

# Exploration de l'hémostase

## I. hémostase primaire

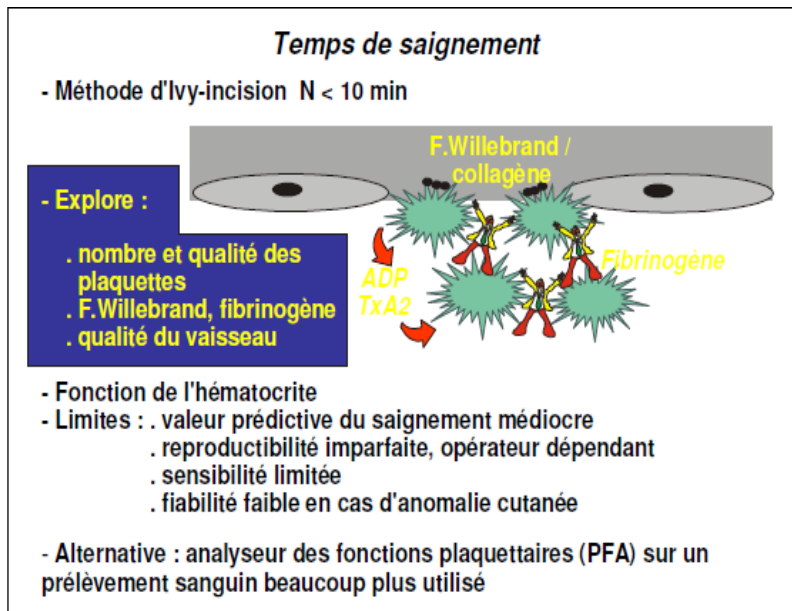
1- numération des plaquettes : par les compteurs globulaires automatiques ( $150 < V_n < 450$  ga/L)

2- TS (temps de saignement) :

Le temps de saignement (TS) permet une exploration globale de l'hémostase primaire in vivo. Il explore les différentes phases de l'hémostase primaire, c'est-à-dire **l'adhésion des plaquettes** au sous endothélium en présence de facteur Willebrand, **l'activation** des plaquettes par leurs agonistes physiologiques et **la sécrétion** du contenu de leurs granules et, enfin, leur **agrégation** en présence de fibrinogène.

• **Méthode d'Ivy-incision (normale < 10 minutes)**

Une incision horizontale est faite à la face antérieure du tiers supérieur de l'avant-bras, sous une pression de 4 cm Hg maintenue à l'aide d'un brassard manométrique. Un dispositif standardisé à usage unique, réalisant une incision de 5 mm de longueur et 1 mm de profondeur, est utilisé pour améliorer la reproductibilité. Cette technique très sensible, raisonnablement reproductible, constitue la méthode de référence. Elle n'est plus beaucoup utilisée (remplacée par la méthode du temps d'occlusion).



Il est donc fonction à la fois de la qualité de la paroi vasculaire, du nombre et de la qualité des plaquettes, et de la concentration plasmatique de facteur Willebrand et de fibrinogène.

3- étude des fonctions plaquettaires : (PFA)

L'étude des fonctions plaquettaires peut aussi être réalisée in vitro sur un tube de sang à l'aide d'un appareil, le **PFA-100®** (platelet function analyzer). Le test consiste à mesurer le temps d'adhésion et d'agrégation des plaquettes sur une membrane recouverte de collagène (en présence d'adrénaline ou d'ADP) dans des conditions de flux standardisées. Ce test est inutilisable en cas de thrombopénie. Chacune des fonctions des plaquettes peut être étudiée in vitro si le TS ou le temps d'occlusion du PFA sont anormaux, en l'absence de thrombopénie ou de prise de médicaments antiagrégants.

4- les anomalies :

-Un allongement du **TS** avec nombre de plaquettes normal et allongement du **TCA** s'observe en cas de déficit en **FW (maladie de Willebrand)**.

- Un allongement du **TS** avec nombre de plaquettes normal et **TCA** normal se voit au cours des **thrombopathies**, c'est-à-dire d'anomalie fonctionnelle des plaquettes. Il faut d'abord avoir éliminé une **prise médicamenteuse** : antiagrégant plaquettaire de type **Aspirine, Clopidogrel**.

- Un allongement isolé du **TS** avec fonctions plaquettaires normales peut se voir dans des **anomalies de la paroi vasculaire**.

