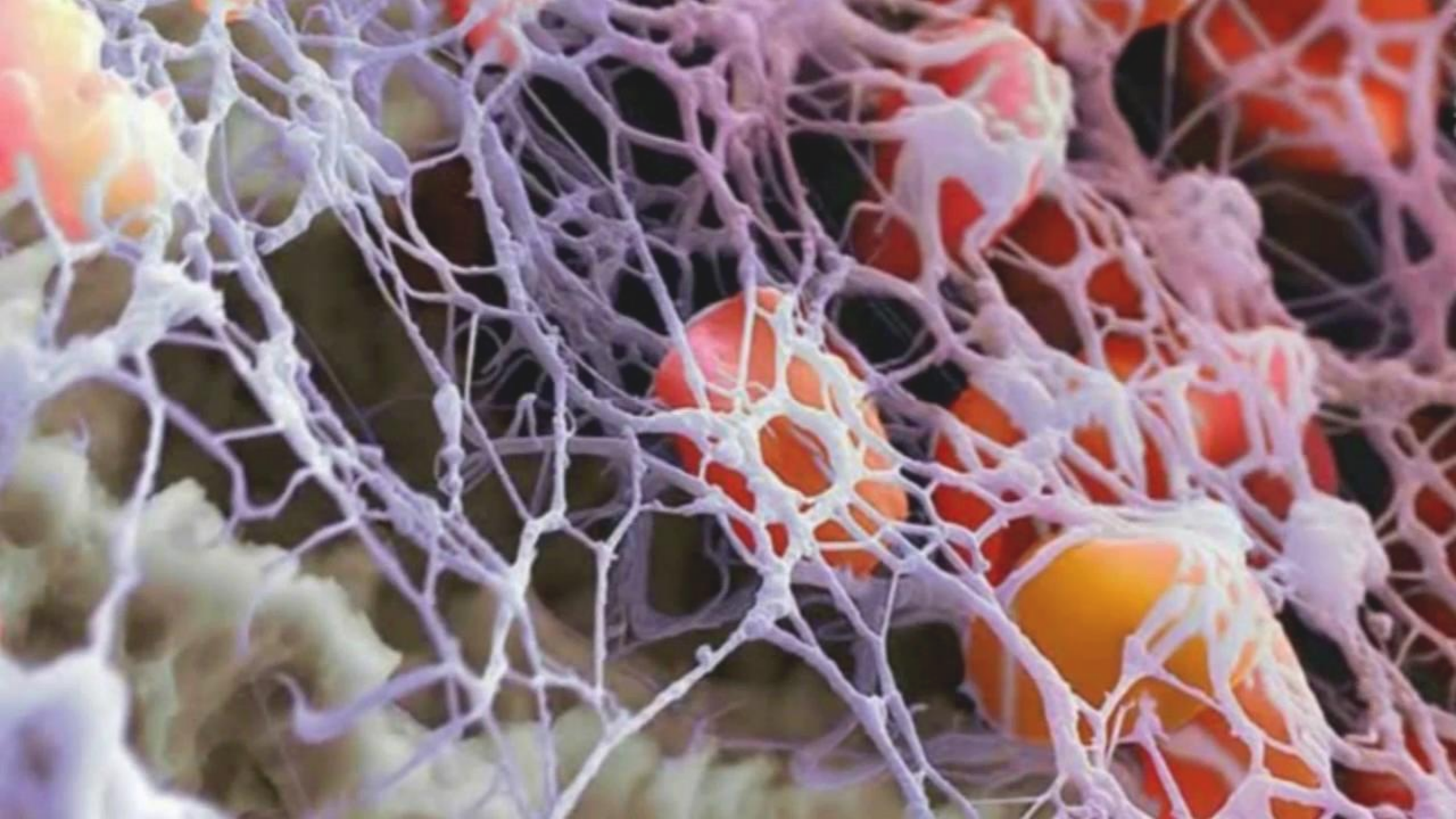




LES OUTILS DIAGNOSTIQUES POUR EXPLORER LA COAGULATION TQ,TCA,TT

Dr LAHMOUDI ADIL, Dr HIDKI Fatine, Pr OUKKACH Bouchra

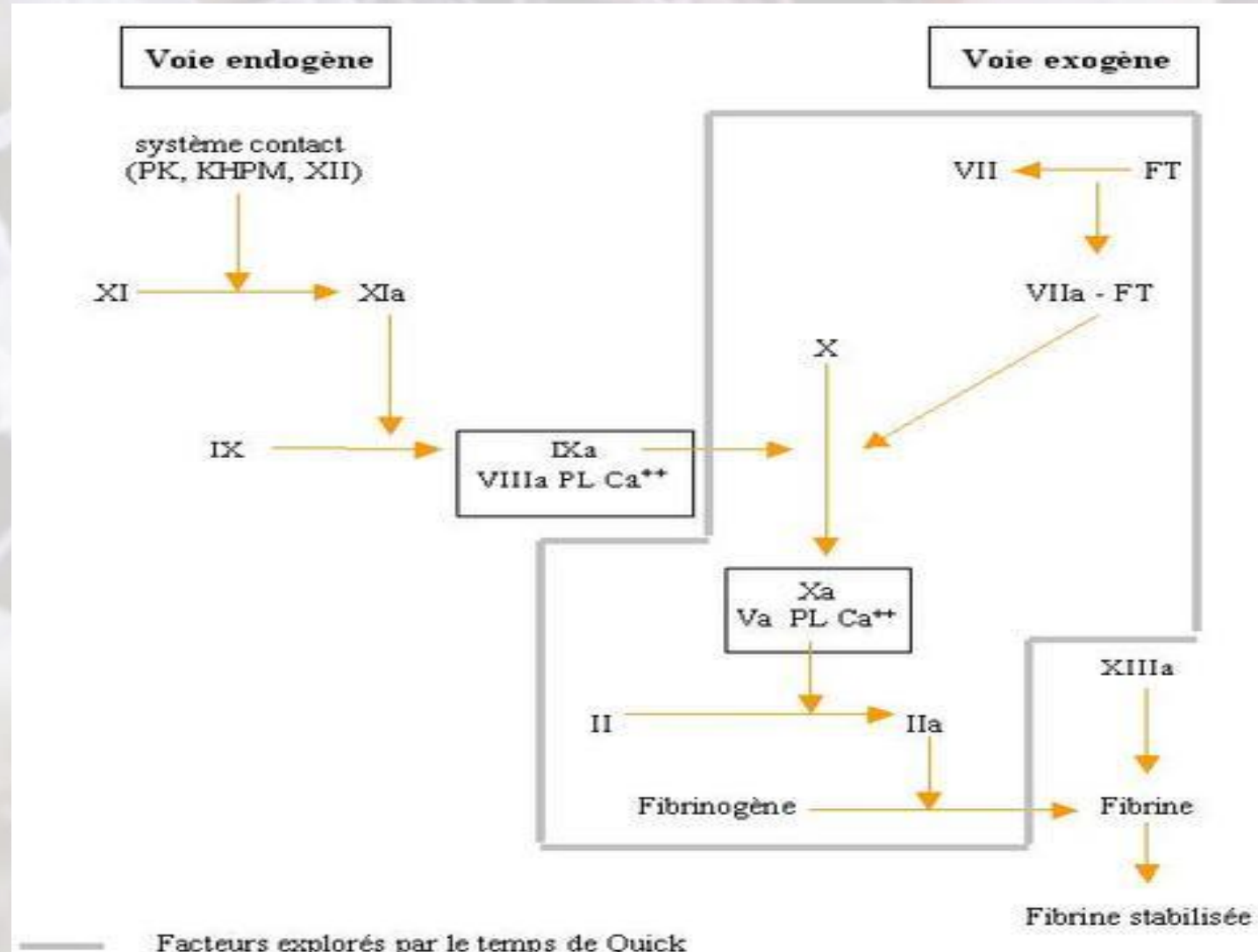
Introduction

- ✓ Le temps de Quick (TQ) et le temps de céphaline plus activateur (TCA) sont des tests automatisables, utilisés en première intention dans l'exploration
- ✓ Ils permettent l'exploration de l'ensemble des facteurs de la coagulation, à l'except

TEMPS DE QUICK (TQ)

- ✓ décrit en 1935
- ✓ Le temps de Quick : le temps de coagulation d'un plasma citraté, déplaquetté, recalcifié en présence d'un excès de thromboplastine.
- ✓ La thromboplastine : complexe de phospholipides et d'une protéine, le facteur tissulaire calcique, capable de déclencher la voie exogène (extrinsèque) de la coagulation par activation du facteur VII.
- ✓ Explore les facteurs de la voie extrinsèque et commune: FVII, V, X, II et Fibrinogène (soit 3/4 des facteurs Vitamine K-dépendants)

TEMPS DE QUICK (TQ)



TEMPS DE QUICK (TQ)

technique

principe : Test chronométrique en un temps

