

**Hématologie**  
**– UE I : Sciences biologiques, pathologiques, sémiologie –**  
Exploration de la coagulation

<b>Semaine</b> : n°9 (du 31/10/16 au 04/11/16) <b>Date</b> : 02/11/2016	<b>Heure</b> : de 11h15 à 12h15	<b>Professeur</b> : Pr. DUPONT
<b>Binôme</b> : n°42	<b>Correcteur</b> : 41	
<b>Remarques du professeur</b> : Diapos disponibles sur moodle		

**PLAN DU COURS**

**I) Rappels**

A) Hémostase

B) Coagulation

1) *In vivo*

2) *In vitro*

C) Facteurs de coagulation

D) Voie extrinsèque in vitro

E) Voie endogène in vitro

**II) La coagulation : processus physiologique**

**III) Exploration de la coagulation en pratique courante**

A) Généralités

1) *Tests de 1ère intention : tests globaux (TP, TCA)*

2) *Tests de 2ème intention : dosage spécifique des facteurs*

B) Exploration pré-analytique

1) *Principe de l'exploration de la coagulation*

2) *Temps de Quick (TQ)*

3) *Cas particulier : patients sous AVK*

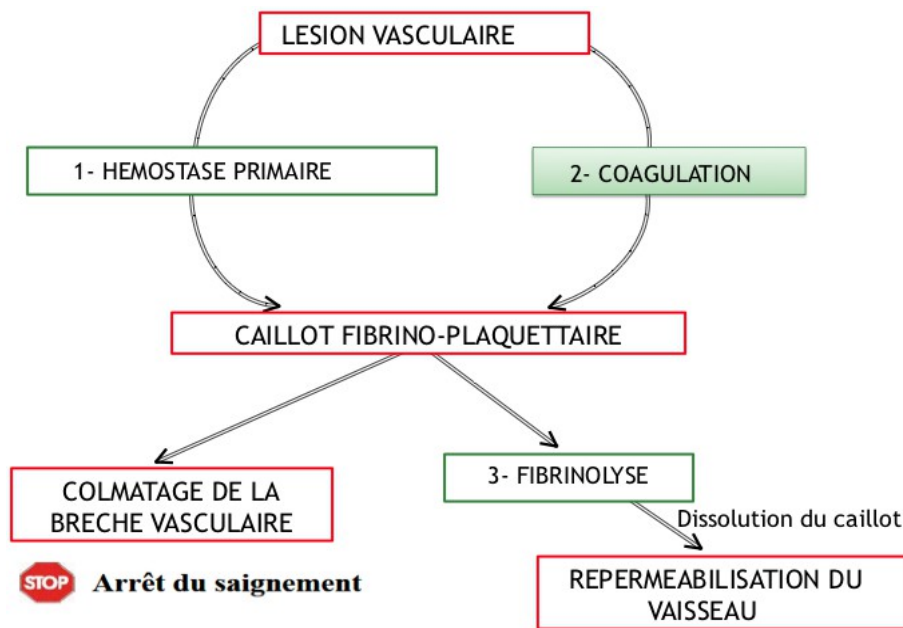
4) *Temps de céphaline + activateur*

5) *Mesure du taux de fibrinogène*

6) *Dosage des facteurs de la coagulation*

I) Rappels

A) Hémostase



A la suite d'une lésion se met en place l'hémostase primaire et la coagulation. Cela mène à la formation d'un caillot fibrino-plaquettaire permettant le colmatage de la brèche vasculaire et donc l'arrêt du saignement. Par la suite on a la fibrinolyse permettant la dissolution du caillot et donc la réimperméabilisation du vaisseau.

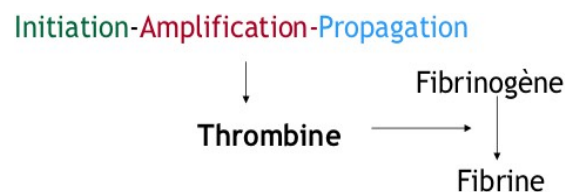
B) Coagulation

In vitro et in vivo, les processus sont différents. En laboratoire on travail dans des tubes à essai in vitro.