## II. la coagulation

Les tests se pratiquent sur un tube de sang, prélevé sur un anticoagulant (chélateur du  $\text{Ca}^{2+}$ , par exemple), le sang est centrifugé pour séparer le plasma des cellules (GR, GB et plaquettes) et les études sont réalisées sur le plasma. Le plasma ne contient ni plaquettes (source de phospholipides), ni calcium, donc **tous les tests de coagulation devront nécessiter l'apport de phospholipides et de calcium en plus des réactifs spécifiques**. Il existe des tests globaux (TCA et temps de Quick). Lorsqu'ils sont anormaux, chacun des facteurs de coagulation peut être dosé de façon spécifique, en fonction de ces premiers résultats et du contexte clinique.

### 1- Le temps de céphaline + activateur (TCA/TCK) :

#### a. Méthodes et valeurs normales :

Le TCA mesure le temps de coagulation à  $37^\circ\text{C}$  d'un plasma en présence de **phospholipides** (céphaline), d'un **activateur de la phase contact** (kaolin, acide ellagique, célite ou autre) et de **calcium**

Il explore la voie de la coagulation déclenchée par le contact (voie dite « endogène »), et il est donc fonction de la concentration plasmatique de chacun des facteurs de coagulation impliqués : facteurs de la phase contact (facteurs XII, kininogène de haut poids moléculaire, prékallikréine), facteurs XI, IX, VIII, X, V, II et fibrinogène.

Il n'explore pas le facteur VII ni les plaquettes.

Le temps obtenu est exprimé par rapport au temps du plasma témoin, dont la valeur moyenne varie entre 30 et 40 secondes selon les réactifs utilisés.

Le résultat est rendu sous forme de ratio malade/témoin  $< 1,2$ , chez l'enfant **1,3** ; **ratio normal = 1,2**.

Le TCA est **allongé lorsqu'il est  $> 6$  à  $8$  secondes le temps du témoin**, mais la frontière n'est pas stricte. Un ratio  $> 1,2$  est anormal.

#### b. Perturbations :

Un allongement isolé du TCA s'observe dans les cas suivants :

- Déficit isolé en **facteur VIII** (hémophilie A), **facteur IX** (hémophilie B) ou facteur XI. Ces déficits s'accompagnent de manifestations hémorragiques.
- Déficit en facteurs de la **phase contact**. Ces déficits exceptionnels n'entraînent jamais d'incidents hémorragiques, même s'ils sont sévères.
- **Anticoagulant circulant (ACC)** : anticoagulant lupique (maladie de système, héparine...)

### 2- Temps de Quick (TQ)/taux de prothrombine (TP) :

#### a. Méthodes et valeurs normales

Le temps de Quick est le temps de coagulation à  $37^\circ\text{C}$  d'un plasma en présence d'un mélange de facteur tissulaire et de phospholipides (thromboplastine) et de calcium. Le temps de coagulation du plasma du patient est comparé à celui d'un témoin, voisin de 12 s pour la plupart des réactifs. Le résultat est exprimé en %, qui désigné sous le nom de taux de prothrombine (TP), terme incorrect.

Le % est calculé en utilisant un plasma témoin qui, par définition correspond à 100 % de la normale

(**normale =  $> 70\%$** ). Les valeurs  $< 70\%$  sont considérées comme pathologiques. Un autre mode d'expression est **exclusivement réservé à la surveillance des traitements anticoagulants** par les antagonistes de la vitamine K : l'**INR** (International Normalized Ratio) correspond au rapport du TQ/T, élevé à la puissance ISI, cet index (International Sensitivity Index) définissant la sensibilité du réactif utilisé.

**Dans les conditions de concentration de facteur tissulaire utilisées, le complexe FT-VIIa active exclusivement le F. X : les F. IX et VIII ne sont donc pas explorés par le TQ.**

Le temps de Quick explore de façon globale les facteurs de coagulation de la voie exogène de la coagulation (facteurs VII, X, V, II et fibrinogène).

#### b. Les anomalies

- Un temps de Quick allongé avec TCA normal indique un **déficit isolé en facteur VII**.

