



UNIVERSITE DE POITIERS

Faculté de Médecine et de
Pharmacie



Thrombocytopénie



Rapprochement précoce des 2 branches
Hyperfibrinolyse



Augmentation de l'amplitude et/ou
une diminution des temps de coagulation:
Hypercoagulabilité

**Université
de Poitiers
Faculté de
Médecine
et
Pharmacie**

ANNEE 2016

Thèse n°

THÈSE
POUR LE DIPLOME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE
(décret du 16 janvier 2004)

présentée et soutenue publiquement
le 1^{er} mars 2016 à Poitiers
par **Mademoiselle Elena RIEANT**

Etude *in vitro* de l'impact du sugammadex sur les paramètres
thromboélastométriques chez le modèle porcin

COMPOSITION DU JURY

Président : Monsieur le Professeur Bertrand DEBAENE

Membres : Monsieur le Professeur Olivier MIMOZ
Monsieur le Professeur Thierry HAUET

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Thomas KERFORNE



LISTE DES ENSEIGNANTS DE MÉDECINE

Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

1. AGIUS Gérard, bactériologie-virologie (**surnombre jusqu'en 08/2018**)
2. ALLAL Joseph, thérapeutique
3. BATAILLE Benoît, neurochirurgie
4. BRIDOUX Frank, néphrologie
5. BURUCOA Christophe, bactériologie – virologie
6. CARRETIER Michel, chirurgie générale
7. CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire
8. CHRISTIAENS Luc, cardiologie
9. CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
10. DEBAENE Bertrand, anesthésiologie réanimation
11. DEBIAIS Françoise, rhumatologie
12. DROUOT Xavier, physiologie
13. DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie
14. EUGENE Michel, physiologie (**surnombre jusqu'en 08/2016**)
15. FAURE Jean-Pierre, anatomie
16. FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique
17. GAYET Louis-Etienne, chirurgie orthopédique et traumatologique
18. GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie
19. GILBERT Brigitte, génétique
20. GOMBERT Jean-Marc, immunologie
21. GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques
22. GUILHOT-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion
23. GUILLET Gérard, dermatologie
24. GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale
25. HADJADJ Samy, endocrinologie et maladies métaboliques
26. HAUET Thierry, biochimie et biologie moléculaire
27. HERPIN Daniel, cardiologie
28. HOUETO Jean-Luc, neurologie
29. INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale
30. JAAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes
31. JABER Mohamed, cytologie et histologie
32. JAYLE Christophe, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
33. KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie
34. KEMOUN Gilles, médecine physique et réadaptation (**en détachement**)
35. KITZIS Alain, biologie cellulaire
36. KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie générale
37. LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire
38. LELEU Xavier, hématologie
39. LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
40. LEVEQUE Nicolas, bactériologie-virologie
41. LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
42. LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire
43. LELEU Xavier, hématologie
44. LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
45. LEVEQUE Nicolas, bactériologie-virologie
46. LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
47. LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques (**surnombre jusqu'en 08/2018**)
48. MACCHI Laurent, hématologie
49. MARECHAUD Richard, médecine interne
50. MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire
51. MEURICE Jean-Claude, pneumologie
52. MIGEOT Virginie, santé publique
53. MILLOT Frédéric, pédiatrie, oncologie pédiatrique
54. MIMOZ Olivier, anesthésiologie – réanimation
55. NEAU Jean-Philippe, neurologie • ORIOT Denis, pédiatrie
56. PACCALIN Marc, gériatrie
57. PAQUEREAU Joël, physiologie (**jusqu'au 31/10/2015**)
58. PERAULT Marie-Christine, pharmacologie clinique
59. PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire
60. PIERRE Fabrice, gynécologie et obstétrique
61. POURRAT Olivier, médecine interne (**surnombre jusqu'en 08/2018**)
62. PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique
63. RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire
64. RICHER Jean-Pierre, anatomie
65. RIGARD Philippe, neurochirurgie
66. ROBERT René, réanimation
67. ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales
68. ROBLOT Pascal, médecine interne
69. RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie
70. SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes (**surnombre jusqu'en 08/2017**)
71. SILVAIN Christine, hépato-gastro-entérologie
72. SOLAU-GERVAIS Elisabeth, rhumatologie
73. TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale
74. THIERRY Antoine, néphrologie
75. THILLE Arnaud, réanimation
76. TOUGERON David, gastro-entérologie
77. TOURANI Jean-Marc, cancérologie
78. WAGER Michel, neurochirurgie

●—TOUCHARD Guy, néphrologie (08/2018)

Professeurs et Maîtres de Conférences honoraires

- ALCALAY Michel, rhumatologie
- ARIES Jacques, anesthésiologie-réanimation
- BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques
- BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques
- BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex-émérite)
- BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire
- BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales (ex-émérite)
- BEGON François, biophysique, médecine nucléaire
- BOINOT Catherine, hématologie – transfusion
- BONTOUX Daniel, rhumatologie (ex-émérite)
- BURIN Pierre, histologie
- CASTETS Monique, bactériologie -virologie – hygiène
- CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire
- CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction
- CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique
- DABAN Alain, cancérologie radiothérapie (ex-émérite)
- DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice
- DESMAREST Marie-Cécile, hématologie
- DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires
- FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie-virologie (exémérite)
- FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (exémérite)
- GOMBERT Jacques, biochimie
- GRIGNON Bernadette, bactériologie
- GUILLARD Olivier, biochimie et biologie moléculaire
- JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale
- KAMINA Pierre, anatomie (ex-émérite)
- KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino-Laryngologie
- LAPIERRE Françoise, neurochirurgie (ex-émérite)
- LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire
- MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie
- MARILLAUD Albert, physiologie
- MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastroentérologie
- MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale
- POINTREAU Philippe, biochimie
- REISS Daniel, biochimie
- RIDEAU Yves, anatomie
- SULTAN Yvette, hématologie et transfusion
- TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire
- TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex-émérite)
- VANDERMARCO Guy, radiologie et imagerie médicale

