

LISTE DES ABREVIATIONS

ACC	Anticoagulant Circulant
ACT	Temps de Coagulation Activé
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ADP	Acide Adénosine Diphosphorique
ADP	Adénosine-Diphosphate
ANCA	Anticorps Anti-Cytoplasme des Polynucléaires Neutrophiles
AOD	Anticoagulants Oraux Directs
ATIII	Antithrombine III
AVK	Anti-Vitamine K.
CADP	Collagène/ADP
CEPI	Collagène/Epinéphrine
CIVD	Coagulation Intravasculaire Disséminée
CRM	Cross Reacting Material
DDAVP	1-Déamino-8-D-Arginine Vasopressine
ELISA	Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay
FT	Facteur Tissulaire
FvW	Facteur de von Willebrand
FvW:Ag	Facteur von Willebrand Antigène
FVIII:C	Facteur VIII coagulant
FvW:CB	Liaison du Facteur von Willebrand au collagène
FvW:RCO	Cofacteur de la Ristocétine du Facteur von Willebrand
FvW:FVIII:R	Liaison du Facteur von Willebrand au facteur VIII
GP	Glycoprotéine
HAA	Hémophilie A Acquise
HNF	Héparine Non Fractionnée

INR	International Normalized Ratio
IRMA	Immuno-Radiometric Assay
ISI	International Sensitivity Index
ISTH	Société internationale de thrombose et d'hémostase
JAAM	Japanese Association for Acute Medicine
KHPM	Kininogène de Haut Poids Moléculaire
MAIPA	Monoclonal Antibodies Immobilized Platelet Antigens
NP	Numération des plaquettes
PAI-1	Inhibiteur de l'activateur du Plasminogène de Type 1
PAP	Plasmina- α 2 antiplasmine
PC	Protéine C
PDF	Produits de Dégradation de la Fibrine
PFA	Platelet Function Analyzer
PPC	Plasma Frais Congelé
PIVKA	Protein Induced by Vitamin K Absence
PK	Prékallikréine
PM	Poids Moléculaire
PPSB	Prothrombine, Proconvertine, facteur Stuart, facteur antihémophilique B
PRP	Plasma Riche en Plaquettes
PS	Protéine S
PTAI	Purpura Thrombopénique Auto-Immun
PTI	Purpura Thrombopéniques Idiopathiques
RIPA	Agrégation Plaquettaire Induite par la Ristocétine
SASC	Syndrome d'activation Systémique de la Coagulation
SDMV	Syndrome de Défaillance Multiviscérale
SH	Syndrome Hémorragique
TCA	Temps de Céphaline Activée
TT	Temps de Thrombosc
TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor

TLE	Temps de Lyse des Eoglobulines
TOP	Temps d'Occlusion Plaquettaire
TP	Taux de Prothrombine
T-PA	Activateur Tissulaire du Plasminogène
TPO	Thrombopoïétine
TQ	Temps de Quick
TR	Temps de Reptilase
TS	Temps de Saignement
U-PA	Activateur Urinaire du Plasminogène

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma simplifié des trois temps de l'hémostase.....	7
Figure 2 : Hémostase primaire : temps vasculaire.	8
Figure 3 : L'hémostase primaire et liens avec la coagulation.	10
Figure 4 : Cascade de la coagulation in vitro.	12
Figure 5 : Processus de la coagulation in vivo.	14
Figure 6 : Saignement des gencives et des alvéoles dentaires	31
Figure 7 : Les différents types de purpura.....	33
Figure 8 : Télangiectasies et angiomes.....	34
Figure 9 : Bulles hémorragiques buccales.	34
Figure 10 : Hémarthrose du genou.	35
Figure 11 : Hématome intramusculaire.	35
Figure 12 : Structure du gène et de la protéine du facteur von Willebrand.	49
Figure 13 : Rôle physiologique du facteur Willebrand.	50
Figure 14 : Représentation schématique des molécules circulantes de FVIII et FvW.....	50
Figure 15 : Le complexe FvW/FVIII.	51
Figure 16 : Distribution des multimères du facteur von Willebrand dans le plasma.	57
Figure 17 : Le facteur Willebrand dans la maladie de Willebrand : schématisation des bases physiopathologiques et classification de la maladie.	60
Figure 18 : Représentation schématique des anomalies d'agrégation plaquettaire typiques des principales thrombopathies. Le texte en rouge correspond aux thrombopathies avec plaquettes géantes.	67
Figure 19 : Exemples d'analyse des glycoprotéines plaquettaires en cytométrie en flux au cours de : la thrombasthénie de Glanzmann de type I et de type variant, d'une anomalie du récepteur de l'ADP, et d'un syndrome de Bernard-Soulier.	68
Figure 20 : Purpura infectieux extensif, au cours d'une méningite méningocoque.	73
Figure 21 : Nécroses cutanées et sous cutanées profondes d'un purpura fulminant.	73
Figure 22 : Exanthème purpurique de rougeole.	74
Figure 23 : Eruption caractéristique d'un purpura rhumatoïde.	75
Figure 24 : Purpuras vasculaires : arbre d'orientation.	77
Figure 25 : Transmission de l'hémophilie.....	83
Figure 26 : Représentation schématique du gène du FVIII.....	83
Figure 27 : Représentation schématique du gène du FIX.....	84
Figure 28 : Manifestations cliniques de l'hémophilie.	85
Figure 29 : Exemples de purpuras.....	103
Figure 30 : Hémorragie du fond d'œil.	103
Figure 31 : Bulles hémorragiques linguales.	103
Figure 32 : Les pseudo-thrombopénies : (a) Satellitisme. (b) Agrégats plaquettaires	105
Figure 33 : Ponction sternale de moelle osseuse.	106

Figure 34 : Frottis de moelle osseuse.....	107
Figure 35 : Diagnostic et risque hémorragique d'un allongement isolé du TCA.....	118
Figure 36 : Concept de syndrome d'activation systémique de la coagulation (SASC).	125
Figure 37 : Mécanisme de la CIVD.	127
Figure 38 : Conséquences de la CIVD.	127
Figure 39 : Ensemble de manifestations cliniques de la CIVD.....	128
Figure 40 : Mécanismes d'action des anticorps anti-FVIII.....	139
Figure 41 : Méthodes de détection et de titrage des anticorps anti-FVIII par les méthodes Bethesda et Nijmegen.....	143

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Facteurs de la coagulation plasmatique	11
Tableau II : Eléments d'orientation vers une pathologie de l'hémostase primaire ou de la coagulation.	36
Tableau III : Tests biologiques classiques.....	40
Tableau IV : Orientation diagnostique selon les résultats des tests biologiques.	43
Tableau V : Classification biologique des principaux types de mvW.	60
Tableau VI : Principaux types de thrombopathies constitutionnelles.	62
Tableau VII : Classification des atteintes vasculaires selon Chappel-Hill	72
Tableau VIII : Types d'hémophilie selon le taux de facteur VIII ou IX.....	86
Tableau IX : Les thrombopénies immunes iatrogènes	110
Tableau X : Les thrombopénies périphériques.....	112
Tableau XI : Exploration de l'hémostase et insuffisance hépatique.	116
Tableau XII : Score diagnostique de la CIVD selon la JAAM.	134
Tableau XIII : Algorithme diagnostique pour la CIVD « décompensée » selon l'ISTH.....	135
Tableau XIV : Recommandations pratiques pour la recherche d'inhibiteurs anti-FVIII.....	144
Tableau XV : Surdosage aux AVK : conduite à tenir.	154

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE	4
CHAPITRE I : RAPPELS SUR LA PHYSIOLOGIE ET L'EXPLORATION DE L'HEMOSTASE	5
I.PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE	6
1. Hémostase primaire.....	7
1.1. Temps vasculaire.....	7
1.2. Temps plaquettaire	8
1.2.1. L'adhésion plaquettaire	8
1.2.2. L'activation plaquettaire.....	9
1.2.3. L'agrégation plaquettaire.....	9
2. Coagulation plasmatique	10
2.1 Facteurs de la coagulation	11
2.2. Concept classique (in vitro).....	11
2.3. Concept actuel (in vivo)	13
2.3.1. Phase d'initiation	13
2.3.2. Phase d'amplification	13
2.3.3. Phase de propagation.....	13
2.4. Régulation de la coagulation : le rôle des inhibiteurs.....	14
3. Fibrinolyse physiologique	15
3.1. Les activateurs de la fibrinolyse	16
3.2. Les inhibiteurs de la fibrinolyse	16
II.EXPLORATION DE L'HEMOSTASE	17
1. Exploration de l'hémostase primaire.....	17
1.1. Phase pré-analytique.....	17
1.2. Tests globaux.....	18
1.2.1. La numération plaquettaire.....	18
1.2.2. Le temps de saignement	19
1.2.3. Le temps d'occlusion plaquettaire (TOP).....	19
1.3. Tests analytiques et tests spécialisés	20
1.3.1. Dosage du facteur de von Willebrand	20
1.3.2. Etude des fonctions plaquettaires par agrégométrie	21
1.3.3. Etude des récepteurs membranaires par cytométrie en flux	21
2. Exploration de la coagulation plasmatique.....	21

2.1. Tests de première intention : Examens standard	21
2.1.1. Temps de Quick (TQ).....	21
2.1.2. Temps de céphaline activée (TCA)	22
2.1.3. Temps de thrombine (TT) et dosage du fibrinogène	23
2.2. Tests de seconde intention : Tests complémentaires	23
2.2.1. Dosage spécifique des facteurs de coagulation	23
2.2.2. Dosage des inhibiteurs de la coagulation	23
3. Exploration de la fibrinolyse physiologique.....	25
3.1. Tests globaux	25
3.1.1. Temps de lyse des euglobulines (TLE) (test de von Kaulla).....	25
3.1.2. Dosage du fibrinogène.....	25
3.1.3. Dosage des produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène:	25
3.1.4. Dosage des D-dimères :.....	25
3.2. Tests plus spécifiques (moins utilisés)	25
3.2.1. Dosage du plasminogène.....	25
3.2.2. Dosage de l'α-2 anti plasmine	26
CHAPITRE II : SEMIOLOGIE D'UN SYNDROME HEMORRAGIQUE.....	27
I.CIRCONSTANCES DE DECOUVERTE D'UNE ANOMALIE DE L'HEMOSTASE	28
II. CONDUITE DE L'INTERROGATOIRE ET DE L'EXAMEN CLINIQUE A LA RECHERCHE D'UN SYNDROME HEMORRAGIQUE	29
1. Interrogatoire	29
2. Examen clinique	31
2.1. Apprécier l'importance et la gravité du SH	31
2.2. L'examen général	36
III. ORIENTATIONS CLINIQUES.....	36
1.Une anomalie de l'hémostase primaire et une anomalie de la coagulation.....	36
2. Une anomalie congénitale et une anomalie acquise	37
CHAPITRE III : ORIENTATION ET DEMARCHE DIAGNOSTIQUE DEVANT UN SYNDROME HEMORRAGIQUE.....	38
I.ORIENTATION DIAGNOSTIQUE.....	39
1. Bilan d'hémostase d'orientation	39
2. Interprétation des résultats d'un premier bilan d'hémostase	40
II.DEMARCHE DIAGNOSTIQUE	43
1. Allongement du TS	43

2. Allongement isolé du TQ	44
3. Allongement isolé du TCA.....	44
4. Allongement du TCA associé à un allongement du TQ.....	45
Chapitre IV : DIAGNOSTIQUE BIOLOGIQUE DES PRINCIPAUX SYMPTOMES HEMORRAGIQUE.....	47
I.PATHOLOGIES HEMORRAGIQUES CONGENITALES	48
1. Maladie de von Willebrand	48
1.1 Physiologie du facteur von Willebrand	48
1.2 Circonstances de découvertes.....	51
1.3 Diagnostic biologique.....	52
1.4 Classification.....	59
1.5 Diagnostic différentiel	61
1.6 Principes du traitement.....	61
2. Thrombopathies constitutionnelles.....	62
2.1 Classification.....	62
2.2 Contexte clinique	63
2.3 Diagnostic biologique et présentation des principaux types de thrombopathies constitutionnelles	64
2.4 Principes du traitement.....	71
3. Atteinte vasculaire : purpuras vasculaires et vascularites	71
3.1. Physiopathologie	72
3.2. Classification.....	72
3.3. Diagnostic clinique	73
3.4. Diagnostic positif	75
3.5. Diagnostic étiologique.....	76
3.5.1. Purpura rhumatoïde	77
3.5.2. Purpura des cryoglobulinémies	78
3.5.3. Purpura hyperglobulinémique de Waldenström.....	79
3.5.4. Périartérite noueuse	79
3.5.5. Polyangéite microscopique.....	80
3.5.6. Granulomatose de Wegener	80
3.5.7. Autres purpuras vasculaires	80
3.6. Principes du traitement des purpuras vasculaires	81
4. Hémophilie A et B.....	81
4.1. Physiopathologie	82

4.2. Bases génétiques.....	82
4.3. Circonstances de découverte	84
4.4. Manifestations cliniques.....	85
4.5. Diagnostic phénotypique	86
4.5.1. Diagnostic d'orientation	86
4.5.2. Diagnostic de confirmation	86
4.6. Diagnostic génotypique.....	88
4.7. Diagnostic différentiel	88
4.8. Principes du traitement	89
4.8.1. Le traitement substitutif.....	89
4.8.2. Les traitements alternatifs.....	90
4.8.3. Les traitements adjuvants	90
5. Déficits congénitaux en facteurs de la coagulation	90
5.1. Déficit en facteur VII ou proconvertine	91
5.2. Déficit en facteur X ou facteur Stuart.....	92
5.3. Déficit en facteur II ou prothrombine	93
5.4. Déficit en facteur V ou proaccélérine.....	94
5.5. Déficits combinés en facteurs de la coagulation	95
5.5.1. Déficit combiné constitutionnel en facteurs vitamine K-dépendants	95
5.5.2. Déficit combiné en FV et FVIII	96
5.6. Déficit en facteur XI.....	97
5.7. Déficit en fibrinogène	98
5.8. Déficits congénitaux en F XIII ou facteur stabilisant de la fibrine.....	100
5.9. Autres déficits non hémorragiques	101
5.9.1. Déficit en FXII ou facteur Hageman.....	101
5.9.2. Déficit en prékallicréine	101
5.9.3. Déficit en kininogène de haut poids moléculaire	101
II.PATHOLOGIES HEMORRAGIQUES ACQUISES.....	101
1. Thrombopénies.....	101
1.1. Circonstances de découverte de la thrombopénie	102
1.2. Manifestations cliniques.....	102
1.3. Diagnostic biologique.....	104
1.3.1. Les examens de première intention	104

1.3.2. Les examens de seconde intention	107
1.3.3. Les examens de troisième intention	108
1.4. Diagnostic étiologique.....	108
1.4.1. L'examen clinique et l'anamnèse.....	108
1.4.2. L'hémogramme	108
1.4.3. Le myélogramme.....	108
1.4.4. Les plaquettes réticulées.....	108
1.4.5. Plus rarement dans les cas difficiles.....	109
1.5. Diagnostic différentiel	113
1.6. Principes du traitement	113
2. Insuffisance hépatocellulaire.....	114
2.1. Manifestations hémorragiques.....	114
2.2. Diagnostic biologique.....	115
2.3. Diagnostic d'urgence	121
2.4. Principes du traitement	121
3. Hypovitaminose K.....	122
3.1. Physiopathologie	122
3.2. Manifestations cliniques	123
3.3. Diagnostic biologique	123
3.4. Diagnostic différentiel	124
3.5. Principes du traitement	124
3.5.1. Prévention de la maladie hémorragique du nouveau-né.....	124
3.5.2. Traitement curatif	124
4. Coagulation intravasculaire disséminée	125
4.1. Physiopathologie	126
4.2. Manifestations cliniques	127
4.3. Diagnostic biologique.....	129
4.3.1. Tests d'hémostase classique	129
4.3.2. Exploration de la défibrination et de la fibrinolyse	130
4.3.3. Examens spécialisés	131
4.3.4. Autres anomalies biologiques.....	131
4.5. Principes du traitement.....	137
4.5.1. Traitement étiologique	137

4.5.2 Traitement symptomatique	137
5. Anticoagulants circulants	138
6. Syndrome hémorragique secondaire aux accidents des anticoagulants	149
6.1. Mécanisme d'action des anticoagulants	149
6.1.1 Mode d'action de l'héparine.....	149
6.1.2. Mode d'action des AVK.....	149
6.1.3. Mode d'action des nouveaux anticoagulants oraux.....	149
6.2. Diagnostic biologique d'un accident des anticoagulants.....	150
6.2.1 Diagnostic du surdosage en héparine	150
6.2.2. Diagnostic du surdosage en AVK	151
6.2.3. Diagnostic du surdosage en AOD	151
6.3. Conduite à tenir en cas de surdosage en anticoagulants.....	153
6.3.1. Conduite à tenir en cas de surdosage aux AVK	153
6.3.2. Conduite à tenir en cas de saignement au cours d'un traitement héparinique.....	154
6.3.3. Autres anticoagulants	155
CONCLUSION	156
REFERENCES.....	158

INTRODUCTION

Un syndrome hémorragique, est un saignement cutané, muqueux ou profond, extériorisé ou non, caractérisé par:

- sa survenue spontanée ou provoquée par des traumatismes minimes ;
- sa répétition sur plusieurs territoires, dont certains sont évocateurs d'une pathologie précise ;
- sa liaison à un trouble de l'hémostase congénital ou acquis [143].

Il peut être diffus, ou à caractéristiques cliniques particulières, notamment quand il prend la forme d'un purpura.

Il est bien entendu qu'il faut retrouver l'étiologie du syndrome hémorragique pour lui appliquer la thérapeutique adéquate.

Les syndromes hémorragiques sont, de par leur nature, difficiles à distinguer de saignements «normaux» survenant lors de blessures par exemple. Cependant, leur diagnostic est important car ils peuvent être associés à des accidents hémorragiques inattendus lors de traumatismes ou d'interventions chirurgicales. La définition de ces syndromes est d'abord clinique et inclut, entre autres, l'apparition d'hématomes aux moindres chocs, des saignements prolongés lors de coupure, des épistaxis ou des ménorragies. Ils sont aussi caractérisés par l'absence d'épisode hémorragique majeur spontané [81].

Même lorsque le diagnostic d'un syndrome hémorragique est probable, la corrélation entre l'anamnèse de diathèse hémorragique et le risque hémorragique lié à une intervention chirurgicale, n'est pas toujours très bonne et dépend notamment du type de chirurgie. Le risque de thrombose dû à un traitement préventif et le risque hémorragique en cas d'absence de traitement prophylactique, doivent être bien évalués.

Les patients chez qui se pose la question de la nécessité d'effectuer des investigations, ont généralement présenté un épisode de saignement qualifié «d'anormal», par le patient lui-même ou par son entourage. Il faut garder à l'esprit que des symptômes hémorragiques sont rapportés par un nombre non négligeable de personnes, sans qu'une anomalie de l'hémostase ne soit mise en évidence: 44% des femmes mentionnent des menstruations abondantes, entre 5 et 36% des personnes interrogées signalent des épistaxis et 2% des saignements prolongés lors de coupure [119, 178].

De plus, le nombre, le type et l'importance des symptômes rapportés, ils peuvent être subjectifs et influencés par de nombreux paramètres, notamment psychosociaux. Il est donc nécessaire d'utiliser des outils adéquats pour affiner l'interrogatoire. Parmi ces outils,

l'anamnèse familiale est primordiale, étant donné le caractère héréditaire de plusieurs maladies ayant pour phénotype un syndrome hémorragique.

Les troubles de l'hémostase congénitaux, se traduisant par un syndrome hémorragique, sont beaucoup plus rares que les troubles de l'hémostase acquis. Parmi ces derniers, les premières causes à évoquer sont une insuffisance hépatocellulaire, la coagulation intravasculaire disséminée et un accident d'anticoagulants.

L'intérêt du diagnostic biologique des syndromes hémorragiques est de :

- Evaluer le degré du risque hémorragique.
- Déceler l'origine de la pathologie hémorragique et les conséquences éventuelles sur le pronostic vital.
- Poser une thérapeutique adéquate et apprécier la correction du trouble hémorragique après traitement.

Mener une bonne surveillance de la maladie hémorragique et prévenir ainsi les saignements.

Vérifier le risque hémorragique avant une manœuvre invasive ou une intervention chirurgicale.

Il est à souligner que les explorations biologiques doivent s'accompagner d'une connaissance précise du contexte clinique qui permettra d'orienter les recherches. La précocité de la survenue du syndrome hémorragique au cours de la vie, sa localisation, les antécédents familiaux et l'origine ethnique du patient, seront des éléments qui permettront de juger de la sévérité du syndrome et de le placer dans un contexte d'anomalie congénitale ou acquise.

Le but de ce travail est de faire une mise au point sur le diagnostic biologique des principaux syndromes hémorragiques, les aspects sémiologique et d'orientation.

La démarche consiste à répondre aux questions suivantes :

Comment se manifeste un syndrome hémorragique et quelles sont les circonstances de sa découverte ?

Quels sont les examens biologiques d'orientation et comment les interpréter ?

Quels sont les principaux syndromes hémorragiques, leurs manifestations cliniques ?

Comment les diagnostiquer ? et quels sont leurs principes de mesures thérapeutiques ?

PREMIERE PARTIE

**CHAPITRE I : RAPPELS SUR LA
PHYSIOLOGIE ET L'EXPLORATION DE
L'HEMOSTASE**

I.PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE

L'hémostase est un processus physiologique qui assure la prévention des saignements spontanés et la formation d'un thrombus, pour arrêter une hémorragie apparue lors de la rupture de la continuité de la paroi vasculaire.

Lors d'un traumatisme, la brèche vasculaire créée rompt la continuité de la monocouche de cellules endothéliales et expose les structures sous endothéliales au contact du sang. Ce contact entraîne l'adhésion et l'activation des plaquettes au site de la lésion, ainsi que l'activation de la coagulation, conduisant à la formation de fibrine : le thrombus fait de plaquettes agrégées et de fibrine comble la brèche vasculaire, arrête le saignement, et permet la cicatrisation.

Le processus de fibrinolyse permettra la redissolution du caillot et la reperméabilisation du vaisseau.

Schématiquement on distingue trois temps successifs :

L'hémostase primaire, qui ferme la brèche vasculaire par un thrombus plaquettaire (thrombus blanc).

La coagulation plasmatique, qui consolide ce premier thrombus en formant un réseau de fibrine emprisonnant des globules rouges (thrombus rouge).

La fibrinolyse, processus limitant, permettant la destruction des caillots ou la limitation de leur extension, lorsque la plaie est cicatrisée (figure 1). [69, 68, 88, 52].

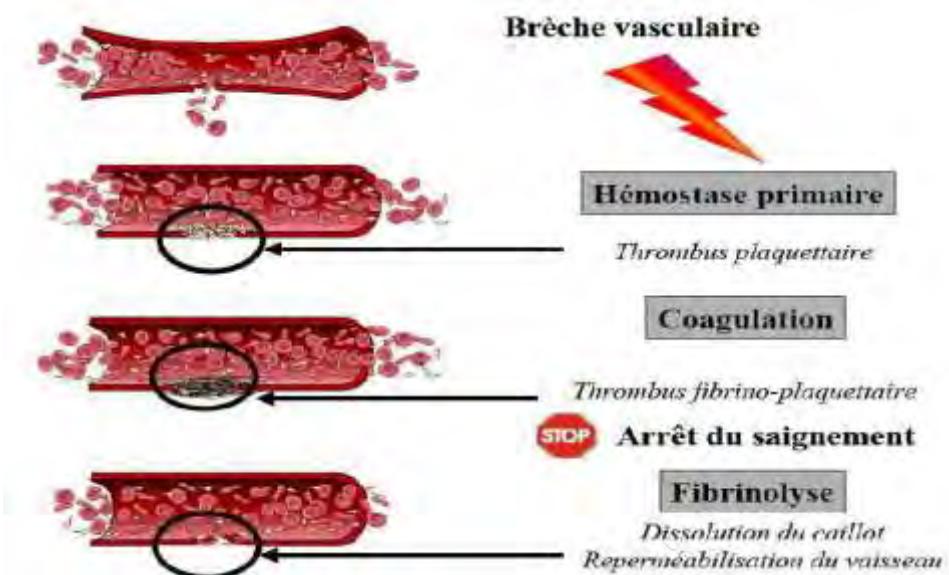


Figure 1 : Schéma simplifié des trois temps de l'hémostase [125].

L'hémostase primaire et la coagulation sont très intriqués et pratiquement contemporains. La fibrinolyse est retardée et se développe lorsque le vaisseau et les tissus blessés sont réparés.

1. Hémostase primaire

C'est une succession d'évènements aboutissant à la formation d'un agrégat de plaquettes sur la brèche vasculaire. Elle aboutit à l'arrêt du saignement essentiellement pour les petits vaisseaux.

L'hémostase primaire fait intervenir 4 éléments principaux :

2 éléments cellulaires :

- La paroi vasculaire avec la cellule endothéliale.
- Les plaquettes.

2 éléments plasmatiques :

- Le facteur von Willebrand.
- Le fibrinogène.

Elle se déroule en 2 phases successives : un temps vasculaire et un temps plaquettaire.

1.1. Temps vasculaire

Le temps vasculaire correspond à la vasoconstriction réflexe immédiate, mais transitoire, des vaisseaux lésés. L'interaction plaquettes-endothélium vasculaire est ici essentielle. Les plaquettes assurent en effet l'intégrité des parois vasculaires par colmatage des brèches

spontanées ou provoquées et permettent une vasoconstriction efficace grâce à l'apport, au niveau de la lésion, de sérotonine et de thromboxane A2 (Tx A2) douées de propriétés vasoconstrictrices (figure 2). [54]

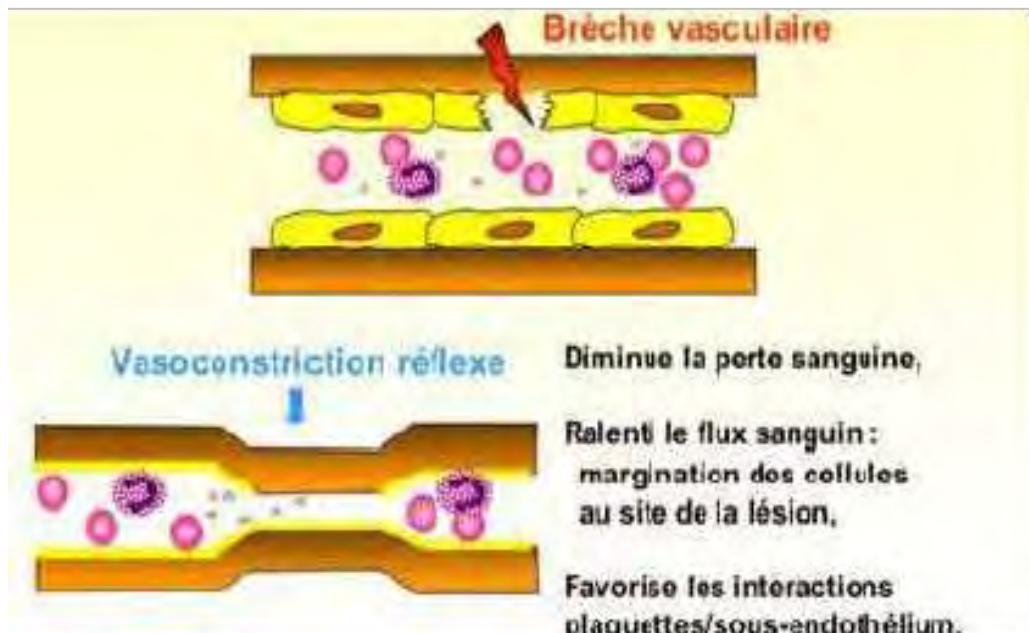


Figure 2 : Hémostase primaire : temps vasculaire [48].

1.2. Temps plaquettaire

Il comporte 3 étapes :

1.2.1. L'adhésion plaquettaire

Lors d'une lésion vasculaire, les cellules endothéliales libèrent le facteur de von Willebrand (FvW) qui sert de « colle » entre le sous-endothélium et la plaquette à laquelle il se fixe par l'intermédiaire d'une glycoprotéine membranaire : la Glycoprotéine Ib (GPIb).

Les plaquettes peuvent également se fixer directement au collagène du sous-endothélium par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques.

Une première couche monocellulaire de plaquettes se constitue ainsi. Les plaquettes adhérentes s'activent et recrutent d'autres plaquettes circulantes.

1.2.2. L'activation plaquettaire

L'adhésion des plaquettes au sous-endothélium déclenche des signaux intracellulaires qui aboutissent à une série de réponses :

Les plaquettes changent de forme. Elles deviennent sphériques et forment des pseudopodes. Il se produit alors une sécrétion du contenu des granules :

Les granules denses libèrent, entre autres, l'adénosine-diphosphate (ADP), puissant agent pro-agrégant, le calcium et la sérotonine, agent pro-agrégant et vasoconstricteur.

Les granules α libèrent, entre autres, le facteur de von Willebrand et des protéines qui vont participer à l'agrégation des plaquettes (exemple : le fibrinogène), ou à l'activation de la coagulation (exemple : le facteur V) [15].

Les phospholipides membranaires libèrent l'acide arachidonique qui est transformé en thromboxane A2. Ces phospholipides subissent des remaniements, avec exposition en surface, de phospholipides acides tel la phosphatidylsérine qui va servir de support et de surface de catalyse aux réactions de coagulation.

Lors de l'activation des plaquettes, les aminophospholipides sont rapidement transportés vers le feuillet externe de la membrane et exposés à la surface des plaquettes où ils vont servir de surface d'amarrage des protéines vitamine K- dépendantes pour la constitution des complexes enzymatiques de la coagulation.

La sécrétion d'ADP et la production de TxA2 ont pour conséquences le recrutement de nouvelles plaquettes et l'amplification du processus d'activation plaquettaire.

1.2.3. L'agrégation plaquettaire

Sur la première couche de plaquettes se fixent d'autres plaquettes, par des phénomènes de membrane : l'agrégation plaquettaire se fait grâce au fibrinogène qui établit un pont entre les plaquettes par l'intermédiaire des glycoprotéines IIb-IIIa présentes à la surface des plaquettes activées. Ce phénomène d'agrégation, extensif crée un premier thrombus fragile. On dit que l'agrégation est réversible. Grâce à la libération des enzymes et du contenu granulaire des plaquettes, le caillot se solidifie : on parle d'agrégation irréversible, ce qui va constituer le thrombus blanc (clou plaquettaire) (figure 3).

Si les phénomènes d'adhésion, d'activation et d'agrégation plaquettaire sont individualisables *in vitro*, ils se déroulent simultanément *in vivo* avec un phénomène de recrutement amplifiant la masse cellulaire active, conduisant ainsi au clou plaquettaire hémostatique [37].

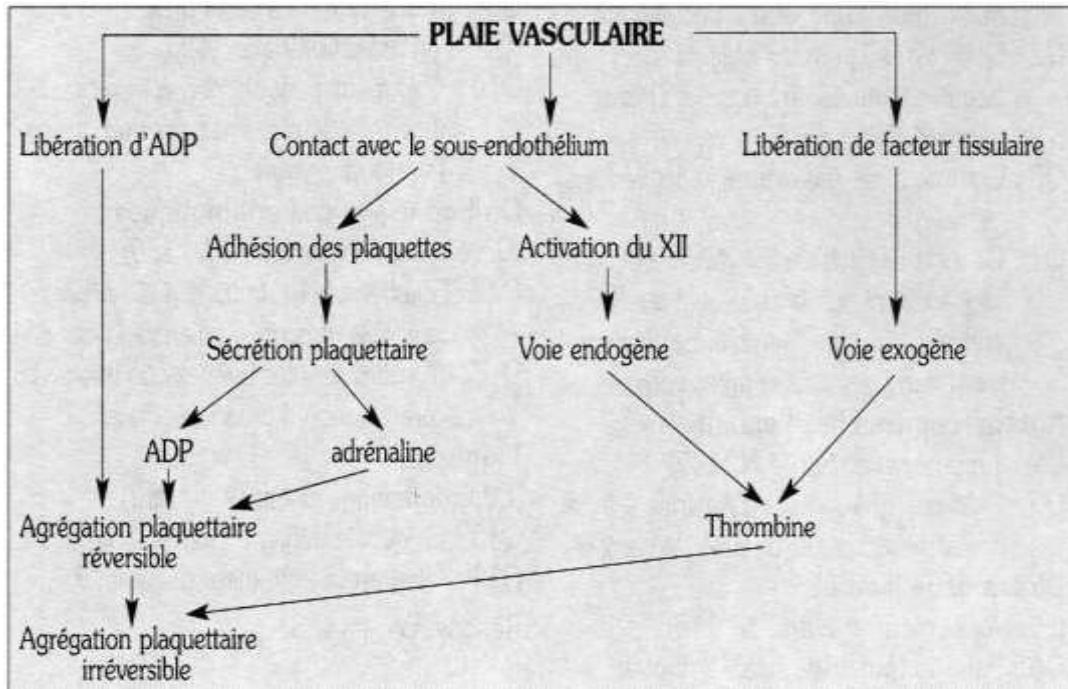


Figure 3 : L'hémostase primaire et liens avec la coagulation [8].

2. Coagulation plasmatique

Elle intervient pour consolider le clou plaquettaire obtenu à la fin de l'hémostase primaire, ce dernier étant insuffisant pour assurer une hémostase complète.

La coagulation plasmatique est une cascade de réactions enzymatiques qui aboutit à la génération d'une enzyme clé, la thrombine, qui va transformer le fibrinogène soluble en fibrine insoluble pour former l'armature du caillot, qui a la consistance d'un gel [146].

Cette transformation a lieu après une série de réactions faisant intervenir de nombreux facteurs plasmatiques (désignés de I à XIII), mais aussi plaquettaires. La coagulation est donc étroitement liée à l'hémostase primaire.

Le processus de coagulation comporte à la fois des boucles de rétro-activation positives, qui amplifient le processus, et négatives (inhibiteurs de la coagulation), qui le limitent dans le temps.

Historiquement, deux voies ont été identifiées. La voie extrinsèque (ou exogène), explorée par le temps de Quick (ou taux d'activité prothrombinique vraie) et la voie intrinsèque (ou endogène), explorée par le temps de céphaline plus activateur.

Les données plus récentes des études de la coagulation plasmatique, montrent que la voie tissulaire est essentielle *in vivo* et que la voie dite endogène serait plus accessoire [54].

Le résultat final de ces voies est la formation de thrombine qui aboutit à la fibrinoformation, en transformant le fibrinogène en fibrine.

2.1 Facteurs de la coagulation

Ce sont des glycoprotéines synthétisées par le foie, avec ou sans l'intervention de la vitamine K (tableau I). Les facteurs (F) de la coagulation sont indiqués en chiffres romains, accompagnés d'un "a" lorsqu'ils sont activés.

Tableau I : Facteurs de la coagulation plasmatique [54].

Facteur	Nom	Lieu de synthèse	Vitamine K Dépendant
I	Fibrinogène	Foie	Non
II	Prothrombine	Foie	Oui
VII	Proconvertine	Foie	Oui
VIII	Facteur anti-hémophilique A	Foie	Non
IX	Facteur anti-hémophilique B	Foie	Oui
X	Stuart	Foie	Oui
XI	Rosenthal	Foie	Non
XII	Hageman	Foie	Non
XIII	Facteur stabilisant de la fibrine	Foie	Non

III : thromboplastine tissulaire ; IV : calcium ; VI : accélérine ou Va (ces trois chiffres romains ne sont pas utilisés). SRH : système réticuloendothélial.

2.2. Concept classique (in vitro)

La conception classique du phénomène de coagulation comportait deux voies d'activation:

La voie intrinsèque : dans laquelle tous les éléments nécessaires à la coagulation sont présents dans le plasma, sans apport extérieur. Cette voie s'initie en présence de surfaces électronégatives.

Cette étape, appelée phase contact, fait intervenir le kininogène de haut poids moléculaire (KHPM), la prékallicréine (PK) et le facteur XII. Ce dernier activé, va lui-même activer le facteur en XI présence d'ions Ca++. En présence XIa du, le facteur IX est à son tour activé en IXa. Il se forme alors un premier complexe à la surface de la membrane

plaquettaire capable d'activer le X en Xa. Ce complexe fait intervenir le FIXa, le Ca²⁺, le facteur 3 plaquettaire et le cofacteur VIII activé par les premières traces de thrombine.

La voie extrinsèque : qui nécessite pour son activation la présence d'un élément tissulaire : la thromboplastine tissulaire ou facteur tissulaire (FT), exprimé par les leucocytes et les fibroblastes du stroma.

Cette voie fait intervenir le facteur VII, qui se lie au facteur tissulaire en formant le complexe FT-FVIIa. Ce dernier active le facteur X [180].

Ces deux voies correspondent à des cascades enzymatiques, c'est-à-dire une série de conversion de pro-enzymes en enzymes actives, et convergent vers l'activation du facteur X en facteur X activé. Ce dernier activera finalement la prothrombine (FII) en thrombine (FIIa) (figure 4).

Ce modèle de voies intrinsèque et extrinsèque constitue un concept ancien issu d'expériences in vitro, le déroulement de la coagulation in vivo ne respectant pas cette distinction.

Cependant, cette conception duelle conserve une place essentielle en biologie, dans l'exploration de la coagulation et le diagnostic des principales maladies hémorragiques.

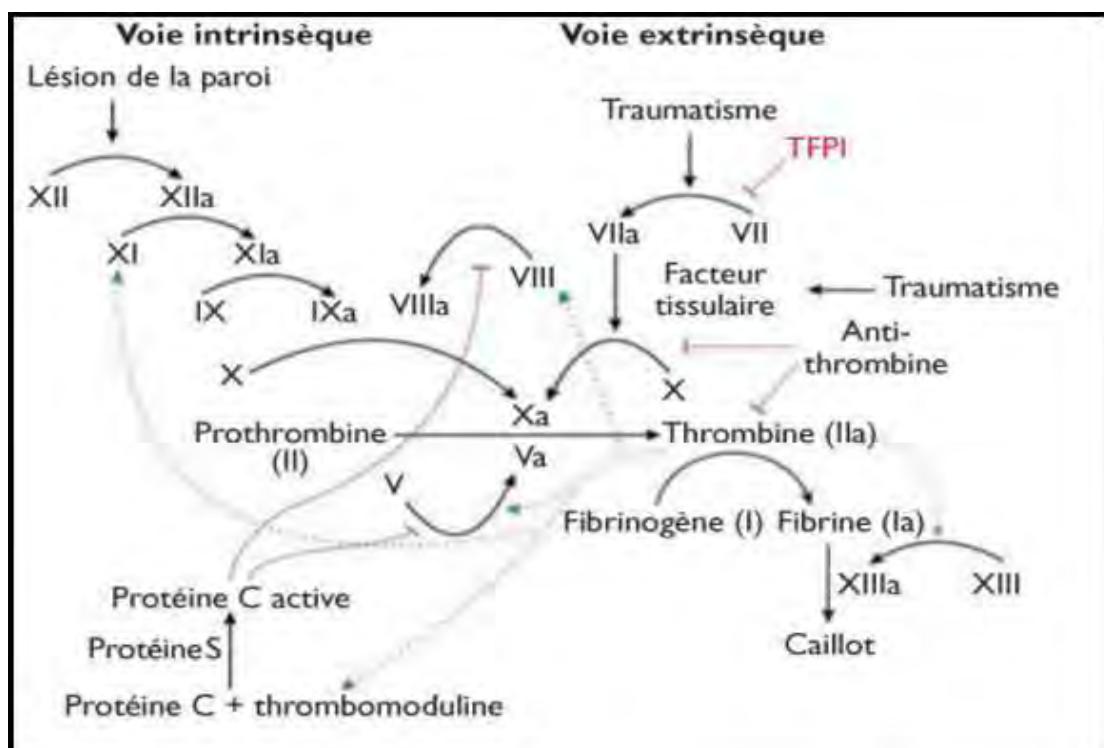


Figure 4 : Cascade de la coagulation in vitro [46].