- Un allongement associé du TCA et du temps de Quick s'observe dans :

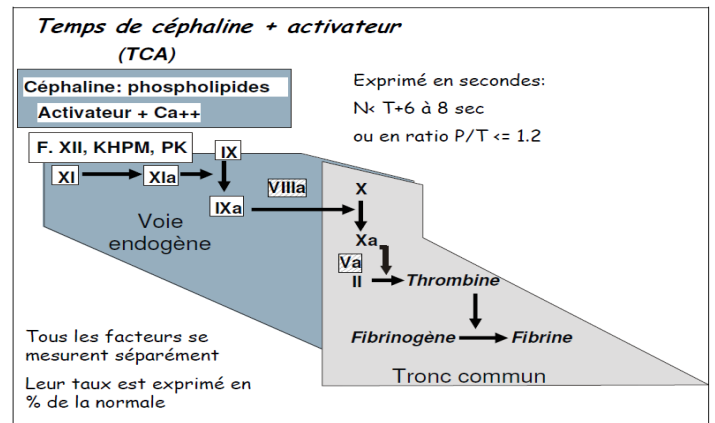
. **Hypovitaminose K** : facteur II, VII et X diminués, **facteur V normal**.

. **Insuffisance hépatocellulaire** : facteur II, VII, X et V diminués.

. **CIVD**

. Anticoagulants circulants (antiphospholipides)

. Déficients **isolés** en fibrinogène, facteur II, V ou X.



- 3- **temps de thrombine et dosage du fibrinogène :** le temps de thrombine est la mesure du temps de la coagulation d'un plasma après apport d'une quantité connue de thrombine .la vitesse de coagulation est fx de la qualité +quantité du fibrinogène et la présence ou non d'inhibiteurs de la fibrino-formation (héparine non fractionné -PDF..) les résultats exprimés en S par référence à un témoin  
Une variante élevée utilisant des concentrations élevées de thrombine permet de mesurer la concentration plasmatique de fibrinogène (Vn : 2-4g/L)
- 4- **dosage des facteurs de coagulation +leurs inhibiteurs** ne sont effectués que lorsque les tests de dépistage (TCA ou TQ) .tt les Fs peuvent être dosés individuellement avec le mm principe de dosage biologique (on ajoute au plasma du malade un plasma qui contient tt les Fs sauf le F qu'on veut doser). Le temps de coagulation sera fx de la quantité de ce F ds le plasma .les résultats sont exprimés en % de la normale. Lorsque un déficit apparait en l'un des F on complète l'exploration par un dosage immunologique de la protéine (différencier le déficit quantitatif/qualitatif)

### **III - LA FIBRINOLYSE**

#### **a. Méthodes et valeurs normales**

##### **1- TESTS GLOBAUX**

- Temps de lyse d'un caillot de sang total : test peu utilisé car peu sensible.

- Temps de lyse des euglobulines (Von-Kaulla) :

Ce test plus sensible que le précédent, consiste à évaluer l'activité fibrinolytique d'un plasma déplété en inhibiteurs par précipitation en milieu acide (pH 5,9). Le précipité d'euglobulines (facteurs de coagulation, plasminogène, plasmine, t PA, u PA) est recalcifié et le temps de lyse du caillot formé est ensuite mesuré. Valeur normale = 3 h.

Le temps de lyse est raccourci lorsque la quantité de t PA circulant augmente.

##### **2- TESTS ANALYTIQUES**

- Les dosages du plasminogène, du t PA, de l'alpha2 antiplasmine, du PAI 1, et des autres inhibiteurs sont possibles.

- Dosage des produits de dégradation de la fibrine : les D dimères proviennent de la dégradation de la fibrine par la fibrinolyse physiologique et, sont donc le témoin d'un processus thrombotique évolutif. Le dosage des D dimères a une excellente valeur prédictive négative (VPN) : lorsque leur concentration plasmatique est basse, la probabilité d'une thrombose veineuse profonde est très faible. En revanche, la valeur prédictive positive est mauvaise (taux augmenté dans de nombreuses situations pathologique : inflammation, traumatisme, et aussi l'âge).

##### **b. Les anomalies**

Le temps de lyse est accéléré (temps < 3h) lorsque la quantité de t PA circulant augmente

Le dosage des D dimères a une excellente valeur prédictive négative (VPN) : lorsque leur concentration plasmatique est basse, la probabilité d'une thrombose veineuse profonde est très faible. En revanche, la valeur prédictive positive est mauvaise (taux augmenté dans de nombreuses situations pathologique : inflammation, traumatisme, et aussi l'âge).