Maîtres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers

- ALBOUY-LLATY Marion, santé publique
- BEBY-DEFAUX Agnès, bactériologie – virologie
- BEN-BRIK Eric, médecine du travail
- BILAN Frédéric, génétique
- BOURMEYSTER Nicolas, biologie cellulaire
- CASTEL Olivier, bactériologie - virologie – hygiène
- CREMNITER Julie, bactériologie – virologie
- DAHYOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie – réanimation
- DIAZ Véronique, physiologie
- FAVREAU Frédéric, biochimie et biologie moléculaire
- FRASCA Denis, anesthésiologie – réanimation
- HURET Jean-Loup, génétique
- LAFAY Claire, pharmacologie clinique
- PERRAUD Estelle, parasitologie et mycologie
- RAMMAERT-PALTRIE Blandine, maladies infectieuses
- SAPANET Michel, médecine légale
- SCHNEIDER Fabrice, chirurgie vasculaire
- THUILLIER Raphaël, biochimie et biologie moléculaire

Professeur des universités de médecine générale

- GOMES DA CUNHA José

Professeurs associés de médecine générale

- BINDER Philippe
- BIRAULT François
- VALETTE Thierry

Maîtres de Conférences associés de médecine générale

- ARCHAMBAULT Pierrick
- BOUSSAGEON Rémy
- FRECHE Bernard
- GIRARDEAU Stéphane
- GRANDCOLIN Stéphanie
- PARTHENAY Pascal
- VICTOR-CHAPLET Valérie

Enseignants d'Anglais

- DEBAIL Didier, professeur certifié
- JORDAN Stephen, maître de langue étrangère
- SASU Elena, contractuelle enseignante

Professeurs émérites

- DORE Bertrand, urologie (08/2016)
- GIL Roger, neurologie (08/2017)
- MAGNIN Guillaume, gynécologie-obstétrique (08/2016)
- MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie (08/2017)
- MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire

(08/2017)

Bât. D1 - 6 rue de la Milétrie – TSA 51115 - 86073 POITIERS CEDEX 9 - France

☎05.49.45.43.43 - 𐀀05.49.45.43.05

Remerciements

A Monsieur le Professeur Bertrand Debaene,
qui avez l'art de mettre l'obscur en lumière,
vous me faites l'honneur de présider ce jury
pour votre rigueur et votre disponibilité,
soyez assuré de ma sincère reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Olivier Mimoz,
pour avoir accepté d'évaluer ce travail,
pour votre humanité et votre bonne humeur quotidienne,
pour votre soutien depuis mes premiers pas en anesthésie-réanimation,
Soyez assuré de ma profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur Thierry Hauet,
vous avez la gentillesse de juger ce travail, je vous en remercie.

Au Docteur Thomas Kerforne,
je te remercie de m'avoir accordé ta confiance pour réaliser ce travail,
pour ton aide et tes conseils avisés,
merci pour ton indulgence et surtout ta patience.

A mes maîtres et chefs de clinique, passés et présents,

Denis pour ta disponibilité et ton esprit,
Louis-Marie pour ton honnêteté et ta gentillesse inconditionnelle,
Karen merci pour ton sourire et ta gaieté,
Thibault Loupec pour ton talent de diplomate et ton humour,
Jean-Matthieu et Benoît pour votre calme indestructible et votre prévenance,
Elsa pour tes conseils pertinents,
Angéline pour ton éternelle frénésie,
Jerry pour nos querelles et ton rire...

A l'équipe médicale et paramédicale de Réanimation Chirurgicale,

Littlefeet, Hodanou, Leïla, Didier, Michel, Amélie,
merci d'avoir cru en moi,
j'ai eu la chance de travailler à vos côtés.

A l'équipe d'anesthésie en chirurgie viscérale et vasculaire,

Matthieu, Karin, Danièle, Julien, Louis,
pour m'avoir appris à aimer mon métier,
merci pour votre bienveillance, on a bien rigolé !

A mes co-internes,

Béné, Marielle, Agnès, Maxou, Rémi, Hugo, et Loïc,
comme une petite famille, j'ai de la chance de vous avoir,
on en a bien profité.

A Marie Eve et Donatien, mes petits chouchous.

A mes ami(e)s,

A Noémie,

mon rayon de soleil depuis bientôt 20 ans.

A Antonin et Arnaud,

pour leur amitié sincère,

je vous remercie d'être à mes côtés malgré la distance.

A mes copiiines,

Annesoso, Hélène et Audinette,

toujours présentes sur le dancefloor,

merci pour ces franches parties de rigolades.

Aux copains aussi,

Pierrot, Mathieu, Max, et Stéphi

pour votre participation active aux retrouvailles annuelles.

A Maudius, une graine de folie dans ma vie, merci.

A ma famille,

A toi Bastien,

pour ton amour de chaque jour,
ton flegme à toute épreuve,
merci de me supporter jusqu'à mes 93 ans.

A mes parents adorés,

ma sœur Elsa et mon frère François dont je suis si fière,

les piliers de ma vie,
merci d'avoir toujours été là pour moi,
de me redonner confiance si souvent.
Nos vacances ensemble sont mes plus beaux souvenirs.

A mes grands-parents,

que j'aime tant.

A Jade,

ma princesse des neiges.

A Marie-Ange et Jean-Claude,

mon refuge,
merci d'avoir apporté tant de bonheur dans ma vie.

A la famille Loupec au complet,

une belle rencontre, merci pour votre générosité et votre tendresse.

A tous ceux que je n'ai pas cités, veuillez m'en excuser.

SOMMAIRE

LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	9
INTRODUCTION.....	10
MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	15
I.I. Animaux.....	15
I.II. Solutions de Sugammadex.....	16
I.III. Mesures thromboélastométriques.....	17
I.IV. Analyse statistique.....	18
RÉSULTATS.....	20
DISCUSSION.....	23
CONCLUSION.....	28
RÉFÉRENCES.....	29
ANNEXES.....	32
RÉSUMÉ.....	33
SERMENT.....	34

Liste des abréviations

AMM : autorisation de mise sur le marché

CT : clotting time

CFT : clot formation time

Hb : hémoglobine

Ht : hématocrite

MCF : maximum clot firmness

TCA : temps de céphaline activée

TP : taux de prothrombine

TS : temps de saignement

Introduction

La décurarisation pharmacologique a permis de réduire l'incidence de la curarisation résiduelle liée à l'utilisation per-opératoire des curares. Elle est possible en France via deux molécules, la néostigmine, inhibiteur réversible de l'acétylcholinestérase, et le sugammadex, apparu au début des années 2000 (1). Cette gamma-cyclodextrine modifiée constitue en effet une alternative dans la décurarisation après bloc neuromusculaire modéré ou profond induit par deux curares stéroïdiens, le rocuronium et le vécuronium, en les encapsulant spécifiquement (2).