1) In vivo

Cela se passe sur des surfaces cellulaires. On a 3 phases :

- **Initiation**
- **Amplification**
- **Propagation**



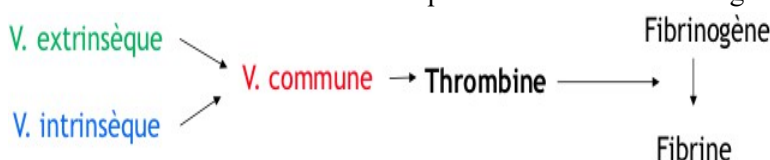
On va avoir formation de thrombine qui transformera le fibrinogène en fibrine.

2) In vitro

Ici on a 2 voies qui peuvent conduire a une voie commune :

- voie **extrinsèque**
- voie **intrinsèque**

La **voie commune** conduit à la formation de thrombine qui transformera le fibrinogène en fibrine.

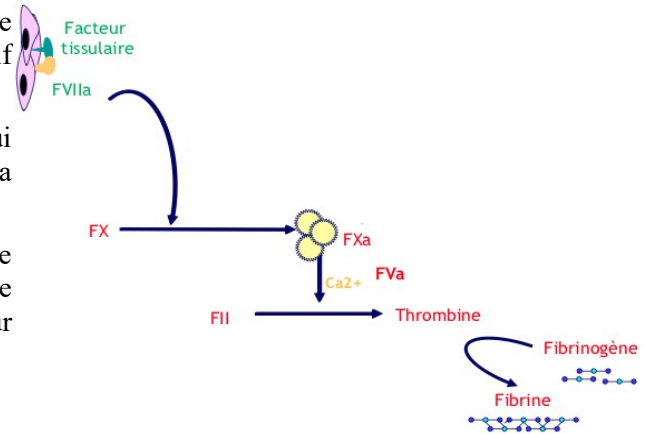




Par la voie extrinsèque, la coagulation se déclenche lorsque le facteur tissulaire est en contact avec le facteur VII actif (cela aboutit à la voie commune).

Le facteur VII activé permet l'activation du facteur X qui lui transforme la prothrombine en thrombine et la thrombine va transformer le fibrinogène en fibrine.

Dans cette voie extrinsèque intervient le facteur tissulaire, le facteur VII, le facteur X, le facteur V, le facteur II, le fibrinogène. Le facteur V a un rôle de co-facteur (transformation de la prothrombine en thrombine).



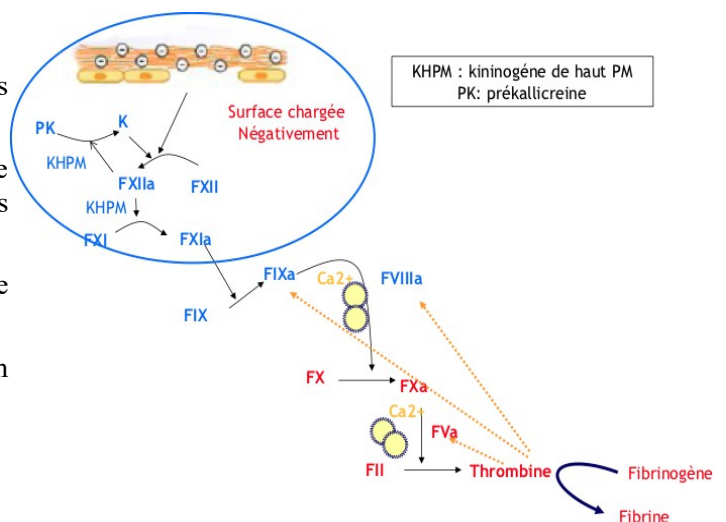
### E) Voie endogène in vitro

Cette voie est activée par des surfaces chargées négativement.

