thrombocytopenia. *J Thromb Thrombolysis.* déc 2008;26(3):243- 7.
63. Zwicker JI, Uhl L, Huang W-Y, Shaz BH, Bauer KA. Thrombosis and ELISA optical density values in hospitalized patients with heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost.* déc 2004;2(12):2133- 7.
64. Warkentin TE, Sheppard JI, Moore JC, Sigouin CS, Kelton JG. Quantitative interpretation of optical density measurements using PF4-dependent enzyme-immunoassays. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* août 2008;6(8):1304- 12.
65. Chan CM, Woods CJ, Warkentin TE, Sheppard J-AI, Shorr AF. The Role for Optical Density in Heparin-Induced Thrombocytopenia. *Chest.* juill 2015;148(1):55- 61.
66. ritchie2015 comparison of an IgG specific ELISA cutoff of 0.4 vs 0.8 and 1 DO units for TIH.pdf.
67. Pearson M-A, Nadeau C, Blais N. Correlation of ELISA Optical Density With Clinical Diagnosis of Heparin-Induced Thrombocytopenia: A Retrospective Study of 104 Patients With Positive Anti-PF4/Heparin ELISA. *Clin Appl Thromb Hemost.* mai 2014;20(4):349- 54.
68. Whitlatch NL, Kong DF, Metjian AD, Arepally GM, Ortel TL. Validation of the high-dose heparin confirmatory step for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood.* 9 sept 2010;116(10):1761- 6.
69. Zheng G, Streiff MB, Takemoto CM, Bynum J, Gelwan E, Jani J, et al. The Clinical Utility of the Heparin Neutralization Assay in the Diagnosis of Heparin-Induced Thrombocytopenia. *Clin Appl Thromb Hemost.* juill 2018;24(5):749- 54.
70. Althaus K, Strobel U, Warkentin TE, Greinacher A. Combined use of the high heparin step and optical density to optimize diagnostic sensitivity and specificity of an anti-PF4/heparin enzyme-immunoassay. *Thrombosis Research.* sept 2011;128(3):256- 60.
71. Sun L, Gimotty PA, Lakshmanan S, Cuker A. Diagnostic accuracy of rapid immunoassays for heparin-induced thrombocytopenia: A systematic review and meta-analysis. *Thromb Haemost.* 2016;115(05):1044- 55.
72. notice PaGIA BIORAD.pdf.
73. Alberio L, Kimmerle S, Baumann A, Taleghani BM, Biasiutti FD, Lämmle B. Rapid determination of anti-heparin/platelet factor 4 antibody titers in the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *The American Journal of Medicine.* mai 2003;114(7):528- 36.
74. Nellen V, Sulzer I, Barizzi G, Lammle B, Alberio L. Rapid exclusion or confirmation of heparin-induced thrombocytopenia: a single-center experience with 1,291 patients. *Haematologica.* 1 janv 2012;97(1):89- 97.
75. Strobel E. Use of the ID-PaGIA Heparin/PF4 Antibody Test as a screening test for

heparin/platelet factor 4 antibodies. *Blood Transfusion* [Internet]. 2016 [cité 28 oct 2019]; Disponible sur: <http://doi.org/10.2450/2016.0302-15>