Par ailleurs, le sugammadex permet d'obtenir une levée de la curarisation plus rapide qu'avec les anti-cholinestérasiques et surtout immédiate après induction en séquence rapide au rocuronium en cas d'intubation et de ventilation au masque impossibles (3-4).

Cet inhibiteur de curare stéroïdien a l'avantage d'être dépourvu d'effet secondaire indésirable majeur, les seuls rapportés, en dehors de l'anaphylaxie, sont : une interaction avec les molécules stéroïdiennes, et surtout, une possible influence sur l'hémostase constatée *in vitro*, non démontrée *in vivo*, mentionnée depuis juin 2010 dans le dossier d'AMM européenne du sugammadex. Le temps de céphaline activée (TCA) et le temps de prothrombine (TP) seraient allongés transitoirement (moins de 30 minutes) à partir d'une dose de 4 mg/kg de sugammadex (5).

Cela a abouti à des recommandations sur son utilisation lorsqu'il existe un trouble de la coagulation (induit pharmacologiquement ou non).

Néanmoins, les études cliniques récentes évaluant le risque hémorragique après une injection de 2 ou 4 mg/kg de sugammadex lors de chirurgies majeures, viscérales carcinologiques ou orthopédiques, n'ont pas mis en évidence d'augmentation du saignement péri-opératoire (6-8).

Une seule étude prospective réalisée sur 50 patients bénéficiant d'une chirurgie de septoplastie a montré que le groupe sugammadex (2 mg/kg) était significativement associé à un risque hémorragique postopératoire plus important que le groupe néostigmine, sans qu'il y ait de différence entre les deux groupes sur les paramètres de coagulation standards.

Les outils biologiques classiques d'évaluation de l'hémostase, le TS, le TP et le TCA, sont simples et peu coûteux mais n'étudient qu'une partie de la coagulation, ils ignorent l'essentiel de la génération de thrombine. Par conséquent, il peut exister un écart important entre ce qui est observé *in vitro* et ce qui se produit *in vivo*.

Les hémorragies ou coagulopathies les plus fréquentes sont constatées au cours de ou après les interventions chirurgicales ou les traumatismes, c'est-à-dire lors de situations où les modifications secondaires s'ajoutent à l'état initial du patient. Au cours de tels troubles hémostatiques complexes, l'impact des paramètres de routine TP et TCA reste relativement faible.

La thromboélastométrie rotative modifiée (ROTEM®) est une méthode délocalisée explorant la dynamique du processus hémostatique dans son ensemble, pas seulement l'initiation de la coagulation. Et, contrairement aux

autres tests d'hémostase, elle prend en compte les interactions cellulaires avec les composants plasmatiques.

Elle évalue les propriétés viscoélastiques du caillot (10), sa cinétique de formation, et apporte une information rapide au lit du malade (11).

Le Système ROTEM® est une amélioration de la méthode de thromboélastographie traditionnelle (TEG), développée par Hartert en 1948.

Un échantillon de sang total est placé dans une cuvette et une goupille cylindrique est immergée. Entre la goupille et la cuvette, un espace de 1 mm est disponible pour le sang. La goupille est mise en rotation à l'aide d'un ressort. Tant que le sang est liquide, le mouvement n'est pas entravé. Lorsque le sang commence à coaguler, le caillot restreint de plus en plus la rotation de la goupille à mesure que la fermeté du caillot augmente. Cette cinétique est détectée optiquement et calculée par un ordinateur intégré pour générer les courbes typiques et les paramètres numériques (12).

Le thromboélastogramme se présente sous forme d'un diagramme en forme de diapason (Figure 1), représentant en ordonnée la fermeté du caillot (millimètres) et en abscisse le temps (minutes).

La courbe peut être divisée en trois parties : la partie initiale, rectiligne, représente le délai d'initiation de la coagulation (CT), la deuxième représente la formation progressive du caillot (CFT), ainsi que sa force élastique maximale (MCF); la troisième partie illustre la durée de vie et la stabilisation du caillot progressivement dégradé par les processus physiologiques de la fibrinolyse.

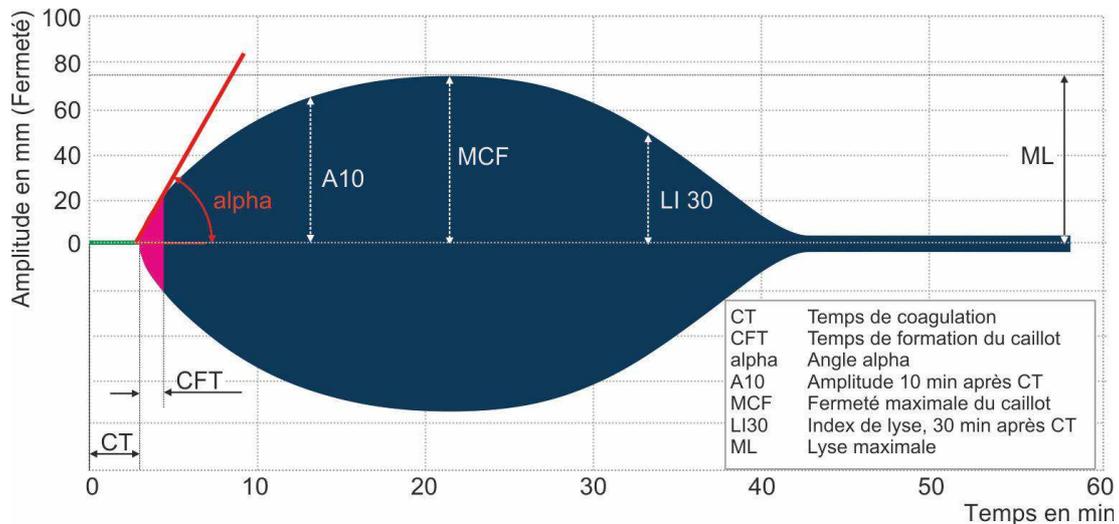


Figure 1 Thromboélastogramme typique représentant la formation du caillot au cours du temps avec les paramètres évalués par le ROTEM® d'après Tem International GmbH.