Cette voie fait intervenir la PK (prékallicréine), le KHPM (kininogène de haut poids moléculaire), les facteurs : XII, XI, IX et VIII.

Ensuite on retombe sur la voie commune avec le facteur X, V et II ainsi que le fibrinogène.

A chaque fois que cette voie s'active il faut du calcium et des phospholipides.



## II) La coagulation : processus physiologique

Dans ces processus de coagulation, on a un certain nombre de facteurs de la coagulation :

- Facteurs **pro-coagulants** : fibrinogène, II, V, VII, VIII, IX, X, XI et XIII
- Facteurs **inhibiteurs** : anti-thrombine, protéine C et protéine S

Il peut exister 2 déséquilibres :

- Déficit en pro-coagulants : **pas de coagulation**, on a des patients qui vont avoir des saignements,
- Déficit en inhibiteurs : **trop de coagulation** → risque de **thrombose** (on a formation d'un thrombus dans le vaisseau).

Au laboratoire, dans les analyses courantes, on ne va pas explorer les inhibiteurs (sauf cas particuliers de patients qui font des thromboses à répétition). L'exploration des facteurs de coagulation c'est quelque chose que l'on fait fréquemment chez des patients qui ont des hémorragies et également en bilan pré-opératoire.

### III) Exploration de la coagulation en pratique courante

L'exploration des facteurs de la coagulation est fréquente en laboratoire et en pré-opérateur

#### A) Généralités

##### 1) *Tests de 1ère intention : tests globaux (TP, TCA)*

Ce sont des tests globaux : **temps de prothrombine (TP)**, **temps de céphaline activée (TCA)**.

Le TCA permet l'exploration de tous les facteurs de la coagulation sauf le facteur **VII** → si il est normal on peut dire que tous les facteurs de coagulation chez le patient sont là et fonctionnent correctement (à l'exception du facteur VII).

Ils sont simples, peu coûteux et font office de dépistage.

##### 2) *Tests de 2ème intention : dosage spécifique des facteurs*

Si on a un TP ou un TCA qui présente des valeurs pathologiques chez le patient, en 2ème intention, on ira doser chacun des facteurs pour voir où est l'anomalie.

Le dosage spécifique des facteurs on le fait en fonction des résultats du TP et du TCA.

Ils sont hiérarchisés et permettent d'identifier et de quantifier l'(les) anomalie(s).

#### B) Exploration pré-analytique

On travail sur un échantillon de plasma :

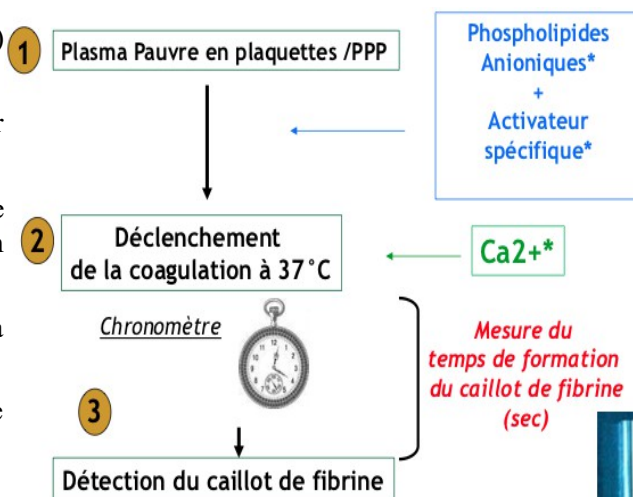
- On prélève le sang du patient avec un anticoagulant le **citrate** = sang citraté (0,5 ml de citrate et 4,5 ml de sang),
- Le citrate **chélate le calcium**, il est avantageux : inhibe l'activation de la coagulation tout en préservant les facteurs de la coagulation :
  - Si on ajoute du calcium : on induit la coagulation
  - Le citrate est un chélateur **réversible**
- Centrifugation,
- Analyse du tube (conservé à T° ambiante et 4-5h max après le prélèvement).

