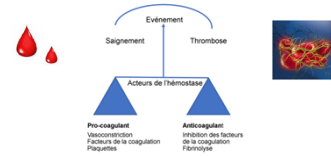


Physiologie de l'Hémostase

D^r Céline Delassasseigne
Laboratoire Hématologie CHU Bordeaux

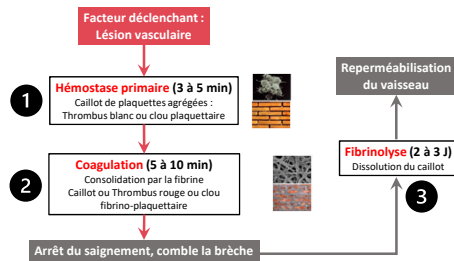
Définition

- L'hémostase est l'ensemble **des différents mécanismes** qui assurent la prévention des saignements spontanés et l'arrêt des hémorragies en cas de lésion de la paroi vasculaire par formation d'un caillot = **thrombus**
- L'hémostase a le plus souvent une fonction bénéfique: permet **l'arrêt du saignement**
- L'hémostase est aussi et surtout **une question d'équilibre** (Saignement/Thrombose)



2

3 étapes qui se succèdent: une vraie entreprise de maçonnerie

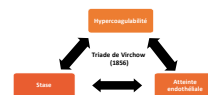


3

A) Hémostase Primaire

But : aboutir à la formation du **clou plaquettaire**

- Les cellules musculaires, en se contractant, vont contribuer à réduire le flux sanguin; et ainsi favoriser l'accumulation des plaquettes et réduire les pertes sanguines
- Les cellules endothéliales sécrètent de la prostacycline ou du monoxyde d'azote, substances qui fluidifient le sang. En cas de lésion vasculaire, elles libèrent le facteur von Willebrand
- Les plaquettes vont alors adhérer au collagène du sous-endothélium par l'intermédiaire du facteur von Willebrand



- 3 acteurs principaux:
- Paroi vasculaire
 - Plaquettes
 - Facteurs:
 - Facteur von Willebrand
 - Fibrinogène

4

Acteurs: Paroi vasculaire

Composition

Couche interne (intima)

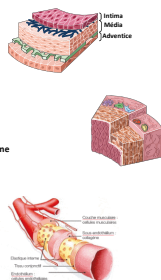
- Monocouche de cellules endothéliales; au repos : **non thrombogène**
 - Barrière de perméabilité sélective
 - Échanges entre le sang et les tissus (eau, NaCl, protéines)
 - Perméabilité : macromolécules intercellulaires/intracellulaires
 - Activité biologique
 - Synthèse (collagène...)
 - Sécrétion
- Repose sur du tissu conjonctif (sous-endothélium): **fortement thrombogène**
 - Groupes de macromolécules:
 - Collagènes
 - Facteur von Willebrand
 - Glycosaminoglycans (GAG)

Média

- Une/plusieurs couches de cellules musculaires lisses
- Tonus vasculomoteur

Adventice

- Tissu conjonctif (fibroblastes/adipocytes)

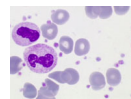


5

Acteurs: Plaquettes

Synthèse

Cellule anucléée de forme discoïde ($\approx 2 \mu\text{m}$) \rightarrow 150 à 400 G/L
Durée de vie : 8-10 jours (chez l'Homme)



Structure

- Circule dans le sang dans un **état « non activé »**
- Lors de son activation : **changement de forme**



Zone périphérique

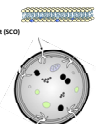
- Membrane plasmique
- Système canaliculaire ouvert (SCO)
- Récepteurs

Zone cytoplasmique

- Système tubulaire dense
- Mitochondrie
- Graines de glycogène
- Granules de sécrétion

Cytosquelette

- Microtubule
- Actine/actomyosine



6

Acteurs: Facteur von Willebrand

Synthèse

- Cellules endothéliales
- Mégacaryocytes

Structure

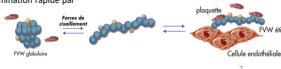
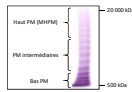
- Protéine multimerique
- Formes de haut poids moléculaire +++ (MHPM)

Localisation

- Granulation du corps de Weibel Palade des cellules endothéliales
- Plasma et sous-endothélium

Rôles

- Interaction des plaquettes avec la paroi vasculaire lésée: adhésion (GpIb et collagène). Rôle ++ des MHPM
- Transport et protection dans le plasma du facteur VIII: limite son élimination rapide par dégradation protéolytique. VWF = protéine « porteuse » du VIII



7

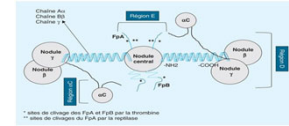
Acteurs: Fibrinogène

Synthèse

- Hépatique
- Protéine dimérique

Structure

- Configuration symétrique en 3 domaines
- Domaine Central E
- 2 domaines périphériques D de même charge qui se repoussent et assurent la solubilité



Localisation

- Plasmatique

Rôles

- Nécessaire pour l'agrégation plaquettaire et support de la coagulation
- Clivé par la thrombine en Fibrine

8

3 étapes qui se succèdent:

1



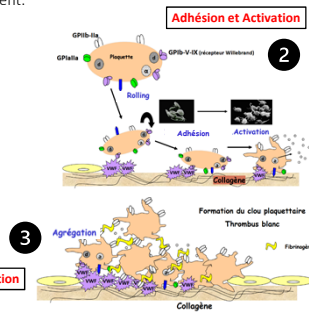
Lésion vasculaire

Interactions des GP plaquettaires:

- GPIIb/IIIa et GPIV / Collagène
- GPIb-V-IX / VWF

- GPIIb/IIIa / Fibrinogène

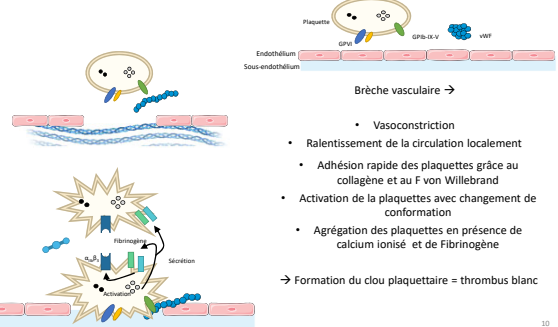
Adhésion et Activation



Agrégation

9

Sang circulant



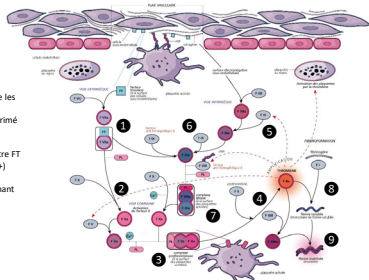
10

B) Coagulation plasmatique

But : renforcer le clou plaquettaire et aboutir à un **caillot de fibrine**

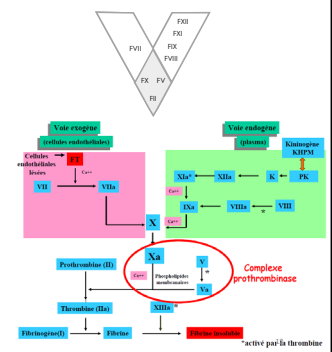
Déclenchement → Contact entre les protéines de la coagulation et :

- Le facteur tissulaire (FT) exprimé par de nombreuses cellules humaines (si lésion vasculaire : contact entre FT et protéines de la coagulation ++)
- Les plaquettes activées formant le clou plaquettaire

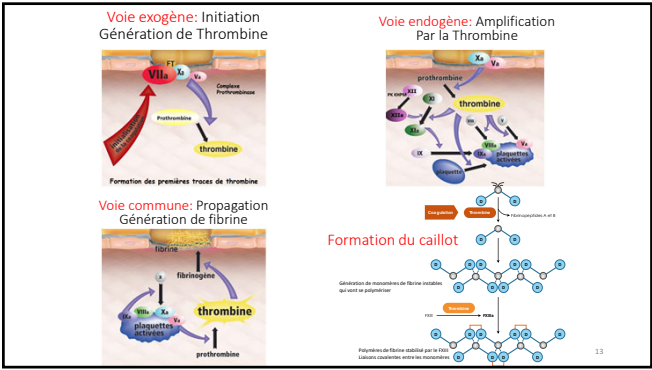


11

- Le Facteur tissulaire active le FVII 1
- Le FVIIa active le FX 2
- Le Complexe Prothrombinase: FVa/FXa/PL/Ca²⁺ se forme 3
- Et active la Prothrombine en Thrombine 4
- La Thrombine active le FXI 5
- Le Facteur XIa active le FIX 6
- Le Complexe Ténase: FVIIIa/FIXa/PL/Ca²⁺ se forme 7
- La Thrombine clive le Fibrinogène en fibrine 8
- Le FXIII insolubilise le caillot de Fibrine 9