L'une des caractéristiques du ROTEM® repose sur l'utilisation de différents réactifs qui déclenchent et accélèrent la coagulation in vitro du sang recueilli et permettent d'orienter plus précisément les étiologies des troubles de coagulation.

Parmi les tests disponibles, les deux principaux sont :

- INTEM : Exploration de la formation du caillot, de la polymérisation de la fibrine, et de la fibrinolyse par la voie intrinsèque. Ce test utilise comme activateurs de la coagulation, du calcium et de l'acide ellagique. Evaluation des facteurs I, II, V, VII, IX, X, XI, XII.
- EXTEM : Exploration de la formation du caillot, de la polymérisation de la fibrine, et de la fibrinolyse par la voie extrinsèque. Ce test utilise comme activateurs de la coagulation, du calcium et du facteur tissulaire. Evaluation des facteurs I, II, V, VII, X.

Compte tenu des similarités entre le sang humain et le sang de porc, celui-ci est devenu le modèle animal avéré pour les recherches sur les systèmes de coagulation et de fibrinolyse du sang (13).

Un travail réalisé en Australie en 2005 cherchant à évaluer l'applicabilité des tests d'hémostase de routine et de la thromboélastométrie sur le sang de porc, et surtout à déterminer les valeurs normales des paramètres de la coagulation a objectivé l'hypercoagulabilité du modèle porcin par rapport à l'homme (14).

Une autre étude plus récente, explorant par thromboélastométrie les différences entre le sang de porc et le sang humain, rapporte un délai d'initiation de la coagulation plus lent chez le modèle porcin mais une formation du caillot plus rapide avec finalement une fermeté du caillot comparable à celle de l'homme (15).

L'objectif de ce travail « dose-effet » était d'évaluer par la technique de thromboélastométrie, l'influence de concentrations croissantes de sugammadex sur les paramètres viscoélastiques du caillot de fibrine chez le modèle porcin.

Matériels et Méthodes

I. Animaux

Il s'agit d'une étude réalisée à l'INRA de Surgères, ancillaire d'une autre étude, pour laquelle étaient endormis 8 porcs *Large White*, destinés à la recherche biomédicale, notamment dans le cadre de la chirurgie expérimentale de transplantation d'organes.

Les porcs étaient anesthésiés avec une induction inhalatoire par un mélange de sévoflurane 8 % et d'oxygène. Après la perte de conscience un cathéter 20 G était mis en place sur une veine de l'oreille et l'anesthésie était approfondie par l'injection de propofol à 3 mg/kg, fentanyl à 1 µg/kg, kétamine 1 mg/kg et Rocuronium à 1 mg/kg de poids réel. La prise en charge des voies respiratoires était assurée par la mise en place d'une sonde d'intubation oro-trachéale taille 6,5 (Hi-Contour, Mallinckrodt Medical™, Athlone, Ireland). Les porcs étaient ventilés avec un Alys 200™ (Taema Sa, Anthony, France).

L'entretien était poursuivi par l'administration de propofol à 3 mg/kg/h, fentanyl 1,5 µg/kg/h et rocuronium 1mg/kg de manière itérative, adaptée au comportement de l'animal.

Ils pesaient entre 35 et 52kg et ne recevaient ni AINS ni traitement antiagrégant ou anticoagulant.

La surveillance des constantes incluait un électrocardioscope (Datascopé Passport 2), et un monitoring hémodynamique (PICCO2 PULSION Medical Systems SE) permettant les prélèvements sanguins artériels.

II. Solutions de sugammadex

L'analyse portait sur l'effet de 2, 4, 16 et 32 mg/kg de sugammadex sur l'hémostase. Pour ce faire, les concentrations plasmatiques de ces posologies ont été reproduites *in vitro*. Ce qui donnait à partir des données pharmacocinétiques de la littérature, 25, 50, 200 et 400 µg de sugammadex par ml de plasma (16-17).

Pour obtenir ces concentrations plasmatiques *in vitro* sans entraîner d'importante hémodilution, un volume fixe choisi de 15 µl de solution de sugammadex était transféré dans chaque cuvette, soit 5 % de l'échantillon de sang total citraté nécessaire à l'analyse d'un canal du thromboélastomètre (300µl).

La proportion de plasma par rapport au sang total a été définie comme étant de 55 %. L'échantillon de sang total contient donc 165 µl de plasma, plus 15 µl de solution de sugammadex aux différentes dilutions, faisant un volume total plasmatique de 180 µl sur 300 µl.

Afin de réaliser la concentration plasmatique de 25, 50, 200 et 400 µg/ml, il fallait ajouter 4.5, 9, 36 et 72 µg de sugammadex aux 180 µl de plasma.

Pour un volume de solution inséré de 15 µl, les concentrations des 4 solutions de sugammadex doivent être respectivement de 300, 600, 2400 et 4800 µg/ml, à obtenir en diluant 30, 60, 240 et 480 µl de solution mère de sugammadex (100.000 µg/ml) dans du NaCl 0,9 % pour un volume total de 10 ml.

L'échantillon de sang total était obtenu par prélèvement artériel direct, dans les 10 minutes suivant l'induction anesthésique, et recueilli dans un tube citraté (Becton Dickinson Vacuteiner® Le Pont de Claix. 0,2 ml de citrate de sodium à 129 mmol/l + 2,7ml de sang).

Les solutions de sugammadex étaient utilisées dès leur réalisation, sur une période de 4h environ. Un seul thromboélastomètre ROTEM® était utilisé pour l'ensemble des mesures. Une fois le prélèvement sanguin effectué, les 6 mesures étaient réalisées sur environ 4h.

Dans le même temps une numération de formule sanguine était prélevée pour chacun des porcs, avec recueil du taux d'hémoglobine, d'hématocrite et de plaquettes. (Becton Dickinson Vacuteiner® Le Pont de Claix. Avec sel d'EDTA di potassique)

III. Mesures thromboélastométriques

Les propriétés viscoélastiques du caillot et sa vitesse de formation étaient analysées par le thromboélastomètre modifié ROTEM® (*delta* unité, TEM international, Munich, Allemagne).

