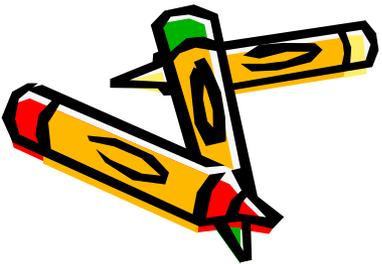
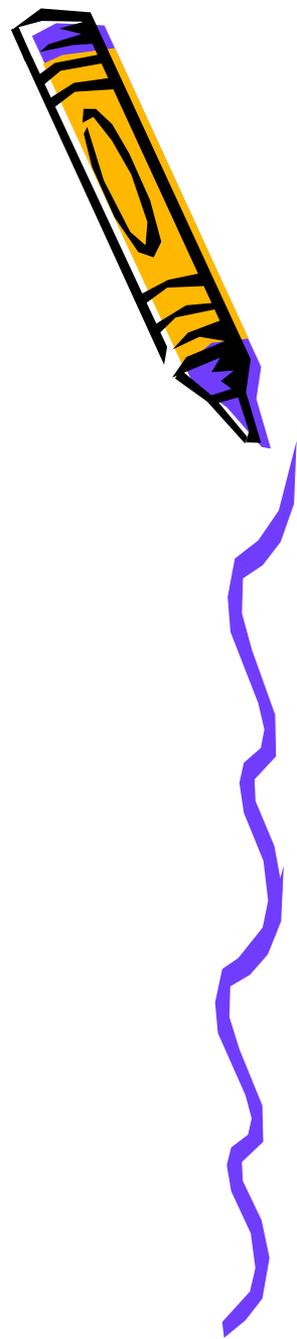


# INTERPRETATION DU BILAN DE COAGULATION

-Pr A.ARABI  
-Dr N.HAKIKI

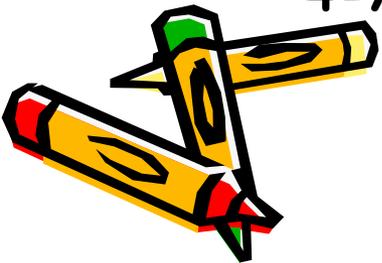
Hématologie  
E.H.U.Oran

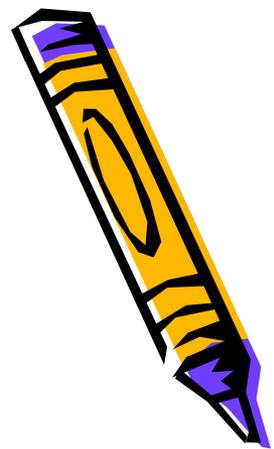
RAPPEL SUR LA PHYSIOLOGIE  
ET  
L'EXPLORATION DE LA COAGULATION





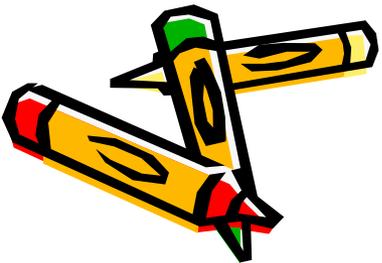
- Hémostase : Ensemble de phénomènes qui conduisent à l'arrêt du saignement après traumatisme d'un vaisseau sanguin.
- Il se produit, dans l'ordre :
  - 1 -Vasoconstriction du vaisseau blessé
  - 2 -Adhésion des Plaquettes Sanguines au niveau du sous endothélium
  - 3 -Changement de forme et Libération par les plaquettes (substances)
  - 4-Agrégation des Plaquettes entre elles



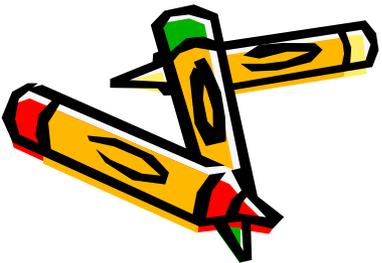
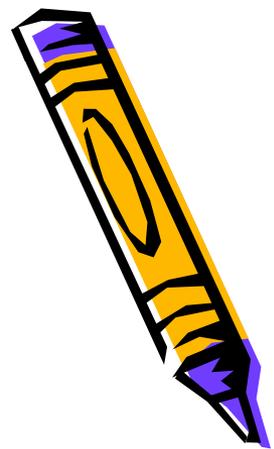
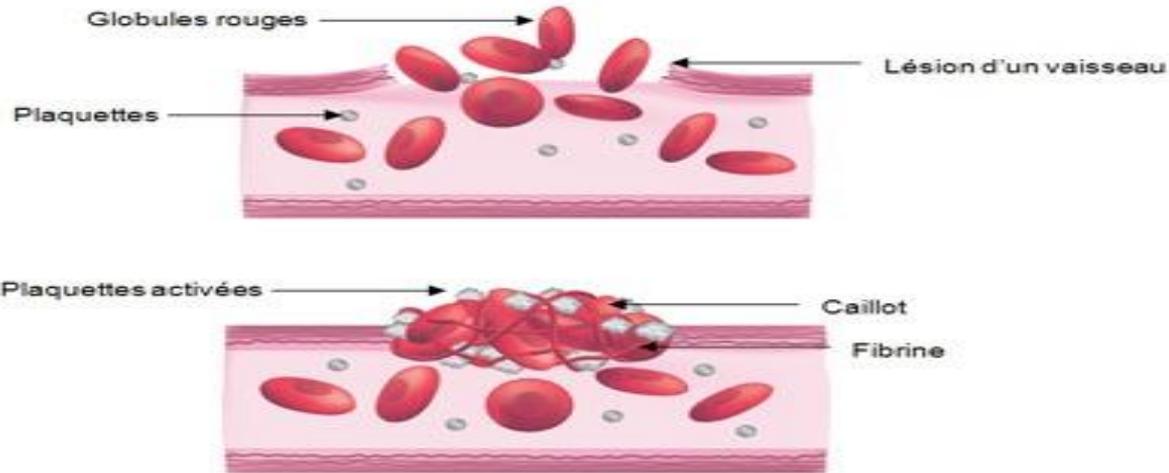


L'ensemble de ces 4 étapes définit **l'Hémostase Primaire.**

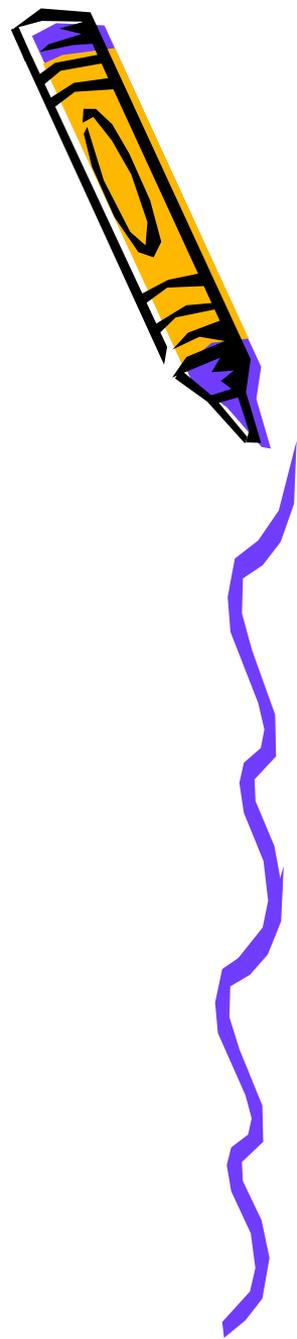
- A L'issue : formation d'un caillot fait essentiellement de **plaquettes** ( fragile)
- Consolidation par un réseau de Fibrine ( à partir du Fibrinogène) et ce , à l'issue de la **Coagulation Plasmatique.**
- Survient la **Fibrinolyse Physiologique (destruction du caillot)** pour laisser place à la cicatrisation tissulaire



Il se forme un caillot qui se solidifie et arrête l'hémorragie.



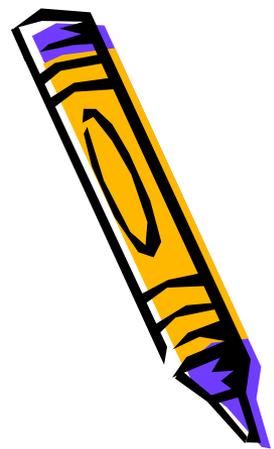
# COAGULATION PLASMATIQUE



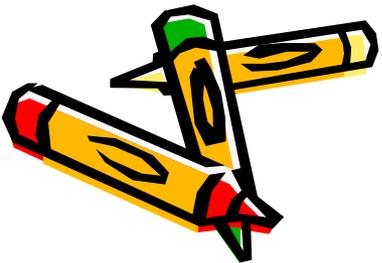
## 1-Elle met en jeu les Facteurs de la Coagulation:

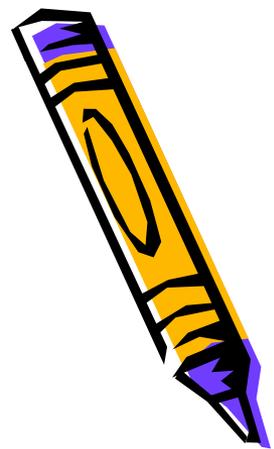
- **I** (fibrinogène)
- **V** (Proaccélélerine)
- **VIII** (Anti-Hémophilique A)
  - II** (Prothrombine)<sup>VK</sup>
  - VII** (Proconvertine)<sup>VK</sup>
  - IX** (Anti-Hémophilique B)<sup>VK</sup>
  - X** (Stuart)<sup>VK</sup>
- **XI** (Rosenthal)
- **XII** (Hageman)
- **XIII** (Facteur Stabilisateur de la Fibrine )





- Tous les facteurs de Coagulation sont synthétisés par le Foie
- Les facteurs **II, VII, IX et X** sont dits « Vitamino-K dépendants »





## □ Conception Classique

-On décrit 3 étapes :

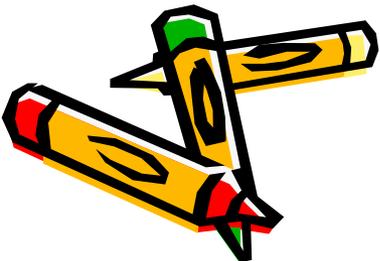
a-Formation de **Prothrombinase**



b-Transformation de la **Prothrombine en Thrombine** ( sous l'effet de la Prothrombinase)



c-Transformation du **Fibrinogène en Fibrine** (sous l'effet de la thrombine )



## a-Formation de Prothrombinase:

- -Elle se fait dans 2 voies:

### 1-La voie Endogène:

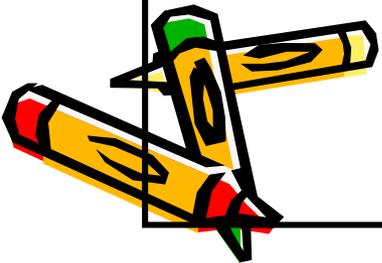
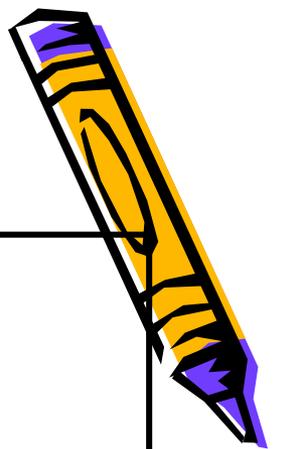
-Le **XII** est activé par le contact avec le sous-endothelium

-Il active le **XI**

-Le **XI** active le **IX**

-Le **IX** activé se lie au **VIII** (**ca+PL**) pour donner « 1 complexe enzymatique » qui active le **X**

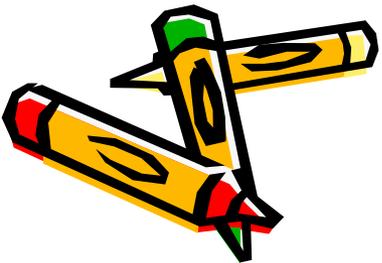
Le **Xa** se lie au **V** (**ca+PL**) pour donner la **Prothrombinase**

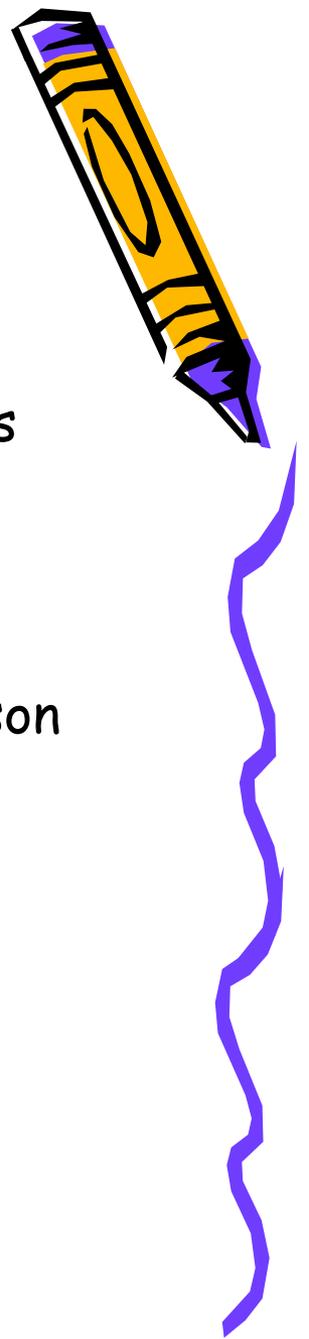




## 2-La Voie Exogène :

- Le **Facteur tissulaire ( FT )** libéré par les cellules endothéliales active le **VII**
- Le **VIIa** est responsable de de l'activation du **Facteur X**
- Le **Xa** se lie au **V (Ca+PL)** pour donner de la **Prothrombinase**

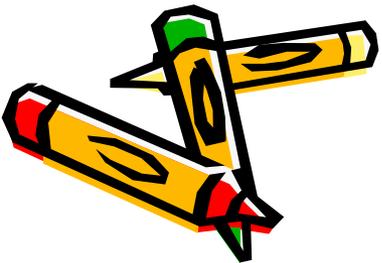




## b-Transformation Prothrombine-Thrombine

-Se fait sous l'effet de la **prothrombinase** formée dans les voies Endogène et Exogène.

-La **Thrombine** est une enzyme extrêmement puissante ; son principal substrat est le **Fibrinogène**.

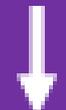


# Voie intrinsèque

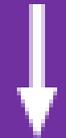
XII → XIIa



XI → XIa



IX → IXa



X → Xa

VIIIa+Ca+PL



Va+Ca+PL

II → IIa



Fibrinogène

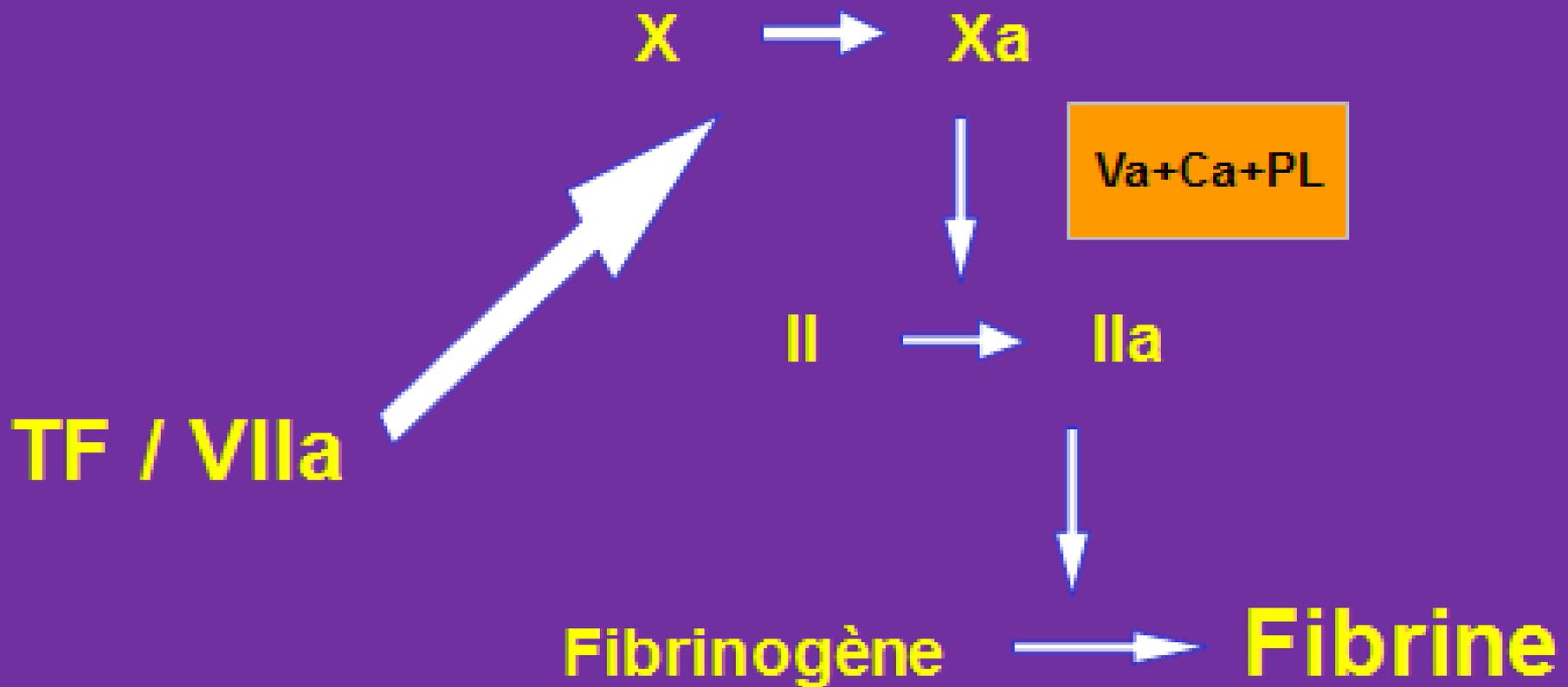


Fibrine

Activated partial thromboplastin time  
= APTT

# Voie extrinsèque

Temps de prothrombine (PTT) = temps de Quick



# Voie commune finale

Temps de thrombine

Thrombine



Fibrinogène



Fibrine

Prolongation par:

1. Héparine
2. Fibrinogène diminué ou absent (hypo/afibrinogénémie)
3. Fibrinogène anormal (dysfibrinogénémie)
4. Taux élevé de produits de dégradation du fibrinogène

# C-Transformation Fibrinogène - Fibrine (sous l'effet de la Thrombine)

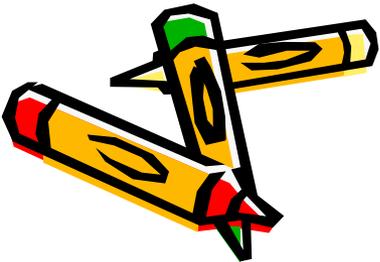
## FIBRINOFORMATION

- Elle se fait en 3 étapes :

1-**Détachement des Fibrinopeptides A et B** (fixés à l'extrémité N-terminale des monomères de Fibrine)

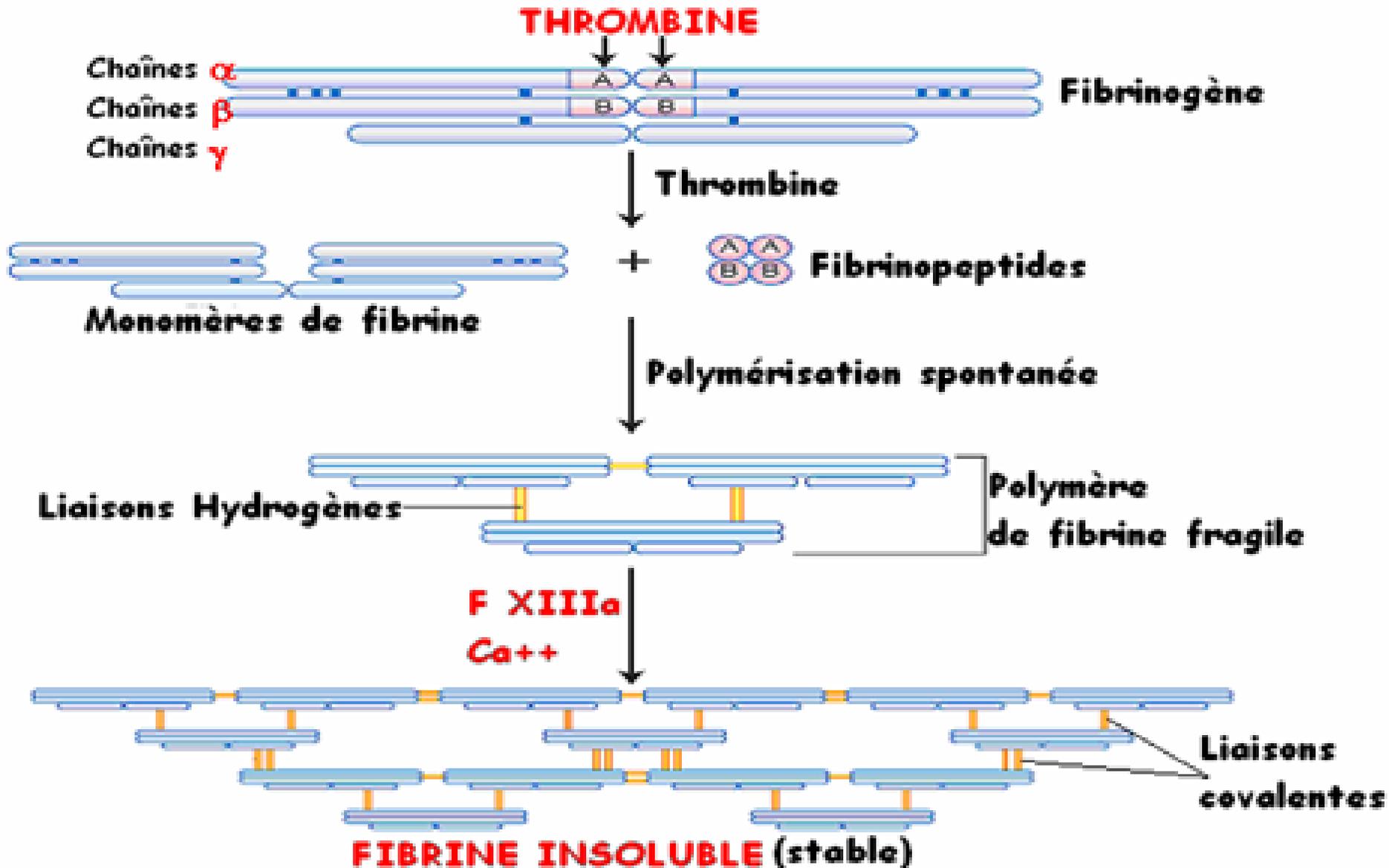
2-**Les monomères de Fibrine vont se lier** entre eux pour donner un réseau de Fibrine soluble

3-**La Thrombine active le Facteur XIII** qui va stabiliser les monomères de fibrine ( par la création de liaisons covalentes ) donnant un réseau de fibrine insoluble

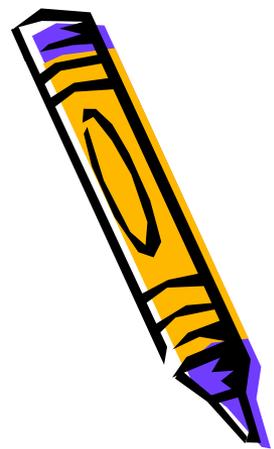




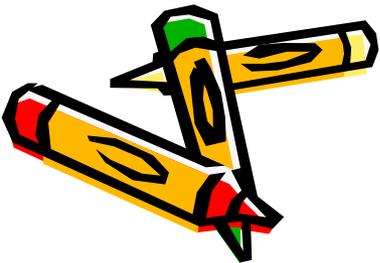
## Action de la Thrombine sur le Fibrinogène



