

Les outils de l'hémostase délocalisée : apport, contraintes, validité diagnostique

Les tests d'hémostase délocalisée sont définis comme des tests réalisables au lit du patient, ayant comme objectif de réduire le délai d'obtention des résultats et donc d'améliorer la prise en charge du patient. L'hémostase délocalisée s'est considérablement développée ces dernières années, en ce qui concerne à la fois l'offre des tests et le nombre de tests réalisés.

Les tests actuellement disponibles en hémostase délocalisée sont :

- le temps de Quick/ INR
- le temps de céphaline activateur (ACT)
- l'héparinémie
- la thromboélastographie avec le TEG® et le ROTEM®
- les fonctions plaquettaires
- les D-Dimères

Nous aborderons les tests/automates les plus décrits dans la littérature

Temps de Quick (TQ)/INR sur sang total (CoaguChek®,Roche; Hemochron®, ITC ; INRatio®, Hemosens Inc)

Il s'agit d'automates ne nécessitant aucune étape de pipetage, les réactifs étant contenus dans une cartouche ou sur une bandelette. L'analyse est réalisable sur sang capillaire ou veineux : une goutte de sang est déposée sur le support et se mélange immédiatement avec le réactif. La détection du caillot varie en fonction des automates utilisés, il faut connaître les spécificités des différentes mesures afin de connaître les interférences possibles et interpréter les résultats. Ces automates sont validés pour la mesure de l'INR dans le cadre de la surveillance des traitements par AVK, ils sont recommandés pour la prise en charge des accidents hémorragiques sous AVK, si le délai d'obtention de l'INR au laboratoire est important. Enfin, ils pourraient guider la prise en charge transfusionnelle en cas d'hémorragie massive.

ACT (Activated Coagulation Time) (Hemochron signature®, ITC ; HMS®, Medtronic)

L'ACT est le test le plus utilisé pour surveiller l'anticoagulation des circulations extra corporelles (CEC) au cours desquelles l'héparinémie >1UI/ml rend les TCA sur plasma incoagulables. Un ACT de base devrait être réalisé chez tous les patients avant de débiter la CEC. Différentes variables modifient la valeur des ACT :

-Les ACT obtenus après activation par de la cérite sont plus longs que ceux obtenus après activation avec le kaolin

-L'hypothermie et l'hémodilution peuvent prolonger l'ACT :

-Avant d'être retirée du marché, l'Aprotinine allongeait l'ACT-cérite de façon dose dépendante, l'ACT-kaolin n'était pas sensible à l'Aprotinine.

L'Hepcon Haemostasis Management System (HMS®) n'est pas modifié par l'Aprotinine, mais est sensible à l'hémodilution et à l'hypothermie.

L'Hemochron Signature® utilise des cartouches à base de cérite, de kaolin et de phospholipides, il n'est pas sensible à l'Aprotinine, et montre une corrélation linéaire avec l'héparinémie entre 1 et 6 ui/ml

La Thromboélastographie® (TEG®, Haemoscope Corporation, IL, USA) et la thromboélastométrie (ROTEM®, Sysmex, Milton Keynes, UK)

Ces deux systèmes fournissent des informations globales sur la dynamique de formation du caillot, sa stabilisation et sa dissolution, reflétant principalement la polymérisation de la fibrine en présence de plaquettes. Les constantes mesurées quantifient les différentes phases de formation du caillot in vitro, il s'agit respectivement pour le TEG® et le ROTEM® : du R

(reaction time)/CT (clotting time) qui en mesurant le temps entre le dépôt du sang dans la cupule et le début de la formation du caillot reflètent l'activation des facteurs de coagulation ; de l'angle (α) qui évalue la formation de fibrine; du MA (amplitude maximale)/ MCF (fermeté maximale) qui mesurent le caillot formé par la fibrine et les plaquettes activées; du Ly(lyse)/ CL (lyse du caillot), qui calculent la réduction de l'amplitude du caillot à un temps donné après l'atteinte du MA/MCF, signifiant ainsi une fibrinolyse.

A l'origine, la thromboélastographie était réalisée sur sang natif sans activateur, l'utilisation d'un activateur a permis de standardiser l'initiation de la coagulation, d'augmenter le signal, et d'explorer plus spécifiquement certains facteurs. L'utilisation de sang citraté recalcifié permet de différer les tests qui présentent alors une stabilité maximale entre 30 min et 4H.