2.3. Concept actuel (in vivo)

2.3.1. Phase d'initiation

Lorsque l'intégrité de la paroi des vaisseaux sanguins est compromise, le facteur VII quitte la circulation et entre en contact avec le facteur tissulaire. Le facteur VII se lie alors au facteur tissulaire pour former un complexe FT - FVII. La formation de ce complexe permet ainsi l'activation du facteur VII (FVIIa) par modification conformationnelle. Il existe une petite quantité de FVII déjà activé dans le plasma mais qui, en l'absence de FT a très peu d'activité enzymatique.

A partir de la formation du complexe FT - FVII, deux voies d'activation sont possibles :

Quand le FT est en excès, le complexe FT-FVIIa active directement le facteur X. cette voie peut être rapidement inhibée par l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI).

Quand le FT est en faible quantité (ou l'inhibition par le TFPI est prépondérante), le complexe FT-FVIIa active alors le FIX. L'accumulation de FIXa en présence de son cofacteur le FVIIIa, de phospholipides et d'ions calcium (complexe ténase), permettra secondairement l'activation du FX en FXa.

Le FIX ou facteur anti-hémophilique B et le FVIII ou facteur anti-hémophilique A, sont deux facteurs extrêmement importants en pathologie [159].

2.3.2. Phase d'amplification

Quelle que soit la voie empruntée in vivo, le point central sera la génération de FX activé.

Le FXa active le FV et va former un complexe avec le FVa, en présence de calcium et des phospholipides de la membrane plaquettaire. Ce complexe, encore appelé "prothrombinase" active la prothrombine en thrombine [54].

La thrombine est une enzyme extrêmement puissante, c'est elle qui va coaguler le fibrinogène. Une molécule de thrombine peut coaguler 1000 fois son poids de fibrinogène. En outre, la thrombine catalyse sa propre formation puisque c'est elle qui active les facteurs VIII, V et XI, ce qui amplifie le phénomène. Elle active également le FXIII, qui va jouer un rôle majeur dans la stabilisation du caillot [159].

2.3.3. Phase de propagation

Les premières traces de thrombine formées amplifient les réactions :

Activation des cofacteurs (FV et FVIII) et formation des complexes : ténase (FVIIIa, FIXa, phospholipides et Ca²⁺) et prothrombinase (FVa et FXa).

Recrutement et activation de nouvelles plaquettes.

Activation du FXI : voie alterne de production de thrombine.

L'action de la thrombine sur le fibrinogène libère des monomères de fibrine qui spontanément se polymérisent. Ce premier polymère de fibrine va être stabilisé par un dernier facteur, le FXIII, qui va créer des liaisons covalentes solides entre ces monomères de fibrine. On a alors formation d'un réseau de fibrine qui emprisonne les globules rouges : le thrombus rouge définitif est ainsi formé (figure 5).

L'activation du FXIII est accélérée par la thrombine ainsi que par la fibrine [161].

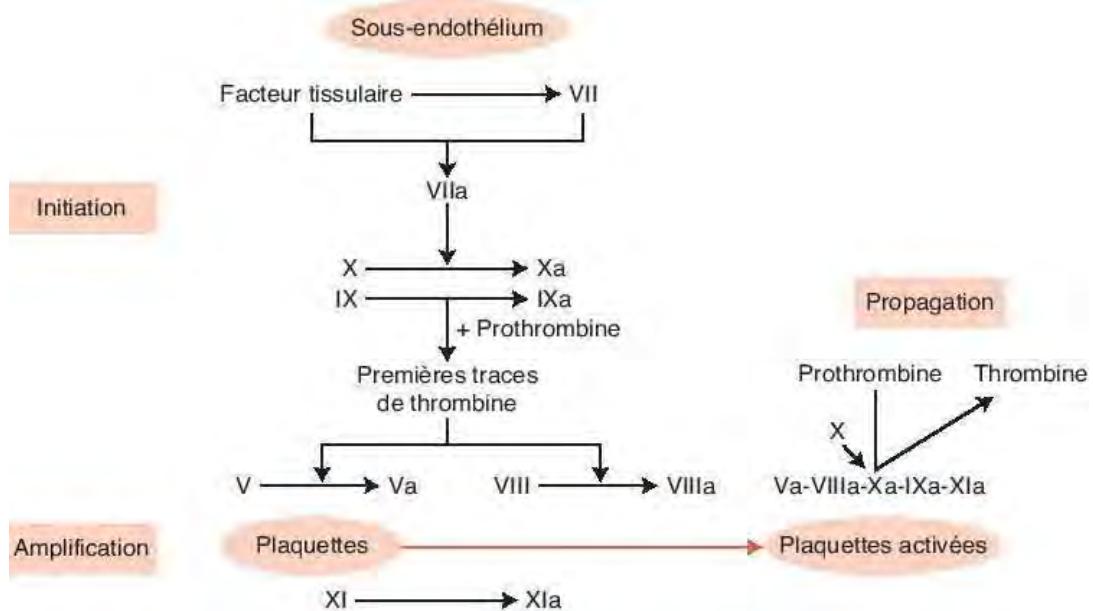


Figure 5 : Processus de la coagulation in vivo [180].

2.4. Régulation de la coagulation : le rôle des inhibiteurs

Les systèmes de régulation négative ont une grande importance physiologique pour le maintien de la fluidité du sang. En fait, le système de la coagulation plasmatique a tendance à s'activer spontanément. Il est très important pour l'organisme que les enzymes formés lors de l'activation de la coagulation (FIIa, FXa) ne circulent pas dans le plasma, car ils risqueraient d'entraîner une activation diffuse de la coagulation et un processus pathologique grave. Pour éviter ceci et maintenir leur équilibre, chaque facteur activé a son inhibiteur. On connaît trois systèmes inhibiteurs : le système de l'antithrombine, le système Protéine C - Protéine S, et le TFPI.

✚ L'antithrombine (AT) :

Anciennement appelée antithrombine III (ATIII), elle a été la première molécule décrite et est l'un principaux inhibiteurs physiologiques de la coagulation. Il s'agit d'une glycoprotéine synthétisée par le foie mais non dépendante de la vitamine K. Elle neutralise préférentiellement l'activité de la thrombine mais aussi celle des autres facteurs de la coagulation à activité enzymatique (VIIa, IXa, Xa), à distance du caillot de fibrine. Associée à son récepteur endothérial, l'héparane sulfate, son activité inhibitrice est considérablement accrue, de l'ordre d'un facteur 1 000. L'antithrombine n'est pas active à la surface plaquettaire, lieu de formation du caillot, mais neutralise les facteurs enzymatiques dès qu'ils diffusent à distance [37].

✚ Le système Protéine C - Protéine S :

Ce système est de découverte plus récente. Il s'agit de deux protéines synthétisées par le foie sous la dépendance de la vitamine K.

La protéine C (PC) est activée par la thrombine après liaison à la thrombomoduline exprimée par la membrane endothéiale. La protéine C activée en présence de protéine S (PS) neutralise les cofacteurs Va et VIIIa, ralentissant par-là considérablement la vitesse de génération de la thrombine.

Les personnes présentant des déficits constitutionnels hétérozygotes en protéine C et protéine S sont à risque accru de thrombose veineuse spontanée ou en présence de facteurs de risque surajoutés [37].

✚ Le TFPI (tissue factor pathway inhibitor) :

C'est un inhibiteur plasmatique, produit par la cellule endothéiale, qui régule la voie du facteur tissulaire. Son rôle devient important après la génération de faibles quantités de FXa sur lequel se fixe le TFPI. Il se forme ensuite un complexe quaternaire Xa-TFPI-VIIa-FT. Le complexe VIIa-FT est inhibé, bloquant ainsi la production de Xa et de IXa.

Le TFPI est présent à la fois dans le sang circulant et fixé sur les glycosaminoglycans de la paroi vasculaire. Cette fraction est probablement la plus importante à la fois quantitativement et qualitativement. Elle peut être déplacée de la paroi vasculaire par l'héparine [9].

3. Fibrinolyse physiologique

La fibrinolyse est le troisième temps de l'hémostase. Sa finalité est l'inverse de celles de l'hémostase primaire et de la coagulation, qui visaient à former les caillots de fibrine. La fibrinolyse tend à les détruire ou à les empêcher de se former. Elle est bâtie selon la même

conception que le système de la coagulation, comprenant des molécules à activité protéolytique, contrôlées par un système d'activateurs et d'inhibiteurs permettant une régulation physiologique très précise.

L'enzyme centrale de la fibrinolyse est la plasmine qui dérive d'un précurseur plasmatique inactif, le plasminogène, glycoprotéine d'origine hépatique.

Le plasminogène possède une grande affinité pour la fibrine, et s'y fixe par un récepteur spécifique aux côtés de son activateur, permettant ainsi la génération locale de plasmine via le démasquage des sites protéolytiques.

La plasmine protéolyse le fibrinogène et la fibrine en divers fragments de tailles variables, identifiés comme les produits de dégradation de la fibrine (PDF), qui sont quantifiables dans le plasma. Le taux de PDF plasmatiques est ainsi un reflet de l'activité de la plasmine et donc de l'activation de la coagulation. Les PDF sont emportés dans le courant plasmatique et épurés au niveau du foie par le système macrophagique.

La fibrinolyse est contrôlée par deux systèmes équilibrés, d'activation et d'inhibition de l'activité de la plasmine.

3.1. Les activateurs de la fibrinolyse [15]

Les principaux activateurs du plasminogène sont : l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA) et la pro-urokinase ou activateur urinaire du plasminogène (u-PA).

- **Le t-PA** : est une sérine protéase d'origine endothéliale dont l'activité protéolytique sur le plasminogène est déclenchée lors de son adsorption sur la fibrine. La sécrétion vasculaire de t-PA est initiée par de nombreux stimuli d'activation de la cellule endothéliale : thrombine, cytokines pro-inflammatoires, anoxie, acidose, stase...

- **La pro-urokinase** : est synthétisée par les cellules rénales et d'autres cellules parenchymateuses. Elle s'active en urokinase au contact du caillot de fibrine ; l'urokinase transforme le plasminogène en plasmine. Il est intéressant de noter que le système contact, notamment le FI et la kallicréine, peuvent activer la pro-urokinase.

3.2. Les inhibiteurs de la fibrinolyse [37]

Ils comportent des inhibiteurs de la plasmine proprement dits et des inhibiteurs de l'activité du plasminogène.

- **L’α2-antiplasmine** : est la principale protéine à activité antiplasmine ; il s’agit d’une glycoprotéine synthétisée par la cellule hépatique qui neutralise la plasmine plasmatique circulante non liée à la fibrine.
- **L’inhibiteur de l’activateur du plasminogène de type 1 (PAI-1)** : est une glycoprotéine synthétisée par la cellule endothéliale qui inhibe le t-PA et l’u-PA par formation d’un complexe covalent. Le PAI-1 est majoritairement localisé dans les granules α des plaquettes, et est libéré lors de l’activation plaquettaire qui initie le processus de l’hémostase.
- **Le PAI de type 2(PAI-2)** : est un autre inhibiteur synthétisé par le placenta au cours de la grossesse. Ce système très fin de régulation de l’activité de la plasmine et de sa restriction à la surface de la fibrine, explique le fait que la fibrinolyse physiologique soit un processus qui reste localisé au niveau du thrombus. Son rôle réside en effet dans la lyse progressive du caillot après la cicatrisation de la brèche vasculaire, mais aussi dans la prévention de son extension évitant par-là l’occlusion de la lumière vasculaire.

II.EXPLORATION DE L’HEMOSTASE

L’étude de l’hémostase est extrêmement importante en clinique. Les tests d’hémostase sont utilisés pour :

Le diagnostic d’un syndrome hémorragique.

Essayer de prévoir un risque hémorragique avant une intervention chirurgicale.

Dans le cadre de thromboses à répétition, pour déterminer la cause de ces maladies invalidantes et graves, puisque certaines peuvent entraîner la mort par embolie pulmonaire. On ne dispose d’aucun test global d’étude de l’hémostase: on aura donc recours à des tests qui exploreront soit l’hémostase primaire, soit la coagulation, soit la fibrinolyse.

1. Exploration de l’hémostase primaire

L’exploration approfondie de l’hémostase primaire fait en général appel à des techniques spécialisées. Cependant, il est parfois possible d’orienter le diagnostic à partir d’examens simples et fiables. Cela est particulièrement important dans le cadre d’un bilan préopératoire pour l’évaluation du risque hémorragique encouru par le patient.

1.1. Phase pré-analytique

Pour l’exploration de l’hémostase primaire, il est impératif de suivre les recommandations générales pour les prélèvements destinés aux tests d’hémostase [145]. Pour une étude plus

approfondie des plaquettes, il est conseillé d'effectuer les prélèvements de façon à limiter l'activation plaquettaire in vitro. Il faut restreindre l'usage du garrot et traiter l'échantillon dans les plus brefs délais. Ainsi, le prélèvement peut être réalisé idéalement au sein du laboratoire qui effectue les analyses.

1.2. Tests globaux

Les tests globaux disponibles permettent d'orienter le diagnostic vers une anomalie quantitative ou qualitative des plaquettes : thrombopénies et thrombopathies, respectivement ; ou bien un défaut de la principale protéine adhésive circulante : le facteur Willebrand. En revanche, la mise en évidence d'une étiologie vasculaire d'un trouble de l'hémostase primaire, n'est pas facile.

1.2.1. La numération plaquettaire

Le sang est habituellement recueilli dans des tubes contenant un anticoagulant, l'EDTA (Éthylène Diamine Tétra Acétique). La numération plaquettaire est aujourd'hui largement automatisée. L'automate mesure le taux plaquettaire, le volume plaquettaire moyen et reproduit la courbe de répartition des thrombocytes. Le chiffre plaquettaire physiologique est compris entre 150 et 400 G/L (giga/litre) et le volume plaquettaire moyen, entre 7 et 11 fl (femtolitre).

Face à une thrombopénie, il faut d'abord écarter tout artefact technique lié à une agglutination des plaquettes en présence d'EDTA ou due à des agglutinines froides dépendantes de l'EDTA. L'observation des plaquettes sur frottis, ainsi que sur cellule de Malassez, et l'étude de la courbe de leur répartition permettent alors d'objectiver les agglutinats. En pratique, il est souvent possible d'obtenir le taux plaquettaire en utilisant d'autres anticoagulants, tout en tenant compte des dilutions : citrate trisodique, oxalate de potassium ou héparine.

Par ailleurs, toute macrocytose plaquettaire est à noter, puisqu'elle peut être associée à des thrombopathies, surtout dans un contexte de thrombopénie modérée. Dans ce cas, il faut observer les plaquettes sur frottis, noter leur aspect et les recompter en cellule de Malassez. En effet, l'automate peut comptabiliser les plaquettes géantes parmi les leucocytes, ou bien surestimer le VPM en présence d'agglutinats plaquettaires [10].

1.2.2. Le temps de saignement

Historiquement, le temps de saignement (TS) a été décrit par Milian en 1901. Duke a ensuite décrit le TS pratiqué au niveau du lobe auriculaire. Une première standardisation a été faite par Ivy - « Ivy trois points » - puis une variante - « Ivy incision » - a été proposée : elle constitue la méthode de référence [151].

La technique de « Ivy incision » fait appel à la pratique d'une incision de 5 mm de longueur et 1 mm de profondeur sur la face antérieure de l'avant-bras, standardisée par l'emploi d'un dispositif à usage unique et par le maintien d'une pression constante de 40 mmHg au niveau du bras. Après incision, l'écoulement sanguin est absorbé par un papier buvard toutes les trente secondes, sans toucher la plaie.

Le TS exprimé en minutes, est défini par le temps nécessaire à l'arrêt de l'hémorragie. Le saignement s'arrête en 4 à 8 minutes (min) en moyenne.

Sa pratique est fortement déconseillée si le chiffre des plaquettes est inférieur à 30 G/L. Ce paramètre peut être considéré comme normal jusqu'à 10 minutes.

Temps de saignement et risque hémorragique :

Une importante revue générale en 1990 a largement objectivé les faiblesses de l'utilisation du TS en pratique clinique [151]. Elle a notamment montré que :

La standardisation n'a pas amélioré l'utilité du test.

Le TS n'est absolument pas spécifique des thrombopathies ou de la maladie de Willebrand. Il n'y a pas de corrélation avec le chiffre plaquettaire.

Ce paramètre n'est pas prédictif du risque hémorragique.

En effet, un TS normal n'exclut pas une hémorragie en situation chirurgicale, pas plus qu'un TS allongé ne le prévoit. En fait, le TS se révèle moins performant qu'un interrogatoire détaillé dans la prédiction d'un risque hémorragique. Le TS n'est non plus pas fiable pour détecter une prise d'aspirine (ou assimilés) ou une thrombopathie d'origine iatrogène [141]. Cependant, dans un contexte peu informatif, un TS allongé peut constituer un argument en faveur d'une thrombopathie ou d'une maladie de Willebrand, sachant qu'un TS normal n'exclut ni l'un, ni l'autre.

1.2.3. Le temps d'occlusion plaquettaire (TOP)

Ce paramètre est mesuré par un appareil appelé PFA-100® (platelet function analyzer). Le TOP permet d'apprécier l'hémostase primaire de façon globale. Le test propose dans son esprit, l'équivalent d'un temps de saignement in vitro. Il a été décrit en 1995 [100].

D'un point de vue technique, la mesure du TOP se fait sur sang total prélevé sur tube citraté. L'échantillon est aspiré à travers un capillaire qui débouche sur une membrane recouverte de collagène ainsi que d'un activateur plaquettaire : l'épinéphrine ou l'ADP. Il existe donc deux TOP en fonction de l'agoniste utilisé : CEPI (collagène/épinéphrine) et CADP (collagène/ADP). La membrane est pourvue d'un orifice et le sang ainsi aspiré est soumis à des taux de cisaillement élevés. L'ensemble propose donc de reproduire *in vitro* le comportement du sang dans un vaisseau de petit diamètre lésé, la membrane faisant office de matrice extracellulaire. Dans ces conditions rhéologiques, l'occlusion de l'orifice dépend de deux paramètres : les plaquettes et le facteur Willebrand. Le TOP/CEPI peut être considéré normal entre 80 et 160 secondes et le TOP/CADP, entre 60 et 120 secondes [65].

En pratique, un TOP normal exclut une maladie de Willebrand ou une thrombopathie dans la grande majorité des cas. À l'opposé, il existe aussi des cas d'allongement du TOP non expliqués. Ce test présente donc des avantages indéniables pour détecter une maladie de Willebrand ou la plupart des thrombopathies ; c'est un bon outil d'exploration globale. De plus, c'est le seul test qui prend en considération les taux de cisaillements. Une de ses grandes limitations est d'ordre économique : le coût de l'appareil et celui du test, actuellement non remboursé [169].

1.3. Tests analytiques et tests spécialisés

1.3.1. Dosage du facteur de von Willebrand

Cet examen est important. Il existe deux méthodes de dosage du facteur Willebrand :

- Une méthode immunologique qui quantifie le facteur Willebrand par son antigénicité.

On parle alors de mesure du FvW:Ag.

- Une méthode fonctionnelle qui quantifie le facteur Willebrand par son activité cofacteur de la ristocétine. La ristocétine est un antibiotique non utilisé en thérapeutique qui entraîne une agrégation des plaquettes en présence d'un facteur Willebrand. On parle de mesure du FvW:RCo.

En clinique, l'étude du "complexe Willebrand" doit comporter systématiquement un dosage de l'activité coagulante du FVIII, du FvW:RCo et du FvW:Ag.

1.3.2. Etude des fonctions plaquettaires par agrégométrie

L'étude in vitro de l'agrégation plaquettaire se fait après adjonction à un plasma riche en plaquettes de différents agents inducteurs de l'agrégation (collagène, ADP,adrénaline, acide arachidonique, etc.).

La mise en évidence de l'agrégation se fait par des techniques photométriques en plasma riche en plaquettes. C'est la méthode de Born qui est encore aujourd'hui utilisée. L'agrégation plaquettaire est réalisée dans un agrégomètre qui mesure en continu l'augmentation de la transmission lumineuse causée par la formation d'agrégats [26].

1.3.3. Etude des récepteurs membranaires par cytométrie en flux

La cytométrie en flux est une technique permettant de compter certaines cellules après les avoir marquées avec des anticorps spécifiques. Des développements modernes très intéressants sont en cours dans l'utilisation de la cytométrie pour l'étude des plaquettes.

En raison de son principe, l'utilisation de la cytométrie en flux comme moyen d'investigation nécessite un support physique d'une taille minimale. Pour l'hémostase, ce support sera les plaquettes, les microparticules, ou des billes recouvertes d'anticorps (permettant la capture d'un antigène ou d'un complexe antigène-anticorps).

Cette technique, actuellement, n'est pas utilisée dans l'exploration de la coagulation plasmatique stricto sensu. Elle reste donc dédiée à l'étude de l'hémostase primaire, et tout particulièrement à l'étude des plaquettes.

La cytométrie en flux exploite l'aptitude d'une cellule qui a incorporé un fluorochrome, à émettre un signal de fluorescence lors de son passage devant un faisceau laser. Le plus souvent, les fluorochromes sont couplés à des anticorps, plus rarement à des protéines (par exemple l'annexine V), ou encore sont incorporés directement par la cellule (mépacrine, thiazole orange).

Un cytomètre en flux est un appareil complexe et sophistiqué, qui fait appel à la fois à des principes de fluidique, d'optique, et d'électronique [86].

2. Exploration de la coagulation plasmatique

2.1. Tests de première intention : Examens standard

2.1.1. Temps de Quick (TQ)

Le TQ est le temps de coagulation à 37 °C d'un plasma en présence de thromboplastine (mélange de FT et de phospholipides) et de calcium.

Le temps de coagulation du plasma du patient est comparé à celui d'un témoin, voisin de 12 secondes pour la plupart des réactifs. Le résultat est exprimé en pourcentage d'activité, en désignant ce pourcentage sous le nom de taux de prothrombine (TP), terme incorrect. Le pourcentage est calculé en utilisant une courbe d'étalonnage à l'aide de dilutions d'un plasma témoin qui, par définition, correspond à 100 % de la normale.

Les valeurs inférieures à 70 % sont considérées comme pathologiques.

Les valeurs physiologiques du TQ sont comprises entre 70 et 100% [14].

Le TQ explore de façon globale les facteurs VII, X, V, II et le fibrinogène (voie exogène).

Un autre mode d'expression est exclusivement réservé à la surveillance des traitements anticoagulants par les antagonistes de la vitamine K : l'international normalized ratio (INR) correspond au rapport du TQ du patient sur celui du témoin, élevé à la puissance ISI (international sensitivity index), cet index définissant la sensibilité du réactif utilisé.

Dans les conditions de concentration de FT utilisées, le complexe FT-VIIa active directement le FX et non le FIX, contrairement à ce qui se passe *in vivo* : les facteurs IX et VIII ne sont donc pas explorés par le TQ [31].

2.1.2. Temps de céphaline activée (TCA)

Le TCA mesure le temps de coagulation à 37 °C d'un plasma en présence de phospholipides (céphaline), d'un activateur de la phase contact (kaolin, acide ellagique, célite ou autre) et de calcium.

Le temps obtenu est exprimé par rapport au temps du plasma témoin, dont la valeur moyenne varie entre 30 et 40 secondes selon les réactifs utilisés.

Le résultat peut également être exprimé en rapport malade/témoin.

Le TCA est allongé lorsqu'il dépasse de 6 à 8 secondes le temps du témoin, mais la frontière n'est pas stricte. L'allongement du TCA doit être interprété en fonction du contexte clinique et des résultats des examens de coagulation effectués parallèlement (TQ, etc.).

Ce test explore :

- Les facteurs de la phase de contact : KHPM, PK, FXII.
- Les facteurs IX, VIII, X, V, II (voie endogène + voie finale commune).
- Le fibrinogène.

Il n'exploré pas les plaquettes qui sont remplacées par la céphaline, ni le FVII [14].

2.1.3. Temps de thrombine (TT) et dosage du fibrinogène

Le TT est la mesure du temps de coagulation d'un plasma après apport d'une quantité connue de thrombine. La vitesse de coagulation est fonction de la quantité et de la qualité du fibrinogène et de la présence ou non d'inhibiteurs de la fibrinoformation (héparine non fractionnée, produits de dégradation de la fibrine...).

Les résultats sont exprimés en secondes, par référence à un témoin.

Une variante de ce test, utilisant des concentrations élevées de thrombine, permet de mesurer la concentration plasmatique de fibrinogène.

Les valeurs physiologiques du fibrinogène sont comprises entre 2 et 4 g/L [14].

2.2. Tests de seconde intention : Tests complémentaires

2.2.1. Dosage spécifique des facteurs de coagulation

Le choix des dosages à effectuer sera orienté par l'allongement du TCA ou/et du TP.

Pratiquement, le dosage peut se faire par 2 techniques différentes :

- La première est la mesure de l'activité biologique d'un facteur effectuée par la correction apportée par le plasma à tester à un réactif dépourvu du facteur à doser. C'est la méthode la plus utilisée.
- La deuxième technique est le dosage immunologique à l'aide d'anticorps spécifique dirigé contre les différents facteurs de la coagulation.

Les tests sont exprimés en pourcentage de la normale, par une comparaison avec des droites d'étalonnage, établies à partir d'un plasma normal.

2.2.2. Dosage des inhibiteurs de la coagulation [157 ; 158]

a. Dosage de l'Antithrombine

⊕ Dosage fonctionnel ou activité cofacteur de l'héparine :

Ce dosage repose sur une méthode amidolytique et se décompose en deux temps

Incubation du plasma en présence d'héparine et d'une quantité fixe et en excès de thrombine qui conduit à la formation de complexes héparine-thrombine-ATIII.

Mesure de la thrombine résiduelle par son activité amidolytique sur un substrat chromogène (libération du paranitroaniline dosée à 405 nm). La quantité de thrombine neutralisée est proportionnelle à la quantité d'ATIII présente dans le milieu.

⊕ Dosage immunologique :

Effectué si la technique fonctionnelle montre une diminution de l'activité ATIII.

Techniques employées : Mancini, Laurell, ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay).

 **Activité antithrombine progressive :**

Ce test, réalisé en seconde intention, est basé sur la mesure de l'activité anti-IIa ou anti-Xa en l'absence d'héparine. Il permet de suspecter une anomalie de liaison à l'héparine si le résultat est normal.

 **Electrophorèse bidimensionnelle de l'ATIII:**

Cette analyse s'effectue uniquement en cas de déficit qualitatif en ATIII. Il s'agit d'une double migration électrophorétique de l'ATIII en présence d'héparine non fractionnée, pour apprécier la qualité de la fixation de l'ATIII à l'héparine.

b. Dosage de la Protéine C

 **Dosage fonctionnel :**

Dosage chronométrique : dans un système où tous les facteurs sont présents, constants et en excès à l'exception de la PC, et en présence d'un activateur spécifique de la PC, l'allongement du TCA est proportionnel à la quantité de PC apportée par l'échantillon.

Dosage de l'activité amidolytique : en présence d'un activateur spécifique, la PC est transformée en protéine C activée. La quantité d'enzyme ainsi formée est dosée par son activité amidolytique sur un substrat synthétique. La libération de paranitroaniline est mesurée à 405 nm et est proportionnelle à la quantité de PC.

Dosage immunologique :

Effectué si la technique fonctionnelle est en faveur d'un déficit. Technique employée : ELISA.

c. Dosage de la Protéine S

 **Dosage fonctionnel :**

On mesure l'activité cofacteur de la PS potentialisant l'effet anticoagulant de la protéine C activée. Dans un système déficient en PS mais enrichi en FVa et protéine C activée, l'allongement du TCA est proportionnel à la quantité de PS apportée par l'échantillon.

 **Dosage immunologique :**

Effectué si la technique fonctionnelle est en faveur d'un déficit. Dosage de la PS totale ou de la PS libre.

Technique employée : ELISA.

NB : Pour la protéine C et S, les dosages doivent être effectués en dehors d'un traitement par AVK et en dehors d'un état inflammatoire.

3. Exploration de la fibrinolyse physiologique

3.1. Tests globaux [164 ; 127]

3.1.1. Temps de lyse des euglobulines (TLE) (test de von Kaulla)

C'est le temps de lyse d'un caillot formé à partir d'un plasma dépourvu d'inhibiteurs de la fibrinolyse, par précipitation en milieu acide.

Le temps physiologique est supérieur à 3 heures (h) et il est diminué en cas d'activation de la fibrinolyse.

3.1.2. Dosage du fibrinogène

Il est habituellement réalisé par la technique chronométrique de von Clauss. Il permet de juger du débordement systémique de l'activité fibrinolytique et apprécie l'importance de la fibrinogénolyse.

3.1.3. Dosage des produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène:

Il se fait par prélèvement de 5 ml de sang sur tube contenant de la thrombine (pour assurer la coagulation) et un inhibiteur de la plasmine (afin d'éviter la poursuite du phénomène de fibrinolyse *in vitro*).

Physiologiquement, le taux de PDF sériques est inférieur à 10 mg/l. Leur augmentation peut être le reflet d'une hypercoagulation.

3.1.4. Dosage des D-dimères :

Les D-dimères sont des produits spécifiques de dégradation de fibrine, témoignant de l'activation de la coagulation et de la fibrinolyse.

Technique immunoturbidimétrique : test positif si le taux des D-dimères est supérieur à 500 ng/ml.

Valeur prédictive négative : si c'est négatif, il exclue le diagnostic de thrombose.

3.2. Tests plus spécifiques (moins utilisés)

Les protéines mises en jeu peuvent être dosées antigéniquement par ELISA ou par mesure de leur activité fonctionnelle. Ces tests restent du domaine de l'hémostase spécialisée.

3.2.1. Dosage du plasminogène

Méthode amidolytique sur substrat synthétique en deux étapes :

Un excès d'activateur (streptokinase) est ajouté au plasma dilué contenant le plasminogène à doser. Il y a formation d'un complexe plasminogène-streptokinase possédant une activité « plasmine like ».

La quantité de complexe formée est dosée par son action sur le substrat synthétique.

3.2.2. Dosage de l' α -2 anti plasmine

C'est un dosage semi quantitatif par une méthode amidolytique sur substrat chromogène en deux temps :

Incubation du plasma à tester avec un excès de plasmine en quantité connue.

Dosage de la plasmine résiduelle par son activité amidolytique sur substrat synthétique.

**CHAPITRE II : SEMIOLOGIE D'UN
SYNDROME HEMORRAGIQUE**

Tout sujet suspect ou porteur d'un syndrome hémorragique (SH) doit faire rechercher une anomalie de l'hémostase. L'interrogatoire, l'examen clinique et le bilan biologique d'hémostase sont tous les trois notions fondamentales pour dépister, prouver et caractériser cette anomalie, qui peut être congénitale ou acquise.

I.CIRCONSTANCES DE DECOUVERTE D'UNE ANOMALIE DE L'HEMOSTASE

[36]

- Il existe un syndrome hémorragique

Celui-ci peut être très évocateur d'un trouble de l'hémostase, ou trompeur.

Cinq caractères, associés ou non, objectivent la tendance anormale aux saignements :

1- Le mode d'apparition : saignements spontanés et répétés, sans cause traumatique déclenchante objective, ou saignements provoqués par un traumatisme minime (choc léger, piqûre intramusculaire).

2- La localisation : elle peut être soit :

diffuse, généralisée ou provenant de plusieurs territoires, associant souvent une topographie cutanée et muqueuse à des hémorragies externes,

soit localisée, unique mais caractéristique par la topographie, par exemple : hémarthrose ou hémorragie ombilicale à la chute du cordon chez le nouveau-né.

3- L'aspect clinique : par exemple : purpura, lésions cutanées ou muqueuses caractéristiques, imposant la recherche d'une anomalie hémostatique.

4- Le caractère récidivant chez le malade.

5- La découverte d'anomalies identiques dans la famille.

Dans certains cas, le syndrome hémorragique est trompeur car provoqué et unique :

Par exemple : épistaxis post-traumatique ou hémorragie viscérale sous traitement anticoagulant.

L'enquête étiologique locale à la recherche d'une lésion traitable, et un bilan d'hémostase sont indispensables.

- Il n'existe pas de syndrome hémorragique mais il est nécessaire de le dépister

Certaines circonstances nécessiteront néanmoins, en plus de l'interrogatoire et de l'examen clinique, un bilan biologique systématique à la recherche d'une anomalie de l'hémostase. Il s'agit de :

Bilan d'hémostase préopératoire : il est systématique pour certains, orienté pour d'autres, selon le résultat de l'interrogatoire et le risque hémorragique de l'intervention.

Bilan familial d'une maladie hémorragique congénitale.

Certaines pathologies où la recherche d'une anomalie sera systématique, même en l'absence de tout saignement : hémopathie, pathologie obstétricale (rétention d'œuf mort par exemple). Le syndrome hémorragique étant découvert ou suspecté, un interrogatoire et un examen clinique sont nécessaires avant le diagnostic biologique.

II. CONDUITE DE L'INTERROGATOIRE ET DE L'EXAMEN CLINIQUE A LA RECHERCHE D'UN SYNDROME HEMORRAGIQUE

1. Interrogatoire [108 ; 51]

L'interrogatoire est essentiel et constitue le premier temps obligatoire de la demande diagnostique.

Le but de l'entretien médical est de préciser le type de syndrome hémorragique et de regrouper les éléments en faveur d'une étiologie constitutionnelle ou acquise.

L'enquête étiologique dépend essentiellement de la qualité de l'interrogatoire. Outre l'âge et le sexe, il doit faire préciser les points suivants :

➤ **Caractères des saignements :**

Le mode d'apparition : saignements spontanés (ecchymoses et hématomes plus ou moins spontanés, épistaxis, gingivorragies, ménorragies, hémarthroses) ou saignements provoqués : par un traumatisme minime (chocs, piqûre intramusculaire) ou après des gestes invasifs ou une chirurgie (extraction dentaire, intervention ORL ou tout autre acte vulnérant).

L'âge de début du SH : survenue à la naissance (hémorragie ombilicale), dans l'enfance, ou à l'âge adulte.

La localisation corporelle : la répétition des saignements dans le même territoire évoque plutôt une lésion locale, tandis que leur apparition dans des territoires différents oriente vers une diathèse hémorragique constitutionnelle.

Le type de saignement : cutané (hématomes, purpura), muqueux (gingivorragies, épistaxis, ménorragies), viscéral (hémoptysie, hématémèse, méléna), interne (hémarthrose, hématome profond) en l'absence ou non de lésions organiques décelables.

Le type d'hémorragie peut orienter, exemple : l'hémarthrose dans l'hémophilie.

La gravité du saignement: évaluer l'importance du saignement : saignement prolongé de plus de 15 minutes après une ponction veineuse, responsable d'une anémie, ayant nécessité d'une hospitalisation et des transfusions. Chez la femme, déterminer l'abondance d'éventuelles ménorragies.

La fréquence des hémorragies : saignements simultanés ou successifs.

Le caractère récidivant, qui motive la consultation et signe la persistance d'une altération éventuelle de l'hémostase.

➤ **Antécédents hémorragiques personnels et familiaux :**

Demander s'il existe des antécédents hémorragiques personnels, et si oui, en préciser la date de début (naissance, âge de la marche, adulte), la localisation, la durée et la gravité (hospitalisation, transfusion ou non).

➤ **Notion d'une consanguinité :**

Une consanguinité doit être recherchée au cours de l'interrogatoire : rechercher l'existence de manifestations hémorragiques dans la famille, en établissant un arbre généalogique.

Elle est utile au diagnostic dans les SH constitutionnels (hémophilie, maladie de Willebrand).

➤ **Eléments de temps :**

Dater le début des hémorragies et chercher un facteur déclenchant et des circonstances où une tendance hémorragique préexistante aurait dû se manifester

Savoir si le sujet a subi des interventions chirurgicales (en particulier l'amygdalectomie et l'adénoïdectomie) ou des extractions dentaires, et si celles-ci ont été suivies de saignement.

Chez la femme, savoir s'il y a eu une hémorragie après accouchement.

Chez le jeune enfant, qui le plus souvent n'a jamais été opéré, cet interrogatoire a des limites évidentes : ne pas hésiter à demander un bilan d'hémostase en cas de doutes.

La prise médicamenteuse : chercher l'existence d'une relation de cause à effet entre l'accident hémorragique et le contexte thérapeutique (aspirine, anti-inflammatoire, antivitamine K, antidépresseur, etc.). Etablir la liste des médicaments pris par le sujet. Des antécédents d'anémie et/ou de traitement par le fer.

La connaissance de résultats d'examens biologiques antérieurs (hémogramme, bilan d'hémostase, etc.).

➤ **Contexte pathologique général :**

Rechercher l'association éventuelle à une affection organique responsable de problèmes d'hémostase et/ou d'un risque hémorragique accru (hémopathie maligne, cirrhose hépatique, etc.).

2. Examen clinique

L'examen clinique évalue l'intensité de l'anomalie et l'urgence de la situation, et oriente l'exploration biologique. Il permet de discriminer un simple saignement épisodique provoqué d'une authentique altération persistante de l'hémostase. Il est complété par un examen général et recherche des signes de gravité.

2.1. Apprécier l'importance et la gravité du SH [108 ; 16 ; 96]

- ⊕ Evaluer l'état hémodynamique du patient : pouls et tension artérielle. Parfois une anémie mal supportée nécessite la transfusion de concentrés globulaires.
- ⊕ Définir le contexte de l'hémorragie : isolée ou associée à une maladie. Rechercher les signes en faveur d'une pathologie sous-jacente : insuffisance hépatique, insuffisance rénale, infection, maladie dite « de système » ou auto-immune (lupus...), hémopathie maligne, cancer. Insister sur la palpation des aires ganglionnaires, du foie et de la rate.
- ⊕ Préciser le type de l'hémorragie selon des saignements externes, cutanéo-muqueuses ou internes :

Les saignements externes :

Ils sont décrits par le malade ou l'entourage, qui les majorent souvent, ou constatés par le médecin qui juge plus objectivement leurs caractères et leur abondance.