Pour ces modèles porcins, ont été mesurés le CT (en secondes), le CFT (en secondes), et le MCF (en millimètres) en EXTEM et INTEM seulement, en raison du coût et afin de limiter le nombre de prélèvements.

Pour chaque porc, le sang total citraté était analysé après ces différentes dilutions (**groupe**) :

- Le sang total citraté (**Témoin**)
- Le sang total citraté + 15 µl de solution de NaCl 0,9% (**NaCl 0.9 %**)
- Le sang total citraté + 15 µl de solution de sugammadex à 300 µg/ml (**2 mg/kg**)
- Le sang total citraté + 15 µl de solution de sugammadex à 600 µg/ml (**4 mg/kg**)
- Le sang total citraté + 15 µl de solution de sugammadex à 2400 µg/ml (**16 mg/kg**)
- Le sang total citraté + 15 µl de solution de sugammadex à 4800 µg/ml (**32 mg/kg**)

Le transfert des 15µl de solution était effectué directement dans les cuvettes par une pipette calibrée Research 20 µl Eppendorf® et des pointes Multiguard 20 µl de Sorenson®. Les deux réactifs utilisés (EXTEM et INTEM) étaient transférés dans les cuvettes par une pipette électronique intégrée à l'appareil avant transfert de l'échantillon de sang total.

L'ensemble des manipulations du ROTEM®, dilutions et transferts de solutions était réalisé par le même opérateur.

IV. Analyse statistique

Le nombre de 8 modèles porcins permettait d'observer la ligne de conduite de la règle des 3R (18).

Douze tests thromboélastométriques pour chacun des 8 porcs ont été réalisés. Les paramètres pris en compte et analysés étaient le CT, le CFT, et le MCF en EXTEM et en INTEM.

L'analyse statistique a été réalisée à partir du logiciel XLSTAT pour Microsoft Excel®, par le test non paramétrique de Kruskal-Wallis puis par un test post-hoc de Dunn pour la comparaison multiple.

Un $p < 0,05$ était retenu pour le seuil de significativité.

Les résultats sont exprimés en médiane et 25^{eme} et 75^{eme} interquartile, pour les 6 conditions analysées.

Résultats

En ce qui concerne la numération de formule sanguine pour les 8 porcs, les résultats exprimés en médiane et 25^{eme} et 75^{eme} interquartile sont présentés dans le tableau 1.

Hémoglobine (g/dl)	8,5 [8,0;9,2]
Hématocrite (%)	29,5 [28,8;30,2]
Plaquettes (G/l)	294 [288;298]

Tableau 1 Données de la numération de formule sanguine

Les résultats du CT et du CFT en EXTEM, exprimés en médiane et 25^{eme} et 75^{eme} interquartile, pour les 6 conditions analysées sont présentés dans le tableau 2.

EXTEM	Témoin	NaCl 0.9 %	2 mg/kg	4 mg/kg	16 mg/kg	32 mg/kg
CT (s)	62 [60 ; 64]	62 [60 ; 65]	71 [67 ; 80]	72 [70 ; 77]	78 [73 ; 81]*	87 [76 ; 98]*
CFT (s)	78 [71 ; 82]	78 [72 ; 83]	78 [71 ; 82]	61 [59 ; 68]	53 [51 ; 56]*	53 [52 ; 56]*
MCF (mm)	69 [66 ; 70]	70 [69 ; 72]	73 [72 ; 74]	72 [71 ; 74]	72 [71 ; 74]	73 [71 ; 75]

Tableau 2 Paramètres en EXTEM. s = seconde, mm = millimètre.

** Résultats significativement différents du groupe Témoin p<0.05.*

Les résultats du CT et du CFT en INTEM, exprimés en médiane et 25^{eme} et 75^{eme} interquartile, pour les 6 conditions analysées sont présentés dans le tableau 3.

INTEM	Témoin	NaCl 0.9 %	2 mg/kg	4 mg/kg	16 mg/kg	32 mg/kg
CT (s)	122[118;133]	138[132;150]	115[111;157]	122[115;148]	112[109;150]	135[122;151]
CFT (s)	47[46;53]	46[43;54]	46[43;54]	46[42;54]	50[49;52]	54[45;59]
MCF (mm)	69[70;71]	70[68;70]	70[69;73]	68[68;70]	68[68;71]	67[64;69]

Tableau 3 Paramètres en INTEM. s = seconde, mm = millimètre

Influence de l'hémodilution

La comparaison du groupe témoin et du groupe NaCl 0.9 % n'a pas mis en évidence de différence significative quel que soit le paramètre thromboélastométrique.

Effets sur les paramètres en EXTEM

Après activation de la voie extrinsèque (EXTEM), un allongement significatif du délai d'initiation de la coagulation (CT) a été mis en évidence pour les concentrations de sugammadex de 16 et 32 mg/kg par rapport au prélèvement Témoin ($p < 0,05$). *Figure 1.*

Il n'y avait pas de différence significative entre le groupe Témoin et les concentrations de 2 et 4 mg/kg sur le CT.

Le temps de formation du caillot (CFT) était significativement plus court pour les concentrations de 16 et 32 mg/kg que pour le groupe Témoin ($p < 0.05$). *Figure 2.*

Il n'y avait aucune différence sur la fermeté du caillot (MCF) entre les différents groupes.

Effets sur les paramètres en INTEM

Aucun des paramètres (CT, CFT, MCF) n'a varié significativement après activation de la phase contact (INTEM) quelle que soit la dilution ou concentration de sugammadex testée.

Figure 1 Clotting time en EXTEM en fonction de la concentration de sugammadex. \$ p < 0.05

Figure 2 Clot Formation Time en EXTEM en fonction de la concentration de sugammadex. \$ p < 0.05

Discussion

Les taux d'hémoglobine, d'hématocrite et de plaquettes étaient comparables pour chacun des porcs.

L'ensemble des paramètres thromboélastométriques du groupe témoin des huit modèles porcins était compris dans les intervalles des valeurs normales décrites par Velik-Salchner et al. (14) sauf pour le CFT en EXTEM et en INTEM.

Les données peuvent différer pour deux raisons.