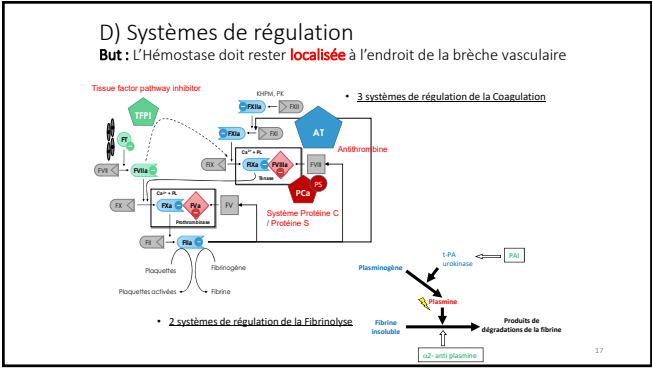
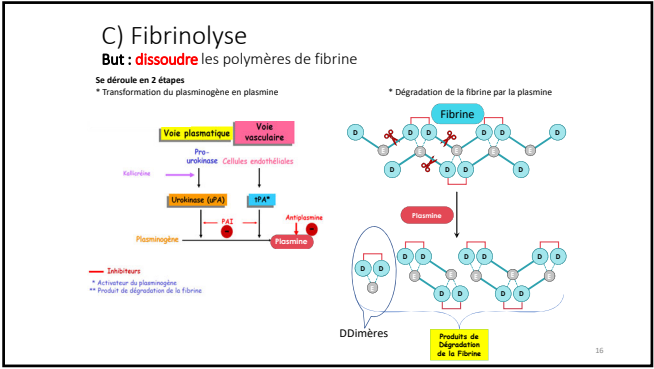
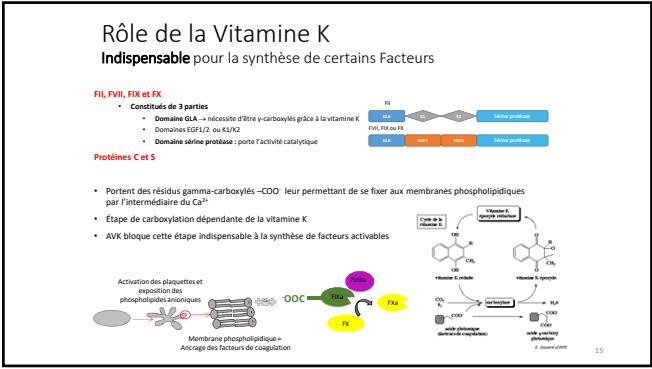
active par la thrombine



Facteurs de la Coagulation (5 catégories)

Facteur	Nom	Particularité	Lieu de synthèse	Demi-vie	Taux minimal pour assurer l'hémostase
I	Fibrinogène		Foie	4-6 jours	0,5-1 g/L
II	Prothrombine	Vitamine K dépendant	Foie	3-4 jours	40%
V	Proaccélérine	Cofacteur	Foie et MK	12-36 h	10-15%
VII	Proconvertine	Vitamine K dépendant	Foie	7 h	7%
VIII	Facteur Anti-hémophilie A	Cofacteur	Foie et C. endoth.	10-16 h	30-40%
IX	Facteur Anti-hémophilie B	Vitamine K dépendant	Foie	24h	30-40%
X	Facteur Stuart	Vitamine K dépendant	Foie	1-2 jours	10-20%
XI	Facteur Rosenthal		Foie	1-2 jours	30%
XII	Facteur Hageman		Foie	2-3 jours	6%
XIII	Stabilisant de la Fibrine		Foie	3-7 jours	2%

- Zymogènes de sérines protéases : FII, FVII, FIX, FX, FXI et FXII
- Cofacteurs protéiques : FV et FVIII
- Cofacteurs non protéiques :
 - Calcium (Ca^{2+})
 - Phospholipides anioniques
- Substrat final: FI
- Transglutaminase: FXIII



SFTH
SOCIÉTÉ FRANÇAISE
DE THROMBOSE
ET D'HÉMOSTASE

CHU BDX
CENTRE
HOSPITALIER
UNIVERSITAIRE
BORDEAUX

Tests biologiques conventionnels

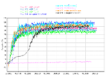
Tests réalisés au laboratoire

A) Exploration de l'Hémostase Primaire



Temps d'occlusion plaquettaire (sur PFA=platelet functions analyzer) :

- Effectué sur **sang total** citrate
- Limites : thrombopénie, hémocrité bas, certains traitements



Plaquettes :

- Quantitatif (numération): Effectué sur **sang total** EDTA
- Qualitatif (agrégation, ...): Effectué sur **sang total** citrate

Facteur Willebrand :

- Quantitatif (Antigène): Effectué sur **plasma** citrate
- Qualitatif (Activité): Effectué sur **plasma** citrate

Plusieurs objectifs :

- Exploration d'un syndrome hémorragique
- Etude des fonctions plaquettaires

19

B) Exploration de la Coagulation



Plusieurs objectifs :

- Bilan pré opératoire
- Exploration d'un syndrome hémorragique
- Surveillance d'un traitement anticoagulant
- Etude des fonctions hépatiques
- Bilan biologique d'une thrombose veineuse

Prélèvement : A vérifier

- ✓ Tube (citrate/CTAD)
- ✓ Remplissage (>90% recommandé)
- ✓ Ordre (1^{er} ou après tube purge/hémoc)
- ✓ Transport (Temp ambiante)
- ✓ Délais
- ✓ Pré traitement (Cf Recos GT SFTH)



20

Tests chromométriques (= coagulométrie) :

- Mesure un temps de formation du caillot de fibrine
- Signal à détection électromécanique (viscosimétrie) ou photo-optique (néphélométrie, turbidimétrie)

Tests globaux :

- Taux de Prothrombine (TP) ou Temps de Quick (TQ)
- Temps de Céphaline + Activateur (TCA)
- Temps de Thrombine (TT)

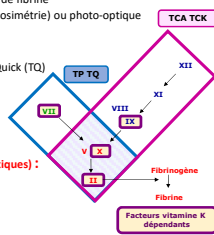
Tests spécifiques : dosages des facteurs

Tests chromogéniques (souvent amidolytiques) :

- Utilise un substrat chromogénique
- Détection photo-optique (colorimétrie)

Tests immunologiques :

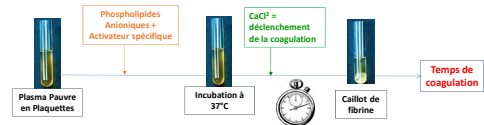
- Utilise une réaction antigène-anticorps
- Signal à détection photo-optique (immunoturbidimétrie)



21

Tests chromométriques

Activité coagulante :



Pour initier la coagulation :

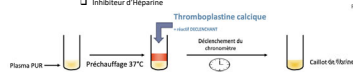
- **Phospholipides**
- Un « activateur » : FT (TP), kaolin, silice, ... (TCA)
- **Ca²⁺** → chélation du calcium par le citrate des tubes de prélèvement (importance taux de remplissage +++)

22

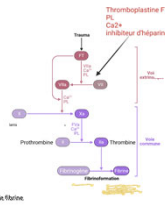
Tests globaux : exploration de la voie exogène

Temps de Quick (exprimé en secondes) :

- Mesure du temps de coagulation à 37°C d'un plasma pauvre en plaquettes en présence :
 - De **thromboplastine** (= phospholipides + facteur tissulaire)
 - ☐ Facteur tissulaire : forme un complexe avec le facteur VII, ce qui déclenche la coagulation
 - ☐ Phospholipides : nécessaire à l'activation enzymatique des facteurs
 - ☐ Ca²⁺ en excès : déclenche réaction
 - ☐ Inhibiteur d'héparine



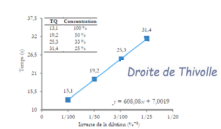
Normales entre 12 et 15 secondes



23

Taux de prothrombine (exprimé en %) :

- Valeurs normales: 70-150%
- Droite d'étalonnage= droite de Thivolle
 - ☐ Établie pour chaque lot de thromboplastine



- Le TQ patient est reporté sur cette droite pour déterminer le TP en %

INR International Normalized Ratio (pas d'unité) :