- **Les saignements des plaies, les gingivorragies, les saignements des alvéoles dentaires** : ils posent le problème de leur disproportion par rapport à leur cause, de leur retard éventuel de survenue par rapport au traumatisme, de leur abondance, de leur durée et de leur répétition (figure 7).



Figure 6 : Saignement des gencives et des alvéoles dentaires [91 ; 170]

- **Les saignements aux points de piqûres** : leur survenue soudaine dans une salle d'opération, de travail ou de réanimation est hautement évocatrice d'un syndrome grave de défibrillation (d'une CIVD par exemple).
- **Les épistaxis** : il faut éliminer une cause locale (par exemple un angiome, une télangiectasie, une ulcération, une perforation) responsable d'un saignement ponctuel qu'il sera facile d'arrêter.
- **Les hémoptysies** : constituent un des signes d'alarme important en pneumologie, se manifestant par un crachement de sang provenant des poumons.
- **Les saignements digestifs** : hématémèses (vomissement de sang), mélénas (émission de sang noir par l'anus), rectorragies, hémorragies occultes.
- **Les hématuries** : en dehors du contexte particulier de l'hémophilie, elles traduisent toujours une lésion de l'appareil urinaire. Les tumeurs de la vessie en sont la cause la plus fréquente : l'enquête étiologique doit donc être systématique (notamment au cours des hématuries survenant lors de traitements anticoagulants).
- **Les hémorragies génitales** : ménorragies, métrorragies, méno-métrorragies. Les défauts de l'hémostase, notamment les défauts plaquettaires, majorent les saignements utérins. L'abondance des premières menstruations est souvent révélatrice à cet égard. Un bilan d'hémostase est donc toujours nécessaire. Devant tout saignement utérin anormal, un examen général et gynécologique minutieux s'impose à la recherche d'une cause organique (cancer, fibrome, etc.), fonctionnelle, ou d'une grossesse compliquée. Ces causes étant exclues, le diagnostic d'anomalie de l'hémostase devient probable.
- **Autres** : dans certains cas, ces saignements sont si discrets qu'ils ne s'extériorisent que par une anémie microcytaire sidéropénique (anémie ferriprive) d'installation progressive. Il faut rechercher les signes évoquant la carence martiale (pâleur, fatigue, tachycardie, essoufflement).

Les saignements tégumentaires et/ou muqueux :

Purpura : syndrome clinique fait d'une éruption spontanée de taches hémorragiques ne s'effaçant pas à la pression. Il correspond à une extravasation de sang au niveau des vaisseaux cutanés, à type de pétéchies (ponctiforme), d'ecchymoses (en larges nappes), en vibices (en traînées linéaires), nodulaire (infiltré), ou nécrotique (figure 8). Le diagnostic différentiel du purpura étant l'érythème (éruption due à une vasodilatation des capillaires du derme, qui s'efface à la vitropression) et les angiomes et télangiectasies.



Figure 7 : Les différents types de purpura [33 ; 92].

Les signes de gravité à rechercher en urgence devant un purpura :

Signes de gravité du purpura lui-même : purpura ecchymotique, extensif, nécrotique.

Syndrome infectieux : éliminer la méningite et rechercher un point d'appel infectieux.

Les signes de complication étant la fièvre et les signes de vasoconstriction périphérique.

Syndrome hémorragique, surtout celui potentiellement lié à un trouble de l'hémostase primaire.

Autres signes associés : signes cardiaques (souffle auscultatoire, insuffisance cardiaque) et syndrome abdominal aigu.

Il faut faire la différence entre :

Un purpura hématologique thrombopénique : c'est-à-dire lié à un déficit plaquettaire (quantitatif ou qualitatif). Le purpura est alors muqueux, disséminé, fréquemment associé à d'autres signes hémorragiques cutanéo-muqueux, avec absence de lésions cutanées inflammatoires.

Un purpura vasculaire : c'est-à-dire à une agression de la paroi vasculaire. Le purpura est alors papuleux, déclive (sur les zones bas situées), fréquemment associé à des lésions cutanées inflammatoires, sans signes hémorragiques cutanéo-muqueux. Les poussées sont favorisées par l'orthostatisme [85].

- **Les télangiectasies et les angiomes** : sont des malformations du chorion des petits vaisseaux réalisant des macules, cutanées ou muqueuses, de couleur lie de vin ou rubis, s'effaçant à la vitropression et se remplissant très rapidement dès qu'elles cessent. Les télangiectasies sont particulièrement évocatrices de la maladie de Rendu-Olser (figure 9).



Figure 8 : Télangiectasies et angiomes [33 ; 38 ; 67].

- **Les bulles hémorragiques buccales** : sont des signes de gravité, parfois associés au purpura (figure 10).



Figure 9 : Bulles hémorragiques buccales [124].

Les saignements internes :

- **Les hémarthroses** : réalisent une douleur articulaire aiguë associée à une augmentation de la chaleur locale et une immobilisation antalgique en flexion. Le gonflement articulaire apparaît dans un second temps. Elles évoquent, en premier lieu, l'hémophilie (figure 11).



Figure 10 : Hémarthrose du genou [93].

- **Les hématomes** : se manifestent par une collection de sang enkystée dans un tissu. Ils sont très douloureux, entraînant une anémie et une fièvre de résorption lorsqu'ils sont volumineux. Ils peuvent être superficiels ou profonds (hématome du psoas par exemple) et entraîner d'éventuelles compressions nerveuses (figure 12)



Figure 11 : Hématome intramusculaire [94].

- **Les hémorragies intracrâniennes** : correspondent à un accident vasculaire cérébral provoqué par la rupture d'une artère cérébrale qui entraîne une hémorragie au sein du parenchyme, à l'origine d'un hématome dilacérant le tissu cérébral. Les principaux signes à l'origine d'hémorragie cérébro-méningée, sont les céphalées. Faire un fond d'œil à la recherche d'hémorragies rétiniennes. Le problème essentiel est de

distinguer, devant un déficit neurologique d'apparition récente, un accident vasculaire cérébral d'origine ischémique, et une hémorragie intracérébrale.

L'interrogatoire et l'examen clinique bien conduits, suffisent chez l'adulte à affirmer l'existence d'une maladie hémorragique dans 90 % des cas [51]. Ils aident à distinguer une pathologie de l'hémostase primaire d'une maladie de la coagulation, et orientent vers une étiologie constitutionnelle ou acquise. Les examens de laboratoire doivent être choisis après cette première étape et non la précéder.

2.2. L'examen général

Systématique, il recherche en particulier :

Des signes en faveur d'une pathologie pouvant être à l'origine du syndrome hémorragique : signes d'hémopathie (adénopathie, splénomégalie), hépatomégalie, hypertension portale.

Des signes de gravité : anémie, choc (hémorragie digestive), céphalées (hémorragie cérébroméningée), cause favorisante d'un saignement (hypertension artérielle, ulcère gastroduodénal).

III. ORIENTATIONS CLINIQUES

Au terme de cet examen, on pourra parfois individualiser entre:

1. Une anomalie de l'hémostase primaire et une anomalie de la coagulation

Tableau II : Eléments d'orientation vers une pathologie de l'hémostase primaire ou de la coagulation [96].

Hémostase primaire	Coagulation
Atteinte préférentielle des petits vaisseaux.	Atteinte préférentielle des gros vaisseaux.
Symptomatologie hémorragique : riche, disséminée, visible.	Symptomatologie hémorragique latente.
Hémorragies de type cutanéo-muqueux.	Hémorragique touchant les tissus profonds (articulation, muscle, etc.)
Purpura pétéchial et/ou ecchymotique.	Apparition des hémorragies : provoquée par un traumatisme minime.
Apparition des hémorragies : spontanée et/ou provoquée.	Hémarthrose fréquentes (hémophile)
Hémarthrose exceptionnelle (maladie de Willebrand sévère).	Saignement retardé.
Saignement précoce.	

2. Une anomalie congénitale et une anomalie acquise [96]

Les anomalies congénitales : sont relativement rares (1 cas pour 10 000 naissances), leur révélation clinique est d'autant plus précoce qu'elles sont graves. Elles sont remarquables par la spécificité et l'unicité du défaut de l'hémostase responsable. On dressera systématiquement un arbre généalogique. Il peut s'agir d'une anomalie liée à :

Un gène récessif situé sur le chromosome X (seuls les sujets masculins seront touchés: hémophilie).

Un gène récessif autosomique : rechercher une consanguinité. Un gène dominant, autosomique.

Les syndromes hémorragiques acquis : sont beaucoup plus fréquents, leur expression clinique est variée. Ils s'accompagnent le plus souvent d'une atteinte de l'hémostase à plusieurs niveaux et résultent d'une étiologie à rechercher et à traiter.

**CHAPITRE III : ORIENTATION ET DEMARCHE
DIAGNOSTIQUE DEVANT UN SYNDROME
HEMORRAGIQUE**

I.ORIENTATION DIAGNOSTIQUE

1. Bilan d'hémostase d'orientation [51 ; 168]

Le diagnostic d'un syndrome hémorragique repose sur un petit nombre de tests biologiques de première intention :

Numération des plaquettes (NP) et contrôle sur frottis sanguin. TS : exploration de l'hémostase primaire.

TP et TCA : exploration de la coagulation.

Les TP et TCA peuvent être parfois utilement complétés en 2ème intention par des examens explorant la fibrinoformation : temps de thrombine (sensible à l'héparine non fractionnée) et temps de reptilase (TR) (insensible à l'héparine).

L'étape pré-analytique est capitale, car la fiabilité des résultats obtenus dépend du respect des conditions de réalisation de ces examens. Il faut privilégier le prélèvement au laboratoire : la qualité de la prise de sang et les conditions de leur acheminement au laboratoire, sont essentielles.

Les modifications du bilan d'hémostase, même si elles restent dans les limites de normalité, doivent toujours s'interpréter en fonction du contexte clinique et des données de l'interrogatoire mentionnée. Elles peuvent en effet, être le reflet d'une authentique maladie hémorragique constitutionnelle qui peut s'exprimer à l'occasion d'un acte vulnérant.

Au total, ces différents tests permettent une meilleure évaluation d'une hémostase saine ou pathologique, et orientent le diagnostic de la maladie hémorragique (tableau III).

L'exploration de la fibrinolyse en service spécialisé peut s'avérer utile, et en particulier, dans le cadre d'un syndrome de défibrination. Enfin, de rares affections hémorragiques sont compatibles avec des tests classiques d'exploration normaux : le déficit en α_2 -antiplasmine ou le déficit en facteur XIII.

Il faut savoir rechercher ces altérations devant une diathèse hémorragique clinique contrastant avec des tests classiques normaux.

Tableau III : Tests biologiques classiques [51].

Examens biologiques	Maladies			Maladie de la coagulation	
	Maladie des vaisseaux	Maladie des plaquettes			
		Thrombopénie	Thrombopathie		
NP	N	↓	N	N ou ↓ (CIVD)	
TS	N ou ↑	↑	↑	N	
TQ	N	N	N	N ou ↑	
TCA	N	N	N	N ou ↑	
TT	N	N	N	N ou ↑	

N : normal, ↑ : augmenté, ↓ : diminué

2. Interprétation des résultats d'un premier bilan d'hémostase [96]

1 ^{er}	
Temps de saignement	Allongé
Nombre de plaquettes	Diminué
Temps de Quick	Normal
Temps de céphaline+ activateur	Normal

Il existe une thrombopénie responsable de l'allongement du temps de saignement.

2 ^{ème}	
Temps de saignement	Allongé
Nombre de plaquettes	Normal
Temps de Quick	Normal
Temps de céphaline+ activateur	Normal

Il existe un trouble de l'hémostase primaire non lié au nombre des plaquettes. On doit rechercher avant tout une thrombopathie acquise ou congénitale. Les tests d'explorations fonctionnelles plaquettaires sont alors nécessaires.

3ème	
Temps de saignement	Allongé
Nombre de plaquettes	Normal
Temps de Quick	Normal
Temps de céphaline+ activateur	Allongé

Il faut tout d'abord discuter la maladie de Willebrand : défaut de l'hémostase primaire (absence de la protéine de Willebrand nécessaire à l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium) qui s'accompagne d'un déficit en facteur VIII.

4ème	
Temps de saignement	Normal
Nombre de plaquettes	Normal
Temps de Quick	Normal
Temps de céphaline+ activateur	Allongé

La coagulation sanguine est atteinte de façon dissociée. Il s'agit d'un trouble siégeant au niveau des facteurs de la coagulation explorés par le TCA et non par le TQ, c'est-à-dire au niveau de l'un des facteurs suivants : XII, XI, IX, VIII. L'abaissement de l'un d'eux peut provenir d'un déficit congénital ; d'un déficit acquis par défaut de synthèse ou par inhibition (anticoagulant circulant). Le cas le plus fréquent est le déficit congénital quantitatif des facteurs VIII ou IX, caractérisant les **hémophilie A ou B**. C'est donc le bilan type de dépistage des hémophiles.

5ème	
Temps de saignement	Normal
Nombre de plaquettes	Normal
Temps de Quick	Allongé
Temps de céphaline+ activateur	Normal

Il s'agit d'un déficit en facteur VII.

6ème	
Temps de saignement	Normal
Nombre de plaquettes	Normal
Temps de Quick	Allongé
Temps de céphaline+ activateur	Allongé

Il faut étudier la **fibrinoformation** par un dosage du fibrinogène, du temps de thrombine et du temps de reptilase.

Les principaux diagnostics seront l'hypofibrinogénémie, la dysfibrinogénémie, l'existence d'une activité antithrombine (traitement par l'héparine par exemple) ou d'un inhibiteur de la polymérisation (PDF, dysglobulinémies).

Il faut faire un dosage spécifique des facteurs du complexe prothrombinique de la coagulation (II, V, VII et X).

1ère éventualité : si tous les facteurs sont diminués on évoquera une **lésion hépatique**.

2ème éventualité : si le taux de Facteur V est normal alors que les autres sont diminués on évoquera un **déficit en vitamine K**.

7ème	
Temps de saignement	Allongé
Nombre de plaquettes	Diminué
Temps de Quick	Allongé
Temps de céphaline+ activateur	Allongé

Un bilan complet d'hémostase doit être rapidement demandé, en particulier à la recherche d'un syndrome de défibrination de type **coagulation intravasculaire disséminée (CIVD)**.

L'orientation diagnostique est résumée ci-après, selon les résultats anormaux des tests biologiques de 1ère intention (tableau IV).

Tableau IV : Orientation diagnostique selon les résultats des tests biologiques [85].

TS > 10 min	TP < 70 %	TCA > TCA témoin + 10 s
<ul style="list-style-type: none"> - Thrombopénie franche (en règle inférieure à 70 G/L) : ne pas faire de TS si la numération des plaquettes est inférieure à 80 G/L ; il sera très allongé et l'hémorragie sera importante. - Déficit en facteur Willebrand - Thrombopathie constitutionnelle ou acquise. - Atteinte de la paroi vasculaire. - Anémie franche, si l'hématocrite est < 30 %, en particulier au cours de l'insuffisance rénale chronique non traitée par l'érythropoïétine. - Déficit profond en fibrinogène (< 0,5 g/l). - Prise d'un médicament inhibant les fonctions plaquettaires, en particulier l'aspirine qui a un effet anti-agrégant prolongé après prise unique (au moins 4 jours). 	<ul style="list-style-type: none"> - Déficit isolé en FVII, le plus souvent acquis, en début de traitement par AVK. - Début d'hypovitaminose K. - Insuffisance hépatocellulaire hépatique débutante (courte durée de vie du FVII, donc le premier à diminuer). - Déficit constitutionnel en FVII (exceptionnel). - Anticorps dirigé contre le FVII. 	<ul style="list-style-type: none"> - Présence d'héparine, suite à une héparinothérapie ou lors d'une contamination ex vivo. - Présence d'ACC : anticorps inhibiteur d'un facteur de la coagulation : <ul style="list-style-type: none"> • Anticorps anti-phospholipides de type lupique. • Anticorps anti FVIII ou anti FIX. • Anticorps anti FXI ou anti FXII (rare). - Déficit isolé d'un facteur de la coagulation : <ul style="list-style-type: none"> • Déficit en facteur VIII : hémophilie A ou Willebrand. • Déficit en facteur IX : hémophilie B. • Déficit en facteur XI : maladie de Rosenthal. • Déficit en facteurs de la phase contact, n'entrant jamais d'accidents hémorragiques même lorsqu'il est sévère.
	<ul style="list-style-type: none"> - Anomalie du fibrinogène : <ul style="list-style-type: none"> • Quantitative : CIVD, fibrinolyse, hypofibrinogénémie congénitale, syndrome inflammatoire majeur (action antithrombine du fibrinogène) • Qualitative : dysfibrinogénémie. - Anomalie des facteurs X, V et II. - Hypovitaminose K. - Insuffisance hépatocellulaire, - Déficit en facteurs X, V et II : <ul style="list-style-type: none"> • Acquis : splénomégalie (déficit en FV), amylose (déficit en FX). • Congénital. - ACC anti X, V, II. 	

II.DEMARCHE DIAGNOSTIQUE

1. Allongement du TS

Un allongement du TS oriente vers une anomalie de l'hémostase primaire dont la caractérisation nécessite des examens spécialisés. On considère un TS allongé s'il est supérieur à 10 minutes (selon la méthode d'Ivy).

Conduite diagnostique devant un TS allongé : [34]

1- Réaliser une numération plaquettaire, si le taux des plaquettes est :

80 G/L : il s'agit d'une thrombopénie

500 G/L : il s'agit de thrombocytose ou de thrombocytémie

2- Rechercher un allongement du TCA quand le taux de plaquettes est normal.

Si le TCA est normal : l'étiologie de l'allongement du TS est une thrombopathie : Thrombopathies acquises : d'origine médicamenteuse (aspirine, clopidogrel, anti-inflammatoires non stéroïdiens, pénicillines), insuffisance rénale chronique, hépatopathies (cirrhose éthylique), dysglobulinémies, syndromes myéloprolifératifs, anémie importante (par modifications rhéologiques). Thrombopathies congénitales : maladies de Bernard-Soulier, de Glanzmann, du pool vide, de plaquettes grises.

Si le TCA est allongé : il faut rechercher une anomalie du fibrinogène.

Si le fibrinogène est bas, les hypothèses diagnostiques sont : CIVD, insuffisance hépatocellulaire, fibrinolyse primitive, afibrinogénémie congénitale. Si le fibrinogène est normal, il faut rechercher une anomalie du facteur VIII : maladie de Willebrand primitive ou acquise, hémophilie A.

3- Si tous les examens sont normaux : il s'agit probablement d'une anomalie de la paroi vasculaire.

2. Allongement isolé du TQ

On considère les valeurs de TP < 70% comme pathologiques. Il s'agit d'une atteinte isolée de la voie exogène de la coagulation plasmatique : FVII.

Conduite diagnostique devant un TQ allongé :

Le premier examen à réaliser en cas de TQ anormal, est la mise du plasma du malade en présence d'un plasma témoin (considéré normal) :

Si le TQ reste allongé : il s'agit d'un anticoagulant circulant (ACC) dirigé contre le FVII.

Si le TQ est corrigé par le plasma témoin : il s'agit d'un déficit en FVII.

3. Allongement isolé du TCA

On considère le TCA allongé lorsqu'il dépasse de 10 secondes le TCA témoin, mais la frontière n'est pas stricte. Il s'agit d'une atteinte isolée de la voie endogène de la coagulation plasmatique : FVIII, FIX, FXI, FXII, PK, KHPM.

Conduite diagnostique devant un TQ allongé : [108;85]

1- Dosage de temps de thrombine pour éliminer un traitement par l'héparine non fractionnée (ou la contamination accidentelle du prélèvement) :

Si le TT est allongé (et le temps de reptilase est normal) : présence d'héparine

Si le TT est normal : absence d'héparine

2- Mélange du plasma de malade et de plasma témoin :

Si le TCA reste allongé : présence d'un ACC, chercher alors son site d'action et son titre. (ACC antiphospholipides ou anti-facteur(s) exploré(s) par le TCA).

Si le TCA se normalise : il s'agit alors d'un déficit en facteurs explorés par le TCA.

3- En cas de TCA corrigé en présence de plasma témoin : dosage spécifique des facteurs VIII et IX, puis des autres si les FVIII et IX sont normaux.

Si le FVIII est abaissé, réaliser un TS :

Si le TS est normal : il s'agit d'une hémophilie A.

Si le TS est allongé : il s'agit d'une maladie de Willebrand. Si le FIX est abaissé : il s'agit d'une hémophilie B.

Si les facteurs XI, XII, PK, KHPM sont abaissés : il s'agit de déficits congénitaux.

4. Allongement du TCA associé à un allongement du TQ

Il s'agit d'une anomalie de la voie commune de la coagulation : FX, FV, FII, FI (fibrinogène).

Conduite diagnostique devant un allongement associé du TCA et du TQ : [108 ; 85]

1- Eliminer les causes évidentes d'allongement du TQ et du TCA : traitement par AVK, CIVD, insuffisance hépatocellulaire.

2- Dosage du TT et du fibrinogène :

Si le TT est allongé et le TR est normal : il s'agit d'une présence d'héparine.

TT allongé et fibrinogène abaissé (0,7 g/L) : il peut s'agir d'une CIVD, une fibrinolyse, ou une hypofibrinogénémie congénitale.

TT allongé et fibrinogène normal : c'est une anomalie de fonction, c'est à dire une dysfibrinogénémie.

TT allongé et fibrinogène augmenté (7g/L) : il s'agit d'un syndrome inflammatoire majeur.

TT normal : pas d'anomalie du fibrinogène.

3- Doser les facteurs II, V, VII, X quand le TT est normal :

Si c'est un déficit isolé : il s'agit d'un déficit congénital (rare) ou acquis (amylose, hémopathies malignes).

Si c'est un déficit multiple : étudier le mélange plasma du malade + plasma témoin :

- ✓ L'absence de correction du TCA et du TQ évoque la présence d'un ACC anti X, V, II.
- ✓ La correction du TCA et du TQ évoque une hypovitaminose K, un traitement par AVK, ou une insuffisance hépatocellulaire.

**Chapitre IV : DIAGNOSTIQUE BIOLOGIQUE DES
PRINCIPAUX SYMPTOMES HEMORRAGIQUE**

Selon l'origine du syndrome hémorragique, on distingue : Les pathologies hémorragiques congénitales :

De l'hémostase primaire :

- Maladie de von Willebrand.
- Thrombopathies constitutionnelles.
- Atteintes vasculaires : purpuras vasculaires et vascularites. De la coagulation :
- Hémophilie A et B.
- Déficits congénitaux en facteurs de la coagulation. Les pathologies hémorragiques acquises :

De l'hémostase primaire :

- Thrombopénies. De la coagulation :
- Insuffisance hépatocellulaire.
- Hypovitaminose K.
- Coagulation intravasculaire disséminée.
- Anticoagulants circulants.
- Syndrome hémorragique secondaire aux accidents des anticoagulants.

I.PATHOLOGIES HEMORRAGIQUES CONGENITALES

1. Maladie de von Willebrand

La maladie de von Willebrand (mvW) a été décrite sous le nom de pseudo-hémophilie. C'est l'affection hémorragique constitutionnelle la plus fréquente : elle concerne 1 à 2 % de la population [153]. Sa transmission est en général autosomique dominante et est due à une anomalie quantitative et/ou qualitative du facteur von Willebrand (FvW). La maladie de Willebrand est très hétérogène dans son expression clinique, phénotypique et génotypique. La caractérisation du type et du sous-type est importante pour guider le choix thérapeutique [62].

1.1 Physiologie du facteur von Willebrand

Gène :

Le FvW est synthétisé par un gène situé sur le bras court du chromosome 12 : (52 exons étendues sur 178 kb et engendre un acide ribonucléique (ARN) messager de 9 kb). L'analyse du gène est compliquée par la présence d'un pseudogène localisé sur le chromosome 22 et qui présente 97% d'homologie avec cette séquence [154].

Synthèse et structure :

Le FvW est synthétisé par deux types cellulaires : les cellules endothéliales et les mégacaryocytes.

Il a une structure multimérique basée sur la polymérisation d'une sous-unité identique de poids moléculaire (PM) de 270 KDa.

La structure primaire de cette protéine est constituée d'une répétition de cinq types de domaines (A, B, C, D et CK) dans l'ordre suivant : D1, D2, D', D3, A1, A2, A3, D4, B1, B2, B3, C1, C2, CK. La protéine comporte 232 résidus cystéine, 12 chaînes N-glycosylées et dix O-glycosylées. Les domaines fonctionnels sont bien identifiés (figure 13) [177].

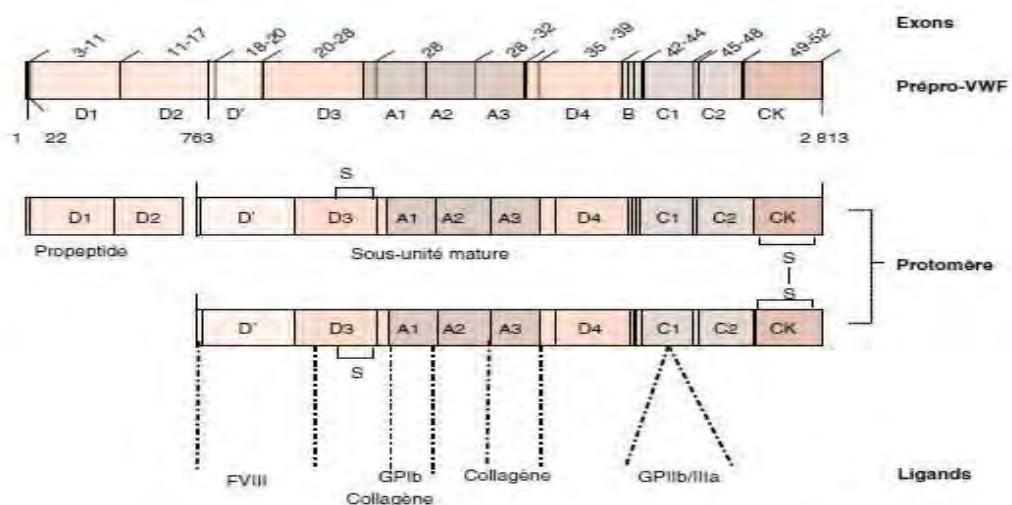


Figure 12 : Structure du gène et de la protéine du facteur von Willebrand [63].

✚ Rôle dans l'hémostase :

- Au niveau de l'hémostase primaire, le FvW joue un rôle majeur dans l'adhésion plaquettaire, en formant un pont moléculaire entre :

Les plaquettes et la paroi vasculaire lésée.

Les plaquettes elles-mêmes (thrombus plaquettaire) (figure 14).

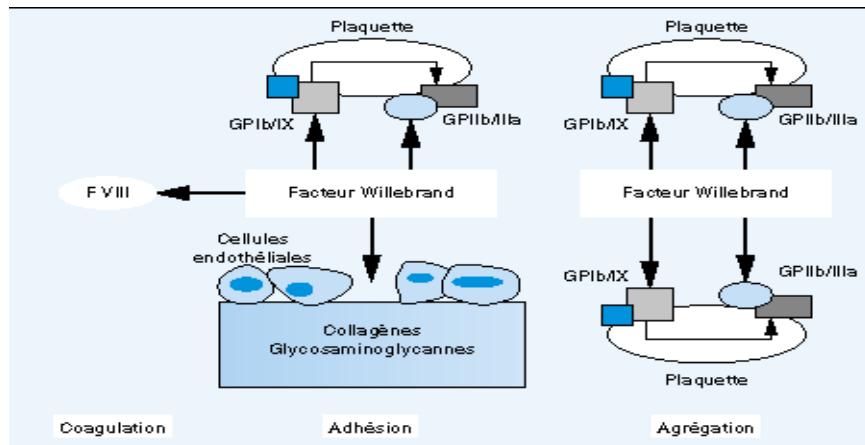


Figure 13 : Rôle physiologique du facteur Willebrand [166].

Au niveau de la coagulation, le FvW s'associe au FVIII circulant et intervient dans son transport et la stabilisation de son activité coagulante. Il le protège également contre sa dégradation par la protéine C activée (figure 15 et 16).

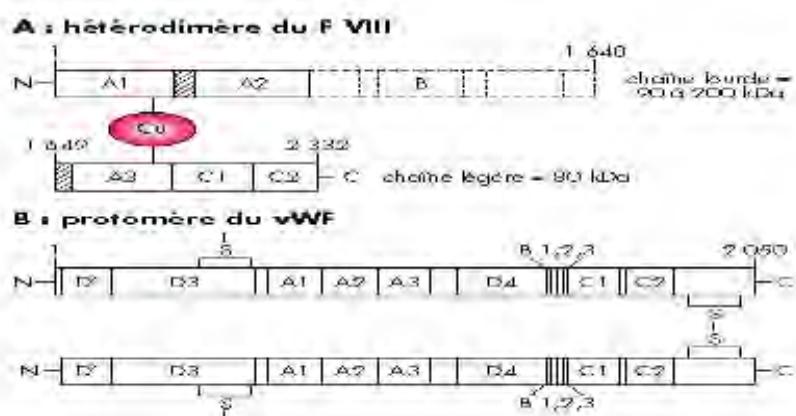


Figure 14 : Représentation schématique des molécules circulantes de FVIII et FvW. [120].

Les chaînes lourdes et légères du FVIII ont en commun un domaine d'homologie, appelé A, et sont liées par un ion cuivre. La forme protomérique du FvW, homodimère d'une sous-unité comportant quatre domaines d'homologie appelés A, B, C et D, est multimérisée grâce à des ponts disulfures inter-chaînes localisés dans le domaine D3.

NB : il n'existe aucune homologie entre les domaines appelés A, B et C dans les deux molécules.

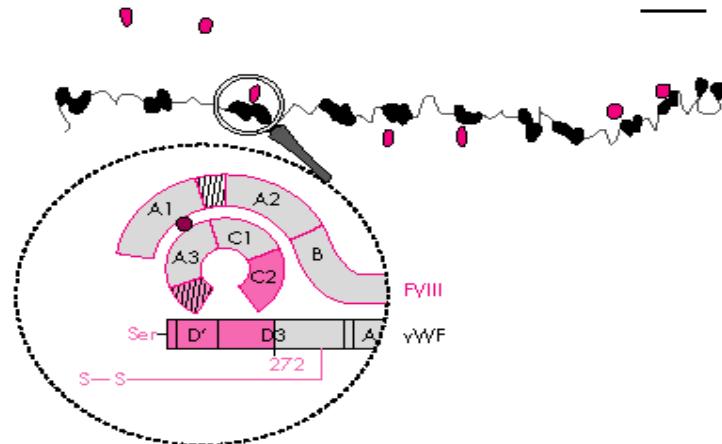


Figure 15 : Le complexe FvW/FVIII [97].

La partie supérieure du schéma représente une photographie en microscopie électronique ; la barre horizontale correspond à 100 nm. [84]

L'agrandissement encerclé, schématisé les domaines, représentés en rose, qui sont indispensables pour la formation du complexe. La présence du résidu de serine en position N-terminale et la multimérisation favorisent l'affinité du FvW pour le FVIII. La chaîne lourde du FVIII stabilise le complexe.

1.2 Circonstances de découvertes

- Cliniques : [34]

Les signes évocateurs sont :

Les hémorragies muqueuses : épistaxis, gingivorragies, ménorragies et pétéchies. Les hémorragies cutanées : ecchymoses.

Les manifestations cliniques peuvent être soit :

Spontanées.

Après un acte chirurgical (telle une amygdalectomie ou une avulsion dentaire), ou un traumatisme.

Les hématomes et hémarthroses sont rares. Ils se voient surtout chez les patients dont le taux de FVIII est très diminué.

- Biologiques :

A l'occasion d'un bilan d'hémostase systématiquement perturbé : TS, TCA, numération plaquettaire.

1.3 Diagnostic biologique

Le bilan biologique repose sur des tests d'hémostase de dépistage puis, en fonction de ces premiers résultats, sur des dosages spécifiques, permettant de confirmer le diagnostic et de caractériser le type, voire le sous-type de la mvW. [101]

Phase pré-analytique : [166]

La phase pré-analytique conditionne la qualité des résultats obtenus.

Le prélèvement se fait par ponction veineuse franche, si possible sans garrot après repos de 10 min.

L'anticoagulant utilisé est le citrate trisodique, en respectant le rapport anticoagulant/sang (9 volume/1 volume).

Le prélèvement doit être centrifugé pendant 15 min à 2 500 g, à une température de 15 °C, pour obtenir le plasma pauvre en plaquettes.

L'analyse du prélèvement doit être effectuée dans un délai inférieur à 2 heures.

Phase analytique :

A- Tests de routine

Ces tests sont réalisés devant toute symptomatologie hémorragique, ils sont nécessaires mais insuffisants au diagnostic de la mvW.

A-1 Temps de saignement

Selon la méthode d'Ivy :

- Le TS est toujours allongé dans les formes graves (type 3 et quelques types 2).
- Il est normal ou subnormal dans les formes frustes.
- Il est aussi normal dans le type 2N.
- Un TS normal ne permet pas d'exclure le diagnostic.

L'intérêt diagnostique de ce test reste limité du fait de sa sensibilité insuffisante et par manque de spécificité et de reproductibilité.

Selon le temps d'occlusion sur l'analyseur PFA-100® :

- Le TOP est allongé dans toutes les formes de la mvW, sauf dans le cas du type 2N où il est normal.

C'est un test sensible et reproductible pour le dépistage de la mvW. Il permet une mesure rapide et simple de l'interaction entre le FvW et les plaquettes.

A-2 Numération plaquettaire

- La numération des plaquettes doit être réalisée systématiquement chez tout patient ayant un syndrome hémorragique.
- Le taux de plaquettes se situe dans les limites de la normale chez les patients de tout type de la mvW, excepté le type 2B qui est souvent associé à une thrombopénie fluctuante pouvant s'exacerber, en particulier à l'occasion d'une grossesse ou d'un syndrome inflammatoire. [63]

A-3 Temps de céphaline avec activateur

- Il est allongé quand il existe un déficit en FVIII.
- Dans la forme sévère (type 3) et les formes comportant une anomalie d'interaction du FvW avec le FVIII (type 2N) : le TCA est toujours allongé.
- En cas de déficit quantitatif modéré ou de déficit qualitatif : le TCA est souvent normal.
- Un TCA dans les limites de la normale ne permet pas d'exclure le diagnostic de la mvW. [63]

B- Tests spécifiques

Le diagnostic de la mvW repose sur les dosages de FvW, immunologiques et fonctionnels, et les dosages du FVIII lié au FvW dans la circulation. [66]

L'analyse du rapport entre les taux fonctionnels et le taux de FvW antigène permet souvent de distinguer les déficits quantitatifs et qualitatifs.

B-1 Dosage du facteur von Willebrand antigène (FvW:Ag)

Il quantifie la protéine en circulation qu'elle soit fonctionnelle ou non. La méthode de référence est l'ELISA qui est pratiquement la seule technique dont la limite de détection (inférieure à 1 UI/dl) permet de diagnostiquer un déficit total. Des techniques plus adaptées à la routine et semi-automatisées sont fréquemment utilisées ; cependant, leur sensibilité et parfois leur spécificité sont inférieures à celle de l'ELISA conventionnel. [175]

- Le dosage du FvW:Ag ne détecte pas les anomalies qualitatives du FvW et il doit toujours être couplé à un test fonctionnel. [63]
- Les méthodes immunologiques les plus utilisées dans le dosage du FvW:Ag sont : Immuno-enzymatique : ELISA surtout, ou ELFA (enzyme linked fluorescent assay). Immunoradiométrique : IRMA (Immuno-radiometric assay) Agglutination de microparticules de latex : Liatest®

Immunoélectrophorèse (méthode de Laurell) : moins utilisée actuellement, car elle est moins sensible.

- Les dosages sont réalisés en utilisant un plasma standard calibré par rapport à un standard international de référence.
- La distribution des taux de FvW:Ag chez les sujets normaux est large, environ 50 à 200%: le taux augmente avec l'âge et est plus faible chez les sujets de groupe sanguin O, ce qui rend le diagnostic difficile dans les formes frustes. Bien qu'il n'y ait pas de véritable consensus, il semble préférable de se référer chez les patients de groupe O aux normes établies avec un pool de sujets normaux de même groupe [74].
- Les résultats sont exprimés en % ou en UI/dl, 1 % correspondant à 1 UI/dl. Les normales sont comprises entre 50 % et 150 %, à interpréter en fonction du groupe sanguin [166].
- Le taux de FvW:Ag est réduit en cas de déficit quantitatif (type 1 et 3) mais peut être normal dans les variants qualitatifs (type 2).

B-2 Dosage de l'activité cofacteur de la ristocétine du facteur von Willebrand (FvW:RCo)

Il mesure la capacité du FvW à se lier aux plaquettes en présence d'un glycopeptide appelé ristocétine : antibiotique qui induit la liaison du FvW à la glycoprotéine Ib, ce qui entraîne l'agglutination des plaquettes, évaluée par agrégamétrie ou par visualisation macroscopique sur lame.

- En pratique, l'activité cofacteur de la ristocétine consiste à mesurer l'agglutination de plaquettes témoins fixées, en présence du plasma pauvre en plaquettes du patient, ou d'un plasma titré en FvW:RCo, et d'une concentration fixe de ristocétine (1 ou 1,2 mg/ml).
- L'agglutination des plaquettes est alors dépendante de la concentration du FvW présent dans le plasma.
- Les résultats sont exprimés en % ou en UI/dl, 1 % correspondant à 1 UI/dl. La distribution des valeurs normales est identique à celle du FvW:Ag (50 à 150%), variant en particulier avec le groupe sanguin [166].
- Le taux de FvW:RCo est diminué dans presque tous les types de mvW.
- Il est indétectable dans les formes graves, parallèle au déficit en FvW:Ag dans les anomalies quantitatives, mais généralement plus abaissé que le taux de FvW:Ag dans ces anomalies [34].

- Le rapport de FvW:RCo/FvW:Ag est nettement diminué dans la mvW type 2A et 2M.
- Ce rapport est normal dans les déficits quantitatifs en FvW (mvW type 1 et type 3) et dans les variants du FvW avec préservation des fonctions dépendantes des plaquettes (mvW type 2N) [76].

Ce test connaît une mauvaise reproductibilité inter-laboratoires. Ainsi, de nouvelles techniques fondées sur un test ELISA se développent, grâce à des anticorps monoclonaux inhibant la liaison du FvW à la GPIb [174].