## FIBRINOLYSE

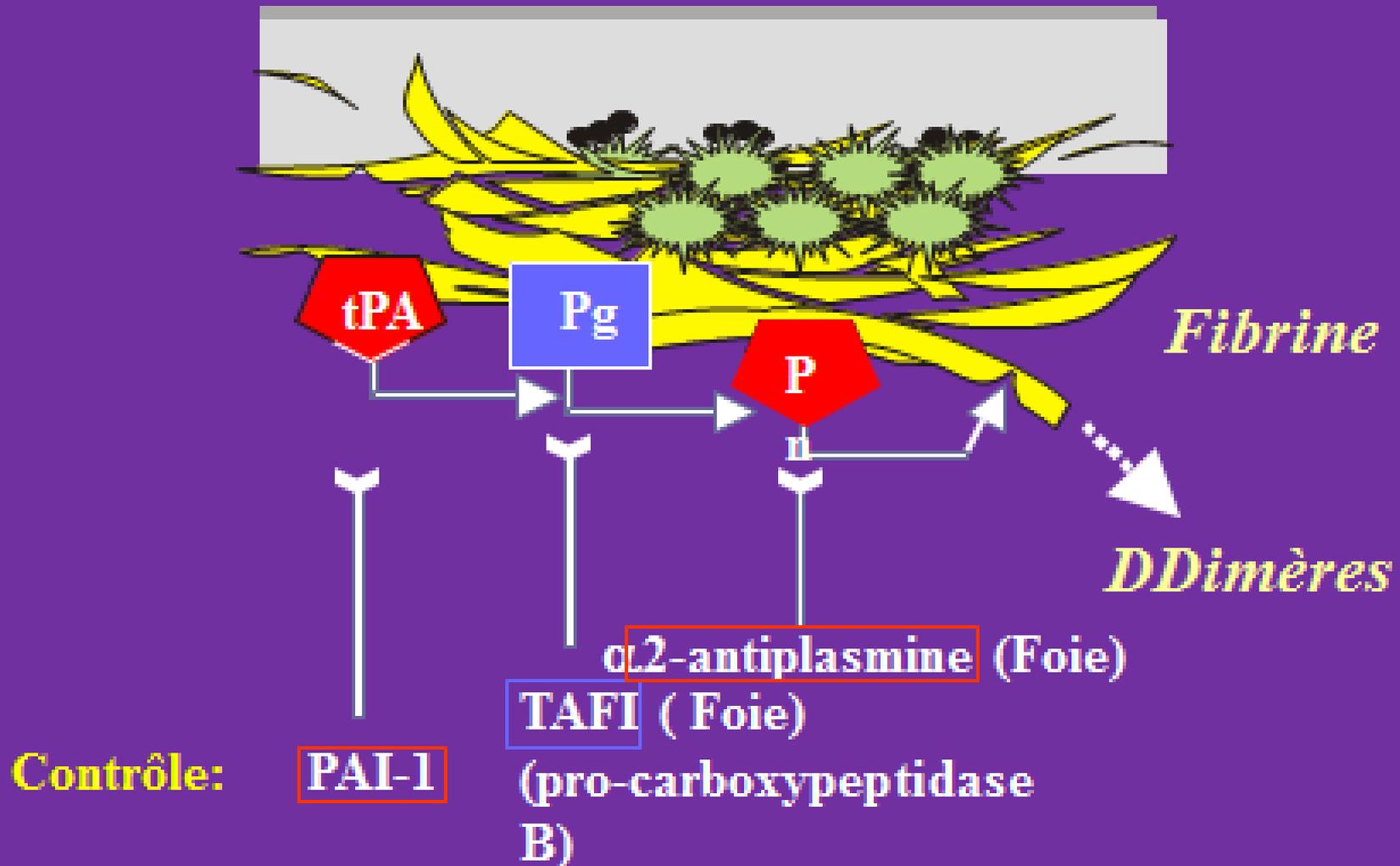


- Elle résulte de l'activation du Plasminogène en Plasmine ; cette activation se fait sous l'effet d'un facteur tissulaire , t-PA libéré par les cellules endothéliales
- Au niveau du caillot , la Plasmine dégrade la Fibrine en produisant des PDF (Produits de la fibrine ou Ddimères )
- Après destruction du caillot , la cicatrisation tissulaire prend le relais

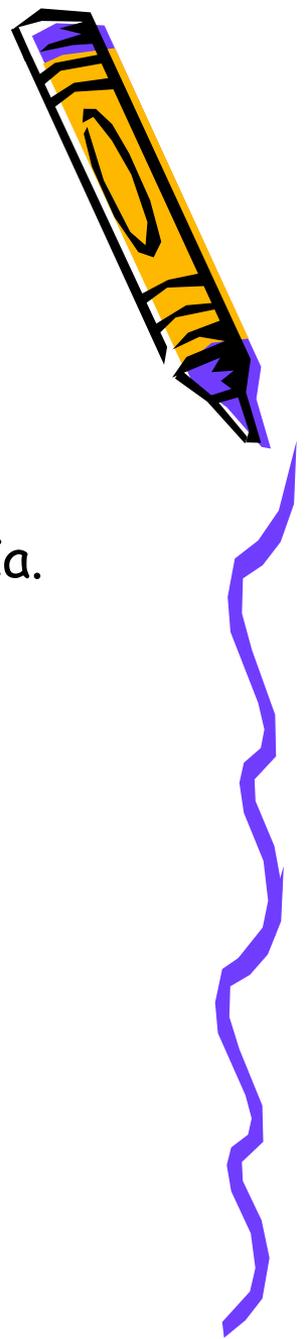


# *Le système plasminogène-plasmine*

## Digestion de la fibrine



# INHIBITEURS PHYSIOLOGIQUES DE LA COAGULATION



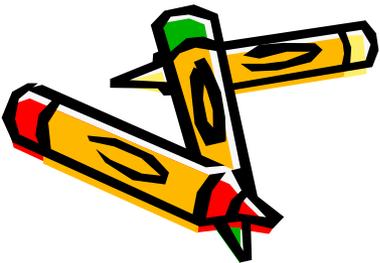
-Une fois leur rôle accompli, les facteurs de la coagulation activés doivent être inhibés (pour ne pas entraîner une activation diffuse de la coagulation qui est un processus pathologique grave : **Thrombose** )

1-**ATIII** : inhibe la thrombine mais aussi le IXa, le Xa ,XIa.

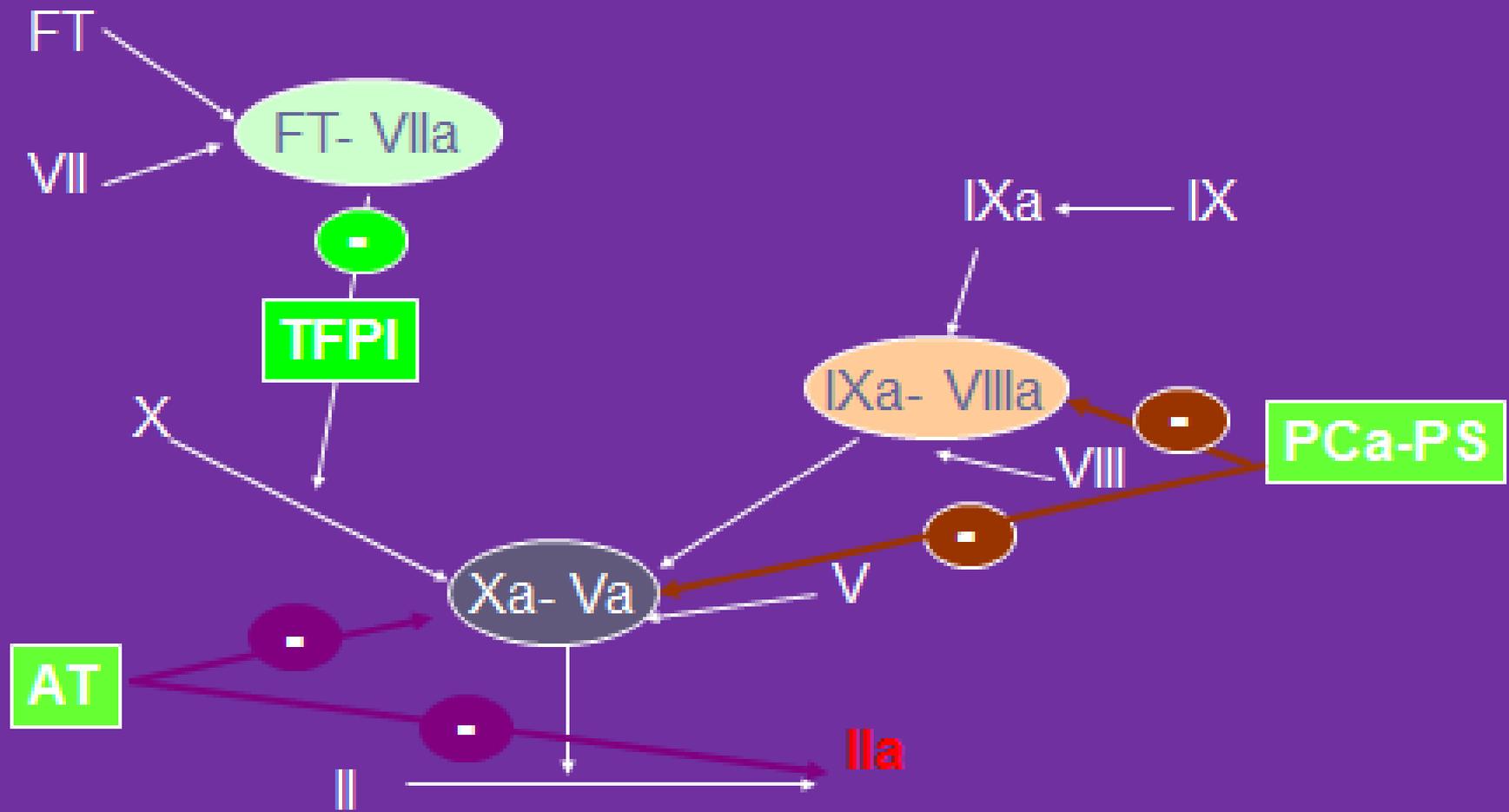
2-**PC et PS** : synthétisées par le foie (vit.K++) ; la PC est activée par la Thrombomoduline

-La PCa est un inhibiteur très puissant du Va et du VIIIIa  
Dans cette réaction,la PS sert de cofacteur

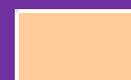
3-**TFPI** : inhibe le Facteur Tissulaire ( FT )

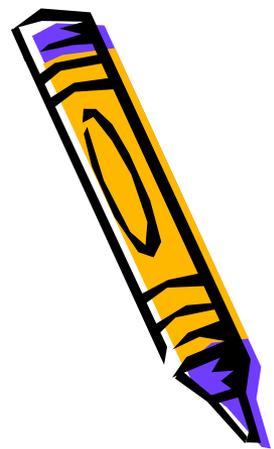


# Régulation de la coagulation

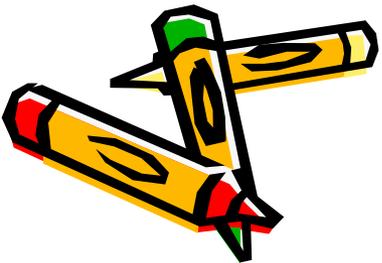


 Complexe prothrombinase

 Complexe tenase



- Les déficits en l'un de ces 3 facteurs sont causes de thromboses à répétition



# La coagulation

1



3



4



2



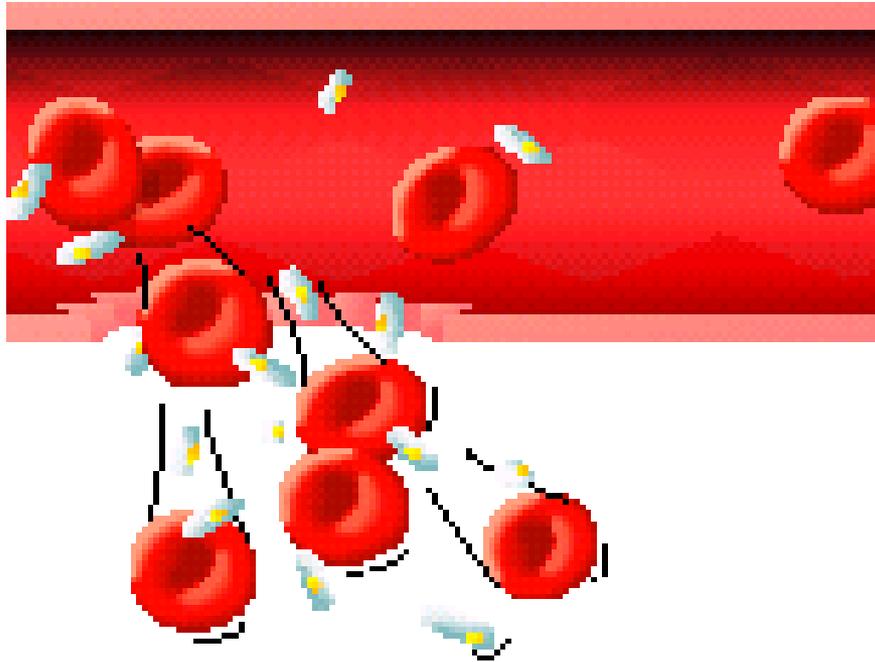
5



# *La coagulation en cas d'hémophilie*

---

1



3



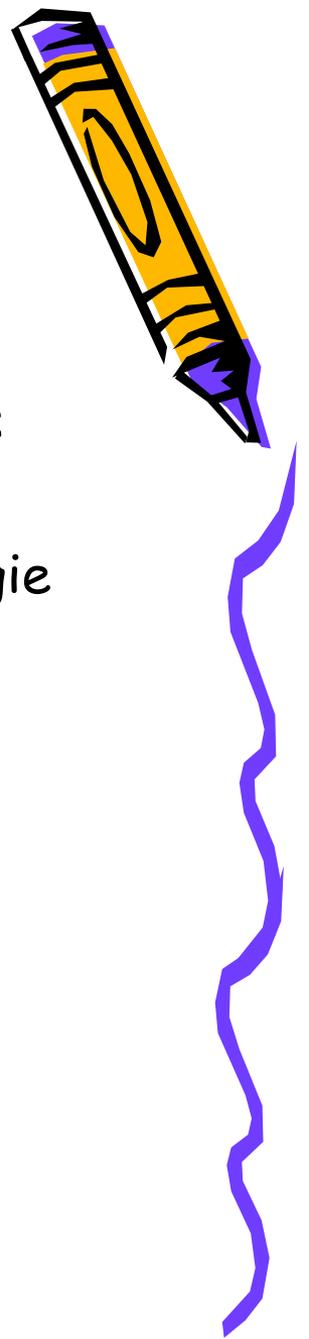
2



4



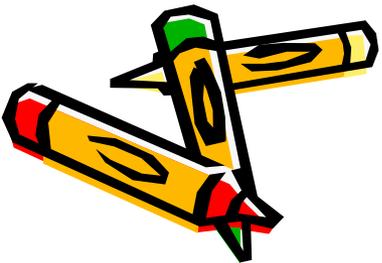
# EXPLORATION DE L'HEMOSTASE



1-L'étape Clinique apporte des informations importantes :

-Interrogatoire : à la recherche d'ATCD d'hémorragie dans la famille

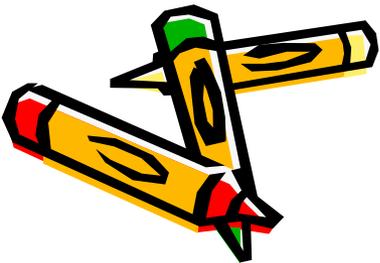
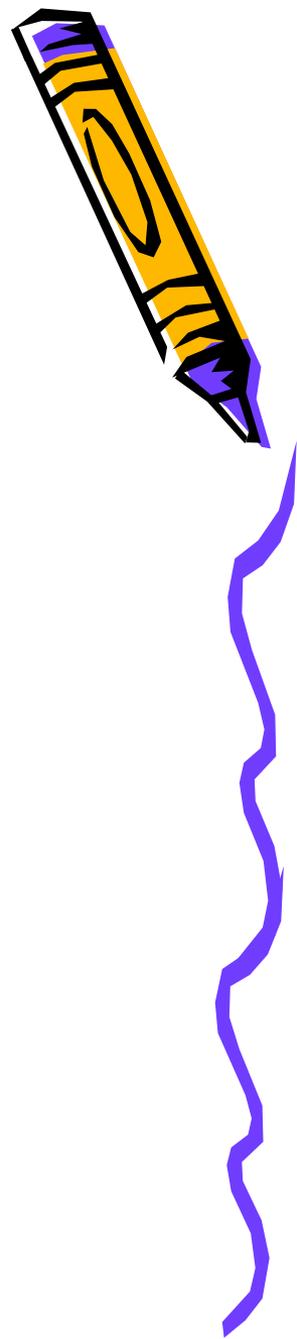
-L'examen Clinique : le type d'hémorragies oriente (hémostase primaire ou coagulation)



## 2-Exploration de l'hémostase primaire:

- Temps de Saignement
- Numération Plaquettaire
- Résistance Capillaire
- Dosage du Facteur Willebrand
- Dosage du Fibrinogène
- Exploration des fonctions plaquettaires :
  - PFA
  - Adhésion
  - Libération
  - Agrégation

## 3- Exploration de la Coagulation :



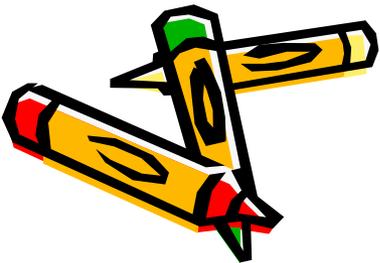
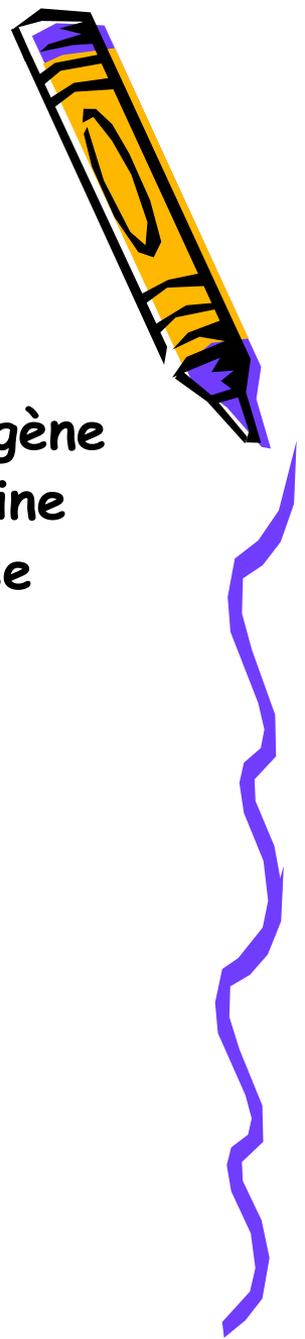
a-Exploration de la voie Endogène : TCA

b-Exploration de la voie Exogène : TQ ou TP

c- Exploration de la voie finale :  
Dosage du Fibrinogène  
Temps de Thrombine  
Temps de reptilase

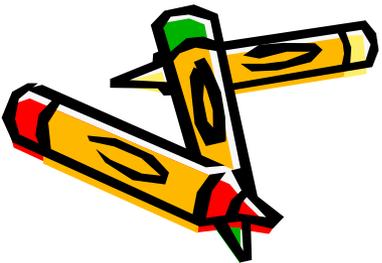
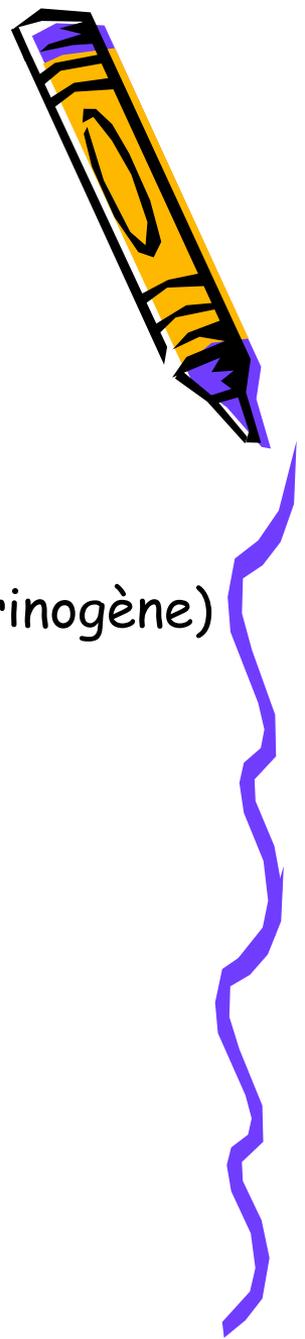
d- dosage des facteurs de la coagulation :

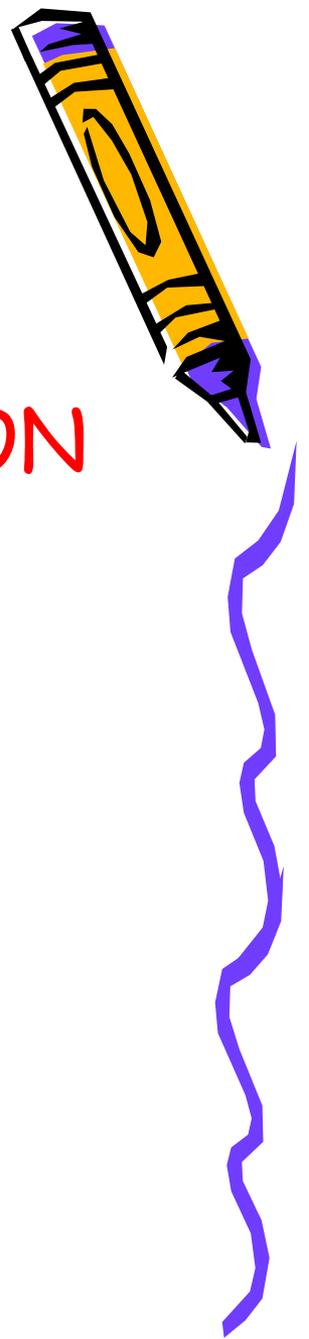
II,V,VII,**VIII**,**IX**,X,XI,XII et XIII



## 4-Exploration de la fibrinolyse

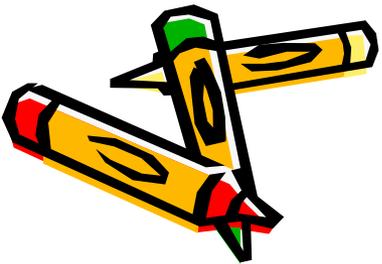
- test de lyse des euglobulines
- dosage du t-PA
- dosage du PAI (inhibiteur du tPA )
- dosage du plasminogène
- dosage de la plasmine
- dosage des PDF (produits de Dégradation du fibrinogène)
- dosage des D-dimères (produits de Dégradar  
de dégradation de la fibrine)
- recherche de complexes solubles



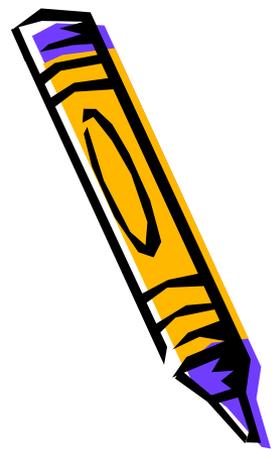


BIEN SUR IL N'EST PAS QUESTION  
DE TOUT FAIRE !!!!!!!