76. Choque I. ADVSticExpertHit_-. :2.
77. fiche fournisseur LFIA.pdf.
78. Sachs U, Hesberg J, Santoso S, Bein G, Bakchoul T. Evaluation of a new nanoparticle-based lateral-flow immunoassay for the exclusion of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Thromb Haemost.* 2011;106(12):1197- 202.
79. Biosciences A. PIFA® Heparin / Platelet Factor 4 Rapid Assay. :4.
80. Andrews DM, Cubillos GF, Paulino SK, Seckinger DL, Kett DH. Prospective observational evaluation of the particle immunofiltration anti-platelet factor 4 rapid assay in MICU patients with thrombocytopenia. *Crit Care.* 2013;17(4):R143.
81. Compton FB, Alrabeih R, Nguyen LQ, Nedelcu E, Wahed A, Nguyen ND. PIFA PLUS P4 Assay for Screening of Heparin- Induced Thrombocytopenia. 2018;5.
82. Nagler M, Bachmann LM, ten Cate H, ten Cate-Hoek A. Diagnostic value of immunoassays for heparin-induced thrombocytopenia: a systematic review and meta-analysis. *Blood.* 4 févr 2016;127(5):546- 57.
83. ACL Acustar | Werfen en France [Internet]. [cité 9 févr 2020]. Disponible sur: <https://www.werfen.com/fr/fr/acl-acustar>
84. Black A, Heimerl S, Oertli L, Wilczek W, Greinacher A, Spannagl M, et al. Implementation of a rapid HIT immunoassay at a university hospital – Retrospective analysis of HIT laboratory orders in patients with thrombocytopenia. *Thrombosis Research.* oct 2017;158:65- 70.
85. Warkentin TE, Sheppard J-AI, Linkins L-A, Arnold DM, Nazy I. High sensitivity and specificity of an automated IgG-specific chemiluminescence immunoassay for diagnosis of HIT. *Blood.* 20 sept 2018;132(12):1345- 9.
86. fiche fournisseur HEMOSIL Ab.pdf.
87. Althaus K, Hron G, Strobel U, Abbate R, Rogolino A, Davidson S, et al. Evaluation of automated immunoassays in the diagnosis of heparin induced thrombocytopenia. *Thrombosis Research.* mars 2013;131(3):e85- 90.
88. Jourdy Y, Nougier C, Rugeri L, Bordet JC, Sobas F, Negrier C. Prospective evaluation of automatized PF4/heparin immunoassays HemosIL HIT-ab (PF4-H) for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Int Jnl Lab Hem.* avr 2015;37(2):244- 52.
89. Warkentin TE, Sheppard J-AI, Linkins L-A, Arnold DM, Nazy I. Performance characteristics of an automated latex immunoturbidimetric assay [HemosIL ® HIT-Ab (PF4-H)] for the diagnosis of immune heparin-induced thrombocytopenia. *Thrombosis Research.* mai 2017;153:108- 17.
90. Selleng S, Selleng K, Friesecke S, Gründling M, Kuhn S-O, Raschke R, et al. Prevalence

and clinical implications of anti-PF4/heparin antibodies in intensive care patients: a prospective observational study. *J Thromb Thrombolysis*. janv 2015;39(1):60- 7.