B-3 Dosage du facteur VIII coagulant (FVIII:C)

- Le dosage du FVIII:C peut être réalisé par une méthode chronométrique ou une méthode chromogénique.
- Dans la mvW, les taux de FVIII antigène (FVIII:Ag) et de FVIII:C sont parallèles. Le taux de FVIII:Ag peut être mesuré par ELISA.
- Les patients porteurs d'une anomalie quantitative fruste ou qualitative du FvW (ne touchant pas la fonction de transport du FVIII, mais l'interaction des plaquettes avec la paroi vasculaire) peuvent avoir un taux de FVIII normal ou subnormal.
- Dans le type 3 et le type 2N, le déficit en facteur VIII est net [34].
- Un taux de FVIII dans les limites de la normale est fréquent dans la mvW et ne permet donc pas d'exclure le diagnostic.

B-4 Etude de la liaison du facteur von Willebrand au collagène (FvW:CB)

La liaison du FvW au collagène est assurée par un test ELISA, qui souffre encore d'un manque de standardisation.

La grande sensibilité du collagène à l'absence des multimères de haut poids moléculaire (PM) du FvW en fait un test utile pour la discrimination entre un déficit quantitatif et un déficit qualitatif lié à une répartition anormale des multimères [13].

Le FvW:CB est plus efficace que le FvW:RCo pour détecter les types 2 :

- Il est diminué dans les types 2A et 2B.
- Il est normal dans le type 2M.

B-5 Etude des rapports FvW: RCo/FvW:Ag, FVIII/FvW:Ag et FvW:CB/FvW:Ag

Le calcul de ces rapports permet classiquement de distinguer une anomalie qualitative d'une anomalie quantitative, et orienter vers le type de mvW.

- Le rapport FvW:RCo/FvW:Ag est abaissé (inférieur à 0,7) dans les anomalies qualitatives caractérisées par une anomalie de l'interaction du FvW avec les

plaquettes, associée ou non à l'absence de multimères de haut PM. Ainsi, ce rapport est diminué dans les sous-types 2A, 2M et 2B.

- Il est voisin de 1 dans les anomalies quantitatives du FvW (type 1 ou 3) et dans le cas de l'anomalie qualitative de type 2N.
- Un rapport FVIII/FvW:Ag abaissé (inférieur à 0,5) peut être en relation avec une anomalie d'interaction du FvW avec le FVIII (ou avec une hémophilie A modérée ou mineure).
- Il est supérieur ou égal à 1 dans tous les types de mvW, sauf dans le type 2N où il est inférieur à 0,7 [114].
- Un rapport FvW:CB/FvW:Ag abaissé est en faveur d'une anomalie d'interaction du FvW avec le collagène ou d'une absence de multimères de haut PM.
- Il est diminué dans le type 2A, plus ou moins diminué dans le type 2B, et normal dans le type 2M et le type 1.

C- Tests discriminatifs

Ils permettent d'établir des diagnostics différentiels très précis, de préciser le type et le sous-type de mvW, ainsi que des variants rares.

C-1 Agrégation plaquettaire induite par la ristocétine (RIPA)

L'agrégation plaquettaire induite par la ristocétine (RIPA : ristocetin induced platelet aggregation) dépend de la concentration de FvW et de l'affinité du FvW pour la GPIb. Différentes concentrations de ristocétine (de 0,2 à 1,5 mg/ml) sont ajoutées au plasma riche en plaquettes (PRP) du patient dans un agrégomètre.

- Il a été montré que la ristocétine (1 à 1,5mg/ml) pouvait induire l'agrégation plaquettaire d'un plasma riche en plaquettes chez les sujets normaux mais pas chez les sujets atteints de maladie de Willebrand grave (type 3) [89].
- L'agrégation est indétectable en cas de déficit total ou presque total en VWF, mais peu modifiée en cas de déficit quantitatif modéré.
- Les patients avec une diminution d'affinité du VWF pour les plaquettes (types 2A et 2M) ont une agrégation nulle ou très diminuée aux concentrations de ristocétine de 1,3 à 1,5 mg/ml.
- L'intérêt majeur de ce test est de mettre en évidence chez les patients avec une augmentation d'affinité du VWF pour la GPIb (type 2B) une agglutination paradoxale à de faibles concentrations de ristocétine (inférieures à 0,8 mg/ml), incapables de l'induire dans une population normale [34].

C-2 Etude de la distribution des multimères du facteur von Willebrand

Elle est réalisée par électrophorèse en gel d'agarose contenant un agent dissociant (dodecyl sulfate de sodium : SDS), permettant de séparer les multimères qui sont ensuite révélés par un anticorps spécifique marqué (figure 17) [123].

- Cet examen est indispensable pour diagnostiquer certains sous-types de mvW.
- À une faible concentration d'agarose (0,65 à 1,4%), chaque multimère migre sous forme d'une bande, la première correspondant au plus petit multimère qui est un dimère formé par l'association de deux sous-unités identiques, la bande suivante à un multimère de quatre sous-unités et ainsi de suite...
- Une concentration diminuée de FvW avec une distribution normale des multimères, correspond à une anomalie quantitative de type 1.
- La perte des multimères de haut PM correspond à une anomalie qualitative (type 2).
- Dans la forme grave (type 3), l'ensemble des multimères est indétectable.

La reconnaissance de certains variants de type 2 requiert le recours à des méthodes d'électrophorèse de très haute résolution avec une concentration plus élevée d'agarose (2 à 3%) où chaque multimère migre sous la forme de plusieurs bandes [117].

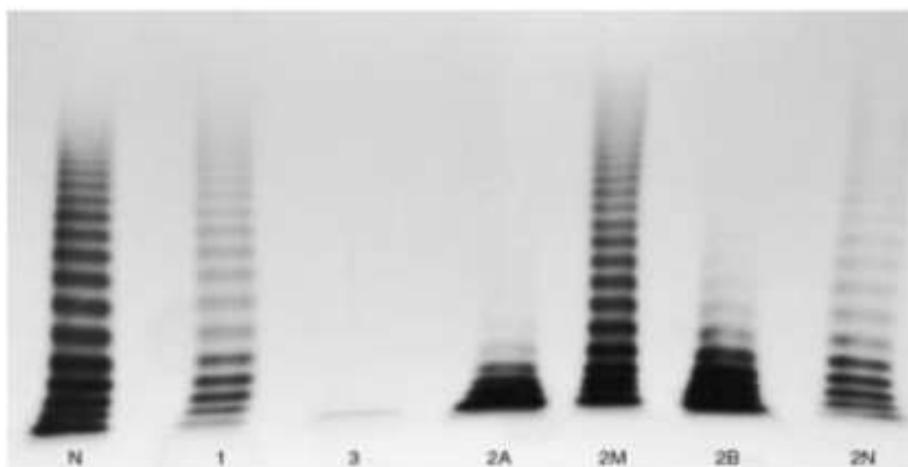


Figure 16 : Distribution des multimères du facteur von Willebrand dans le plasma [58].

N: plasma normal ; 1: plasma de mvW type 1 ; 3: plasma de mvW type 3 ; 2A: plasma de mvW type 2A ; 2M: plasma de mvW type 2M ; 2B: plasma de mvW type 2B ; 2N: plasma de mvW type 2N.

C-3 Dosage du facteur von Willebrand plaquettaire

- Il est différencié entre les deux stocks : plaquettaire et plasmatique.
- Le taux de FvW peut être normal dans les plaquettes alors qu'il existe un déficit dans le plasma: ceci permet de définir différents sous-types dans le type 1.
- Le FvW:Ag et le FvW:RCO peuvent être dosés dans les plaquettes et l'étude de la répartition des multimères du FvW plaquettaire peut être réalisée aussi [150].

D- Test très spécialisés

Ces tests, délicats à mettre en œuvre et à interpréter, relèvent de l'activité de laboratoires spécialisés. Ils permettent l'identification précise du type de la maladie de Willebrand.

D-1 Etude de la liaison du facteur von Willebrand aux plaquettes

- In vitro, la liaison du FvW à la GPIb plaquettaire peut être induite par la ristocétine ou d'autres composés comme la botrocétine (extraite de venin de serpent).
- Ces tests font appel à des plaquettes normales fixées par le formaldéhyde et requièrent des anticorps anti-FvW radiomarqués. Plus récemment ont été adoptés des tests utilisant un fragment de GP1b recombinant et des anticorps marqués à la peroxydase [27].
- La liaison du FvW aux plaquettes, induite par la ristocétine, permet de discriminer parmi les patients de type 2 ceux qui ont une interaction augmentée avec la GPIb (type 2B) de ceux qui ont une interaction diminuée (type 2A) [34].
- La liaison du FvW aux plaquettes par la botrocétine, est normale dans le type 2M, alors qu'elle est anormale dans le type 2A.

D-2 Etude de la liaison du facteur von Willebrand au facteur VIII (FvW:FVIIIIB)

Récemment mise au point, elle permet de mettre en évidence un défaut de liaison du FvW du patient à du FVIII exogène : anomalie qualitative du FvW caractérisant le type 2N, où il existe une diminution de l'affinité du FvW pour le FVIII, sans autre anomalie de la fonction du FvW [133].

- L'affinité du FvW pour le FVIII (exogène) est déterminée par immuno-adsorption du FvW puis mesure du FVIII lié, par une technique ELISA ou chromogénique.
- Ce test doit être systématiquement réalisé lorsque le rapport FVIII/FvW:Ag est inférieur à 0,5, pour différencier une mvW de type 2N (FvW:FVIIIIB nul ou très abaissé) d'une hémophilie A (FvW:FVIIIIB normal ou peu diminué).
- Il reste encore réservé à quelques laboratoires.

D-3 Analyse de l'acide désoxyribonucléique (ADN)

La détection des défauts génétiques du patient atteint de la mvW est rendue difficile par :

- Le caractère autosomique de l'affection.
- La grande taille du gène.
- La présence d'un pseudogène sur le chromosome 22.

La recherche des anomalies moléculaires a pu être entreprise depuis la publication de la structure du gène du FvW et grâce au développement des techniques d'amplification enzymatique (PCR) à partir de l'ADN génomique ou de l'ARN plaquettaire, d'électrophorèse et de séquençage.

Des mutations ont été caractérisées dans le gène de nombreux patients porteurs de différents types de mvW. Ces mutations sont répertoriées [75].

1.4 Classification

L'ensemble des données biologiques permet de distinguer trois types de la mvW (tableau V).

La mvW de type 1 : est la forme la plus courante, due à une anomalie quantitative, par un déficit modéré en FvW. Les symptômes sont habituellement très bénins. Néanmoins une personne qui en est atteinte, peut présenter des saignements graves.

La mvW de type 2 : est liée à une anomalie qualitative, de la structure du FvW et est subdivisée en quatre sous-types (2A, 2B, 2M, 2N) selon le type d'anomalie observé. Les symptômes sont habituellement modérés.

Anomalies d'interaction du FvW à la GPIb :

Sous-type 2A : diminution de l'affinité du FvW pour la GPIb associée à l'absence des multimères de haut poids moléculaire (HPM).

Sous-type 2M : diminution de l'affinité du FvW pour la GPIb non liée à l'absence des multimères de HPM.

Sous-type 2B : augmentation de l'affinité du FvW pour la GPIb, avec le plus souvent absence des multimères de HPM.

Anomalie d'interaction avec le FVIII :

Sous-type 2N : diminution de l'affinité du FvW pour le FVIII ; transmission récessive. [155]

La mvW de type 3 : est habituellement le type le plus grave. Elle est due à une anomalie quantitative, par un déficit total en FvW. Les symptômes sont aigus : les hémorragies peuvent survenir au niveau des muscles et des articulations, parfois sans provocation (figure 18).

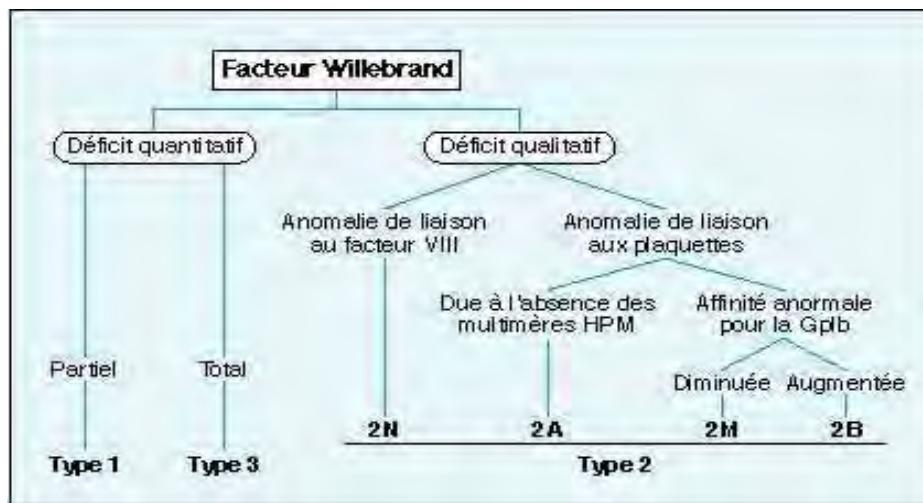


Figure 17 : Le facteur Willebrand dans la maladie de Willebrand : schématisation des bases physiopathologiques et classification de la maladie [75].

Tableau V : Classification biologique des principaux types de mvW. [82].

	Type 1	Type 2A	Type 2B	Type 2M	Type 2N	Type 3
TS	N ou ↗	↗	N ou ↗	↗	N	↗↗↗
TCA	↗ ou N	↗ ou N	N ou ↗	N ou ↗	↗ ou N	↗↗
NP	N	N	↘↘ ou N	N	N	N
FvW:Ag	↘	↘	+/- ↘	N ou ↘	N ou ↘	Absent
FvW:RCO	↘	↘↘↘	↘ou↘↘	↘↘	N	Absent
FVIII:C	N ou ↘	N ou ↘	N ou ↘	N ou ↘	↘↘	↘↘↘
Multimères du FvW	N	Absence de HPM	Absence de HPM	N	N	Absents
RIPA à faible dose (0,5 mg/ml)	Absente	Absente	Augmentée	Absente	Absente	Absente
FvW:CB	↘ ou +/- N	↘↘	↘	N ou ↘	↘ ou N	↘↘↘

1.5 Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel se pose avec :

- ⊕ **Un sujet normal** : compte tenu de la grande difficulté du diagnostic des formes frustres, surtout chez les patients du groupe O. Le diagnostic repose sur la notion d'hémorragies excessives et sur la répétition des examens biologiques.
- ⊕ **L'hémophilie A** : de transmission récessive liée au sexe. La distinction est facile, sauf pour les variants de type 2N, qui ont des taux de FvW dans les limites de la normale, comme dans l'hémophilie A, mais de transmission autosomique. Il faut procéder par une étude de la liaison du FvW au FVIII [122].
- ⊕ **Le syndrome de Willebrand acquis** : il est exceptionnel, observé surtout chez les patients de plus de 50 ans, dans les hémopathies lymphoïdes, myéloïdes et dans les maladies auto-immunes. Il se présente comme la mvW de type 1 ou plus volontiers de type 2. Un auto-anticorps anti-facteur Willebrand, le plus souvent IgG à chaîne légère K, est mis en évidence, dirigé essentiellement contre le FvW:RCO [64].
- ⊕ **La pseudo-maladie de Willebrand** : il s'agit d'une thrombopathie de transmission autosomale dominante, où il existe une augmentation de l'affinité à la GPIb plaquettaire pour le FvW. La distinction avec la mvW de type 2B est très difficile et réservée aux laboratoires hautement spécialisés. Le diagnostic est confirmé par l'étude spécifique de la liaison du FvW aux plaquettes en présence de ristocétine. [118].

1.6 Principes du traitement

Un traitement spécifique n'est nécessaire qu'en cas de saignement important provoqué par un traumatisme ou en prévention (contexte chirurgical par exemple). Il a pour objectif de normaliser les taux de FvW, et il sera défini avec le concours d'un centre spécialisé dont les coordonnées sont en général sur la carte attestant du type de mvW.

Les méthodes physiques peuvent être suffisantes: compression locale, colle biologique ou méchage hémostatique.

Lorsqu'il est nécessaire de corriger le désordre hémorragique, il existe deux voies majeures de traitement :

La DDAVP (1-déamino-8-D-arginine vasopressine) ou desmopressine, est une hormone capable de provoquer le relargage de FvW et de FVIII à partir des compartiments cellulaires endothéliaux. Il existe une forme nasale utilisable en ambulatoire.

Les contre-indications sont : la grossesse ou l'allaitement, les variants Willebrand

2B, les patients fragiles, les troubles cardiovasculaires avec hypertension artérielle.

Le traitement substitutif est envisageable en cas de contre-indication ou de mauvaise réponse au DDAVP avec l'apport de FvW seul ou en association avec le FVIII (40 à 60 UI/kg à répéter toutes les 12 à 24 heures). En pratique, 1UI/kg augmente le taux de plasmatique de Willebrand de 2 %.

L'information et l'éducation du patient sont capitales : éviter les situations majorant le risque hémorragique, éviter la prise d'aspirine ou d'anti-inflammatoires [38].

2. Thrombopathies constitutionnelles

Les anomalies congénitales plaquettaires peuvent être quantitatives ou qualitatives, voire pour certaines, les deux à la fois. Les troubles fonctionnels sont généralement classés selon le type de réponse plaquettaire qui se trouve anormale : adhésion, sécrétion, agrégation, fonction procoagulante. En fait ces étapes sont intimement intriquées et une telle distinction des dysfonctions plaquettaires reste souvent problématique. Pour cela, il est préférable d'envisager une classification essentiellement basée sur les divers éléments constituants des plaquettes : les récepteurs pour les agonistes solubles, les voies de transduction du signal cellulaire et les phospholipides procoagulants [163].

2.1 Classification

Tableau VI : Principaux types de thrombopathies constitutionnelles [144].

Anomalies de l'adhésion (GPIb-IV-V)	<ul style="list-style-type: none">• Maladie de Bernard et Soulier• Pseudo-Willebrand plaquettaire
Anomalies de l'agrégation primaire (GPIIb-IIIa)	<ul style="list-style-type: none">• Thrombasthénie de Glanzmann
Anomalies des récepteurs d'agonistes solubles	<ul style="list-style-type: none">• Récepteurs du thromboxane (Tx) A2• Récepteurs de l'acide adénosine ADP
Anomalies de la signalisation cellulaire	<ul style="list-style-type: none">• Déficit en cyclo-oxygénase• Déficit en thromboxane synthétase• Défaut de la mobilisation catéchique• Défaut de synthèse des phosphatidyl-inositols• Anomalies du système des protéines G
Anomalies de la sécrétion granulaire	<ul style="list-style-type: none">• Pool vide delta• Pool vide alpha ou syndrome des plaquettes grises• Facteur V Québec
Anomalies de la fonction procoagulante plaquettaire	<ul style="list-style-type: none">• Syndrome de Scott• Syndrome de Stormorken

2.2 Contexte clinique [50]

Les explorations biologiques doivent s'accompagner d'une connaissance précise du contexte clinique qui permettra d'orienter les recherches.

Les thrombopathies constitutionnelles sont soit isolées, soit associées à des pathologies plus générales, accompagnées d'anomalies d'autres cellules sanguines, d'organes (rein, foie), ou de surdité, albinisme, eczéma, infections. Les thrombopathies sont souvent associées à des thrombopénies et parfois assimilées à des purpuras thrombopéniques idiopathiques (PTI).

2.3 Diagnostic biologique et présentation des principaux types de thrombopathies constitutionnelles

A- Anomalie de l'adhésion :

A-1 Syndrome de Bernard-Soulier

Cette pathologie plaquettaire congénitale résulte d'un déficit ou d'une anomalie qualitative du complexe GP Ib-IX-V qui se traduit par un syndrome hémorragique important. La transmission est habituellement autosomale récessive dans un cas, une transmission sur un mode dominant a été rapportée. L'anomalie fonctionnelle majeure concerne le défaut d'adhésivité des plaquettes au FvW. Cette pathologie très rare, initialement appelée "dystrophie thrombocytaire hémorragipare", a été décrite pour la première fois en 1948 [11].

Circonstances de diagnostic

Le diagnostic doit être envisagé lors d'un syndrome hémorragique chez le nouveau-né (saignement au niveau du cordon, pétéchies). Chez l'enfant ou l'adulte jeune, il doit être évoqué à l'occasion d'épistaxis ou d'autres saignements muqueux, ou encore après des saignements post-chirurgicaux. Le diagnostic peut être également suspecté à la suite de la mise en évidence d'un temps de saignement allongé ou d'une thrombopénie avec plaquettes géantes. Toutefois, le plus souvent c'est le syndrome hémorragique qui motive les investigations [50].

Critères de diagnostic

Les plaquettes sont en nombre diminué, de taille géante, de forme arrondie.

L'agglutination à la ristocétine est nulle, en revanche l'agrégation plaquettaire induite par les agonistes physiologiques, excepté la thrombine, est normale (figure 19).

Une absence d'agglutination à la ristocétine pouvant résulter d'un déficit en FvW, situation beaucoup plus courante, le dosage du FvW:RCo et FvW:Ag s'impose.

La cytométrie en flux est particulièrement intéressante pour cette pathologie alliant thrombopénie et plaquettes géantes (figure 20). Elle permet d'analyser en parallèle :

- La fixation d'anticorps monoclonaux dirigés contre les différents composants du complexe GP Ib-IX-V.
- L'homogénéité de l'anomalie au sein de la population plaquettaire.
- La taille des plaquettes.

L'utilisation d'un panel d'anticorps est souhaitable : il doit comprendre des anticorps dirigés contre la partie N-terminale de GP Ib-alpha, où est localisé le site récepteur du FvW, d'autres anticorps dirigés contre la partie du macroglycopeptide de GP Ib-alpha, des anticorps anti-GP

IX et, lorsque cela est possible, des anticorps anti-GP V et GP Ib-bêta. Il est utile, pour ce type de pathologie où la taille des plaquettes avoisine celle des globules blancs, d'effectuer un double marquage avec un anti-GP IIb-IIIa. Le déficit peut être global mais, le plus souvent, on trouve une expression résiduelle de plusieurs sous-unités du complexe [12].

Cette pathologie est à différencier d'un PTI car, dans les deux cas, on note une thrombopénie. La recherche d'anticorps antiplaquettes s'avère donc nécessaire.

Examens supplémentaires

L'analyse des composants du complexe GP Ib-IX-V par immuno-empreinte montre la présence de quantités résiduelles de protéines. L'absence de toute trace de l'un des composants du complexe peut faciliter l'identification du gène muté. Les études en biologie moléculaire ont montré des mutations au niveau du gène codant pour GP Ib-alpha, non seulement au niveau de la partie N-terminale, mais aussi dans des zones plus proches de la partie transmembranaire ; des mutations sur les gènes codant pour la GP IX et la GP Ib-bêta ont également été rapportées [12]. A ce jour, aucune mutation n'a été trouvée pour GP V.

L'origine de la thrombopénie n'est toujours pas élucidée. Si dans les quelques cas où les mégacaryocytes ont été examinés, il a été montré des anomalies susceptibles d'expliquer une mégacaryocytopoïèse inefficace, cette explication n'est peut-être pas la seule pour justifier l'intensité de la thrombopénie.

L'anomalie de la consommation de prothrombine est une caractéristique du syndrome de Bernard-Soulier.

A-2Pseudo-von Willebrand plaquettaire

Les multimères de plus haut poids moléculaires de FvW interagissent de manière spontanée avec la GP Ib-alpha, qui présente une mutation au niveau de sa partie N-terminale. De ce fait, les multimères sont déficients dans le plasma car ils se fixent sur les plaquettes. Cette pathologie est à différencier de la maladie de Willebrand type 2B où le FvW est anormal. La thrombopénie associée est liée à l'élimination de plaquettes ayant fixé le FvW. [36]

Circonstances de découverte

Le syndrome hémorragique est fréquent, parfois important. C'est la découverte d'une thrombopénie qui peut représenter le signe d'appel. L'anomalie peut aussi être découverte dans le cadre d'une enquête familiale.

Critères de diagnostic

Il existe une diminution du cofacteur de la ristocétine (FvW:RCo) plus importante que celle trouvée par dosage immunologique (FvW:Ag).

Le test de RIPA est anormal, des concentrations aussi faibles que 0,3 mg/ml de ristocétine induisant l'agglutination de plaquettes en PRP.

La maladie de Willebrand type 2B a une fréquence plus importante que le pseudo-von Willebrand. Le diagnostic différentiel entre ces deux pathologies nécessite des épreuves croisées de mélange de plasma et de plaquettes. Les résultats ne sont pas toujours concluants.

Les études par cytométrie en flux du complexe GP Ib-V-IX sont à mettre en œuvre. La biologie moléculaire avec mise en évidence de mutations au niveau de GP Ib-alpha permet d'affirmer le diagnostic.

B- Anomalies de l'agrégation plaquettaire :

B-1 Thrombasthénie de Glanzmann

La thrombasthénie de Glanzmann est une pathologie plaquettaire hémorragique congénitale, rare, où des anomalies quantitatives ou qualitatives de l'intégrine alpha-IIb/bêta-3 sont associées à une absence de l'agrégation plaquettaire et dont la transmission est autosomale récessive. Des anticorps anti-plaquettes dans le cadre d'un syndrome dysimmunitaire ou encore les traitements anti-agrégants de type anti-GP IIb-IIIa chez des malades avec un syndrome d'ischémie coronaire, peuvent reproduire les anomalies fonctionnelles de cette thrombopathie [50; 152].

Circonstances de diagnostic

Le syndrome hémorragique se manifeste dès la naissance par du purpura, des gingivorragies, des épistaxis. Le diagnostic doit être évoqué chez le nouveau-né présentant un saignement au niveau du cordon ombilical ou des pétéchies. Une forte proportion des patients présentant cette pathologie appartient à des communautés où existe une forte consanguinité. Le diagnostic peut être évoqué plus tardivement chez l'enfant ou l'adulte jeune à l'occasion d'épistaxis ou d'autres saignements muqueux ou encore après des saignements postopératoires. Le diagnostic est plus rarement effectué à partir de la mise en évidence d'un temps de saignement allongé. Chez l'adulte plus âgé, ce sont des formes acquises de thrombasthénie de Glanzmann qui doivent être suspectées.

Critères de diagnostic

L'agrégation plaquettaire est nulle quel que soit l'inducteur utilisé (ADP, collagène, acide arachidonique, épinéphrine, thrombine) (figure 19). L'agglutination des plaquettes à la ristocétine est présente mais, souvent, elle est suivie de désagglutination rapide ou de séries

de vagues d'agglutination et de désagglutination. Le nombre des plaquettes reste normal ainsi que leur morphologie.

La cytométrie en flux (figure 20), avec utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre GP IIb-IIIa, soit directement conjugués, soit révélés par des d'anticorps secondaires marqués avec un fluorochrome, permet d'effectuer le diagnostic. Un grand avantage de cette technique est qu'elle ne nécessite que des quantités minimes de sang. L'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre chacune des deux glycoprotéines, ou encore contre des épitopes dépendants du complexe et enfin dépendants de l'activation, permet la détection de variants correspondant à des anomalies qualitatives des complexes GP IIb-IIIa. L'étude de la fixation du fibrinogène conjugué au FITC (fluorescein isothiocyanate) est un complément très utile à l'étude de ce récepteur [24].

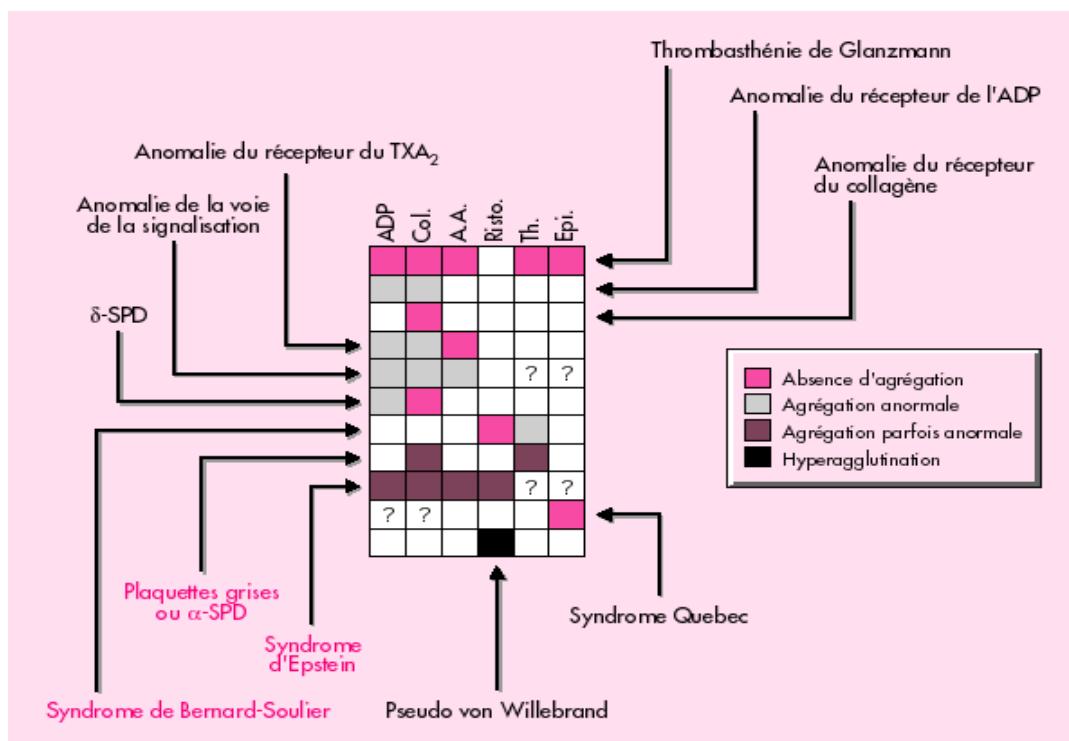


Figure 18 : Représentation schématique des anomalies d'agrégation plaquettaire typiques des principales thrombopathies. Le texte en rouge correspond aux thrombopathies avec plaquettes géantes [136].

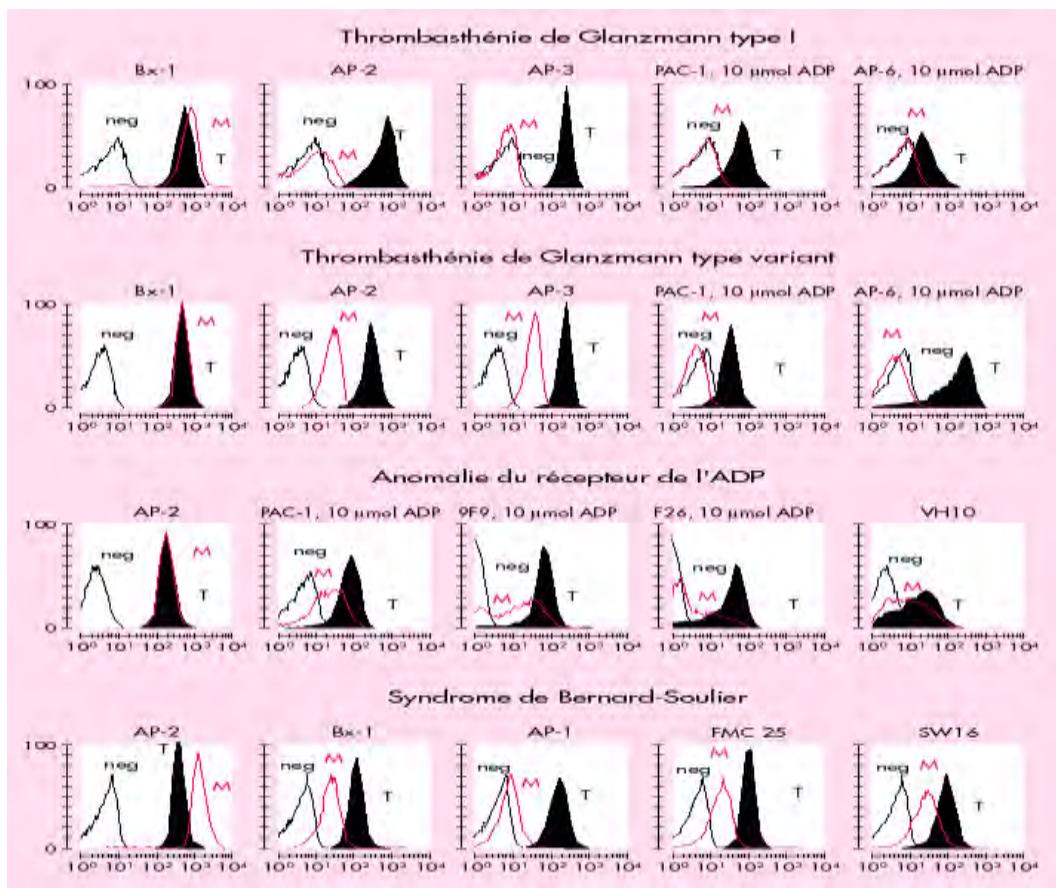


Figure 19 : Exemples d'analyse des glycoprotéines plaquettaires en cytométrie en flux au cours de : la thrombasthénie de Glanzmann de type I et de type variant, d'une anomalie du récepteur de l'ADP, et d'un syndrome de Bernard-Soulier [136].

Les histogrammes obtenus sont illustrés avec un panel d'anticorps : anti-GP IIb-IIIa (AP-2) anti-GP IIIa (AP-3) anti-GP Ib (Bx-1 et AP-1) anti-GP IX (FMC 25) anti-GP V (SW16) anti-P-selectine (VH10). On a utilisé des anti-GP IIb-IIIa activation-dépendants (PAC-1), un anti-LIBS (AP-6) et des anti-RIBS (F26 et 9F9) [136].

Examens supplémentaires.

La recherche du type de thrombasthénie de Glanzmann (type I < 5 % de GP IIb-IIIa, type II entre 5 et 15 % et variant) nécessite de connaître la quantité de GP IIb-IIIa des plaquettes. L'analyse des chaînes séparées de GP IIb et de GP IIIa est effectuée par électrophorèse en gel de polyacrylamide, en simple ou double dimension, à partir de protéines plaquettaires solubilisées dans le détergent ionique SDS (SDS-PAGE). La recherche de traces de GP IIb ou de GP IIIa est aussi effectuée par immuno-empreintes en utilisant des anticorps monoclonaux ou polyclonaux spécifiques de ces glycoprotéines. La présence ou l'absence de

fibrinogène intraplaquettaire est souvent recherchée ainsi que le degré de rétraction du caillot [135].

La recherche du défaut génétique des gènes codant pour GP IIb et GP IIIa est réservée aux laboratoires spécialisés dans ces domaines. Les anomalies trouvées à ce jour sont très variées, les mutations se répartissent sur les différents exons codant pour GP IIb ou GP IIIa. Pour les variants, qui sont moins nombreux, une mutation a été trouvée au niveau de l'acide aminé 214 de GP IIIa pour trois différentes familles. Un autre variant présente une mutation au niveau de la partie intracytoplasmique de GP IIIa (acide aminé 752), ce qui entraîne l'incapacité de GP IIb-IIIa à acquérir sa fonction de site récepteur pour le fibrinogène [72].

C- Anomalies de la sécrétion granulaire :

C-1 Anomalies des granules alpha : Syndrome des plaquettes grises ou alpha SPD

En l'absence de connaissances plus précises des bases moléculaires conduisant à cette anomalie, le diagnostic repose sur des arguments essentiellement morphologiques [50].

Circonstances et critères de diagnostic

La présence d'une thrombopénie et d'un syndrome hémorragique modéré se manifestant spontanément ou au cours d'intervention. La pathologie se complique progressivement d'une myéofibrose.

L'examen morphologique des plaquettes : en absence des granules alpha, les colorations classiques de cytologie font apparaître les plaquettes grises et, de ce fait, difficiles à identifier. La plupart des plaquettes sont de grande taille.

L'agrégation plaquettaire est le plus souvent normale mais parfois la réponse au collagène ou à la thrombine est anormale.

La cytométrie en flux permet de mettre en évidence de grandes plaquettes avec une composition en GP Ib-IX normale. L'étude des cellules fixées par le paraformaldéhyde et perméabilisées montre que le fibrinogène intraplaquettaire est très diminué ainsi que les autres protéines de granules alpha.

Un critère important permettant de différencier cette pathologie d'un PTI est l'absence d'anticorps anti-plaquettes [134].

Examens spécialisés

Le déficit du pool intraplaquettaire en fibrinogène, FvW, thrombospondine et autres protéines des granules alpha est majeur. Il peut être évalué quantitativement par ELISA ou en SDS-PAGE avec ou sans immuno-empreinte.

La microscopie électronique permet de visualiser le compartiment intracytoplasmique et les immunomarquages évaluent la présence d'éventuels granules alpha résiduels.

L'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-P-sélectine a permis de montrer que ce constituant des membranes des granules alpha était présent mais localisé dans les membranes du SCCS (système canaliculaire connecté à la surface) des plaquettes d'un malade présentant le syndrome de plaquettes grises. Pour un autre patient la P-sélectine était abaissée [134].

C-2Déficits en granules denses : Syndrome du pool vide delta ou delta-SPD

Des anomalies congénitales des granules denses appelées delta-SPD ont été décrites [50]. Dans ce groupe, il faut distinguer les formes associées à un albinisme et les formes isolées plus fréquentes. C'est également dans ce groupe que l'on classe les anomalies plaquettaires liées au syndrome de Wiskott-Aldrich ou la thrombopénie liée au chromosome X qui correspond à une forme incomplète de Wiskott-Aldrich [112].

Circonstances de diagnostic pour l'ensemble des delta-SPD

Bilan plaquettaire chez un patient dont le diagnostic de syndrome d'Hermansky-Pudlak, de Chediak-Higashi ou de Wiskott-Aldrich a déjà été posé. En dehors de ce contexte très particulier et peu fréquent, les examens sont entrepris pour syndrome hémorragique modéré, saignements post-chirurgicaux, allongement du temps de saignement.

Critères de diagnostic

Le profil d'agrégation plaquettaire est particulier avec une agrégation réversible à l'ADP même pour de fortes doses de cet agoniste, une agrégation très réduite même absente au collagène et une agrégation normale avec l'acide arachidonique (figure 19).

Le diagnostic de delta-SPD repose sur la mise en évidence d'un déficit en granules denses ou de leur contenu, ou encore d'une anomalie de la voie de la sécrétion. Plusieurs techniques de microscopie permettent de visualiser les granules denses.

En marquant les plaquettes avec de la mepacrine, un dérivé de la quinacrine (substance antimalarique), les granules denses peuvent être visualisés en microscopie de fluorescence. Une plaquette normale contient environ 6 à 8 granules denses. Une évaluation par cytométrie en flux de l'incorporation de mepacrine est possible. Une étude du contenu des granules denses en sérotonine et en nucléotides permet d'identifier des déficits partiels.

Plus sophistiquée, la microscopie électronique permet de comptabiliser les granules denses. Leur opacité permet de les différencier de l'ensemble des autres constituants

plaquettaires. Ils peuvent également être identifiés par leur forte affinité pour les ions d'uranyl.