IL FAUT..... RAISONNER

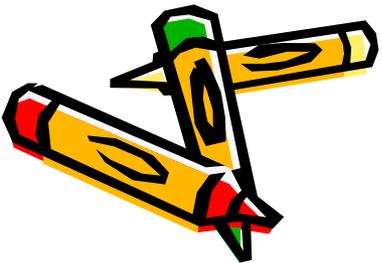


## □ Exploration de la Coagulation

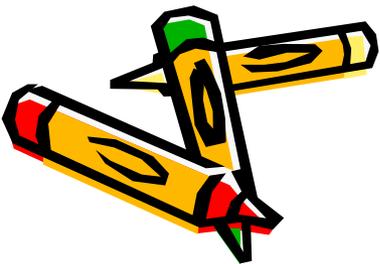


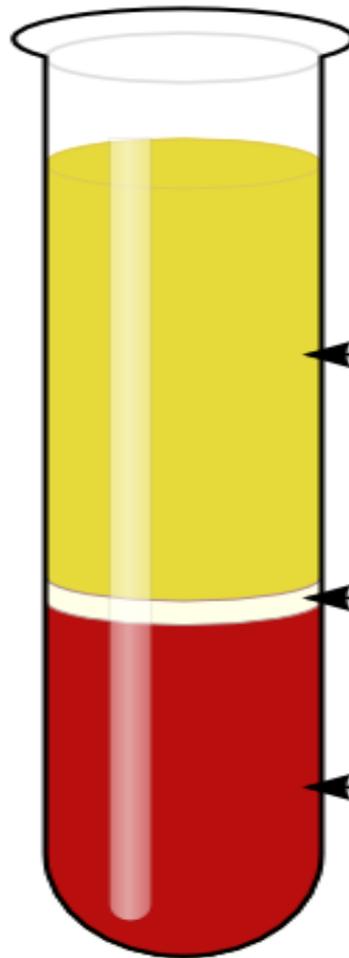
### -Étape Pré Analytique :

- prélèvement par ponction veineuse franche avec garrot peu serré
- patient au repos depuis au moins 10 minutes , pas forcément à jeun
- prélèvement à l'aiguille ou avec tubes sous vide ( si possible , éviter la seringue)



- anticoagulant : citrate trisodique à 3,8%  
( pas d'EDTA ni héparine)
- respecter les proportions : 1v d'AC pour 9v de sang  
( Très important )
- agiter immédiatement par retournements successifs
- faire les tests au maximum 4h après le prélèvement

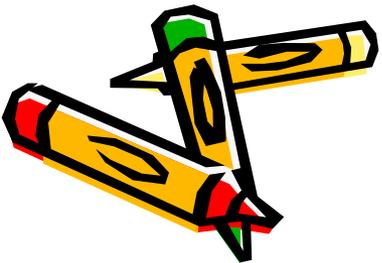
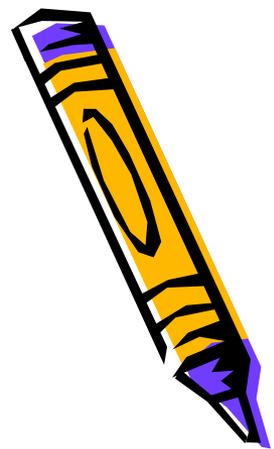




**Plasma  
(55%)**

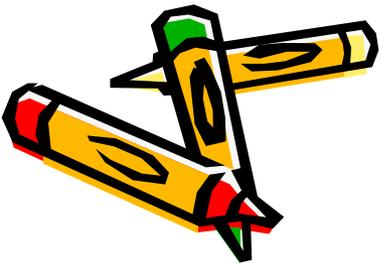
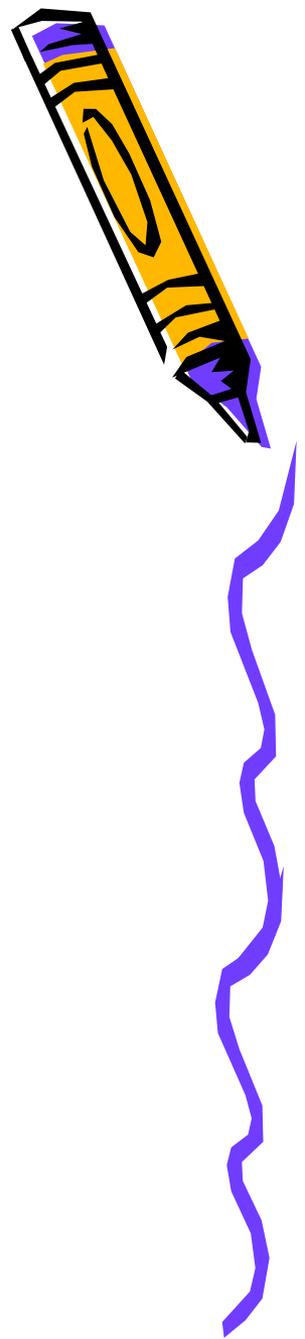
**Plaquettes et  
globules blancs  
(moins de 1%)**

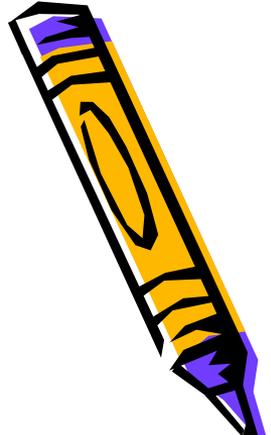
**Globules rouges  
(45%)**



## En première intention :

- TCA
- TQ
- dosage du fibrinogène



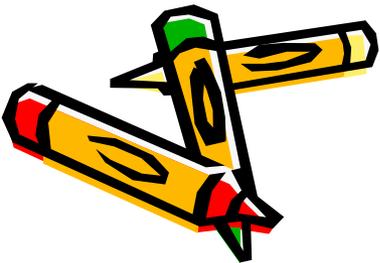


1- **TCA** : plasma (malade)+céphaline activée+Ca<sup>++</sup> dans un tube en verre

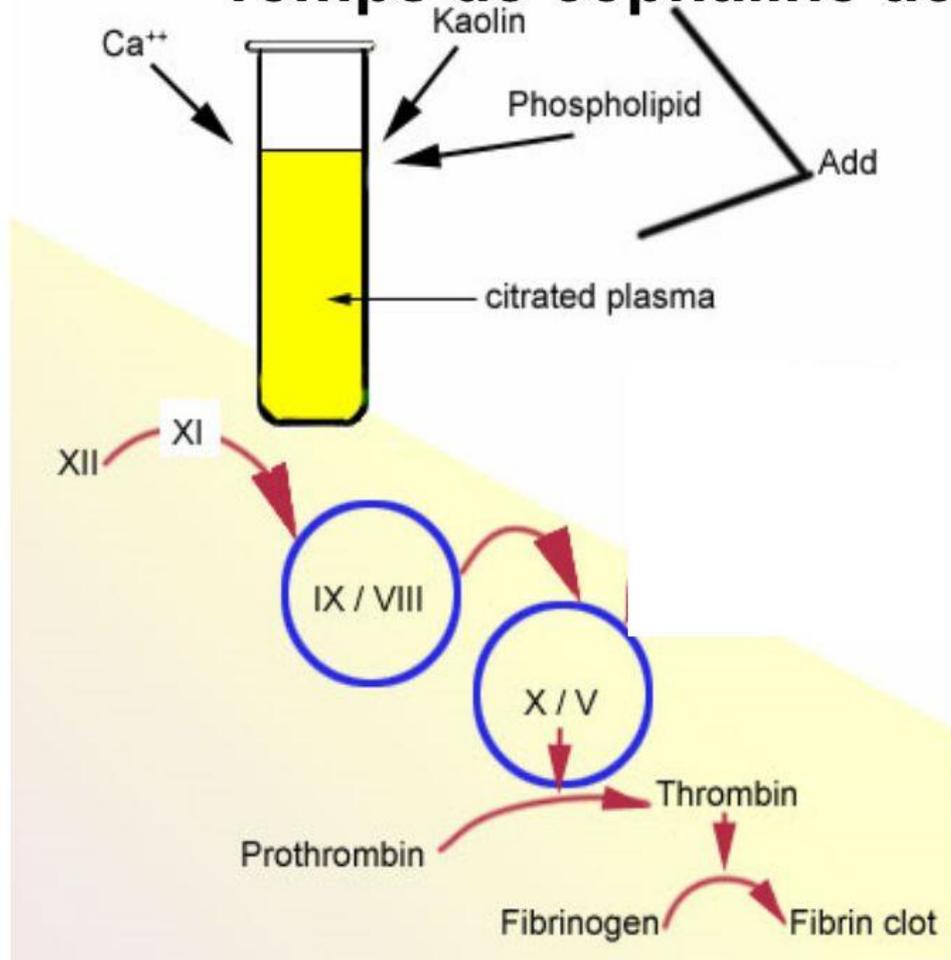
mesurer temps nécessaire à coagulation =30-35 secondes

**temps pathologique si >10sec entre malade et témoin**

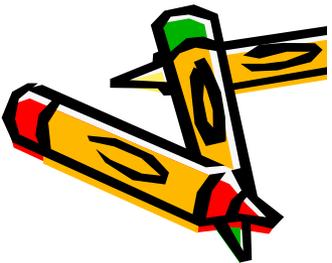
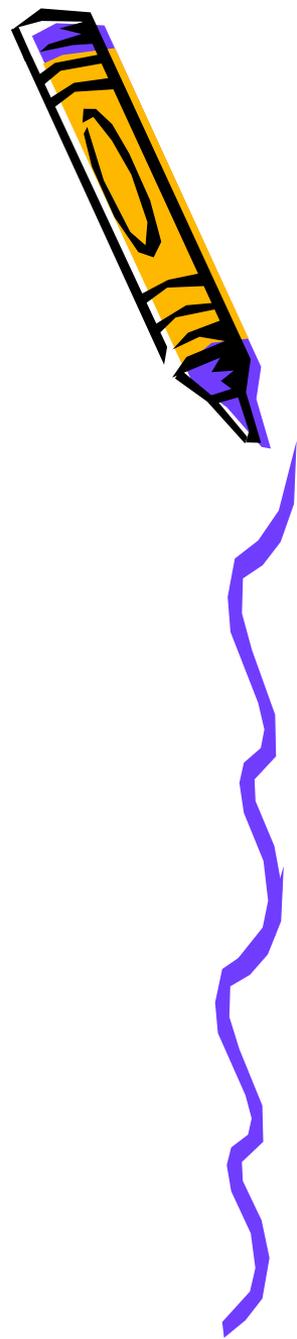
**-Le TCA explore les facteurs II,V,VIII,IX,X,XI,XII**

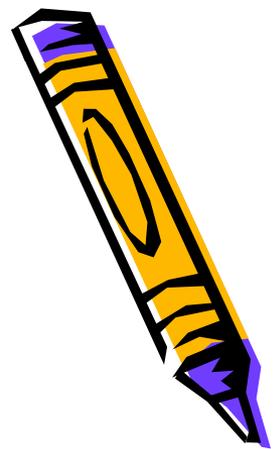


# Temps de céphaline activé



- XII
- XI
- IX
- VIII
- X
- V
- II
- I



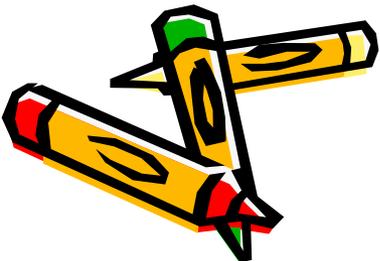


2-TQ: plasma(malade)+thromboplastine+Ca+

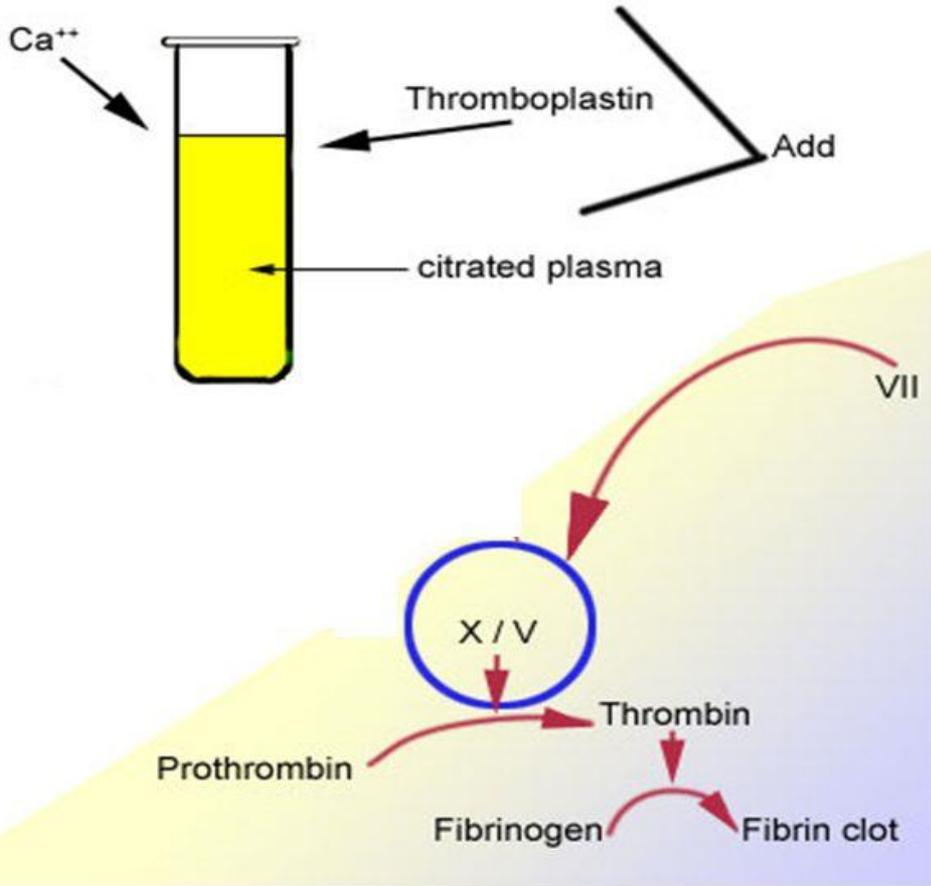
mesurer le temps nécessaire à la coagulation = 12 - 14  
secondes

temps pathologique si > 2sec entre malade et témoin

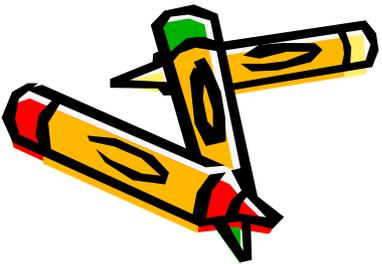
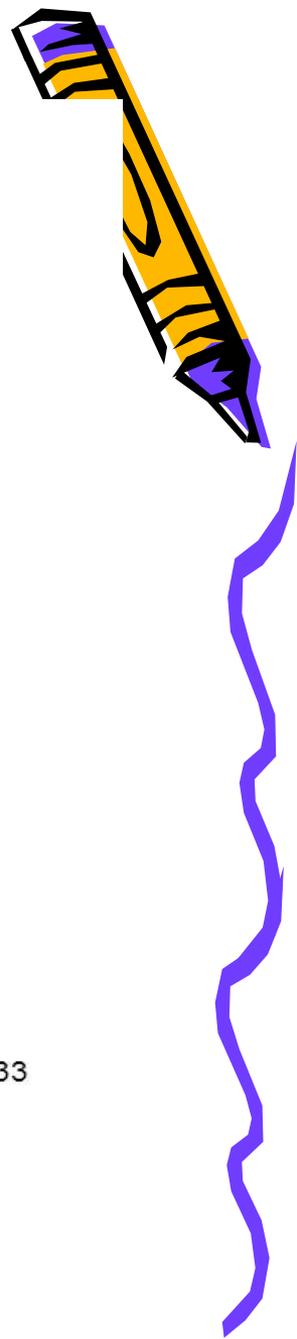
-Le TQ explore les facteurs II , VII , V , X

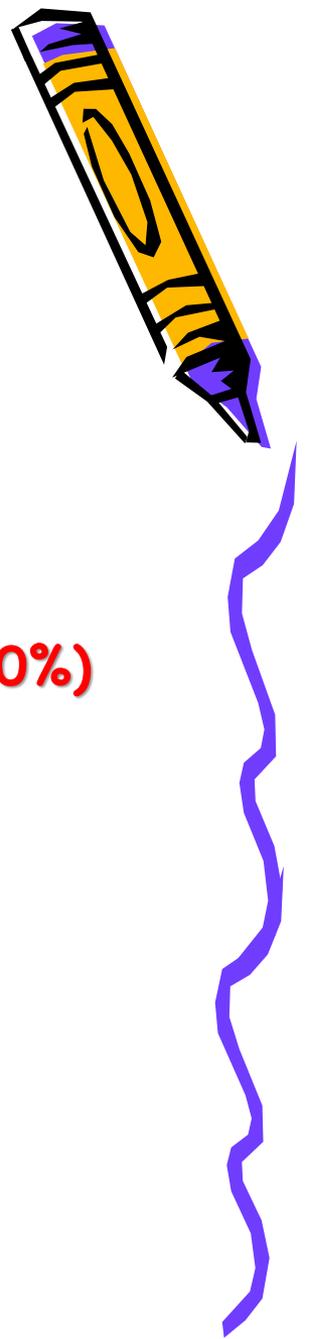


# Temps de Quick (TP)

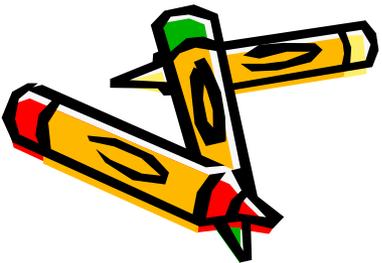


VII  
X  
V  
II  
I





NB: Le TQ peut également être exprimé en TP (N:70-100%)



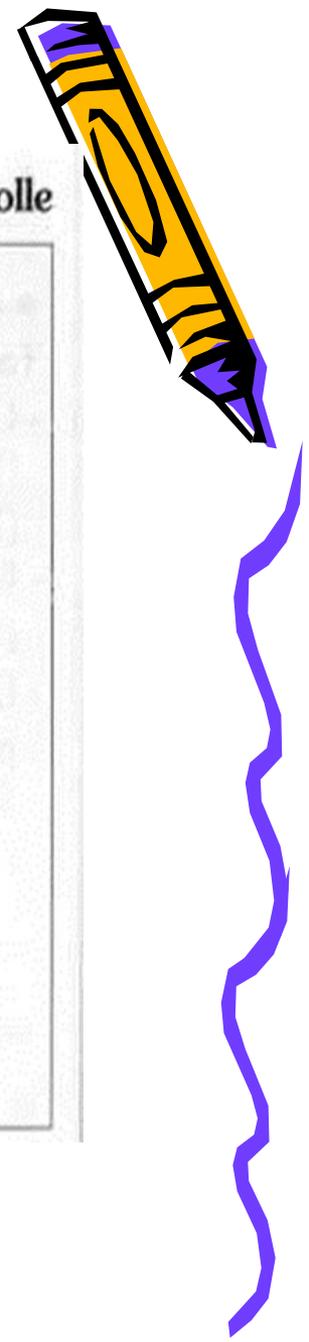
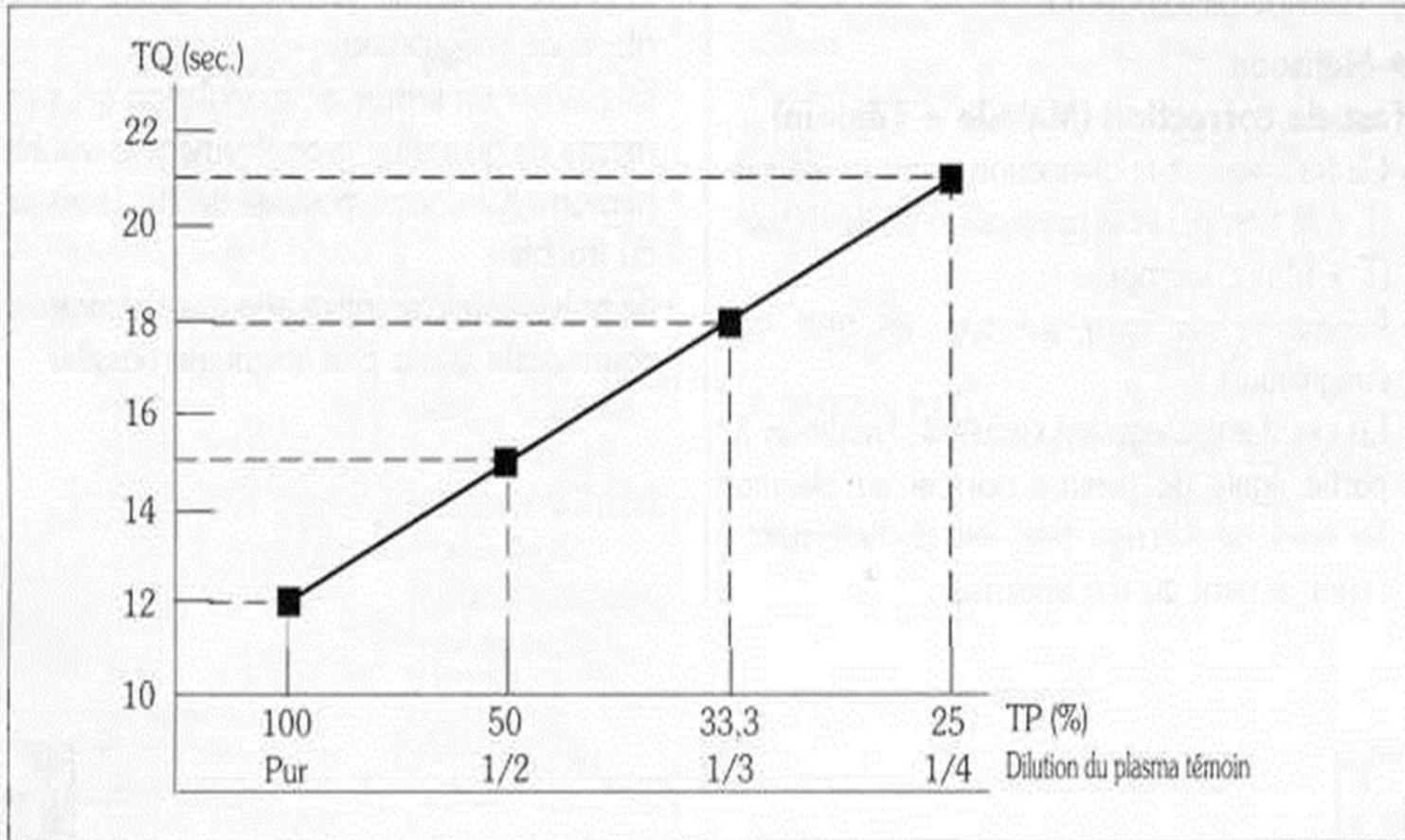
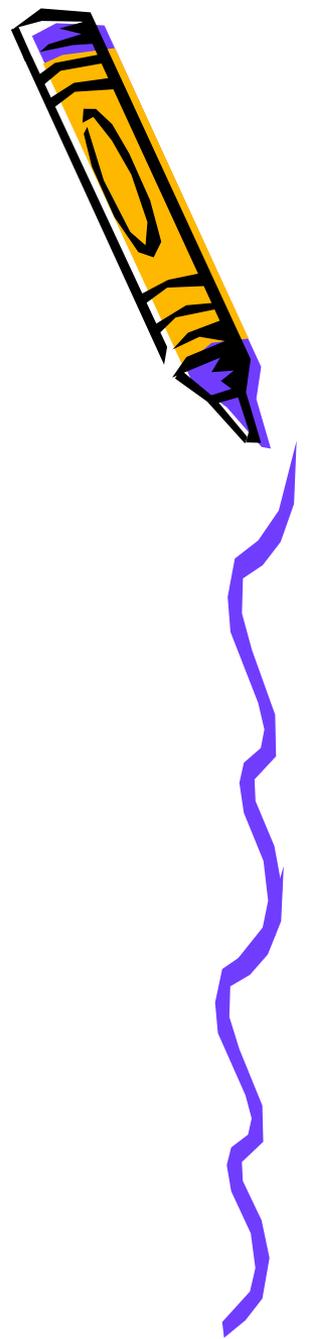
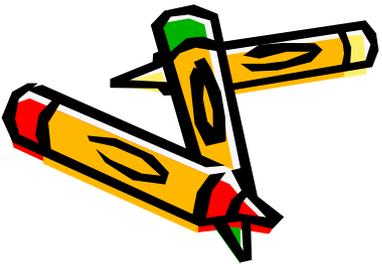


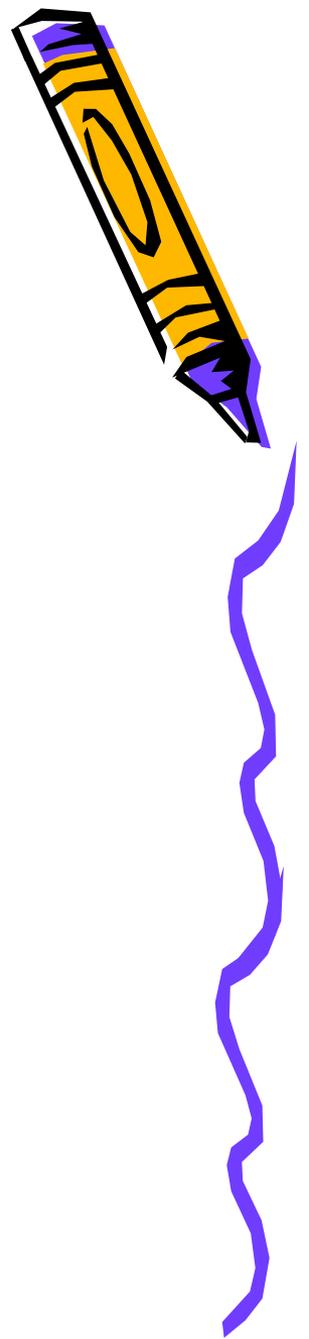
Tableau 1 : conversion du TO en TP - Exemple de droite d'étalonnage, dite de Thyvolle



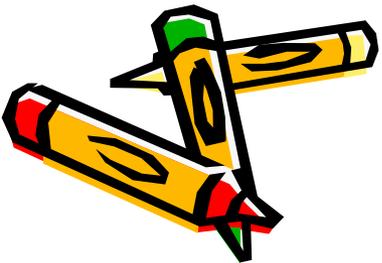


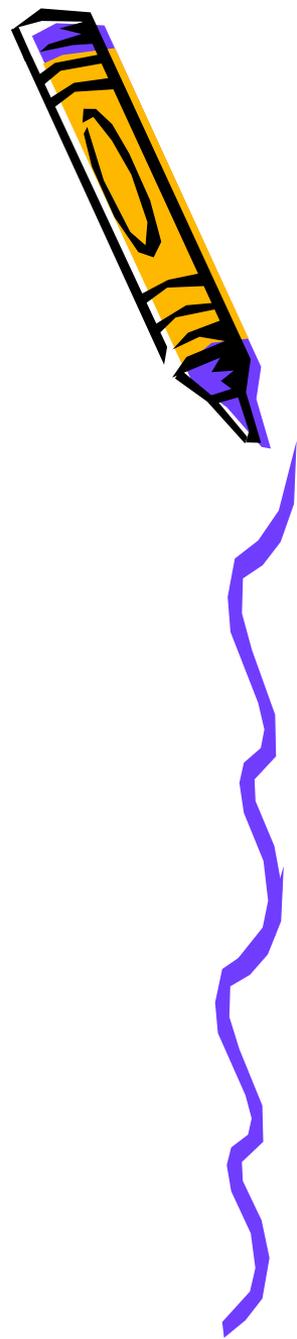
3- Dosage du fibrinogène : 2 à 4g/L





- Comment interpréter un Bilan d'Hémostase ?



