

NOUVEAU REACTIF POUR LA MESURE DE L'ACTIVITE FONCTIONNELLE DU FACTEUR WILLEBRAND

Innovance VWF :Ac®, Siemens



Centre Hospitalier Régional
Universitaire de Lille

Claudine CARON
Emmanuelle JEANPIERRE
Institut d'Hématologie-Transfusion
Centre de Biologie Pathologie, CHR
Bd J Leclercq 59037 Lille

Les tests biologiques de 1^{ère} intention utilisés pour le diagnostic d'une maladie de Willebrand (VWD) doivent permettre son dépistage mais aussi la caractérisation quantitative ou qualitative de l'anomalie. Pour cela, un dosage fonctionnel du Facteur Willebrand (VWF) doit toujours être associé à la mesure du taux antigénique (VWF :Ag) afin de distinguer les déficits quantitatifs partiels (VWD type 1) ou complets (VWD type 3) et l'ensemble des variants qualitatifs (VWD type 2). La VWD type 2 correspond à une anomalie de la fonction du VWF soit dans l'hémostase primaire (VWD2A, 2B et 2M), soit dans la coagulation plasmatique (VWD2N). La fonction du VWF dans l'hémostase primaire est mesurée par des tests dépendants de la liaison du VWF à la GPIb plaquettaire (VWF :RCo et autres tests avec ou sans ristocétine) ou de la liaison du VWF au collagène du sous-endothélium (VWF :CB); la fonction du VWF dans la coagulation plasmatique est évaluée par sa capacité de fixation du facteur VIII (VWF :FVIIIb)

L'activité cofacteur de la ristocétine (VWF :RCo) mesure la capacité du VWF à interagir avec des plaquettes normales en présence de ristocétine provoquant une agglutination VWF-dépendante des plaquettes qui est mesurée en agrégométrie (mesure de la pente d'agrégation) ou sur lame (visualisation macroscopique des agrégats plaquettaires). Technique fonctionnelle de référence, elle présente néanmoins certaines limites : elle n'est pas physiologique, la ristocétine étant un antibiotique, des polymorphismes ont par ailleurs été décrits dans domaine A1 du VWF au niveau des sites de liaison de la ristocétine (Flood VH et al. J Thromb Haemost 2009). Les performances analytiques en agrégométrie ne sont pas satisfaisantes, les CV intra et inter laboratoires sont élevés (20 à 30% sur les résultats des évaluations externes de qualité) et la sensibilité est de l'ordre de 10 UI/dL. Des protocoles automatisés sont proposés mais qui n'améliorent pas significativement les performances analytiques (tableau 1).

	Avec ristocétine (VWF :RCo)			Sans ristocétine (VWF :Act)	
	Agglutination sur lame	Agrégométrie	Automates	LIA (HemosIL VWF Activity, IL)	LIA (Innovance VWF Ac, Siemens)
Réactifs					
-Plaquettes fixées	X	X	X		
-rGPIIb				X	X
- Acs monoclonaux				X	X
Performances analytiques					
seuil de quantification (sensibilité)	2 UI/dl	10 UI/dl	3 à 10 UI/dl Selon adaptation	3,5 UI/dl	6-8 UI/dl
CV (reproductibilité) Interlaboratoires		21% et 32%*			2,2 IU/dl (donnée fabricant)
Interséries		15% à 20%	<15% [§]	<5% [§]	<10%
dosage unitaire (adaptation à l'urgence)	Oui	Non		Oui	Oui
Performances diagnostiques					
-VWD3 vs sévère VWD1	Oui	Non	Non	Oui	Oui
-VWD2 vs VWD1	Oui	Oui	Oui	Oui	Non pour certains variants

* Résultats des EEQ de l'ECAT (Meijer, 2006) : CV moyens obtenus respectivement sur 3 plasmas normaux et 4 plasmas anormaux
[§] CV interséries de 1,5% (90UI/dl) à 15% (5 UI/dl) pour Hillarp sur BCS; <4% (91 UI/dl) à <6% (25 UI/dl) pour Lawrie sur CS; 12% (160 UI/dl) à 7% (54 UI/dl) pour Redealli sur ACL
[§] CV interséries de 4% (111 UI/dl) à 2,8% (29 UI/dl) pour Piñol sur ACL TOP

Tableau 1: Performances analytiques des différents tests de mesure de l'activité VWF (liaison à la GPIb)

De nouvelles méthodes fonctionnelles automatisées ont été développées ces dernières années se présentant comme des alternatives au VWF :RCo, le but étant de s'affranchir de l'utilisation de plaquettes et de ristocétine, et d'améliorer les performances analytiques tout en assurant un dépistage et un diagnostic fiables de la VWD.

Parmi ces tests, on retiendra

- le réactif **HemosIL Act®, IL** qui utilise des particules de latex recouvertes d'un anticorps monoclonal reconnaissant sur le VWF un épitope fonctionnel pour la liaison à la GPIIb.

