



Actualités sur le bilan biologique à la recherche d'une thrombophilie

Céline DESCONCLOIS

Service d'Hématologie biologique - Hôpitaux Universitaires Paris Sud

Collège d'Hématologie des Hôpitaux

8 décembre 2022



Prescription et réalisation d'un bilan biologique à la recherche d'une thrombophilie : propositions du GFHT 2022

Partie II : aspects méthodologiques et biologiques - v2.1

*Prescribing and performing a biological assessment for thrombophilia: GFHT 2022 proposals
Part II: methodological and biological aspects - v2.1*

Sous l'égide de Yves GRUEL¹ et Pierre MORANGE²

Coordonnateurs : Martine ALHENC-GELAS³, Élodie BOISSIER⁴, Isabelle GOUIN-THIBAUT⁵

Rédacteurs : Emmanuel DE MAISTRE⁶, Emmanuelle DE RAUCOURT⁷, Céline DESCONCLOIS⁸, Claire FLAUJAC⁹,
Marie-Françoise HURTAUD¹⁰, Georges JOURDI¹¹, Sylvie LABROUCHE-COLOMER¹², Véronique LE CAM¹³,
Dominique LASNE¹⁴, Laëtitia MAUGE³, Virginie SIGURET¹⁵

Relecteurs V1.0, 2020 : Thomas BRUNGS¹⁶, Luc DARNIGE³, Valérie ESCHWEGE¹⁷, Nathalie HEZARD², Léna LE FLEM¹⁸, Frédéric LORIDON¹⁹

Validation V2.0 et V2.1 : membres du GFHT.

Les propositions ont été soumises au vote et validées selon les critères suivants :

- Accord : 50 % d'accord ET moins de 20 % de désaccord ;
- Accord fort : 70 % d'accord ET moins de 20 % de désaccord.

LE BILAN BIOLOGIQUE DE THROMBOPHILIE :
CHEZ QUELS PATIENTS, QUELLES ANALYSES ET DANS QUELS BUTS ?

Propositions pratiques du GFHT et argumentaires

Nathalie Trillot, Yesim Dargaud, Yves Gruel et Pierre Morange au nom du groupe de travail du GFHT sur la thrombophilie

- Document de travail en cours de validation par les membres du GFHT
- Discussion encore en cours au sujet de 3 propositions



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



RECOMMANDATIONS

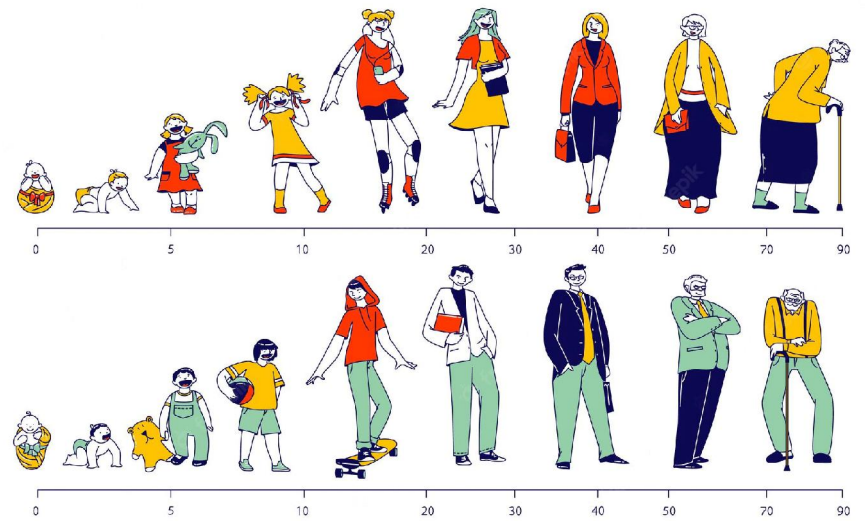
Recommandations de bonne pratique pour la prise en charge de la maladie veineuse thromboembolique chez l'adulte. Version courte



Recommendations of good practice for the management of thromboembolic venous disease in adults. Short version

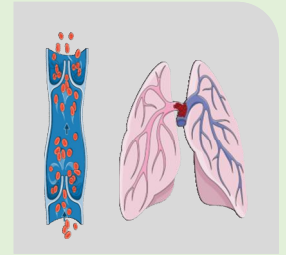
O. Sanchez^{a,b,*}, Y. Benhamou^c, L. Bertoletti^{b,d},
J. Constant^e, F. Couturaud^{b,f}, A. Delluc^{b,g}, A. Elias^{b,h},
A.-M. Fischer^{b,i}, P. Frappé^j, N. Gendron^k, P. Girard^l,
A. Godier^m, C. Gut-Gobert^{b,f}, S. Laporte^{b,n},
I. Mahé^{b,o,p}, L. Mauge^q, N. Meneveau^{b,r}, G. Meyer^{b,s},
P. Mismetti^{b,t}, F. Parent^{u,v}, G. Pernod^{b,w}, I. Quéré^{b,x},
M.-P. Revel^y, P.-M. Roy^{b,z,aa}, P.-Y. Salaün^{ab},
D.M. Smadja^{b,ac}, M.-A. Sevestre^{b,ad}

l'égide de la Société de pneumologie de langue française (SPLF), plusieurs sociétés savantes (la Société française d'anesthésie et de réanimation [SFAR], la Société française de cardiologie [SFC], la Société Française d'hématologie [SFH] et le Groupe d'étude sur l'hémostase de la thrombose [GEHT], la Société française de médecine nucléaire et imagerie moléculaire [SNFMI], la Société nationale de médecine interne [SFMN], la Société française de médecine d'urgence [SFMU], la Société française de médecine vasculaire [SFMV], la Société française de pharmacologie et de thérapeutique [SFPT] et la Société française de radiologie [SFR]) et le réseau labélisé F-CRIN INNOVTE se sont associés pour élaborer de nouvelles recommandations de bonnes pratiques afin d'assurer une prise en charge efficace de la MVTE à l'ensemble des patients.



Chez quels patients ?

Mme N



- 28 ans
- Consulte le 31/12 aux urgences pour **dyspnée** et **douleur basithoracique droite** en coup de poignard majorée à l'inspiration et aux mouvements
- Plusieurs **longs trajets en voiture** notamment 1 de 4h30 dans la nuit du 30/12

✓ Bilan biologique initial :

GR :	5,11 T/L	(N:3,8-5 T/L)
Hb :	12,9 g/dL	(N: 12-16 g/dL)
GB :	9,74 G/L	(N:4-10 G/L)
Plq :	173 G/L	(N:150-400 G/L)
TP :	82%	(N: >70%)
TCA R :	1,14	(N: <1,20)
Fg :	3,3 g/L	(N: 1,5-4 g/L)
Ddimères :	>20000 ng/mL	(N: <500 ng/mL)

✓ Imagerie :

- Radio du thorax
- **Angioscanner thoracique :**
Embolie pulmonaire proximale bilatérale prédominant en lobaire inférieur droit compliquée d'un infarctus pulmonaire basal droit

✓ Traitement :

Enoxaparine (LOVENOX®)
6000 UI x 2/j

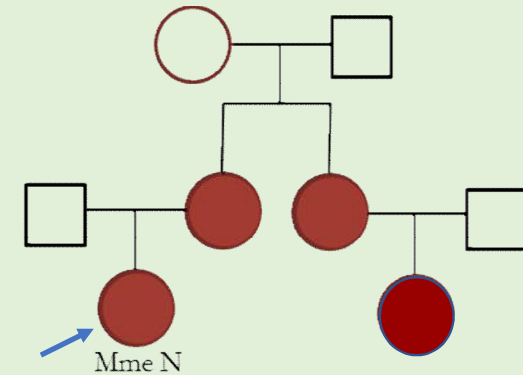
Antécédents de Mme N

Familiaux

- ❖ **Thrombophlébite cérébrale** chez sa mère
- ❖ **TVP** chez une tante maternelle
- ❖ **TVP** chez une cousine germaine maternelle, en post partum

Personnels

- ❖ Poids 56 Kg
- ❖ **Contraception orale** : Désogestrel 75 depuis 2020, précédemment Leeloo
Aucun autre traitement
- ❖ **Tabagisme actif** : 0,8 PA
- ❖ Téréatome opéré en 2020
- ❖ Pas d'autre atcd de TVP ou d'EP



Parmi les situations suivantes, laquelle (lesquelles) est (sont) une indication à un bilan de thrombophilie ?

- TVP proximale ou EP non provoquée avant 50 ans
- TVP distale après 50 ans
- TV non provoquée sur site atypique
- Complications obstétricales
- Récidive de TVP proximale ou d'EP si 1^{er} épisode avant 50 ans

Parmi les situations suivantes, laquelle (lesquelles) est (sont) une indication à un bilan de thrombophilie ?

- TVP proximale ou EP non provoquée avant 50 ans**
- TVP distale après 50 ans
- TV non provoquée sur site atypique**
- Complications obstétricales
- Récidive de TVP proximale ou EP si 1^{er} épisode avant 50 ans**

Mme N

→ Bilan thromboembolique indiqué car :

- Embolie pulmonaire bilatérale proximale non provoquée
- Femme en âge de procréer
- **Histoire familiale de thrombose**

Tableau 12 Définition des facteurs de risque cliniques de MVTE.

	Transitoire	Persistant
Majeur ^a	Chirurgie avec anesthésie générale > 30 minutes dans les 3 derniers mois Fracture des membres inférieurs dans les 3 derniers mois Immobilisation > 3 jours pour motif médical aigu dans les 3 derniers mois Contraception estroprogestative ^b , grossesse ^b , <i>post-partum</i> ^b , traitement hormonal de la ménopause ^b	Cancer actif
Mineur ^c	Chirurgie avec anesthésie générale < 30 minutes dans les 2 derniers mois Traumatisme d'un membre inférieur non plâtré avec mobilité réduite ≥ 3 jours Immobilisation < 3 jours pour motif médical aigu dans les 2 derniers mois Voyage > 6 heures	Maladies inflammatoires chroniques digestives ou articulaires : Crohn, recto-colite hémorragique

Plusieurs trajets de 5h chez Mme N

Une MVTE est non provoquée si elle survient en l'absence de facteur majeur transitoire et de facteur majeur persistant.

^a Ces facteurs de risque de récurrence sont définis comme majeurs car ils ont un impact majeur sur la décision de stopper ou de prolonger le traitement anticoagulant.

^b Ces facteurs sont définis comme mineurs transitoires dans la classification de Kearon et al. Toutefois, dans notre classification, ils sont classés comme majeurs transitoires car le risque de récurrence après arrêt de traitement est aussi faible (une fois le facteur absent) qu'après une chirurgie et que leur impact est donc majeur sur la décision de stopper le traitement anticoagulant.

^c Ces facteurs de risque de récurrence sont définis comme mineurs car ils ont un impact mineur ou non démontré sur la décision de stopper ou de prolonger le traitement anticoagulant (il s'agit donc de facteurs de modulation).

Chez quels patients ?

Indications du bilan de thrombophilie biologique

Grade 1-
THROMBOPHIL
Pas de bilan systématique après un 1 ^{er} épisode de MTEV
Pas de bilan après un 1 ^{er} épisode de TVP proximale ou EP après 50 ans provoqué ou non
RECHE

Grade 1+/-: recommandation forte et positive/négative

Grade 2+/- : recommandation optionnelle et positive/négative

Recommandations de bonne pratique pour la prise en charge de la maladie veineuse thromboembolique chez l'adulte 2019, Sanchez et al, Revue des maladies respiratoires

Chez quels patients ?

Propositions pratiques du GFHT pour la prescription du bilan de thrombophilie, en cours de validation

Indications du bilan de thrombophilie biologique

- **Systematiquement** uniquement chez les patients de **moins de 50 ans après un ETE veineux proximal et spontané** ou provoqué par un facteur déclenchant mineur (ou chez la **femme dans un contexte hormonal**)
- Thromboses distales :
 - **Pas** de bilan dans les suites d'un 1^{er} épisode de TVP distale provoqué ou non **chez l'homme** en l'absence d'atcd familial
 - **Bilan** chez la **femme en âge de procréer** si TVP distale non provoquée ou associée à un contexte hormonal (impact sur PEC grossesse)
 - Qq soit sexe, bilan **si récurrence de TVP distale non provoquée** par un facteur déclenchant majeur si âge < **50 ans**

LOADING...