Tests chronométriques ou tests coagulométriques : la mesure du temps nécessaire à la coagulation d'un échantillon plasmatique en présence d'un activateur de coagulation.

TEMPS DE QUICK (TQ)

technique

Matériel et réactifs:

- ✓ chronomètre
- ✓ micropipettes: 1000 µl, 200 µl et 100 µl
- ✓ bain marie froid
- ✓ bain marie chaud
- ✓ tubes en verres
- ✓ tubes en plastique
- ✓ tampon de dilution
- ✓ plasma témoin
- ✓ Plasma malade
- ✓ Thromboplastines :
 - d'extraction, d'origine animale (cerveau de lapin) ou humaine (placenta)
 - recombinantes, préparées par addition de phospholipides à un facteur tissulaire recombinant.

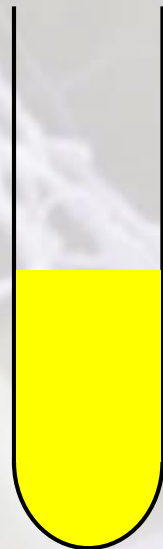
TEMPS DE QUICK (TQ)

technique

Mode opératoire

200 μ l de Thromboplastine
tissulaire calcique préchauffée à 37°C

100 μ l
plasma de patient
tube en verre à 37°



2 min



déclenchement
Chronomètre



caillot fibrine
stop Chrono

TEMPS DE QUICK (TQ)

Modes d'expression des résultats

TQ:

valeurs normales : 10 à 13 secondes

variable en fonction du réactif et de l'appareillage

TEMPS DE QUICK (TQ)