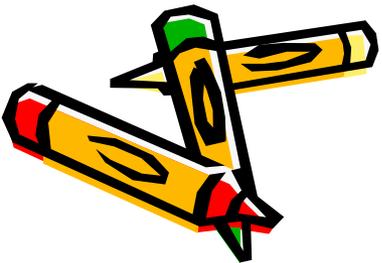


## -Fibrinogène Normal :

-TCA allongé et TQ normal : doser VIII , IX , XI , XII

-TCA normal et TQ allongé : doser VII

-TCA et TQ allongés : doser II , V , X



Fibrinogène normal, TCA et TQ allongés, II, V, X normaux

1 - Temps de thrombine : plasma malade + thrombine + Ca<sup>+</sup>

mesurer temps nécessaire à la coagulation  
(15-20sec)

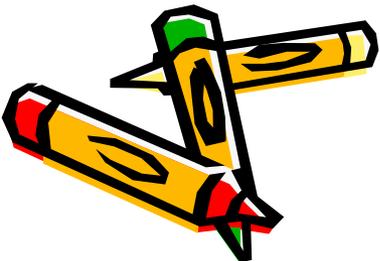
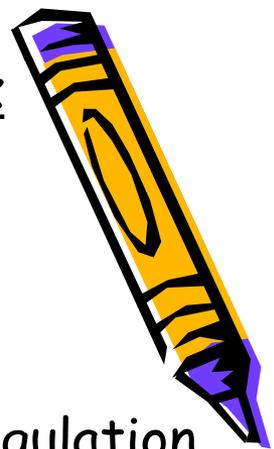
Si > 5 sec entre malade et témoin :

2 situations :

-anticoagulant (de type antithrombine)

ou

-problème de polymérisation du fibrinogène  
(Dysfibrinogénémies)

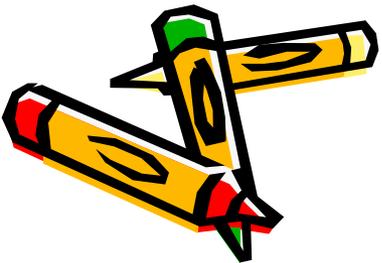
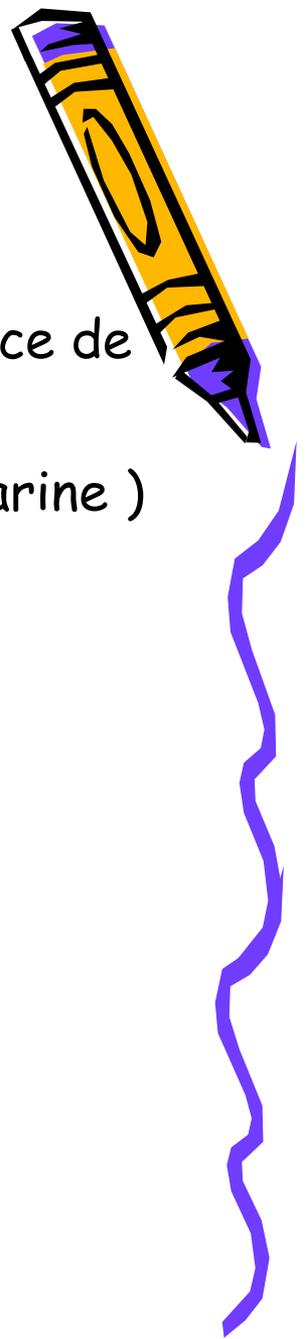


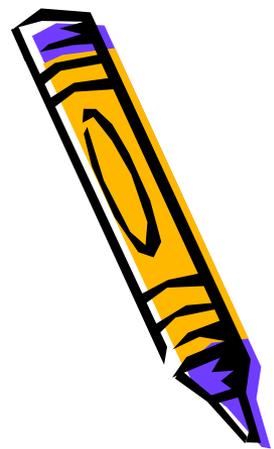
Pour y répondre on fait :

## 2-Temps de Reptilase :

Exactement identique au TT mais Reptilase à la place de la thrombine :

- si **TT allongé** et TR normal : Anticoagulant ( Héparine )
- si **TT allongé et TR allongé** : Dysfibrinogénémie (constitutionnelle ou acquise)





## □ Exploration de la Fibrinolyse

### -Temps de lyse des Euglobulines :

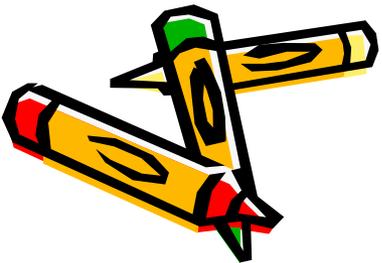
Plasma du malade  
dissolution

Principe : caillot artificiel plongé dans

Mesurer le temps nécessaire à la

-N > 3 heures

-si < 3 heures **fibrinolyse pathologique**





Il faudra alors explorer tous les facteurs de la fibrinolyse

-les activateurs (**tPA**)

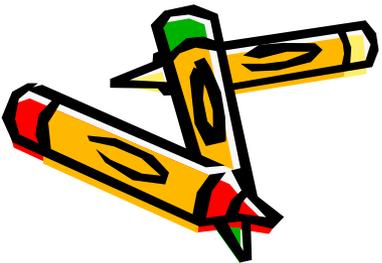
-les inhibiteurs (**PAI**)

- « les acteurs » ; le **plaminogène** et son produit de transformation la **plasmine**

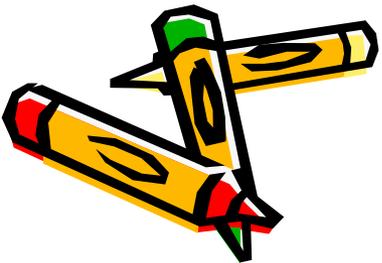
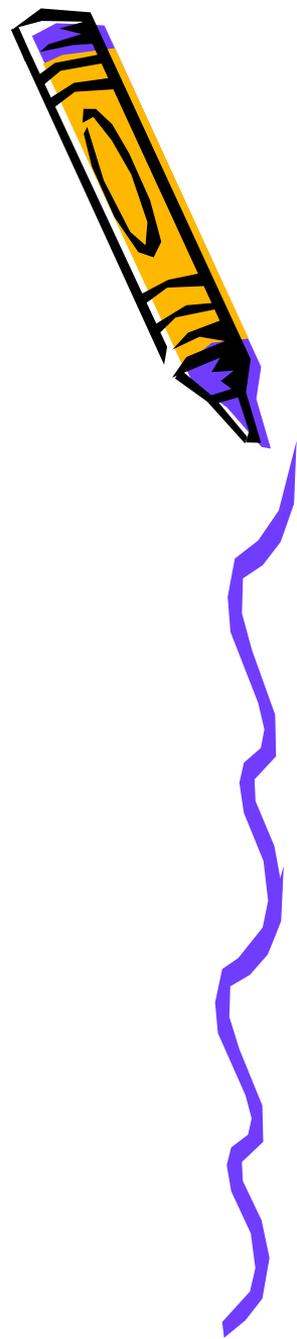
-les produits qui accompagnent la destruction du fibrinogène (PDF)

-les produits qui accompagnent la destruction de la fibrine (Ddimères)

-les complexes solubles



# CAS CLINIQUES



## CAS CLINIQUE N°1



-Patient de 28 ans atteint de trisomie 21 et d'une cardiopathie congénitale fait un bilan pré-opératoire avant chirurgie cardiaque

-TP = 42%

-Quel(s) examen(s) ajouteriez-vous ?

-Aucun ?

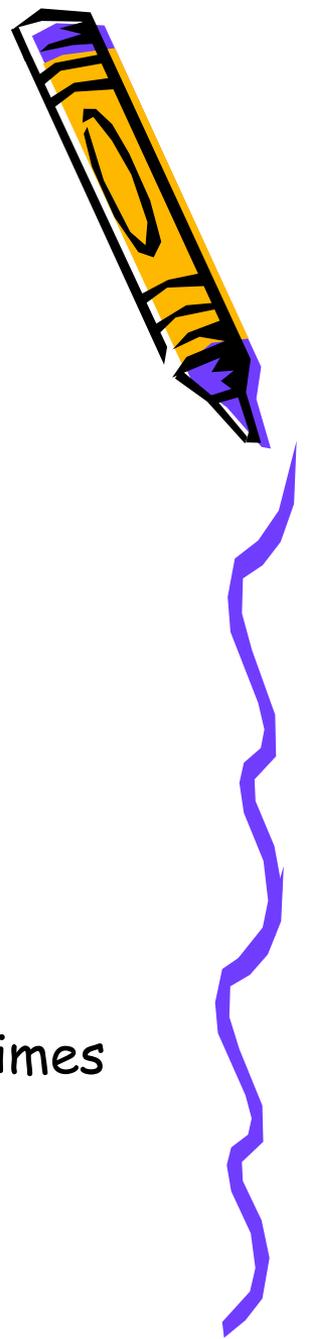
-TCA ?

-Fibrinogène ?

-Dosage des facteurs II , V , VII , X ?



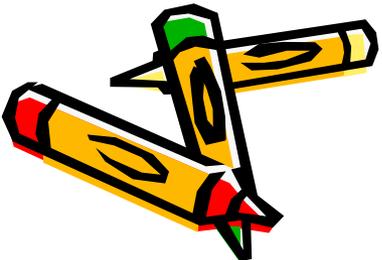
## CAS CLINIQUE N°2



- Garçon âgé de 18 mois
- A fait une chute de sa hauteur la veille à 18 heures
- Présente :
  - une pâleur cutanée et muqueuse
  - une limitation des mouvements articulaires , surtout au niveau du genou droit qui est enflé
  - des ecchymoses du membre inférieur droit
  - des hématomes de la fesse

### Antécédents :

- Multiples hématomes après traumatismes minimes
- circoncision non faite
- Neveu décédé à la suite d'une circoncision
- une sœur indemne



- Biologie :

FNS :

GR= 3 Millions - Ht = 29% - Hb = 9g/dl

GB = 6400 ( 40-2 -0 - 3 - 55 )

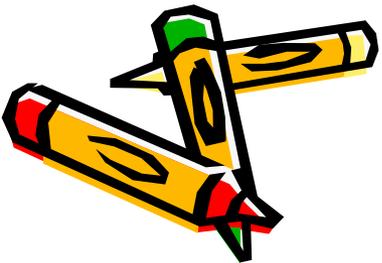
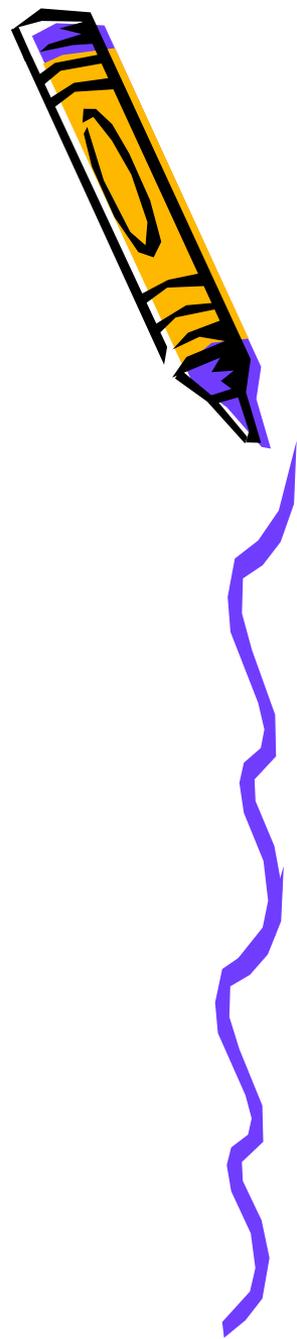
Plaquettes = 328..000

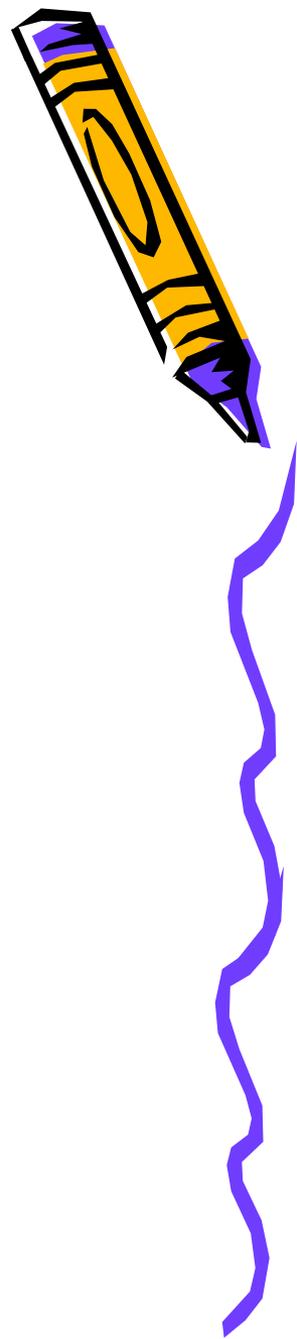
TS ( IVY-SIMPLATE ) = 8 minutes

TCA = 210 " ( T = 30" )

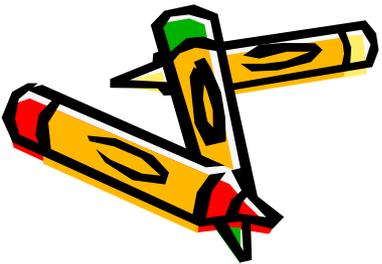
TQ = 13" ( T = 12" )

Fibrinogène = 3g/l

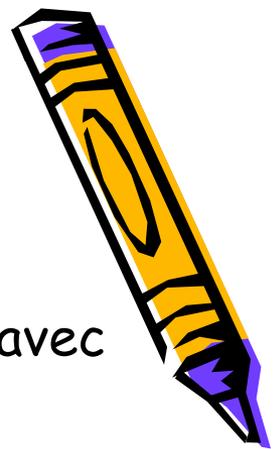




- FVIII : 1%
- Hémophilie A sévère



## CAS CLINIQUE N°3



- Jeune patiente de 22 ans
- Hospitalisée en ORL pour épistaxis de grande abondance avec pâleur cutanée et muqueuse intense

-L'interrogatoire révèle une consanguinité des parents au 1<sup>er</sup> degré

### -Antécédents :

- hémorragies après avulsions dentaires
- ménométrorragies sévère
- hémorragie chez son frère après circoncision



- Biologie :

FNS :

GR = 2,8 Millions - Ht = 18% - Hb = 5g/dl

GB = 7800/mm<sup>3</sup> ( 65 - 0 - 0 - 3 - 32 )

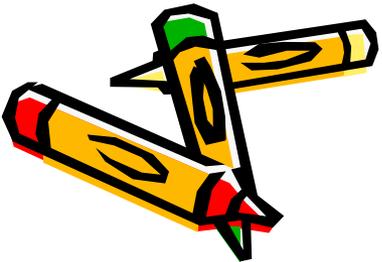
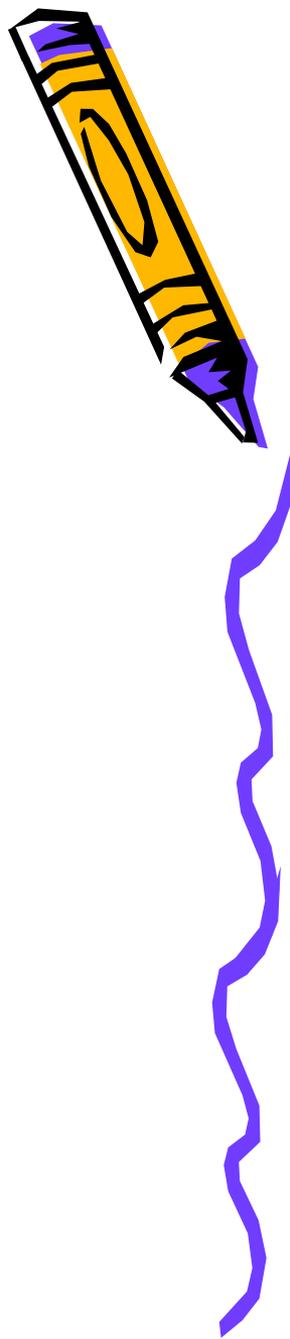
Plaquettes = 415.000

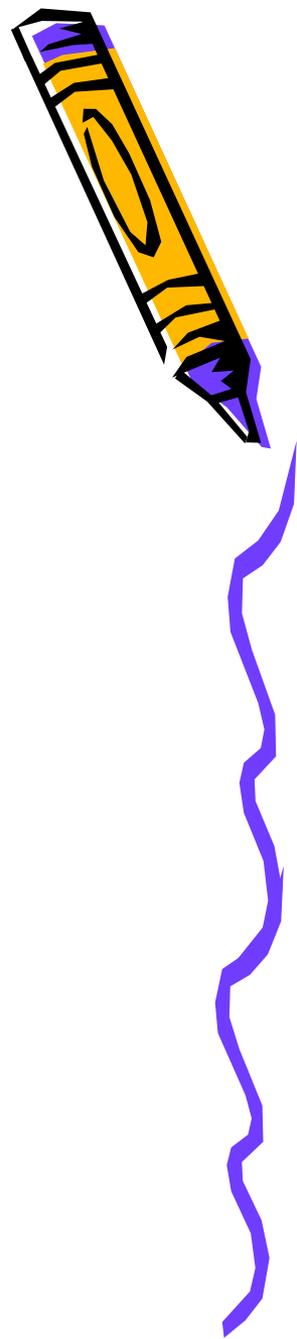
TS ( IVY-SIMPLATE ) = 9 minutes

TCA = 35" ( T=30" )

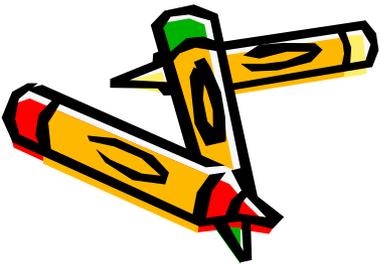
TQ = 40" ( T= 12" ) - TP = 25%

Fg = 2g/l

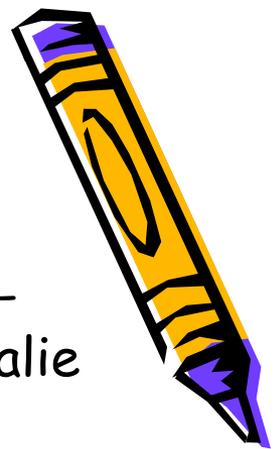




- F VII = 15%
- Déficit Constitutionnel

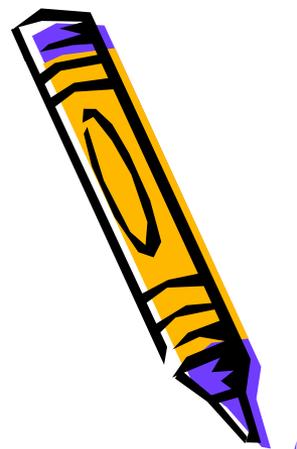


## CAS CLINIQUE N°4

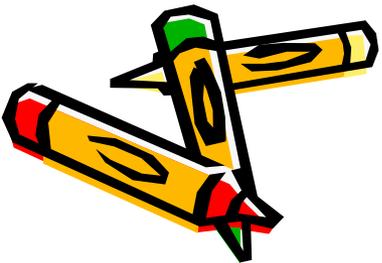


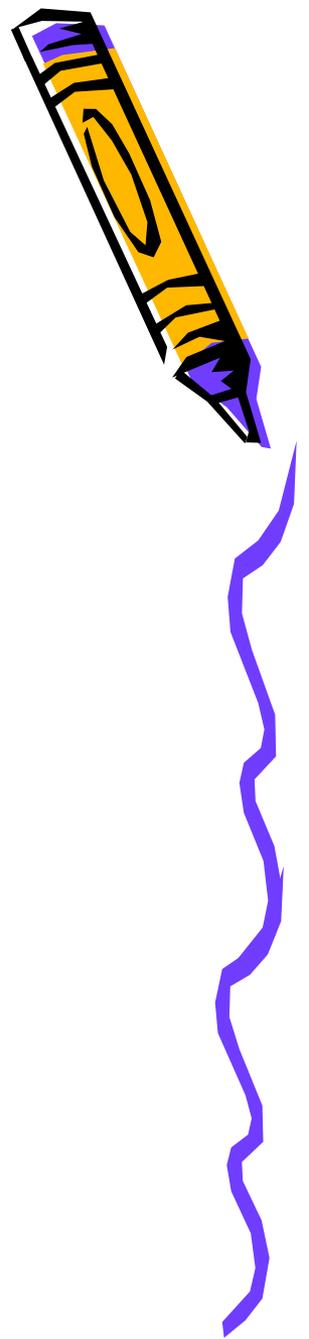
- -Monsieur H.M, 45ans , agriculteur , originaire de Mostaganem et y demeurant , est hospitalisé en Gastro-Entérologie pour investigation d'une Hépatosplénomégalie
- Antécédents Médicaux : Hépatite C découverte il y a 5 ans
- Examen Endoscopique : Présence de varices oesophagiennes
- Bilan de Coagulation :
  - TCA = 70 " ( T= 30" )
  - TQ = 30" ( T= 12" )
  - Fibrinogène : 1,2g/l





- 1- Interprétez ce bilan
- 2-A quel(s) diagnostic(s) pensez-vous ?
- 3-Que demandez-vous pour confirmer votre diagnostic ?