Quand l'anomalie concerne la sécrétion plaquettaire et non le contenu des granules, le défaut d'agrégation se manifeste uniquement aux faibles doses d'ADP, de collagène, d'épinéphrine : le syndrome hémorragique associé est alors modéré. La sécrétion plaquettaire peut être testée avec la (C14)-5-hydroxytryptamine que l'on incorpore préalablement aux plaquettes et dont on mesure la sécrétion après stimulation par différents inducteurs. [183].

2.4 Principes du traitement

En premier lieu des mesures symptomatiques :

- Hygiène de vie évitant les activités sportives à fort risque traumatique.
- Proscription des médicaments interférant avec l'activité plaquettaire.
- Proscription des injections intramusculaires.

En cas d'hémorragie :

- Compression.
- Utilisation de colles hémostatiques.
- Eviter au maximum les transfusions plaquettaires.

Le DDAVP ou desmopressine peut prévenir ou atténuer un syndrome hémorragique modéré. A utiliser avant des extractions dentaires, des biopsies cutanées... afin de garder les transfusions de concentrés plaquettaires pour les interventions lourdes où le risque hémorragique est préoccupant [147].

3. Atteinte vasculaire : purpuras vasculaires et vascularites

Les anomalies de l'hémostase par atteinte vasculaire représentent une cause fréquente de saignement rencontrée en pratique médicale courante. Elles semblent plus fréquentes chez la femme que chez l'homme.

L'atteinte de la paroi capillaire peut provoquer un purpura à l'allure de pétéchies, d'ecchymoses plus ou moins étendues, ou de vibices.

L'origine est immunologique, infectieuse ou, le plus souvent, idiopathique.

Différentes formes de purpuras sont décrites :

Purpura par vascularite leucocytoclasique, siégeant aux membres inférieurs, associé éventuellement à des myalgies, des arthralgies, un œdème segmentaire, une néphropathie, une neuropathie périphérique. Le purpura résulte du dépôt de complexes immuns circulant dans les vaisseaux du derme. Des cryoglobulines peuvent être mises en

évidence, le plus souvent mixtes et rarement monoclonales. Le purpura rhumatoïde ou syndrome de Schönlein-Henoch (vascularite leucocytoclasique à IgA) apparaît le plus souvent avant 15 ans, surtout chez les garçons.

Purpura fulminant méningococcique, de pronostic sévère, souvent associé à une CIVD. Il doit être traité en urgence.

Purpuras de diverses origines : vascularites septiques à germes Gram+ ou Gram-, maladies éruptives (rougeole, rubéole, scarlatine), maladie d'Osler, amylose, purpuras par fragilité capillaire (sénile, corticothérapie prolongée, scorbut) [182].

3.1. Physiopathologie

Les anomalies de l'hémostase vasculaire sont secondaires à :

Une atteinte de la structure des vaisseaux et en particulier des macromolécules conjonctives du sous-endothélium.

Des modifications inflammatoires de la paroi du vaisseau.

Des modifications d'origine immunologique : dépôt pariétal de complexes immuns et de complément et/ou l'action d'anticorps anti-cellules endothéliales.

Ces modifications entraînent une augmentation de la perméabilité vasculaire, une diminution de la résistance de la paroi et une absence de contraction après lésion du vaisseau. Ainsi les anomalies vasculaires de l'hémostase sont complexes [53].

3.2. Classification

Les vasculites peuvent être cutanées pures ou systémiques. Dans ce cas-là, la distinction se fait selon l'atteinte préférentielle de certains types de vaisseaux (tableau VII).

Tableau VII : Classification des atteintes vasculaires selon Chappel-Hill [28].

Atteinte des vaisseaux de gros calibre	<ul style="list-style-type: none">• Maladie de Horton• maladie de Takayasu
Atteinte des vaisseaux de moyen calibre	<ul style="list-style-type: none">• Périartérite noueuse• syndrome de Kawasaki
Atteinte des vaisseaux de petit calibre	<ul style="list-style-type: none">• Maladie de Wegener• angéite de Churg et Strauss• polyangéite microscopique• purpura rhumatoïde• cryoglobulinémie mixte essentielle
Atteinte des petits vaisseaux du derme sans atteinte viscérale	<ul style="list-style-type: none">• Vascularites cutanées leucocytoclasiques

3.3. Diagnostic clinique [78]

L'aspect du purpura est souvent déjà un élément d'orientation dans la mesure où son aspect papuleux, sa localisation au niveau des faces d'extension des articulations (zone de stress cutané) ou un aspect concentrique (en cocarde) sont en faveur d'une origine vasculaire. Cependant cela n'est pas absolu et il peut être utile de s'aider de la réalisation d'un TS (Ivy) qui est allongé dans les purpuras plaquettaires non thrombopéniques témoignant d'une thrombopathie alors qu'il reste normal dans les purpuras vasculaires.

Le purpura vasculaire s'inscrit alors dans le cadre d'une maladie fébrile et son origine peut être :

Infectieuse, au cours de :

- Un sepsis grave (méningite, septicémies à pneumocoque, méningocoque : purpura fulminant, streptocoque, staphylocoque, candida) et toujours indicateur de la sévérité du processus infectieux (figure 21 et 22).



Figure 20 : Purpura infectieux extensif, au cours d'une méningite méningocoque [78].



Figure 21 : Nécroses cutanées et sous cutanées profondes d'un purpura fulminant [78].

- Certaines maladies éruptives (rougeole) dont l'exanthème généralement érythémateux peut être purpurique, imposant la vérification de la normalité de la numération plaquettaire (figure 23).



Figure 22 : Exanthème purpurique de rougeole [78].

Immuno-allergique, comme au cours de l'œdème aigu hémorragique du nourrisson qui touche l'enfant entre 6 et 24 mois avec survenue :

- au décours d'un épisode infectieux viral (voies aériennes supérieures), d'une prise de médicament ou d'une vaccination ;
- d'un purpura papuleux d'extension centrifuge, parfois en cocarde, avec lésions pétéchiales pouvant devenir nécrotiques et d'œdèmes douloureux inflammatoires (dos des mains, pieds, oreilles, visage) ;
- dans un contexte fébrile mais avec un état général conservé ;
- d'évolution simple sur une dizaine de jours et sans séquelles.

Inflammatoire :

- mais d'origine encore méconnue jusqu'à ce jour, comme le syndrome de Kawasaki, chez le nourrisson de moins de deux ans où l'exanthème est plutôt érythémateux, morbilliforme et associé à des œdèmes des extrémités, des adénopathies, un énanthème caractéristique (stomatite, chéilite, hyperhémie conjonctivale) ;
- ou révélateur d'une maladie générale telle un lupus érythémateux aigu disséminé, à évoquer chez l'enfant plus grand, et notamment la fille en période pubertaire.

Le purpura survient en l'absence de tout contexte infectieux :

Dans un contexte clinique associant des douleurs abdominales, parfois pseudo-chirurgicales, des arthralgies avec souvent œdème périarticulaire et une possible atteinte rénale : c'est le purpura rhumatoïde, qui est facilement évoqué en l'absence habituelle de contexte infectieux ou fébrile (figure 24).



Figure 23 : Eruption caractéristique d'un purpura rhumatoïde [78].

Associé à une prise médicamenteuse (anti-inflammatoire non stéroïdiens).

Isolé, devant faire rechercher une anomalie congénitale, nécessitant des explorations spécialisées, pour le diagnostic de ces thrombopathies génétiques, comme :

- Le syndrome de Bernard Soulier.
- Le pseudo von Willebrand plaquettaire.
- La thrombasthénie de Glanzmann.

3.4. Diagnostic positif

Le diagnostic positif est évoqué devant une symptomatologie évocatrice et éventuellement la notion de poussées antérieures, il doit être confirmé par l'examen histologique d'un élément cutané infiltré d'apparition récente.

- Une immunofluorescence directe est souvent pratiquée à la recherche de dépôts vasculaires d'immunoglobulines et/ou de complément.
- Des biopsies congelées en peau saine et atteinte sont utiles pour la mise en évidence d'un agent infectieux par des techniques d'immuno-marquage ou de biologie moléculaire.
- Les tests de fragilité capillaire (signe du brassard à tension ou ventouses) sont souvent positifs, mais leur intérêt est en pratique très limité [4].

3.5. Diagnostic étiologique

Il repose essentiellement sur un interrogatoire approfondi et un examen clinique complet. Le purpura vasculaire n'est pas toujours facile à distinguer des purpuras thrombopéniques ou thrombotiques (figure 25).

En l'absence de cause évidente, un bilan est demandé. Cette enquête étiologique demeure assez souvent décevante.

Bilan systématique à pratiquer en cas de vascularite : Hémocultures.

Recherche d'une infection focale (selon le contexte). Anticorps antistreptococciques.

Sérologies virales (hépatite B et C, Cytomégalovirus [CMV], Epstein-bar virus [EBV]...). Transaminases. Cryoglobulinémie.

Anticorps anti-noyaux et anticorps anti-SSA. Facteur rhumatoïde.

Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA). Dosage du complément total et de ses fractions.

Electrophorèse et immunoélectrophorèse des protéines sériques. Créatininémie, protéinurie des 24 h, sédiment urinaire.

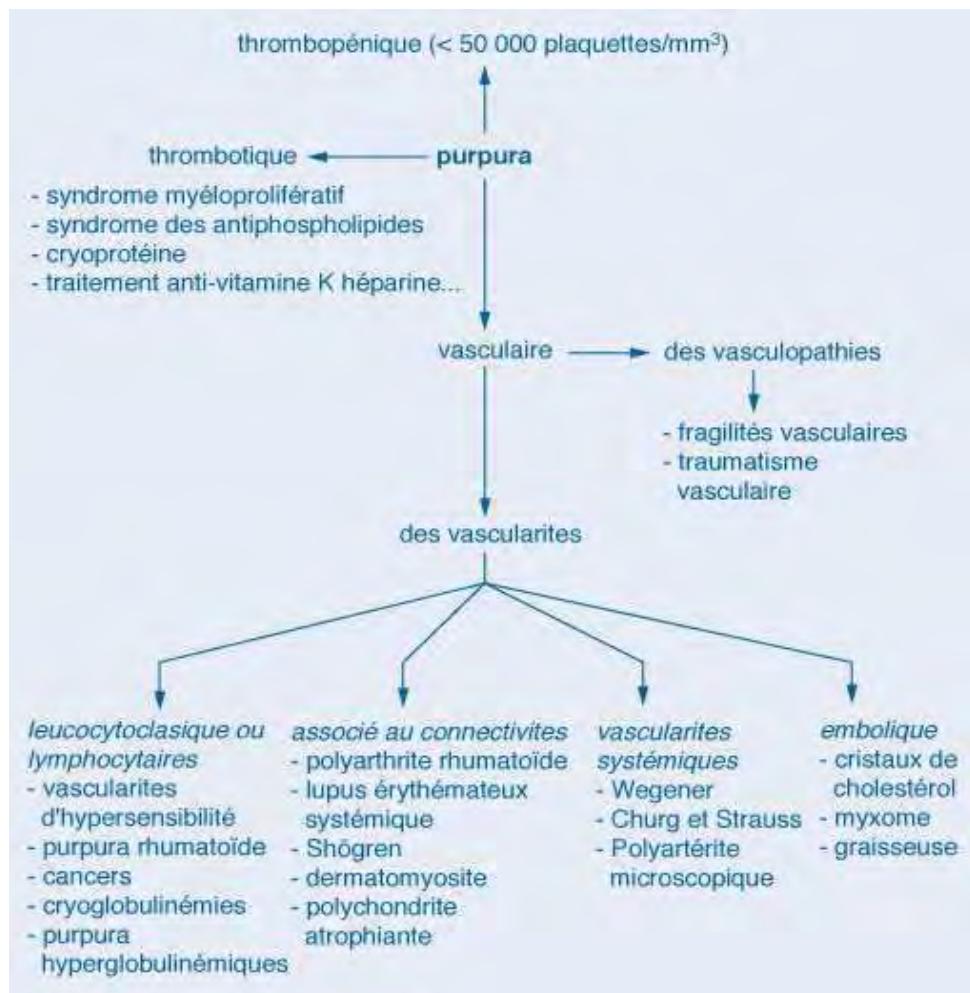


Figure 24 : Purpuras vasculaires : arbre d'orientation [61].

Certaines vascularites ont été individualisées en raison des caractéristiques cliniques ou biologiques, décrites ci-après.

3.5.1. Purpura rhumatoïde

Le purpura rhumatoïde ou maladie de Schönlein-Henoch est la vascularite la plus fréquente de l'enfant et de l'adolescent.

- Le purpura survient souvent dans les suites d'une infection rhinopharyngée.
- Les signes digestifs peuvent être inauguraux.
- Des formes chez l'adulte et chez le sujet âgé sont possibles et d'évolution parfois plus grave.
- Si l'évolution est habituellement bénigne, des complications peuvent survenir : hémorragies digestives, perforation, syndrome occlusif, invagination intestinale particulière à l'enfant, protéinurie, syndrome néphrotique, insuffisance rénale.

- Les dépôts vasculaires d'IgA sont évocateurs du diagnostic sans être spécifiques.
- Les signes biologiques consistent, selon l'évolutivité, en une hématurie microscopique, une protéinurie, un syndrome néphrotique ou néphritique, une insuffisance rénale. Une hypertension artérielle peut être notée. Une atteinte rénale sévère d'emblée s'observerait dans 5 % des cas.
- La biopsie rénale, lorsqu'elle est indiquée, montre des signes variables dans leur intensité : glomérulonéphrite endocapillaire proliférante, prolifération extracapillaire avec formation de croissants.
- Des manifestations neurologiques à type de céphalées, d'instabilité, de convulsions, peuvent être rarement présentes (2 à 8 % des cas).
- Des manifestations rares, mais graves, parfois fatales, ont été rapportées au niveau pleuropulmonaire et hépatopancréatique.
- La biopsie cutanée montre une vasculite leucocytoclasique.
- L'étude en immunofluorescence directe met en évidence des dépôts d'IgA et de C3 au sein des vaisseaux dermiques dans 75 à 93 % des cas [173].

3.5.2. Purpura des cryoglobulinémies

Les cryoglobulinémies sont souvent asymptomatiques.

- Dans les formes à composant monoclonal, la précipitation intravasculaire au froid peut provoquer un phénomène de Raynaud, voire des nécroses digitales par un mécanisme de thrombose. Exceptionnellement, la cristallisation au froid d'un composant monoclonal peut entraîner une véritable vascularite leucocytoclasique avec présence dans la lumière vasculaire de cristaux constitués du composant monoclonal donnant un tableau clinique de polyarthrite érosive ou de vascularite cutanée prédominante avec purpura et ulcérations [2].
- Au cours des cryoglobulinémies mixtes, le dépôt des complexes immuns dans les vaisseaux provoque une vascularite touchant les artéries, les capillaires et les veinules. Le purpura vasculaire est le signe le plus constant, il s'observe dans 90 à 100 % des cas [1]. La vascularite est rarement d'expression cutanée isolée.
- À la classique triade purpura-arthralgies-asthénie, peuvent s'associer une polyneuropathie axonale, une atteinte rénale ou hépatique, voire cardiaque.

- Les cryoglobulinémies peuvent être essentielles ou secondaires. Les connectivites, les hémopathies et les infections constituent les trois causes secondaires les plus fréquentes.
- Le cadre des cryoglobulinémies essentielles s'est considérablement réduit ces dernières années depuis l'individualisation et la recherche du virus de l'hépatite C.
- La survenue d'une vascularite nécrosante au cours d'une infection chronique par le virus C reste cependant un événement rare (moins de 5 % des cas), tardif (souvent plus de 10 ans après la contamination), et presque toujours rapporté à une cryoglobulinémie de type II [35].

3.5.3. Purpura hyperglobulinémique de Waldenström

Le purpura hyperglobulinémique est une entité ancienne actuellement démembrée, l'essentiel étant de retrouver la cause de l'hypergammaglobulinémie.

- Il se caractérise par l'existence de complexes IgG-anti-IgG ou plus rarement IgA-anti-IgA non cryoprécipitants, parfois retrouvés dans la paroi vasculaire.
- L'hyperglobulinémie sérique est d'importance variable et non constante.
- Le purpura évolue par poussées de fréquence très variable, parfois une à deux fois par an, parfois fait de poussées successives pouvant durer plusieurs mois et touche plus souvent la femme jeune.
- Il peut s'étendre au dos et à l'abdomen, aux membres supérieurs et peut être accompagné d'urticaire, de livedo, d'arthralgies ou d'arthrites, de myalgies, de phénomène de Raynaud.
- Une fois sur quatre il est lié à un syndrome de Gougerot-Sjögren, plus rarement il peut s'agir d'une cirrhose, d'une sarcoïdose, d'une hépatite chronique active, d'une thyroïdite auto-immune, d'une fibrose interstitielle voire d'un thymome. Il peut aussi accompagner la polyarthrite rhumatoïde, le lupus, et peut précéder un syndrome lymphoprolifératif [31].

3.5.4. Périartérite noueuse

La périartérite noueuse associe des signes généraux (fièvre, amaigrissement), une mononévrite, des myalgies avec élévation des CPK (créatine phosphokinase), des arthralgies, des nodules sous cutanés sur les trajets artériels, un livedo, une néphropathie vasculaire avec hypertension artérielle, une atteinte digestive et une cardiomyopathie.

- Des douleurs testiculaires peuvent se voir.
- Une infection par le virus de l'hépatite B est classiquement associée.
- Il n'y a pas d'ANCA [60].

3.5.5. Polyangéite microscopique

Cette entité aux limites discutées, récemment individualisées de la périartérite noueuse « classique », serait caractérisée par l'atteinte exclusive des petits vaisseaux.

Les atteintes rénales (glomérulonéphrite nécrosante) et pulmonaires sont fréquentes.

La prévalence des ANCA de type périnucléaire est beaucoup plus élevée dans cette affection que dans la périartérite noueuse « classique » [4].

3.5.6. Granulomatose de Wegener

Cette vascularite granulomateuse rare, qui atteint préférentiellement la sphère ORL, les poumons et les reins, comporte près d'une fois sur deux des manifestations dermatologiques dominées par un purpura palpable.

L'examen histologique de ces lésions purpuriques ne montre habituellement qu'un aspect aspécifique de vascularite nécrosante [60].

3.5.7. Autres purpuras vasculaires :

Purpuras par fragilité vasculaire

Le groupe des purpuras par fragilité vasculaire est moins grave

- Le purpura sénile ou purpura de Bateman touche les sujets âgés ou sous corticothérapie au long cours. Il existe des ecchymoses, en particuliers sur les faces dorsales des mains et des avant-bras, des cicatrices stellaires et une atrophie cutanée.
- Le purpura du scorbut associe le purpura avec parfois disposition périfolliculaire, des hématomes des membres inférieurs et une gingivite.
- Le contexte psychiatrique, socio-économique est évocateur [60].

Purpura de l'insuffisance veineuse

Il s'agit d'un purpura pétéchial des membres inférieurs, non infiltré, d'évolution chronique, secondaire à la stase veineuse. Celle-ci provoque une dilatation des capillaires du derme (télangiectasies), une extravasation érythrocytaire (purpura) et, secondairement des dépôts dermiques responsable d'une pigmentation brunâtre séquellaire, appelée dermite ocre. Généralement les données de l'anamnèse (antécédents de phlébite ou de chirurgie veineuse) et

de l'examen clinique (varices mieux visibles en position debout, télangiectasies, varicosités, ulcères de jambe) permettent aisément d'en faire diagnostic [4].

3.6. Principes du traitement des purpuras vasculaires

Le traitement étiologique constitue la base même du traitement. L'évolution peut être spontanément favorable après éviction de l'antigène en cause (médicaments autotoxiques).

Il n'y a pas d'indication des corticoïdes en cas d'atteinte cutanée isolée. Même dans les formes avec nécrose cutanée, l'évolution se fait souvent sans séquelle, laissant rarement des cicatrices pigmentées.

Le repos au lit suffit souvent pour soulager rapidement les formes aiguës ou évoluant par poussées.

Les antalgiques ou les anti-inflammatoires non stéroïdiens peuvent soulager les formes douloureuses articulaires ou musculaires. En cas de rechute sont prescrits la colchicine, la dapsone puis éventuellement les antipaludéens de synthèse.

Les purpuras avec atteinte viscérale justifient un traitement corticoïde par voie générale, voire des immunosuppresseurs.

Dans certaines formes corticodépendantes, les Ig polyvalentes peuvent permettre une épargne cortisonique.

Dans les formes cutanées isolées, la corticothérapie est souvent inefficace, les antipaludéens de synthèse ou la colchicine peuvent être utiles [156].

4. Hémophilie A et B

L'hémophilie est la plus fréquente des maladies hémorragiques graves. On en distingue deux types [23] :

- L'hémophilie A est due à un déficit en FVIII. Elle touche environ 1 naissance sur 5 000 enfants de sexe masculin.
- L'hémophilie B correspond à un déficit en FIX. Son incidence est de 1 sur 30 000 enfants de sexe masculin.

Ces deux affections héréditaires sont transmises par les femmes, appelées de ce fait conductrices, selon un mécanisme récessif lié au chromosome X. Par conséquent, seuls les garçons sont touchés si l'on excepte les exceptionnels cas d'hémophilie féminine. Cette maladie hémorragique chronique présente plusieurs niveaux de sévérité selon l'importance du déficit en facteur de coagulation. Il s'agit de la plus fréquente des pathologies hémorragiques

de la coagulation, dans le cadre de laquelle les accidents hémorragiques touchent plus particulièrement les articulations et les muscles.

Il existe aussi des hémophilie acquises par auto-immunisation, contre le FVIII principalement.

4.1. Physiopathologie

Les FVIII et FIX sont deux facteurs de coagulation synthétisés par le foie, qui circulent dans le plasma, sous forme libre pour le FIX, sous forme liée à une protéine de transport, le FvW, pour le FVIII. Leur rôle est fondamental pour que le phénomène de coagulation puisse se dérouler de façon efficace. Ainsi, en cas de diminution de l'un de ces deux facteurs, l'hémostase au niveau d'une brèche vasculaire traumatique ne peut avoir lieu de façon correcte, et le saignement chez l'hémophile est donc la conséquence d'un tel phénomène. Si ce saignement est extériorisé, il est simplement prolongé par rapport à un sujet normal. L'importance de cette tendance hémorragique est globalement corrélée au taux du facteur de coagulation déficitaire dans le plasma. À taux identiques, les déficits en FVIII s'expriment de façon similaire à ceux en FIX. De plus, dans une même famille, la sévérité du déficit est généralement identique d'un membre à l'autre, et ne se modifie pas au cours du temps. [130]

4.2. Bases génétiques

Les gènes mutés du FVIII et celui du FIX, se situent respectivement au niveau du bras long du chromosome X (Xq28 et Xq27), ceci explique le mode de transmission de l'hémophilie.

Les femmes conductrices sont en général asymptomatiques, bien que certaines puissent présenter un taux de FVIII plasmatique abaissé. Elles peuvent transmettre l'anomalie génétique à leur descendance. Celle-ci va alors toucher 1 garçon sur 2 et 1 fille sur 2. Les enfants d'un garçon hémophile seront tous indemnes de la maladie s'ils sont de sexe masculin et leurs filles seront toutes conductrices. On sait aujourd'hui déterminer par des techniques de génétique moléculaire les mutations responsables de chacun des deux gènes, et l'on se sert de cette information pour rechercher les conductrices dans une famille ou réaliser un diagnostic anténatal. Il faut toutefois savoir que dans près d'un tiers des cas, une mutation spontanée provoque une hémophilie A ou B, aucun cas n'étant connu préalablement dans la famille (figure 26) [131].

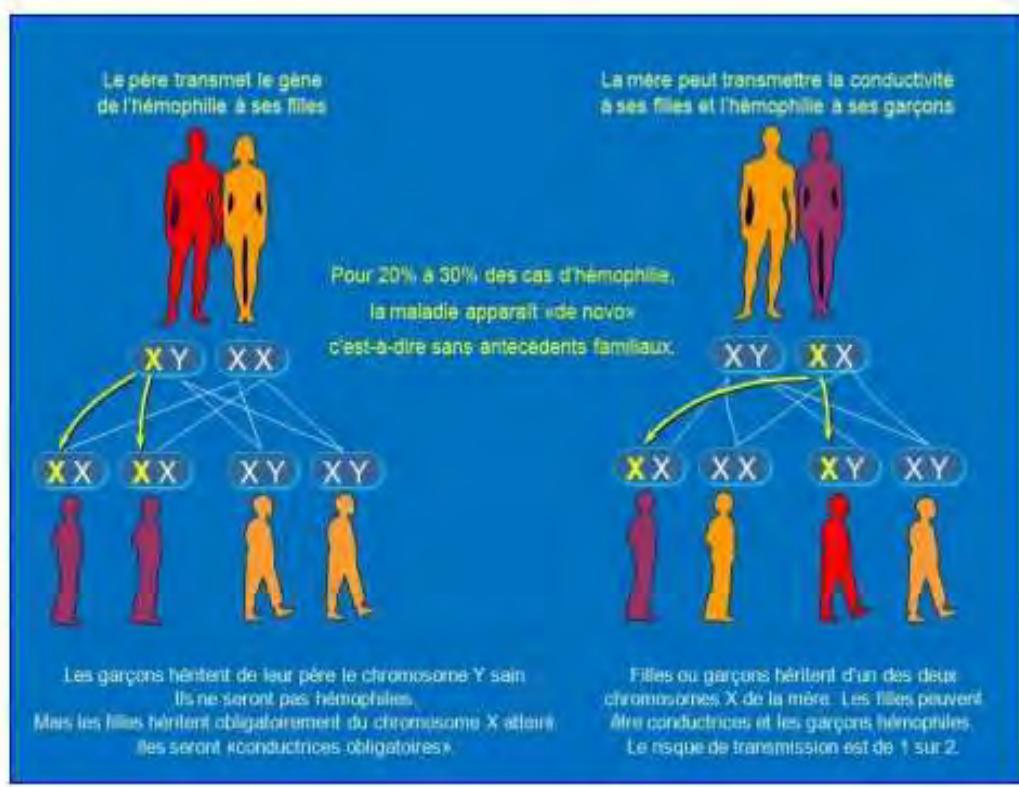


Figure 25 : Transmission de l'hémophilie [121].

■ Hémophilie A :

Il s'agit d'une mutation du gène du FVIII situé sur le locus q28 du chromosome X. Souvent des inversions de l'intron 22, rarement des délétions et des insertions (figure 27).

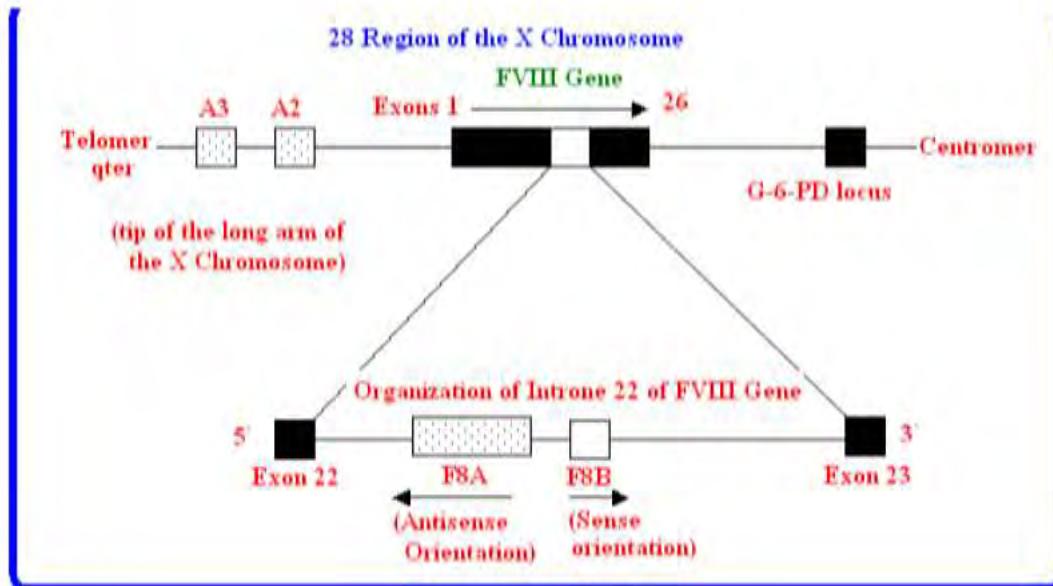


Figure 26 : Représentation schématique du gène du FVIII [121].

► Hémophilie B :

Il s'agit d'une mutation du gène du FIX situé sur locus q27 du chromosome X. Ce sont des mutations ponctuelles dans plus de 95% (figure 28).

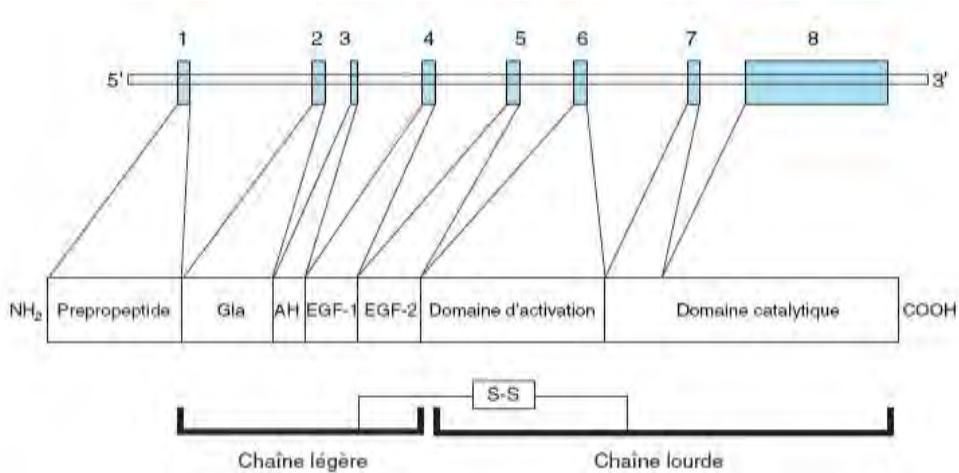


Figure 27 : Représentation schématique du gène du FIX [160].

4.3. Circonstances de découverte [121]

Elles sont en rapport avec le degré de gravité et l'âge de l'enfant. Le tableau clinique est le même dans l'hémophilie A et B.

- En période néonatale :

Hémorragie cérébro-méningée (accouchement par forceps). Hémorragie à la chute du cordon ombilical.

- Chez un enfant de moins de 1 an (à 6 mois généralement) :

Les ecchymoses multiples lors de mouvements dans le berceau.

Un hématome ou hémarthrose vers l'âge de un an à l'apprentissage de la marche (un gros hématome du front ou de la fesse).

Des hématomes au niveau d'un prélèvement sanguin, d'une injection intra musculaire ou d'une vaccination.

Hémorragies prolongées suite à une plaie de section ou lors d'une circoncision.

- Chez les conductrices : ménorragies
- Beaucoup plus rarement, soit à l'occasion de dépistage lors d'un bilan d'hémostase demandé en raison d'antécédents familiaux d'hémophilie. Ou bien la découverte du déficit lors d'un bilan préopératoire systématique (forme modérée ou mineur).

4.4. Manifestations cliniques

Chez l'hémophile atteint d'une forme sévère de la maladie (FVIII ou FIX < 1 %), le traumatisme déclenchant est parfois si discret qu'il peut passer inaperçu, faisant ainsi croire à une hémorragie spontanée. À l'inverse, l'expression hémorragique est moins forte en cas d'hémophilie modérée ou mineure. Le risque hémorragique est en revanche bien réel en cas d'acte chirurgical.

Les manifestations hémorragiques les plus fréquemment rencontrées sont des hémarthroses (70 % des accidents hémorragiques) et des hématomes sous-cutanés ou intramusculaires (10 à 20 % des accidents hémorragiques).

En dehors de ces deux types d'expression préférentielle, les phénomènes hémorragiques peuvent toucher l'arbre urinaire, où ils sont le plus souvent dus à une fracture minime du parenchyme rénal ou à une simple infection urinaire (provoquant des hématuries avec un risque de colique néphrétique), les muqueuses nasale et digestive ou encore les viscères intra-abdominaux. La chute des dents de lait est en règle peu hémorragique chez l'enfant, mais les morsures de langue ou les traumatismes du frein de la langue et de la joue sont fréquemment responsables d'hémorragies intra-buccales. Les hémorragies du système nerveux central font suite à un traumatisme qui peut être passé inaperçu. Elles doivent être prises en charge en milieu spécialisé en urgence, mais leur pronostic demeure encore sévère (figure 29). [23]

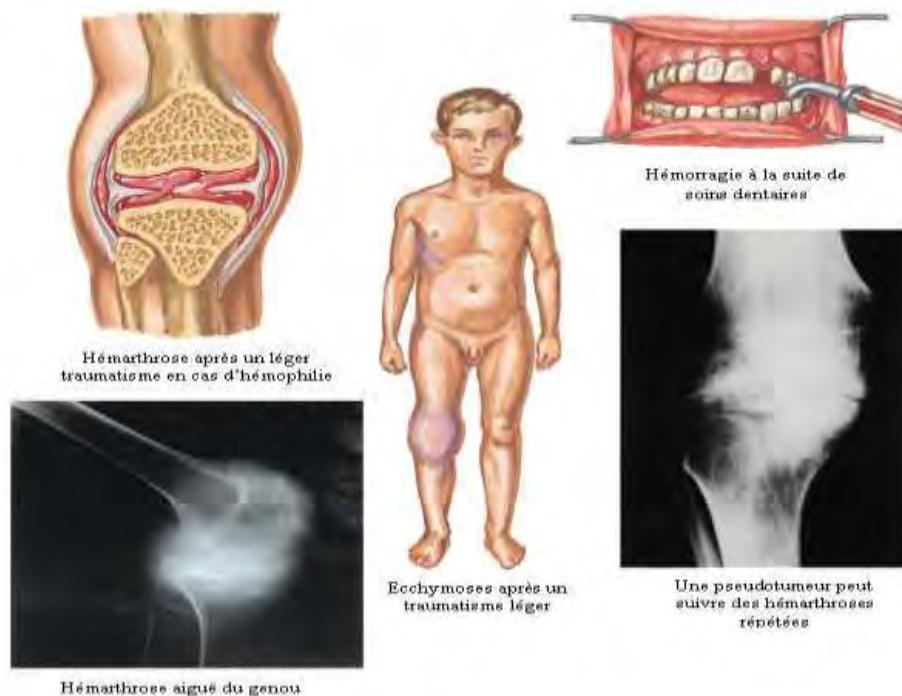


Figure 28 : Manifestations cliniques de l'hémophilie [107].

4.5. Diagnostic phénotypique

Ce diagnostic repose d'une part, sur un interrogatoire minutieux à la recherche d'une histoire hémorragique personnelle et/ou familiale ; et d'autre part, sur le bilan d'hémostase qui permet, la caractérisation du déficit en FVIII ou FIX et la présence éventuelle d'un inhibiteur.

4.5.1. Diagnostic d'orientation

Les résultats d'examens d'hémostase de première intention effectués chez un hémophile sont :

Numération plaquettaire : normale.

Temps de saignement : normal.

Temps de Quick : normal.

Temps de Céphaline Activée : allongé.

Temps de thrombine : normal.

L'hémophilie est suspectée devant un allongement isolé du TCA. Cependant, le TCA peut être faussement raccourci par une activation *in vitro* en cas de prélèvement difficile [102].

Dans tous les cas le diagnostic n'est confirmé qu'après des tests complémentaires.

4.5.2. Diagnostic de confirmation

Ce diagnostic repose sur les dosages des activités FVIII dans l'hémophilie A, et FIX dans l'hémophilie B. Ces dosages permettent d'évaluer la sévérité du déficit. Celui-ci s'exprime en pourcentage ; et suivant le taux du facteur concerné on distingue les hémophilies sévères (taux inférieurs à 1 %), modérées (1 à 5 %) et mineures (5 à 30 %) (Tableau VIII) [87].

Tableau VIII : Types d'hémophilie selon le taux de facteur VIII ou IX [87].

Taux de FVIII et FIX	<1%	1-5%	5-30%
Sévérité de l'hémophilie	Sévère	modérée	mineure
Manifestations cliniques	Hémarthroses spontanées récidivantes.	Hémarthroses rares. Hématomes post-traumatique.	Complications hémorragiques postopératoires et post-traumatiques en l'absence de traitement approprié.

Assurer une hémostase normale [87].

 **Hémophilie A :**

Le FVIII:C est dosé habituellement en un temps, sur le principe de la correction du temps de coagulation d'un plasma dépourvu de FVIII sous l'effet de l'apport de FVIII par le plasma du patient. Plus rarement, la méthode en deux temps (génération de la prothrombinase) est utilisée. En général les résultats des deux méthodes sont bien corrélés. Cependant des différences peuvent être observées dans les formes mineures ou modérées d'hémophilie (jusqu'à 40 % des cas) avec en général des taux de FVIII deux à cinq fois plus élevés en un temps qu'en deux temps.

La méthode chromogénique peut également être utilisée et donne habituellement des résultats bien corrélés avec la méthode en deux temps.

Enfin le FVIII:Ag peut être dosé en radio-immunologie ou en ELISA avec des taux habituellement proches des taux de FVIII:C. Les patients chez lesquels le dosage antigénique retrouve, même à l'état de traces, la présence du facteur anti-hémophilique sont dits aussi « CRM+ » (CRM : cross reacting material). Le risque de développer un inhibiteur est probablement plus faible chez ces patients que chez les sujets CRM- [79].

 **Hémophilie B:**

Le FIX coagulant (FIX:C) est dosable par une méthode en un ou deux temps selon les mêmes principes que ceux utilisés pour le dosage du FVIII:C. Il est possible d'utiliser aussi une méthode chromogénique. Enfin l'antigène facteur IX (FIX:Ag) est dosable en ELISA [79]. Sur le plan biologique on distingue d'après le rapport FIX:C/FIX:Ag, les hémophilies :

B- : avec un rapport proche de 1, qui ont donc une diminution proportionnelle du FIX:C et FIX:Ag.

B+ : avec un rapport inférieur à 0.5, qui ont donc une diminution plus marquée du FIX:C que du FIX:Ag.

En fait 30 à 50 % des hémophilies B sont de type B+ [79]. Les hémophilies B- regroupent plusieurs possibilités :

Aucune synthèse détectable de FIX, avec un risque accru de développer un inhibiteur et des délétions géniques importantes.

Synthèse (ou demi-vie) réduite d'une molécule par ailleurs normale.

Les variants Leyden avec anomalies du gène promoteur.

4.6. Diagnostic génotypique

La stratégie adoptée aujourd’hui dépend du type de l’hémophilie et de type de la mutation.

- ⊕ Dans l’hémophilie A, la détection directe de la mutation est possible actuellement dans plus de 50% des cas d’hémophilie A majeure, elle met en évidence soit une inversion des introns 22 ou 1, soit l’on dispose d’une sonde oligonucléotidique de la séquence mutée.

La description d’un mécanisme unique expliquant près de la moitié des hémophilies A graves par l’inversion du gène FVIII représente une avancée majeure dans le dépistage de cette maladie et de son diagnostic anténatal.