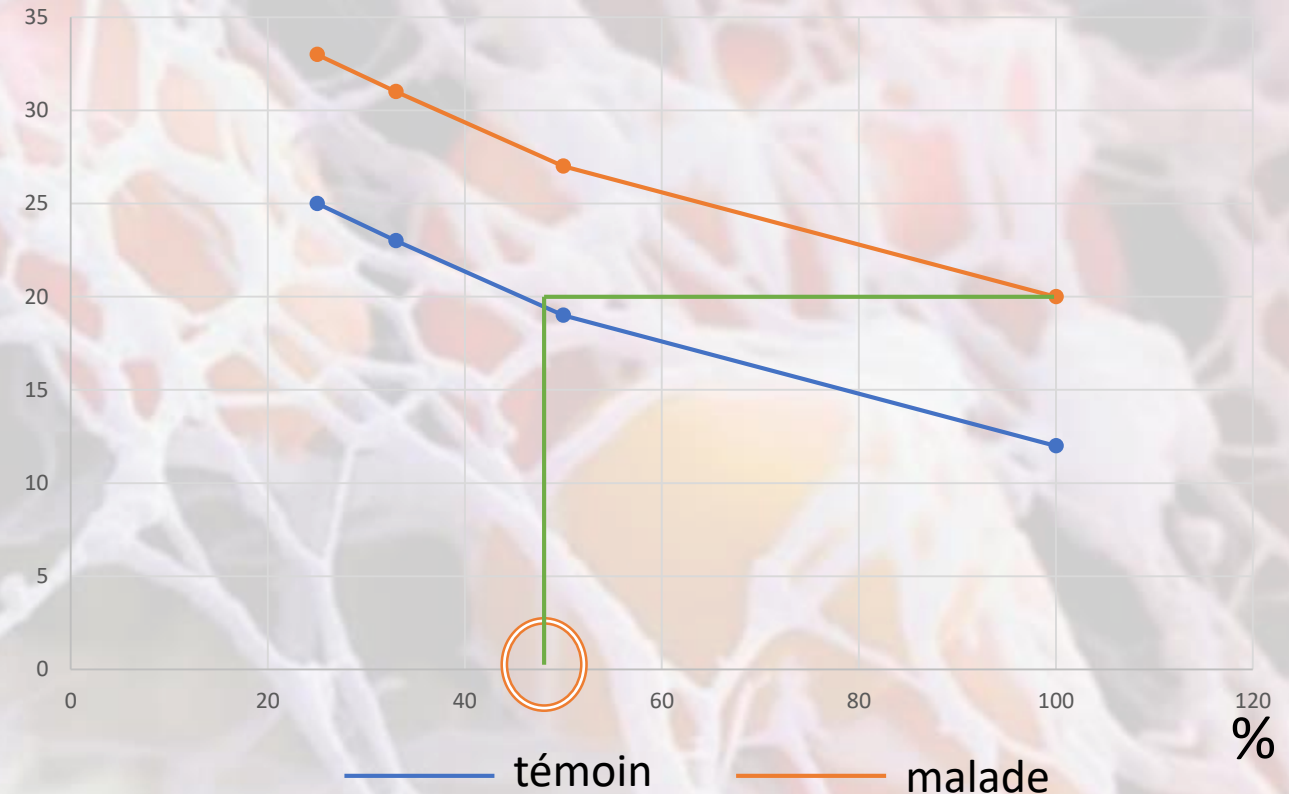
Modes d'expression des résultats

- ✓ TP (taux de prothrombine) : Temps de Quick (s) exprimé en pourcentage d'activité (%) par rapport à un pool de plasma normaux
- ✓ normaux
- ✓ Correspondance grâce à la droite de Thivolle
- ✓ Étalonnage: pool de plasma normaux et dilutions successives ou calibrant titrés

Dilution	%	T (sec)
pur	100	12
1/2	50	18
1/3	33	24
1/4	25	30

Valeurs usuelles TP = 70-100%

sec



TEMPS DE QUICK (TQ)

influence de la thromboplastine utilisée

Composition différentes en:

✓ **FT:** Concentrations différentes et Origines différentes

- thromboplastines d'origine bovine: THROMBOTEST (STAGO)
- thromboplastine humaine (placenta) : THROMBOREL S (SIEMENS)
- thromboplastines d'origine lapine: NEOPLASTINE CI+ (STAGO)
- thromboplastine humaine recombinante: INNOVIN (SIEMENS), RECOMBIPLASTIN (IL)

✓ **PL** anioniques: nature et concentrations

- Phosphatidylsérine
- Phosphatidylcholine
- Phosphatidyléthanolamine



✓ TQ différent

Surveillance du traitement des patients traités par AVK:

- ✓ la zone thérapeutique du TQ ou TP est variable selon la thromboplastine utilisée

TEMPS DE QUICK (TQ)

International Normalized Ratio (INR)

$$\text{INR} = \left(\frac{\text{TQ patient}}{\text{TQ témoin}} \right)^{\text{ISI}}$$

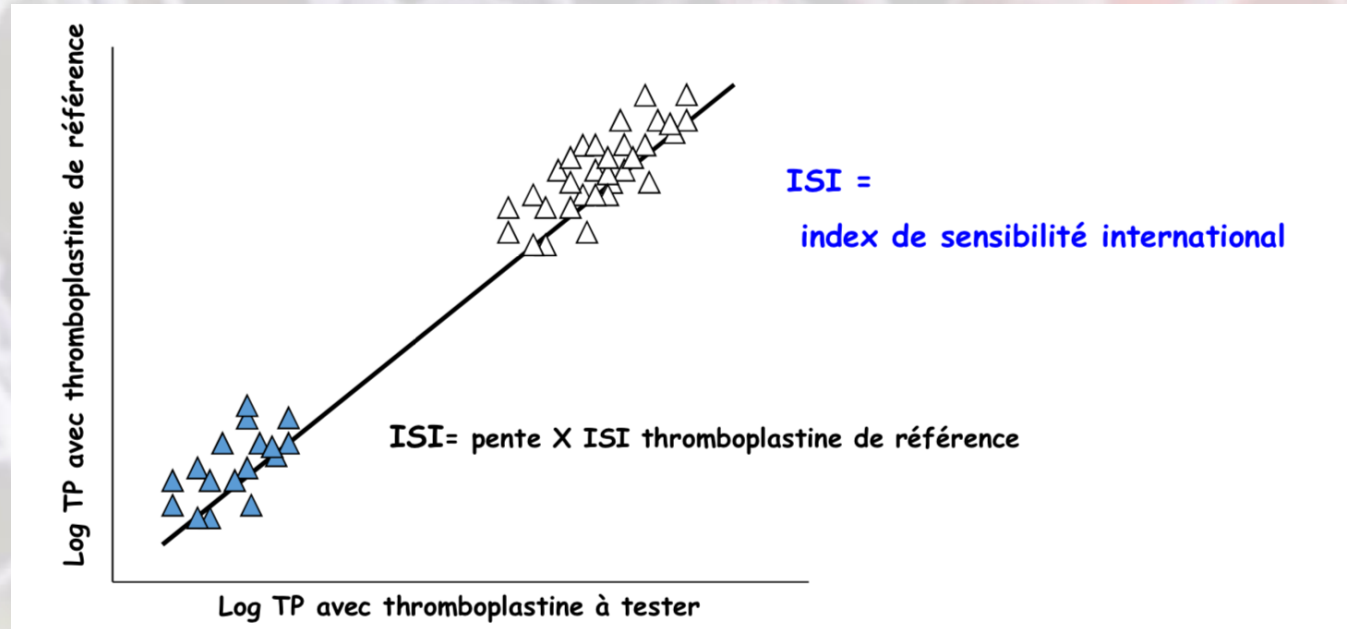
↑ Temps de Quick

← Indice de sensibilité international, spécifique du réactif thromboplastine utilisé