TEG®

La valeur du R est sensible à l'héparine. L'utilisation d'une cuvette coatée avec de l'héparinase permet de confirmer la présence d'héparine en cas de correction du R et de réaliser une mesure de la coagulation sur sang total malgré la présence d'héparine. Le MA reflète à la fois le nombre de plaquettes, leur activité et le fibrinogène. L'ajout d'Abciximab inhibe la GPIIb/IIIa plaquettaire et permet la mesure du fibrinogène fonctionnel ; ce test peut aider à différencier une thrombopénie/thrombopathie d'une hypofibrinogénémie face à un MA diminué. L'exploration plus spécifique des fonctions plaquettaires peut être réalisée par le platelet mapping. Un caillot faible de fibrine est généré à partir de sang hépariné en présence de reptilase et de FXIIIa. L'ajout d'un agoniste plaquettaire (ADP ou acide arachidonique) augmente la taille du caillot qui pourra atteindre la taille du MA kaolin si il n'existe aucune inhibition plaquettaire, en cas d'inhibition plaquettaire, un pourcentage d'inhibition plaquettaire est calculé par le logiciel de l'automate.

ROTEM®

L'utilisation de réactifs spécifiques permet d'explorer la voie intrinsèque (INTEM : phospholipides et acide ellagique) ou la voie extrinsèque (EXTEM : facteur tissulaire). Il existe trois adaptations supplémentaires incluant l'HEPTEM, qui contient une héparinase permettant de neutraliser l'héparine, l'APTEM, qui contient de l'aprotinine permettant d'inhiber une fibrinolyse, et le FIBTEM, qui contient de la cytochalasine qui en inhibant les plaquettes permet de doser le fibrinogène.

La thromboélastométrie apparaît sensible à la coagulopathie des hémorragies graves. Il est impératif de disposer d'un personnel dédié et formé, et la définition d'algorithmes transfusionnels sur la base d'une collaboration clinico biologique, permettra de mieux prendre en charge les coagulopathies et de réduire le hasard de la transfusion. Il y a un besoin évident d'études prospectives pour établir et valider les algorithmes transfusionnels basés sur les paramètres de la TE.

Les fonctions plaquettaires

Différentes machines existent pour la mesure des fonctions plaquettaires au lit du patient

Le PFA-100™ (Platelet Function Analyser) a été mis au point pour remplacer le temps de saignement. La cartouche test est composée d'un réservoir dans lequel sont déposés 800 μ l de sang citraté, d'un microcapillaire et d'une membrane de nitrocellulose percée d'un orifice central. Cette membrane est recouverte de collagène associé à un autre agent proagrégant, soit de l'adrénaline soit de l'ADP. Le sang est aspiré par le capillaire à travers

l'orifice de la membrane, le temps d'occlusion en seconde correspond au temps nécessaire à l'occlusion de l'orifice : il est corrélé à la qualité fonctionnelle des plaquettes et au facteur Willebrand. C'est un test sensible aux anomalies du facteur willebrand et aux thrombopathies, il n'est pas adapté à la surveillance des antiagrégants plaquettaires. Le temps d'occlusion peut être allongé en cas de thrombopénie ($NP < 100 \times 10^9 / \text{ml}$) ou d'anémie ($Hte < 30\%$). L'allongement du temps d'occlusion n'est pas prédictif du risque hémorragique.

VerifyNow® (Accumetrics, Inc., San Diego, California) utilise le principe de l'agrégométrie. Les différents compartiments de la cartouche contiennent des agonistes plaquettaires (activateur du récepteur plaquettaire de la thrombine (TRAP), acide arachidonique, ADP) ainsi que des billes coatées à du fibrinogène. Lorsque les plaquettes sont activées, elles se fixent sur le fibrinogène et les billes s'agglutinent et sédimentent. L'agglutination diminue lorsque l'inhibition plaquettaire augmente. La corrélation avec les tests d'agrégation plaquettaire traditionnels est bonne. Trois tests VerifyNow sont disponibles et permettent de mesurer la réponse plaquettaire aux traitements par aspirine, thienopyridine et antiGPIIb/IIIa.

Les tests utilisés pour la mesure de la réponse plaquettaire aux traitements antiagrégants dérivent de la mesure du déficit spécifique induit par le traitement et utilisent de faibles doses d'agonistes qui ne sont pas adaptés au monitoring des fonctions plaquettaires au cours des coagulopathies acquises (chirurgie, polytraumatisé, polytransfusé...). Dans ce contexte de thrombopathies acquises, un agoniste puissant, en général la thrombine, est nécessaire pour mesurer la capacité des plaquettes à s'activer.

L'Assurance Qualité (AQ)

L'AQ des automates d'hémostase délocalisée n'est pas moins importante que l'AQ des tests conventionnels réalisés au laboratoire, et doit rassembler toutes les mesures prises pour assurer la fiabilité des résultats et de leur transmission. Au sein des structures de soins, les automates d'hémostase délocalisée sont sous la responsabilité du biologiste qui aura participé à leur évaluation, et qui doit s'assurer de la bonne formation du personnel utilisateur et de la qualité des résultats rendus.