Une détection directe de cette anomalie par Southern ou par LD-PCR permet en effet, de caractériser, sans analyse familiale exhaustive, chaque conductrice potentielle et d’étudier les familles en l’absence du cas index.

Le screening des autres anomalies géniques se fait par RT-PCR sur ARN messager des exons du gène FVIII excepté l’exon 14 dont la détection des anomalies nécessite une amplification de l’ADN par PCR. Dans le cas où la mutation n’aurait pas pu être identifiée au préalable, l’alternative est d’utiliser le séquençage automatique du gène FVIII [77].

- ⊕ Dans le cas de l’hémophilie B, il existe plusieurs polymorphismes intra géniques utilisables en combinaison et sont informatifs chez 90 % des cas. Dans le reste des cas, le diagnostic direct par séquençage génique est utilisé [160].

4.7. Diagnostic différentiel

- ⊕ Dans l’hémophilie A :

Les principaux diagnostics différentiels de l’hémophilie A sont :

- La maladie de Willebrand (type 1, 2A, 2B, 2M, 3) : il existe une diminution de l’activité Cofacteur de la ristocétine. Par ailleurs, la transmission est autosomale (habituellement dominante) et le type de la symptomatologie hémorragique n’est pas exactement comparable avec l’hémophilie A.
- Le variant 2N de la maladie de Willebrand : qui peut être aisément confondu avec une hémophilie A mineure. Dans la forme 2N, la seule anomalie du FvW est une liaison défectueuse au FVIII, alors que les interactions plaquettaires et sous-endothéliales sont normales ; ces sujets ont donc comme unique anomalie une diminution isolée du FVIII sans diminution du FvW:Ag, ni du FvW:RCo. La seule possibilité de diagnostic différentiel est de mesurer l’interaction FvW-FVIII, qui sera normale en cas

d'hémophilie mineure, et diminuée s'il s'agit d'un Willebrand 2N. Les autres signes sont : un mode de transmission autosomal, une demi-vie du FVIII injecté plus courte.

- Un auto-anticorps anti-FVIII : si le déficit en FVIII est associé à la présence d'un anticorps anti-FVIII ; le contexte est cependant très évocateur : sujet âgé, femme en post-partum, antibiothérapie récente, maladie auto-immune associée [79].
- Déficits en FXII, PK et KHPM : ces déficits ne sont pas associés à des hémorragies.
- Déficit en facteur XI : dosages spécifiques.
- Déficit combiné en FVIII et FV : TCA et TQ allongés [149].

Dans l'hémophilie B :

Le diagnostic différentiel de l'hémophilie B doit être fait par rapport à l'hémophilie A par dosage spécifique des FVIII et IX.

Il doit également être distingué des déficits congénitaux ou acquis des autres facteurs vitamine-K dépendants : FII, FVII, FX.

Il faut s'assurer de l'absence d'hépatite ou de prise d'anticoagulant oral.

Les anticorps spécifiques anti-FIX peuvent être suspectés chez des patients non hémophiliques, même si l'apparition de ces anticorps est très rare.

Le diagnostic de l'hémophilie B est retenu dès que les autres facteurs vitamine-K dépendants sont normaux.

En règle générale il n'y a pas de diagnostic différentiel en dehors de très rares inhibiteurs acquis du FIX associés à une maladie auto-immune, une maladie de Gaucher, ou une infection [79].

4.8. Principes du traitement [96]

Avant tout traitement substitutif, des gestes de première intention sont indiqué devant un accident hémorragique tels que :

Le repos.

Utilisation d'une poche de glace.

Une compression par bandage ou un bas élastique. L'élévation de la région du saignement.

4.8.1. Le traitement substitutif

Il s'agit d'apporter par voie intraveineuse le facteur anti-hémophilique déficitaire.

Les produits de substitution :

On dispose de concentrés de facteur anti-hémophilique (facteur VIII et IX), protéines hautement purifiées soit à partir du plasma humain soit à partir de productions par recombinaison génétique.

Les régimes de substitution :

Traitements à la demande : traitement institué devant un épisode hémorragique où l'injection doit être la plus précoce possible. Il comporte également les injections préventives avant un geste chirurgical.

Traitements prophylactiques : traitement au long cours instauré chez l'hémophile sévère de façon à prévenir au mieux les hémarthroses spontanées

4.8.2. Les traitements alternatifs

➤ DDAVP ou Desmopressine :

En cas d'hémophilie A mineure. Cet analogue synthétique de la vasopressine induit la libération de facteur Willebrand à partir des cellules endothéliales qui peut permettre de façon rapide, transitoire et variable d'un patient à l'autre, une augmentation significative du taux plasmatique de facteur VIII.

➤ Facteurs coagulants alternatifs :

Chez les patients avec inhibiteur de type fort répondeur, les produits substitutifs classiques sont inefficaces. En cas d'épisode hémorragique on aura recours à des produits qui court-circuitent le facteur déficitaire (complexe prothrombinique activé - Facteur VII activé). L'induction d'une tolérance immunitaire par administration quotidienne de fortes doses de produits de substitution peut s'envisager pour permettre de retrouver l'efficacité du traitement substitutif classique.

4.8.3. Les traitements adjutants

Traitements locaux, traitements antifibrinolytiques (en particulier dans les hémorragies stomatologiques et ORL), règles générales de conduite : contre-indication de gestes invasifs (IM), des contentions circulaires, des antiagrégants plaquettaires (aspirine++, anti-inflammatoires non stéroïdiens ±).

5. Déficits congénitaux en facteurs de la coagulation

Les déficits constitutionnels en facteurs de la coagulation, en dehors de l'hémophilie, sont peu fréquents.

Leur diagnostic est évoqué rarement devant un tableau hémorragique spontané, il s'agit alors de patients homozygotes ; la gravité des symptômes étant liée au facteur en cause et au degré de déficit.

Beaucoup plus souvent, le déficit est évoqué devant des anomalies biologiques à l'occasion d'un examen systématique de la coagulation, souvent dans des conditions préopératoires : il s'agit généralement de patients hétérozygotes.

Ces déficits sont pratiquement tous transmis sur le mode autosomique récessif et touchent autant les hommes que les femmes, exposant ainsi, à la différence de l'hémophilie, aux problèmes des ménorragies, de la grossesse et de l'accouchement.

La sémiologie clinique peut différer beaucoup suivant le type de déficit, elle est difficile à décrire du fait de la rareté de chacune de ces pathologies.

Nous les étudierons dans l'ordre où les facteurs agissent dans le processus physiologique de la coagulation.

5.1. Déficit en facteur VII ou proconvertine

Ils sont rares. La fréquence des déficits sévères est d'environ $1/5 \times 107$ [3]. La transmission est autosomique et récessive. Il n'existe pas de corrélation entre la gravité du déficit et les manifestations cliniques observées. Des individus qui ont un déficit sévère peuvent avoir un syndrome hémorragique sévère, être asymptomatiques ou encore avoir des manifestations thrombotiques.

Les différences observées dans le phénotype clinique correspondent à des mutations qui affectent différents domaines fonctionnels de la molécule de FVII, en particulier ses interactions avec le facteur tissulaire.

Clinique

La plupart des sujets qui ont un taux de FVII et d'antigène inférieur à 10 % ont un syndrome hémorragique sévère tel qu'il est observé dans l'hémophilie.

Ce syndrome hémorragique peut s'extérioriser dès la naissance par des épistaxis sévères, des hémorragies intracérébrales et ultérieurement des hémarthroses.

Certains sujets homozygotes avec un taux de FVII inférieur à 5 % peuvent être asymptomatiques et en revanche des individus avec 40 % de FVII auront des manifestations hémorragiques après extraction dentaire par exemple.

Enfin on a décrit la survenue de manifestations thrombotiques associées à un déficit en FVII. [172].

Diagnostic biologique

Le déficit en FVII se traduit par un allongement isolé du temps de Quick.

Le dosage spécifique du FVII par méthode de coagulation avec un substrat déficitaire en FVII et en présence de thromboplastine met en évidence le déficit en FVII.

Le dosage immunologique par méthode ELISA permet de classer les déficits en FVII sur la base de la présence (CRM+ : cross reacting material) ou de l'absence (CRM-) de FVII antigénique. L'origine animale ou humaine de la thromboplastine utilisée dans la méthode de

dosage est importante et permet de différencier certains variants. Certains variants décrits avec des manifestations cliniques thrombotiques ont justement un taux de FVII mesuré avec une thromboplastine humaine (environ 30 %) bien supérieur à celui mesuré avec une thromboplastine animale (< 1 %) [171].

Traitements

Le traitement substitutif en vue d'une intervention chirurgicale consiste en l'apport de concentrés de FVII, traités par solvant-détergent. La demi-vie du FVII étant d'environ 3 à 4 heures (h), la fréquence des transfusions doit être adaptée pour maintenir un taux de FVII de 20 à 30 % [41].

5.2. Déficit en facteur X ou facteur Stuart

Celui-ci est rare. La transmission est autosomique et récessive.

Clinique

Les manifestations hémorragiques sont très variables, absentes chez les hétérozygotes et importantes chez les homozygotes (hémorragies à la chute du cordon, hémorragies sous-arachnoïdiennes, hémarthroses).

Chez les femmes enceintes atteintes d'un déficit sévère en facteur X (< 1 %), il a été rapporté une fréquence importante d'avortements spontanés, de décollements placentaires ou de naissances prématurées [99].

Diagnostic biologique

Il est évoqué sur l'allongement du TCA et du TQ.

L'activité fonctionnelle du FX est mesurée soit en présence de l'activateur extrinsèque (VIIa-facteur tissulaire), soit en présence de l'activateur intrinsèque (IXa-VIIIa-phospholipides), soit directement par le venin de vipère Russell. Certains variants sont caractérisés par des discordances entre ces trois déterminations.

A côté des déficits quantitatifs caractérisés par une diminution de l'activité fonctionnelle et de l'activité immunologique, de nombreux variants ont été rapportés dont le phénotype est très hétérogène. Ils sont caractérisés par un rapport activité fonctionnelle/activité antigène très diminué associé à un taux d'antigène normal ou diminué [41].

Traitements

Le traitement des hémorragies ou la prévention du risque hémorragique préopératoire consiste en l'apport de concentrés riches en FX traités par solvant-détergent (type PPSB : Prothrombine, Proconvertine, facteur Stuart et facteur anti-hémophilique B). Du fait de la

demi-vie du FX de 36 heures, une seule transfusion par jour est nécessaire. Le but est de maintenir un taux de FX d'environ 25 % [41].

5.3. Déficit en facteur II ou prothrombine [41]

Il existe des hypoprothrombinémies, des dysprothrombinémies et, plus rares encore, des hypodysprothrombinémies. Les premières correspondent à une anomalie quantitative de la prothrombine et sont toujours observées à l'état hétérozygote, les secondes correspondent à une anomalie qualitative qui peut s'observer soit à l'état homozygote, soit à l'état hétérozygote. Les troisièmes correspondent à des doubles hétérozygotes composites. Ce sont des affections très rares. 16 variants ont été décrits. Une consanguinité est parfois retrouvée. La transmission est autosomique et récessive.

Clinique

Les manifestations hémorragiques sont modérées, voire absentes chez l'hétérozygote et parfois plus sévères chez les homozygotes.

On peut observer des épistaxis, des hématomes, des ménorragies, des hémorragies post-traumatiques, des hémorragies ombilicales.

Des avortements à répétition ont été rapportés chez des femmes atteintes d'un déficit sévère en prothrombine.

Diagnostic biologique

Il repose sur l'allongement du TQ associé à un allongement du TCA.

Le dosage fonctionnel spécifique de la prothrombine (par une méthode en un temps, en deux temps ou par le venin Echis carinatus) permet de faire le diagnostic de déficit en FII. Le TT est normal.

Les dosages fonctionnel et immunologique de la prothrombine permettent de distinguer un déficit quantitatif, caractérisé par une diminution des activités fonctionnelle et antigénique, d'un déficit qualitatif caractérisé par une diminution de l'activité fonctionnelle et un taux d'antigène normal.

La plupart des variants rapportés ont été identifiés, l'anomalie siège au site d'activation par le FXa pour les variants Barcelone et Madrid, et dans la partie thrombique de la molécule pour les variants Quick, Metz, Salakta et Tokushyma.

Traitement

Tout comme pour le FX, il n'existe pas de concentré spécifique en FII. Le PPSB est donc à nouveau utilisé. Le taux de récupération du FII est de 2 %.

Les doses de FII injectées en cas d'accident hémorragique sont de 20 à 40 UI/kg selon l'importance du déficit, le but étant d'obtenir un taux de 20 à 30 %. La demi-vie du FII est longue (72 h). Une injection par jour, voire tous les 2 jours, est donc souvent suffisante.

5.4. Déficit en facteur V ou proaccélérine

Le FV est présent dans le plasma et dans les granules des plaquettes où il est complexé à une autre protéine, la multimérisine. Le pool plaquettaire constitue 20 % du pool total de FV. Le FVa est le cofacteur du FXa dans l'activation de la prothrombine en thrombine, et le FVa d'origine plaquettaire joue un rôle important dans cette étape enzymatique.

Les déficits congénitaux en FV sont des affections rares (1/106). La transmission est le plus souvent autosomique et récessive [128].

Clinique

Les sujets hétérozygotes sont asymptomatiques.

Les homozygotes ont un syndrome hémorragique sévère (ecchymoses, épistaxis, ménorragies).

Il semble que la sévérité du syndrome hémorragique soit liée au degré du déficit en FV plaquettaire.

Diagnostic biologique

Le déficit en FV est évoqué devant un allongement du TQ et du TCA corrigé par l'adjonction d'un plasma normal.

Le TT est normal.

La mesure de l'activité fonctionnelle du FV par méthode de coagulation permet de faire le diagnostic de déficit isolé en FV.

Le dosage immunologique est réalisé par méthode radio-immunologique.

Les déficits les plus fréquents sont des déficits quantitatifs caractérisés par une diminution des activités fonctionnelle et immunologique.

Un déficit quantitatif en FV plaquettaire est fréquemment associé.

Un variant du FV (FV New Brunswick) a été décrit. Il est caractérisé par une activité cofacteur du FXa effondrée et un taux d'antigène normal. La mutation Val 221 Ala caractérise ce FV anormal [25].

Traitements

Le déficit en FV est celui qui pose le plus de problèmes thérapeutiques. En effet, il n'existe ni concentré spécifique ni complexe coagulant contenant du FV. La seule possibilité est donc l'utilisation de plasma frais congelé (PFC). Il semble que des doses de 15 à 20 ml/kg de PFC

suffisent. Le taux visé doit être de 10 à 20 %. La demi-vie du FV injecté est de 36 h. Une injection par jour suffit donc habituellement.

Dans la mesure du possible, les saignements des déficits en FV doivent être combattus par les thérapeutiques locales associant la compression et les anti-fibrinolytiques.

Dans le cas du FV Québec, ni le plasma frais, ni les concentrés plaquettaires n'ont montré leur efficacité sur le syndrome hémorragique [137].

5.5. Déficits combinés en facteurs de la coagulation

5.5.1. Déficit combiné constitutionnel en facteurs vitamine K-dépendants [137]

C'est une affection hémorragique exceptionnelle à transmission autosomale récessive, qui entraîne un déficit dès la naissance, en facteurs à synthèse vitamine K-dépendante.

Une consanguinité est souvent retrouvée.

Clinique :

Le syndrome hémorragique est grave et débute dès la naissance. Des anomalies osseuses lui sont associées dans certains cas.

Les hémorragies sont assez fréquentes et parfois très sévères avec de rares cas d'hémorragie intracérébrale.

Les manifestations hémorragiques consistent en épistaxis, ecchymoses, hémorragies post-traumatiques.

Les anomalies osseuses consistent en hypoplasie nasale, hypoplasie digitale distale (images d'épiphyses ponctuées sur les radiographies osseuses de l'enfant).

Diagnostic biologique :

L'exploration de l'hémostase montre un allongement du TCA et du TQ et une diminution de toutes les protéines à synthèse vitamine K-dépendante.

Les taux (activité coagulante) des facteurs IX, X, VII et II sont inférieurs à 10 % contrastant avec les taux d'antigène qui sont toujours supérieurs.

Après administration de vitamine K, on peut observer une augmentation de l'activité fonctionnelle des facteurs vitamine K-dépendants qui reste modeste et transitoire.

Il existe aussi des déficits des autres protéines vitamine K-dépendantes (protéine C, protéine S).

Des formes non carboxylées des protéines vitamine K-dépendantes sont présentes dans le plasma des sujets atteints. Cette anomalie n'est pas due à un déficit en vitamine K. L'observation d'une augmentation de vitamine K époxyde après charge en vitamine K chez ces malades suggère que l'anomalie génétique pourrait siéger au niveau d'une des réductases

qui permettent le recyclage de la vitamine K oxydée en vitamine K réduite au niveau de l'hépatocyte.

Une exploration hépatique est indiquée de même que la recherche d'une malabsorption ou d'un régime alimentaire dépourvu de vitamine K.

Bien entendu, l'avitaminose K du nourrisson est devenue très rare depuis l'administration systématique à la naissance de cette vitamine.

Traitemen

Le traitement comporte de fortes doses de vitamine K à une posologie pouvant atteindre 50 mg par jour. Les transfusions de plasma frais, congelé, décongelé et sécurisé constituent le traitement classique des accidents hémorragiques.

Curieusement, d'exceptionnels accidents thromboemboliques ont été rapportés.

5.5.2. Déficit combiné en FV et FVIII [162]

Ils sont rares. D'après les études familiales établies, il est permis de penser qu'une seule anomalie génétique est responsable du double déficit, mais à ce jour elle n'est pas établie.

Clinique :

Le syndrome hémorragique est variable et dépend surtout de la sévérité du déficit en FVIII. Les manifestations hémorragiques sont habituellement modérées avec des épistaxis, des ménorragies et des saignements après extraction dentaire.

Diagnostic biologique :

Le diagnostic est suspecté devant l'association d'un allongement du TCA et du TQ. Cette constatation conduit assez rapidement au diagnostic des déficits en FV et peut amener à méconnaître le déficit associé en FVIII, d'où la règle de systématiquement doser au moins une fois le FVIII devant un déficit congénital en FV.

Les dosages spécifiques des facteurs VIII et V (par méthode fonctionnelle et immunologique) mettent en évidence les déficits qui ne sont jamais complets.

Les autres facteurs sont normaux.

Traitemen

La problématique rejoint celle du déficit en FV : le traitement isolé du déficit en FVIII risque de ne pas suffire pour arrêter un syndrome hémorragique. Il est donc nécessaire d'utiliser là encore le plasma frais congelé à raison de 15 à 20 ml/kg, sachant que la demi-vie du FVIII contenu dans le PFC est plus courte que celle du FV d'où la nécessité de recourir souvent à deux injections quotidiennes en cas de syndrome hémorragique.

Lorsqu'un geste chirurgical est prévu, le traitement associe le DDAVP et le PFC viro-inactivé. L'utilisation de concentrés de FVIII peut être envisagée si l'efficacité du DDAVP sur le taux de FVIII est insuffisante.

5.6. Déficit en facteur XI

La transmission est autosomique et récessive. La prévalence est de 1/106 dans la population générale. Dans la population juive ashkénaze, elle est de 5,5 % à 11 % pour l'hétérozygote et de 1/190 pour l'homozygote [70].

Clinique

Les hémorragies sont provoquées (post-traumatiques ou post-chirurgicales) et ne sont pas forcément liées au degré du déficit en FXI.

Les hémorragies spontanées (épistaxis, ecchymoses, ménorragies, hématuries) sont l'exception.

Au sein d'une même famille, la tendance hémorragique semble la même.

Deux types de chirurgie sont particulièrement hémorragiques, celles qui touchent la sphère oto-rhino-laryngologique et celles qui touchent l'arbre urinaire (tissus où le potentiel fibrinolytique est important). Ceci est observé quel que soit le génotype du sujet. En revanche, pour tout autre type de chirurgie (digestive, orthopédique, gynécologique), les manifestations hémorragiques semblent liées au génotype.

Enfin, l'absence de tendance hémorragique parfois observée chez des sujets ayant un déficit sévère est expliquée par certains auteurs par la présence du FXI dans les plaquettes qui pourrait compenser le déficit plasmatique [179].

Diagnostic biologique

Le diagnostic de déficit en FXI est établi sur l'allongement du TCA alors que le TQ est normal. Les premiers diagnostics envisagés devant cette association sont l'hémophilie et les autres déficits en FVIII (maladie de Willebrand, anticorps anti-FVIII). Chez les sujets asymptomatiques, l'allongement du TCA avec un TQ normal peut évoquer un déficit en FXII (qui n'est jamais hémorragique) ou un anticoagulant lupique qui, lorsqu'il est isolé, n'est pas responsable de syndrome hémorragique. C'est la raison pour laquelle, devant une association d'allongement du TCA et TQ normal, il faut systématiquement doser le FXI. L'exploration de l'allongement du TCA met en évidence un déficit isolé en FXI, les autres facteurs de la voie intrinsèque (facteurs VIII, IX et XII) sont normaux.

La recherche d'un ACC est négative : le TCA est corrigé par l'adjonction d'un plasma normal [41].

Traitement

Le traitement des épisodes hémorragiques et la prévention des hémorragies en chirurgie consistent en l'apport de PFC viro-inactivé ou l'utilisation de concentrés de FXI. Ces concentrés sont traités par solvant-détergent et contiennent de l'antithrombine.

Le taux de FXI recommandé pour assurer une hémostase correcte en préopératoire se situe entre 50 et 70 % de la normale. Les extractions dentaires peuvent être effectuées sous couvert d'utilisation d'anti-fibrinolytiques (acide tranexamique) [41].

5.7. Déficit en fibrinogène [162]

La prévalence du déficit en fibrinogène est difficile à estimer, il faut bien différencier :

Les afibrinogénémies dans lesquelles il y a une absence totale de fibrinogène quelle que soit la méthode de mesure (immunologique ou par technique de coagulation). Elles sont très rares, à transmission autosomique récessive.

Les dysfibrinogénémies qui sont des anomalies qualitatives du fibrinogène, dans lesquelles les méthodes habituelles de dosage du fibrinogène par technique de coagulation donnent des taux parfois très bas, alors que les techniques immunologiques trouvent des taux normaux et subnormaux.

Les hypofibrinogénémies, qui sont des formes modérées, recouvrent des déficits vrais ou des dysfibrinogénémies non sévères.

Clinique

Les signes sont extrêmement variables suivant le type de déficit :

En général, les formes les plus sévères sont les afibrinogénémies qui peuvent induire des saignements néonataux graves au niveau du cordon, ou de volumineux hématomes sous-cutanés, des saignements de la cavité buccale, des épistaxis, voire des hémorragies intracrâniennes. On retrouve aussi dans les afibrinogénémies des avortements à répétition. Les hypofibrinogénémies sont habituellement asymptomatiques, tout comme les dysfibrinogénémies. Ces dernières sont exceptionnellement associées à un syndrome hémorragique. Une anomalie associée doit être recherchée.

Rappelons qu'il a été décrit de très rares cas de fibrinogènes anormaux (dysfibrinogènes) responsables de thromboses.

Diagnostic biologique

Les déficits en fibrinogène sont suspectés devant l'association : TQ allongé + TCA allongé (les allongements sont parfois extrêmement prononcés). Devant ces tableaux biologiques, le premier dosage à faire est celui du fibrinogène.

Le TT peut être un élément d'orientation vers les anomalies du fibrinogène.

Les techniques utilisées pour doser le fibrinogène sont des techniques fonctionnelles utilisant la propriété qu'a le fibrinogène à coaguler sous l'action de la thrombine. Ces méthodes ne permettent pas de différencier les afibrinogénémies et les dysfibrinogénémies. Devant la constatation d'un fibrinogène bas et d'une anomalie congénitale, il est donc nécessaire de faire un dosage immunologique qui permet de différencier ces pathologies.

Les afibrinogénémies : le TS est allongé et les tests globaux (TCA, TQ et TT) sont incoagulables. Le dosage du fibrinogène par méthode chronométrique, gravimétrique et immunologique met en évidence le déficit complet.

Les dysfibrinogénémies : leur diagnostic repose sur l'allongement des TCA, TQ et TT, et sur une discordance entre le taux de fibrinogène mesuré par méthode chronométrique, qui est inférieur à celui observé par méthodes gravimétrique et antigénique.

Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel se pose avec les anomalies acquises du fibrinogène.

L'élément le plus caractéristique est le caractère isolé de la baisse du fibrinogène dans les déficits congénitaux. En effet, les autres causes de baisse du fibrinogène (insuffisance hépatocellulaire, fibrinolyse, CIVD) surviennent dans un contexte pathologique très particulier et associent d'autres baisses de facteurs de coagulation. Une difficulté peut venir de la découverte fortuite d'un déficit en fibrinogène jusqu'alors ignoré, dans des conditions pathologiques diverses : hémorragie post-traumatique, septicémie, syndrome hémorragique chirurgical. Le taux bas de fibrinogène risque d'être interprété comme anomalie acquise, orientant vers de faux diagnostics.

Le diagnostic de maladie congénitale sera alors suspecté soit sur la dissociation entre des taux de fibrinogène très bas et des perturbations modestes du bilan d'hémostase, soit après guérison de l'épisode clinique devant la constatation d'un taux bas persistant de fibrinogène.

Traitemen

Il existe un concentré de fibrinogène appelé Clottagen. Les flacons de 100 ml contiennent 1,5 g de fibrinogène. On peut calculer la dose par la formule :

$$\text{Dose} = \frac{\text{taux à obtenir (g/l)} - \text{taux basal (g/l)}}{\text{poids (kg)} \times 0,04}$$

En pratique, 0,5 à 0,8 g/kg toutes les 48 h suffisent pour maintenir le fibrinogène au-dessus de 1 g/kg. En cas de non-disponibilité du concentré de fibrinogène, on peut avoir recours au PFC à raison de 15 à 20 ml/kg de poids [162].

5.8. Déficits congénitaux en F XIII ou facteur stabilisant de la fibrine

Le FXIII est composé de deux sous-unités α et β ; le déficit porte dans la majorité des cas sur la sous-unité α , support de l'activité catalytique de la molécule. Le FXIII catalyse la formation de liaisons -(γ -glutamyl) lysyl entre chaînes α et chaînes γ de la fibrine, consolidant ainsi le caillot et le rendant plus résistant à l'action des protéases. Le FXIII joue aussi un rôle dans la cicatrisation et la réparation des tissus. Les déficits congénitaux sont très rares. La transmission est autosomique et récessive. Un taux de 1 à 5 % de FXIII est suffisant pour obtenir une stabilisation de la fibrine normale [41].

Clinique

Les déficits en FXIII sont associés à des manifestations hémorragiques très sévères chez l'homozygote ou le double hétérozygote (FXIII < 1 %).

Une consanguinité est fréquemment retrouvée dans les familles atteintes.

Le syndrome hémorragique s'extériorise dès la naissance, à la chute du cordon. Les hémorragies intracérébrales sont fréquentes, le plus souvent post-traumatiques, et peuvent être fatales [41].

On peut observer aussi des ecchymoses, des gingivorragies, des hématomes post-traumatiques. Des avortements à répétition sont observés chez la femme enceinte.

D'autre part, des troubles de la cicatrisation sont associés à ce syndrome hémorragique.

Diagnostic biologique

tous les tests de coagulation sont normaux.

Le diagnostic de déficit en FXIII repose sur la redissolution immédiate du caillot dans l'urée 5 M ou l'acide monochloracétique à 1 % (agents dénaturants qui ne rompent pas les liaisons covalentes). Normalement le temps de redissolution du caillot est supérieur à 48 h. Le dosage spécifique du FXIII est réalisé en titrant le site actif de l'enzyme par la dansylcadavérine [113].

Le dosage immunologique du FXIII comprend l'étude des deux sous-unités α et β à l'aide d'anticorps spécifiques (la sous-unité α contient le site catalytique de l'enzyme et la sous-unité β est le support protéique).

Deux types de déficits ont été décrits : déficit quantitatif caractérisé par une diminution des activités fonctionnelle et immunologique ; déficit qualitatif caractérisé par une activité

fonctionnelle inférieure à l'activité antigénique (sous-unité β détectable). Plusieurs mutations ont été caractérisées siégeant dans le domaine catalytique de la molécule [32].

Traitement

Le FXIII a une demi-vie longue, d'environ 10 jours, facilitant le traitement prophylactique qui consiste à transfuser une fois par mois les malades atteints d'un déficit sévère par des concentrés de FXIII traités par solvant détergent. Ce traitement est a fortiori indiqué lors de la grossesse.

5.9. Autres déficits non hémorragiques [162]

Les déficits en facteurs du système contact peuvent donner des allongements parfois impressionnantes du TCA sans syndrome hémorragique. Ce sont habituellement des découvertes fortuites.

5.9.1. Déficit en FXII ou facteur Hageman

Ce déficit est assez fréquent, il ne donne pas de signe hémorragique. Il a longtemps été suspecté de favoriser les thromboses, mais ceci est très contesté. La seule pathologie associée au déficit en FXII pourrait être la survenue d'avortements à répétition. Il n'y a pas de traitement puisqu'il n'y a pas lieu de substituer le FXII manquant, y compris chez les patients ayant un FXII indosable.

5.9.2. Déficit en prékallicréine

Appelé aussi facteur Fletcher, la prékallicréine est un des éléments de la phase contact.

Les circonstances de découverte sont les mêmes que pour les déficits en FXII : allongement parfois important du TCA et absence de syndrome hémorragique.

Cet allongement est variable suivant l'activateur utilisé pour effectuer le TCA et se réduit en cas d'incubation prolongée avec l'activateur. Le diagnostic nécessite un dosage spécifique de la prékallicréine.

5.9.3. Déficit en kininogène de haut poids moléculaire

Ce facteur s'est appelé aussi facteur Flaujeac ou facteur Fitzgerald. Les circonstances de découverte du diagnostic sont les mêmes que pour le FXII et la prékallicréine. L'incubation prolongée raccourcit peu le TCA. Le diagnostic nécessite un dosage spécifique de KHPM.

II. PATHOLOGIES HEMORRAGIQUES ACQUISES

1. Thrombopénies

La thrombopénie est une anomalie très fréquente avec des étiologies variées, de nature périphérique ou centrale, le plus souvent acquises et très rarement constitutionnelles.

On parle de thrombopénie quand le taux de plaquettes diminue au-dessous de 120 G/L dans le sang circulant, quel que soit l'âge. Le chiffre pour lequel les hémorragies risquent de survenir est de 30 G/L.

Une thrombopénie doit toujours être vérifiée par l'observation d'un frottis sanguin pour confirmer la rareté en plaquettes et l'absence d'agrégats ou d'agglutinats leuco-plaquettaires, qui engendre une fausse thrombopénie. [129]

1.1. Circonstances de découverte de la thrombopénie [138]

- Présence d'un syndrome hémorragique :

Les thrombopénies sévères provoquent un purpura : il est pétéchial (souvent en petites taches, en tête d'épingle), non infiltré, isolé ou ecchymotique, parfois associé à de larges hématomes. La découverte d'un purpura impose une démarche d'urgence, dont la prescription d'un hémogramme. La numération plaquettaire est habituellement inférieure à 20 G/L.

- Absence de syndrome hémorragique :

C'est une situation fréquente, la thrombopénie est alors de découverte fortuite, à l'occasion d'un bilan de santé ou d'un bilan préopératoire.

1.2. Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques révélatrices sont :

Un syndrome hémorragique d'origine plaquettaire:

Purpura cutanéo-muqueux (pétéchies), épistaxis, hémorragies gingivales, ménorragies.

Possibilité d'hémorragies viscérales.

Hémorragies de section immédiates.

Cependant, une thrombopénie n'est pas synonyme de purpura ou d'hémorragie, même si de nombreuses thrombopénies peuvent s'exprimer de ces manières.

Un purpura : qui correspond à une hémorragie cutanéo-muqueuse spontanée (figure 30). Des ecchymoses, des hématomes, des saignements des muqueuses sont souvent associés.



Figure 29 : Exemples de purpuras [105].

Une hémorragie au fond d'œil (figure 31) : elle constitue toujours des signes de gravité et doit faire craindre une hémorragie viscérale ou cérébro-méningée.

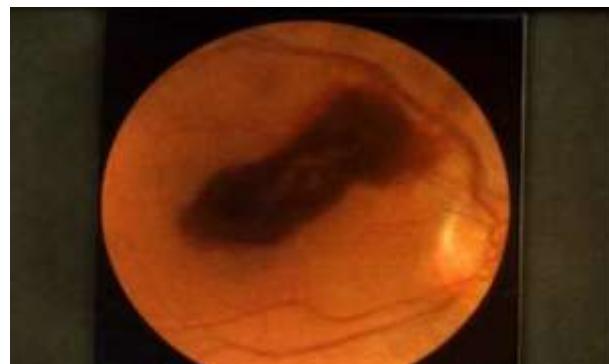


Figure 30 : Hémorragie du fond d'œil [105].

Des bulles hémorragiques extensives buccales et linguales (figure 32).



Figure 31 : Bulles hémorragiques linguales [105].

1.3. Diagnostic biologique

1.3.1. Les examens de première intention

a) Les paramètres plaquettaires de l'hémogramme : numération et volume moyen plaquettaire

Tout d'abord il faut mentionner l'exclusion des fausses thrombopénies.

Eliminer une pseudo-thrombopénie :

La numération plaquettaire est un examen capital, dont les résultats influent sur les décisions d'ordre clinique et thérapeutique. Les automates d'hématologie de dernière génération ont permis d'obtenir une plus grande précision dans le comptage des plaquettes, toutefois, certaines causes d'erreur ou artéfacts sont encore possibles et ne doivent pas être méconnues. Plusieurs alarmes sont prévues sur les automates et concernent généralement le nombre et la taille des plaquettes. Des petites plaquettes peuvent être prises pour des débris cellulaires. Les schizocytes ou les microcytes peuvent être confondus avec des plaquettes.

Les pseudo-thrombopénies sont la conséquence de deux mécanismes :

- Une activation de la coagulation avec la présence d'un caillot dans le tube le prélèvement.
- Une agglutination artéfactuelle des plaquettes liée à l'anticoagulant utilisé (thromboagglutination en EDTA) ou à l'hyperviscosité du milieu (satellitisme plaquettaire) (figure 33) [103].

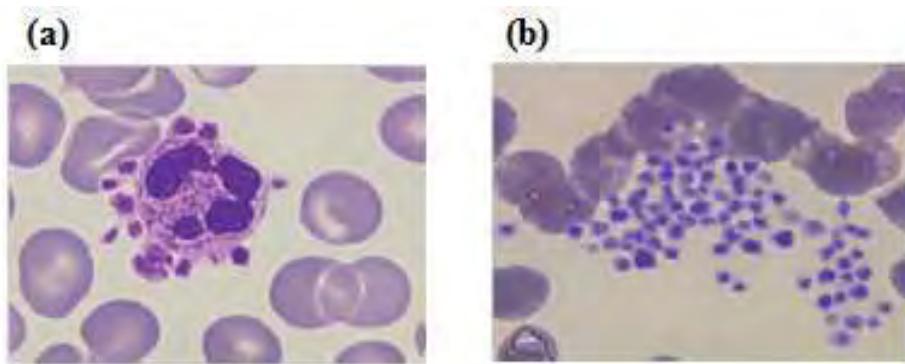


Figure 32 : Les pseudo-thrombopénies : (a) Satellitisme. (b) Agrégats plaquettaires [103]

Il convient dans tous les cas de contrôler cette numération sur un nouveau prélèvement et sur un autre anticoagulant (citrate).

En revanche, la présence d'une agrégation plaquettaire sur EDTA et citrate, doit inciter, si cette anomalie est familiale, à ne pas se contenter du seul diagnostic de fausse thrombopénie.

Baldini et coll. ont récemment proposé une classification, assez similaire aux anémies, en fonction de la valeur du volume plaquettaire : thrombopénie macrocytaire, microcytaire, normocytaire [7].

b) L'examen du frottis de sang périphérique

b.1- Etude morphologique par coloration classique : May-Grunwald-Giemsa (MGG)

Ce peut être un élément déterminant d'orientation. On obtiendra des renseignements sur la morphologie plaquettaire voire la répartition des populations plaquettaires en fonction de leur volume, mais aussi leur coloration (normalement aspect rouge violet au MGG), inclusions anormales.

En résumé, un diagnostic très précis peut être fait très rapidement dès la lecture attentive du frottis. La présence d'anomalies morphologiques extra-plaquettaires : leucocytes et hématies, sera systématiquement recherchée.

b.2- Colorations spécifiques

Elles peuvent être utiles notamment dans le cas où on ne peut détecter des inclusions dans les leucocytes (taille < 2 pm) alors que le contexte clinique est très évocateur. Ces colorations spécifiques utiliseront des protocoles de lecture par immunofluorescence ou immunocytochimie et des anticorps tels que ceux par exemple dirigés spécifiquement contre la chaîne lourde de la myosine IIA non musculaire, présente normalement au sein des plaquettes et des granuleux de façon diffuse [139].

Elles sont consommatrices en temps, mais on peut les effectuer en différé sur des frottis congelés.

c) Le myélogramme

Le myélogramme est l'examen de la moelle osseuse, principal site de fabrication des cellules du sang. Il nécessite un prélèvement par ponction dans un os.

- Cet examen évalue les proportions entre les différentes cellules de la moelle osseuse, celles qui deviendront des globules blancs, des globules rouges ou des plaquettes.
- Il permet de renseigner sur la richesse en mégacaryocytes, les signes de dysmégacaryopoïèse et de dysérythropoïèse seront notés.
- La moelle osseuse prélevée sert également à pratiquer les analyses cytogénétiques des cellules malades, c'est-à-dire l'étude des chromosomes et des gènes.
- Pour analyser la moelle osseuse, il est nécessaire de prélever par ponction un peu de cette moelle à l'intérieur des os.
- Pour une ponction au niveau du sternum, le patient est allongé sur le dos et après avoir nettoyé la peau, le médecin enfonce dans l'os une aiguille spécifique à la ponction de moelle. Une petite quantité de moelle osseuse est aspirée dans une seringue et elle est tout de suite envoyée au laboratoire d'analyse (figure 34).
- Pour une ponction à l'os iliaque, le patient est allongé sur le côté et la procédure est la même. Une légère douleur peut être ressentie quand l'aiguille pénètre dans l'os et quand le médecin aspire la moelle.



Figure 33 : Ponction sternale de moelle osseuse [105].

Le biologiste récupère le sang de la ponction, dans lequel se trouvent des amas de cellules de moelle. Il les étale sur des lames d'observation (frottis), puis il les colore afin de pouvoir identifier au microscope les différentes cellules qui y figurent et les décompter (figure 35).



Figure 34 : Frottis de moelle osseuse [105].

1.3.2. Les examens de seconde intention

a) La cytométrie en flux sur sang total

Cette technique pose encore des problèmes de méthodologie : pas tous résolus à l'heure actuelle [132] : choix des anticorps et interprétation des résultats, en particulier pour le dépistage des hétérozygotes.