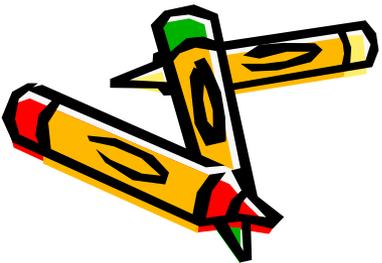


-F II : 22%

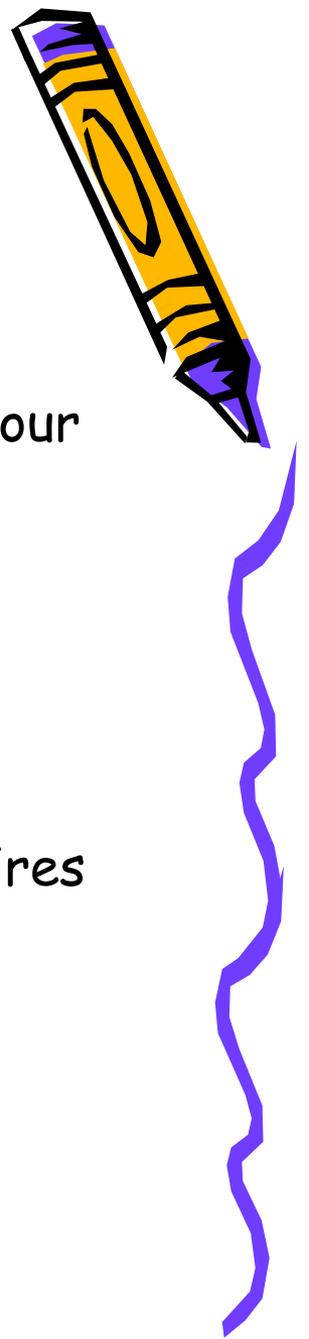
-FV : 30%

-F X : 25%

Insuffisance Hépatique

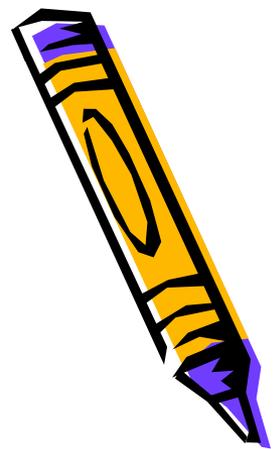


## CAS CLINIQUE N°5



- Femme de 28 ans suivie depuis de nombreuses années pour ménorragies
- PCM avec manifestations fonctionnelles d'anémie
- Reste de l'examen clinique sans particularités
- Antécédents :
  - Hémorragies tardives après avulsions dentaires
  - Mauvaise cicatrisation après une plaie





- Echographie Pelvienne sans particularités

- FNS :

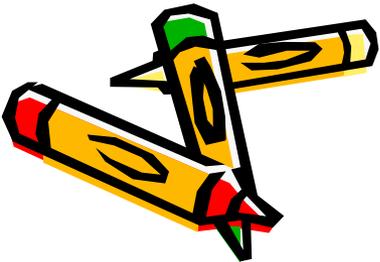
GR = 3 - Ht = 24% - Hb = 7 - VGM = 80 - CCMH = 0,29

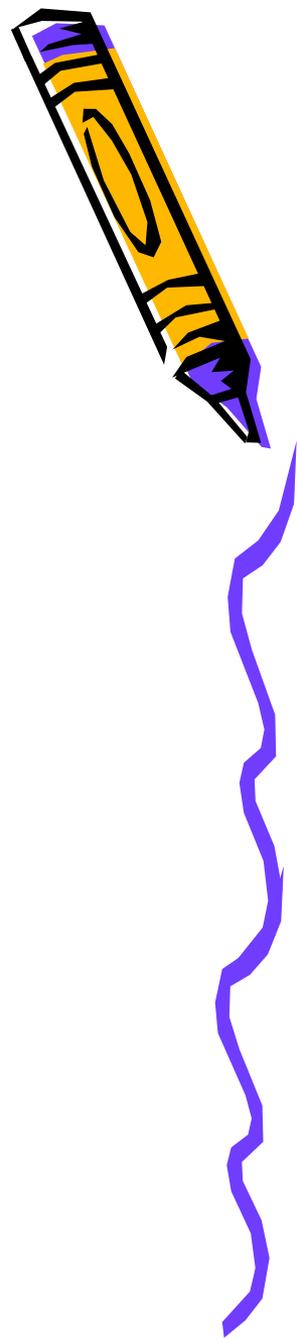
GB = 8000 ( Répartition normale )

Plaquettes = 180.000

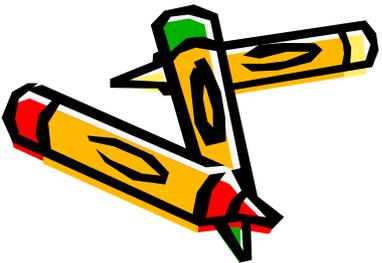
-Groupage = A+

-TCA = 32 " ( T= 30 ) - TQ = 13" ( T=12" ) - TP=90% - Fg=3g/l

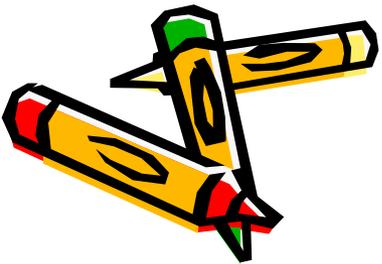
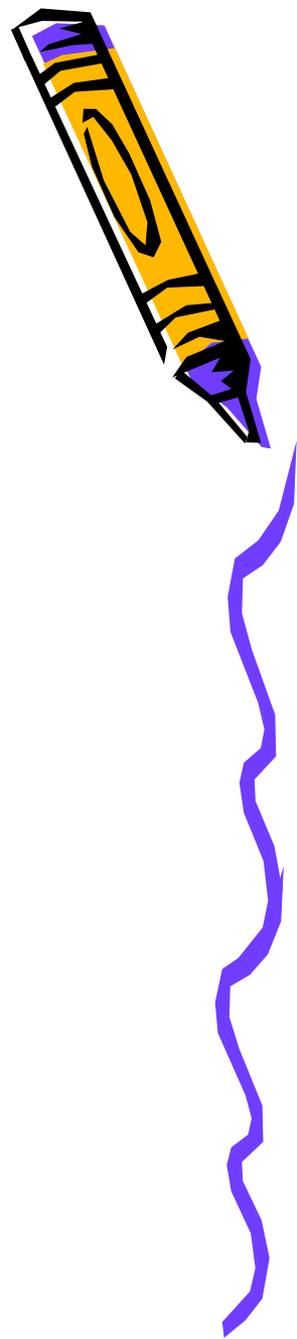




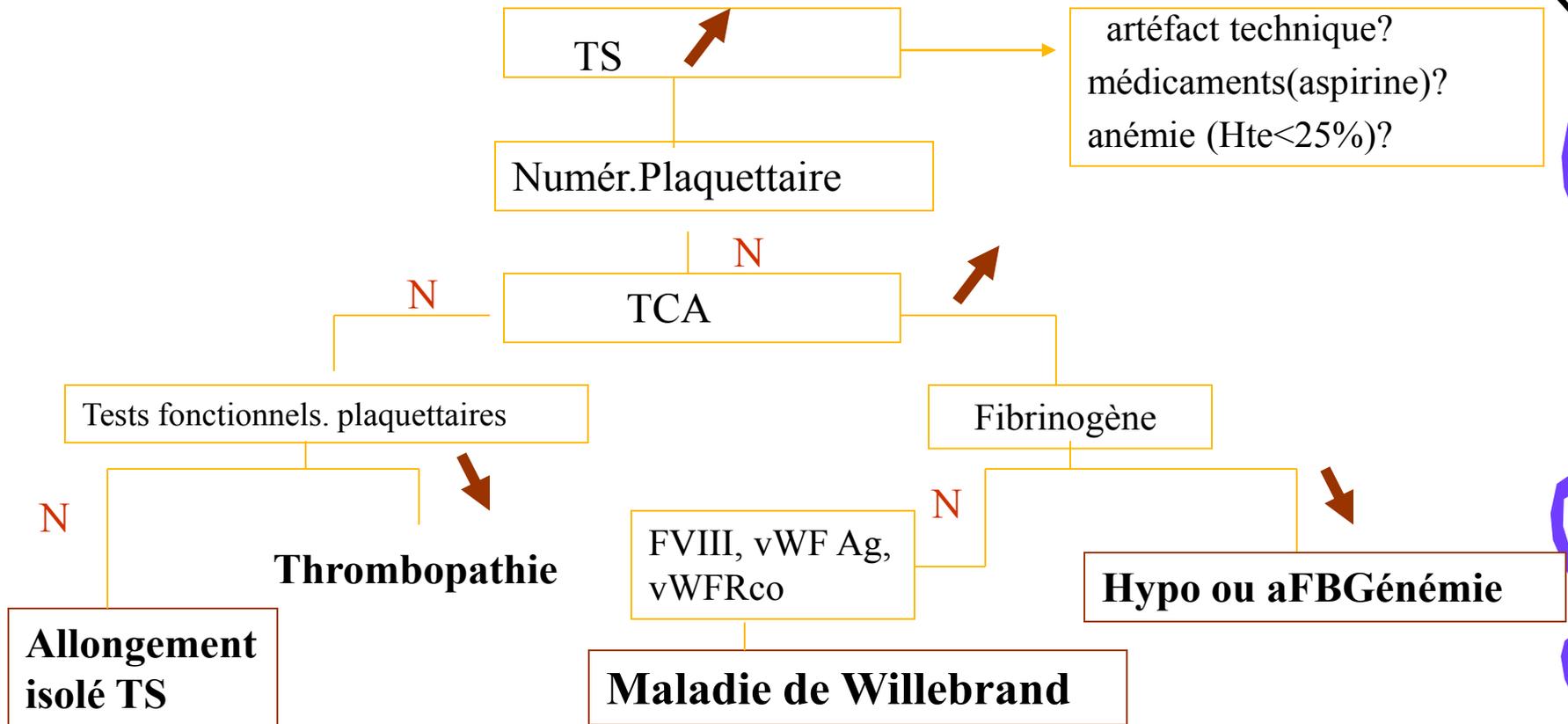
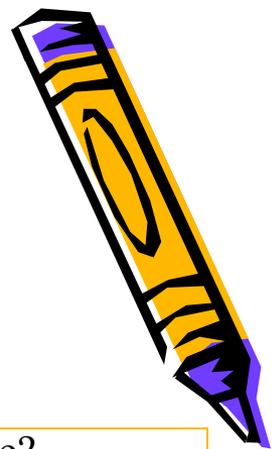
- NB = Le caillot se redissout dans le tube
- A quoi pensez-vous et sur quels arguments ?
- Que recherchez - vous ?



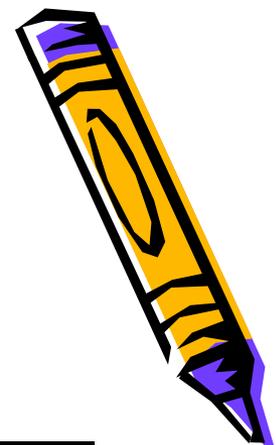
- FXIII = 1%



# Diagnostic d'un allongement de temps de saignement



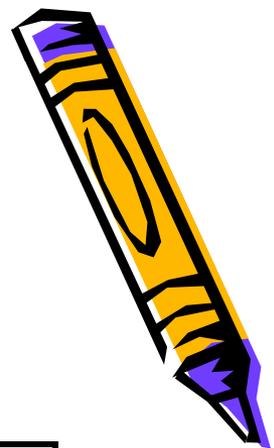
# Diagnostic d'un allongement du temps de Quick



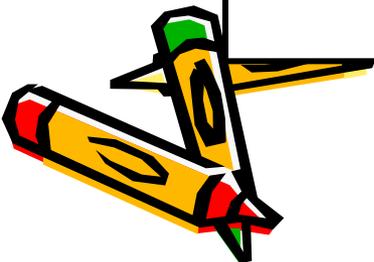
TQ allongé	
Déficits congénitaux en facteurs de coagulation: II, V, VII, X, I	rares
Déficits acquis en facteurs de coagulation:	fréquents
Atteinte hépatique	(V)
Avitaminose K	(II, VII, X)
Traitement par les AVK	(II, VII, X)
Amylose	(X)
Synthèse hépatique réduite, CIVD, fibrinolyse primitive	(I)
Cirrhose décompensée, hépatome	(I, dysfibrinogénémie acquise)
ACC de type lupus (anti prothrombinase)	
Héparine à doses curatives	



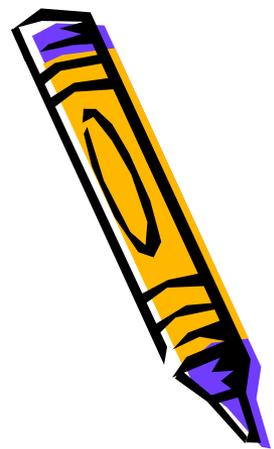
# Diagnostic d'un allongement du temps de céphaline activée



TQ normal	TQ allongé
Déficits congénitaux en facteurs de coagulation: VIII, IX, VWF XI, XII	Déficits congénitaux en facteurs de coagulation: X, V, II, I
	Atteinte hépatique
	CIVD
	ACC
	Traitement par les AVK
	Héparines (doses curatives)



# Exploration de la coagulation



- Temps de Quick (= voie extrinsèque)

mesure du temps de coagulation (recalcification) du plasma citraté en présence d'un excès de facteur tissulaire et de phospholipides procoagulants (réactif de laboratoire appelé « thromboplastine »).

Explore le complexe prothrombinique (facteurs **II**, **V**, **VII**, **X**), le **fibrinogène**, la présence d'une **antithrombine**.

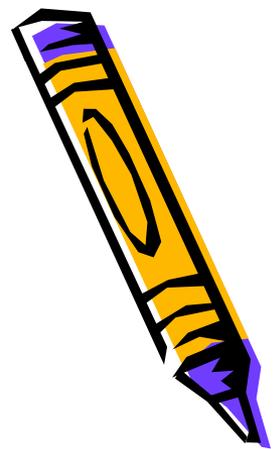
Est souvent exprimé en taux de prothrombine (TP)

Précautions: s'assurer

- du respect du rapport volume de citrate (1), volume de sang (9) (en cas d'anémie ou de polyglobulie)
- de l'absence de caillot
- l'absence d'héparine dans le tube ou la seringue ayant servi
- d'une conservation (<4 heures) du tube à temp. ambiante (le froid active le facteur VII et la chaleur une diminution des facteurs V et VIII)



# Exploration de la coagulation



- Temps de céphaline avec activateur (= voie intrinsèque)

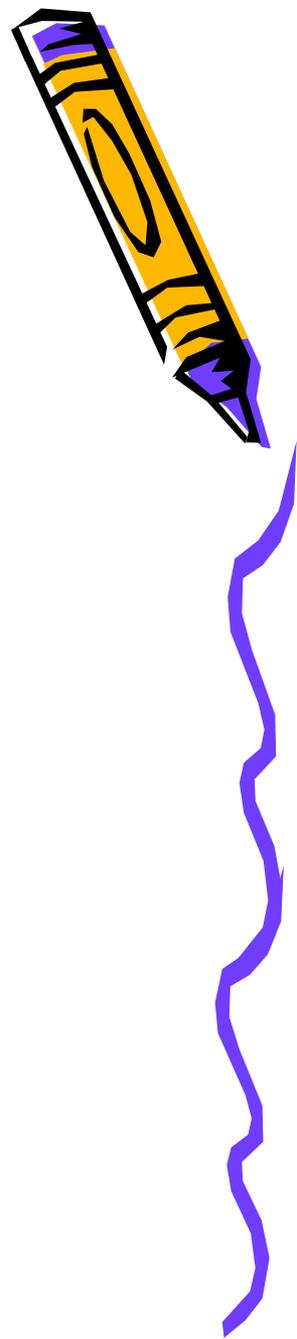
temps de coagulation d'un plasma déplaqueté recalcifié en présence de phospholipides et d'un activateur du système contact de la coagulation. La céphaline tient lieu de réactif phospholipidique (substitut plaquettaire de composition et de concentration variables)

C'est le seul test qui permet le dépistage des 3 affections hémorragiques les plus fréquentes:

**hémophilie A et B, maladie de Willebrand**

Toutefois, des déficits modérés en facteur VIII et IX n'allongent pas significativement le TCA et un TCA normal n'élimine pas une maladie de Willebrand.

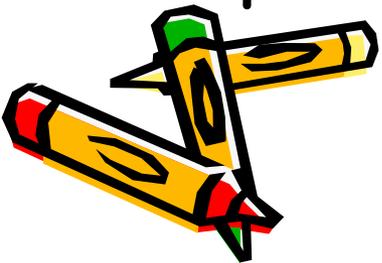


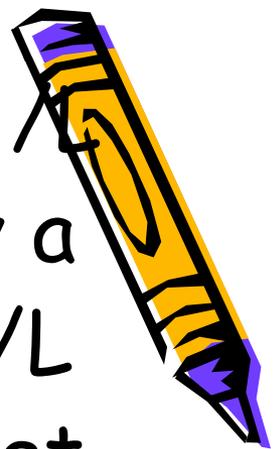


En résumé, en faisant un Temps de saignement (TS), une numération plaquettaire, un TCA, un TQ et un dosage du Fibrinogène, on peut localiser toutes les causes d'une hémostasie anormale.

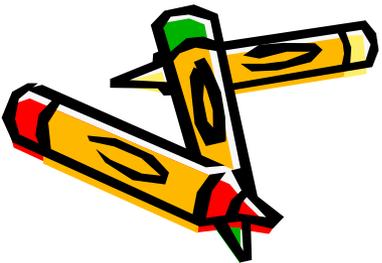
Pour Rappel :

-TS (IVY) : considéré comme pathologique si sup. à 10 minutes



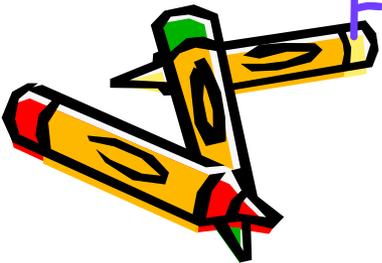
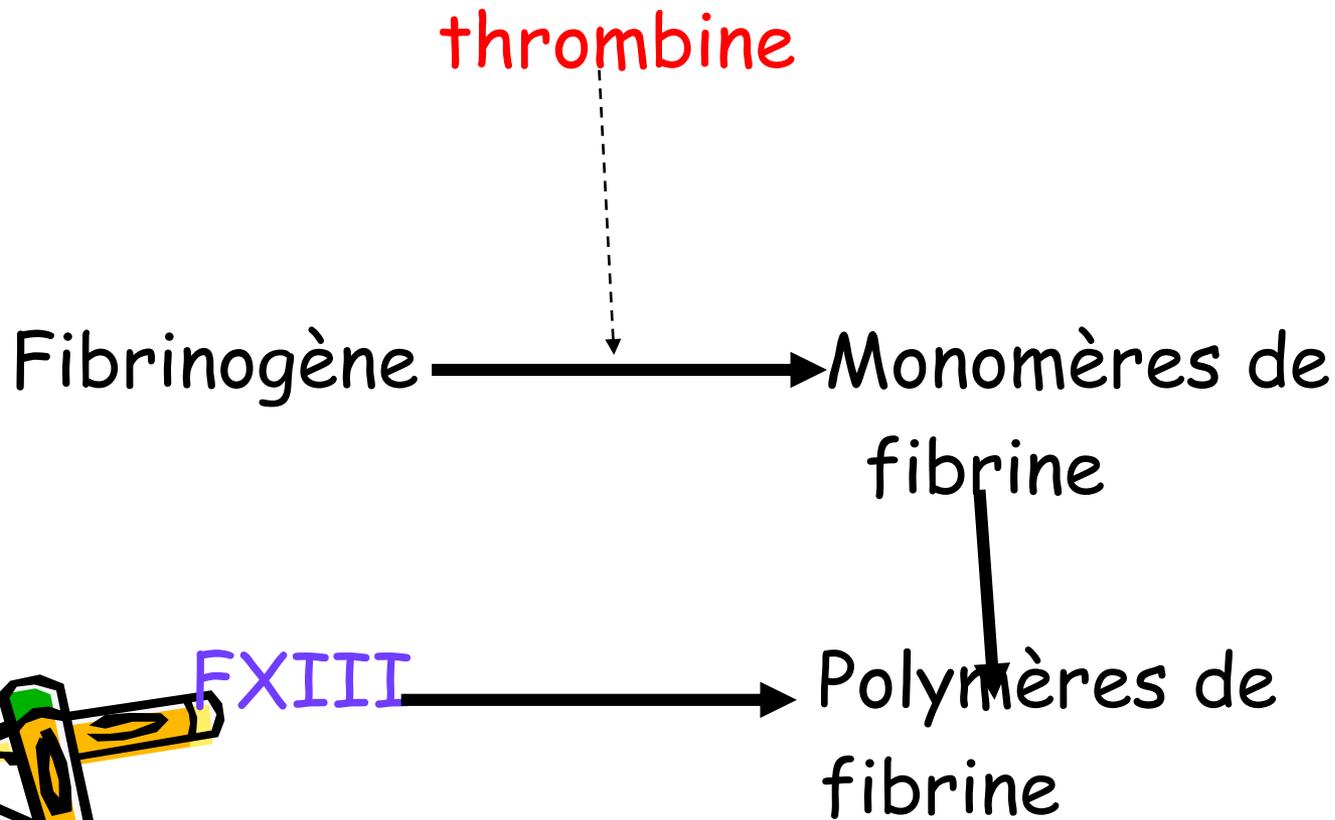
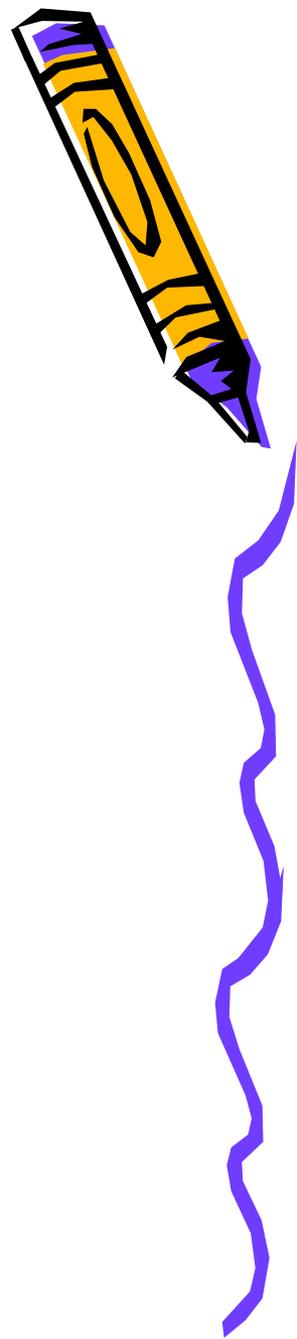


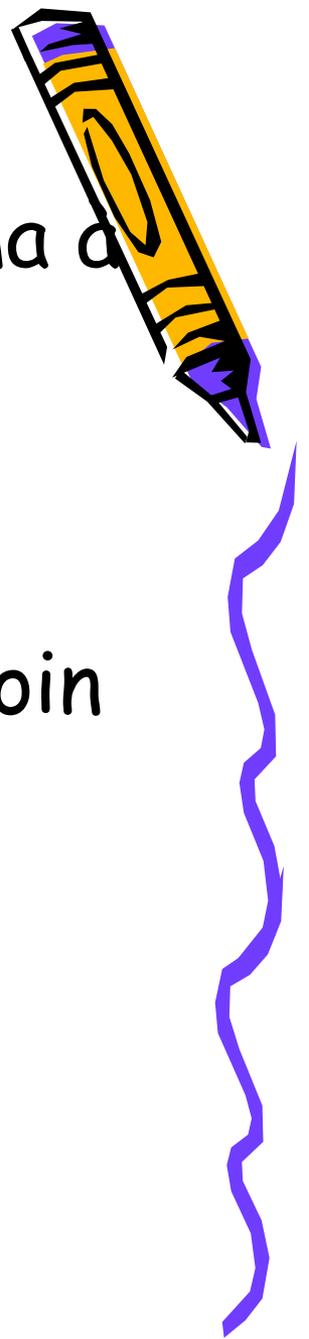
- Numération plaquettaire :  $150 \times 10^9$  et  $400 \times 10^9$  /L ; on considère qu'il y a Thrombopénie à partir de  $100 \times 10^9$  /L
- TCA : pathologique si entre malade et Témoin différence de plus de 10sec.
- TQ : pathologique si entre malade et témoin différence de plus de 5 sec ( ou TP inférieur à 70%)
- Fibrinogène : 2 à 4g/L



-Comment explorer la voie finale de la Coagulation ?