D'une part Velik-Salchner et al. se sont intéressés au *Piétrain*, une race porcine d'origine belge, le *Large White* étant lui originaire du Nord-Est de l'Angleterre. D'autre part la cohorte de ce travail dose-effet était anémique, ce qui peut perturber la formation du caillot, même si l'absence d'effet sur la fermeté du caillot final est étonnante. Il n'existe à ce jour aucune étude sur l'impact de l'anémie sur les paramètres thromboélastométriques chez le modèle porcin.

Après activation de la phase extrinsèque, ce travail objective un allongement significatif du délai d'initiation de la coagulation, sans qu'il y ait de modification de ce paramètre après activation de la phase contact. Cela soulève l'hypothèse d'une interaction du sugammadex avec le facteur tissulaire (FT) et/ou le facteur VII, ou une action du sugammadex comparable à celle de l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (Tissue Factor Pathway Inhibitor TFPI).

En effet, normalement, le facteur tissulaire, protéine membranaire, n'est pas au contact du sang, son expression est constitutive, il représente une

enveloppe hémostatique autour du vaisseau ou d'une capsule d'organe. La coagulation est initiée lorsque le facteur tissulaire vient au contact du sang. Une cascade enzymatique s'ensuit, qui aboutira à la formation de fibrinogène insoluble. En présence de fortes concentrations de sugammadex, l'exposition du facteur tissulaire au plasma pourrait être limitée et ainsi l'initiation de la coagulation retardée. La quantité de facteur tissulaire utilisée en EXTEM n'étant pas connue, elle ne peut être comparée aux concentrations potentiellement inhibitrices de sugammadex.

Cette étude retrouve aussi un CFT plus court en EXTEM, soit une vitesse de formation du thrombus plus rapide après activation de la voie extrinsèque.

Une étude monocentrique portant sur 20 patients de chirurgie thoracique avait déjà objectivé un possible effet procoagulant du sugammadex à doses usuelles (2 et 4mg/kg) sur les paramètres thromboélastométriques avec une augmentation de l'angle alpha et une diminution du CT (19).

Récemment plusieurs travaux cliniques ont évalué l'impact du sugammadex à 2 et 4mg/kg sur les conséquences hémorragiques postopératoires. Elles s'accordent sur leurs résultats en ne rapportant aucun risque surajouté (6-8).

Dans l'étude de Rahe-Meyer et al. comparant le risque hémorragique après bolus de sugammadex (4mg/kg) ou après thérapeutiques habituelles (décurarisation spontanée ou après néostigmine) chez 1184 patients opérés d'une chirurgie de la hanche ou du genou, aucune différence significative n'a été mise en évidence en terme de pertes sanguines postopératoires malgré un allongement transitoire du TP et du TCA dans le groupe sugammadex (7).

Cette analyse par thromboélastométrie soulève un point original qui pourrait apporter une explication pharmacodynamique à ces résultats. En effet, après activation de la phase extrinsèque, un bolus de sugammadex à 16 ou 32mg/kg provoque un retard à l'initiation de la coagulation mais favorise aussi une formation du caillot plus rapide. Ce dernier effet viendrait donc contrebalancer le premier permettant d'éviter ainsi d'éventuelles conséquences hémorragiques.

A ce jour c'est le premier travail qui montre un double effet de cet agent thérapeutique sur les paramètres de la coagulation.

En ce qui concerne l'échantillon de sang prélevé, selon Lang et al (20), la variabilité des mesures est stable sur 6 heures lorsque le sang citraté est conservé à température ambiante. Quant au sugammadex, le résumé des caractéristiques du produit (5) rappelle qu'après ouverture de l'ampoule de sugammadex et dilution dans du NaCl 0.9 %, la solution est stable pendant 48h à une température entre 2 et 25 °C.

Cette étude présente cependant plusieurs limites.

Plusieurs travaux ont étudié des modèles de choc hémorragique provoqué ou de coagulopathies de dilution chez le porc (21-22). En raison des similitudes biologiques et pathologiques démontrées avec l'humain, le modèle porcin est l'animal préférentiellement utilisé pour étudier les cascades enzymatiques de la coagulation et de la fibrinolyse.

Cependant une des limites du modèle animal utilisé pour cette étude est son hyperagrégabilité plaquettaire bien décrite par Kessler et al. en accord avec Velik-Salchner et al. (14-15).

Malgré un taux de plaquettes comparable à l'homme, celles du porc sont davantage impliquées dans la force du caillot, en particulier leur qualité fonctionnelle.

Le ROTEM® type *delta* utilisé pour cette étude ne donne aucun renseignement sur la fonctionnalité plaquettaire. Il serait intéressant de

combiner ROTEM® *delta* et ROTEM® *platelet* pour déterminer les conséquences du sugammadex sur l'agrégation plaquettaire.

Pour ce protocole, le prélèvement sanguin était réalisé sur des animaux sous anesthésie générale, évitant ainsi les possibles modifications hémostatiques induites par un stress.

L'interaction des agents anesthésiques avec l'hémostase chez le porc est peu étudiée, un travail antérieur a démontré l'absence d'effet de la kétamine et de certains halogénés tels que l'isoflurane ou le protoxyde d'azote (23). Chez l'homme une inhibition de l'agrégation plaquettaire a été décrite avec le sévoflurane et le propofol (24-25). Toutefois les modèles porcins de l'étude recevaient tous les mêmes thérapeutiques.

En l'absence de dosage du sugammadex, les concentrations plasmatiques réelles au sein des échantillons de sang testé pouvait varier des concentrations plasmatiques souhaitées.

Les porcs étaient curarisés par rocuronium avant le prélèvement sanguin, or il n'existe pas de donnée sur les effets potentiels du couple rocuronium-sugammadex sur la cinétique hémostatique. Le fait d'avoir encapsulé le rocuronium modifie peut-être l'influence du sugammadex sur les facteurs de la coagulation.

Dans cette étude il n'y avait pas non plus de contrôle sur les dosages plasmatiques du rocuronium. Il n'existe d'ailleurs aucune donnée dans la littérature sur les concentrations plasmatiques de rocuronium mesurées après administration intraveineuse chez le modèle porcin.