Chez quels patients ? Femmes

Propositions pratiques du GFHT pour la prescription
du bilan de thrombophilie, en cours de validation

- PMA :
 - si atcd familial au premier degré avant 50 ans et/ou thrombophilie sévère connue
 - si atcd personnel de TVP quelle qu'elle soit
- Grossesse :
 - si atcd personnel de TVP quelle qu'elle soit
 - si atcd familial documenté mais non exploré et si apparenté direct symptomatique non accessible
- THS :
 - si atcd familial documenté mais non exploré et si apparenté direct symptomatique non accessible
- Traitement hormonal adjuvant du cancer du sein :
 - si atcd personnel ou familial

LOADING...

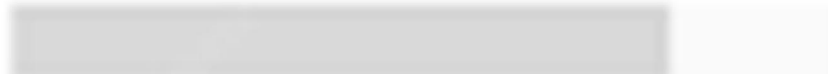


Chez quels patients ? Nouveau-nés et enfants

Propositions pratiques du GFHT pour la prescription
du bilan de thrombophilie, en cours de validation

- Purpura fulminans néonatal ou associé à une infection virale
- Thromboses sévères et / ou étendues en l'absence de situation clinique favorisante
- Enquête familiale : dépistage proposé à partir de la puberté

LOADING...



Quelles analyses ?



Mme N

Bilan de
thrombophilie de
1^{ère} intention ?

- NFS, TP, TCA, Fg, TT
- Dosage de l'activité des inhibiteurs de la coagulation (AT, PC, PS)
- Génotypage de la PC, PS, AT
- Bilan Willebrand
- Recherche des variants FV Leiden et c.*97G>A du gene du FII (ex G20210A)
- Homocystéinémie
- Recherche des mutations de JAK2 et HPN
- Ac anti-phospholipides

Bilan de
thrombophilie de
1^{ère} intention ?

- NFS, TP, TCA, Fg, TT
- Dosage de l'activité des inhibiteurs de la coagulation (AT, PC, PS)
- Génotypage de la PC, PS, AT
- Bilan Willebrand
- Recherche des variants FV Leiden et F2 c.*97G>A
- Homocystéinémie → *Dans les formes graves chez l'enfant ou l'adulte jeune avec un tableau neurologique*
- Recherche des mutations de JAK2 et HPN → *Si thrombose sur site atypique (splanchnique+++)*
- Ac anti-phospholipides

Quelles analyses ?

Investigations : thromboses de localisation « habituelle » (1)



- Hémogramme
- Hémostase usuelle :
 - TQ (fonction hépatique) +/- facteurs du TQ : éventuellement dosage FVII (voire FVII+X) pour interprétation diminution PC
 - TCA
- Fibrinogène : dosage fonctionnel (Von Clauss) pour
 - **détection d'une anomalie du fibrinogène** + éventuellement TT et/ou TR pour dépistage d'une anomalie constitutionnelle du Fg mais actes hors nomenclature
 - évaluation du syndrome inflammatoire
- **Inhibiteurs physiologiques de la coagulation : AT PC PS**
- **Recherches des variants thrombogènes du F2 c.*97G>A et F5 FV Leiden** (RPCA dans certaines situations : transplantation hépatique, greffe CSH)
- **Anticorps anti phospholipides :**
 - **anticoagulant de type lupique (LA)**
 - **anticorps IgG/IgM anti-cardiolipine et anti-β2GPI**
- **Ddimères** : non recommandés dans le bilan initial mais éventuellement pour évaluer le risque de récurrence (avec une méthode de mesure utilisée dans les scores)

Quelles analyses ?

Investigations : thromboses de localisation « habituelle » (2)

- **Groupe sanguin ABO**
- **FVIII** : proposition en discussion (probablement ne sera pas retenu)
- **Homocystéine** : cas particuliers des thromboses graves et récidivantes de l'adulte jeune
- En cas de **thromboses familiales documentées** (au moins 3 apparentés de 1^{er} degré atteints) et si BTE initial négatif : discuter avec centre expert d'autres facteurs génétiques de risque par des **analyses génomiques spécialisées**

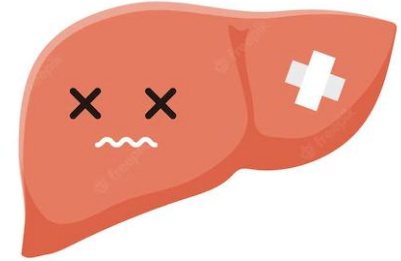


Non recommandé : dosages LPa, TFPI, TAFI, recherche polymorphisme C677T de la MTHFR, 4G/5G du PAI-1, Val34Leu du facteur XIII, C46T du facteur XII, C536T du TFPI, mutations Hong Kong et Cambridge du facteur V.

Propositions pratiques du GFHT pour la prescription du bilan de thrombophilie, en cours de validation

Quelles analyses ?

Investigations : thromboses de localisation atypique



- **Hémoglobinurie Paroxystique Nocturne HPN :**
 - en particulier en cas de syndrome de Budd Chiari et de thrombose de la veine porte non cirrhotique
 - en cas de thrombose associée à des signes d'hémolyse et/ou à un cytopénie
- **Mutations associées aux syndromes myéloprolifératifs :**
 - *JAK2* V617F si thrombose veineuse splanchnique sans cause,
 - *CALR* (si splénomégalie > 16 cm et plaquettes > 200 G/L)

Quelles analyses ?

Enquête familiale

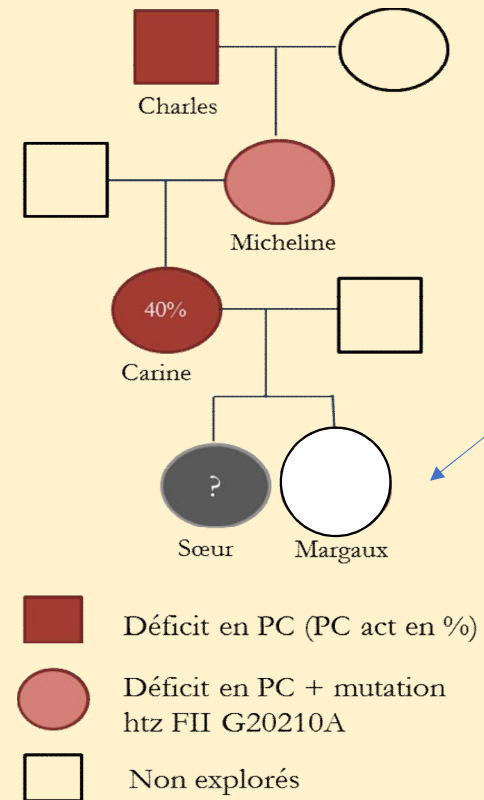
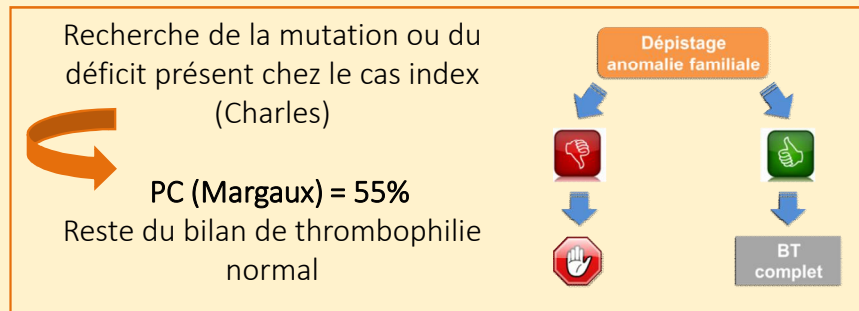
- Dépistage proposé à partir de la puberté
- En premier intention, en cas de déficit en AT, PC, PS ou double hétérozygotie *F5 F2* ou d'homozygotie *F5 F2*
 - rechercher uniquement le facteur de risque biologique diagnostiqué chez le cas index
 - compléter seulement si la recherche est positive

Propositions pratiques du GFHT pour la prescription du bilan de thrombophilie, en cours de validation

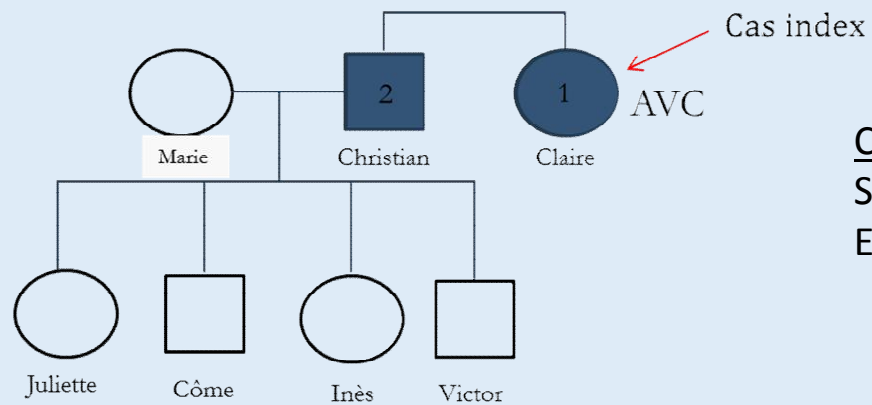
Enquête familiale : famille M

Margaux, 17 ans, adressée par sa gynéco pour enquête familiale dans le cadre d'un déficit en PC

Comment procéder à l'enquête familiale ?



Enquête familiale : famille S



Claire : hétérozygote pour la mutation FV Leiden
Son frère Christian est porteur
Enquête chez ses 4 enfants

● Mutation hétérozygote du FV Leiden

○ Non explorés

1 Ordre de diagnostic

Quel(s) test(s) est
(sont) indiqué(s) en
première intention ?

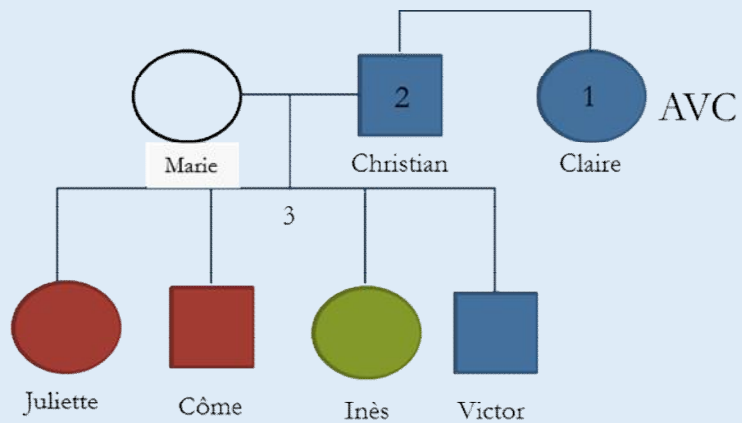
- Bilan de thrombophilie constitutionnel complet
- Recherche du variant *F2* c.*97G>A
- Recherche de résistance à la protéine C activée (RPCA)
- Recherche de la mutation R506Q (FV Leiden)
- Aucune exploration

Quel(s) test(s) est
(sont) indiqué(s) en
première intention ?