Il présente l'avantage de l'automatisation et du dosage unitaire avec une fiabilité satisfaisante (CV<10%) mais il ne permet pas le diagnostic d'une VWD type 3, sa sensibilité étant limitée à 6-8 UI/dL et se positionne uniquement comme test de dépistage d'une VWD sans orientation vers la classification VWD type 1 ou VWD type 2 (selon les études 5 à 21% des VWD type 2 sont mal classés)(Trossaert M et al. Clin Appl Thromb Hemost 2010), il ne dispense donc pas de la réalisation d'un VWF :RCo pour la caractérisation de la VWD

- Le réactif **Innovance VWF : Ac®**, **Siemens**, qui utilise des particules de polystyrène recouvertes d'une protéine recombinante rGPIb α avec 2 mutations « gain de fonction » (G233V et M239V) permettant la liaison du VWF en absence de ristocétine. La mesure de l'agglutination est réalisée en turbidimétrie (figure 1).

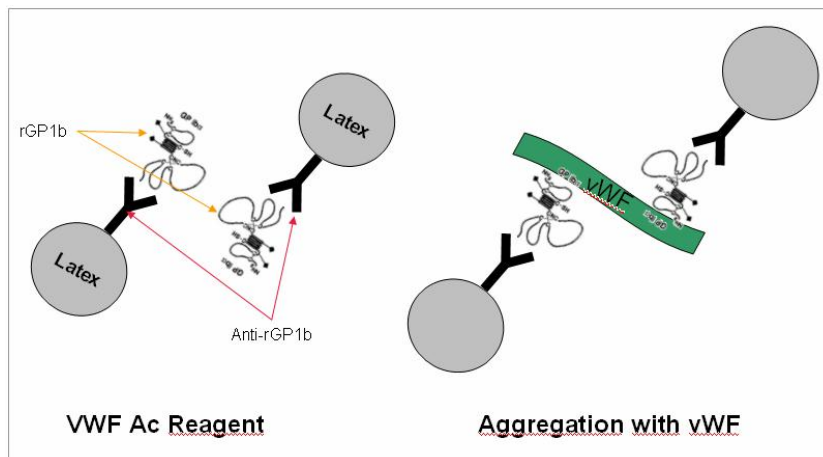


Figure 1 : principe du test VWF:activité (Innovance VWF:Ac® Siemens)

Les performances de ce réactif ont été évaluées à Lille et Lyon chez des sujets sains et dans la VWD constitutionnelle, comparativement au VWF :RCo en agrégométrie ou sur automate BCS.

Chez les sujets sains, on retrouve des taux comparables entre VWF :Ac Innovance et VWF :RCo selon le groupe sanguin (moyenne \pm ET dans le groupe O : 66 \pm 26% vs 65 \pm 30%, et dans les groupes non O : 99 \pm 31% vs 92 \pm 31%)

Dans la VWD constitutionnelle, la corrélation entre VWF :Ac et VWF :RCo est excellente (figure 2). L'agrément entre les méthodes, apprécié par la méthode graphique de Bland et Altman, est de 96%, sans qu'il soit possible de conclure à la supériorité d'une méthode par rapport à l'autre pour les 4% des échantillons présentant un écart significatif entre les 2 méthodes.

Ce nouveau test présente l'avantage de l'automatisation et du dosage unitaire avec une sensibilité (<4UI/dL) et une fiabilité (CV<5%) très satisfaisantes. Il se positionne donc comme test de diagnostic performant des types 1 et 2 de VWD pouvant remplacer le VWF :RCo.

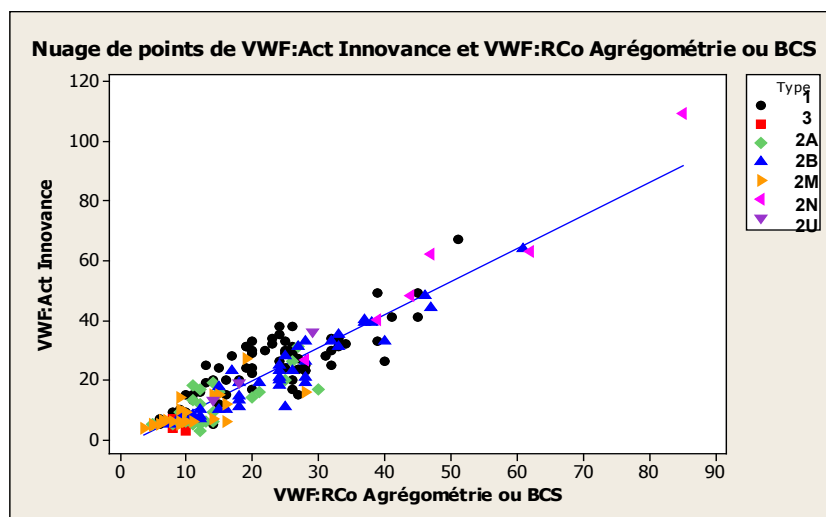


Figure 2: Corrélation entre VWF:Ac et VWF:RCo

Test de Pearson: $r=0.965$; $p<0.0001$

Régression linéaire: $VWF\ Ac = -0.984 + 1.04\ VWF:RCo$ ($p<0.0001$)

A partir du 15 mai 2013, la laboratoire d'Hémostase du CHU de Lille cesse la mesure de l'activité VWF avec le réactif HemosIL Act®, IL et réalise désormais les tests avec le réactif Innovance VWF :Ac®, Siemens, avec des indications élargies au diagnostic de la VWD mais aussi à la surveillance des traitements par desmopressine. Ainsi, lors de la prescription d'une activité VWF ou d'un VWF :RCo, c'est ce dosage qui sera réalisé. Les biologistes du laboratoire restent bien entendu à votre écoute pour toute information complémentaire que vous souhaiteriez.