Une autre limite concerne la puissance de l'étude. Le faible nombre d'animaux ne permet pas d'affirmer l'absence d'influence du sugammadex sur la coagulation pour des posologies de 2 ou 4 mg/kg.

Enfin, nous ne pouvons pas nous prononcer sur les conséquences du sugammadex chez un sujet présentant des troubles de coagulation constitutionnels ou acquis. Le résumé des caractéristiques du produit (5) met d'ailleurs en garde sur des interactions pharmacodynamiques avec certains anticoagulants lors d'études *in vitro*.

Il n'existe pour l'instant aucune étude évaluant de manière prospective *in vivo* l'influence du sugammadex sur les paramètres thromboélastométriques et son éventuel retentissement sur les pertes sanguines postopératoires chez des patients sous traitement anticoagulant ou antiagrégant.

Conclusion

Chez le modèle porcin, aux concentrations plasmatiques observables pour des posologies usuelles de sugammadex de 2 et 4mg/kg, aucune altération de la cinétique de formation du caillot ni de sa fermeté n'a été constatée.

Après activation de la voie extrinsèque, aux concentrations plus élevées observables après un bolus de sugammadex de 16 ou 32 mg/kg, un allongement du délai d'initiation de la coagulation et une vitesse de formation du caillot plus rapide ont été mis en évidence. La fermeté du caillot n'était par contre pas modifiée.

Références

1. Sorgenfrei I. Reversal of Rocuronium-induced Neuromuscular Block by the Selective Relaxant Binding Agent Sugammadex. *Anesthesiology* 2006 ; 104 : 667-74
2. Suy K. Effective reversal of moderate rocuronium –or vecuronium- induced neuromuscular block with Sugammadex. *Anesthesiology* 2007 ; 106 : 283-8
3. Debaene B, Meistelman C. Indications et utilisations Clinique du Sugammadex. *Ann Fr Anesth Réanim* 2009 ; 28 : S57-63
4. Naguib M. Sugammadex: Another milestone in clinical neuromuscular pharmacology. *Anesth Analg* 2007 ; 104 : 575-81
5. Résumé des caractéristiques du Sugammadex (Bridion®) disponible sur internet: http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000885/WC500052310.pdf
6. Raft J. Evaluation Clinique du saignement post-chirurgical après injection de Sugammadex. *Ann Fr Anesth Reanim* 2011 ; 30 : 714-7
7. Rahe-Meyer N. Effect of reversal of neuromuscular blockade with sugammadex versus usual care on bleeding risk in a randomized study of surgical patients. *Anesthesiology*, 2014 ; 121 : 969–77
8. Raft J. Biological evaluation of the effect of sugammadex on hemostasis and bleeding. *Korean J Anesthesiol* 2015 ; 68 : 17-21
9. Tas N. Effect of Sugammadex on Postoperative Bleeding and Coagulation Parameters After Septoplasty: A Randomized Prospective Study. *Med Sci Monit.* 2015 ; 21 : 2382-6
10. Whitten CW. Thromboelastography: past, present, and future. *Anesthesiology.* 2000 ; 92 : 1223-5.

11. [Subramanian A.](#) Evaluation of the utility of thromboelastography in a tertiary trauma care centre. [ISRN Hematol.](#) 2014 ; 12 : 849626.
12. D'après Tem International GmbH. Disponible sur internet : <https://www.rottem.de/fr/methodologie/thromboelastometrie/>
13. Munster AM. Usefulness of human coagulation and fibrinolysis assays in domestic pigs. *Comp Med* 2002 ; 52 : 39-43
14. Velik-Salchner C. Normal values for thromboelastography and selected coagulation parameters in porcine blood. *Thromb Res* 2006 ; 117 : 597-602
15. Kessler U. Comparison of porcine and human coagulation by thrombelastometry. *Thromb Res* 2011 ; 128 : 477-82
16. Gijzenbergh F. First human exposure of Org 25969, a novel agent to reverse the action of rocuronium bromide. *Anesthesiology* 2005 ; 103 : 695-703
17. Staals LM. Reduced clearance of rocuronium and sugammadex in patients with severe to end-stage renal failure: a pharmacokinetic study. *Br J Anaesth* 2010 ; 104 : 31-9
18. J. Richmond. The 3Rs-Past, present and future *Scand J Lab Anim Sci* 2000 ; 27 : 84-92
19. Dufour J. Évaluation par thromboélastométrie des troubles de l'hémostase induits par l'utilisation du sugammadex *Ann Fr Anesth Reanim* 2014 ; 33 : 257-8
20. Lang T. Multi-centre investigation on reference ranges for thromboelastometry. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005 ; 16 : 301-10