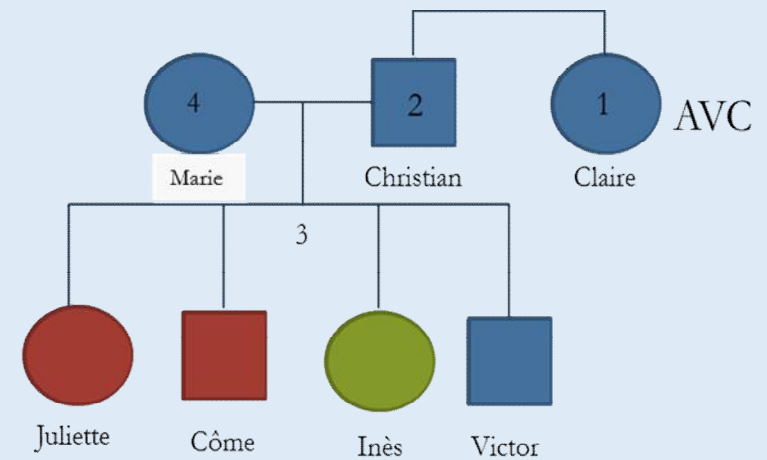
- Bilan de thrombophilie constitutionnel complet
- Recherche du variant *F2 c.*97G>A*
- Recherche de résistance à la protéine C activée (RPCA)
- Recherche de la mutation R506Q (FV Leiden)
- Aucune exploration

Enquête familiale : famille S

Résultats



- Mutation hétérozygote du FV Leiden
- Mutation homozygote du FV Leiden
- Absence d'anomalies
- Non exploré
- 1 Ordre de diagnostic



- Mutation hétérozygote du FV Leiden
- Mutation homozygote du FV Leiden
- Absence d'anomalies
- 1 Ordre de diagnostic

Quelles analyses ?

Enquête familiale

- Dépistage proposé à partir de la puberté
- En premier intention, en cas de déficit en AT, PC, PS ou double hétérozygotie *F5 F2* ou d'homozygotie *F5 F2*
 - rechercher uniquement le facteur de risque biologique diagnostiqué chez le cas index
 - compléter seulement si la recherche est positive
- En cas d'hétérozygotie *F5 F2* , exploration **PRIORITAIREMENT** des femmes en âge de procréer et apparentés directs du cas index

Propositions pratiques du GFHT pour la prescription du bilan de thrombophilie, en cours de validation

Quand ?



Bilan de thrombophilie de Mme N

Bilan du 01/01

LOVEN	Lovenox	
TQ.P	*17.8 s	
TQ	*64 %	>70
TQ INR	*1.30	
TQ.T	*13.8 s	
TCA.P	*52 s	
TCA.T	*35 s	
TCA.R	*1.48	<1.20
Dépistage aXa Com	*Détection d'un@	
TT.P	16 s	<T+ 5 sec
TT.T	17 s	
FIB	4.5 g/L	1.5-4.0
F II	>100 %	60-140
F V	>100 %	60-140
F VII+X	67 %	60-140
WR DEPP	67.8 s	
WR DEPT	42.9 s	
WR DEPR	1.58	<1.15
WR CONF P	44.1 s	
WR CONF T	37.6 s	
WR CONF R	1.17	
WR RN	1.35	<1.20
WR CONC	{<LACPOS}	
AT	89 %	>80
PC Act.	83 %	>70
PS Act	11 %	>50

B2GP1 G_CF	<1.40 U/mL	<20.00
B2GP1 M_CF	<1.50 U/mL	<20.00
ACL G_CF	2.40 UGPL	<20.00
ACL M_CF	<1.50 UMPL	<20.00

*Le **consentement** doit être recueilli préalablement à l'examen génétique*

Activité anti Xa = 0,49

FII Rec_SG	{<ABS}
FV Leiden Rec_SG	{<ABS}

Comment interprétez-vous ce bilan ?

→ TCA allongé (Enoxaparine, syndrome inflammatoire ?)
dRVVT positif
PS ↓↓

Bilan de thrombophilie de Mme N

Bilan du 01/01

LOVEN	Lovenox	
TQ.P	*17.8 s	
TQ	*64 %	>70
TQ INR	*1.30	
TQ.T	*13.8 s	
TCA.P	*52 s	
TCA.T	*35 s	
TCA.R	*1.48	<1.20
Dépistage aXa Com	*Détection d'un@	
TT.P	16 s	<T+ 5 sec
TT.T	17 s	
FIB	4.5 g/L	1.5-4.0
F II	>100 %	60-140
FV	>100 %	60-140
FVII+X	67 %	60-140
WVR DEPP	67.8 s	
WVR DEPT	42.9 s	
WVR DEPR	1.58	<1.15
WVR CONF P	44.1 s	
WVR CONF T	37.6 s	
WVR CONF R	1.17	
WVR RN	1.35	<1.20
WVR CONC	{<LACPOS}	
AT	89 %	>80
PC Act.	83 %	>70
PS Act	11 %	>50

FII Rec_SG	{<ABS}
FV Leiden Rec_SG	{<ABS}

Activité anti Xa = 0,49

B2GP1 G_CF	<1.40 U/mL	<20.00
B2GP1 M_CF	<1.50 U/mL	<20.00
ACL G_CF	2.40 UGPL	<20.00
ACL M_CF	<1.50 UMPL	<20.00

Il est préférable de réaliser le bilan au moment du diagnostic avant l'instauration du ttt anticoagulant

- ➔ ✓ Diminution importante et isolée de la PS (AT et PC N)
- ✓ TCA long : Enoxaparine ?, syndrome inflammatoire ?
- ✓ Présence d'un anticoagulant de type lupique dont la persistance est à contrôler dans 12 semaines
- ✓ Absence de mutation du FV Leiden et du FII G20210A

Quand ?



- Auparavant : à distance de l'épisode aigu et du traitement anticoagulant
- 2022 : **Si cela est possible avant le début d'un traitement anticoagulant et sans que celui-ci soit retardé**
- En cas d'anomalie identifiée lors d'un premier bilan
 - il est recommandé de
 - pour les anomalies plaquettes organisées en tenant compte des traitements anticoagulants
- Le biologiste en charge doit avoir une bonne maîtrise des méthodes et performances des réactifs



Non recommandé pendant la grossesse : diminution acquise de la PS, parfois de l'AT voire de la PC + sensibilité du LA modifiée avec augmentation physiologique du FVIII et hémodilution

Comment ?



Pré-analytique



- **Tube citrate sodium 0,105-0,109 M (3,2%)** après un tube de purge ou si ponction veineuse franche
- **Transport le plus rapide** à TA (15-25 °C), idéalement dans l'heure
- **Centrifugation** : au moins 15 minutes à 1500-2000g ou 10 minutes à 2000-2500g. Frein puissance maximale possible.
- Objectif : **plaquettes < 10 G/L**. Double centrifugation avec étape de décantation intermédiaire systématique recommandée pour les anticoagulants de type lupique
- **Plasmas congelés** : aliquotes de petits volumes, volume mort minimal, matériau non mouillable, idéalement à $\leq -70^{\circ}\text{C}$ mais possible $\leq -20^{\circ}\text{C}$, transport en carboglace.
- **Décongélation** : rapide, à adapter au vol du plasma, à 37°C de préférence au BM, homogénéisation par retournements
- Si **transport en carboglace** : attention à l'acidification du milieu (effet sur LA ++) qui peut être reversé en conservant les tubes au moins 24h à -70°C ou décongélation tubes ouverts



Stabilité des paramètres d'hémostase spécialisée et délais de réalisation des analyses
Mise à jour juin 2020

En l'absence de données suffisantes, le GFHT ne se prononce pas sur la conformité de conditions de conservation non mentionnées dans le tableau ([lien vers Recommandations texte long GFHT délai de réalisation](#))

Paramètre	PLASMA DECANTE et CONGELE			
	Recommandé	Acceptable	Non conforme	Pas de données ou données insuffisantes
Transport en carboglace des échantillons	- Après transport en carboglace, conservation à T°C ≤ -70°C au moins 3 jours avant dosage	- Après transport en carboglace, conservation à T°C ≤ -70°C au moins 24h avant dosage - Conservation à T°C ≤ -70°C et décongélation au bain-marie à 37°C, tube ouvert pendant quelques minutes - Maintien des échantillons 15 minutes à TA, tube ouvert, après la décongélation et avant réalisation des dosages	- Après transport en carboglace, conservation à une T°C de -20°C avant le dosage	- Aucune donnée pour la conservation entre -20°C et -70°C après le transport en carboglace - Effet de la décongélation en tube ouvert après conservation à -20°C suivant le transport en carboglace

Tableau 1 : Stabilité des paramètres (sang total et plasma), d'après les propositions du GFHT.

Table 1: Stability of parameters (whole blood and plasma), based on GFHT proposals.

Paramètre	Sang total à T°C ambiante	Plasma frais à T°C ambiante	Plasma frais à T°C réfrigérée
Fibrinogène	au moins 24 h	au moins 24 h	au moins 24 h
D-dimères	au moins 24 h	DI	DI
Antithrombine (activité et antigène)	au moins 24 h	≤ 24 h	au moins 24 h
Protéine C (activité et antigène)	au moins 24 h	au moins 4 h	au moins 4 h
Protéine S (activité)	au moins 4 h	≤ 24 h	DI
Protéine S libre antigène	au moins 24 h	au moins 4 h	DA
Résistance à la protéine C activée	≤ 48 h	≤ 48 h	DA
Recherche d'anticoagulant circulant de type lupique	au moins 4 h	≤ 4 h et double centrifugation ou simple centrifugation si plaquettes < 10 G/L	DA

Légende : DI : données insuffisantes ; DA : données absentes ; T°C ambiante : 15-25°C selon la Pharmacopée Européenne ; T°C réfrigérée : 2-8°C selon la Pharmacopée Européenne ; « Au moins » correspond aux durées maximales étudiées et sans effet (pas de données au-delà de ces durées).

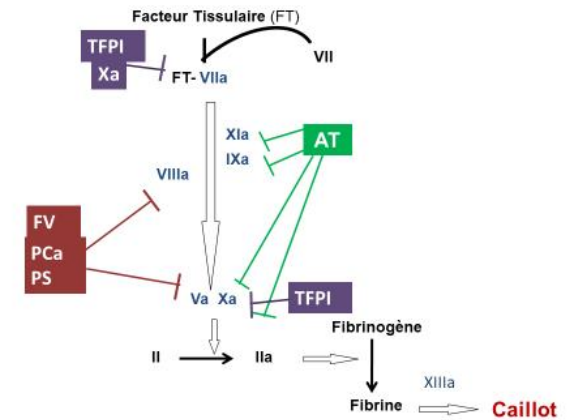
Tableau 2 : Stabilité des paramètres congelés, d'après les propositions du GFHT.

Table 2: Stability of frozen parameters, based on GFHT proposals.

Paramètre	Plasmas congelés à au moins -20°C	Plasmas congelés à au moins -70°C	Cycle de congélation/décongélation
Fibrinogène	au moins 24 mois	au moins 24 mois	
D-dimères	au moins 24 mois	au moins 36 mois	Pas d'impact de plusieurs cycles après congélation 1 à 2 semaines à au moins -60°C
Antithrombine (activité et antigène)	au moins 24 mois	au moins 24 mois	DA
Protéine C (activité et antigène)	au moins 24 mois	au moins 24 mois	DA
Protéine S (activité)	≤ 12 mois	≤ 18 mois	Pas de recongélation après décongélation
Protéine S libre antigène	au moins 3 mois	au moins 3 mois	Pas de recongélation après décongélation
Résistance à la protéine C activée	au moins 2 semaines	au moins 1 mois	Pas de recongélation après décongélation
Recherche d'anticoagulant circulant de type lupique	au moins 2 semaines	Au moins 1 semaine	Pas de recongélation après décongélation

Légende : DA : données absentes ; « Au moins » correspond aux durées maximales étudiées et sans effet (pas de données au-delà de ces durées).

Inhibiteurs de la coagulation



Méthodes et stratégie pour explorer les inhibiteurs AT, PC et PS

Tableau 4: Valeurs de référence des inhibiteurs de la coagulation (%) chez les nouveau-nés à terme, les enfants et les adultes.

Table 4: Reference values for coagulation inhibitors (%) in term neonates, children and adults.