- Mode d'expression du TQ pour les traitements par AVK= standardisation surveillance

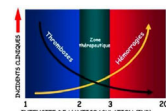
INR entre 2 et 3 : Fibrillation atriale – Maladie thromboembolique veineuse

INR entre 2,5 et 4 : en cas d'embolies systémiques récidivantes, prothèses valvulaires mécaniques (selon localisation + facteurs de risques)

INR > 4 : risque hémorragique

ISI = Index de sensibilité de la thromboplastine

INR = $\frac{\text{TQ patient}}{\text{TQ moyen}}$

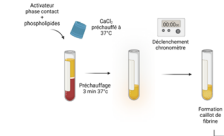
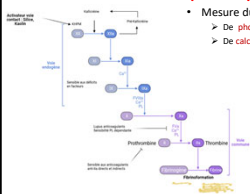


24

Tests globaux : exploration de la voie endogène

Temps de Céphaline + Activateur (exprimé en secondes):

- Mesure du temps de coagulation à 37°C d'un plasma pauvre en plaquettes en présence:
 - De phospholipides (= céphaline) + d'un activateur de la phase contact (kaolin=TKC, acide ellagique, silice...)
 - De calcium



Pas de calibration (résultats en secondes)
Rendu en ratio: temps en secondes par rapport à un temps témoin
→ Normal ratio Patient/Témoin < 1,20

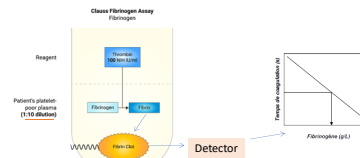
25

Test spécifique :

Dosage du Fibrinogène (exprimé en g/L):

- Technique de Von Clauss = Mesure du temps de coagulation à 37°C d'un plasma pauvre en plaquettes dilué en présence:
 - De thrombine

Normales > 2g/L



26

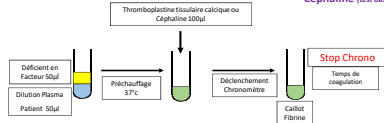
Test spécifique :

Dosage des facteurs (exprimé en %):

Plasma du patient dilué au 1/10^{ème} + plasma déficient en facteur à doser +

Thromboplastine calcique (test basé sur TP)

Céphaline (test basé sur TCA)



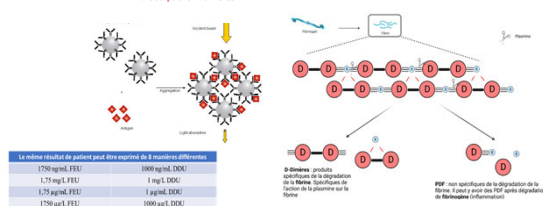
- Technique basée sur le TP :
 - (Facteur II, Facteur V, Facteur VII ou Facteur X) → Le temps de coagulation ne dépend ainsi que du taux de facteur du patient
- Technique basée sur le TCA :
 - (Facteur VIII, Facteur IX, Facteur XI ou Facteur XII) Temps de coagulation converti en % sur une droite d'étalonnage

27

C) Exploration de la Fibrinolyse

Dosage des D-dimères (exprimé en ng/mL ou µg/mL FEU ou DDU):

- Méthode immunoturbidimétrique (Ag/Ac) en présence:
 - D'anticorps anti D-dimères



28

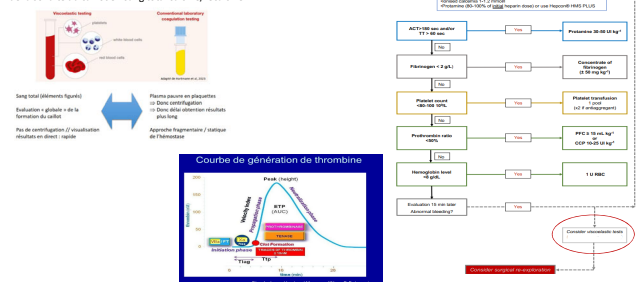
Tests biologiques: évaluation Hémostase en cas de syndrome hémorragique

Tests réalisés au laboratoire ou en biologie délocalisée
ViscoElasticTest ou ViscoHemostaticAssay



* Historique Thromboélastographie d'Harter 1947

=> Dénommée Thromboélastographie: l'amplitude étant le reflet de la formation et de la solidité du caillot en sang total calcifié/recalcifié



* Équipements d'aujourd'hui :

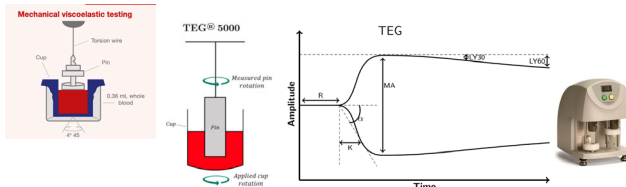
- Thromboelastography (TEG 5000, **Haemonetics**)
- Rotational thromboelastometry (ROTEM, **WERFEN**)
- Sonic estimation of elasticity via resonance (SEER) sonorheometry (Quantra System, **HemoSonics STAGO**)
- Resonance (TEG6s, **Haemonetics**)

Same but Different: Viscoelastic Hemostatic Assays in Cardiac Surgery Editorial / Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia 35 (2021) 10371039
Review Viscoelastic Hemostatic Assays: A Primer on Legacy and New Generation Devices J. Clin. Med. 2022, 11, 860
Hartmann J. Viscoelastic testing: an illustrated review of technology and clinical applications Res Pract Thromb Haemost. 2023

MÉTHODE DE DÉTECTION 1 SUIVI MÉCANIQUE DE LA FORMATION DU CAILOT LA FORCE « VISCOÉLASTIQUE » DU CAILOT TRADUITE EN AMPLITUDE

→ **Thromboélastographie** (TEG 5000): la goupille est fixe

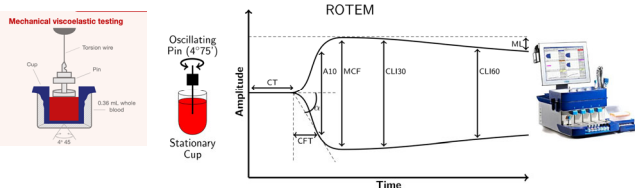
La cupule est rotative et on mesure la diminution de l'amplitude de rotation au fur et à mesure de la formation du caillot



Review Viscoelastic Hemostatic Assays: A Primer on Legacy and New Generation Devices J. Clin. Med. 2022, 11, 860
Hartmann J. Viscoelastic testing: an illustrated review of technology and clinical applications Res Pract Thromb Haemost. 2023

→ **Thromboélastométrie** (ROTEM Delta): la cupule est fixe

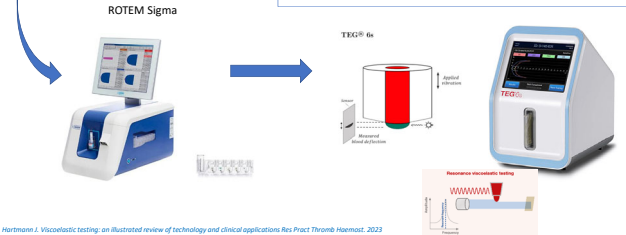
La goupille est rotative et on mesure la diminution de l'angle d'oscillation au fur et à mesure de la formation du caillot



Review Viscoelastic Hemostatic Assays: A Primer on Legacy and New Generation Devices J. Clin. Med. 2022, 11, 860
Hartmann J. Viscoelastic testing: an illustrated review of technology and clinical applications Res Pract Thromb Haemost. 2023

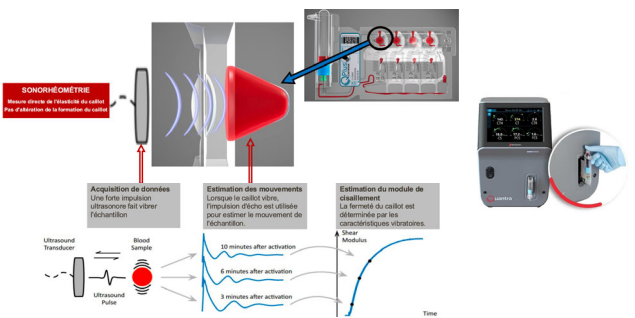
Evolutions pour s'adapter à la biologie délocalisée

MÉTHODE DE DÉTECTION 2 MESURE DE L'ÉLASTICITÉ DU CAILOT L'ÉCHANTILLON EST EXPOSÉ À UNE FRÉQUENCE FIXE DE VIBRATION: RÉSONANCE