Après centrifugation on obtient un plasma pauvre en plaquettes (PPP).

##### 1) *Principe de l'exploration de la coagulation*

- Placement du plasma pauvre en plaquette (PPP) dans un tube
- Ajout des phospholipides anioniques\* + activateur spécifique\* (\* en quantité standardisée) + Ca<sup>2+</sup> \*
- Déclenchement de la **coagulation** à 37° + mesure (par chronomètre) du temps de formation d'un caillot de fibrine (en secondes)
- **Détection** du caillot de fibrine (résultat de la coagulation)

Au CHR plus de 2000 test de coagulation/jour, ( bain-marie trop long) on utilise l'automate.

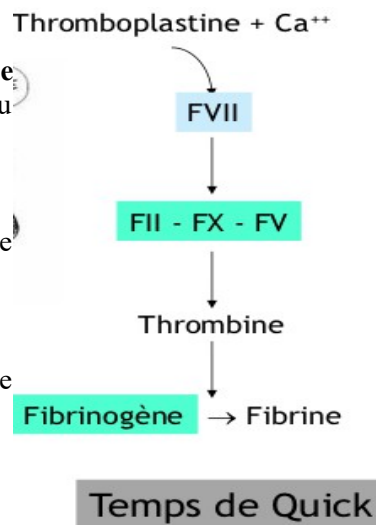


Si il y a une anomalie d'un ou plusieurs facteurs de la coagulation sur la voie qu'on a activée, à ce moment, on va avoir un temps de coagulation qui va être allongé (et parfois ça va jamais coaguler).

On peut exprimer les résultats du temps de formation du caillot de fibrine de 2 manières :

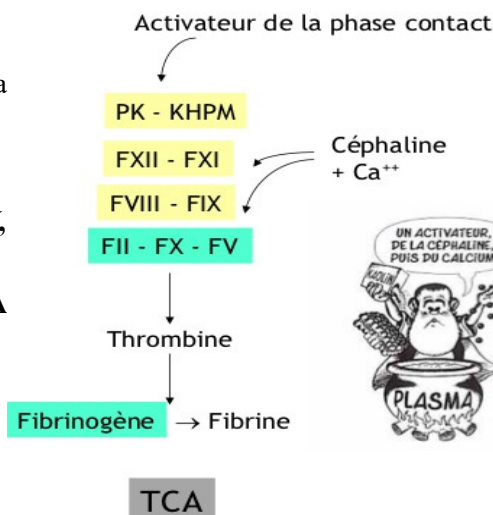
- **Temps de Quick (TQ) :**

- On prend un **activateur de la coagulation**, ici la **thromboplastine** (facteur tissulaire + phospholipides) à laquelle on rajoute du calcium.
- On va activer la **voie extrinsèque**
- Il permet d'analyser le facteur **VII** ainsi que les facteurs de la voie commune (**II, V, X** et le **fibrinogène**)
- Chez un sujet sain **TQ = 10 - 15 secondes**
  - Si le temps est allongé → anomalie de facteurs ou absence de facteurs.



- **Temps de céphaline activé (TCA) :**

- On prend un **activateur de la phase contact**, de la **céphaline**, et du calcium
- Cela va activer la **voie endogène**
- Il permet d'analyser les facteurs **XII, XI, VIII, IX, II, X, V**, le **fibrinogène**, la **prékallicréine** et le **KHPM**
  - o temps de la céphaline + activateur = mesure du TCA
  - o Chez un sujet sain, **TCA = 30 - 35 secondes**