Références	J1	J3	J5	J15	J30	J90	J180	6-11 mois ou 7-12 mois	1-5 ans	6-10 ans	11-16 ans ou 11-18 ans	Adultes (> 16 ans)*
AT antigène												AT
29,30	63 ± 13		67 ± 13		78 ± 15	97 ± 12	104 ± 10		80-120			
AT activité												
31	76 58-90	74 60-89					109 72-134					80-120
32						105 81-126		110 90-132		80-120		
33				41 33-63		80 29-120		96 63-122	97 61-128	97 64-136	97 69-136	
PC antigène												PC
29,30	35 ± 9		42 ± 11		43 ± 11	54 ± 13	59 ± 11		66 40-92	69 45-93	83 55-111	
PC amidolytique												
31	36 24-44	44 28-54					71 31-112		96 65-127	100 71-129	94 66-118	
32						66 43-102		76 59-103		70-140		
33				39 27-48		51 23-95		80 47-151	93 59-148	101 46-154	99 72-155	70-140
PC coagulante												
31	32 24-40	33 24-51					77 28-124		94 50-134	94 64-125	88 59-112	
32						70 41-115		83 60-117	97 63-133	98 62-134	100 71-144	
33				38 30-115		82 28-128		85 44-151	86 61-144	91 39-170	95 66-127	
PS totale												PS
29,30	36 ± 12		50 ± 14		63 ± 15	86 ± 16	87 ± 16		86 54-118	78 41-114	72 52-92	
PS libre												≥ 60 (hommes)
33				84 61-108		95 48-127		86 63-139	86 53-135	95 62-142	94 61-131	
PS coagulante												≥ 50 (femmes non ménopausées)
31	36 28-47	49 33-67					102 29-162		101 67-136	109 64-154	103 65-140	
32						84 59-99		85 59-110	85 60-115	87 63-116	90 62-126	≥ 55 (femmes ménopausées)
33				90 29-115		82 33-154		88 52-138	98 60-149	105 67-162	99 53-147	

Légende : * [références : **28, 30, 33-36**] ; Andrew *et al.* : moyenne+/1SD ou IC 95 % ; Monagle *et al.* : moyenne (limites : 95 % population) ; Appel *et al.* : médiane (IC 90 %) ; Toulon *et al.* : médiane [5° -95° percentile].

Mme E

- Femme de **38 ans**, IMC : 29,9 Kg/cm²
- **TV** de la veine tibiale postérieure droite diagnostiquée dans un contexte d'anémie profonde Hb 6,4 g/dL, par carence martiale sur saignements gynécologiques en lien avec des fibromes utérins

→ Traitement par rivaroxaban (XARELTO®) puis relais par apixaban (ELIQUIS®) pour cause de ménorragies

Dosage des inhibiteurs **avant la mise sous anticoagulant**

AT	%	>80	*77
PC Act.	%	>70	82
PS Act	%	>50	*40

Quelles sont les causes de déficit acquis en **AT** ?

- Inflammation
- Grossesse
- AVK
- Héparine dose curative
- Insuffisance hépatocellulaire
- Consommation à la phase aiguë

Quelles sont les causes de déficit acquis en **PS** ?

- Inflammation
- Grossesse
- AVK
- Héparine dose curative
- Insuffisance hépatocellulaire
- Consommation à la phase aiguë

Mme E

Bilan **avant la mise sous anticoagulant**

AT	%	>80	*77
PC Act.	%	>70	82
PS Act	%	>50	*40

Quelles sont les causes de déficit acquis en AT ?

- Inflammation
- Grossesse (AT ↓)
- AVK
- Héparine dose curative
- Insuffisance hépatocellulaire
- Consommation à la phase aiguë

Quelles sont les causes de déficit acquis en PS ?

- Inflammation
- Grossesse (PS ↓↓↓)
- AVK (dosage non reco sous AVK : PS ↓)
- Héparine dose curative
- Insuffisance hépatocellulaire
- Consommation à la phase aiguë

AT et PS basses à la phase aiguë car **consommation** / inflammation ?
→ *Prélèvement de contrôle à distance*

Mme E

- ❑ Bilan de contrôler à un mois **de l'épisode aigu, sous Rivaroxaban**

AT	%	>80	102
PC Act.	%	>70	
PS Act	%	>50	

• Quel(s) test(s)
peu(ven)t être
réalisé(s) **sous**
AODs ?

- Dosage de l'activité cofacteur de la PC de la PS
- Dosage de l'activité anticoagulante de la PC
- Dosage de l'activité cofacteur de l'héparine de l'AT
- Génotypage des PS, PC, AT
- Recherche de la mutation FVL et FII G20210A par biologie moléculaire

• Quel(s) test(s) peu(ven)t être réalisé(s) sous AODs ?

- ❑ Dosage de la PS
- ❑ Dosage de la PC

Les méthodes chronométriques de mesure de l'activité des PC et PS ne doivent pas être utilisées

- ❑ Dosage de l'AT (en fonction du kit utilisé)

→ L'activité cofacteur de l'héparine de l'AT doit être évaluée à l'aide d'une méthode basée sur l'inhibition du FXa en cas de trt par **dabigatran** ou par une méthode basée sur l'inhibition de la thrombine en cas de trt par un **AOD anti Xa**

- ❑ Génotypage des PS, PC, AT
- ❑ Recherche de la mutation FVL et FII G20210A par biologie moléculaire

Mme E

❑ Bilan après arrêt de l'AOD

PC Act : 106%

PS Act : 64%

WVR DEP T	*40.4 s	
WVR DEP R	*0.99	<1.15
WVR CONF P	*37.5 s	
WVR CONF T	*36.3 s	
WVR CONF R	*1.03	
WVR RN	0.96	<1.20

FII Rec_SG	{<ABS}
FV Leiden Rec_SG	{<ABS}

B2GP1 G_CF	<1.40 U/mL
B2GP1 M_CF	<0.20 U/mL
ACL G_CF	<1.60 UGPL
ACL M_CF	<0.20 UMPL

**Bilan de
thrombophilie
normal**

Antithrombine

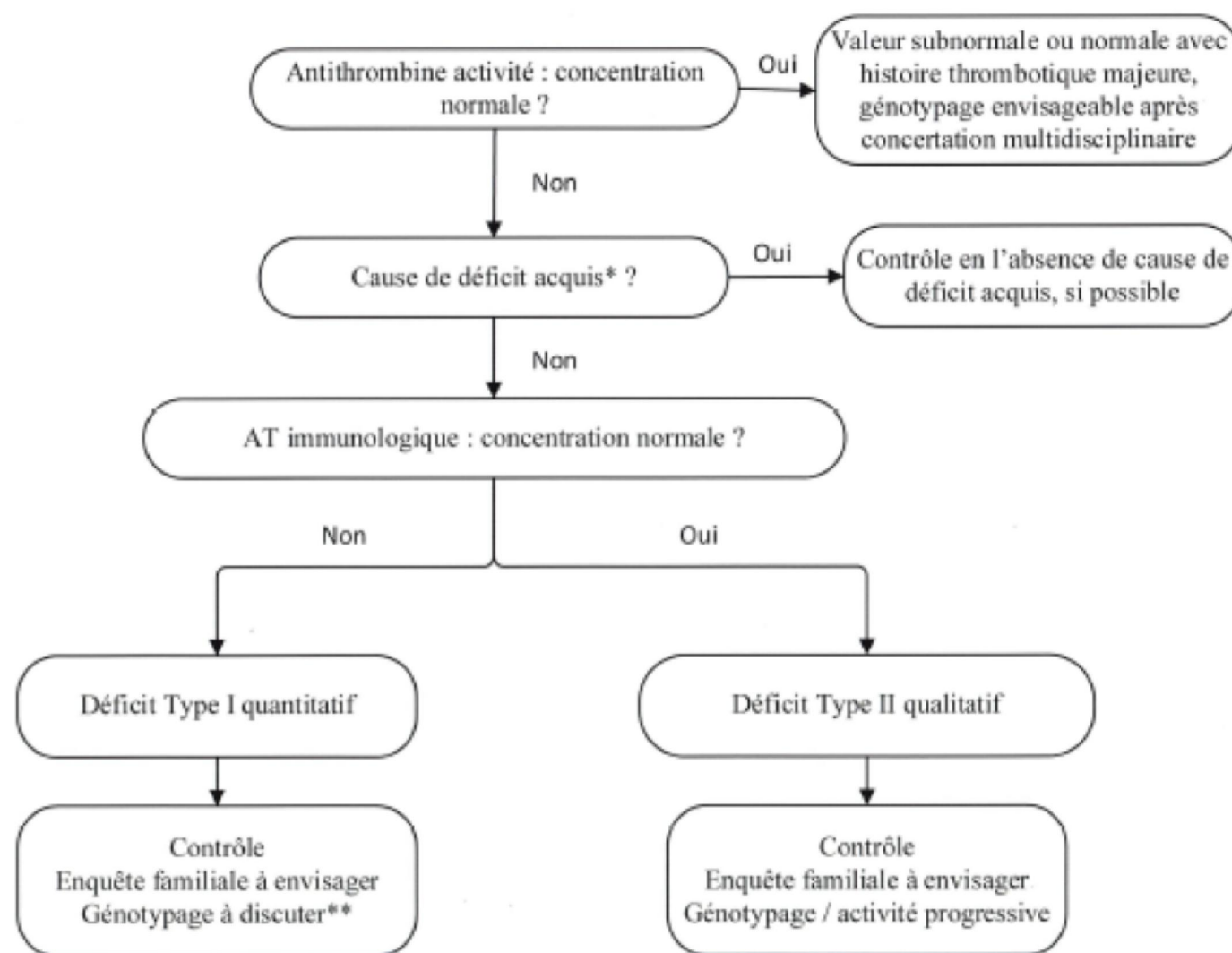
- **En première** Tableau 3: Performances des réactifs de mesure de l'antithrombine : pourcentage de variants type II hétérozygotes détectés (nombre total de patients étudiés) à l'aide d'un réactif optimisé

Table 3: Performance of antithrombin reagents: percentage of heterozygous type II variants detected (total number of patients studied).

Coffrets (valeurs de références proposées par le fabricant)	Hemos IL® Werfen (83-128 %)	HemosIL liquid AT® Werfen (83-128 %)	Stachrom AT® Stago (80-120 %)	Innovance AT® Siemens (83-118 %)	Berichrom AT® Siemens (79,4-112 %)	Coamatic AT LR® Werfen (81-123 %)	Biophen AT (IIa) Hyphen® (80-120 %)	Références
Type II (non génotypés)	11 % (n = 104)		80 % (n = 104)	99 % (n = 104)	9 % (n = 104)			20
p.Arg56Cy (HBS)			100 % (n = 1)	100 % (n = 1)	100 % (n = 1)	0 % (n = 1)		19
p.Pro73Leu (HBS)	0 % (37 familles)			100 % (n = 3)	0 % (n = 3)			21
				100 % (n = 2)	0 % (n = 4)	0 % (n = 2)		19
		0 % (n = 7)	100 % (37 familles)	100 % (37 familles)	0 % (37 familles)			22
				100 % (n = 7)		14 % (n = 7)	0 % (n = 7)	24
p.Asn77His (HBS)		0 % (n = 1)		100 % (n = 1)		100 % (n = 1)	0 % (n = 1)	24
p.Arg79Cys (HBS)		100 % (n = 14)		100 % (n = 14)		100 % (n = 14)	92 % (n = 12)	24
p.Arg79His (HBS)				100 % (n = 4)	0 % (n = 5)	75 % (n = 4)		21
		0 % (n = 4)		100 % (n = 4)			0 % (n = 3)	24
p.Leu131Phe (HBS)				100 % (n = 12)	8 % (n = 12)			21
		100 % (n = 6)		100 % (n = 6)		83 % (n = 6)	0 % (n = 6)	24
				100 % (n = 59)				25
p.Ser148Pro (HBS)			100 % (n = 1)	100 % (n = 1)	100 % (n = 1)	100 % (n = 1)		19
p.Arg425Cys (RS)	100 % (n = 3)		100 % (n = 3)	100 % (n = 3)	100 % (n = 3)			22
p.Arg425His (RS)			100 % (n = 1)	100 % (n = 1)	100 % (n = 1)	100 % (n = 1)		19

Antithrombine

- **En première intention** : mesure de l'activité cofacteur de l'héparine à l'aide d'un réactif optimal
- Si diminuée, mesure immunologique : distinction déficit de type I et II
- Si déficit de type II, génotypage de *SERPINC1*, plus informatif que l'AT progressive pour évaluer le risque associé de thrombose



Légende : *Causes de déficit acquis : [Tableau 5](#) ; **Génotypage de SERPINC1 : lorsque les résultats des tests plasmatiques sont d'interprétation difficile, ou lorsque l'enquête familiale est impossible ou non-informative.