- ✓ TQ témoin: moyenne des valeurs de TQ sur au moins 20 témoins sains

TEMPS DE QUICK (TQ)

International Normalized Ratio (INR)



- ✓ Chaque fournisseur étalonne sa thromboplastine par rapport à une thromboplastine de référence fournie par l'OMS (20 sujets sains et 60 patients traités par AVK)
- ✓ Chaque fabricant indique l'ISI sur la notice du réactif donné pour un automate; réajustement possible avec des plasmas calibrés en INR
- ✓ ISI déterminé pour tube citrate à 3,2%
- ✓ ISI entre 1 et 2 en général (proche de 2: peu sensible)

TEMPS DE QUICK (TQ)

influence de la thromboplastine utilisée

Influence de diverses thromboplastines sur le ratio du Temps de Prothrombine

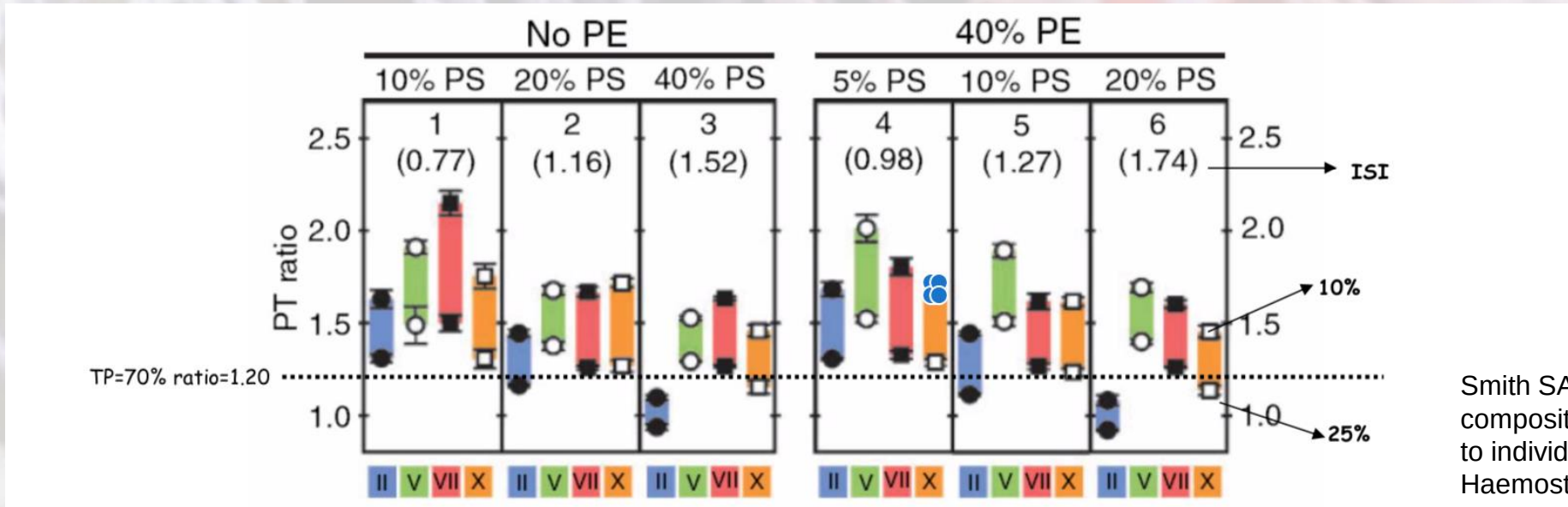
Echantillon d'un seul patient



Thromboplastines	TP Patient (Secondes)	Moyenne Normale (Secondes)	TP Ratio	ISI	INR
A	16	12	1.3	3.2	2.6
B	18	12	1.5	2.4	2.6
C	21	13	1.6	2.0	2.6
D	24	11	2.2	1.2	2.6
E	38	14.5	2.6	1.0	2.6

TEMPS DE QUICK (TQ)

influence de la thromboplastine utilisée



Smith SA. et al. Phospholipid composition controls sensitivity to individual clotting factors. J Thromb Haemost 2006; 4:820-7

- ✓ sensibilité variable aux déficits en facteurs (II, V, VII, X) :
- ❖ - En fonction de l'origine du FT:
 - ex: dosage du FVII:
 - la thromboplastine bovine surestime le taux de FVII
 - la thromboplastine lapine sous-estime le taux de FVII
- ❖ En fonction de la nature et concentration PL

TEMPS DE QUICK (TQ)