1-Temps de Thrombine :





- Réalisation :

ajouter de la thrombine à un plasma et tester

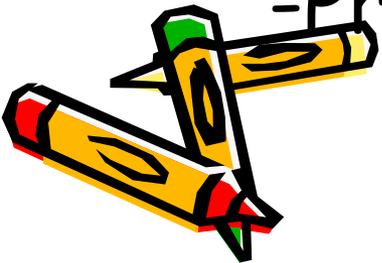
mesurer le temps nécessaire pour obtenir un caillot

si différence entre malade et témoin sup. à 5 sec. , pathologique

Signification d' TT allongé :

- fibrinogène bas

- Présence d'héparine



-Dysfibrinogénémies :

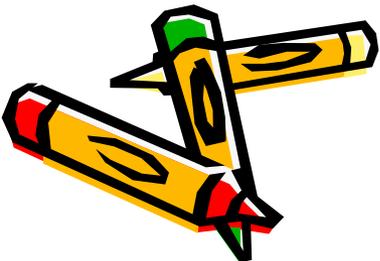
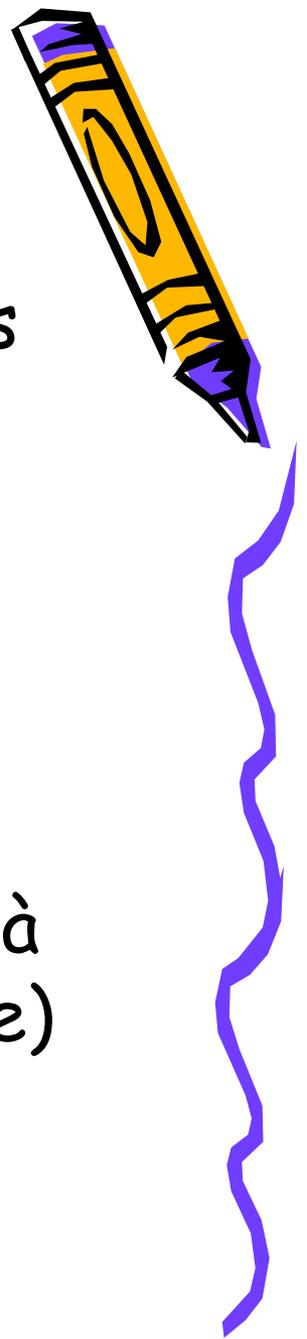
constitutionnelles

acquises (Dysglobulinémies dans  
myélome multiple ou maladie de  
Waldenstrom)

2-Temps de Reptilase :

principe et réalisation absolument  
identique au temps de thrombine

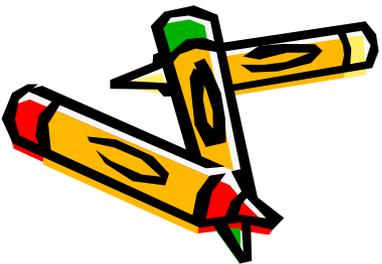
Propriété : la Reptilase n'est pas sensible à  
l'héparine (contrairement à la thrombine)



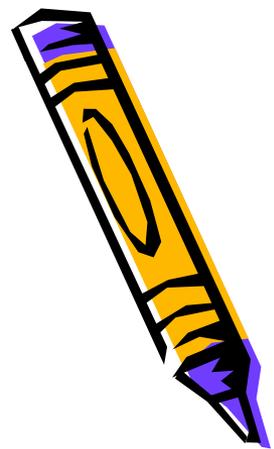
Donc, si le TT est allongé, on fait un dosage du fibrinogène

Si le taux de fibrinogène est normal, on fait un temps de Reptilase :

- si le temps de Reptilase est normal, présence d'héparine
- Si le temps de Reptilase est allongé dysfibrinogénémie (voir contexte clinique)



# Exploration de la Fibrinolyse



## 1-Temps de Lyse des Euglobulines :

Fabrication d'un caillot artificiel obtenu par précipitation en milieu acide (pH=5,9).

Ce caillot est plongé dans le plasma à tester :

Si le temps de lyse est supérieur à 3 heures , c'est un résultat normal

En cas contraire, il existe une activité fibrinolytique augmentée.



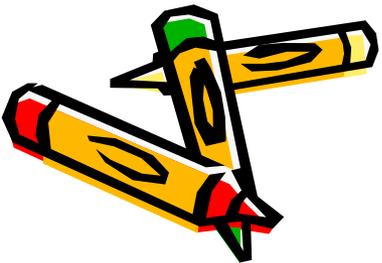
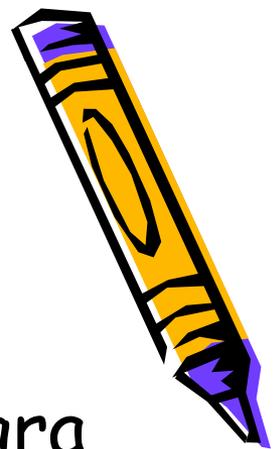
2-Dosage du plasminogène

3-Dosage du t-PA

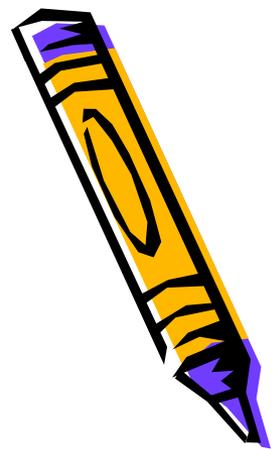
4-Dosage de l'urokinase

6-Dosage des D-Dimères( produits de dégradation de la fibrine) : excellent test pour le diagnostic d'une thrombose ou d'une embolie pulmonaire : si ils sont diminués on est sûr que ce n'est pas une embolie - s'ils sont élevés forte probabilité

7-Dosage des inhibiteurs de la fibrinolyse (Antiplasmine , PAI)



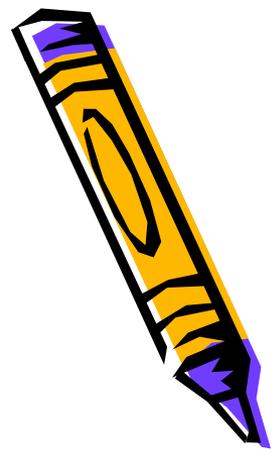
# Diagnostic d'une maladie de Willebrand



- **Symptomatologie hémorragique: pas toujours évocatrice**
- **Le diagnostic repose sur l'exploration biologique**
  - affirmer le diagnostic
  - préciser le type et le sous-type de la maladie
- **Les test de routine d'hémostase sont variablement perturbés**
  - TQ, TT → dans les limites de la normale
  - TS → souvent allongé mais peut être normal
  - TCA → allongé s'il existe un déficit en FVIII
  - Numération plaquettaire → normale (sauf sous-type 2B)
- **Les tests de dépistage sont normaux chez quelques patients et le diagnostic sera porté grâce au dosage spécifique des activités biologiques du vWF**



# Exploration de la coagulation



## • ETAPE PRE ANALYTIQUE

### - Prélèvement

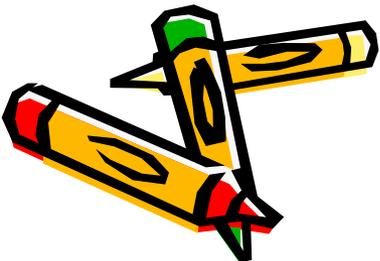
- Par **ponction veineuse franche**, garrot peu serré
- Le **patient au repos** allongé depuis > 10 min, pas forcément à jeun
- **Écart sur un tube sec des premiers ml de sang**, mais avant les tubes destinés à d'autres examens
- Aiguilles de diamètre 0,7-1 mm (19-22 G) de type butterfly avec tubulure courte
- Tubes sous vide content du citrate sodique liquide (0,105M) tamponné par de l'acide citrique (tubes en verre à paroi siliconée recommandé mais aussi tubes en matière plastique de type Vacutainer, Greiner)
- **Rapport anticoagulant/sang de 1/9; Notion capitale**
- **s'assurer du remplissage du tube (trait de jauge) et agiter immédiatement par retournements successifs : Notion capitale**



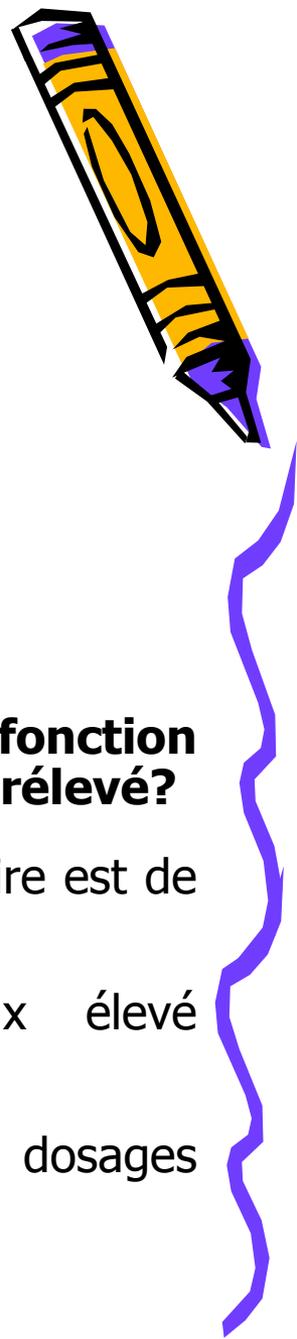
# Exploration de la coagulation



- ETAPE PRE ANALYTIQUE
  - Recommandations particulières
    - Etudes des fonctions plaquettaires
      - si utilisation de tube sous vide, le garrot n'est pas nécessaire: si tube par écoulement libre, garrot peu serré
      - prélèvement à jeun
      - Au moins **10 jours après l'arrêt de médicament antiagrégant (aspirine, ticlopidine, clopidogrel) AINS**
      - conservés les prélèvements à température ambiante (22°C) sauf si FP4 ou  $\beta$  thromboglobuline à 4°C



# Exploration de la coagulation

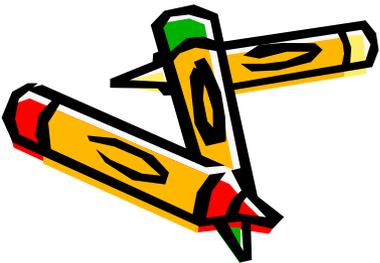


- ETAPE PRE ANALYTIQUE

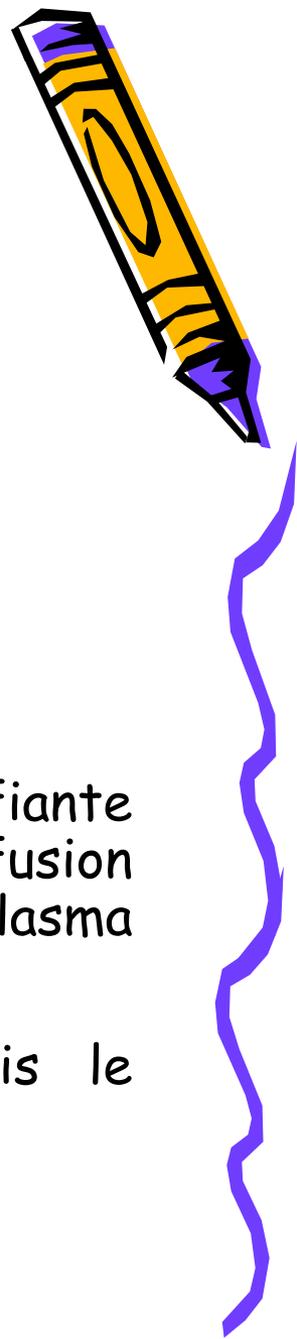
- Recommandations particulières

- Prélèvements en pédiatrie

- **prescription raisonnée: quel dosage réaliser en fonction de l'âge de l'enfant et de la quantité de plasma prélevé?**
- adaptation des automates: le volume sanguin nécessaire est de 150µl-3ml
- tenir compte pour les nouveaux-nés du taux élevé d'hématocrite
- Micro méthodes pour les prématurés que pour les dosages ponctuels: TQ, fibrinogène, numération plaquettaire



# Exploration de la coagulation

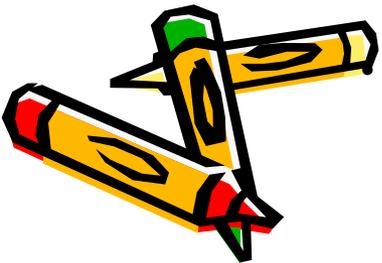


- ETAPE PRE ANALYTIQUE

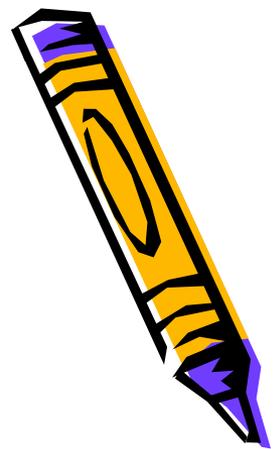
- Prélèvements non conformes

- Tubes insuffisamment remplis
  - lorsque le rapport AC/sang est modifié de  $>10\%$
  - Patients difficiles à prélever (micro-caillots)
- Tubes prélevés sur solution décalcifiante inappropriée (EDTA), du même côté qu'une perfusion d'héparine ou en période post prandiale (plasma lactescent)
- Tubes transmis avec délai trop long depuis le prélèvement

Tubes hémolysés



# Exploration de la coagulation



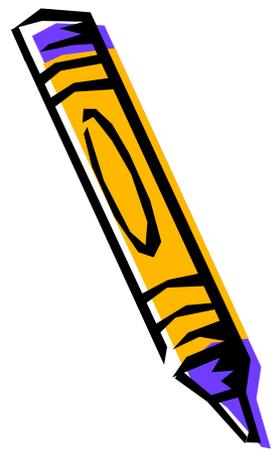
- ETAPE PRE ANALYTIQUE

- Transport des échantillons

- Les échantillons doivent être acheminés le plus rapidement possible au laboratoire et traités dans les plus brefs délais (dans les 4 heures suivant le prélèvement pour les mesures du TQ et du TCA)
    - Noter l'heure de prélèvement sur le tube ou sur la feuille de demande
    - Il est conseillé de **transporter les tubes en position verticale et éviter toute agitation intempestive** (risque d'activation de la coagulation et/ou des plaquettes)
    - Les tubes doivent être conservés bouchés et à température ambiante mais à l'abri de la chaleur
    - La plupart des test de coagulation peuvent être effectués sur plasma conservé par congélation
      - après congélation rapidement après obtention du plasma pauvre en plaquettes
      - Conservation des aliquots de 500 µl au mieux à -70°C et transport en carboglace

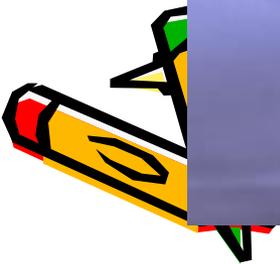


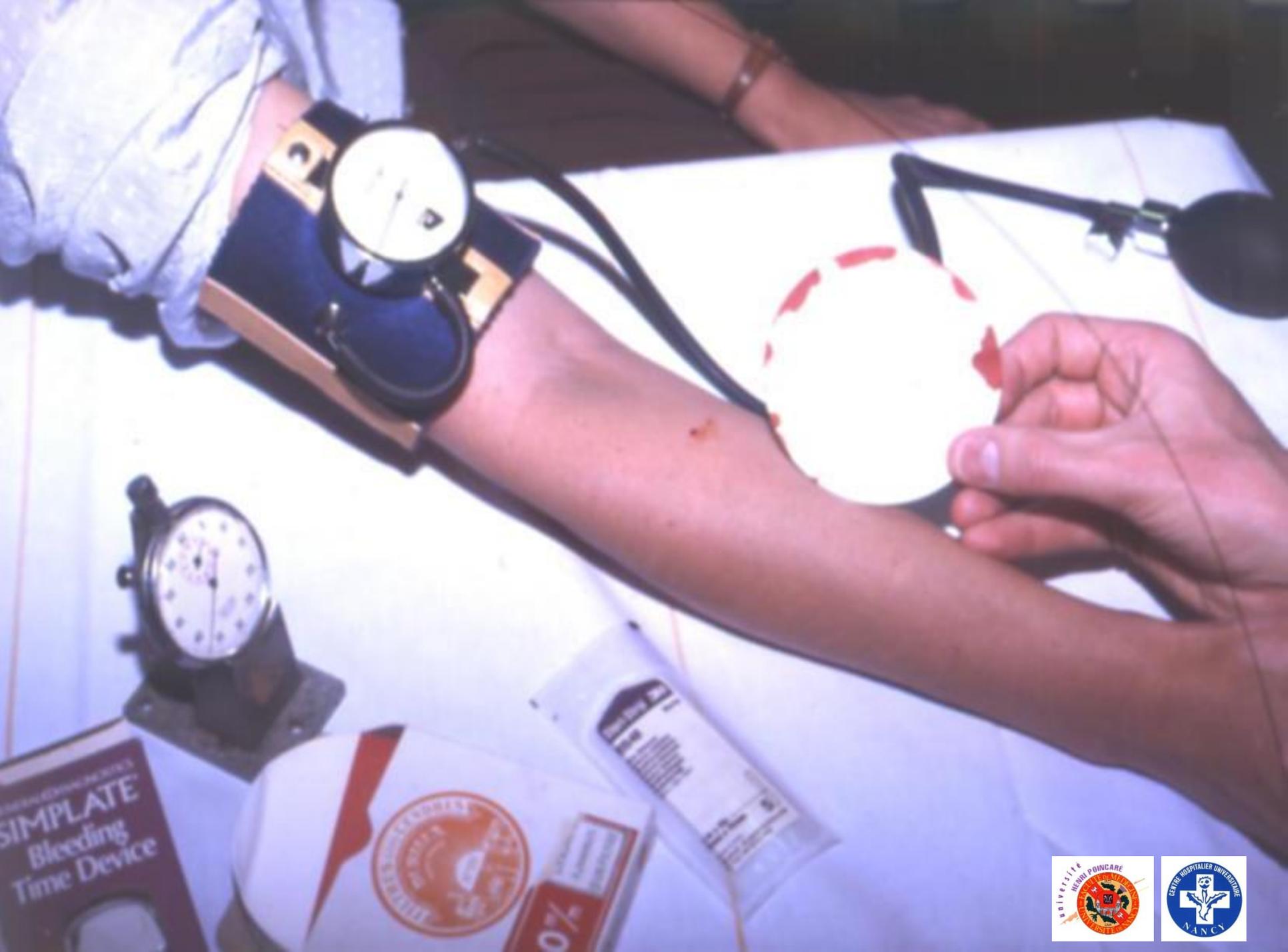
# Diagnostic étiologique d'une hémorragie



- Tests de 1ere intention: dépistage et orientation
  - Numération Plaquettes, TQ, TCA, (TS) , fibrinogène
- Tests de seconde intention: en cas d'anomalie
  - dosage des facteurs de coagulation, d'un ACC, d'une dysfibrinogénémie
  - Dosage du facteur Willebrand
- En l'absence d'anomalie des tests , rechercher en fonction des antécédents médicaux:
  - Une forme modérée de maladie de Willebrand: TS-Ivy, Temps d'occlusion, dosage vWF Ag, vWF Rco
  - Une fibrinolyse: temps de lyse raccourci, déficit en inhibiteur (  $\beta$ 2 anti plasmine)
  - Un déficit en facteur XIII
  - Une thrombopathie: étude des fonctions plaquettaires





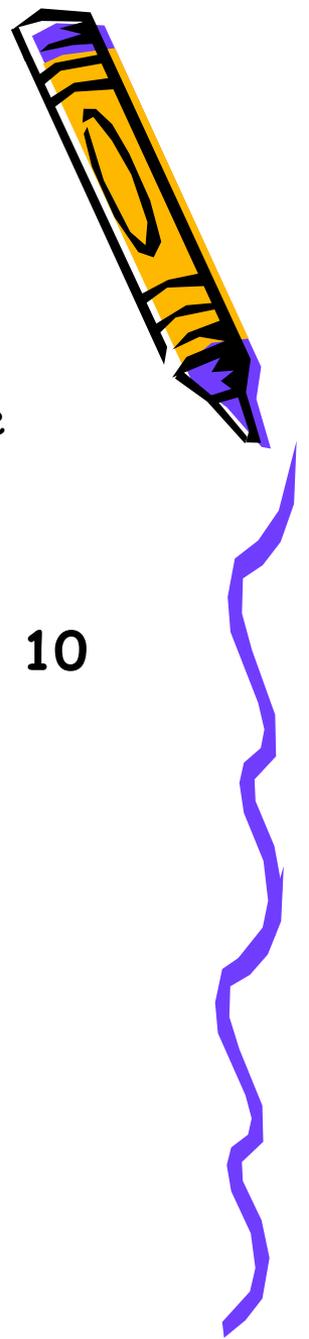


SIMPLATE  
Bleeding  
Time Device



0%



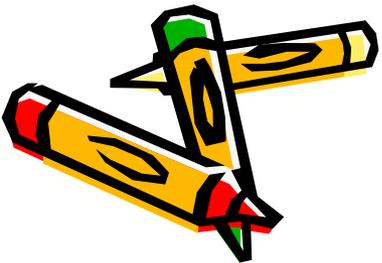


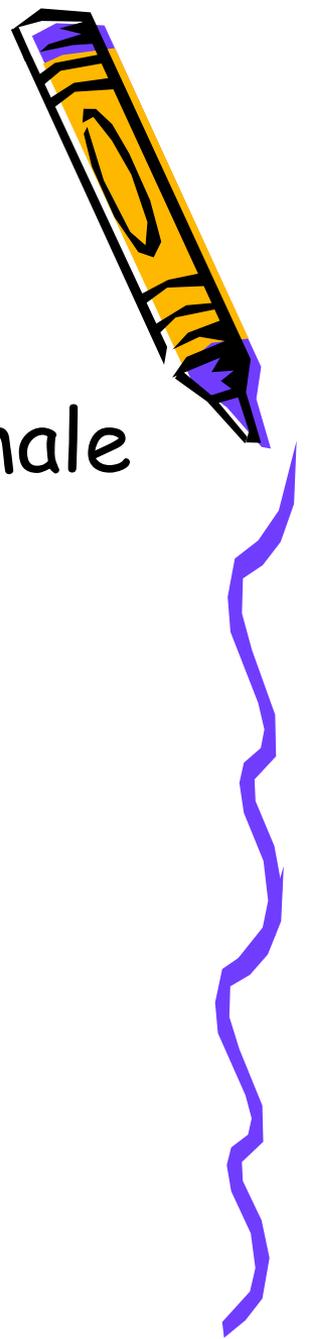
**a-Exploration du Vaisseau : Recherche d'une fragilité capillaire**

**Appliquer un brassard à tension sous une pression de 10 cm Hg pendant 5 min (brassard adulte, enfant ou nourrisson)**

**Apprécier le nombre de pétéchiees formées au pli du coude**

**Normal: < 5**



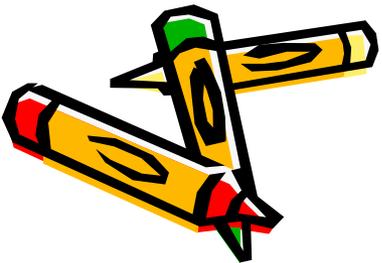


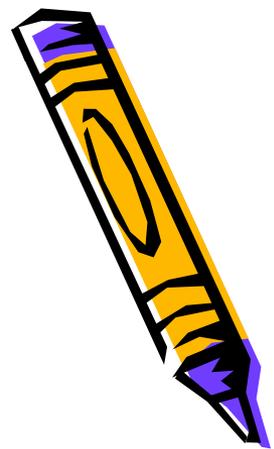
- Si la Resistance capillaire est normale il reste :

- le fibrinogène ?

- le facteur de Willebrand ?

- les plaquettes ?