Hartmann J. Viscoelastic testing: an illustrated review of technology and clinical applications Res Pract Thromb Haemost. 2023

→ **Sonorhéométrie** (Sonic estimation of elasticity via resonance SEER) (Quantra) via des ultrasons



PRINCIPE DES TESTS / RENDU DES RÉSULTATS

Stimulation de l'hémostase supra-physiologique permettant d'augmenter la cinétique de réaction

ROTEM				QUANTRA		
Profil	Actuateur / Modulateur	Séries	Trace associée	Paramètres	Zones de mesure	Description
ex-TEM	Facteur tissulaire	Évaluation de la formation du caillot, de la polymérisation de la fibrine et de la fibrinolyse par la voie extrinsèque		CT Clot Time	60 - 180 sec	Temps de coagulation mesuré avec un activateur de la voie extrinsèque (Bovine)
ex-TEM	Acide ellagique	Évaluation de la formation du caillot, de la polymérisation de la fibrine et de la fibrinolyse par la voie extrinsèque		CTH* Clot Time Heparinase	60 - 180 sec	Temps de coagulation mesuré avec un activateur de la voie extrinsèque (Bovine) en présence d'héparinase
ex-TEM	Facteur tissulaire + Cryochaleur D	Évaluation de la fibrinogenolysabilité du fibrinogène et de sa polymérisation par la voie extrinsèque		CTP* Clot Time Ratio	0.5 - 5	Ratio entre CT / CTH* (différence l'impact de l'héparine mesurée vs la coagulation)
ex-TEM	Acide ellagique + Héparinase	Évaluation de la formation du caillot, de la polymérisation de la fibrine et de la fibrinolyse par la voie extrinsèque chez un patient hépariné		CS Clot Stiffness	2 - 150 kPa	Rigidité globale du caillot mesurée avec un activateur de la voie extrinsèque (thromboplastine) et en présence de polyphénols
ex-TEM	Facteur tissulaire + Apertinase	Évaluation de la formation du caillot, de la polymérisation de la fibrine et de la fibrinolyse		FCS Fibrinogen Contribution to Clot Stiffness	0.2 - 30 kPa	Contribution du fibrinogène (fonctionnel) à la rigidité globale du caillot en présence de la voie extrinsèque (thromboplastine) et d'un inhibiteur plasmatique (albumine)
ex-TEM	Facteur tissulaire + Apertinase	Évaluation de la formation du caillot, de la polymérisation de la fibrine et de la fibrinolyse		PCCS Platelet Contribution to Clot Stiffness	2 - 50 kPa	Contribution des plaquettes fonctionnelles à la rigidité globale du caillot
ex-TEM	Alcool	Évaluation de la formation du caillot, de la polymérisation de la fibrine et de la fibrinolyse		CS** Clot Stability Lysis	10 - 100 %	Calcul de la rigidité du caillot due à l'influence de la fibrinolyse. Déterminée via un ratio normalisé de la rigidité du caillot (CS) en présence et en absence d'apertinase (apoptase transgénique)

Tests TEG 6s disponibles

Cartouche Global Hemostasis

Test	Description	Type d'échantillon
TEG basile	Test activé par le site intrinsèque. On trace généralement la formation des liaisons covalentes hémostatiques pour pointer de la rapidité d'activation ou de la formation.	Sang total citraté
TEG basile à l'aprotinine	Élimine l'effet de l'aprotinine dans l'échantillon. Utile en comparaison avec le TEG basile standard, il permet d'évaluer la présence d'aprotinine ou d'hyperfibrinogénémie.	
RapideT	Test activé par le site intrinsèque et activé par l'ajout d'aprotinine. L'activation des propriétés hémostatiques d'un patient.	
TEG Rheologie fonctionnel	Test activé par le site intrinsèque ou l'ajout d'aprotinine. Utile pour évaluer la fonction plaquettaire afin d'évaluer la contribution de la RBC à la résistance du caillot. Utile en comparaison avec le test TEG basile. Permet d'évaluer la contribution relative des plaquettes et de la RBC à la résistance globale du caillot.	

Fig. 1. ROTEM trace (Hemogram) displaying the clinically most important parameters and their informative value.

CT (clotting time): Temps entre début de la mesure jusqu'à une amplitude du caillot de 2 mm (vitesse à laquelle la formation de fibrine (F) débute-initiation-CT-début polymérisation)

CT (clot formation time): Temps entre 2 et 20 mm de fermeture > poursuite de la polymérisation F, stabilisation du caillot par les plaquettes et F XIII

AS/10/20: Amplitude correspondant après un tps X (5, 10 ou 20min) après le CT

MCF (maximum clot firmness): Amplitude/fermeté maximale du caillot = stabilisation du caillot

U 30/45/60 Index %: Rapport entre l'amplitude au tps X (30, 45 ou 60min après le CT) et l'amplitude du MCF (% de fermeté de caillot restante)

ML % (maximum lysis): Rapport entre la plus faible amplitude après atteinte du MCF et le MCF (diminution la fermeture du caillot à partir du max MCF)

Interprétation des paramètres:

- CT:** Temps entre début de la mesure jusqu'à une amplitude du caillot de 2 mm
- AS/10/20:** Amplitude correspondant après un tps X (5, 10 ou 20min) après le CT
- MCF:** Amplitude/fermeté maximale du caillot = stabilisation du caillot
- U 30/45/60 Index %:** Rapport entre l'amplitude au tps X (30, 45 ou 60min après le CT) et l'amplitude du MCF (% de fermeté de caillot restante)
- ML %:** Rapport entre la plus faible amplitude après atteinte du MCF et le MCF (diminution la fermeture du caillot à partir du max MCF)

Interprétation des paramètres:

- CT:** Temps entre début de la mesure jusqu'à une amplitude du caillot de 2 mm
- AS/10/20:** Amplitude correspondant après un tps X (5, 10 ou 20min) après le CT
- MCF:** Amplitude/fermeté maximale du caillot = stabilisation du caillot
- U 30/45/60 Index %:** Rapport entre l'amplitude au tps X (30, 45 ou 60min après le CT) et l'amplitude du MCF (% de fermeté de caillot restante)
- ML %:** Rapport entre la plus faible amplitude après atteinte du MCF et le MCF (diminution la fermeture du caillot à partir du max MCF)

Profils ROTEM

ARBRE DÉCISIONNEL

On going bleeding

Run ROTEM

Possible thrombopénie sur-ajoutée

Pas INTEM pour se prémunir d'un résidu HNF

Plusieurs réf EXTEM CT > 90/100 sec

Si Aprotinine, se baser sur CT EXTEM

Interprétation si CT INTEM > 240

Attention:

- CT/CT INT ≥ 1 => penser à l'excès de protamine
- Sous aprotinine allongement modéré des 2 CT

Interprétation si CT INTEM > 240

Attention:

- CT/CT INT ≥ 1 => penser à l'excès de protamine
- Sous aprotinine allongement modéré des 2 CT

Interprétation si CT INTEM > 240

Attention:

- CT/CT INT ≥ 1 => penser à l'excès de protamine
- Sous aprotinine allongement modéré des 2 CT

CT (clotting time): Temps de formation de caillot

CT (clotting time + heparinase):

CTR: ratio CT/CTH

CS: Clot stiffness Fermeté du caillot

PCS: Platelet clot stiffness (part plaquettaire)

FCS: Fibrinogen clot stiffness (part fibrinogène)

Chirurgie cardiaque

Cartouche Quanta QPlus®

Soignement anormal

Corriger et traiter

Objectifs:

- TC > 30°C
- Ca²⁺ > 1.0 mmol/L
- pH > 7.30
- Hb > 8 g/dL (ou Ht > 24%)
- MAP > 55 mmHg > 75 mmHg

Quanta® Q+ Numération plaquette TP, FIB, TT

Document établi en coopération avec l'équipe du Service d'Anesthésie-réanimation cardio-vasculaire (Cardio)