Tableau 5 : Causes de déficit acquis de l'antithrombine.

Table 5: Causes of acquired antithrombin deficiency.

Insuffisance hépato-cellulaire	Diminution de synthèse des protéines de la coagulation
Consommation (chirurgie, thrombose étendue, CIVD, LAM3, pré-éclampsie)	L'AT est consommée lors de la formation de caillots
Protéinurie (syndrome néphrotique)	Perte urinaire d'AT imparfaitement compensée
Dénutrition	Défaut de synthèse hépatique
Grossesse	Certains auteurs rapportant une diminution très modérée de la concentration d'AT (de l'ordre de 10 à 20 %) au cours de la grossesse alors que d'autres n'observent pas d'évolution significative 37, 38
Alcoolisme marqué	Défaut de glycosylation
Maladie de Crohn active	Une diminution de la concentration d'AT a été mise en évidence chez les patients souffrant de maladie de Crohn active, de cause vraisemblablement multifactorielle, dont pertes digestives, malnutrition
Chylothorax	Perte d'AT dans le chylothorax après chirurgie cardiaque pédiatrique
Plasmaphérèse ; CEC	Hémodilution, consommation 39, 40
Anticoagulation à dose curative par HNF et HBPM comportant un pourcentage important de chaînes longues	Diminution modérée (de l'ordre de 20 %) de la concentration d'AT après quelques jours de traitement À contrôler 5 à 10 j après arrêt du traitement
Traitement oestrogénique (contraceptifs oraux contenant plus de 30 µg d'éthynylestradiol)	Certains traitements oestrogéniques sont susceptibles d'engendrer des déficits acquis en AT Après arrêt du traitement, contrôle après au moins deux cycles
Traitement par L-asparaginase	Probable diminution de synthèse hépatique de l'AT

Abréviations : AT : antithrombine ; CIVD : coagulation intravasculaire disséminée ; LAM3 : leucémie aiguë myéloïde de type 3 ; CEC : circulation extra-corporelle ; HNF : héparine non fractionnée ; HBPM : héparine de bas poids moléculaire.

Protéine C

- En première intention : mesure de l'activité de la protéine C
 - Anticoagulante/chronométrique
- ou
- Amidolytique/chromogénique

- La méthode amidolytique peut conduire à un défaut de diagnostic des déficits de type I

Tableau 7 : Caractéristiques des principaux réactifs de mesure de l'activité anticoagulante de la protéine C.

Table 7: Characteristics of the main reagents for measuring protein C anticoagulant activity.

Réactif	Type d'activation	Dilution plasma (fournisseur)	Interférences signalées par le fabricant				Nb utilisateurs ECAT (juin 2021)
			FVIII (%)	HNF (UI/mL)	Anticoagulant circulant type lupique	FV Leiden hétérozygote	
Cryocheck Clot C®	Venin vipère Russell (RVV-X)	1/10	> 600	> 1,2	-	-	1
Werfen Hemosil IL Proclot®	TCA (silice + PL synthétiques)	pur	> 250	> 1,5	+	+	15
Hyphen Hemoclot Protein C®	TCA	1/10	+	> 1	+	?	13
Siemens Protein C reagent®	TCA (acide ellagique + PL soja)	1/10	+	> 2	+	+	19
Stago Staclot PC®	TCA	1/10	> 250	> 1	?	-	27

Abréviation : PL : phospholipides.

- Dans l'activité de la protéine C

à l'origine de déficits en

Protéine C

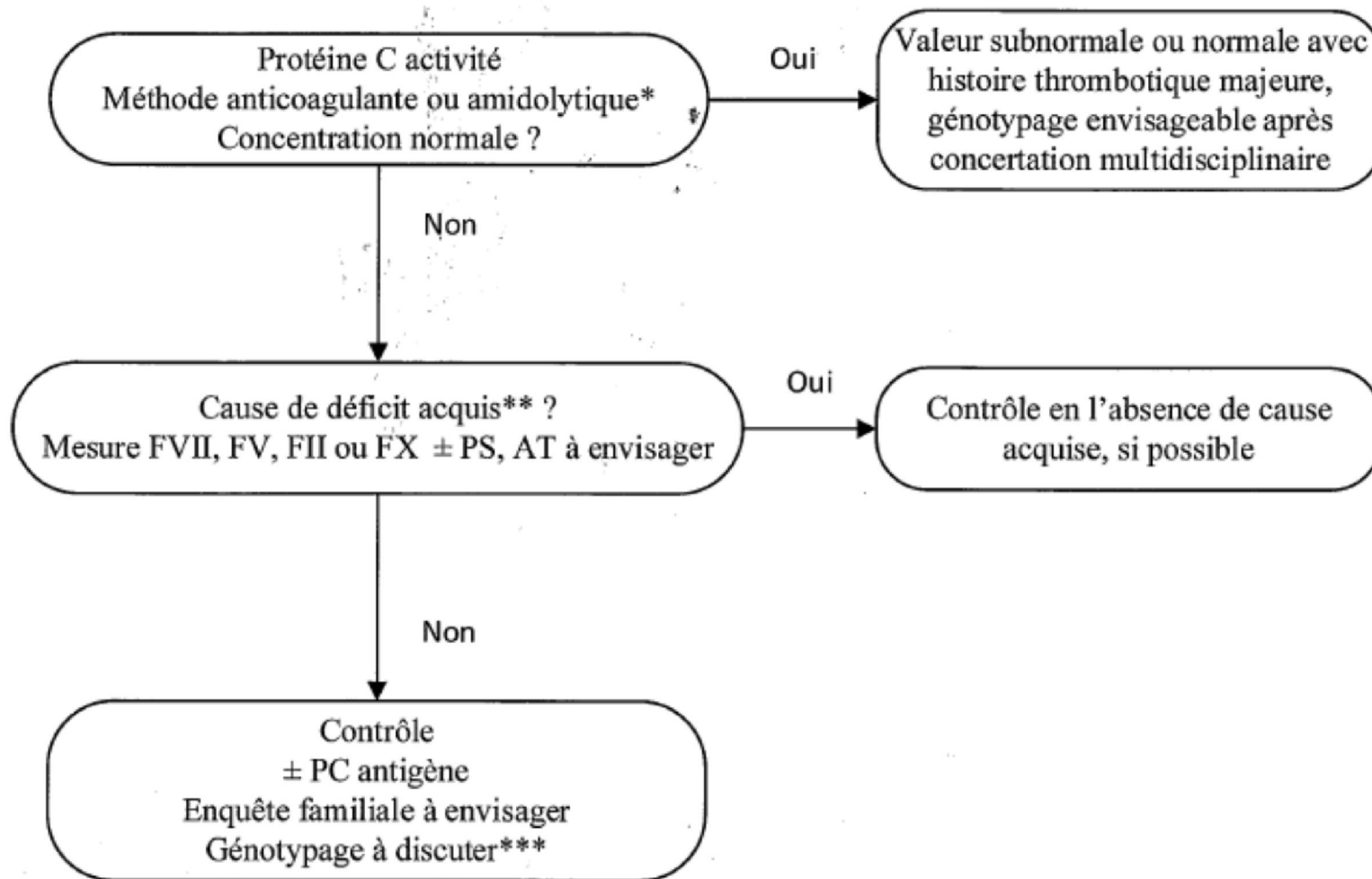
- En première intention : mesure de l'activité de la protéine C (anticoagulante **ou** amidolytique/chromogénique)
- La méthode amidolytique peut conduire à un défaut de diagnostic des déficits de type IIb ou IIAC (type II anticoagulant) mais est soumise à moins d'interférence et à une incertitude plus faible.
- Dans le cas où l'activité anticoagulante n'a pas pu être réalisée et que le résultat de l'activité amidolytique est dans les valeurs de référence, **il est important de mentionner que le résultat ne permet pas d'exclure tous les types de déficits en protéine C**
- En cas de déficit en PC ou de phénotypes plasmatiques d'interprétation difficile, évaluer la pertinence d'un génotypage de *PROC*

Tableau 9 : Causes de déficit acquis de la protéine C.

Table 9: Causes of acquired protein C deficiency.

Insuffisance hépato-cellulaire	Diminution de synthèse des protéines de la coagulation
Hypovitaminose K	Diminution de la synthèse de PC pleinement carboxylée
Consommation (chirurgie, thrombose étendue, CIVD, LAM3, pré-éclampsie)	La PC est consommée lors de la formation de caillots
Grossesse	Selon certains auteurs, PC inchangée ou augmentation modérée (de 20 % maximum, entre la 6 ^e et la 20 ^e semaine), persistant quelques jours en <i>post-partum</i> 51
Alcoolisme marqué	Défaut de glycosylation
Plasmaphérèse ; CEC	Hémodilution et consommation
Drépanocytose homozygote	La PC est diminuée chez les patients souffrant d'une drépanocytose homozygote 52
Auto-anticorps anti-protéine C	Très rare
Traitement par AVK	Diminution de la synthèse de protéine C pleinement carboxylée
Traitement par L-asparaginase	Probable diminution de synthèse hépatique de la protéine C

Abréviations : AbAVK : antagonistes de la vitamine K ; CIVD : coagulation intravasculaire disséminée ; LAM3 : leucémie aiguë myéloïde type 3 ; CEC : circulation extra-corporelle.



*Légende : *La méthode amidolytique expose à un défaut de diagnostic des déficits de type IIb [Type II anticoagulant] ; ** Causes de déficit acquis : Tableau 9 ; *** Le génotypage de PROC est nécessaire pour permettre le conseil génétique et les diagnostics anténataux précoces dans la forme récessive du déficit. Il peut être utile pour affirmer l'origine constitutionnelle d'un déficit, devant des phénotypes plasmatiques d'interprétation difficile.*

Protéine S

- Mesure
 - de l'activité anticoagulante de la protéine S
 - ou**
 - de la protéine S libre par mesure immunologique
- La mesure immunologique de la PSL ne permet pas de dépister les déficits qualitatifs (type II). La mesure de l'activité anticoagulante permet de dépister les déficits qualitatifs et quantitatifs.

Tableau 10 : Caractéristiques des principaux réactifs de mesure de l'activité anticoagulante de la protéine S.

Table 10: Characteristics of the main reagents for measuring protein S anticoagulant activity.

- Dans le cas d'un déficit quantitatif de la PSL, la mesure de l'activité anticoagulante permet de dépister les déficits qualitatifs et quantitatifs.

Réactif	Type d'activation	Dilution du plasma (fournisseur)	Interférences signalées par le fabricant			
			FVIII (%)	HNF (UI/mL)	Anticoagulant circulant type lupique	FV Leiden hétérozygote
Cryocheck ClotS® Cryoep	PCa/RVV/PL/Ca	1/10	> 600	> 1	+	+
Hyphen Hemoclot PS® Sysmex	PCa/FIXa/PL/Ca	1/10	> 200	> 1	+	+
HemosIL PS activity® Werfen	PCa/rhTF/PL/Ca	pur	?	> 1,6	?	?
Staclot PS® Stago	PCa/FVa/PL/Ca	1/10	> 150	> 1	+	?
Protein S AC® Siemens	PCa/RVV/PL/Ca	1/10	> 400	> 3	+	+

Abréviations : Ca : calcium ; PCa : protéine C activée ; PL : phospholipides ; RVV : venin de Vipère Russell ; rhTF : facteur tissulaire recombinant humain.