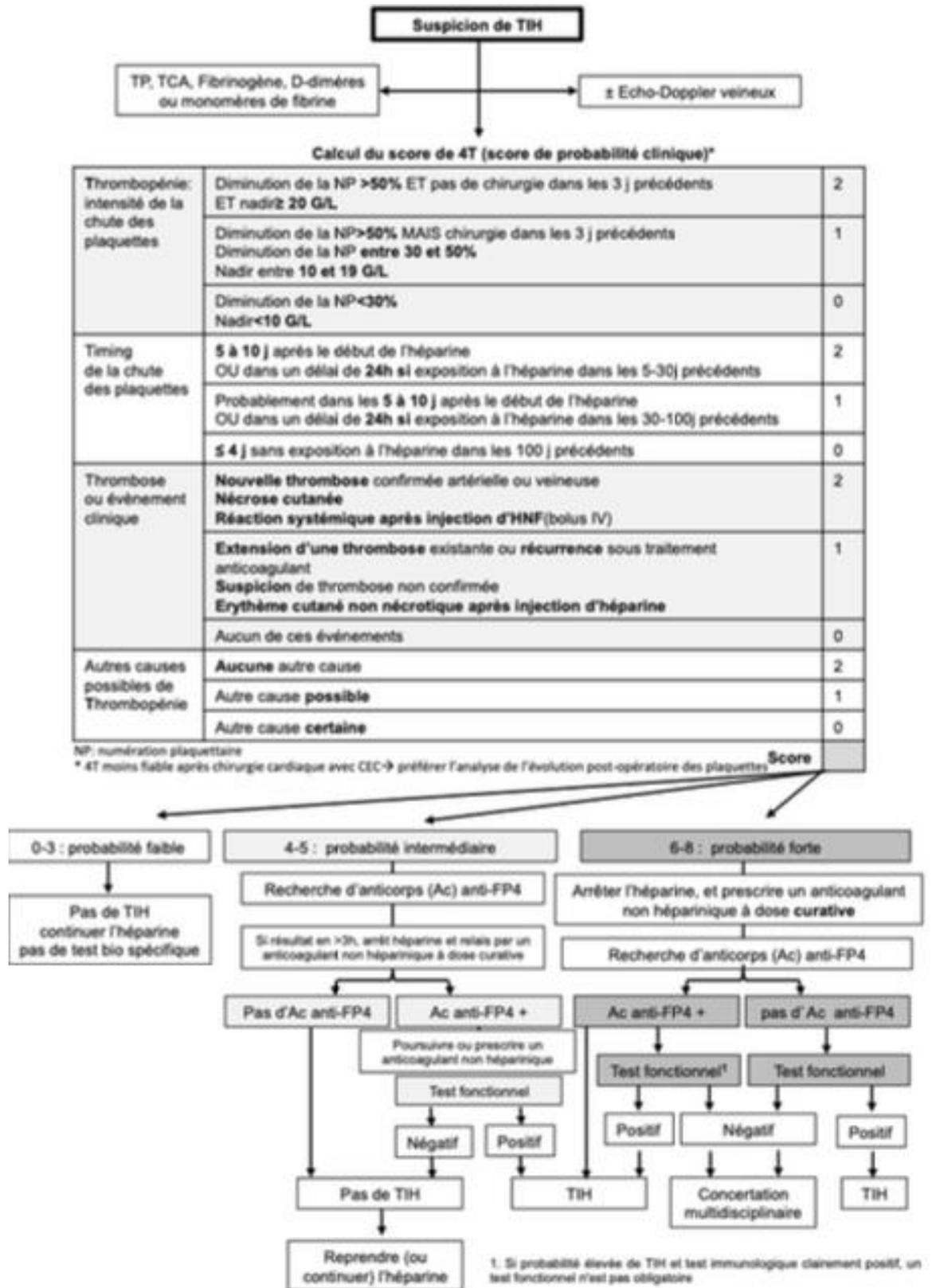
91. Warkentin TE. Laboratory diagnosis of heparin- induced thrombocytopenia. :11.
92. Bakchoul T, Zöllner H, Greinacher A. Current insights into the laboratory diagnosis of HIT. *Int Jnl Lab Hem*. juin 2014;36(3):296- 305.
93. Minet V, Dogné J-M, Mullier F. Functional Assays in the Diagnosis of Heparin-Induced Thrombocytopenia: A Review. 2017;24.
94. Warkentin TE, Arnold DM, Nazi I, Kelton JG. The platelet serotonin-release assay: Serotonin-Release Assay. *Am J Hematol*. juin 2015;90(6):564- 72.
95. Gobbi G, Mirandola P, Tazzari PL, Ricci F, Caimi L, Cacchioli A, et al. Flow cytometry detection of serotonin content and release in resting and activated platelets. *Br J Haematol*. juin 2003;121(6):892- 6.
96. Harenberg J, Huhle G, Giese Ch, Wang LC, Feuring M, Song XH, et al. Determination of serotonin release from platelets by enzyme immunoassay in the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Br J Haematol*. avr 2000;109(1):182- 6.
97. Koch S, Harenberg J, Ödel M, Schmidt-Gayk H, Walch S, Budde U. Development of a High-Pressure Liquid Chromatography Method for Diagnosis of Heparin-Induced Thrombocytopenia. :5.
98. Sono-Koree NK, Crist RA, Frank EL, Rodgers GM, Smock KJ. A high-performance liquid chromatography method for the serotonin release assay is equivalent to the radioactive method. *Int Jnl Lab Hem*. févr 2016;38(1):72- 80.
99. Favaloro EJ. Hemostasis and thrombosis: methods and protocols. New York, NY: Springer Science+Business Media; 2017.
100. Elalamy I, Gkalea V, Gerotziafas G, Ketatni H, Hatmi M. The usefulness of platelet function evaluation in clinical practice. *Annales de biologie clinique*. nov 2013;71(S1):47- 57.
101. Morel-Kopp M-C, Mullier F, Gkalea V, Bakchoul T, Minet V, Elalamy I, et al. Heparin-induced multi-electrode aggregometry method for heparin-induced thrombocytopenia testing: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. déc 2016;14(12):2548- 52.
102. Minet V, Bailly N, Douxfils J, Osselaer JC, Laloy J, Chatelain C, et al. Assessment of the performances of AcuStar HIT and the combination with heparin-induced multiple electrode aggregometry: A retrospective study. *Thrombosis Research*. sept 2013;132(3):352- 9.
103. Morel-Kopp M-C, Tan C, Brighton TA, McRae S, Baker R, Tran H, et al. Validation of whole blood impedance aggregometry as a new diagnostic tool for HIT: Results of a large Australian study. *Thromb Haemost*. 2012;107(03):575- 83.
104. Maličev E, Kozak M, Rožman P. Evaluation of a flow cytometric assay for the confirmation of heparin-induced thrombocytopenia. *Int Jnl Lab Hem*. juin 2016;38(3):240- 5.
105. Mullier F, Minet V, Bailly N, Devalet B, Douxfils J, Chatelain C, et al. Platelet