Tests normaux

Protamine

Fibrinogène

Transfusion plaquettaire

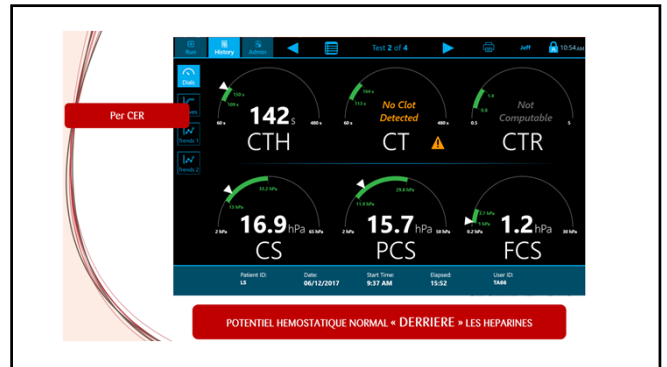
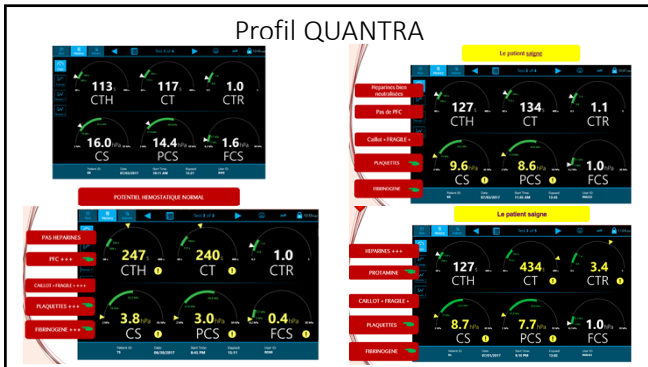
Plasma frais congelé

Exploration chirurgicale

Novoseven

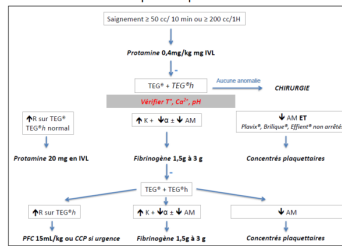
Novoseven® (TFVila)

Profil QUANTRA



RUN TEG

Postoperative period



Hartmann J. Viscoelastic testing: an illustrated review of technology and clinical applications Res Pract Thromb Hemost. 2023

LES LIMITES VHA

Ne dépiste pas :

- Maladie de Willebrand (Pas de contact avec le collagène, pas de flux à fort taux de cisaillement)
- Fibrinolyse locale non systémique

Non sensible à

- Aspirine, clopidogrel
- Nouveaux antiP2Y12 (Brillique-Efient)

En rapport avec l'effet « écrasant » de la génération de thrombine (sauf si module plaquettes...)

Peu sensible

- Aux AVK
- Aux HBPM (dose dépendant), insensible Danaparoid et Arixtra
- AOD : impact sur CT, dose dépendante

Méthode in vitro

- Sans contact avec une surface endothéliale
- Mesures non réalisées en forces de flux artériel
- Dépendance forte au taux de fibrinogène et plaquette

CHOIX D'UN EQUIPEMENT

- Equipe médicale, des biologistes et des biomédicaux
- Automates en salle ou déporté au Laboratoire
- Type d'équipement cartouches à usage unique/puits-flacons-pipettes
- Module informatique/connectivité
- Prix
- Temps de rendu des résultats exemple Quantra (412 and 658 s) compared to ROTEM sigma (839 and 1290 s)

Reference	Study design	Key results
Shenoy 2019 [16]	Observational study of 100 patients with acute bleeding (APACHE II score ≥ 15)	Viscoelastic testing was associated with improved mortality, risk of acute kidney injury (AKI), and need for renal replacement therapy (RRT) compared to standard of care (SOC).
Shenoy 2019 [17]	Observational study of 100 patients with acute bleeding (APACHE II score ≥ 15)	Viscoelastic testing algorithms were not used and were found to be associated with increased mortality, risk of AKI, and need for RRT compared to SOC.
Shenoy 2019 [18]	Observational study of 100 patients with acute bleeding (APACHE II score ≥ 15)	The use of viscoelastic testing algorithms was not used and was found to be associated with increased mortality, risk of AKI, and need for RRT compared to SOC.
Shenoy 2019 [19]	Observational study of 100 patients with acute bleeding (APACHE II score ≥ 15)	The use of viscoelastic testing algorithms was not used and was found to be associated with increased mortality, risk of AKI, and need for RRT compared to SOC.
Shenoy 2019 [20]	Observational study of 100 patients with acute bleeding (APACHE II score ≥ 15)	The use of viscoelastic testing algorithms was not used and was found to be associated with increased mortality, risk of AKI, and need for RRT compared to SOC.
Shenoy 2019 [21]	Observational study of 100 patients with acute bleeding (APACHE II score ≥ 15)	The use of viscoelastic testing algorithms was not used and was found to be associated with increased mortality, risk of AKI, and need for RRT compared to SOC.
Shenoy 2019 [22]	Observational study of 100 patients with acute bleeding (APACHE II score ≥ 15)	The use of viscoelastic testing algorithms was not used and was found to be associated with increased mortality, risk of AKI, and need for RRT compared to SOC.
Shenoy 2019 [23]	Observational study of 100 patients with acute bleeding (APACHE II score ≥ 15)	The use of viscoelastic testing algorithms was not used and was found to be associated with increased mortality, risk of AKI, and need for RRT compared to SOC.
Shenoy 2019 [24]	Observational study of 100 patients with acute bleeding (APACHE II score ≥ 15)	The use of viscoelastic testing algorithms was not used and was found to be associated with increased mortality, risk of AKI, and need for RRT compared to SOC.
Shenoy 2019 [25]	Observational study of 100 patients with acute bleeding (APACHE II score ≥ 15)	The use of viscoelastic testing algorithms was not used and was found to be associated with increased mortality, risk of AKI, and need for RRT compared to SOC.

Hartmann J. Res Pract Thromb Hemost. 2023



Tests biologiques: évaluation de l'anticoagulation per opératoire

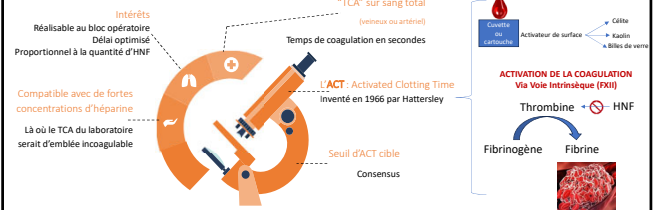
Tests réalisés en biologie délocalisée

ActivatedClottingTime

Tests disponibles



ACT Activated Clotting Time (EBMD)



CIBLES

- CEC en Chirurgie cardiaque : HNF 300 à 500 UI/kg

ACT > 480 sec

EACTS/EACTA/EBCP guidelines on cardiopulmonary bypass in adult cardiac surgery, BA, 2019

- Ablation de FA ou d'arythmies (Par cathéter) : HNF 100 UI/kg

ACT > 300 sec

HRS/EHRA/ECAS/APHS/SOLACEE expert consensus statement on catheter and surgical ablation of atrial fibrillation, Heart Rhythm 2017

- Pose de valves percutanées: TAVI, Mitraclip, Triclip : HNF 100 UI/kg

ACT > 250 ou 300 sec selon risque TE

Recommendations for periprocedural anticoagulation management			
Recommendations	Class ^a	Level ^b	Ref ^c
Heparin management			
ACT above 480 s during CPE should be considered in CPE with uncoated equipment and cardiopulmonary sections. The required target ACT is dependent on the type of equipment used.	IIIa	C	

Heparin should be administered prior to or immediately following transseptal puncture during AF catheter ablation procedures and adjusted to achieve and maintain an ACT of at least 300 seconds.

EQUIPEMENT

Fournisseurs	Tests/Car touche-Cuvette	Activateur	Unités	HNF range d'utilisation gamme limite	Interférence Aprotinine	Mode de détection	Endpoint
Hémochron (Accutest racheté par Werfen)	ACT HR (+)	Silice + Kaoalin + Phospholipides	Secondes équivalent Célite	limite>1000 sec 1-6U/ml de sang	Non	Mécanique, optique	Formation de caillot
I-stat (Abbott)	ACT	Kaolin	Secondes	50-1000 sec	Non jusqu'à 200-250U/ml	Electrochimique conversion d'un substrat « non fibrinogène » par la thrombine	Détection ampermétrique de la formation de thrombine
ACT plus (Medtronic)	HR-ACT	12% Kaolin		>1U/ml d'héparine		Mécanique	Formation de caillot

HMS Heparin hemostats management system (Medtronic)

Voir plus loin

L'ACTIVATEUR pour la CEC => toujours du KAOALIN (forte dose d'héparine/non sensible à la présence d'aprotinine)
D'une façon générale les temps en kaolin sous HNF sont plus courts qu'avec de la célite

Historique

In 1975, Bull *et al.* described the prolonging effect of heparin on the ACT. They determined an ACT "safe zone" of 300-600 seconds during CPB, recommending an ACT of 480 seconds as an adequate anticoagulation level

In addition, Young *et al.* noted an absence of fibrin formation when the ACT was maintained above 400 seconds (5 patients @)

La valeur cible généralement recommandée en CEC de 450-480 sec. Elle tient compte du coefficient de variation de la mesure de l'ACT (10-15%).