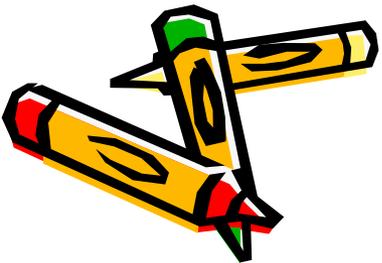




## b - Exploration des Facteurs Plasmatiques

### -Dosage du Fibrinogène :

en sachant quand même que pour que la baisse du fibrinogène retentisse sur l'hémostase primaire, il faut des **taux de 0,5g/L et moins**, (ce qui perturbe largement la coagulation)

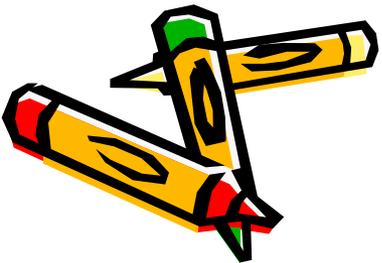
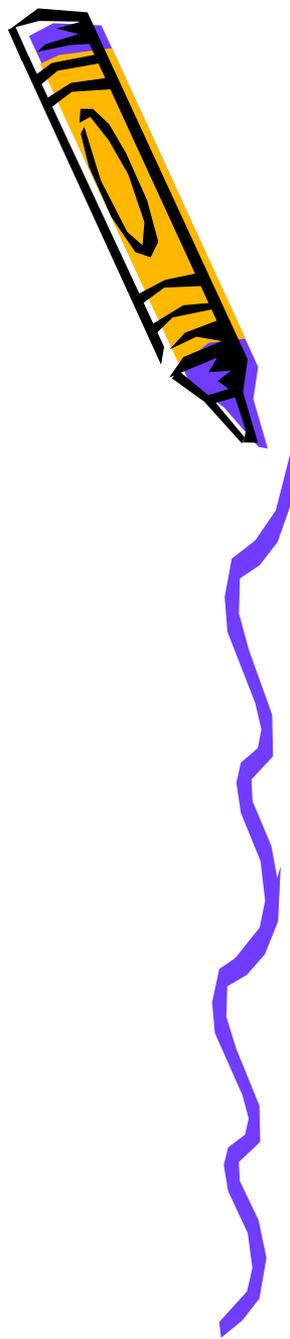


## -Dosage du facteur willebrand :

Quand il est diminué , ceci traduit la maladie de Willebrand  
Elle se caractérise par :

- un allongement du TS
- un allongement du TCA
- un facteur willebrand diminué

Donc , en pratique faire d'abord un TCA : **s'il est allongé**  
faire le dosage du facteur Willebrand



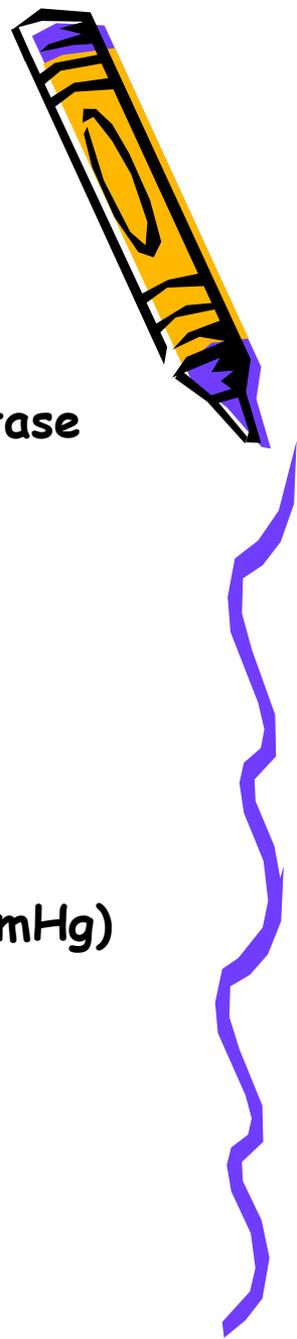
## □ Exploration de l'Hémostase Primaire

### 1-TEMPS DE SAIGNEMENT

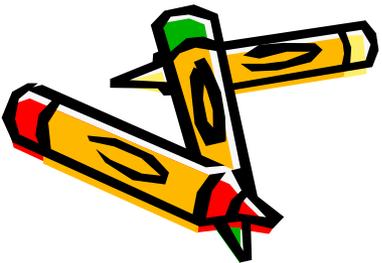
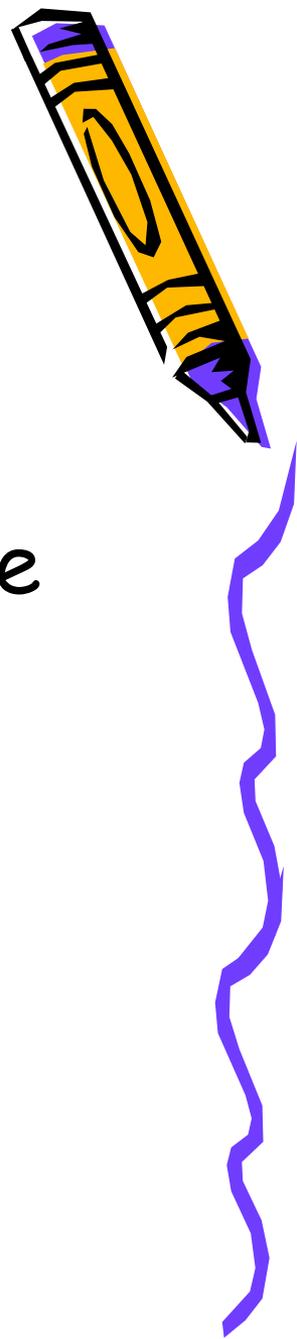
Seul test d'hémostase in vivo qui explore **globalement** l'hémostase primaire

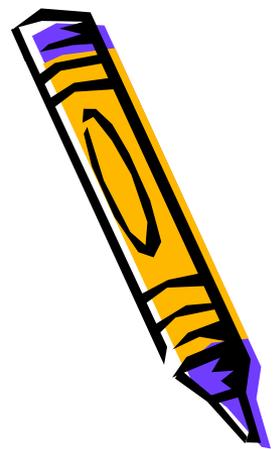
Les techniques:

- technique de DUKE : à l'oreille à l'aide de vaccinostyle  
**ne doit plus être utilisé**
- technique d'IVY : à l'avant-bras  
à l'aide de brassard à pression (40mmHg)  
**dispositif jetable (type Simplate)**



- Si les facteurs Plasmatiques sont normaux , alors il s'agit d'un problème plaquettaire.....





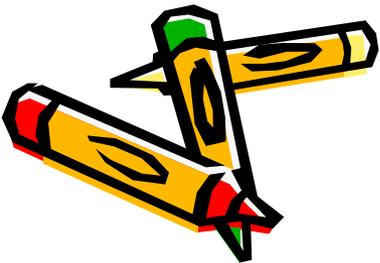
## C - Exploration des Plaquettes :

-Numération Plaquettaire

-Adhésivité Plaquettaire : Rechercher la Glycoprotéine Ib-IX

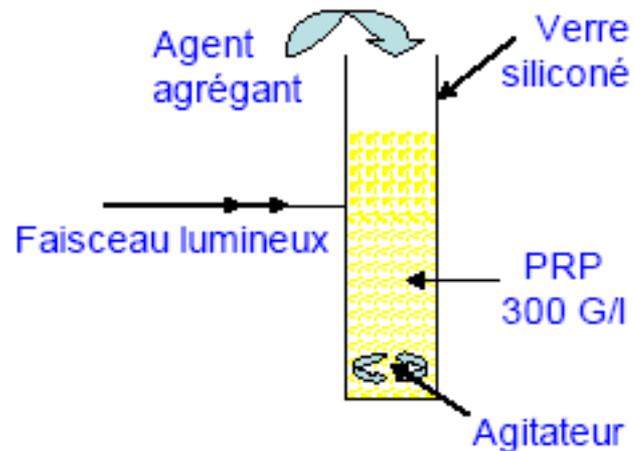
-Libération : dosage du FP4 et/ou BTG dans le plasma après stimulation plaquettaire

- l'Agrégation plaquettaire aux différents inducteurs et recherche des Glycoprotéines Ib-IIIa

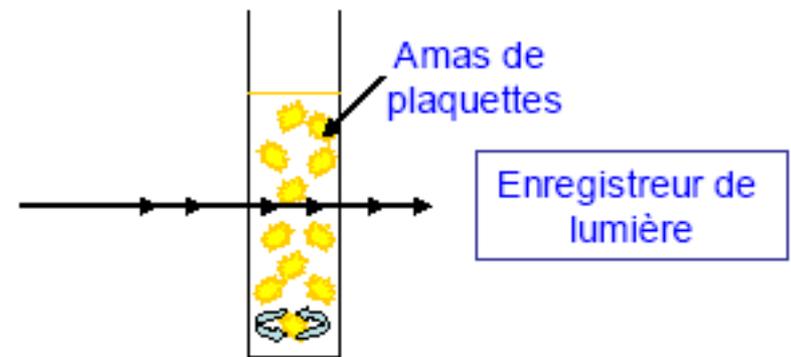


# AGREGOMETRIE

## - Principe de l'agrégométrie



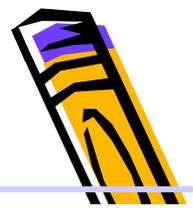
PRP: opalescent  
absence de transmission  
de la lumière (0%)



Agrégation:  
amas de plaquettes  
transmission de la  
lumière

PPP: 100 % de transmission (agrégation complète)

# Test d'agrégation plaquettaire



## Agonistes en 1<sup>ère</sup> intention :

Informations : NP PRP 514 G/L ajusté à 300 pour les tests

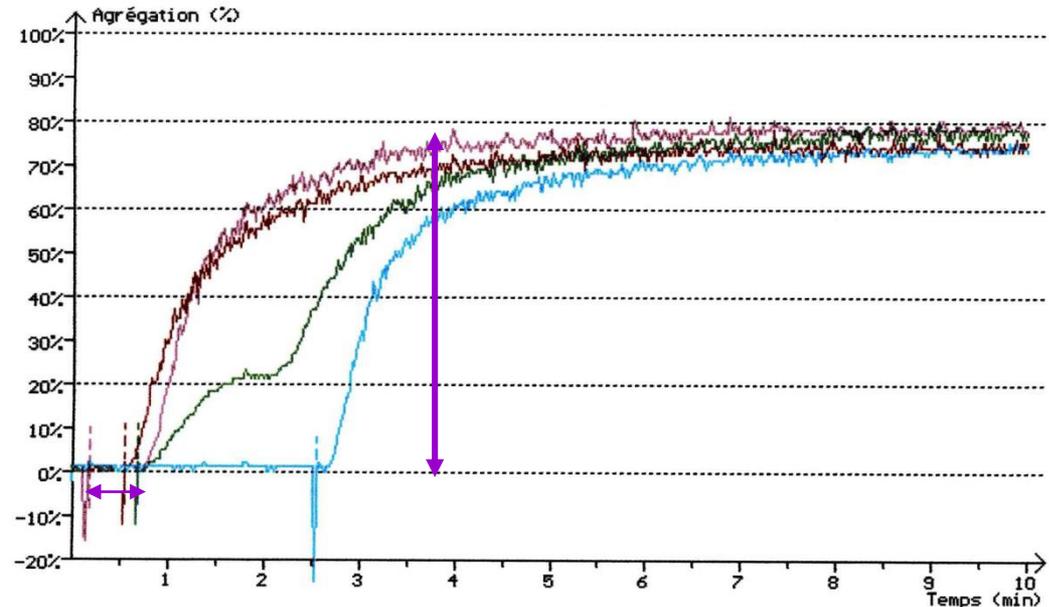
Courbe N°1: collagène 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$

Courbe N°2: adp 5  $\mu\text{M}$

Courbe N°3: adrénaline 5  $\mu\text{M}$

Courbe N°4: ac arachidonique 1,39  $\text{mM}$

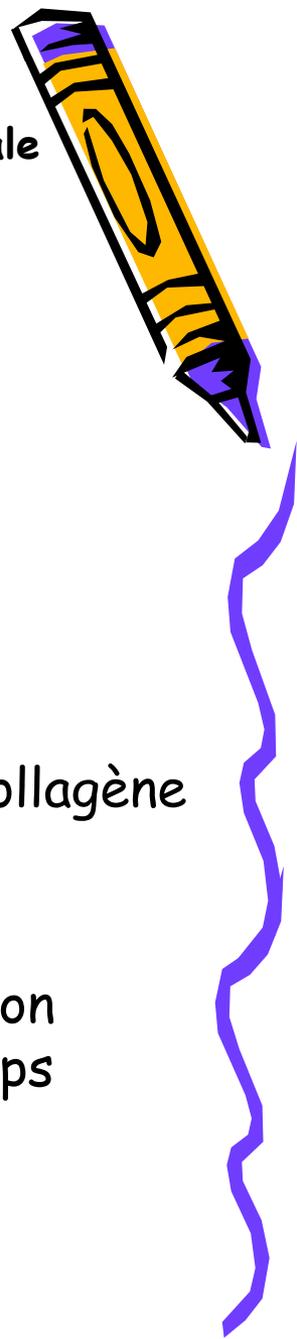
Graphe



## Paramètres étudiés :

- $\Delta$  max de transmission lumineuse
- Temps de latence (collagène)
- Allure de la courbe : vagues, réversibilité





-TEMPS D'OCCLUSION = capacité fonctionnelle plaquettaire globale

- Sur appareil PFA (Platelet Function Analyzer)

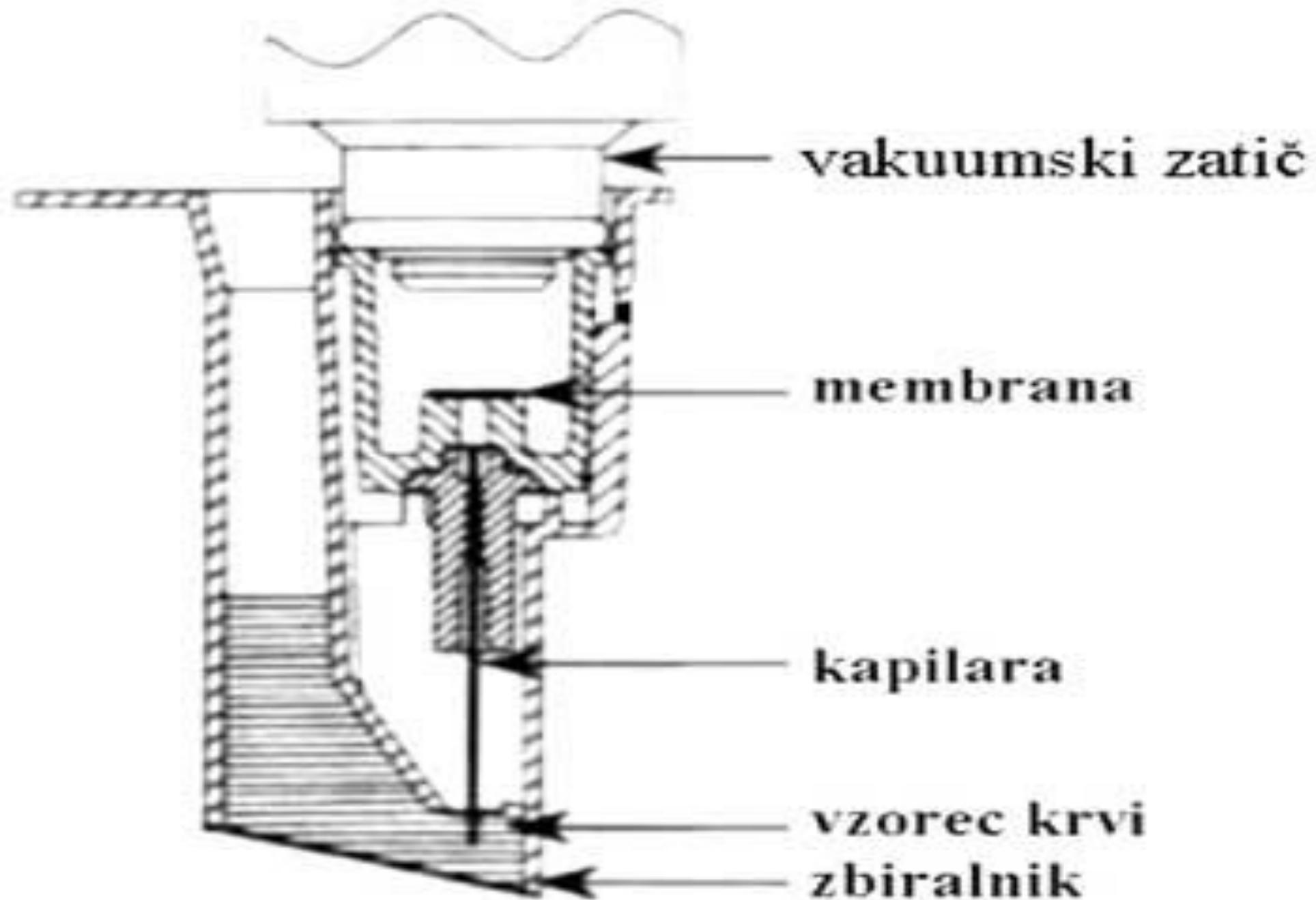
- Prélèvement de sang sur citrate

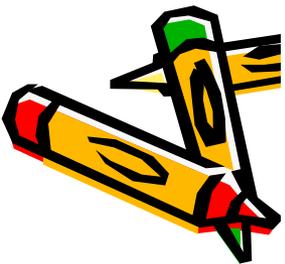
- Sang disposé sur une cartouche

- Passe à travers l'orifice d'une membrane recouverte de collagène et d'ADP

- Le clou plaquettaire obstrue progressivement l'orifice et on mesure le temps nécessaire à l'occlusion complète (Temps d'occlusion)





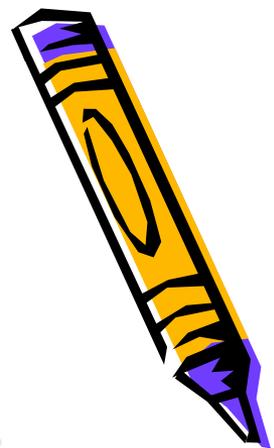


- Temps de saignement allongé : sup. à 10 minutes  
(par la technique IVY-Simplat)



Cela traduit un Tble de l'Hémostase Primaire :

- Il faut donc explorer :
  - le vaisseau
  - les facteurs plasmatiques (willebrand et Fibrinogène)
  - les Plaquettes :
    - Nombre
    - fonctions : adhésion ; libération ; agrégation



-Normalement : 70 - 110 secondes

-Si supérieur à 110 , anomalie de l'un des facteurs intervenant dans l'hémostase primaire :

1 - Déficit en Facteur Willebrand (maladie de Willebrand )

2- Anomalie de l'une des fonctions plaquettaires

-Anomalie de l'adhésion : thrombopathie de Bernard-Soulier  
(déficit en GPIb-IX)

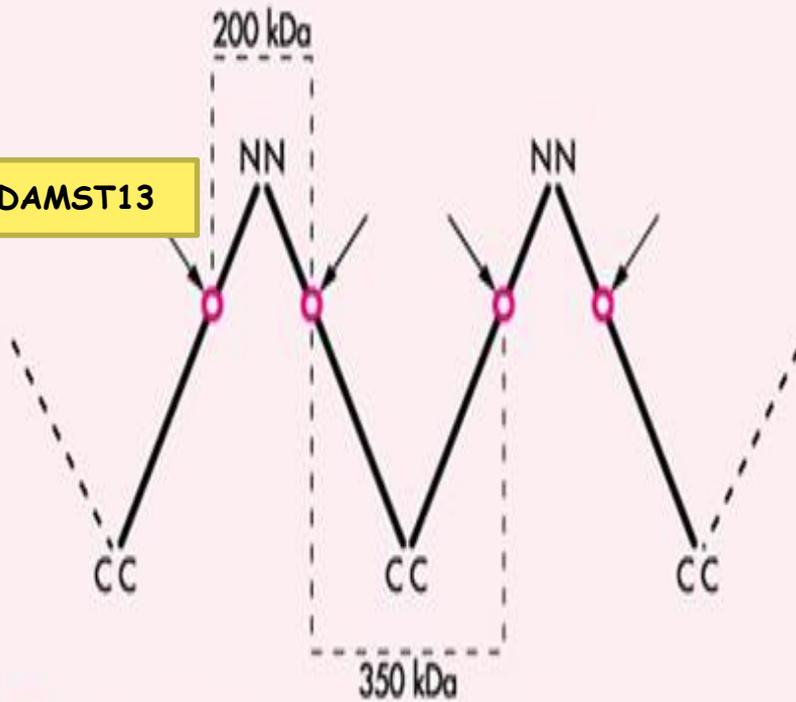
-Anomalie de libération

-Anomalie d'agrégation : thrombasthénie de Glanzmann  
(déficit en IIb-IIIa)



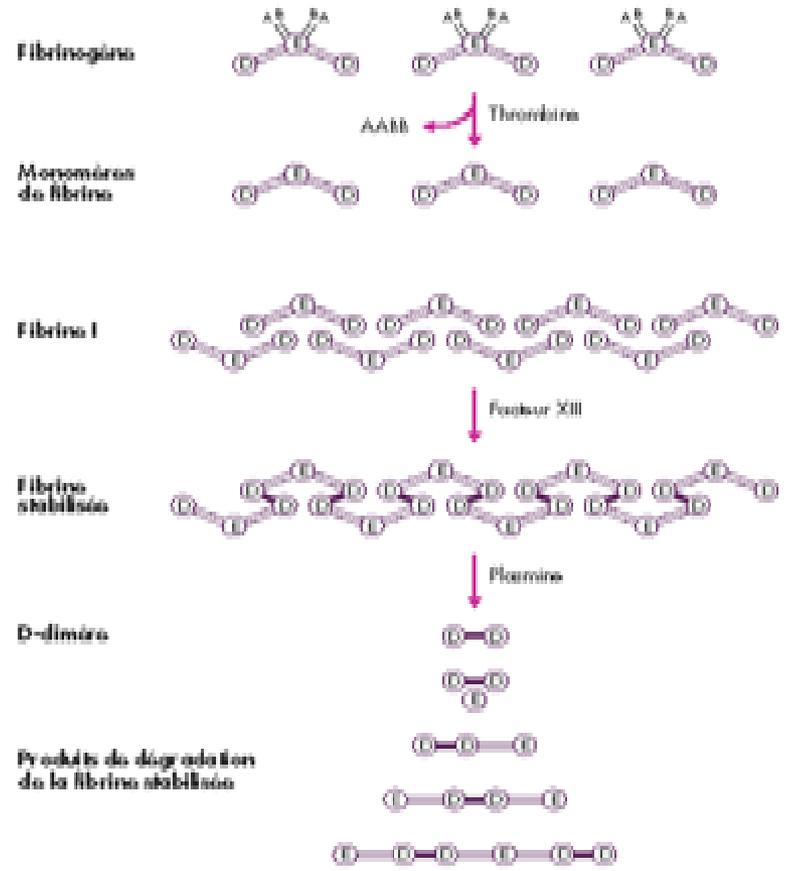
# Le facteur willebrand

ADAMST13



○ Tyr 842 – Met 843 : site de protéolyse physiologique

# Le fibrinogène



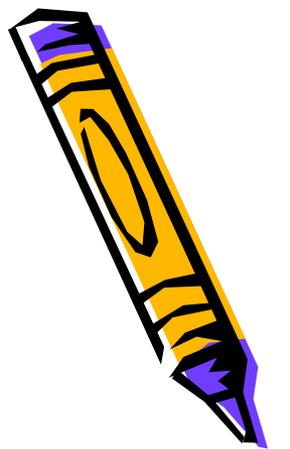
## HEMOSTASE PRIMAIRE

- Elle fait intervenir :

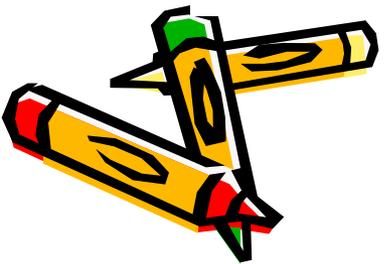
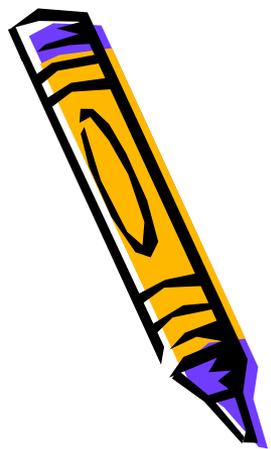
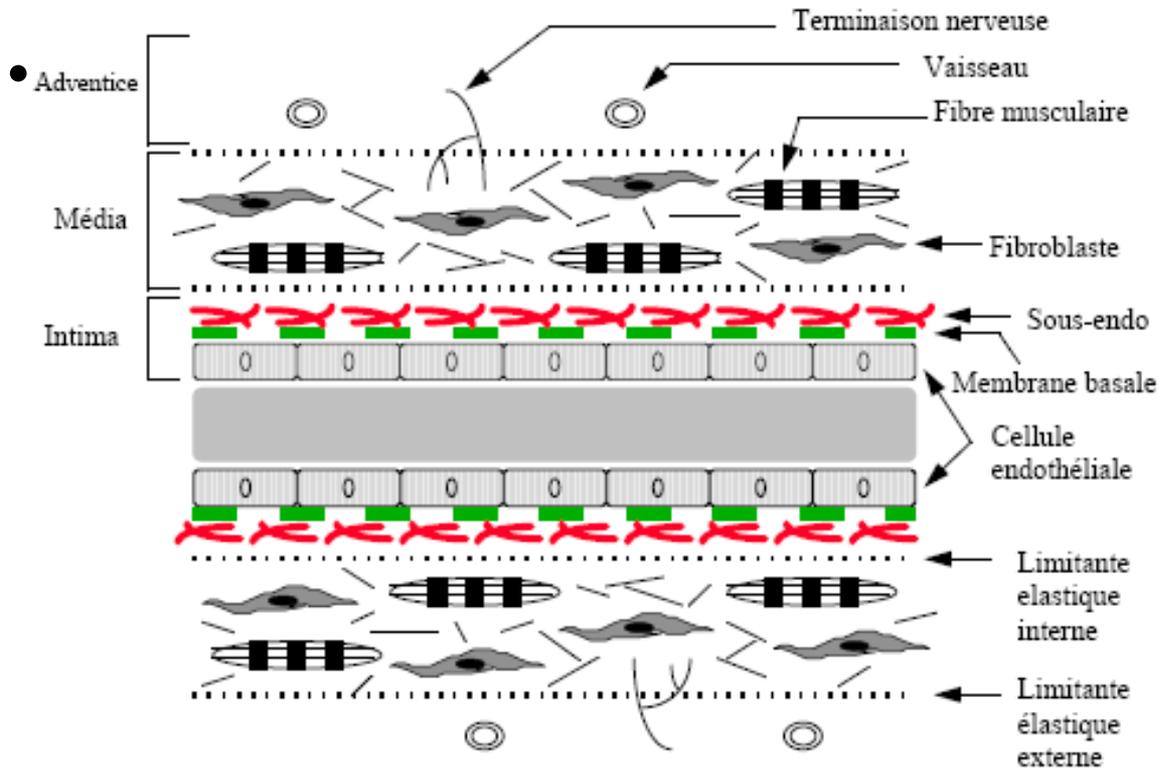
1-Le vaisseau