- microparticle generation assay: A valuable test for immune heparin-induced thrombocytopenia diagnosis. *Thrombosis Research*. juin 2014;133(6):1068- 73.
106. Tardy-Poncet B, Piot M, Chapelle C, France G, Campos L, Garraud O, et al. Thrombin generation and heparin-induced thrombocytopenia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. sept 2009;7(9):1474- 81.
107. Cuker A, Rux AH, Hinds JL, Konkle BA, Arepally GM, Watson SP, et al. Novel diagnostic assays for heparin-induced thrombocytopenia. 2013;121(18):7.
108. Nazi I, Arnold DM, Smith JW, Horsewood P, Moore JC, Warkentin TE, et al. FcγRIIIa proteolysis as a diagnostic biomarker for heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost*. juin 2013;11(6):1146- 53.
109. Watson H, Davidson S, Keeling D. Guidelines on the diagnosis and management of heparin-induced thrombocytopenia: second edition. *Br J Haematol*. oct 2012;n/a-n/a.
110. Cuker A, Arepally GM, Chong BH, Cines DB, Greinacher A, Gruel Y, et al. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: heparin-induced thrombocytopenia. *Blood Advances*. 27 nov 2018;2(22):3360- 92.
111. algorithme décisionnel CHUGA.pdf.
112. Résumé des Caractéristiques du Produit [Internet]. [cité 7 déc 2019]. Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0199530.htm>
113. Magnani HN, Gallus A. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT). A report of 1,478 clinical outcomes of patients treated with danaparoid (Orgaran) from 1982 to mid-2004. *Thromb Haemost*. juin 2006;95(6):967- 81.
114. Tardy-Poncet B, Wolf M, Lasne D, Bauters A, Ffrench P, Elalamy I, et al. Danaparoid cross-reactivity with heparin-induced thrombocytopenia antibodies: report of 12 cases. *Intensive Care Med*. août 2009;35(8):1449- 53.
115. Lewis BE, Wallis DE, Berkowitz SD, Matthai WH, Fareed J, Walenga JM, et al. Argatroban Anticoagulant Therapy in Patients With Heparin-Induced Thrombocytopenia. *Circulation*. 10 avr 2001;103(14):1838- 43.
116. Lewis BE, Wallis DE, Leya F, Hursting MJ, Kelton JG. Argatroban Anticoagulation in Patients With Heparin-Induced Thrombocytopenia. *ARCH INTERN MED*. 2003;163:8.
117. Résumé des caractéristiques du produit - ARGATROBAN ACCORD 1 mg/mL, solution pour perfusion - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 3 janv 2020]. Disponible sur: <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=67703372&typedoc=R>
118. Guy S, Kitchen S, Maclean R, Van Veen JJ. Limitation of the activated partial thromboplastin time as a monitoring method of the direct thrombin inhibitor argatroban. *Int Jnl Lab Hem*. déc 2015;37(6):834- 43.
119. Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia: Current Opinion in Critical Care. déc 2015;21(6):576- 85.