État de la PSL
ultat ne

Protéine S

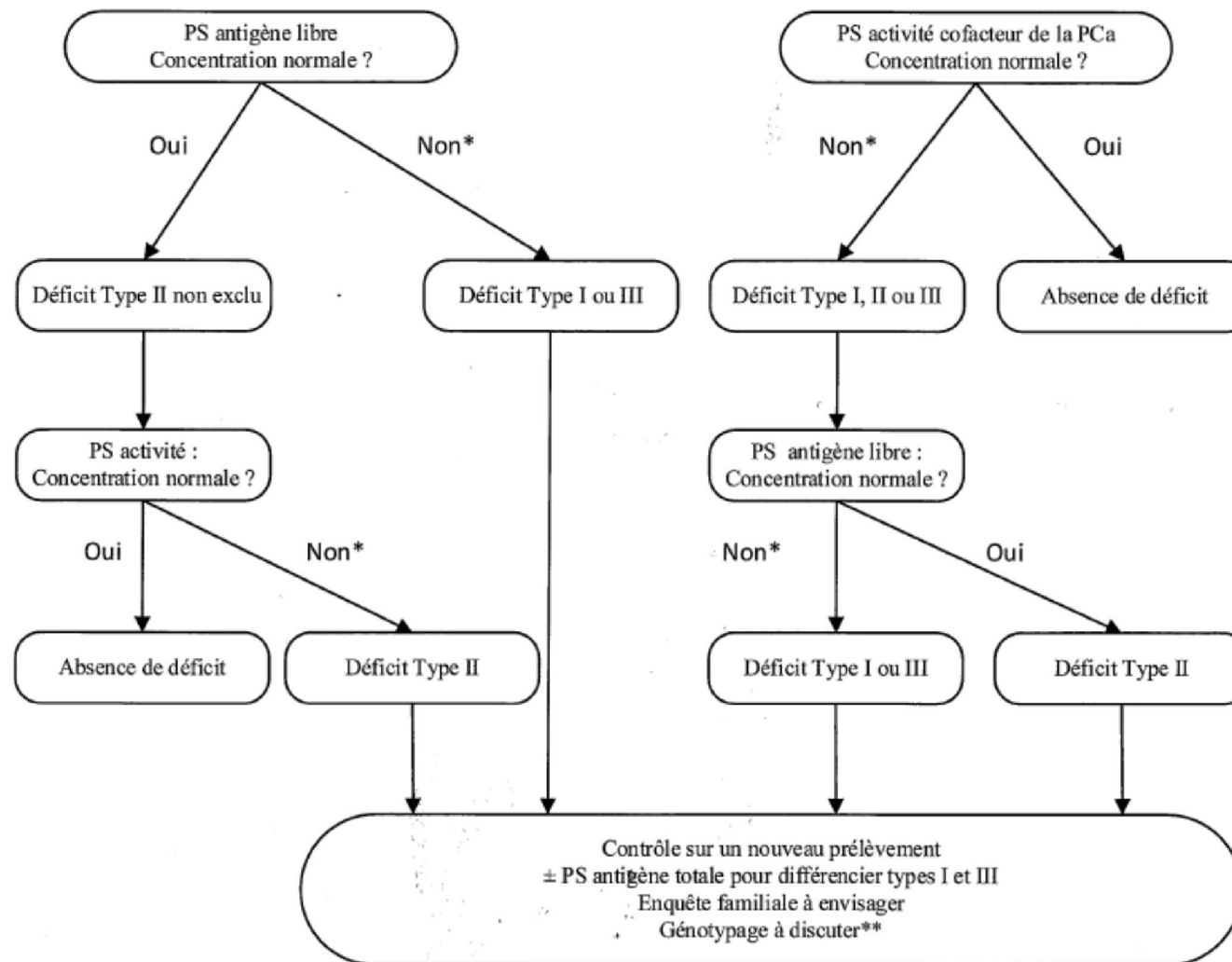
- Mesure
 - de l'activité anticoagulante de la protéine S
 - **ou** de la protéine S libre par mesure immunologique
- La mesure immunologique de la PSL ne permet pas de dépister les déficits qualitatifs (type II). La mesure de l'activité anticoagulante permet de dépister les déficits qualitatifs et quantitatifs.
- Dans le cas où l'activité anticoagulante n'a pas pu être réalisée et que le résultat de la PSL est dans les valeurs de référence, **il est important de mentionner que le résultat ne permet pas d'exclure tous les types de déficits en protéine S**
- Absence d'argument pour doser systématiquement la C4bBP ou la PS totale, car n'apportent pas d'information sur évaluation de la thrombogénicité
- En cas de déficit en PS ou de phénotypes plasmatiques d'interprétation difficile, évaluer la pertinence d'un génotypage de *PROS1*

Tableau 11 : Causes d'anomalies acquises de la protéine S.

Table 11: Causes of acquired protein S defects.

Dysfonction hépatique	Diminution de synthèse des protéines de la coagulation
Hypovitaminose K	Diminution de la synthèse de PS pleinement carboxylée
Consommation (chirurgie, thrombose étendue, CIVD, LAM3, pré-éclampsie)	La PS est consommée lors de la formation de caillots
Grossesse	Dès 13 à 20 semaines de grossesse, la PS est diminuée chez 50 % des femmes enceintes La recherche d'un déficit constitutionnel en PS n'est pas recommandée pendant la grossesse et jusqu'à 3 mois en <i>post-partum</i> , car l'interprétation des résultats des dosages est très délicate 37
Alcoolisme marqué	Défaut de glycosylation
Protéinurie (syndrome néphrotique)	Perte urinaire imparfaitement compensée
Drépanocytose homozygote	La PS est diminuée chez les patients souffrant d'une drépanocytose homozygote 52
Auto-anticorps anti-protéine S	Très rare
Syndrome inflammatoire	Risque de faux diagnostic (positif ou négatif, en fonction des médiateurs de l'inflammation mis en jeu) 65, 66
Traitement par AVK	Diminution de la synthèse de PS pleinement carboxylée
Traitement oestrogénique (contraceptifs oraux, hormono-substitution de la ménopause)	Diminution moyenne de l'ordre de 20 %, en fonction de la classe de l'oestrogène
Traitement par L-asparaginase	Probable diminution de synthèse hépatique de la PS

Abréviations : AVK : antagonistes de la vitamine K ; CIVD : coagulation intravasculaire disséminée ; LAM3 : leucémie aiguë myéloïde type 3 ; PS : protéine S.



Légende : *Après exclusion des causes de déficit acquis [Tableau 11] et des interférences [Tableau 6] ; **Le génotypage de PROS1 est nécessaire pour permettre le conseil génétique et les diagnostics anténataux précoces. Il peut être utile pour affirmer l'origine constitutionnelle d'un déficit franc, devant des phénotypes plasmatiques d'interprétation difficile.

Suite de la PEC de Mme N

Typage plasmatique

❖ Dosage PS activité : <15% (N: 50-140)

❖ Dosage de la PSL : 8% (N: 50-140)

Déficit franc en PS
de type quantitatif

Etude de *PROS1*

Introduction d'un **codon stop prématuré** en position 389 pouvant expliquer le déficit en PS de type quantitatif

Déficits constitutionnels en inhibiteurs de la coagulation

>400 mutations pour chaque gène

Type I = quantitatif : surtout mut ponctuelles (non-sens, faux sens), del/ins petite taille

Type II = qualitatif : mut ponctuelles faux-sens (positions « stratégiques »)

Démarche diagnostique idéale

- Technique de 1^{ère} intention qui dépiste tous les types de déficits
- En cas de résultat < valeurs de référence :
 1. Eliminer une interférence (connaître les méthodes+++)
 2. Éliminer une cause acquise
 3. typer l'anomalie au niveau plasmatique + Faire un contrôle
 4. Recherche de l'anomalie génétique
 5. Enquête familiale

À RETENIR!

Dosages AT PC PS sous anticoagulant

Tableau 6 : Interférences analytiques sur les mesures des inhibiteurs de la coagulation.

Table 6: Analytical interferences on coagulation inhibitor measurements.

		Antithrombine				Protéine C			Protéine S	
		Activité cofacteur de l'héparine (méthode anti-Xa)	Activité cofacteur de l'héparine (méthode anti-IIa)	Activité progressive	Antigène	Activité anticoagulante	Activité amyolytique	Antigène	Activité cofacteur de la PC	Antigène (libre et totale)
AVK	warfarine fluidione acénocoumarol	Pas d'interférence	Pas d'interférence	Pas d'interférence	Pas d'interférence	Non interprétable Diminution acquise par défaut de synthèse vitamine K dépendante Prélever après 2 semaines d'arrêt des AVK 41	Interprétation délicate Diminution acquise par défaut de synthèse vitamine K dépendante Interprétation nécessitant une expertise		Non interprétable Diminution acquise par défaut de synthèse vitamine K dépendante Prélever après 3 semaines d'arrêt des AVK 41	Interprétation délicate Diminution acquise par défaut de synthèse vitamine K dépendante Interprétation nécessitant une expertise
Anti-IIa direct	Argatroban bivalirudine dabigatran	Pas d'interférence	Surestimation Prélever après 1 semaine d'arrêt du dabigatran		Pas d'interférence	Surestimation Prélever après 1 semaine d'arrêt du dabigatran			Surestimation Prélever après 1 semaine d'arrêt du dabigatran	
HNF	Héparine sodique Héparine calcique	<i>Pas d'interférence analytique en l'absence de surdosage (cf. préconisations fabricant) Si administration sous-cutanée, prélever en résiduel pour limiter l'interférence*</i>			Non réalisable	<i>Pas d'interférence analytique Mais diminution acquise (consommation) lors d'un traitement à dose curative : contrôle après 5 à 10 j d'arrêt du traitement</i>			<i>Pas d'interférence analytique en l'absence de surdosage (cf. préconisations fabricant)</i>	
HBPM	Tinzaparine Enoxaparine Dalteparine Nadroparine	<i>Mais diminution acquise (consommation) lors d'un traitement à dose curative : contrôle après 5 à 10 j d'arrêt du traitement</i>								
Anti-Xa ini	Fondaparinux Danaparouïde		Pas d'interférence		Pas d'interférence					
Anti-Xa oral direct	Apixaban Edoxaban Rivaroxaban	Surestimation Prélever après 1 semaine d'arrêt	Pas d'interférence		Pas d'interférence	Surestimation Prélever après 1 semaine d'arrêt			Surestimation Prélever après 1 semaine d'arrêt	
Autres						FVIII élevé, ACC lupique, RPCa (cf. préconisations fabricant) ↔ surestimation			FVIII élevé, ACC lupique, RPCa (cf. préconisations fabricant) ↔ surestimation	Facteur rhumatoïde (cf. préconisations fabricant)

* Avis d'experts

Abréviations : ACC : anticoagulant circulant ; AVK : antagonistes de la vitamine K ; HNF : héparine non fractionnée ; HBPM : héparine de bas poids moléculaire ; RPCa : résistance à la protéine C activée.