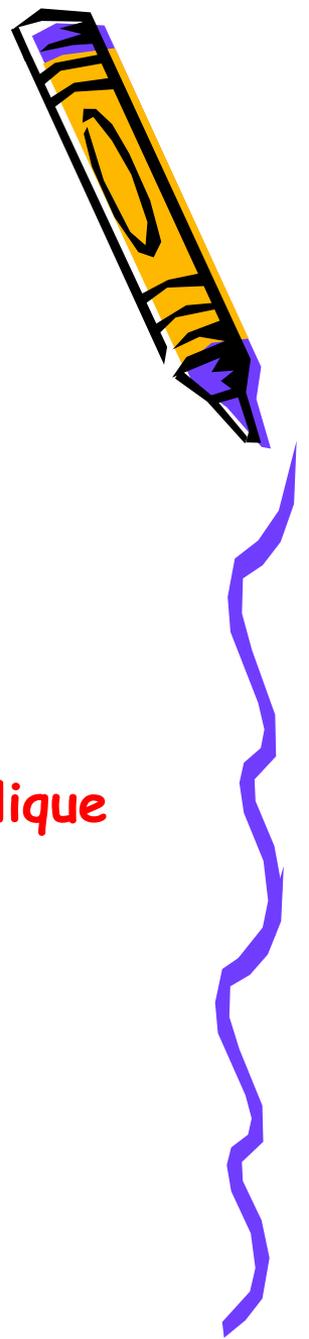
2-Des Facteurs Plasmatiques (F.Willebrand et Fibrinogène)

3-Les Plaquettes Sanguines



# -LE VAISSEAU :



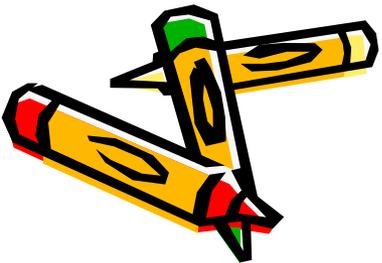


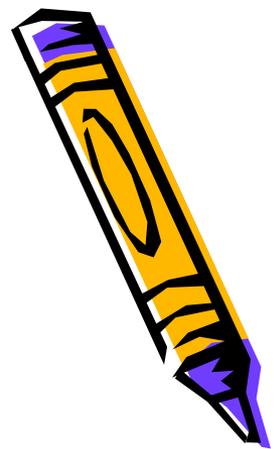
## -LES FACTEURS PLASMATIQUES :

### 1-le Facteur Willebrand :

- Polymère hétérogène ( multimères de poids variable) - synthétisé dans les cellules endothéliales et les Mégacaryocytes
- Dans le Plasma il circule lié au Facteur anti-hémophilique A (FVIII) qu'il protège contre la protéolyse

### 2-le Fibrinogène :





## -LES PLAQUETTES :

-La Membrane comprend :

-une couche de **phospholipides**  
-des **Glycoproteines** ( les plus importantes : la **GPIb-IX** et le Complexe **IIB/IIIA**)

-Dans le cytoplasme,deux types de **granules**:

Calcium)

-Granules Denses (ADP,Sérotonine et

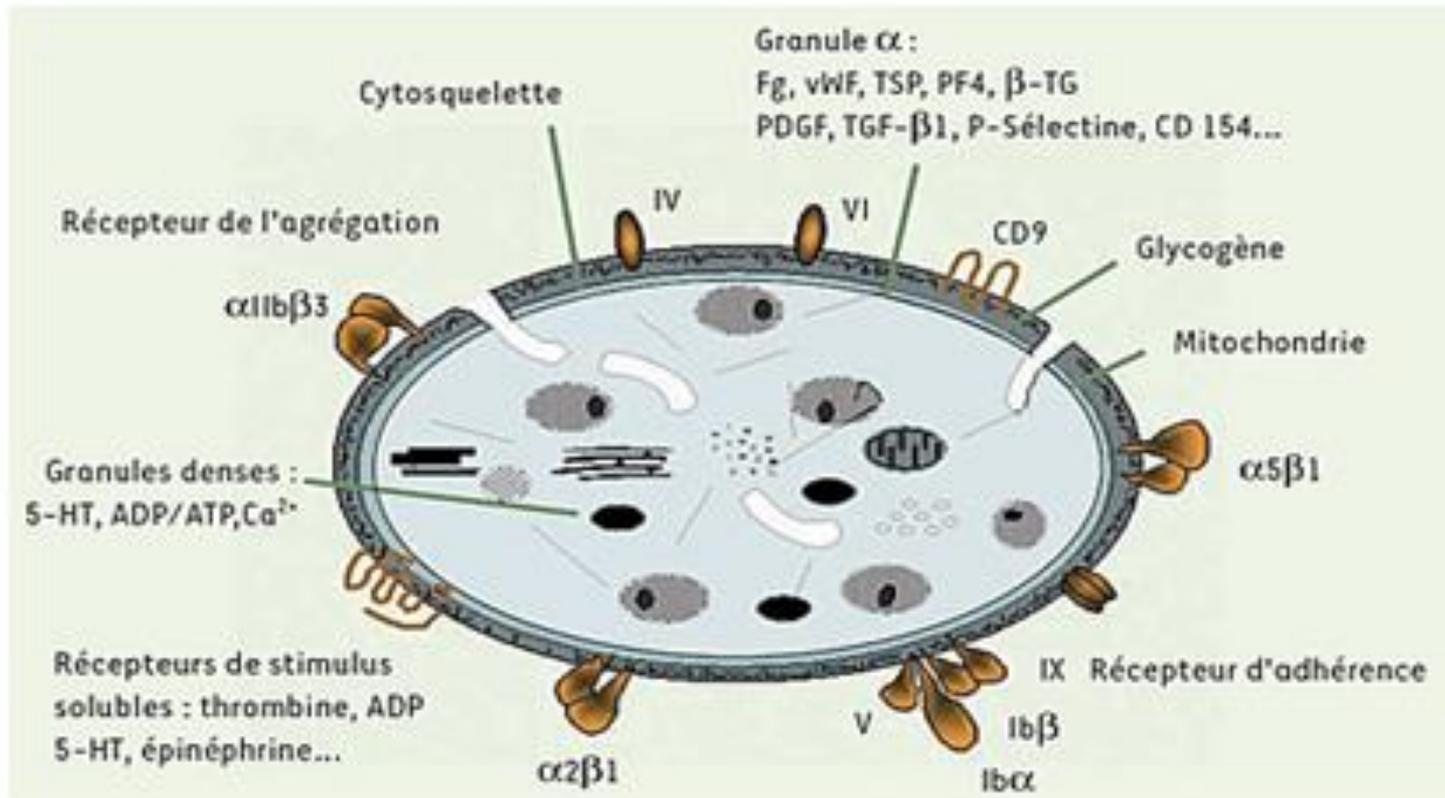
**Willebrand)**

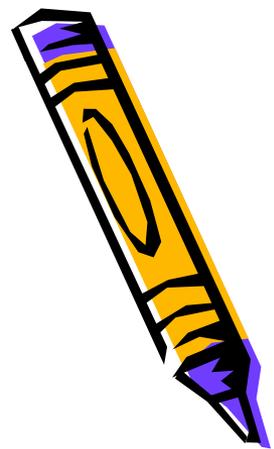
-**Granules Alpha** (FP4,BTG,Facteur





# La plaquette

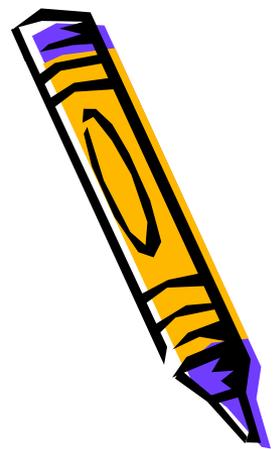




## -DEROULEMENT HEMOSTASE PRIMAIRE

- 1-Vasoconstriction : Elle est localisée -  
Son but : diminuer l'hémorragie
- 2-Adhésion des Plaquettes : **le Facteur Willebrand** « colle »  
les plaquettes au sous-endothélium par **la GPIb-IX**
- 3-Changement de forme et libération ( ADP, FP4 ,  $\beta$ TG )





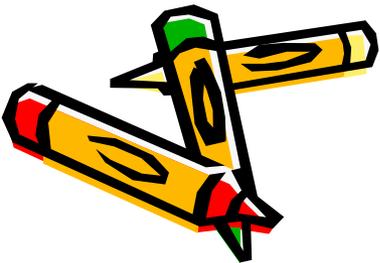
## 4-agrégation des plaquettes : grâce à 3 choses :

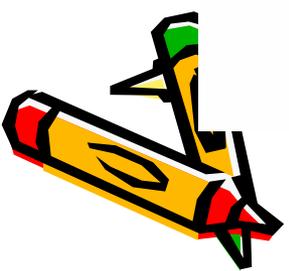
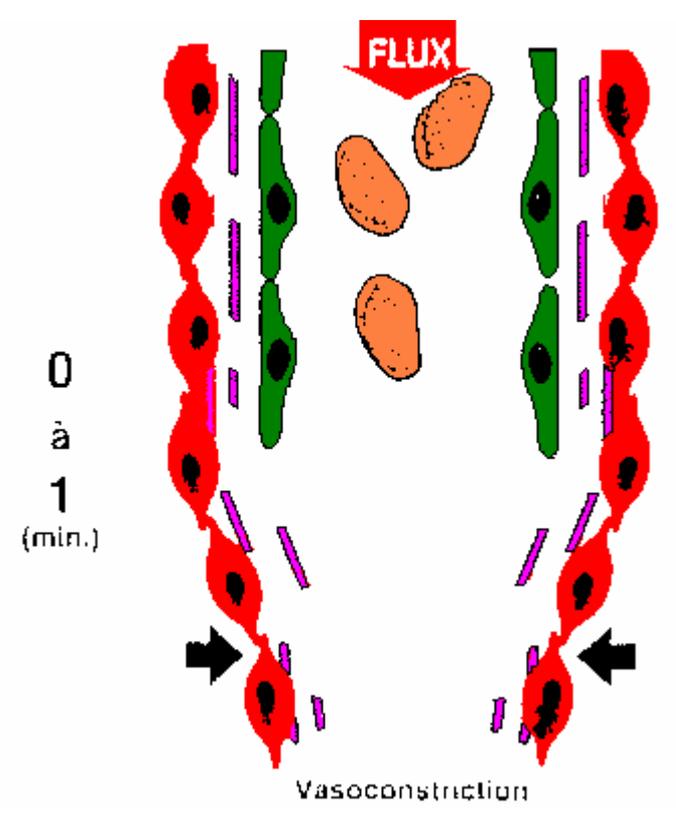
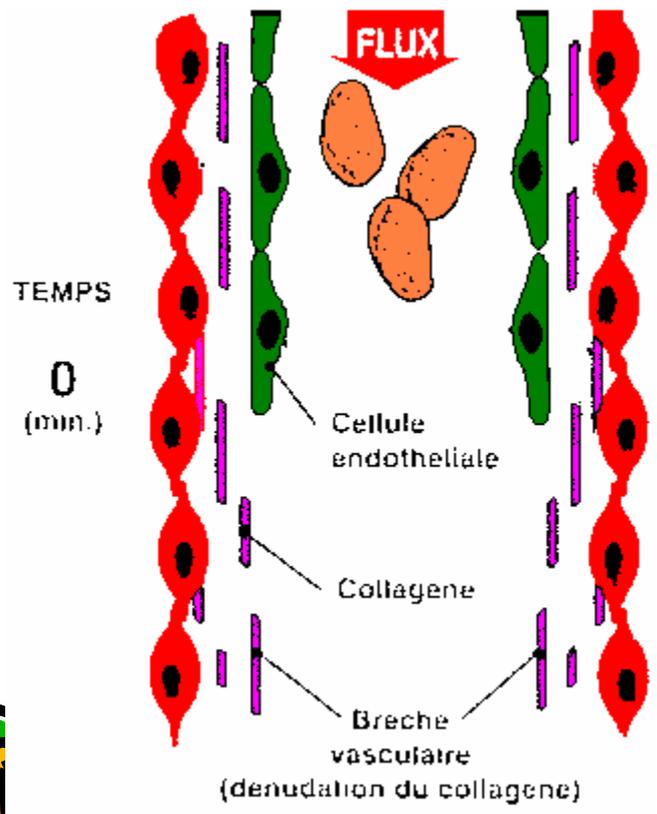
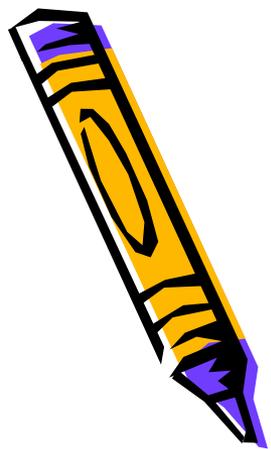
- le **complexe IIb-IIIa**
- le **fibrinogène**
- l'**ADP**

Sur la 1<sup>ère</sup> couche de plaquettes se fixent d'autres plaquettes .

Puis les Glycoprotéines IIb-IIIa subissent une modification conformationnelle qui leur permet de fixer le Fibrinogène circulant et l'ADP libéré par les plaquettes

Ces 2 substances ( ADP et Fibrinogène ) établissent des ponts entre eux

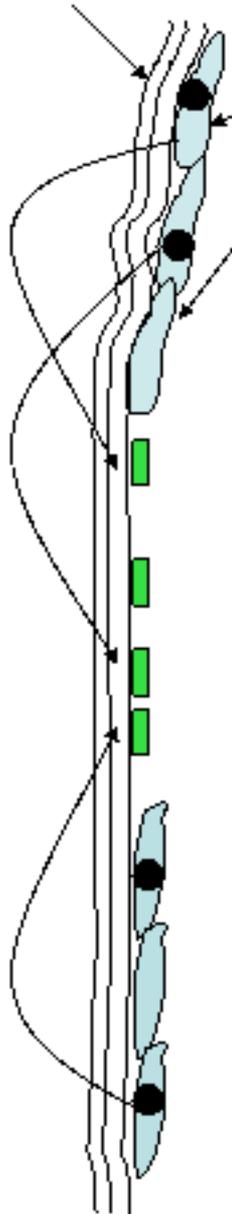




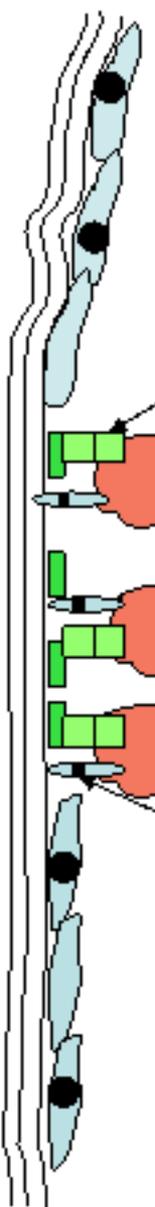
Sous endothélium

Cellules endothéliales

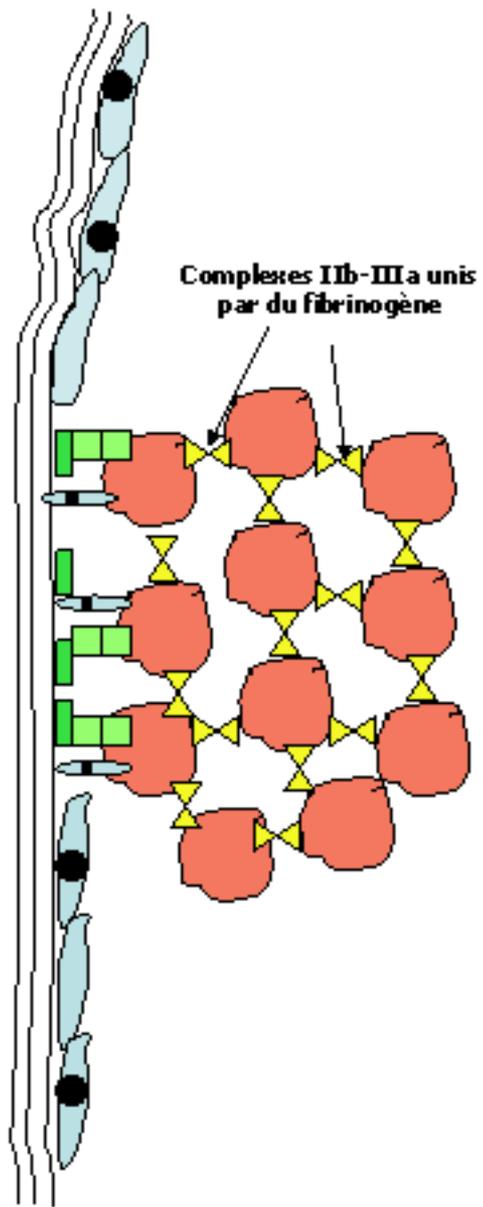
L  
U  
M  
I  
È  
R  
E  
  
V  
A  
S  
C  
U  
L  
A  
I  
R  
E



Le sous endothélium mis à nu montre des molécules de collagène, et les c. endoth. libèrent du vWF qui se colle à ce sous endothélium

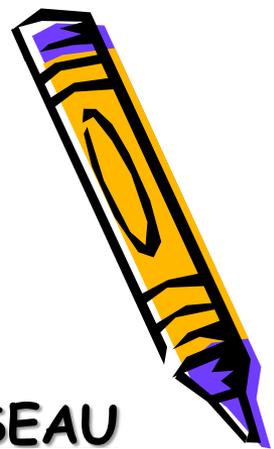


Les PLT circulantes adhèrent au sous endothélium par l'intermédiaire des GP Ia-IIa et Ib-IX qui se lient respectivement au collagène et au vWF



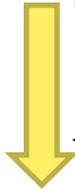
Les PLT s'agrègent entre elles grâce aux molécules GP IIB-IIIa qui se couplent au fibrinogène

# Métabolisme des Prostaglandines



## PLAQUETTE

- Phospholipides



- Acide Arachidonique



- Endoperoxydes  
Cycliques

**Phospholipase A2**



**Cyclo-Oxygénase1**

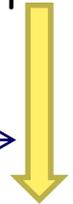


Cyclo-Oxygénase 2



## VAISSEAU

- Phospholipides



- Acide Arachidonique



- Endoperoxydes  
Cycliques

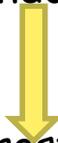


# Métabolisme des Prostaglandines (suite)

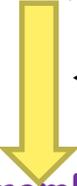


## PLAQUETTE

Endoper.cycl.



Prostaglandines  
(PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>)



**Thromboxane A<sub>2</sub>**  
(TXA<sub>2</sub>)

+puissant agent  
agrégation

## VAISSEAU

Endoper.Cycl



Prostaglandines  
(PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>)



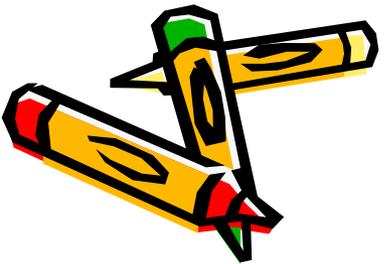
**Prostacycline I<sub>2</sub>**  
(PGI<sub>2</sub>)

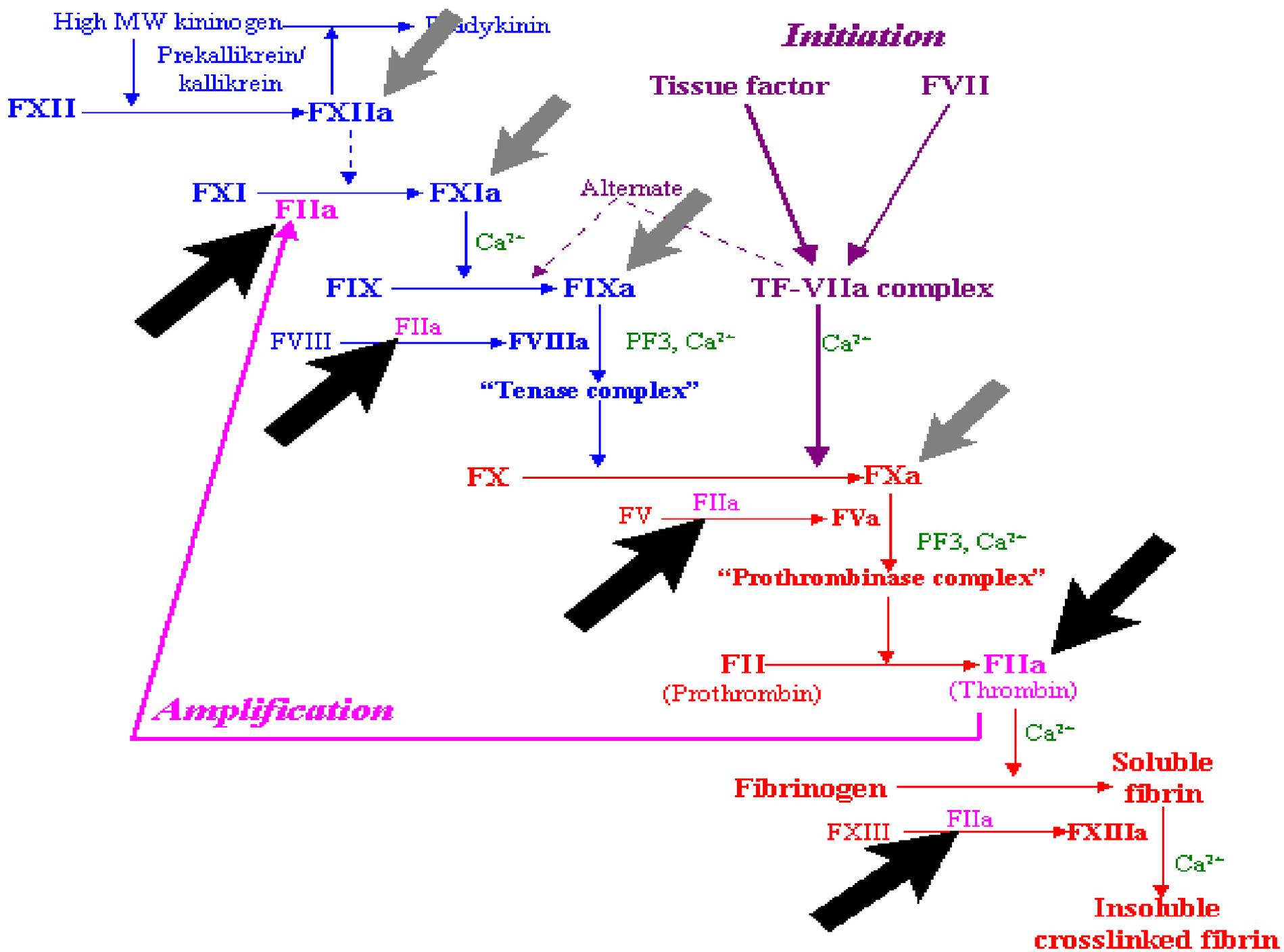
+plus puissant  
Inhibiteur Agrégation

←--- prostag.synthétase ---→

← Thromboxane synthétase

Prostacyc.synth. →







# Normal Hemostasis