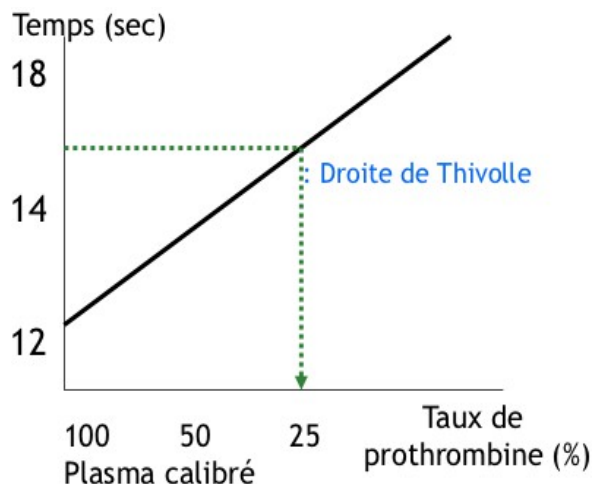
**2) Temps de Quick (TQ)**

PPP + thromboplastine (facteur tissulaire + PL) + Ca → mesure du temps de coagulation

On va activer les facteurs : **VII, II, X, V**, le **fibrinogène**.

En pratique au laboratoire c'est le TP et le TCA qui nous intéressent : on transforme le temps de Quick en secondes en taux de prothrombine (TP) qui est un résultat en pourcentage.

Pour transformer le temps de Quick en taux de prothrombine, on utilise la droite de Thivolle, droite de calibration.



*Au labo on achète des plasmas titrés, des plasmas qui ont un taux de prothrombine à 100%, on mesure le temps de Quick de ce plasma, on trouve par exemple 12s, on va pouvoir placer un premier point sur la droite.*

*Ce plasma on le dilue au 1/2, on s'attend à avoir un TP de 50%, on mesure le temps de Quick de ce plasma, le temps peut être plus long, par exemple on trouve 13s, on place sur la droite.*

*On fait la même chose sur un plasma dilué au 1/4, on aura un TP de 25% et un temps de Quick de 15s.*

*On relie les points et on va mesurer le temps de Quick sur le plasma de notre patient, on trouve par exemple 14s que l'on va reporter sur la droite et on trouve le taux de prothrombine.*

**Plus le temps de Quick est élevé plus le TP est bas : inversement proportionnel**

Temps de Quick exprimé en **secondes** et taux de prothrombine exprimé en %

**Valeurs usuelles : TQ 11-13 sec et TP 70-130% +++++**

→ Chez un sujet sain on a un TP de 100% en moyenne.

### 3) Cas particulier : patients sous AVK

Le cas particulier de cette exploration du TQ : patient sous AVK (anti-vitamine K).

Ce sont les patients qui présente un risque de thrombose (ex : lors pose de prothèse de hanche) ou thrombose régulière.

Les facteurs qui sont explorés par le temps de Quick et qui sont de synthèse vitamine K dépendante sont : **VII, II** et le **X**.

Chez un patient sous AVK :

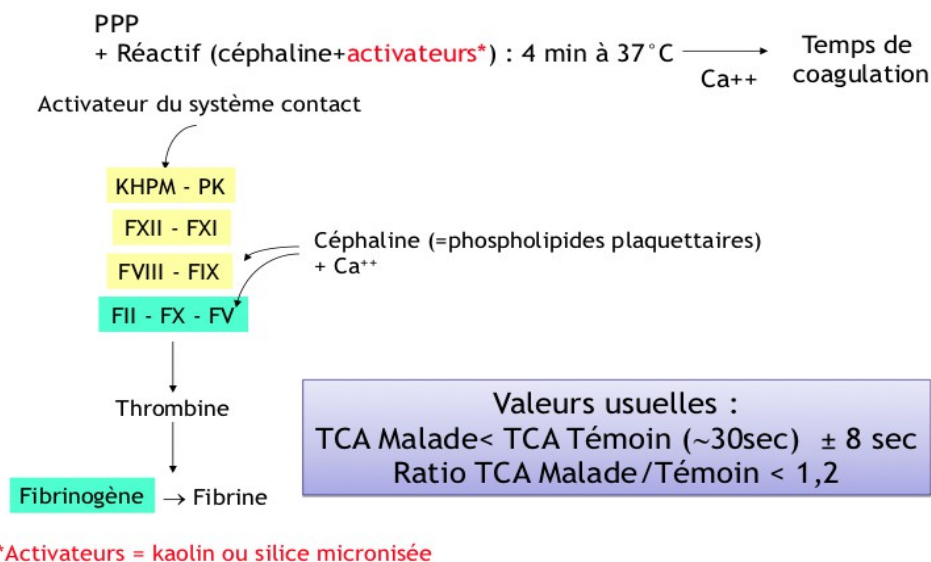
- On a un **TQ allongé** car les facteurs **VII, II** et **X** sont **non fonctionnels** → TP est également bas,
- Le médicament ne doit pas être surdosé (trop de blocage de coagulation et risque d'hémorragie et attention à ne pas sous doser car sinon inefficace), on doit donc suivre le patient et évaluer sa coagulation :
  - On peut surveiller par l'intermédiaire du TQ ou le TP,
  - Mais on préconise l'INR (International Normalized Ratio) : (TQ malade / TQ témoin) puissance ISI
    - ISI: Indice de Sensibilité Internationale