La limite inférieure « admise » en CEC est de ne pas être < 350 sec

Solis Clavijo D, Cotano AO, Pena NA, et al. Variability of three activated clotting time point of care systems in cardiac surgery: Reinforcing available evidence. Perfusion 2022; 37: 711-4

Systeme/Reagent	N	Mean	SD	CV (%)	Range
Statport-1000 (Statport) + Heparin	10	120.0	1.7	1.4	100.0-120.0
Statport-1000 (Statport) + Heparin	10	120.0	1.7	1.4	100.0-120.0
Statport-1000 (Statport) + Heparin	10	120.0	1.7	1.4	100.0-120.0
Statport-1000 (Statport) + Heparin	10	120.0	1.7	1.4	100.0-120.0
Statport-1000 (Statport) + Heparin	10	120.0	1.7	1.4	100.0-120.0
Statport-1000 (Statport) + Heparin	10	120.0	1.7	1.4	100.0-120.0
Statport-1000 (Statport) + Heparin	10	120.0	1.7	1.4	100.0-120.0
Statport-1000 (Statport) + Heparin	10	120.0	1.7	1.4	100.0-120.0
Statport-1000 (Statport) + Heparin	10	120.0	1.7	1.4	100.0-120.0
Statport-1000 (Statport) + Heparin	10	120.0	1.7	1.4	100.0-120.0

Les systèmes ne sont pas superposables (-50s entre Medtronic et ACT juniors ITC)

Reco > 400s et Tenir compte du circuit ET du POC

REGARD CRITIQUE SUR ACT

CHU BDX Hémochron ELITE	ACT+ (CEC) Moyenne N=8	
Secondes	Niveau 1 150	Niveau 2 430
CV (%)	12	5

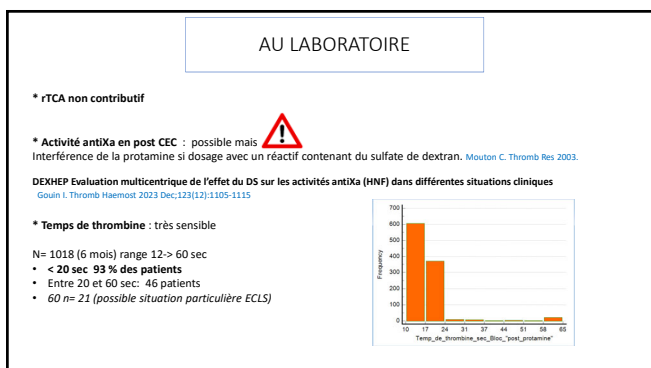
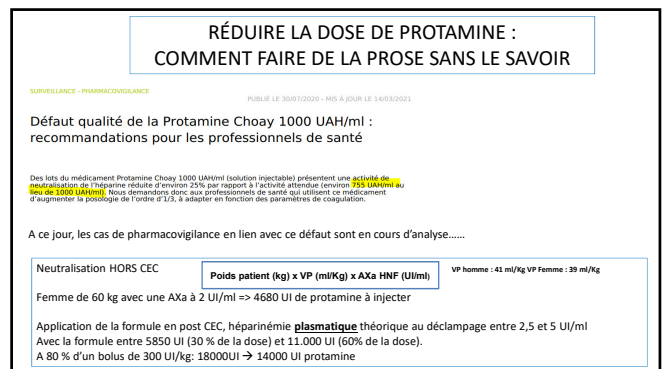
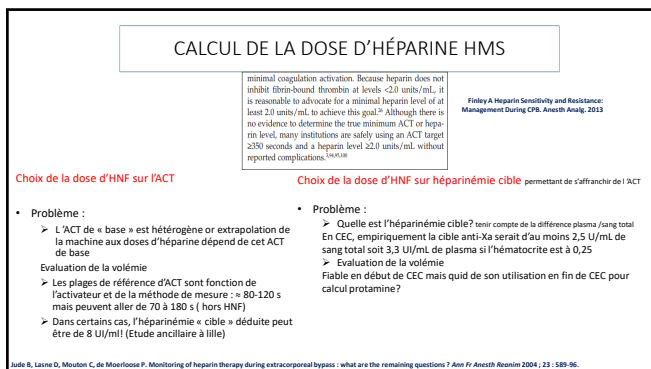
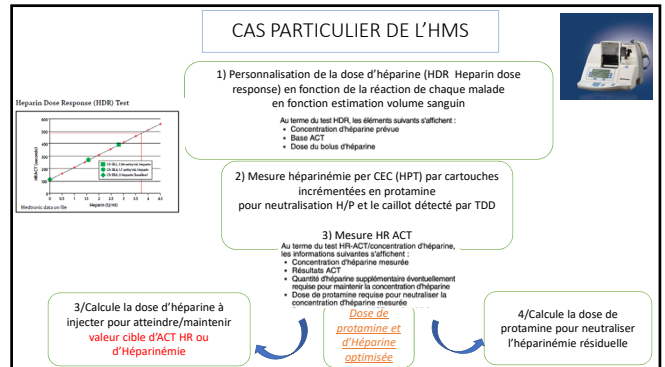
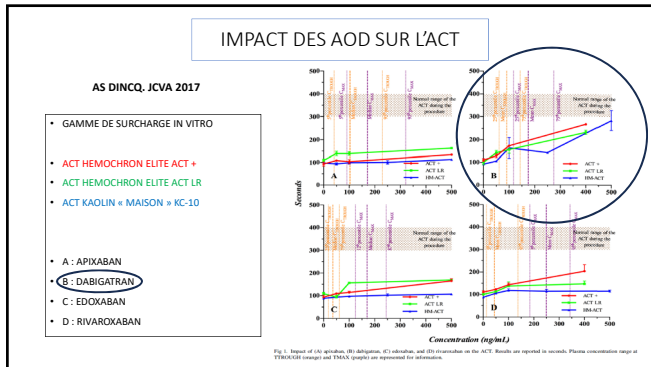
Raccourcissement
Augmentation FVIII, fibrinogène, PF4 ? Autres protéines de l'inflammation ?

Allongement
Hypothermie < 18 °C
Déficiences de facteurs (notamment Fibrinogène, Protéine C, a2-macroglobuline)
Hémolyse (Hématocrite < 20 %)
Anémie (Hb < 80 g/L)
Thrombopénie
Anomalie plaquettaire de type acquis par AAP

HYPOCOAGULABILITE
(qui s'ajoute à celle de l'héparine sauf aprotinine)

- Normaux: 50sec d'écart est acceptable entre 2 équipements (2.8*12%=34% de 150sec)
- Pathologiques: 60sec d'écart est acceptable entre 2 équipements (2.8*5%=14% de 430sec)
- > 100sec entre 2 équipements est inacceptable dans les 2 cas

LIMITE
Le test ACT+ (hémochron) n'est pas sensible à des doses HNF < 1,0 UI/ml de sang
Le test ACT Plus+ Medtronic ?
I STAT ?



62

J. Clin. Med. 2021, 10, 2454


Fig. 3 Hypothetical relation of protamine dosing with bleeding complications. Whilst protamine underdosing is associated with bleeding complications caused by the anticoagulant properties of residual heparin, protamine overdosing may lead to bleeding complications caused by the anticoagulant properties of protamine in the absence of heparin.

Total amount of blood component transfusion

Group	p-0.001/pepatric ratio (N)	p-0.05/pepatric ratio (N)
Blood transfusion component (n/total)	~28	~38 (p<0.001)
Fresh frozen plasma (N)	~1	~12 (p=0.12)
Platelet-rich plasma (N)	~25	~35 (p<0.001)
Allogeneic concentrate (N)	~5	~10 (p=0.009)
Platelet concentrate (N)	~5	~10 (p=0.006)
Thrombolytic concentrate (N)	~1	~5 (p=0.076)

Legend: ■ p-0.001/pepatric ratio, ■ p-0.05/pepatric ratio

Futur ?



UTRA Naked-UTRA Protamine

MONITORAGE PROTAMINATION PAR ACT

Nevertheless, a post-protamine ACT prolonged by more than 10% compared with baseline on anesthetic induction should be interpreted with a suitable index of suspicion, as it may suggest either inadequate protamine with residual-free heparin or protamine excess.