- La cytométrie permet de rechercher un défaut d'expression du complexe glycoprotéique GPIb/IX/V (CD42a, CD42b), l'expression anormale de la glycophorine A.
- La sécrétion peut être étudiée en parallèle, par l'étude de l'expression de CD62P ou de CD63 avant et après stimulation en réponse à la thrombine, par exemple. Les protéines intra-cytoplasmiques peuvent être aussi étudiées après perméabilisation. Dans les déficits granulaires denses, cette technique a aussi été utilisée.
- L'expression des résultats est importante : on rend en nombre de sites par plaquettes ; dans les thrombopénies à grosses plaquettes, certains ont proposé de rendre un résultat sous forme de rapport de fluorescence entre la GPIb et GPIIb ou IIIa, ce qui faciliterait le dépistage des hétérozygotes et éliminerait les faux positifs liés à l'analyse de fluorescence d'un seul marqueur.

b) Les épreuves fonctionnelles plaquettaires

Le taux de plaquettes va limiter l'utilisation de cette technique qu'elle soit réalisée sur sang total par le PFA ou en plasma riche en plaquettes. Chaque laboratoire très spécialisé doit définir ses propres conditions méthodologiques [106].

- En cas de thrombopénie sévère, les résultats sont difficiles à interpréter.

- L'examen est surtout utile pour rechercher un défaut d'agrégation à la ristocétine ou bien au contraire une agrégation à des doses anormalement basses de ristocétine (0,3 pg/ml), une agrégation spontanée anormale sous agitation seule.
- On peut mesurer aussi la sécrétion granulaire dense par étude de la sécrétion d'ATP par luminescence.

1.3.3. Les examens de troisième intention

a) L'étude de la durée de vie plaquettaire

Cet examen est utilisé quand le diagnostic sur l'origine centrale ou périphérique de la thrombopénie ne peut être affirmé. La réalisation et l'interprétation de cet examen n'est du ressort que de quelques équipes très spécialisées.

b) Le dosage de la thrombopoïétine (TPO)

C'est un dosage immunoenzymatique sur le sérum. On doit le confronter pour son interprétation aux taux de plaquettes. Son intérêt reste discuté pour différencier entre une thrombopénie centrale et périphérique [80].

1.4. Diagnostic étiologique

La démarche du diagnostic étiologique comporte [103]:

1.4.1. L'examen clinique et l'anamnèse

Prise de médicaments.

Caractère récent ou non de la thrombopénie.

Thrombopénie isolée, ou associée à des signes évoquant l'atteinte de plusieurs lignées : syndrome anémique, fièvre, ulcérations buccales. Recherche de splénomégalie.

Recherche d'un contexte infectieux ou auto-immun associé.

1.4.2. L'hémogramme

Existe-t-il des modifications du frottis sanguin (morphologie des plaquettes) ; recherche d'anomalies des globules rouges (schizocytes) et des globules blancs associées. Existence éventuelle de signes de myélodysplasie avec dysérythropoïèse, dysgranulopoïèse ou présence de blastes circulants.

1.4.3. Le myélogramme

Il confirme la nature centrale ou périphérique de la thrombopénie.

1.4.4. Les plaquettes réticulées

Les plaquettes réticulées, par analogie avec les réticulocytes, correspondent à une sous-population plaquettaire particulièrement riche en acides nucléiques et de nature plus jeune. La détection des plaquettes réticulées par cytométrie en flux et l'intérêt potentiel de ce paramètre

dans la détermination du mécanisme central ou périphérique d'une thrombopénie est débattue. Leur mise en évidence est délicate et leur pertinence clinique dans la stratégie diagnostique d'une thrombopénie reste discutée dans la littérature.

1.4.5. Plus rarement dans les cas difficiles

Etude isotopique de la durée de vie des plaquettes à l'indium 111 afin de préciser le caractère central ou périphérique de la thrombopénie. Cet examen permet surtout d'identifier la séquestration splénique accrue dans l'éventualité d'une splénectomie thérapeutique au cours des thrombopénies périphériques.

Une culture des progéniteurs mégacaryocytaires de type CFU-MK est exceptionnellement indiquée dans ce contexte.

A. Les thrombopénies périphériques

Dans les thrombopénies périphériques (voir tableau IX par la suite), il faut distinguer classiquement trois grands mécanismes : par hyper-destruction, par hyper-consommation et par séquestration.

A.1. Thrombopénie par hyper-destruction

A.1.1. Destruction par auto-anticorps : purpura thrombopénique auto-immun

Le diagnostic de purpura thrombopénique auto-immun(PTAI) constitue un diagnostic d'exclusion. Il est le plus souvent asymptomatique, se définit comme une pathologie acquise où les plaquettes opsonisées par des auto-anticorps sont détruites par la rate. Il concerne 1500 cas/an chez l'enfant et l'adulte. La durée de vie raccourcie des plaquettes (souvent < 2 jours) permet de confirmer le caractère périphérique et la séquestration splénique associée [21 ; 30].

Le diagnostic repose sur :

Le caractère périphérique de la thrombopénie avec un myélogramme normal.

Le nombre de mégacaryocytes du frottis médullaire est normal ou augmenté.

L'absence de schizocytes au frottis, qui permet d'éliminer un purpura thrombotique thrombocytopénique.

L'absence d'intoxication énolique, de prise médicamenteuse, d'hypersplénisme, de CIVD,...

Les examens nécessaires et suffisants au diagnostic de PTAI :

Hémogramme, frottis sanguin, myélogramme.

TQ, TCA, fibrinogène.

Sérologies VIH, VHB, VHC.

Anticorps anti-noyaux, Coombs direct érythrocytaire.

Les examens plaquettaires spécialisés :

Ils ne sont généralement pas nécessaires au diagnostic et peuvent se révéler de réalisation délicate.

Il est toujours difficile de documenter l'existence d'auto-anticorps anti-plaquettes. La recherche d'anticorps associés aux plaquettes en cytométrie en flux, ne met en évidence qu'un excès d'immunoglobulines sur les plaquettes sans démontrer leur caractère d'auto-anticorps. Seuls les tests démontrant la présence d'immunoglobulines dirigées spécifiquement contre les antigènes plaquettaires (GpIIb-IIIa ou GpIb) ont une valeur prédictive positive : test de MAIPA (Monoclonal Antibodies Immobilized Platelet Antigens).

A.1.2. Destruction par allo-anticorps

Post-transfusionnelle.

Néonatale: allo-immunisation foeto-maternelle, ou transmission passive d'auto-anticorps maternels.

A.1.3. Les thrombopénies immunes iatrogènes

Le mécanisme de ces thrombopénies est identique à celui des agranulocytoses immuno-allergiques médicamenteuses et des anémies hémolytiques auto-immunes (tableau X).

Tableau IX : Les thrombopénies immunes iatrogènes [103].

En neurologie	En hépato-gastro-entérologie	En cardiologie	En infectiologie	En rhumatologie
<ul style="list-style-type: none">• Ac Valproïque• Diphénylhydantoiné• Carbanazépine• Clonazépam	<ul style="list-style-type: none">• Cimétidine• Oméprazole	<ul style="list-style-type: none">• Quinine, Quinidine• Digoxine• Ticlopidine• Hydrochlorthiazide• Héparine	<ul style="list-style-type: none">• Céphalosporines• Céfalotine• Sulfamides• Triméthoprime-Sulfaméthroxazole• Rifampicine• Vancomycine• Pentamidine	<ul style="list-style-type: none">• Sels d'or• Phénylbutazone

A.1.4.Thrombopénies post-infectieuses

Les thrombopénies infectieuses sont souvent d'origine virale. Elles sont aiguës et transitoires chez l'enfant (ROR, CMV, EBV, parvovirus...). Elles surviennent une à trois semaines après le début de la maladie. Elles sont en général de caractère bénin et transitoire. Une thrombopénie chronique est une manifestation possible des infections par VIH (50% des cas) et VHC. Les thrombopénies bactériennes peuvent se rencontrer en dehors de tout contexte de CIVD dans les infections aiguës diffuses (fièvre typhoïde, septicémies, paludisme).

A.2. Thrombopénie par consommation

Dans ce contexte la thrombopénie est due au raccourcissement de la vie intravasculaire des plaquettes qui sont impliquées dans une activation excessive de l'hémostase. Une CIVD doit toujours être recherchée.

A.3. Thrombopénie par séquestration

Les volumineuses splénomégalies génèrent un hypersplénisme : augmentation de la séquestration splénique des éléments figurés du sang avec cytopénies.

Les thrombopénies dans ce contexte sont en général modérées : 50 à 150 G/L. Elles sont en général associées à une neutropénie ou une anémie par hémodilution. La durée de vie des plaquettes est normale [103].

Le myélogramme est normal. Les mégacaryocytes sont de morphologie normale et abondants.

Tableau X : Les thrombopénies périphériques [30 ; 29].

Hyper-destruction	Hyper-consommation	Trouble de la répartition
<p>1- Auto-immunes :</p> <ul style="list-style-type: none"> • PTAI++ • Lupus érythémateux disséminé • Syndrome d'Evans (thrombopénie + anémie hémolytique auto-immune) • Syndrome lympho-prolifératif : L.L.C <p>2- Allo-immunes :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Foeto-maternelle • Post transfusion : exceptionnel (après des transfusions abondantes) <p>3- Immuno-allergiques :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Héparine, Quinine, Quinidine, Sulfamides, Digoxine (liste non exhaustive) <p>4- Infectieuses :</p> <ul style="list-style-type: none"> • VIH+++ (virus de l'immunodéficience humaine) • EBV (Epstein-Barr Virus) • VHC (virus de l'hépatite C) • Rougeole • Rubéole • Oreillons • Paludisme, toxoplasmose, leishmaniose 	<ul style="list-style-type: none"> • CIVD+-- • Micro-angiopathies diffuses (Syndrome de Moskovich ou PTI) • Septicémies • Paludisme • Hémangiome géant • Prothèse valvulaire • Syndrome hémolytique et urémique (SHU chez l'enfant) • Hémorragies massives • CEC (circulation extra-corporelle) • Exsanguino-transfusion 	<ul style="list-style-type: none"> • Hypersplénisme

B. Les thrombopénies centrales [103]

Ces thrombopénies sont acquises le plus souvent et associées à des atteintes des autres lignées à l'hémogramme. Le myélogramme est nécessaire et anormal : les mégacaryocytes sont absents, peu nombreux, ou anormaux, et il faut rechercher l'existence d'anomalies quantitatives et/ou qualitatives des autres lignées myéloïdes (sur frottis sanguin, rechercher d'éventuelles anomalies morphologiques des hématies, des leucocytes et des plaquettes).

B.1. Les thrombopénies centrales acquises

Elles sont associées le plus souvent à un contexte clinique particulier (syndrome tumoral,...) et/ou à des anomalies diverses de l'hémogramme (pancytopénie, blastose, cellules anormales). Il s'agit de thrombopénies non isolées qui conduisent à une démarche diagnostique spécifique:

➤ **Thrombopénie centrale par envahissement médullaire :**

Moelle de richesse normale ou augmentée, infiltration ou envahissement médullaire : leucémies aiguës, hémopathies lymphoïdes chroniques, myélome multiple, métastases médullaires des cancers ostéophiles (prostate, sein, estomac,..).

➤ **Thrombopénie centrale des aplasies médullaires :**

Elle peut être idiopathique ou secondaire à une exposition à un toxique (radiations ionisantes, chimiothérapie, médicaments, infection virale). La thrombopénie peut être révélatrice d'une hémoglobinurie paroxystique nocturne.

➤ **Thrombopénie centrale des myélofibroses :**

Il existe une érythromyélémie fréquemment associée à la présence sur le frottis sanguin d'hématies en larmes. Myélofibre de la splénomégalie myéloïde chronique ou myélofibroses primitives.

➤ **Thrombopénie centrale par dysmyélopoïèse :**

Syndromes myélodysplasiques, anémies mégaloblastiques carentielles en vitamine B12 et/ou en acide folique.

➤ **Thrombopénies centrales isolées d'origine toxique :**

Le diagnostic repose sur l'interrogatoire (prise médicamenteuse).

Le diagnostic est parfois rétroactif suite à la réparation de la thrombopénie après la suspension du traitement suspect (par exemple : dérivés thiazydiques, Sels d'or, Colchicine, Antiviraux...).

➤ **Thrombopénies centrales d'origine virale :**

Effet cytotoxique direct du virus ou par effet indirect (rôle des cytokines). Infection à CMV, Rubéole, VIH...etc.

1.5. Diagnostic différentiel

Fausse thrombopénie sur EDTA. Purpura vasculaire. Thrombopathie.

1.6. Principes du traitement [105]

En cas d'hémorragie sévère, une transfusion de plaquettes peut être nécessaire (souvent lorsque le taux de plaquettes par mm^3 est inférieur à 40 000).

Dépendamment de l'origine de la thrombopénie, le traitement sera différent.

Pour en nommer quelques-unes :

La transfusion d'une unité plaquettaire HLA-compatible/10kg, éventuellement renouvelée selon les contrôles de numération formule plaquette, n'est utile que dans les thrombopénies

centrales profondes. Il faut vérifier au 8ème jour l'absence d'allo- immunisation qui rendrait inefficace les transfusions ultérieures.

Dans tous les cas, il convient d'éviter tous les gestes qui pourraient être à l'origine d'hémorragies (intra-musculaire, ponctions, médicaments interférant avec la coagulation...). Les ménorragies peuvent être contrôlées par la contraception.

En cas d'étiologie médicamenteuse immunoallergique, l'arrêt du médicament s'impose et amène la rétrocession de la thrombopénie.

2. Insuffisance hépatocellulaire

Le foie assure la synthèse de la majorité des protéines impliquées dans les mécanismes de l'hémostase et leur régulation. Il joue un rôle majeur dans le contrôle de la coagulation et de la fibrinolyse : ainsi dans une étude rapportée par Kelly et Tuddenham, des anomalies de l'hémostase associées à des complications hémorragiques d'intensité variable, sont décrites chez 75% des patients atteints d'hépatopathies [98].

Le retentissement d'une insuffisance hépatique sur les mécanismes physiologiques de la coagulation et de la fibrinolyse est directement lié à l'étendue de la destruction du parenchyme hépatique : chez les patients atteints de tumeur hépatique ou d'hépatopathie chronique choléstatique, de larges zones de parenchyme sont intactes et assurent la synthèse des facteurs de coagulation et de leurs inhibiteurs ; dans ce cas, seuls les taux des protéines vitamine K dépendantes peuvent être diminués. Au contraire, les hépatopathies associées à une destruction massive du parenchyme, telles que les cirrhoses post-nécrotiques et les hépatites fulminantes, sont fréquemment liées à des désordres sévères de la coagulation et/ou de la fibrinolyse.

Ces anomalies de l'hémostase sont complexes et multifactorielles : elles résultent de la rupture de l'équilibre physiologique entre la synthèse hépatique de ces protéines et la clairance par le système réticulo-histiocytaire hépatique de ces mêmes protéines activées et de leurs produits de dégradation. Elles sont objectivées par le bilan d'hémostase dont les résultats sont hétérogènes d'un individu à l'autre [44].

2.1. Manifestations hémorragiques

Malgré l'existence d'anomalies multiples et parfois très sévères de la coagulation, la survenue de manifestations hémorragiques est rare en l'absence de traumatisme, de lésion préexistante ou de manœuvre invasive. La plupart des hémorragies digestives observées sont dues à la rupture de varices œsophagiennes, et leur intensité n'est généralement pas corrélée à l'importance des anomalies de l'hémostase.

2.2. Diagnostic biologique

Au cours des atteintes hépatiques, les résultats du bilan d'hémostase permettent de :

Apprécier le risque hémorragique, en particulier en cas d'indication chirurgicale.

Evaluer l'état de la fonction hépatique.

A- Estimation du degré d'insuffisance hépatique

A-1 Temps de Quick [116 ; 148]

En cas d'allongement du TQ, il faut doser les facteurs II, VII, X, V et le fibrinogène. Le dosage des différents facteurs permet de faire le diagnostic différentiel entre insuffisance hépatique (tableau XI, observations 1, 2, 4, 5), hypovitaminose K (tableau XI, observation 3), et coagulation intravasculaire disséminée.

Dans l'insuffisance hépatique (IH), les facteurs de la coagulation dont le taux diminue le plus précocement, parfois en l'absence d'autre anomalie hépatique, sont les facteurs II, VII, IX et X, vitamine K-dépendants.

Le taux du FVII, qui a la demi-vie la plus courte, diminue le premier. La diminution du taux de ces facteurs, associée au taux normal des autres facteurs de coagulation, peut faire évoquer l'existence d'un déficit modéré en vitamine K et le diagnostic différentiel entre ce dernier et une IH discrète ou modérée peut être difficile.

C'est l'association d'une diminution du taux du FV, dont la synthèse hépatique ne nécessite pas la présence de vitamine K, à celle des taux des facteurs II, VII, IX et X, qui évoque une IH et permet le diagnostic différentiel avec un déficit en vitamine K (tableau XI, observations 1, 2, 4, 5).

La diminution du taux plasmatique du FV apparaît généralement plus tardivement avec la détérioration progressive de la fonction hépatique, la synthèse du FV étant moins sensible à l'atteinte hépatique que celle des facteurs vitamine K-dépendants. Le taux du FV constitue donc un facteur pronostique dans l'évaluation du degré de l'atteinte hépatique en particulier en cas d'hépatite virale B.

La synthèse du fibrinogène est aussi maintenue au cours de l'IH modérée. L'hypofibrinogénémie n'apparaît qu'en cas d'insuffisance hépatique sévère, elle est alors un facteur de mauvais pronostic.

L'interprétation du TQ se fait en fonction du résultat du TCA et de la sensibilité relative des deux tests aux différents déficits. Il est à noter que cette sensibilité varie selon les réactifs utilisés. Un allongement isolé du TQ (TCA normal, TT normal) correspond sur le plan théorique à un déficit isolé en FVII, non exploré par le TCA.

En pratique, le TQ s'avère plus sensible aux déficits en facteurs vitamines K-dépendants que le TCA. Il n'est pas rare d'observer un allongement du TQ associé à un TCA normal en cas de déficits en facteurs vitamines K-dépendants, ou en cas de déficit global en facteurs II, VII, V, et X (insuffisance hépatique).

En outre, contrairement à celui des autres facteurs ou inhibiteurs de la coagulation, le taux plasmatique du FVIII est la plupart du temps élevé au cours des maladies du foie aigues ou chroniques, quelle qu'en soit l'étiologie. La raison de cette augmentation, qui peut corriger le TCA en présence de déficits en d'autres facteurs, n'est pas connue.

On observe donc un allongement du TQ en cas d'IH (déficit en facteurs II, VII, X, V, fibrinogène) mais aussi en cas de carence en vitamine K (déficits en facteurs II, VII, et X), de CIVD (consommation du FV) et d'anomalies de la fibrinoformation mise en évidence par le temps de thrombine.

Tableau XI : Exploration de l'hémostase et insuffisance hépatique [40].

	Valeurs physiologiques	III: Cirrhose éthylique	III: Hépatite B	Déficit en vitamine K	Hépatite fulminante B	Hépatite fulminante phalloïdienne
observation		1	2	3	4	5
TS (Ivy) (min)	≤ 10	13		6	7	
Plaquettes (G/L)	150-400	100	120	230	250	250
TCA (sec)	35-37	55	45	50	90	70
TQ (%)	75-110	40	42	30	10	36
F II (%)	75-110	40	47	23	10	50
F VII (%)	75-110	32	30	14	10	41
F V (%)	75-110	48	50	120	25	18

Fibrinogène (g/L)	2-4	2.10	2.50	5.20	2.50	1.50
TLE	>3h	1 h30	>3h	>3h	>3h	>3h
Test au sulfate de protamine	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif

Commentaires : Dans les maladies du foie, on observe une diminution globale du taux des facteurs II, VII, et V de la coagulation, en fonction du degré d'IH et non de l'étiologie de la maladie (observations 1, 2, 4 et 5), sauf en cas de cholestase, où seuls les facteurs vitamine K-dépendants II et VII sont diminués (observation 3 : obstruction des voies biliaires due à un cancer de la tête du pancréas, empêchant la libération des sels biliaires et l'absorption de la vitamine K au niveau du duodénum). Il faut cependant remarquer qu'en cas d'hépatite fulminante B, le taux du FV diminue en dernier (observation 4), et que c'est le contraire en cas d'hépatite toxique, même en l'absence de CIVD (observation 5). En cas de processus de CIVD associé à l'IH, le taux du fibrinogène peut être inférieur au taux attendu pour une simple IH.

A-2 Temps de céphaline + activateur (TCA, TCK, aPTT : activated partial thromboplastin time) [40]

Dans les maladies du foie, le TCA peut être modérément ou très allongé selon le degré d'IH.

En cas de déficits modérés en facteurs II, IX, X et V associés à un taux élevé de facteur VIII, le TCA peut cependant être normal.

En cas d'allongements simultanés du TCA et du TQ, fréquemment observés dans l'IH, les anomalies concernent généralement les facteurs II, VII, X, V et le fibrinogène.

En cas d'allongement simultané très important du TCA et du TQ, on doit cependant impérativement mesurer les temps de thrombine et de reptilase pour éliminer la présence éventuelle et intempestive d'héparine dans le prélèvement, ou une anomalie de la fibrinoformation.

En l'absence d'IH notable, il est possible d'observer un allongement isolé du TCA.

Après avoir contrôlé le mode de prélèvement de l'échantillon et l'allongement du TCA, il faut mesurer les taux des facteurs VIII, IX, XI et XII, et rechercher l'existence d'un anticoagulant circulant (par un test de mélange du plasma du patient et d'un plasma témoin) dont il faudra préciser le type s'il est présent.

Les ACC de type antiphospholipides (lupiques, antiprothrombinases), sont fréquents et n'entraînent pas de manifestations hémorragiques en cas de lésion ou de manœuvre invasive. Leur présence est cependant souvent associée de façon paradoxale à un risque thrombotique qui peut être sévère.

En revanche, les ACC dirigés contre un facteur de coagulation sont exceptionnels, mais responsables de manifestations hémorragiques sévères.

Il faut noter que les modifications du taux du FXII ne sont pas responsables de manifestations cliniques, et en particulier de manifestations hémorragiques, même lorsque le taux est 1 % (0,01 UI/mL) (figure 36).

Les taux plasmatiques des facteurs XI, XII et du KHPM, sont diminués en fonction du degré de l'atteinte hépatique. Le taux de ces facteurs n'est pas mesuré en routine. En revanche, le taux du FVIII est souvent très supérieur à la normale.

Risque hémorragique +++

- Déficit en FVIII (hémophilie A, maladie de Willebrand).
- Déficit en FIX (hémophilie B).
- Déficit en FXI.
- Anticoagulant circulant dirigé contre un facteur de coagulation.

Risque hémorragique -

- Déficit en FXII, en facteurs du système contact.
- Anticoagulant circulant dirigé contre les phospholipides.

Doit être exploré et impérativement expliqué.

Figure 35 : Diagnostic et risque hémorragique d'un allongement isolé du TCA [148].

A-3 Dosage du fibrinogène [95 ; 126]

La mesure du taux du fibrinogène plasmatique est généralement effectuée par une méthode fonctionnelle chronométrique basée sur la mesure du temps de thrombine.

Lorsqu'il existe un allongement du TT suite à la présence d'un fibrinogène anormal, de produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine, ou d'autres antithrombines (héparine) ; le taux de fibrinogène mesuré par cette méthode est sous-estimé. Sa mesure peut alors être effectuée par une méthode fonctionnelle gravimétrique moins sensible à l'allongement du TT, ou par une méthode immunologique.

Le taux de fibrinogène est très souvent normal ou subnormal au début de l'évolution d'une IH, même en cas d'hépatite fulminante où il contraste avec les déficits sévères des autres facteurs de coagulation (tableau I, observation 4).

Une hypofibrinogénémie ($< 0,80 \text{ g/l}$) apparaît cependant en fin d'évolution d'une IH sévère. Elle constitue alors un signe de mauvais pronostic.

Dans la cirrhose du foie, le taux du fibrinogène peut être alternativement élevé, normal, ou bas en fonction du stade de la maladie et du degré d'IH. L'apparition d'une anomalie modérée de polymérisation de la fibrine, responsable d'un allongement modéré du TT, est relativement fréquente dans les maladies du foie et est observée la plupart du temps dans les cirrhoses. Elle semble être associée à une atteinte plus importante de la fonction hépatique. Le taux plasmatique du fibrinogène est cependant généralement normal, même lorsqu'il est mesuré par une méthode fonctionnelle basée sur la mesure du TT. Cette anomalie peut devenir majeure en cas de cirrhose sévère. Elle est alors de mauvais pronostic.

Il est à noter que la mise en évidence d'un taux de fibrinogène normal n'exclut pas l'existence d'une augmentation de l'activité fibrinolytique circulante.

L'augmentation du taux plasmatique du fibrinogène qui peut être observée en cas d'ictère cholestatique, de cholangite, de cirrhose biliaire, d'atresie congénitale des voies biliaires et du cancer du foie primitif ou secondaire, est expliquée par le fait que le fibrinogène est une protéine de la réaction inflammatoire.

B- Estimation du risque hémorragique

Le bilan préopératoire de l'hémostase comporte au minimum, la numération des plaquettes et la mesure des temps de Quick et de céphaline + activateur. Chez les patients atteints d'IH où les anomalies de l'hémostase primaire et de la fibrinolyse sont fréquentes, l'étude des fonctions plaquettaires (TS ou autre test plus sensible) et la mesure de l'activité fibrinolytique circulante sont en outre nécessaires avant toute manoeuvre invasive, telle qu'une ponction-biopsie hépatique transcutanée, en cas d'une intervention chirurgicale ou d'hémorragie.

B-1 Numération des plaquettes

En cas de thrombopénie, même un nombre de plaquettes de l'ordre de 50 G/L peut être suffisant pour assurer l'hémostase, à condition que ces plaquettes soient fonctionnelles, c'est-à-dire que le TS soit normal.

Toute thrombopénie doit être contrôlée après avoir vérifié l'aspect des plaquettes sur lame pour éliminer un artefact. Une méthode efficace consiste à effectuer ce contrôle sur un prélèvement prédilué, fait au doigt du patient. Si une thrombopénie inexpliquée persiste après contrôle, il faut rechercher la présence d'anticorps antiplaquettaires.

B-2 Mesure du temps de saignement [20]

Son allongement étant fréquent au cours des maladies hépatiques, en particulier en cas de cirrhose.

Il faut cependant savoir qu'un TS normal n'exclut pas la possibilité de survenue de manifestations hémorragiques. Le TS ne permet donc pas d'estimer le risque d'hémorragie. D'autre part, toute prise médicamenteuse peut être responsable d'un allongement du TS et il ne faut pas négliger l'interrogatoire du patient.

L'intérêt principal de la mesure du TS réside dans la mise en évidence d'un allongement de ce temps, qui constitue une indication à retarder une intervention non urgente, à rechercher la cause de cet allongement, à prendre des mesures de correction en cas d'urgence, ou encore une indication à choisir la technique invasive la moins hémorragique possible.

B-3 Mesure de l'activité fibrinolytique circulante [59 ; 176]

L'augmentation de l'activité fibrinolytique circulante, qui correspond à un excès de production de plasmine, peut se manifester par la dégradation du fibrinogène circulant et d'autres protéines plasmatiques (facteurs V, VIII, XIIIa, Willebrand).

En empêchant la formation des caillots hémostatiques et en détruisant les caillots hémostatiques préexistants, elle peut entraîner des troubles hémorragiques sévères, en particulier en cas de lésion ou de manœuvre invasive.

L'activité fibrinolytique circulante globale peut être appréciée par la mesure du temps de lyse des euglobulines.

En cas de fibrinolyse aiguë, le TLE est inférieur à 30 minutes, et est de l'ordre de 1h en cas d'augmentation modérée de l'activité fibrinolytique ; le temps normal étant supérieur à 3h. Dans l'IH, la mesure du TLE est indiquée en cas d'hémorragie et d'exploration préopératoire. La mise en évidence d'une augmentation de l'activité fibrinolytique circulante permet alors d'entreprendre un traitement anti-fibrinolytique spécifique.

Dans les cirrhoses, le taux du t-PA est encore normal au début de la maladie, alors que celui du PAI-1 est augmenté. Une forte augmentation du taux de t-PA due à un défaut d'épuration hépatique, est observée plus particulièrement dans les cirrhoses alcooliques. Lorsque le taux de PAI-1 diminue avec l'aggravation de la maladie, l'activité fibrinolytique devient prépondérante et favorise la survenue d'hémorragies.

Dans les cirrhoses alcooliques, l'activité fibrinolytique circulante est corrélée à la consommation d'alcool ; l'alcool semblant avoir une action spécifique indépendante de l'atteinte hépatique.

En cas de manœuvre invasive (ponction-biopsie, artériographie), ou d'intervention chirurgicale dans ce contexte, il est essentiel de prendre en considération l'intensité de l'activité fibrinolytique circulante.

Dans les hépatites aiguës fulminantes ou subfulminantes, l'augmentation de l'activité fibrinolytique circulante, telle qu'elle est estimée par la mesure du TLE, est rarement observée.

B-4 Recherche de complexes solubles de fibrine par les tests de paracoagulation

Les tests de paracoagulation utilisent la capacité de l'éthanol ou, mieux, du sulfate de protamine à induire *in vitro* l'agrégation des monomères de fibrine produits par la thrombine, entraînant ainsi la formation d'un pseudo-caillot.

Le test est positif en cas de CIVD ; il a été décrit comme le test le plus sensible pour la détection de fibrine soluble.

Extrêmement utile en clinique, il ne doit cependant pas être utilisé seul, mais en association avec les autres tests d'exploration de l'hémostase.

Il faut noter qu'en cas de dilution sanguine, après transfusion par exemple, il peut être négatif même en présence d'un processus de CIVD [39].

2.3. Diagnostic d'urgence [43]

Dans ce cas, le diagnostic biologique repose sur :

- La présence de complexes solubles de monomères de fibrine ou test à l'éthanol positif.
- Une thrombopénie généralement sévère.
- Un déficit sévère en FV et en fibrinogène.
- Une augmentation modérée en PDF.

2.4. Principes du traitement [105]

- ✓ Au cours des insuffisances hépatiques modérées :

Il est rare que la correction des déficits précédemment décrits soit nécessaire. En cas de geste «invasif» ou chirurgical, avec risque hémorragique, un traitement transfusionnel substitutif par du PFC viro-atténué, peut être conseillé, associé à l'administration parentérale de vitamine K1 (5 à 10 mg).

- ✓ Au cours des insuffisances hépatiques graves :

L'indication d'une thérapeutique active se pose souvent, soit en présence d'un syndrome hémorragique, soit pour le prévenir.

La perfusion de PFC viro-atténué, ou la perfusion d'antithrombine pour le traitement.

L'aprotinine peut être utile dans la prévention des syndromes hémorragiques associés aux hépatopathies avec hyperfibrinolyse et en particulier au cours des transplantations hépatiques. L'acide tranexamique peut être utilisé avant une ponction-biopsie hépatique. Ce traitement est vivement déconseillé en cas de CIVD.

Les transfusions de plaquettes doivent être réservées aux thrombopénies sévères. La perfusion de fibrinogène est rarement conseillée et doit être réservée aux hypofibrinogénémies graves (fibrinogène < 0,4 g/l).

Proscrire l'administration de PPSB en raison de son insuffisance à corriger un déficit étendu à d'autres protéines de la coagulation non vitamine K dépendantes, mais également dangereux du fait de son pouvoir thrombogénique. Le PPSB peut entretenir ou déclencher une CIVD au cours des hépatopathies, du fait de la présence de facteurs activés générés au cours de sa préparation industrielle.

3. Hypovitaminose K

La moitié des besoins de l'organisme en vitamine K est couverte par la synthèse réalisée par les bactéries intestinales, le reste provient de l'alimentation. Chez l'adulte toute pathologie digestive chronique entraînant une malabsorption, peut aboutir à une carence en vitamine K. Les antibiothérapies prolongées diminuent la synthèse endogène par destruction de la flore intestinale.

3.1. Physiopathologie

Les carences en vitamine K sont définies par la diminution du taux plasmatique des protéines vitamines K-dépendantes, associée le plus souvent à un risque hémorragique. La vitamine K intervient en effet à la phase post-transcriptionnelle de la synthèse de ces protéines, par une réaction de carboxylation qui transforme des précurseurs inactifs ou PIVKA (Protein Induced by Vitamin K Absence or antagonists) en protéines fonctionnelles. Quatre facteurs de coagulation (FII, VII, IX et X), deux inhibiteurs (protéines C et S) et des protéines osseuses telles que l'ostéocalcine, sont ainsi carboxylés dans une réaction faisant intervenir la vitamine K réduite (hydroquinone). Celle-ci est ensuite régénérée par un cycle d'oxydoréduction qui fonctionne environ 1000 fois par jour dans les microsomes hépatiques. De ce fait, les besoins quotidiens en vitamine K sont faibles, estimés à 0,5 à 1 µ g/kg, et largement pourvus chez l'adulte bien portant par l'apport alimentaire de vitamine K1 (phylloquinone) et la synthèse intestinale de vitamines K2 (ménaquinones).

En cas de carence en vitamine K, ou de défaut d'utilisation de la vitamine K, les facteurs de coagulation vitamine K-dépendants sont synthétisés normalement par le foie, mais sont

incomplètement ou totalement décarboxylés et perdent leur activité fonctionnelle. La diminution de l'activité procoagulante des facteurs II, VII, IX et X a pour conséquence une augmentation du risque hémorragique qui est fonction de l'intensité du déficit.

Le risque de carence est élevé chez le nouveau-né bien portant [165].

3.2. Manifestations cliniques [83]

L'expression clinique des carences en vitamine K est essentiellement hémorragique.

Ce sont le plus souvent des hémorragies muqueuses, sur un point d'appel traumatique ou lésionnel, ou des hématomes sous-cutanés ou musculaires.

Des céphalhématomes peuvent se développer pendant les premières heures de vie chez le nouveau-né ; des hémorragies cérébro-méningées, compliquent préférentiellement les carences en vitamine K dites « tardives » des nourrissons non supplémentés à la naissance et alimentés exclusivement au lait de mère.

Ces manifestations cliniques survenant chez des sujets bien portants par ailleurs font toute la gravité de cette pathologie réputée « bénigne ».

Les anomalies osseuses induites par la carence en vitamine K semblent limitées à la période fœtale. Elles consistent en une calcification précoce des épiphyses et une irrégularité de croissance des os de la face et des os longs, caractérisant la maladie des épiphyses ponctuées. Celle-ci a été décrite chez les nouveau-nés de mères traitées par antivitamines K pendant le premier trimestre de la grossesse et dans un cas de déficit constitutionnel en vitamine-K-époxyde réductase.

3.3. Diagnostic biologique [47]

Il est évoqué sur l'allongement du TCA et du TQ, qui reflète la diminution du taux des facteurs vitamine K-dépendants : les taux de facteurs II, VII, IX, X, mesurés par méthode fonctionnelle, sont diminués.

Le taux du FV, qui n'est pas vitamine K-dépendant, est normal, ainsi que celui du fibrinogène.

Le nombre des plaquettes est normal.

En pratique, seule la mesure du taux des facteurs II, VII, X et V est utile au diagnostic, et les facteurs VII et X sont mesurés simultanément (VII + X).

Le diagnostic peut être confirmé par la mise en évidence dans le plasma du PIVKA II, prothrombine anormale, peu ou pas carboxylée. Le PIVKA II ne fixant pas les ions Ca²⁺ n'a donc pas d'activité procoagulante, mais il est reconnu par les anticorps polyclonaux anti-prothrombine. Une discordance entre une activité (FII:C) basse et un antigène II normal

permet un diagnostic indirect. Les méthodes directes objectivent le PIVKA II qui migre plus rapidement que la prothrombine en immunoélectrophorèse bidimensionnelle en présence d'ions Ca²⁺. Le PIVKA II plasmatique peut également être dosé par méthode ELISA à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques. Etant donnée la longue demi-vie du PIVKA II, cette recherche reste positive au moins 2 jours après traitement par la vitamine K et correction des autres anomalies de la coagulation, ce qui permet de faire le diagnostic a posteriori.

Le taux sérique de vitamine K1 ne présente pas d'intérêt diagnostique, car il n'est pas corrélé aux anomalies de coagulation ; de plus, ce dosage nécessite une technologie le rendant inaccessible aux laboratoires de routine.

3.4. Diagnostic différentiel [47]

Le diagnostic différentiel est celui d'une insuffisance hépatocellulaire. Au cours de celle-ci, l'activité du FV est inférieure à la normale et du même ordre que celle des facteurs vitamine K-dépendants. Cependant, au début d'une insuffisance hépatocellulaire, le taux du FV peut être proche de la normale, voire normal, et le taux des facteurs II et VII + X modérément diminué par rapport à la normale. Lorsque le diagnostic différentiel est difficile, l'administration de vitamine K1 par voie parentérale corrige les taux des facteurs II, VII, IX et X en cas d'hypovitaminose K, mais pas en cas d'insuffisance hépatocellulaire.

3.5. Principes du traitement [42]

3.5.1. Prévention de la maladie hémorragique du nouveau-né

Elle consiste à administrer systématiquement de la vitamine K1 à la naissance (0,5 à 1 mg par voie intramusculaire, ou 1 à 2 mg par voie orale), surtout en cas de complications néonatales telles que diarrhée, malabsorption, cholestase, nutrition parentérale prolongée, et en cas d'atrézie des voies biliaires.

3.5.2. Traitement curatif

Le traitement de l'hypovitaminose K consiste à administrer de la vitamine K1, et si la sévérité des manifestations hémorragiques le justifie, à corriger le taux des facteurs II, VII, IX et X par apport transfusionnel. La vitamine K1 peut être administrée par voie parentérale (intraveineuse lente en cas de déficits sévères, ou intramusculaire) ou orale en l'absence de malabsorption. La posologie est de 10 à 20 mg chez l'adulte, 1 mg chez le nouveau-né. On observe une correction des anomalies de la coagulation 6 à 12 heures après injection intraveineuse. La correction est plus lente après une injection intramusculaire. Lorsque le type ou l'intensité des manifestations hémorragiques nécessite une correction immédiate, la transfusion de PFC sécurisé ou viro-inactivé permet d'augmenter le taux des facteurs II, VII,

IX et X. En cas de lésion, un taux minimal de 30 % (30 U/dL) est nécessaire pour assurer l'hémostase. L'administration de PPSB, ne doit être envisagée qu'en cas d'hémorragie menaçant le pronostic vital (par exemple, hémorragie cérébrale).

4. Coagulation intravasculaire disséminée

La coagulation intravasculaire disséminée est un syndrome acquis secondaire à une activation systémique et excessive de la coagulation, rencontré dans de nombreuses situations cliniques en réanimation.