L'INR est déterminé une fois par mois pour les patients sous AVK.

En fonction de la thromboplastine utilisée on ne retrouve pas forcément le même TQ : l'ISI standardise les résultats. Elle est déterminée pour chaque thromboplastine par rapport à une thromboplastine de référence internationale humaine fournie par l'OMS.

- Patient normal : INR = 1 sans AVK
- Patient sous AVK :  $2 < \text{INR} < 3$

#### 4) Temps de céphaline + activateur



On ajoute au plasma du patient pauvre en plaquettes de la **céphaline** et un **activateur** (silice ou kaolin). On maintient ce mélange **4 min à 37°C**, puis on rajoute du calcium et on mesure le **temps de formation du caillot de fibrine**.

Les facteurs que l'on explore sont : la PK, le KHPM, le XII, XI, VIII, IX, II, X, V, le fibrinogène.

Les résultats du TCA sont en secondes (on rend également le TCA d'un témoin).

Le TCA du patient est **normal** si il y a **moins de 8 secondes d'écart** entre son TCA et celui du témoin.

Sinon, on parle en terme de **ratio** (TCA malade / TCA témoin) **normalement supérieur à 1,2** (correspondant donc à un **taux de prothrombine entre 70 – 130 %**).

Exemple : TCA témoin 31 sec et TCA malade 60 sec → écart > 8sec donc le TCA du malade est allongé.

#### 5) Mesure du taux de fibrinogène

On dose la fibrinogène car on peut avoir des déficits en fibrinogène mais on va aussi la doser car c'est une protéine dont les taux augmentent lors des syndromes inflammatoires.

Ce taux de fibrinogène c'est un temps de coagulation (résultat en secondes), on prend le plasma du malade, on rajoute de la thrombine, du calcium et on mesure le temps de coagulation.

Ce temps de coagulation on le transforme en g/L grâce à une courbe de calibration : c'est une courbe qui représente le temps de coagulation (en secondes) en fonction d'un résultat en g/L de fibrinogène.

Si il y a peu de fibrinogène, le temps de coagulation sera très allongé, au contraire si il y un taux de fibrinogène normal, on aura un temps de coagulation qui se situera dans les valeurs normales.

**Norme : 2 à 4 g/L** +++ mais on peut avoir des modifications :

- Augmentation dans le cas de syndromes inflammatoires,



→ Diminution :

- Dans les coagulopathies de consommation (CIVD, fibrinolyse)
- Dans les anomalies constitutionnelles qualitatives et quantitatives du Fg (rares)

### 6) *Dosage des facteurs de la coagulation*

On les effectue si les tests globaux sont anormaux, les taux doivent être compris entre **70 et 130 %** et tous les facteurs de la coagulation doivent être dosés séparément.

**Principe : On mesure le temps de coagulation du PPP du patient dilué dans un plasma test contenant tous les facteurs sauf celui à doser.**

On utilise des droites de calibrations une fois encore.