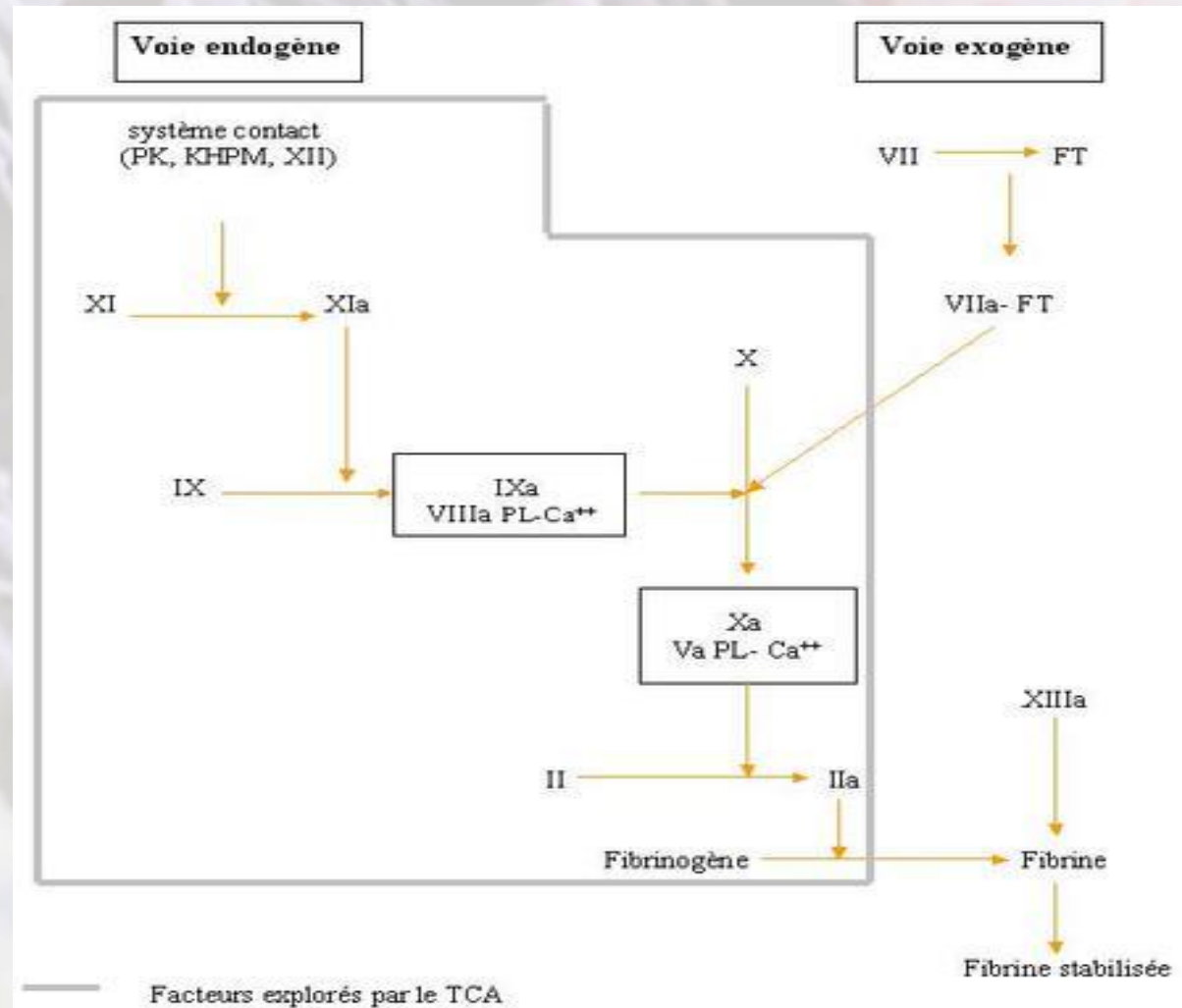
Recommandations

- ✓ utiliser une thromboplastine avec un ISI entre 0,9 et 1,7 (OMS)
- ✓ Sensibilité maximale au déficit en facteur II, VII, X
- En pratique: Privilégier une thromboplastine avec un ISI proche de 1
- ✓ CV intra-essai < 5% (CLSI)
- ✓ déterminer le temps de Quick témoin (s) et déterminer les valeurs de référence (TP>75%) sur au moins 20 témoins
- ✓ connaître la sensibilité de la thromboplastine utilisée au déficit en facteur de la voie extrinsèque (FVII notamment)
- En pratique: Privilégier une thromboplastine recombinante humaine pour le dosage de FVII

Temps de céphaline avec activateur (TCA)

- ✓ décrit en 1953
- ✓ Le TCA est le temps de coagulation d'un plasma citraté déplaquetté, recalcifié en présence de phospholipides et d'un activateur du système contact de la coagulation.
- ✓ Les phospholipides (céphaline) représentent un substitut plaquettaire.
- ✓ L'activateur du système contact peut être particulaire (kaolin, silice micronisée, célite) ou soluble (acide ellagique).
- ✓ Explore les facteurs de la voie intrinsèque et commune: KHPM, PK, XII, XI, IX, VIII et X, V, II, fibrinogène

Temps de céphaline avec activateur (TCA)



Temps de céphaline avec activateur (TCA)

technique

principe : Test chronométrique en deux temps

Temps de céphaline avec activateur (TCA)

technique

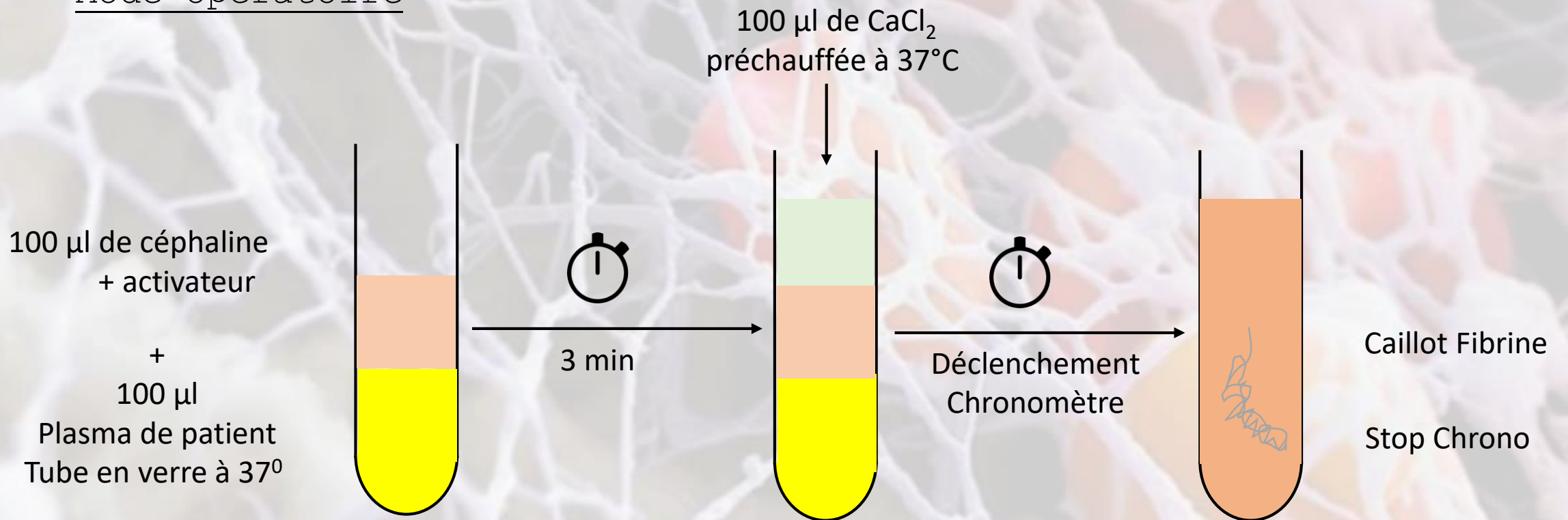
Matériel et réactifs:

- ✓ chronomètre
- ✓ micropipettes: 100 µl
- ✓ bain marie froid
- ✓ bain marie chaud
- ✓ tubes en verres
- ✓ tubes en plastique
- ✓ plasma malade
- ✓ chlorure de calcium
- ✓ réactif TCA : la céphaline et l'activateur de la phase contact

Temps de céphaline avec activateur (TCA)

technique

Mode opératoire



Temps de céphaline avec activateur (TCA)

Modes d'expression des résultats

- ✓ Le TCA est exprimé en secondes
- ✓ Les valeurs normales : 28 et 35 secondes en fonction du réactif et de l'instrument utilisé.
- ✓ L'expression sous forme d'un rapport M/T (temps du malade/temps du témoin) est également utilisée.
- ✓ L'allongement du TCA est significatif pour un rapport M/T supérieur à 1,2

Temps de céphaline avec activateur (TCA)

TCA Variabilité des céphalines utilisées

- ❖ **Toute les céphalines n'ont pas la même sensibilité**
 - variabilité en fonction de la composition des céphalines en:
 - ✓ Agent **activateur**: célite, silice, acide ellagique, kaolin
 - ✓ **Concentration** et **nature des PL**(PS): PL synthétiques de soja, céphaline...

LA Responsiveness	Example Reagents
High	Siemens Actin FSL Beckman-Coulter HemosIL aPTT-SP
Intermediate	Stago STA-PTT-LA Beckman-Coulter HemosILSynthASil
Low	Siemens Actin FS Stago C.K. Prest

Fritsma GA et al. Recommendations for appropriate Activated Partial Thromboplastin Time Reagent Selection and Utilization. Am J Clin Pathol 2012; 137:904-908

Temps de céphaline avec activateur (TCA)

TCA Variabilité des céphalines utilisées

❖ 3 principaux objectifs du TCA:

- ✓ Surveillance de traitements anticoagulants (HNF)
- ✓ dépistage d'un déficit en facteur (FVIII, FIX et FXI)
- ✓ dépistage d'un anticoagulant circulant

Temps de céphaline avec activateur (TCA)

Sensibilité aux anticoagulants lupiques (LA)

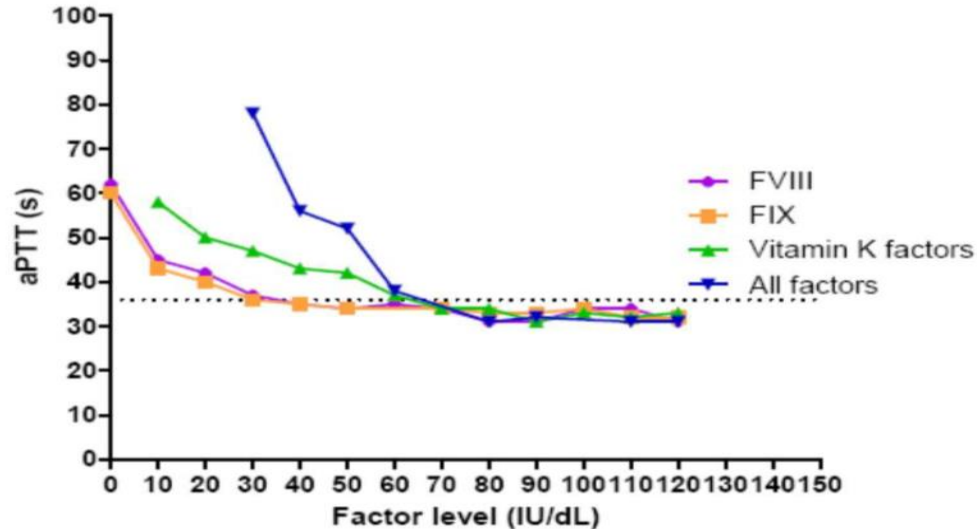
- ✓ LA neutralisent les PL présents dans le réactif : allongement du TCA
- ✓ La sensibilité du réactif dépend de sa concentration en PL (réactifs faiblement concentrés en PL (Actin FSL, PTT-LA) sensibles aux LA)

Diagnostic des LA:

- ✓ Privilégier un réactif très sensible aux LA (Actin FSL, PTTLA, SCT) pour le test de dépistage
- ✓ Confirmation:
 - par le même réactif (fortement enrichi en PL): SCTscreen/SCT confirm: +++
 - un réactif différent peu sensible: Actin FSL/Actin FS
- ✓ Toujours combiner ces tests avec le dRVVT (↑ sensibilité du diagnostic) (ISTH)

Temps de céphaline avec activateur (TCA)

Sensibilité au déficit en facteur



D'après « *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis* ». S.Kitchen, JD Olson, E.Preston. Wiley-Blackwell 2009

Table 1. Mean APTT responsiveness in U/dl of normal plasma to FVIII, FIX and FXI in four APTT reagents

APTT reagent	FVIII responsiveness (U/dl)	FIX responsiveness (U/dl)	FXI responsiveness (U/dl)
Synthasil	54	38.5	57.5
Actin FS	67.5	52.5	70
Dapttin	33.5	9.5	14
STA-PTTA	44	30.5	26

Bowyer AE *Int. Jnl. Lab. Hem.* 2011, 33, 154-158

- ✓ Sensibilité variable en fonction du déficit isolé ou combiné
- ✓ dépend de la composition de l'activateur:
acide ellagique > silice > kaolin ou célite (acide éllagique: insensible au déficit en PK)
- un TCA normal n'exclue pas un déficit mineur en facteur!!!!!!!