Pas d'accord

R. HECHT. 2020. J Extra Corpor Technol. 2020;52:63-70

- Reproductibilité ACT + niveau bas

Validation de méthodes CHU BDX	ACT+ (CEC) moyenne 8 ELITE	
Secondes	Niveau 1 150	Niveau 2 430
Régula CV(%)	7.3	2.5
Repro CV(%)	12	5

- Allongements NS : hypothermie, hémodilution, consommation facteurs voie contact, **surdosage en protamine**.
- Etudes (C. Boer, revue BJA 2018) pas de corrélation entre ACT allongé post op et héparinémie plasmatique ou la détection autres techniques Ratio P/H 1:1 ou 0.6:1 => ACT identiques

NB : si saignement + un ACT significatif > 180 sec peut indiquer le besoin d'une nouvelle dose « raisonnable » de protamine

Monitoring

- Tests viscoélastiques
- TCA
- TT
- Activité antiXa

Contrôle de la protamination par tests viscoélastiques

Sensibilité et seuil de détection annoncée par le fournisseur

ROTEM = 0,3 UI/ml (sang total)
TEG 6S = 0,2 UI/ml (sang total)
Quanta = > 0,15 UI/ml (sang total) autour de 0,4 UI/ml en plasma

Pour comparer Hep sg total de Hep plasmatique : $\text{hep sang} = \frac{\text{hep plasma}}{1 + \text{Ht}/100}$

Tests sensibles à la détection d'héparine résiduelle en post CEC

- POC
 - ROTEM INTEM/HEPTEM
 - TEG R time with heparinase.
 - Quanta CRT
- Laboratoire
 - temps de thrombine (sec)
 - TCA
 - Activité anti Xa Héparine
 - Attention post protamine-Interaction in vitro si réactif au sulfate de dextran

Interprétation propre à chaque fournisseur

EXEMPLE DE DÉMARCHE D'ACCREDITATION



Surveillance de l'héparinémie en chirurgie cardiaque par ACT : accélération du temps de coagulation en CHU de Bordeaux

PARAMÈTRES

Coagulation Event	Main Contributor	TEG 6000	TEG 6s	ROTEM [®] DeltaSigna	Quanta [®] Official	Quanta [®] CT	Clinical Significance
Clot initiation	Reaction time (R), minutes	Clotted	Clotted	Clotted	Clotted	Clotted	A short R/CT/CTH time indicates either hypocoagulable state. A prolonged R/CT time indicates either hypercoagulability or the presence of an anticoagulant.
Clot evolution	Kinetic time (K), minutes	Clotted	Clotted	Clotted	Clotted	Clotted	A short K/CTH/CTH in the presence of a long CT/CTH is a laboratory artifact.
Clot lysis	Clot lysis time (LY), minutes	Clotted	Clotted	Clotted	Clotted	Clotted	A short LY/CTH/CTH in the presence of a long CT/CTH is a laboratory artifact.
Clot stability	Clot stability time (ST), minutes	Clotted	Clotted	Clotted	Clotted	Clotted	A short ST/CTH/CTH in the presence of a long CT/CTH is a laboratory artifact.
Clot adhesion	Clot adhesion time (AT), minutes	Clotted	Clotted	Clotted	Clotted	Clotted	A short AT/CTH/CTH in the presence of a long CT/CTH is a laboratory artifact.

Review Viscocoagulation Assays: A Primer on Legacy and New Generation Devices. J Clin Med. 2022; 11, 860

Table 1. Comparison Between Quanta System Surgical Cartridge and ROTEM Parameters (Primary) and Other Laboratory Tests (Secondary)			
Quanta Test Result	Reagent(s)	Primary Comparator (ROTEM Assay)	Secondary Comparator (Laboratory Test)
Clot Time (min)	CaCl ₂ , calcium, buffers, and stabilizers	INTEM CT	aPTT
Heparinase Clot Time (min)	Heparinase, calcium, buffers, and stabilizers	HEPTEM CT	NA
Clot Stiffness (kPa)	Thromboelastin, heparinase I, calcium, buffers, and stabilizers	EXTEND ALO	NA
Fibrinogen Contribution (kPa)	Thromboelastin, heparinase I, calcium, buffers, and stabilizers	EXTEND ALO	Clotted Fibrinogen
Clot Time Ratio	NA—Calculated from the ratio of Clot Time and Heparinase Clot Time	Ratio of INTEM CT and HEPTEM CT	NA
Platelet Contribution (kPa)	NA—Calculated from the difference between Clot Stiffness and Fibrinogen Contribution	Difference of EXTEND ALO and FIBTEM ALO	Platelet count

Abbreviations: ALO, clot amplitude 10 minutes after CT; aPTT, adjusted partial thromboplastin time; CT, clotting time; NA, not applicable.

Measurement and Main Results: The contribution of FIBTEM A5 <17 min and EXTEND A5 <44 min identified a fibrinogen level <1.5 g/L with 100% sensitivity and 77.5% specificity. PLTEM describes the platelet contribution to clot firmness and is calculated as EXTEND - FIBTEM. PLTEM A5 <16 min sensitivity and specificity were 100% and 94.4% for a platelet count <30 × 10⁹/L. EXTEND coagulation time (CT) >30 seconds had a 25.0% sensitivity and a 100% specificity for a PTT <30.0. The INTEM CT >204 seconds showed a sensitivity of 75.0% and a specificity of 97.4% for an aPTT >37 and a sensitivity of 80.0% and a specificity of 80.0% for an aPTT >55 seconds.

E. Scola et al. / Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia 34 (2020)

EFFET DE LA PROTAMINE SUR VHA (ROTEM)

Attention ratio INTEM/HEPTEM

alors que dans l'arbre décisionnel transfusion ratio HEPTEM/INTEM

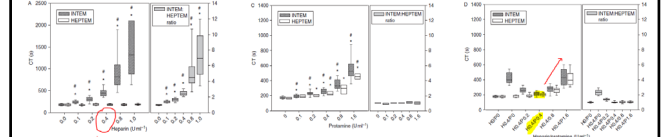


Fig.A. Augmentation du CT de INTEM en fonction de doses croissantes d'héparine in vitro Ratio CT INTEM/HEPTEM ↑ (normale < 1,25)

Fig.B. Allongement des CT pour INTEM/HEPTEM en fonction de l'ajout de protamine. Ratio CT INTEM/HEPTEM =

Fig.C. H0, A/P0, A >> neutralisation ajustée Si doses de protamine, Ratio CT INTEM/HEPTEM = mais CT INTEM et HEPTEM ↑

Conclusion. CT measurement using the ROTEM[®] technique appears to be a valuable tool for heparin-protamine management. For detection of heparin alone, protamine alone and the two combined, the ratio of CT-INTEM:CT-HEPTEM can be used to distinguish the effects of heparin excess (CT-INTEM:CT-HEPTEM > 1) from those of protamine excess (CT-INTEM:CT-HEPTEM < 1).

M. Mittermayr, J. Margreiter, et al. Effects of protamine and heparin can be detected and easily differentiated by ROTEM: an in vitro study. 2005 BJA 95(3): 310-16

APROTININE

Patients aprotinine (n=6)
Moy (INTEM) = 269 s
Moy (HEPTM) = 280 s

Patients bordelés	Fiche technique :	To detect anti-Xa activity > 0.2 UI/ml :
Patients <u>anti-protéine</u> (n = 56)	- Pas d'effet sur FiTEM, EXTEM APTTEM	- HMS detected residual heparinemia with a sensitivity of 62% (45-78%), a specificity of 94% (50-100)
Moy (INTEM) = 225 s	Allongement INTEM (HEPTEM) à partir de 50kUI/ml ($T_{1/2}$ de 42 min)	- ACT, a threshold of 150 sec had a sensitivity of 85% [58-97] and a specificity of 85% [58-97%]
Moy (HEPTEM) = 231 s		- A threshold of 1.4 CTR (Quantia) had a sensitivity of 67% [30-94] and a specificity of 100% [18-100]
Patients <u>anti-protéine</u> (n=6)		
Moy (INTEM) = 260 s		
Moy (HEPTEM) = 280 s		

SENSIBILITÉ À L'HÉPARINE STANDARD

Poster Tiquet B. INTRAOPERATIVE VALIDITY OF POINT OF CARE DURING PARTIAL HEPARIN NEUTRALIZATION

- HMS detected residual heparinemia with a sensitivity of 62% [45-78], a specificity of 94% [50-100]
- ACT, a threshold of 150 sec had a sensitivity of 85% [58-97] and a specificity of 85% [58-97]
- A threshold of 1.4 CTR (**Quanta**) had a sensitivity of 67% [30-94] and a specificity of 100% [18-100]

EVOLUTION ...