120. Guy S, Kitchen S, Van Veen JJ. Further evidence of the limitations of Activated Partial Thromboplastin Time to monitor Argatroban. *Br J Haematol.* févr 2018;180(4):594- 7.
121. Alatri A, Armstrong A-E, Greinacher A, Koster A, Kozek-Langenecker SA, Lancé MD, et al. Results of a consensus meeting on the use of argatroban in patients with heparin-induced thrombocytopenia requiring antithrombotic therapy – A European Perspective. *Thrombosis Research.* avr 2012;129(4):426- 33.
122. Vu N, Jaynes E, Chan C, Dorsch M, Pipe S, Alaniz C. Argatroban monitoring: aPTT versus chromogenic assay: Letter to the Editor. *Am J Hematol.* juin 2016;91(6):E303- 4.
123. Linkins L-A, Dans AL, Moores LK, Bona R, Davidson BL, Schulman S, et al. Treatment and Prevention of Heparin-Induced Thrombocytopenia. *Chest.* févr 2012;141(2):e495S-e530S.
124. Linkins L-A, Hu G, Warkentin TE. Systematic review of fondaparinux for heparin-induced thrombocytopenia: When there are no randomized controlled trials. *Res Pract Thromb Haemost.* oct 2018;2(4):678- 83.
125. Kang M, Alahmadi M, Sawh S, Kovacs MJ, Lazo-Langner A. Fondaparinux for the treatment of suspected heparin-induced thrombocytopenia: a propensity score-matched study. *Blood.* 5 févr 2015;125(6):924- 9.
126. Greinacher A. Immunogenic but effective: the HIT-fondaparinux brain puzzler. *J Thromb Haemost.* déc 2011;9(12):2386- 8.
127. Schindewolf M, Steindl J, Beyer-Westendorf J, Schellong S, Dohmen PM, Brachmann J, et al. Use of Fondaparinux Off-Label or Approved Anticoagulants for Management of Heparin-Induced Thrombocytopenia. *Journal of the American College of Cardiology.* nov 2017;70(21):2636- 48.
128. Schindewolf M. Fondaparinux in heparin-induced thrombocytopenia: A decade's worth of clinical experience. *Res Pract Thromb Haemost.* janv 2019;3(1):9- 11.
129. Warkentin TE. Fondaparinux for Treatment of Heparin-Induced Thrombocytopenia: Too Good to Be True? *J Am Coll Cardiol.* 28 2017;70(21):2649- 51.
130. Manji F, Warkentin TE, Sheppard J-AI, Lee A. Fondaparinux cross-reactivity in heparin-induced thrombocytopenia successfully treated with high-dose intravenous immunoglobulin and rivaroxaban. *Platelets.* 2 janv 2020;31(1):124- 7.
131. Linkins LA, Warkentin TE, Pai M, Shivakumar S, Manji RA, Wells PS, et al. Rivaroxaban for treatment of suspected or confirmed heparin-induced thrombocytopenia study. *J Thromb Haemost.* 2016;14(6):1206- 10.
132. Warkentin TE, Pai M, Linkins L-A. Direct oral anticoagulants for treatment of HIT: update of Hamilton experience and literature review. *Blood.* 31 2017;130(9):1104- 13.
133. 2017 Abstract-Tardy HIT Confirm.pdf.
134. protocole HIT Confirm.pdf.

Annexes

Annexe 1 : Diagnostic clinico-biologique du GIHP/GFHT (6)





Serment de Galien



« Je jure en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque ».

Marie HADDAD

THROMBOPENIE INDUITE PAR L'HEPARINE DE TYPE 2 : BASES
BIOLOGIQUES ET DIAGNOSTIQUES, ETUDE RETROSPECTIVE DES
MODALITES DIAGNOSTIQUES ET THERAPEUTIQUES, ET EVALUATION D'UN
NOUVEAU KIT DE DIAGNOSTIC FONCTIONNEL.

RÉSUMÉ :

La TIH est une complication iatrogène pro-thrombotique d'origine immunologique potentiellement grave compliquant les traitements hépariniques, associant une thrombopénie et parfois une/des thrombose(s) veineuse et/ou artérielle.

Il s'agit d'une pathologie complexe où le diagnostic est encore aujourd'hui difficile. Les nombreux tests immunologiques et fonctionnels disponibles ont des performances diagnostiques ainsi que des avantages et inconvénients variables. Les tests fonctionnels requièrent généralement une grande expertise technique. L'objectif dans les années à venir serait d'évoluer vers des tests fonctionnels plus rapides.

Le test fonctionnel (HIT Confirm®) que nous avons évalué en cytométrie de flux présente ces avantages mais les résultats obtenus sur un petit effectif de patients ont abouti à plusieurs résultats douteux et des résultats dépendants des plaquettes des témoins testés. Une évaluation à plus large échelle en sélectionnant les plaquettes de donneurs paraît nécessaire.

L'étude rétrospective réalisée au cours de cette thèse sur 395 patients suspects de TIH et attachée à décrire les résultats des tests diagnostiques ainsi que la prise en charge thérapeutique anticoagulante illustre la complexité de cette pathologie notamment concernant le choix et la posologie du traitement anticoagulant alternatif et de son monitoring biologique.

Les récentes recommandations des sociétés savantes pour le diagnostic et la prise en charge des TIH permettront sans doute l'uniformisation de la prise en charge de cette pathologie.

MOTS CLÉS : Héparine, TIH, thrombopénie, hémostase, diagnostic

FILIÈRE : Biologie médicale