Temps de céphaline avec activateur (TCA)

Le choix d'un réactif (TCA) dépend de l'objectif fixé

- ✓ selon l'environnement clinique:
 - Cardio: bonne sensibilité pour TTT par HNF
 - Hémostase: bonne sensibilité aux déficits en facteurs/ sensibilité intermédiaire aux LA
- ✓ selon les performances (praticabilité, conservation, coût...)

Table 3

aPTT Reagent Usage Among Laboratories That Use Both Low and High LA Responsive Reagents: Fritsma Factor Survey Respondents

	No. of Laboratories* Low LA Responsiveness	High LA Responsiveness
Screen for intrinsic coagulation factor deficiency to predict bleeding risk	20	1
Monitor standard unfractionated heparin therapy	17	2
Screen for LA to predict thrombosis risk	2	18
All 3	7	

aPTT, Activated partial thromboplastin time; LA, lupus anticoagulant.

*Laboratories represent a subgroup (32%) of all survey respondents.

Fritsma GA et al. Recommendations for appropriate Activated Partial Thromboplastin Time Reagent Selection and Utilization. Am J Clin Pathol 2012; 137:904-908

Allongement isolé du TCA

- 1,2 fois temps témoin
- exclure la présence d'héparine (TT et TR ou anti-Xa)

Tableau clinique évocateur

- syndrome hémorragique inexpliqué
- apparition brutale d'un syndrome hémorragique

TCA MELANGE: déficit en facteurs ou anticoagulant circulant ?

- Mélange v/v avec un pool de plasma normaux
- Indice de Rosner = $[(TCA_{\text{mélange}} - TCA_{\text{témoin}}) / TCA_{\text{malade}}] * 100$

TCA corrigé

Rosner <12

Déficit en facteur

- VIII:
 - Hémophilie A
 - Willebrand
- IX:
 - Hémophilie B
- XI
- XII, PK, KHPM

Dosage des facteurs

(FVIII, FIX, FXI, FXII, PK, KHPM)

TCA non corrigé

Rosner >15

Présence d'un anticoagulant

↓ d'un seul facteur

ACC spécifique

Dépistage et Titrage de l'inhibiteur

↓ de plusieurs
facteurs ou facteurs
normaux

ACC non spécifique

Dépendance aux PL

Anticoagulants lupiques

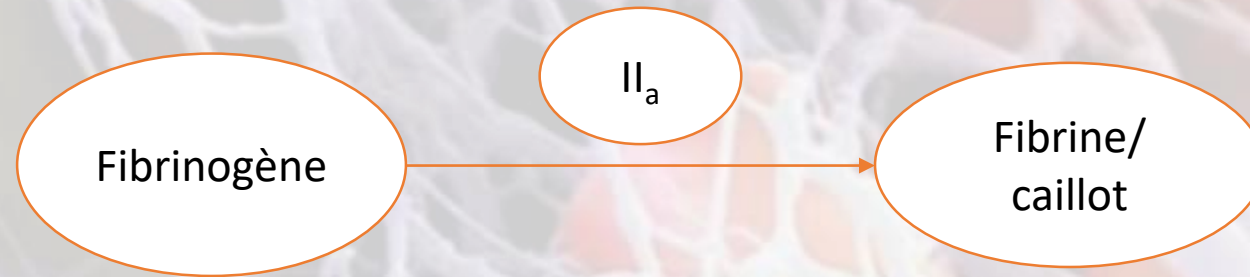
Temps de céphaline avec activateur (TCA)

recommandations

- ✓ connaître la sensibilité de la céphaline utilisée au déficit en facteur:
 - En pratique : Privilégier un réactif avec une détectant un déficit au minimum <30% (CLSI)
- ✓ Connaître la corrélation TCA/antiXa
- ✓ Déterminer le TCA témoin et le ratio p/t sur au moins 50 témoins
- ✓ Déterminer le seuil pathologique ($N > 1.2$; différence de 8 s par rapport au TCA témoin)
- ✓ Interprétation en fonction de l'âge !!!! (n-né: 31-54s, normalisation à 3 mois)

Temps de thrombine TT

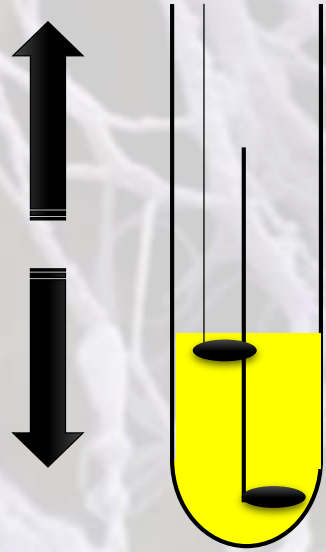
TEMPS DE THROMBINE : temps de coagulation à 37°C d'un plasma citraté pauvre en plaquettes auquel est ajouté de la thrombine exogène.