Source: Göttinger K, Ockmann D, Hanks AA. Modernes Blutungsmanagement: einfach nur 1:1 transfundieren oder doch zielgerichtete Gerinnungstherapie? In: Kuckalt W, Torner PH (Hrsg.). Jahrbuch Intensivmedizin 2016. Pabst Science Publishers, Lengerich, 2016. Jan: 149-61.

Table 1 Comparison between Parameters output by the Quantra and the ROTEM sigma

Abbreviations: CT Coagulation time of the intrinsic coagulation pathway in seconds; C3Hr clot time in the presence of heparinase in seconds; C3r Clot strength in seconds; C3r Clot firmness contribution to the clot strength in hPa; C3r Clot time ratio of CT and C3r Clot time; INTENr CT clot time in seconds from the start until the end of a clot firmness of 2 mm is detected; HEPTEMr CT clot time of INTENr added with heparinase in seconds; EXTENr A3r Clot strength in 10 mm after CT of the tissue factor activated test in seconds; A3r Clot time at 10 min after CT of the tissue factor activated test in seconds; A3r Clot strength in hPa; EXTENr A12 HEBTEm A12r, platelet contribution to clot strength in hPa; hPa, megapascals.



CORRÉLATION FIB CLAUSS/A10 FIBTEM

E. Scala et al. / Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia 34 (2020) 100–107

Si A10 FibTEM ≤ 9 mn \Rightarrow Fib Clauss $\leq 1,9$ gr/l
L'inverse n'est pas vrai.
(\approx tout patient venant, limites : tous les patients ne saignent pas et sont +/- transfusés avant Rotem, Clauss QFA werfen)

Algorithms for ROTEM-guided management

Table 2. FIBTEM-guided Fibrinogen Substitution

Targeted increase in FIBTEM A5 (A10) (mm)	Fibrinogen dose (mg/kg bw)	Fibrinogen concentrate (ml/kg bw)
2	12.5	0.6 (1 g per 80 kg)
4	25	1.2 (2 g per 80 kg)
6	37.5	1.9 (3 g per 80 kg)
8	50	2.5 (4 g per 80 kg)
10	62.5	3.1 (5 g per 80 kg)
12	75	3.8 (6 g per 80 kg)

- Combien injecter ?

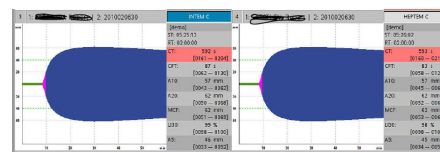
- Combien injecter ?

Cible de fibrinogène che

Entre 2 et 3 g/L si saigne

Pour le ROTEM : algorithme

INTERPRÉTATION HEPTEM (HORS EXCÈS D'HÉPARINE)



- CT INTEM allongé (> 240 sec) non corrigé par HEPTEM :
- Le CT prolongé peut être dû à un déficit sévère de facteurs (le déficit de facteurs n'est détecté que lorsque le taux de facteurs est <30%).
- **Surdosage de Protamine**
- Présence d' Aprotinine (à forte dose inhibiteur de la voie contact)

Profil 1 hypofibrinogénémie
➤ mais n'exclut pas une thrombopénie



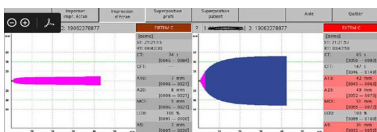
Céline DELASSASSEIGNE Novembre 2023

Profil per CEC

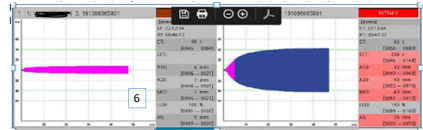
L'Heptem est presque totalement corrigé par l'inhibiteur d'hémarine



ROTEM 1 post CEC : A10 Fib TEM < 9 + saignement => fibrinogène 1.5 gr à 3gr. L'EXTM est perturbé par l'hypofib +/- thrombopénie => CPA ? plaquettes 73 G/L et Fib Clauss 1.5 gr/l. Pas d'autres anomalies sur la coag labo. Attitude thérapeutique faite : plasma 1 litre

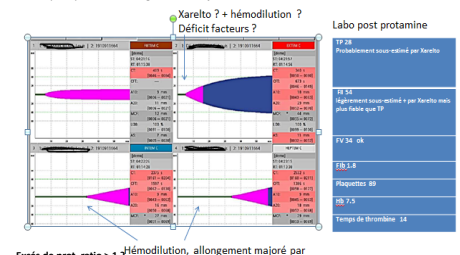


ROTEM 2-1 h après. Persistance Fibrin A10 6 mn + majoration des anomalies EXTEM. Le plasma n'a



Céline DELASSASSEIGNE Novembre 2023

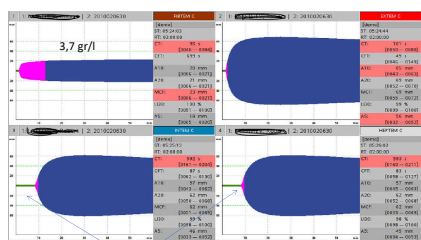
Dissection aortique sous Xarelto 285 ng/ml en pré op
ROTEM post protamine, saignement majeur +++



Indication à tout corriger puis +/- novoseven. Tous les CT sont longs, initiation de la coagulation très retardée

Céline DELASSASSEIGNE Novembre 2023

Dissection aortique sous Brilique dose de charge 4 h avant le per op + HBPM
ROTEM Insensible à l'effet anti P2Y12. Saignements +++

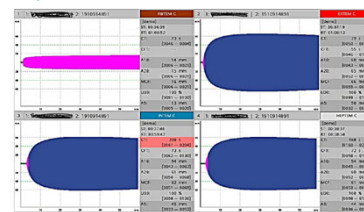


Plaquettes 134 G/L

CT INTEM allongé non corrigé par HEPTTEM = ce n'est pas l'héparine, soit excès de protamine ? Soit interférence Aprotinine ? HBPM ? Soit les 3, le patient continue de saigner... à cause du briliques surdosage en protamine ?
CT EXTEM 101 sec modérément allongé

Céline DELASSASSEIGNE Novembre 2023

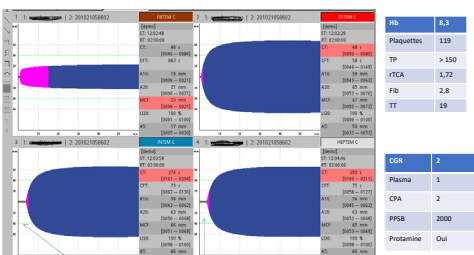
CAS 1 : Saignement post op à H+ 5 de la CEC (RVAo + RVM + PAC 0 transfusion)
1ml/kg/h



SIGMA
CT INTEM > CT HEPTTEM mais ratio NS et temps pas > 240 sec
limite de sensibilité du test
Sur bilan de coagulation AXA HS 0,49 UI/ml => 3000 UI de protamine
(Calcul en sang total 0,7 UI/ml pour Ht 30 %, sensibilité ROTEM annoncée à 0,3 UI/ml ?)

Céline DELASSASSEIGNE Novembre 2023

ST + rupture de pilier mitral => RVM + CPIA aspirine/brilique/lovenox et post novoseven 7 mg

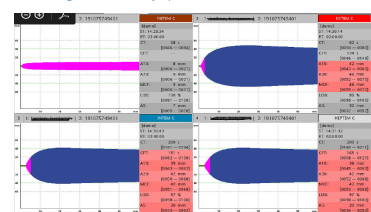


Ratio CT HEPTTEM/INTEM = 0,92 et TT 14 => exclusion présence HNF libre
Aprotinine ? possible
Coagulopathie de dilution persistante ? CT EXTEM non interprétable sous Novoseven (raccourcissement par excès de rF7)

Céline DELASSASSEIGNE Novembre 2023

Annuloplastie mitrale reprise pour tamponnade et décaillotage

ROTEM post op
Transfusion : 2 x 1 gr de fibrin + 5000 de prota + 600 de PFC (après ROTEM) + 1 CPA + 3000 de prota + 1 g de fib
Au total : saignement de 950 cc jusqu'à 22h



Lyse pas majeure mais ML > 15 % pas habituel en post op CEC. Non confirmé par APTM (cartouche #). Conclusion : fibrinolyse +/- et/ou caillot faible

Céline DELASSASSEIGNE Novembre 2023