Variants thrombogènes fréquents
FV Leiden F2c.*97G>A

Variants thrombogènes fréquents FV Leiden

F2c.*97G>A

- Consentement éclairé signé par le patient obligatoire
- Recherche peut être effectuée à l'aide de différentes méthodes commerciales ou « maison »
- En dehors de rares situations cliniques (transplantation hépatique, transplantation de CSH), la recherche de la résistance à la protéine C activée (RPCa) dans le but de détecter la présence d'un FV Leiden n'est pas recommandée

Anomalies constitutionnelles du
fibrinogène : dysfibrinogénémies,
et hypodysfibrinogénémies

Anomalies constitutionnelles du fibrinogène : dysfibrinogénémies, et hypodysfibrinogénémies

- Si un bilan de thrombophilie est indiqué,
 - dosage systématique recommandé de l'activité du fibrinogène par méthode chronométrique de Von Clauss
- En cas de déficit, la méthode immunologique peut être réalisée
- La réalisation d'un **temps de thrombine ou de reptilase** peut aussi être proposée pour le dépistage d'une anomalie constitutionnelle du fibrinogène, mais ces actes sont hors nomenclature,

Anticorps antiphospholipides
(APL) : diagnostic de SAPL

Comment rechercher des APL ? (1)

- A partir d'un même prélèvement :
 - Anticorps IgG/IgM anti-cardiolipine et anti- β 2GPI
 - Anticoagulant de type lupique (LA) par méthode de coagulation
- Anticorps IgG/IgM anti-cardiolipine et anti- β 2GPI :
 - Sur plasma ou sérum
 - Méthodes immunologiques de type ELISA ou systèmes automatisés
 - Seuil positivité $\geq 99^e$ percentiles des distributions observées chez les sujets sains
- Recherche anticorps anti-PS-PT actuellement non recommandée

Comment rechercher des APL ? (2)

- LA :
 - Deux tests de dépistage
 - Temps de venin de vipère Russel dilué dRVVT
 - TCA mesuré à l'aide d'un réactif sensible (faible concentration en PL et activateur type silice ou acide ellagique)
 - Seuil positivité $\geq 99^{\text{e}}$ percentiles des distributions observées chez les sujets sains
 - Si dépistage positif (au moins un test en l'absence d'interférence)
 - test de confirmation de l'effet neutralisant d'une concentration élevée en PL sur l'action de l'Inhibiteur pour montrer la phospholipo-dépendance de l'anticorps
 - Epreuve de mélange :
 - Indispensable si allongement très important des temps de coagulation (risque de fx-neg pour LA puissant)
 - Si dépistage négatif : ne pas faire de test de confirmation (risque de faux positifs)
 - Expression en ratio, deux chiffres après la virgule
 - TCA Indice de Rosner
 - LA : ratio screen/confirm ou % de correction (screen-confirm)/screen ou normalisation par rapport au plasma témoin

Recherche d'un LA chez un patient sous anticoagulant

- HNF/HBPM :
 - Utilisation de réactifs contenant un agent neutralisant de l'héparine (polybrène, héparinase), seuils d'interférence +++
 - Si possible réaliser le prélèvement en résiduel (pour HBPM)
 - Fondaparinux : possible interférence mais neutralisation médiocre
- AVK :
 - Si INR entre 1,5 et 3,0 : test avec mélange à parties égales du plasma patient et d'un plasma témoin, mais réduction de la sensibilité
 - Si INR > 3,0 : ne pas faire, risque de faux-positif
- AOD / argatroban : risque de faux-positifs, même à très faibles concentrations < LOQ
 - Pré-traitement par charbon activé :
 - Si recherche négative: permet d'exclure un LA
 - Si recherche positive : impossible de distinguer vrai positif/interférence AOD
- Pour toute recherche de LA positive : rechercher la présence d'un anticoagulant (test anti-Xa générique ou temps de thrombine)

Quand contrôler et rechercher un LA ?

- Tout résultat positif doit être contrôlé après un intervalle de temps d'au moins 12 semaines, sur un nouveau prélèvement
- Si la première recherche positive a été réalisée à moins de 3 mois de la première manifestation clinique, deux contrôles ultérieurs espacés d'au moins 3 mois sont indiqués
- Il doit être indiqué sur le CR que la persistance des anticorps doit être démontrée pour qu'une signification clinique puisse être envisagée
- La première recherche ne doit pas avoir lieu plus de 5 ans après les manifestations cliniques

Conclusion

Bilan de thrombophilie, quelles étapes ?

- Centre expert maîtrisant les aspects cliniques et biologiques relatifs aux analyses prescrites
- Biologiste ayant une bonne maîtrise des méthodes, pièges pré-analytiques et analytiques et des limites et performances des réactifs utilisés
- Prélèvement si possible avant le début d'un traitement et sans que celui-ci soit retardé
- En cas d'anomalie identifiée : contrôle recommandé. Si anomalie plasmatique : à distance (au moins 3 mois) et organisé en tenant compte du contexte clinique et des traitements anticoagulants
- Détermination du caractère constitutionnel d'une anomalie d'un inhibiteur de la coagulation par enquête familiale ou analyse du gène concerné

Recommandations de bonne pratique pour la prise en charge de la maladie veineuse thromboembolique chez l'adulte 2019, Sanchez et al, Revue des maladies respiratoires

Recherche d'une thrombophilie biologique : propositions du GFHT 2022 V2.1

Le bilan biologique de thrombophilie : chez quels patients, quelles analyses et dans quels buts ? Propositions pratiques du GFHT et argumentaires
En cours de validation



Merci de votre attention !

Chez quels patients ?:

Thromboses de site inhabituel

- Thromboses splanchniques sans cause locale évidente : bilan classique + smd + hpn
- Thromboses de site inhabituel (cérébral ou digestif) et/ou associée à des signes d'hémolyse et/ou à un cytopénie (recherche HPN)

Chez quels patients ?:

Indications du bilan de thrombophilie biologique

- Bilan de thrombophilie constitutionnelle chez les patients (grade 2+)
 - Ayant un premier épisode de TVP proximale ou d'EP avant l'âge de 50 ans et avec une histoire familiale au 1^{er} degré de thromboses (grade 2+),
 - Avec un évènement thromboembolique veineux récidivant (au moins un épisode de TVP proximale ou d'EP et au moins un épisode non provoqué avant 50 ans (grade 2+)
 - Ayant une thrombose veineuse non provoquée dans des sites atypiques, (splanchnique, membres supérieurs, cérébrale) (grade 2+).
- Recherche d'un syndrome des anti-phospholipides (SAPL) (grade 2+)
 - Chez les patients de moins de 50 ans en cas de premier épisode de thrombose veineuse profonde (TVP) proximale ou d' embolie pulmonaire (EP) non provoqué ou de thromboses de sièges inhabituel ou de MVTE récidivante (grade 2+)
 - En cas d'association à une nécrose cutanée ou en cas d'antécédent de pathologie vasculaire placentaire

Grade 1+/-: recommandation forte et positive/négative

Grade 2+/- : recommandation optionnelle et positive/négative

Epidémiologie

Déficit en PS

- Prévalence : **0.1%**
- 2-3% des patients thrombophiliques
- **Transmission AD**
- **RR X 5-10**

GFHT 2020

Thrombophilia abnormality	Prevalence (%)		Relative risk	
	General population	Patients with VTE	First VTE	Recurrent VTE
Antithrombin deficiency	0.02–0.2	1	50	2.5
Protein C deficiency	0.2–0.4	3	15	2.5
Protein S deficiency	0.03–0.1	2	10	2.5
Factor V Leiden (heterozygous)	5	20	7	1.5
Factor V Leiden (homozygous)	0.02	1.5	80	-
Prothrombin G20210A (heterozygous)	2	6	3–4	1.5
Prothrombin G20210A (homozygous)	0.02	<1	30	-
Non-O blood group	55–57	75	2	2

G20210A htz < FVL htz < PS < PC < G20210A hmz < AT < FVL hmz

↑ RR

Types de déficits en PS rencontrés

☐ Déficits quantitatifs :

✓ Type I

✓ Type III

☐ Déficits qualitatifs :

✓ Type II

	Activité cofacteur de la PCa	PSL	PST
Type I	↓	↓	↓
Type II	↓	N	N
Type III	↓	↓	N

Comment explorer la PS ?

1) Dépistage par mesure de l'activité cofacteur de la PCa :

→ Test chronométrique :

Mesure l'allongement du temps de coagulation d'un mélange de plasma patient et commercial déplété en PS en présence de PCa exogène ou activation de la PC par Protac

Interférences

Tableau 5 : Caractéristiques des principaux réactifs de mesure de l'activité anticoagulante de la protéine S.

Table 5: Characteristics of the main reagents for protein S anticoagulant activity measurement.

Réactif	Type d'activateur	Dilution du plasma*	Interférences signalées par le fabricant				ECAT nb utilisateurs Fin 2018	Probioqual nb utilisateurs Fin 2018
			FVIII (%)	HNF (UI/mL)	Anticoagulant lupique	FV Leiden Hz		
Cryocheck ClotS [®] Cryoep	PCa/RVV/PL/Ca	1/10	> 600	> 1	+	+	1	0
Hyphen Hemoclot PS [®] Sysmex	PCa/FIXa/PL/Ca	1/10	> 200	> 1	+	+	7	2
HemosIL PS activity [®] Werfen	PCa/rhTF/PL/Ca	Pur	?	> 1,6	?	?	41	19
Staclot PS [®] Stago	PCa/FVa/PL/Ca	1/10	> 150	> 1	+	?	72	51
Protein S AC [®] Siemens	PCa/RVV/PL/Ca	1/10	> 400	> 3	+	+	30	0

Abréviations : Ca : calcium ; Hz : hétérozygote ; PCa : protéine C activée ; PL : phospholipide ; RVV : venin de vipère Russell ; rhTF : facteur tissulaire recombinant humain ; HNF : héparine non fractionnée.

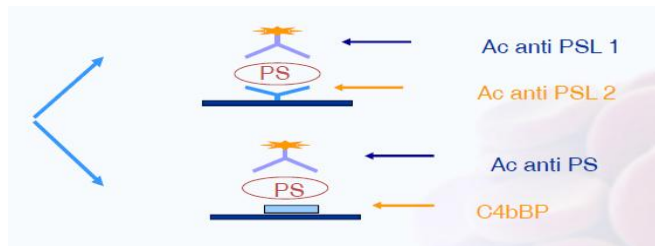
* notice du produit.

- Taux élevé de FVIII (>150%)
 - Présence du FVL
 - Certains anticoagulants lupiques
 - Héparinémies très élevées
 - AOD anti IIa ou anti Xa
 - PC diminuée (Werfen et Siemens)
- } Risque de sous estimation
- } Risque de sur estimation

Comment explorer la PS ?

2) Tests de typage : Dosages immunologiques de la PSL et PST

→ Techniques **immunoturbimétriques** automatisées ou **ELISA**



Interférences :

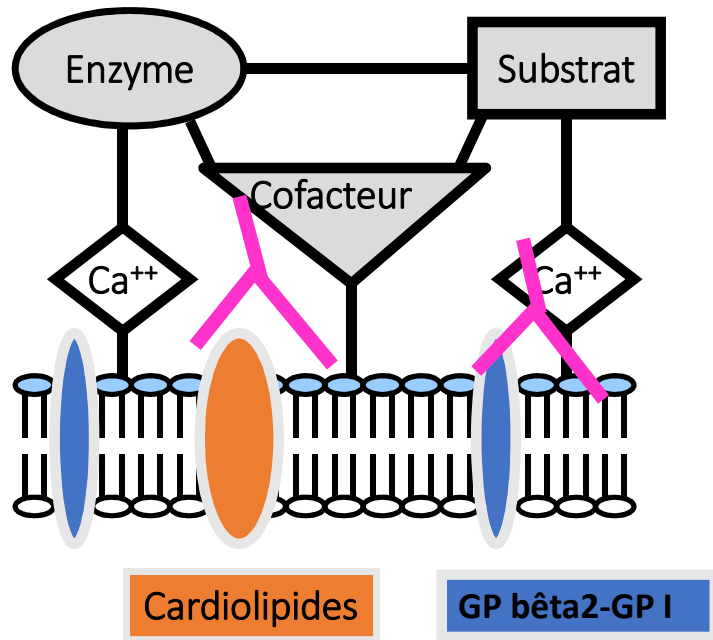
- Sensibilité possible au *facteur rhumatoïde*
- Plasma *hémolysé, lipémique* ou *ictérique*

3) Génotypage de PROS1 (chr 3)

Protéine S

- Vitamino-K dépendante
- Cofacteur non enzymatique de la protéine Ca pour protéolyser les facteurs Va et VIIIa
- Circule sous 2 formes :
 - Libre = PSL (40%) : forme active
 - Liée à la C4bBP, une protéine de l'inflammation (60%) : forme inactive
- Dosage :
 - Activité chromométrique = anticoagulante (méthode de référence)
 - Antigène libre ou total
- Valeurs normales :
 - ≥ 50 % femmes non ménopausées
 - ≥ 55 % femmes ménopausées
 - ≥ 60 % hommes
- Variations physiologiques : \downarrow pendant la grossesse, varie au cours du cycle menstruel
- Déficits acquis :
 - Activation de la coagulation, IHC, carence en vitamine K,
 - Médicaments : AVK, œstrogènes,
 - Diminution de la forme libre en cas d'inflammation (\uparrow de la C4bBP).
- Déficit constitutionnel : transmission autosomique dominante, gène *PROS1*
 - Types quantitatifs
 - I : \downarrow PST et PSL
 - III : \downarrow PSL
 - Type II qualitatif : \downarrow PS activité et PSL normale

Anticorps anti-phospholipides



Anticoagulant circulant
Anticorps anti-phospholipides
Anticoagulant de type lupique.....