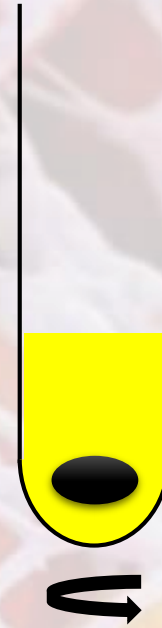
- ✓ explore la dernière phase de la coagulation= la fibrinoformation sans explorer le FXIII
- ✓ N= 15 à 20s
- ✓ sensible au taux de Fibrinogène (allongement si hypofibrinogénémie, dysfibrinogénémie)
- ✓ allongement en présence d'héparine, hirudine, PDF, Ig monoclonales, anticoagulants circulants

Détection de la formation du caillot de fibrine

Lectures oculaires



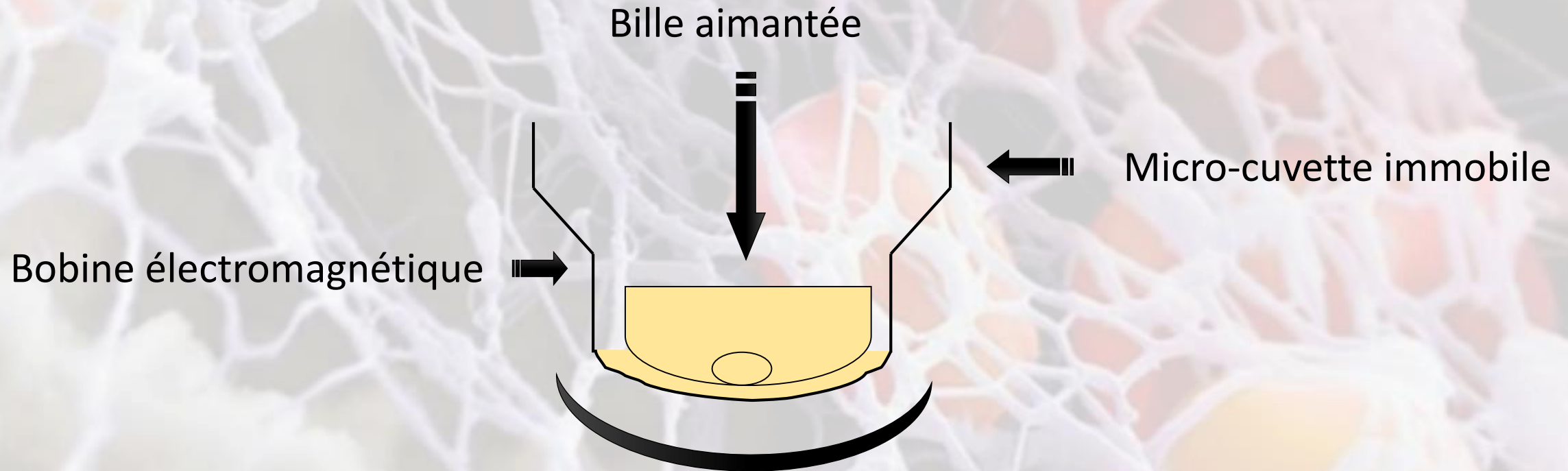
Technique du crochet :
accrochage caillot/filament
gélatineux



Barreau aimanté en rotation
fibrine: arrêt de rotation du
barreau

Détection de la formation du caillot de fibrine

Lecture électromagnétique » sur semi- ou automates complets

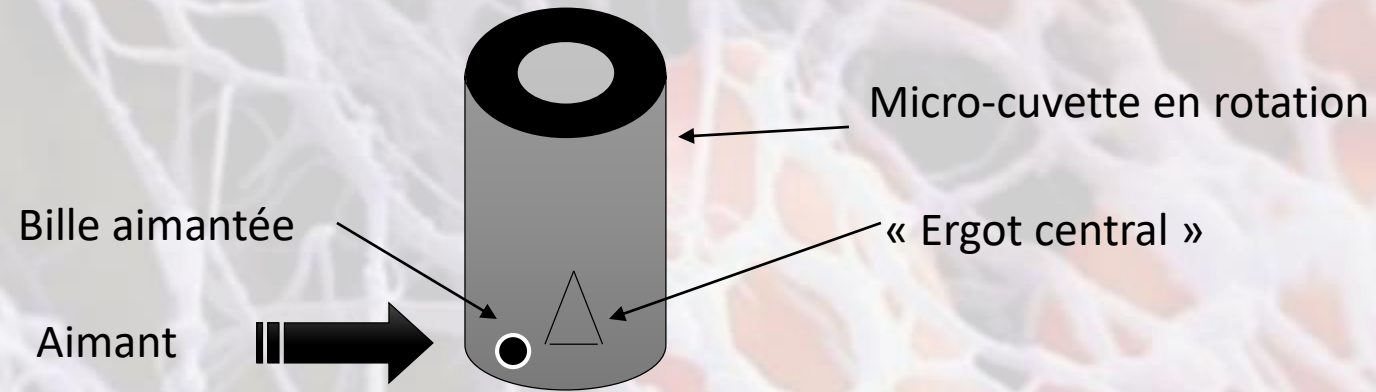


Oscillation pendulaire de la bille

caillot fibrine : ralentissement puis arrêt mouvement pendulaire

Détection de la formation du caillot de fibrine

Lecture électromagnétique » sur semi- ou automates complets



Immobilité de la bille par aimantation : emprisonnement dans caillot de fibrine provoque mise en rotation associée à la micro-cuvette

Détection de la formation du caillot de fibrine

Lecture optique

par turbidimétrie à 650 nm:

- ✓ DO départ: turbidité plasma (+réactifs)
- ✓ variation DO: addition réactif déclenchant
- ✓ variation DO: formation caillot fibrine

conclusion

- ✓ Evolution rapide depuis les années 50 de l'exploration de l'hémostase
grâce à
l'automatisation
- ✓ Approche statique évolue vers une exploration globale de l'hémostase
- ✓ Innovation technologique et biologie délocalisée : nouveaux tests en perspectives et évolution vers une prise en charge individualisée avec des traitements « sur mesure » adaptés aux besoins de chaque patient