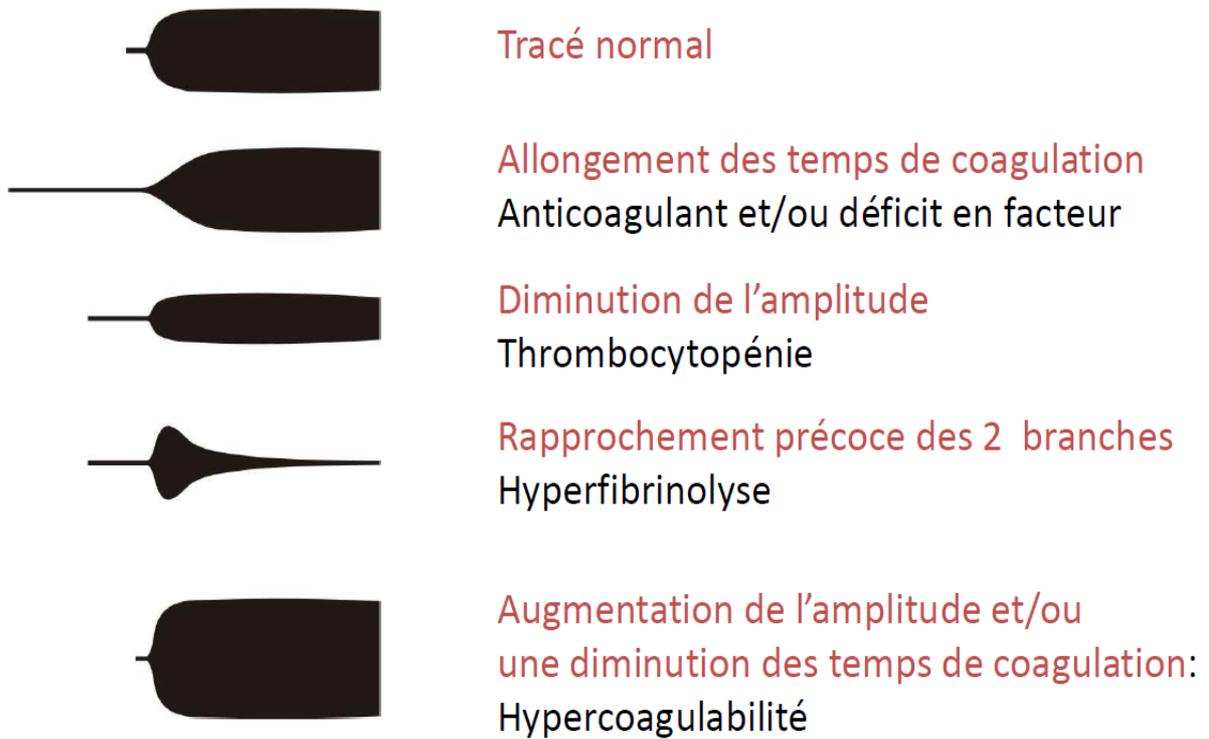
21. Fries D. Effect of fibrinogen on reversal of dilutional coagulopathy: a porcine model. *Br J Anaesth* 2005 ; 95 : 172–7
22. Dickneite G. Characterization of the coagulation deficit in porcine dilutional coagulopathy and substitution with a prothrombin complex concentrate. [Anesth Analg](#). 2008 ; 106 : 1070-7
23. Roussi J. Platelet functions and haemostasis parameters in pigs: absence of side effects of a procedure of general anaesthesia. *Thromb Res* 1996 ; 81 : 297–305
24. Fourcade O. Propofol inhibits human platelet aggregation induced by proinflammatory lipid mediators. *Anesth Analg* 2004 ; 99 : 393-98
25. Hirakata H. Platelet aggregation is impaired during anaesthesia with sevoflurane but not with isoflurane. *Can J Anaesth* 1997 ; 44 : 1157-61
26. Srinivasa V. Thromboelastography: where is it and where is it heading? *Int Anesthesiol Clin* 2001 Winter ; 39 : 35-49.

Annexes

Réactifs et valeurs normales du ROTEM chez le porc (14)

Parameter	n	Porcine			
		Mean \pm SD	SE	CI 95%	Range
<i>ROTEM®</i>					
<i>EXTEM®</i>					
CT (s)	78	58.45 \pm 10.97	1.24	55.99–60.91	31–90
CFT (s)	78	35.83 \pm 6.97	0.79	34.28–37.38	22–55
MCF (mm)	78	73.23 \pm 3.79	0.43	72.39–74.07	61–81
α (°)	78	82.97 \pm 1.43	0.16	82.65–83.29	79–86
<i>INTEM®</i>					
CT (s)	58	137.4 \pm 37.17	4.88	127.84–146.96	79–213
CFT (s)	58	37.45 \pm 8.14	1.07	35.36–39.54	23–72
MCF (mm)	58	70.07 \pm 4.31	0.57	68.96–71.18	60–79
α (°)	58	82.62 \pm 1.41	0.19	82.26–82.98	78–85
<i>FIBTEM® (20 μL)</i>					
MCF (mm)	58	50.17 \pm 10.34	1.36	47.45–52.89	35–107
<i>FIBTEM® (70 μL)</i>					
MCF (mm)	17	21.38 \pm 4.27	1.07	19.38–23.68	14–29

Interprétation d'un thromboélastogramme (26)



Résumé

Introduction Le Sugammadex, une gamma-cyclodextrine, est un inhibiteur de curares stéroïdiens. Parmi ses rares effets secondaires, plusieurs cas cliniques ont fait état d'allongement du TP et du TCA. Des études récentes n'ont cependant pas mis en évidence d'augmentation du risque hémorragique post opératoire après un bolus de Sugammadex. L'objectif de ce travail est d'évaluer *in vitro* par thromboélastométrie par une étude dose-effet l'impact du Sugammadex sur les paramètres viscoélastiques du caillot chez un modèle porcin.

Matériel et Méthodes 8 ml de sang total ont été prélevés chez 8 porcs sous anesthésie générale pour une étude ancillaire. Chacun des échantillons de sang total a été testé par thromboélastométrie en EXTEM et en INTEM sans dilution, après l'adjonction de 15µl de NaCl 0,9%, de 15µl de solution de Sugammadex de concentrations croissantes correspondant à la concentration plasmatique théorique suivant l'administration respectivement de 2, 4, 16 et 32 mg/kg de Sugammadex. Les valeurs du CT, CFT et MCF ont été relevées pour chacune des conditions testées. Dans le même temps une numération était prélevée sur chacun des porcs.

Résultats Les résultats sont exprimés en moyenne avec l'écart-type. Les porcs étaient comparables concernant les données de la numération de formule sanguine. En EXTEM, le CT était significativement allongé pour les concentrations de Sugammadex de 16 et 32 mg par rapport au prélèvement témoin (61 ± 6 sec vs 77 ± 8 sec et 88 ± 12 sec). Le CFT était significativement plus court pour les doses de 16 et 32mg/kg que pour le sang témoin (77 ± 14 sec vs 54 ± 4 sec et 54 ± 4 sec). Il n'y avait par contre aucune différence sur le MCF. En INTEM, il n'était retrouvé aucune différence significative pour le CT, le CFT et le MCF entre les différentes concentrations testées.

Conclusion : Un allongement du délai de coagulation et un temps de formation du caillot plus court après activation de la voie extrinsèque ont été mis en évidence de manière significative pour des concentrations plasmatiques de Sugammadex théoriquement obtenues pour des doses administrées de 16 et 32mg/kg. La fermeté du caillot n'était néanmoins pas altérée. Ce travail suppose une éventuelle interaction du Sugammadex avec le facteur tissulaire.

Mots clés : Sugammadex, Coagulation, Thromboélastométrie



UNIVERSITE DE POITIERS
Faculté de Médecine et de
Pharmacie



SERMENT

⚕⚕⚕

En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans

l'intérieur des maisons mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

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

☪☪☪☪