HEMOSTASE : LA Lupus Anticoagulant

Tests fonctionnels dépendants des phospholipides :

- TCA
- TCA mélange M+T = ACC
- Tests spécifiques à concentration variable en phospholipides = dRVVT (temps de venin de vipère Russel dilué)

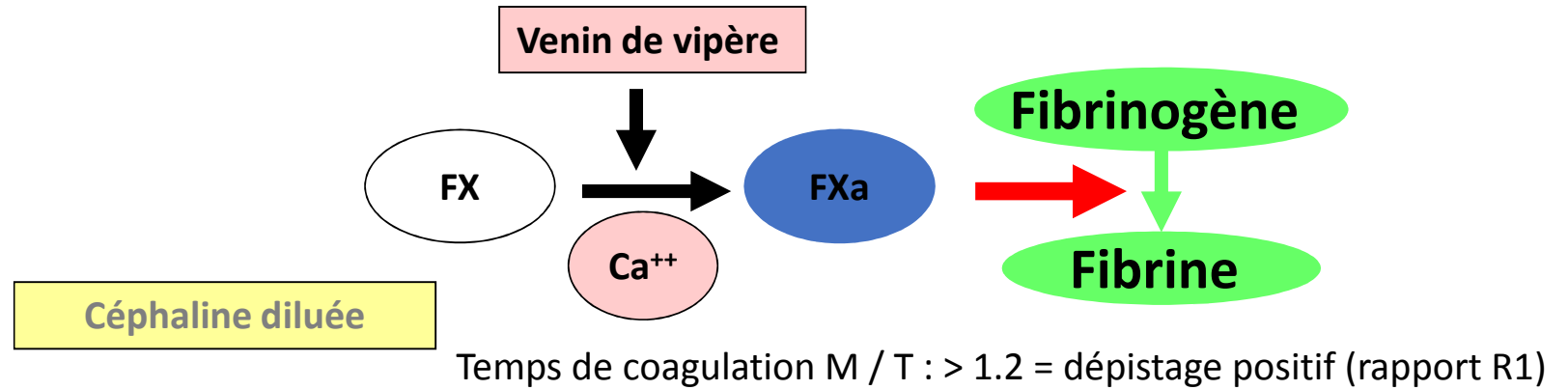
IMMUNOLOGIE : ELISA IgM et IgG (Détection physique)

Anti-cardiolipides

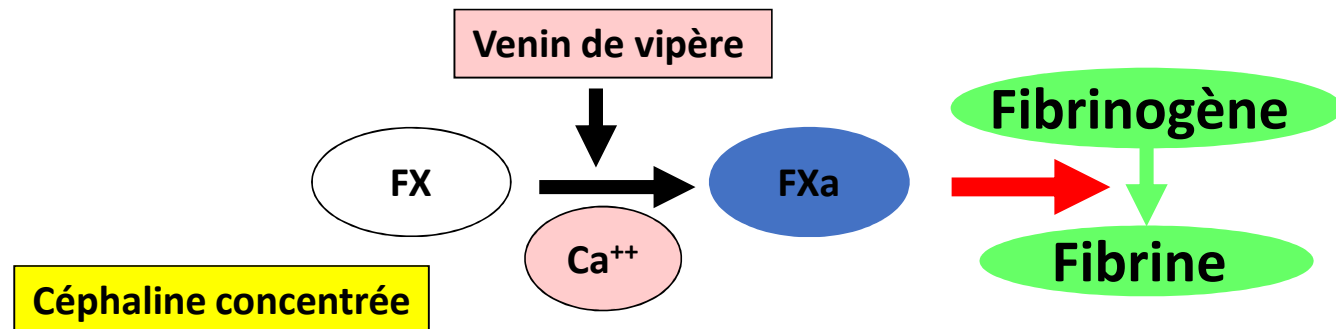
Anti-beta2-GPI

DRVVT: test au venin de vipère Russel dilué

Test de dépistage (LAC Screen)



Test de confirmation (LAC Confirm)



Temps de coagulation M / T = rapport R2

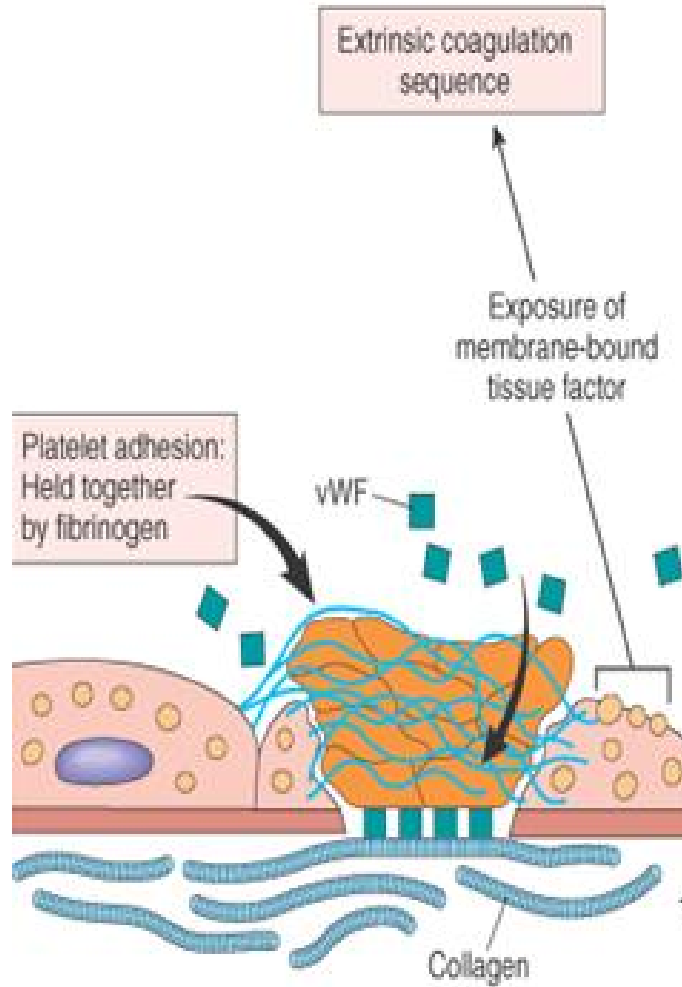
Ratio normalisé : R1/ R2 : > 1.2 = confirmation de la dépendance aux phospholipides

Anticorps anti-phospholipides

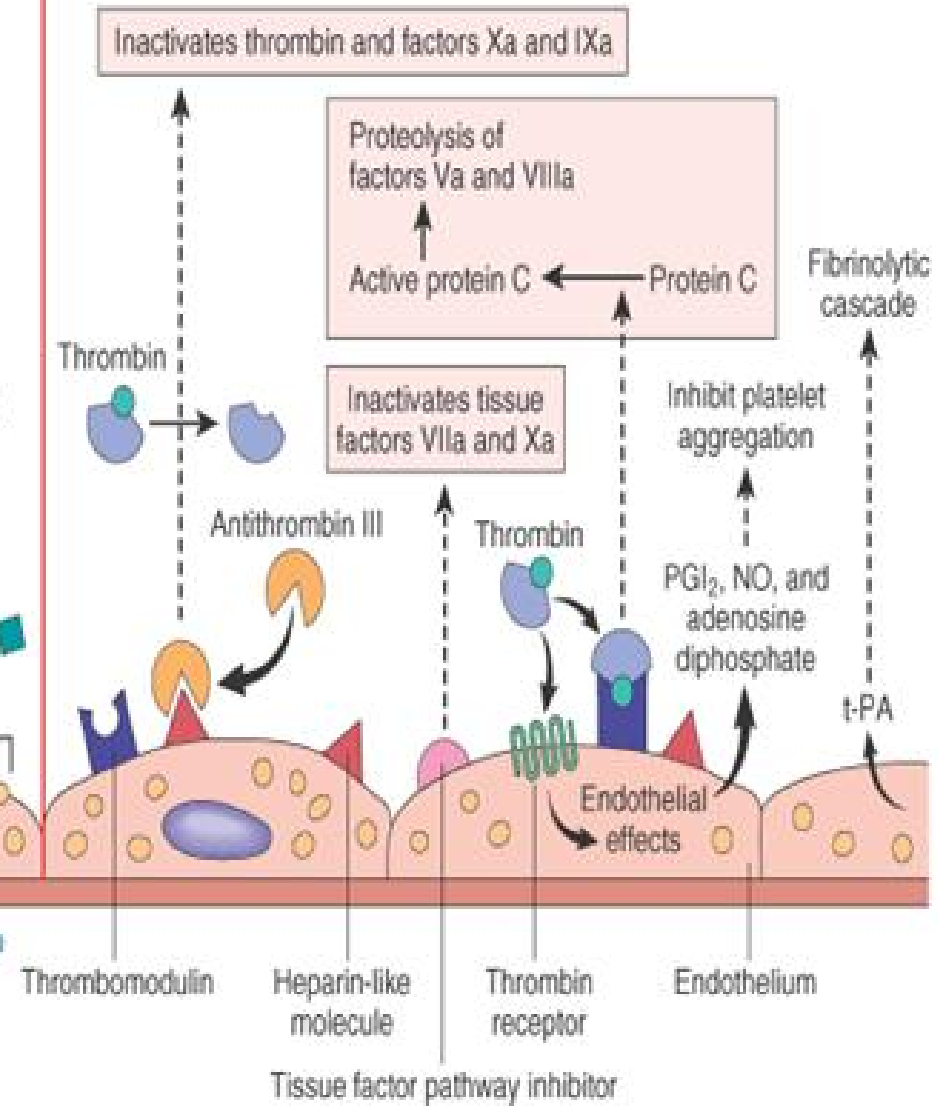
- Réactionnel, transitoire
 - non associé à un risque hémorragique, non associé à une augmentation du risque de thrombose
- Persistant > 12 semaines,
 - lupus anticoagulant et/ou anti-cardiolipides, et/ou anti-bêta2 GPI**associé à**
 - un événement thrombotique (veineux et/ou artériel)ou
 - un ou des événements obstétricaux
 - Une ou plusieurs MFIU à partir de 10 SG , morphologie fœtale normale
 - Un ou plusieurs naissances prématurées avant 34 SG avec PE ou insuffisance placentaire
 - ≥ 3 FCS consécutives inexplicées avant 10 SG

⇒ **SAPL**

FAVOR THROMBOSIS



INHIBIT THROMBOSIS



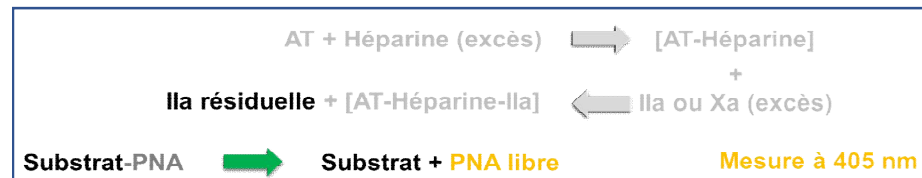
Techniques de dosage de l'AT

1. Mesure de l'activité cofacteur de l'héparine

Test **chromogénique** en 2 temps

Evalue les capacités des sites fonctionnels RS et HBS

Evalue la capacité de l'AT à inhiber la thrombine ou le FXa ajouté en quantité fixe et en excès, en présence d'une forte quantité d'héparine



!!! Sensibilité variable des réactifs pour certains variants de type II

2. Dosage immunologique

Estime la concentration
plasmatique de l'AT

Méthode
immunturbidimétrique
automatisée

3. Mesure de l'activité progressive de l'AT

Etudie la capacité de l'AT à
neutraliser le FIIa ou le FXa ajouté
en excès, en l'absence d'héparine et
pendant une incubation longue

4. Génotypage de SERPINC1