Ce syndrome se définit par l'association d'anomalies biologiques avec ou sans signes cliniques témoins de la formation exagérée de thrombine et de fibrine, et de la consommation excessive de plaquettes et de facteurs de la coagulation.

La CIVD s'inclut dans un processus complexe qui commence par un syndrome d'activation systémique de la coagulation (SASC), difficile à mettre en évidence. Il se poursuit par l'apparition de troubles patents biologiques puis cliniques de l'hémostase qui peuvent engager le pronostic vital.

Par souci de clarification, les termes de CIVD compensée/décompensée, latente/patente, subclinique/symptomatique doivent être abandonnés. Le jury décide de réserver le terme de CIVD à l'association d'un SASC et d'un syndrome de consommation excessive de plaquettes et de facteurs de la coagulation. Il retient les termes de CIVD biologique lorsqu'il n'existe pas de manifestations cliniques et de CIVD clinique lorsqu'il existe des manifestations hémorragiques ou ischémiques. La CIVD est dite compliquée lorsque ces manifestations engagent le pronostic fonctionnel ou vital ou si elle s'associe à un syndrome de défaillance multiviscérale (SDMV) (figure 37) [22].

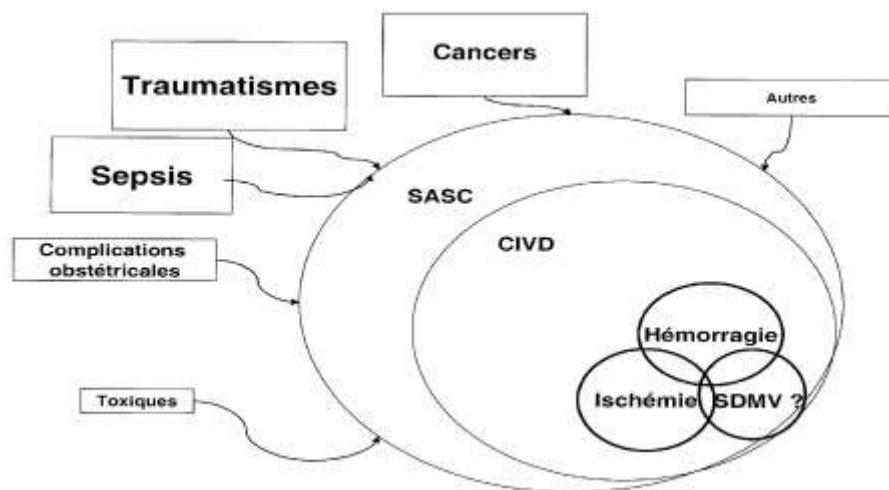


Figure 36 : Concept de syndrome d'activation systémique de la coagulation (SASC) [22].

4.1. Physiopathologie

Lorsque le système de la coagulation a été activé, et que de la thrombine apparaît en circulation, la physiopathologie de la CIVD est similaire quel que soit le contexte.

Les différents mécanismes responsables de la survenue d'une CIVD sont de mieux en mieux identifiés. Plusieurs étapes sont ainsi simultanément intriquées :

Génération de thrombine médiée par la voie du facteur tissulaire. Formation exagérée de fibrine.

Défaillance des systèmes inhibiteurs (antithrombine, protéine C, protéine S).

Dysfonctionnement du système fibrinolytique.

Initialement freinée par les taux accrus de PAI-1 (inhibiteur de l'activateur tissulaire du plasminogène), l'activité fibrinolytique peut devenir exacerbée et contribuer ainsi au potentiel hémorragique de ce syndrome

Les éléments déclenchants peuvent être :

L'exposition non contrôlée du facteur tissulaire (FT) : lésions tissulaires étendues intéressant des organes riches en FT (ex : placenta, prostate).

L'expression pathologique du FT par les monocytes ou les cellules endothéliales (induite par l'endotoxine, les cytokines, les complexes antigène-anticorps) ou d'un analogue du FT par les cellules cancéreuses.

La présence anormale d'enzymes protéolytiques en circulation (venins de serpents, trypsine lors de pancréatites aiguës). (figure 38)

Les conséquences de l'activation de la coagulation sont la production de thrombine qui suscite :

La transformation du fibrinogène en fibrine et l'activation des plaquettes (obstruction de la microcirculation par des thrombus).

La consommation des plaquettes et des facteurs de coagulation (hémorragies).

Une fibrinolyse réactionnelle qui, si elle est mal contrôlée, agrave le risque hémorragique. (figure 39)

Par ailleurs, l'activation du système des kinines par l'intermédiaire du FXIIa est responsable d'une augmentation de la perméabilité vasculaire, d'hypotension et de choc, qui eux-mêmes favorisent le processus de CIVD. [17]

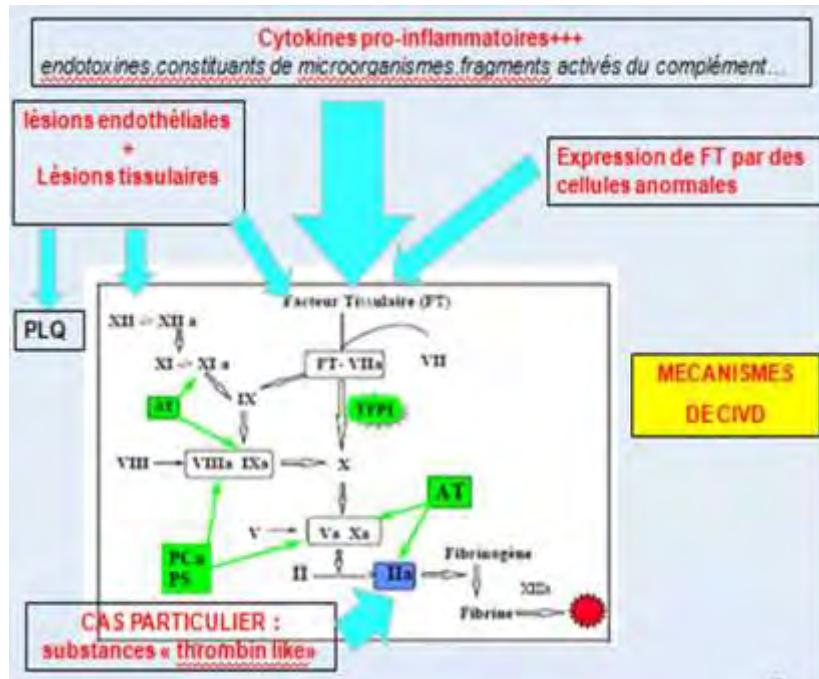


Figure 37 : Mécanisme de la CIVD [121].

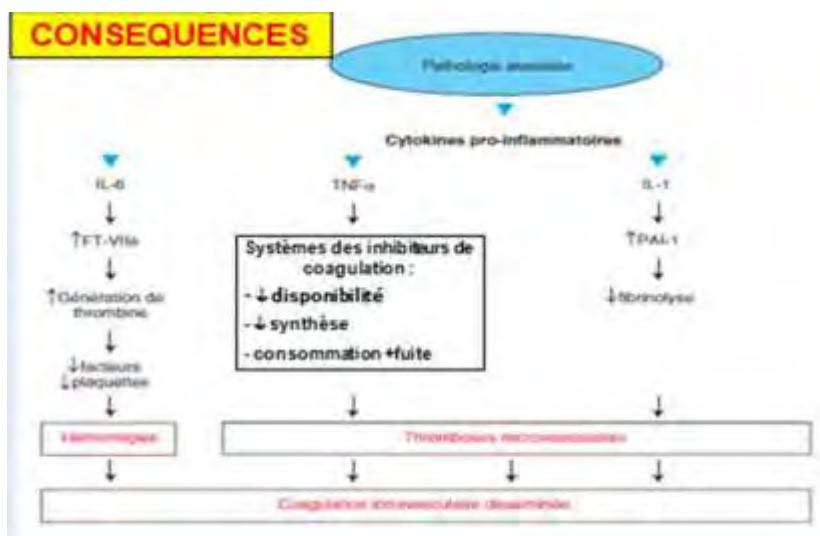


Figure 38 : Conséquences de la CIVD [121].

4.2. Manifestations cliniques [42]

L'apparition dans la circulation de thrombine et de plasmine libres en grande quantité est responsable des manifestations cliniques observées au cours de la CIVD. (Figure 40)

La CIVD aiguë a une présentation souvent catastrophique, associant :

Les microthromboses diffuses, responsables de nécrose organique ischémique et constituent une cause majeure de morbidité et de mortalité. Elles intéressent

préférentiellement le rein, le poumon, le cerveau, entraînant insuffisance rénale, respiratoire, troubles de la conscience. Ischémie et gangrène apparaissent au niveau des membres.

Des hémorragies provoquées : après intervention chirurgicale, traumatisme, ponction veineuse ou artérielle.

Des hémorragies spontanées de type cutanéo-muqueux : pétéchies, purpura ecchymotique étendu, bulles hémorragiques, cyanose des extrémités, gingivorragies, épistaxis, hémorragies oculaires.

Les manifestations hémorragiques sont associées à une hypovolémie, une hypotension, voire un choc.

Le purpura fulminant est une forme particulièrement sévère de CIVD typiquement observée en cas d'infection à bactéries Gram négatif. Il associe :

Un purpura extensif prédominant sur les membres, avec des éléments nécrotiques ou ecchymotiques.

Une nécrose cutanée hémorragique et gangrène. Un syndrome infectieux sévère (fièvre $> 40^{\circ}\text{C}$). Des défaillances organiques multiples.

Il peut également apparaître chez l'enfant, 7 à 10 jours après une varicelle ou une scarlatine.

Les CIVD chroniques sont associées aux néoplasies ou aux anomalies vasculaires.

Les thromboses de la microcirculation sont prépondérantes et essentiellement responsables de la survenue d'insuffisance rénale.

Les manifestations hémorragiques, si elles surviennent, sont très modérées.



Figure 39 : Ensemble de manifestations cliniques de la CIVD [164].

4.3. Diagnostic biologique

Il n'existe pas de test simple pour exclure ou confirmer l'existence d'une CIVD.

Différents niveaux d'exploration sont alors préconisés pour établir le diagnostic : des tests de dépistage et des tests de confirmation.

4.3.1. Tests d'hémostase classique

Dans les formes aiguës, les signes biologiques sont riches.

- Une thrombopénie parfois sévère est liée à l'activation par la thrombine et à la consommation intravasculaire des plaquettes. La diminution du nombre des plaquettes est pratiquement constante. Cependant l'intensité de la thrombopénie varie avec le degré d'activation de la coagulation, et le nombre initial des plaquettes. Il faut donc plutôt considérer l'évolution du nombre de plaquettes que leur nombre absolu, variable avec le contexte clinique.

La diminution périphérique de la numération plaquettaire peut être aggravée par un mécanisme central, une dysmégacaryopoïèse ayant été décrite chez les patients sévères en réanimation (troubles respiratoires, myélodysplasie, carence en folates...).

- Un allongement plus ou moins important du TCA et du TQ: cette prolongation nette des temps de coagulation globaux est retrouvée chez 50 à 70 % des patients [111].

Ainsi des valeurs sensiblement normales ou à la limite des fourchettes dites physiologiques ($TQ > 70\%$; ratio TCA malade/témoin : 0,8 à 1,2) n'excluent pas l'éventualité d'une CIVD [18]. Le dosage des cofacteurs de la coagulation sera alors plus discriminant.

- Une chute du FII, du FV et du FVII est rapportée. Le fibrinogène et le FVIII sont parfois augmentés secondairement à l'inflammation fréquente dans ce contexte et peuvent rester dans des valeurs normales à la phase initiale d'une CIVD modérée.
- La diminution plus importante du taux de FV par rapport aux autres facteurs du complexe prothrombique (II et VII + X) constitue un signe essentiel d'activation de la coagulation. Au cours de l'insuffisance hépatocellulaire, les taux des facteurs II, VII + X et V sont diminués dans les mêmes proportions et en fonction du degré d'insuffisance de synthèse hépatique.

La diminution relative du taux du FV évoque donc un processus de consommation par activation de la coagulation. Cependant, si les mesures sont faites précocement au cours de la CIVD, il n'est pas exceptionnel de mettre en évidence un taux de FV supérieur à la normale.

Ce taux élevé correspond alors à l'activation du FV par les premières traces de thrombine formées, cette activation précède la dégradation du FVa par la protéine C activée. [111]

4.3.2. Exploration de la défibrination et de la fibrinolyse [19 ; 115]

- Les complexes solubles de la fibrine sont des polymères incomplets de fibrine, témoins indirects de la présence de monomères de fibrine et par conséquent de l'action de la thrombine. Leur présence peut être détectée par des tests de paracoagulation : test à l'éthanol ou mieux test au sulfate de protamine. Ces tests sont très utiles en clinique, ils sont d'exécution rapide, peu coûteux, et donnent une bonne indication de l'évolution de la CIVD. Leur positivité est exprimée par l'inverse de la dilution plasmatique dans laquelle on les met encore en évidence. Ces complexes peuvent être indétectables en cas de dilution sanguine, et leur absence ne permet donc pas d'éliminer le diagnostic de CIVD.
- Les D-dimères et les produits de dégradation de la fibrine : sont des témoins directs de l'action de la plasmine et indirects de l'action de la thrombine. Leur mesure n'est utile que si la recherche de complexes solubles de la fibrine est négative. Leur absence exclut une CIVD dans la majorité des cas mais leur présence n'est pas spécifique. Le taux des D-dimères est en effet élevé dans de nombreuses pathologies en dehors de la CIVD, ainsi qu'au cours de la grossesse normale, et en postopératoire.
- La diminution du taux de fibrinogène est de façon paradoxale le signe le moins fréquent, sauf en cas de CIVD sévère. En dehors d'un important phénomène de dilution, la diminution du taux de fibrinogène au-dessous de 2 g/L doit faire soupçonner fortement un processus de CIVD ou de fibrinolyse.
- Les complexes plasmine- α 2 antiplasmine (PAP) sont augmentés, mais ils ne sont pas dosés en routine (ELISA).
- Les taux de plasminogène et d' α 2 antiplasmine sont diminués.
- L'augmentation des taux de PAI-1 serait un facteur de pronostic péjoratif.
- Le temps de lyse des euglobulines est normal, ou peu raccourci.
- L'appréciation du risque hémorragique nécessite la mesure de l'activité fibrinolytique circulante réactionnelle par la mesure du temps de lyse des euglobulines (un temps de lyse inférieur à 30 min indique une activité fibrinolytique circulante aiguë) et du dysfonctionnement plaquettaire (TS, mesuré par la méthode d'Ivy).

4.3.3. Examens spécialisés [115]

Ils sont inutiles au diagnostic mais démontrent la génération accrue de thrombine.

- La chute des taux des inhibiteurs physiologiques de la coagulation, tels que l'antithrombine et la protéine C, est un marqueur indirect de l'activation de la coagulation. Le déficit en PC serait même un facteur de mauvais pronostic.
- Une chute du facteur XIII est aussi logiquement décrite.
- Une élévation des marqueurs d'activation de l'hémostase et de la génération de thrombine : facteur 4 plaquettaire ; bêta-thromboglobuline, facteur VII activé, les fragments 1+2 de la prothrombine, les complexes thrombine-antithrombine et les taux de fibrinopeptide A (FPA). Leur dosage en routine n'est pas réalisable et des tests restent réservés à des laboratoires spécialisés. Bien qu'ils soient des marqueurs sensibles et précoce de l'importante génération de thrombine, leur utilité en pratique clinique reste limitée compte tenu de leur coût élevé, des strictes précautions pré-analytiques de prélèvement et de leur faible spécificité.

4.3.4. Autres anomalies biologiques

En association aux troubles de l'hémostase, d'autres anomalies biologiques peuvent être décrites et qu'il faut corrélérer au contexte clinique :

La présence de schizocytes sur le frottis sanguin, avec légère élévation de l'hémoglobinémie, et secondairement, de la bilirubine libre.

L'élévation de la créatininémie, de l'azotémie en cas de nécrose corticale.

Un syndrome de cholestase (élévation des phosphatases alcalines) et/ou de cytolysé (ASAT, ALAT) hépatique.

Une hypoxie si atteinte pulmonaire majeure.

Limites des examens biologiques [49]

Une CIVD complète associe :

Un allongement du TCA et du TQ. Une fibrinogénopénie.

Une baisse du FVIII:C, du FV et de l'antithrombine. Une thrombopénie.

Une présence de PDF et de complexes solubles. Un TLE modérément raccourci.

Un plasminogène peu diminué.

En fait, aucun signe n'est pathognomonique et aucun n'est constant. Chaque signe doit donc être discuté et comparé à un résultat antérieur.

Complexes solubles :

Ils sont faussement négatifs en cas de baisse intense des taux de fibrinogène (fibrinogène inférieur à 0,5 g/1) ; ils se positivent lors de la réascension thérapeutique du fibrinogène.

Lors des CIVD subaiguës et chroniques, le test à l'éthanol est parfois négatif. En outre, le test à l'éthanol se négative si le délai est trop grand (1h) entre le prélèvement et la réalisation de l'examen.

Ils sont faussement positifs lors des grandes hyperfibrinogénémies inflammatoires (> 6 g/1).

PDF et D-dimères :

Ils sont faussement élevés par un prélèvement inadéquat ayant activé artéfactuellement la coagulation, par la présence de facteur rhumatoïde en cas de test d'agglutination, ou d'inhibition de l'hémagglutination.

Ils sont aussi positifs, à des degrés très intenses, lors des fibrinolyses aiguës ; il existe alors une augmentation très marquée de l'activité fibrinolytique circulante (TLE fortement raccourci).

Ils peuvent être très positifs dans les cancers et les états infectieux, sans qu'il y ait d'autres paramètres biologiques de CIVD.

Temps de lyse des euglobulines :

Il peut être très raccourci : CIVD avec fibrinolyse secondaire intense ; le fibrinogène est alors effondré, ainsi que le FV et VIII. Les PDF sont alors très élevés, les complexes solubles plus souvent négatifs.

Dans les fibrinogénolyses aiguës primitives, le TLE est très court mais les plaquettes sont normales, ce qui constitue le meilleur critère différentiel.

Fibrinogène :

Il est souvent normal dans les CIVD chroniques ou compensées.

En cas de CIVD modérée combinée à un syndrome inflammatoire, les taux de fibrinogène sont élevés, la CIVD fait passer cette valeur élevée à une valeur normale.

Il est effondré dans les fibrinolyses primitives et dans les insuffisances hépatiques sévères.

Le taux peut être surestimé après la perfusion de solutés de remplissage type hydroxyéthyl starch ou dextran.

Plaquettes :

Elles peuvent être normales lors des CIVD chroniques, du fait de l'hyperproduction compensatrice, ou apparemment normales au cours des CIVD combinées à un état inflammatoire : l'hyperplaquetose inflammatoire préexistante pouvant être ramenée à des taux voisins de la normale.

Utilisation d'un score [110]

Les tests « globaux » de la coagulation ne sont pas spécifiques de la CIVD et manquent de sensibilité.

Ainsi, lorsqu'ils sont normaux, on ne peut exclure une activation débutante de l'hémostase, qui ne sera détectable qu'ultérieurement lors de la répétition de ces tests. La détection des produits de dégradation de la fibrine, et en particulier des d-dimères, n'est pas non plus spécifique de la

CIVD puisqu'ils sont présents dans toutes les situations où la coagulation est activée (thromboses, chirurgie...). La nécessité de standardisation du diagnostic de CIVD, en vue de l'étude de son épidémiologie et de sa prise en charge thérapeutique, a entraîné le développement de scores combinant différents tests choisis en fonction de leur disponibilité en pratique quotidienne tout autant que de leur pertinence diagnostique.

Principaux scores proposés

Le premier score, reposant sur des tests courants (numération plaquettaire, TQ, produits de dégradation de la fibrine, fibrinogène), a été développé sous l'égide du ministère de la santé japonais dans les années 1980 (score Japanese Ministry of Health and Welfare : JMWH), une nouvelle version de ce score ayant été rééditée en 2005 (score Japanese Association for Acute Medicine : JAAM, Tableau XII) [71].

Tableau XII : Score diagnostique de la CIVD selon la JAAM [110].

Critères de réponse inflammatoire systémique	Points
≥ 3	1
$0-2$	0
Numération plaquettaire (G/L)	
< 80 ou diminution $> 50\%$ en 24 heures	3
≥ 80 et < 120 ou diminution $> 30\%$ en 24 heures	1
≥ 120	0
Fibrinogène (g/L)	
$< 3,5$	1
$\geq 3,5$	0

Utilisant les données issues de ces premiers travaux, la Société internationale de thrombose et d'hémostase (ISTH) a proposé en 2001 un nouveau modèle de score qui a été depuis le plus évalué. Le comité d'experts chargé d'établir ce nouveau score voulait ainsi :

Souligner la nécessité d'établir la présence d'une pathologie sous-jacente connue pour être responsable d'une CIVD avant de calculer le score.

Etablir des critères diagnostiques pour deux entités faisant partie d'un continuum : la CIVD « compensée » ou débutante et la CIVD « décompensée » ou manifeste. Les critères établissant le diagnostic de CIVD « compensée » devaient être le plus sensible possible, alors que le diagnostic de CIVD « décompensée » devait être plus spécifique. Un score basé sur des tests largement utilisés, identiques à ceux utilisés par les scores japonais, bien que ceux-ci manquent de sensibilité pour détecter les anomalies pouvant faire considérer notamment le diagnostic de CIVD « compensée ».

Ces considérations ont conduit à proposer le score détaillé sur le Tableau 2, un total de points supérieurs ou égaux à 5 étant compatible avec le diagnostic de CIVD « décompensée », un score inférieur à 5 étant indicatif d'une possible CIVD « compensée ». Ce modèle de score présente une évidente simplicité d'utilisation en pratique quotidienne, toutefois deux difficultés sont à souligner.

Une première difficulté réside dans la cotation des produits de dégradation de la fibrine, le comité ayant donné uniquement, à l'inverse des autres critères, des seuils semi-quantitatifs (non augmentés, modérément augmentés, fortement augmentés) sans plus d'indication, le choix du test n'étant pas non plus précisé. Ainsi, chaque utilisateur du score doit

définir, pour le test qu'il utilise, des seuils définissant l'augmentation modérée et forte. Le choix d'un seuil bas pour définir l'augmentation modérée permet d'être le plus sensible possible. À l'inverse, un seuil suffisamment élevé pour définir l'augmentation forte doit permettre de rester spécifique.

La seconde difficulté concerne l'allongement du TQ, généralement rendu au clinicien sous forme de pourcentage (TP) alors que les seuils du score sont définis en secondes d'allongement par rapport au témoin. Le calcul du score exige donc pour le clinicien de se mettre en rapport avec le biologiste afin qu'il lui fournisse les résultats en seconde. Il faut insister sur la nécessité de répéter le test de manière régulière, notamment chez les patients septiques ayant des scores inférieurs à 5, compte tenu de l'évolution fréquente sur plusieurs jours. Un second modèle de score était proposé par l'ISTH, pour le diagnostic de CIVD « compensée » intégrant, en plus des éléments du score déjà décrits, des tests plus sensibles, mais non disponibles en routine (antithrombine, protéine C, complexes thrombine-antithrombine).

Enfin, la Société de Réanimation de Langue Française (SRLF) a émis en 2002, une conférence de consensus sur la définition et le traitement de la CIVD, les critères diagnostiques retenus étaient très proches de ceux de l'ISTH (tableau XIII) [22].

Tableau XIII : Algorithme diagnostique pour la CIVD « décompensée » selon l'ISTH [110].

Évaluation du risque : le patient est-il atteint d'une pathologie connue pour être associée à la présence d'une CIVD. Si oui : réaliser le test ; sinon ne pas utiliser cet algorithme.

Réaliser les tests d'évaluation globale de la coagulation (numération plaquettaire, TP, fibrinogène, marqueurs de la dégradation de la fibrine : produits de dégradation de la fibrine ; d-dimères ; monomères de fibrine soluble). Évaluer les résultats des tests :

Plaquettes ($> 100 = 0$; $< 100 = 1$; $< 50 = 2$)

Marqueurs de la dégradation de la fibrine (Pas d'augmentation : 0 ; augmentation modérée : 2, augmentation forte : 3)

Allongement du TQ (< 3 secondes = 0 ; > 3 secondes Mais < 6 secondes = 1 ; > 6 secondes = 2)

Taux de fibrinogène (> 1 g/l = 0 ; < 1 g/l = 1)

Calculer le score :

Si score ≥ 5 : compatible avec une CIVD « décompensée » ; répéter quotidiennement le score.

Si score < 5 : évoque sans affirmer une CIVD « compensée » ; répéter à 24—48 h.

Nouvelles techniques optiques d'étude de la CIVD [49]

La microscopie intravitaire et la microscopie confocale ont permis ces dernières années d'améliorer nettement nos connaissances sur les mécanismes de l'inflammation, de la thrombose et de l'hémostase en identifiant de mieux en mieux les étapes et les acteurs cellulaires de ces phénomènes complexes.

Certains lasers peuvent induire des lésions endothéliales micro-vasculaires ciblées et entraîner des thromboses. L'utilisation de ce type de méthode offre des possibilités particulièrement prometteuses pour étudier dans des conditions de flux sanguin modifié les phénomènes d'inflammation et de thrombose rencontrés au cours de la CIVD. L'utilisation combinée de modèles animaux de type souris « knock-out » pour telle ou telle enzyme et de divers outils moléculaires

Marqués par fluorescence, dans un contexte septique (injection de lipopolysaccharides bactériens ou d'endotoxines), donne des informations précieuses sur les processus de coopération multicellulaire et l'impact éventuel d'agents pharmacologiques testés par la suite.

Ainsi, une meilleure connaissance des modifications de réponse du microenvironnement systémique à un stimulus prothrombotique est fondamentale pour mieux comprendre la CIVD et son traitement. Il sera par exemple plus aisé de comprendre la contribution des microparticules, de certaines sélectines ou molécules adhésives, du facteur tissulaire issu de l'endothélium et/ou des cellules circulantes monocytaire et celles de l'activation plaquettaire. Cela devrait permettre d'évaluer de façon plus précise des cibles thérapeutiques nouvelles ou complémentaires pour optimiser la prise en charge de ce dramatique syndrome clinico-biologique.

4.4. Diagnostic différentiel [96]

- ✚ Insuffisance hépatique sévère : même tableau biologique à l'exception des complexes solubles qui sont négatifs et des D-dimères normaux.
- ✚ Fibrinolyse aiguë primitive : certaines affections ou actes chirurgicaux peuvent s'accompagner d'une libération excessive d'activateurs du plasminogène. Il s'agit d'une activation du système fibrinolytique sans phénomène thrombotique préalable.

Le tableau biologique est différent de celui qui accompagne la CIVD :

La numération plaquettaire est normale.

L'allongement du TCA, du TQ, du TT dépend de la dégradation du fibrinogène qui est souvent majeure.

Les Complexes solubles sont négatifs.

Augmentation des PDF sans augmentation importante des D-dimères. Diminution des facteurs V et VIII directement dégradés par la plasmine.

Le taux d'AT est normal, le plasminogène et l' α 2 antiplasmine sont très abaissés.

Le TLE est très raccourci. Cette affection reste exceptionnelle.

- ✚ Microangiopathie thrombotique : les signes de consommation ne sont jamais au premier plan.

4.5. Principes du traitement

4.5.1. Traitement étiologique

Le traitement de la CIVD est avant tout celui de la pathologie causale : choc, infection, dysgravidie.

4.5.2 Traitement symptomatique [140]

Le traitement causal est associé à un traitement symptomatique qui a pour but de réduire les conséquences hémorragiques et thrombotiques du processus de coagulation et de limiter son extension.

- Le Plasma frais congelé : est utilisé à la dose de 10 à 20 ml/kg pour maintenir les taux de facteurs (notamment V et VIII) aux alentours de 35%).
- Les concentrés de fibrinogène : sont utilisés à la dose de 0.5 à 1g/10 kg pour compenser rapidement les hypofibrinogénémies < 1 g/l.
- Les concentrés plaquettaires : sont utilisés à la dose de 1 U/ 5 à 10 kg pour corriger les thrombopénies < 50 G/l.

Ces thérapeutiques substitutives sont indiquées lorsque le risque hémorragique est au tout premier plan. Leur utilisation à titre préventif ou pour compenser des anomalies biologiques sans retentissement clinique est injustifiée.

- Héparine et concentrés d'antithrombine III :

L'héparine, tout à fait logique sur le plan théorique, n'est pas obligatoire et ne diminue pas toujours la mortalité ou la morbidité de l'affection principale. Son indication est limitée aux CIVD médicales non infectieuses (cancer, leucémie, erreur transfusionnelle...) et préconisée à dose faible (10 U/kg/h), en association si besoin avec le traitement substitutif.

Elle doit être particulièrement mesurée voire réfutée lorsque le malade présente certaines localisations hémorragiques, en cas de thrombopénie, ou chez le sujet âgé.

L'ATIII représente une thérapeutique à la fois logique (elle neutralise directement le médiateur biologique du syndrome) et bien tolérée (elle n'expose pas le malade au risque

hémorragique de l'héparine). Son utilisation peut être envisagée en cas de déficit acquis sévères (< 60%) au cours du choc septique. L'administration de 1U/kg augmente le taux circulant de 2%.

L'utilisation des concentrés plasmatiques de protéine C a également été proposée dans le traitement du purpura fulminant à méningoccoque.

5. Anticoagulants circulants

Ce terme désigne des anticorps qui sont des inhibiteurs non physiologiques de la coagulation. Ils ont deux types de cible et sont associés à des manifestations cliniques très différentes :

- Les ACC dirigés de façon spécifique contre un facteur de coagulation peuvent être responsables de saignement et sont envisagés ici.
- Les ACC de type anti-phospholipide sont associés à un risque de thrombose et non à un risque hémorragique.
- Les ACC spécifiques d'un facteur de coagulation sont rares, dirigés le plus souvent contre le FVIII [17].

Il peut s'agir de:

Allo-anticorps apparaissant chez les hémophiles polytransfusés (augmentation du risque hémorragique, résistance au traitement substitutif habituel).

Auto-anticorps apparaissant au cours de maladies dysimmunitaires, en association avec la prise de médicaments ou dans le post-partum. Ils peuvent être responsables de manifestations hémorragiques aussi sévères que celles de l'hémophilie.

A- Les anticorps anti-FVIII

A-1 Allo-anticorps anti-FVIII chez l'hémophile A

A-1.1 Mécanisme d'action

Les inhibiteurs anti-FVIII vont principalement compromettre l'interaction du FVIII avec ses différents partenaires (facteur von Willebrand, FIX, phospholipides ou FX) selon différents mécanismes (figure 41). D'une manière générale, les allo-anticorps (Allo-Acs) ont une cinétique de type 1 c'est-à-dire qu'ils inhibent complètement, de manière dose-dépendante, l'activité procoagulante du FVIII. L'épitope reconnu par l'anticorps(Acs) et sa localisation interviennent de manière importante dans le mécanisme d'inhibition. Les principaux épitopes reconnus par les inhibiteurs précisément identifiés sont situés au niveau des domaines C2, A2 et/ou a3A3 du FVIII.

Les Acs anti-domaine C2 vont essentiellement compromettre la liaison du FVIII au facteur von Willebrand ainsi qu'aux phospholipides électronégatifs. Les Acs anti-A2 vont

compromettre l'interaction avec le FIXa. Certains Acs dirigés contre le domaine A2 vont empêcher l'activation du FVIII par la thrombine. Enfin, les Acs dirigés contre le domaine A3 vont essentiellement compromettre l'interaction avec le FIXa. Les Acs anti-C2 semblent être les plus fréquemment identifiés parmi les inhibiteurs développés chez l'hémophile A.

Une autre catégorie d'Acs anti-FVIII est représentée par les Acs catalytiques. Ces Acs possèdent une activité enzymatique et catalytique directe sur le FVIII. Cette catégorie particulière d'Acs serait présente chez plus de 50 % des hémophiles A avec inhibiteurs. Ces anticorps catalytiques sont aussi décrits dans l'hémophilie acquise et sont capables de catalyser le FVIII mais aussi le FIX [181].

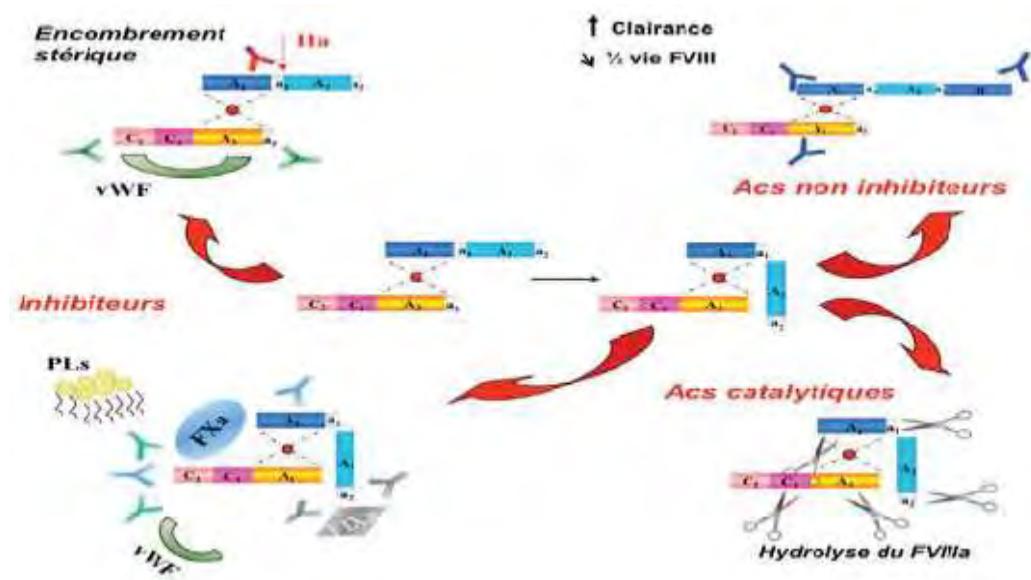


Figure 40 : Mécanismes d'action des anticorps anti-FVIII [104].

Les Acs anti-FVIII peuvent interférer avec les différents partenaires du FVIII.

Certains Acs, par encombrement stérique, vont empêcher l'activation du FVIII en FVIIIa par la thrombine ou perturber la protection du FVIII par le facteur von Willebrand.

Les Acs anti-domaine C2 inhibent la fixation du FVIII avec le facteur von Willebrand, le FXa ou les phospholipides.

Les Acs anti-domaine A2 et anti-domaine A3 perturbent l'interaction avec le FIXa. Un autre mécanisme d'inhibition est la formation de complexes immuns responsables d'une baisse de la demi-vie du FVIII et d'une augmentation de la clairance.

Enfin, un dernier mécanisme est l'hydrolyse directe du FVIII des anticorps dits catalytiques.

A-2 Auto-anticorps anti-FVIII : hémophilie A acquise [104]

L'hémophilie A acquise (HAA) est caractérisée par la survenue d'auto-anticorps (Auto-Acs) anti-FVIII chez une personne non hémophile. Cette maladie auto-immune est relativement rare car l'incidence est estimée à environ 1 à 2 cas par million d'habitants et par an. C'est une maladie qui touche plus fréquemment les personnes âgées de plus de 60 ans, mais il existe un pic vers 20 à 30 ans, lié à l'HAA associée au post-partum. Elle touche aussi bien l'homme que la femme. L'HAA est fréquemment associée à d'autres étiologies comme les maladies auto-immunes, les cancers, les hémopathies. Dans environ la moitié des cas, aucune étiologie associée n'est retrouvée et l'on parle alors d'HAA idiopathique.

A-2.1 Mécanisme d'action

Les Auto-Acs anti-FVIII se caractérisent en général par une cinétique différente des Allo-Acs. En effet, ils possèdent une cinétique de type 2, c'est-à-dire qu'ils n'inhibent que partiellement l'activité procoagulante du FVIII. La détection de ce type d'Acs reste donc parfois difficile. La majorité de ces Auto-Acs a pour cible les domaines A2 et C2 et vont interférer avec le facteur von Willebrand. La méconnaissance et la rareté relative de cette pathologie font qu'il existe un retard au diagnostic parfois important.

A-2.2 Manifestations cliniques

Classiquement, il s'agit de manifestations hémorragiques importantes, inattendues, d'apparition brutale, d'intensité inhabituelle, chez un patient n'ayant aucun antécédent hémorragique ; leur localisation est variable.

- Les symptômes les plus fréquemment rencontrés sont : des ecchymoses localisées ou étendues des membres ou du tronc, des hématomes profonds, des hématuries, des hémorragies muqueuses.
- Plus rarement, il s'agit d'hémorragies intra-abdominales, intra-crâniennes, d'hémarthroses ou d'hémorragies du post-partum.
- Dans certains cas, il peut s'agir d'une hémorragie per-opératoire. Des phénomènes compressifs secondaires peuvent aggraver le pronostic fonctionnel ou vital : syndrome des loges, obstruction des voies aériennes supérieures...
- Un cas d'hémorragie intracérébrale a été observé chez un nouveau-né par transfert transplacentaire d'un anti-VIII acquis chez sa mère au cours de la grossesse [42].

A-3 Diagnostic biologique des anticorps anti-FVIII

A-3.1 Méthodes de détection des anticorps anti-FVIII

Au laboratoire de biologie médicale, le diagnostic biologique d'un Acs anti-FVIII est en général basé sur la mise en évidence de son effet inhibiteur sur les fonctions procoagulantes du FVIII.

- Le premier test à réaliser est le TCA. Ce test sera naturellement allongé chez un hémophile

A. En revanche, un TCA allongé chez une personne ayant toujours eu un TCA normal (et d'autant plus qu'il existe une symptomatologie hémorragique acquise), en dehors de tout traitement anticoagulant, devra faire évoquer de principe le diagnostic d'HAA.

- L'épreuve du « mélange Malade + Témoin » est un test simple, disponible dans tous les laboratoires, permettant de donner une orientation sur l'étiologie de l'allongement du TCA.
- L'indice de Rosner sera systématiquement calculé, pour aider à l'interprétation de ce mélange.

Cet indice correspond au $[(\text{TCA mélange} - \text{TCA témoin}) / \text{TCA patient}] \times 100$, les temps étant exprimés en secondes.

Un indice de Rosner inférieur à 12 évoque un déficit en facteur.

Un indice de Rosner supérieur à 15 évoque un inhibiteur (anticoagulant lupique, Acs anti-facteur...).

Entre 12 et 15, l'indice de Rosner est douteux.

Chez un hémophile, une absence de correction doit systématiquement faire évoquer et rechercher un inhibiteur.

- Le dosage du FVIII coagulant (FVIII:C) peut également être informatif. En effet, les hémophiles avec inhibiteur ont généralement un taux de FVIII:C < 1 %, malgré le traitement substitutif. En raison de la cinétique (de type 2) des Auto-Acs anti-FVIII, les taux plasmatiques de FVIII résiduel varient d'un taux indétectable à 15 % en moyenne en cas d'HAA.
- La détection et le titrage de l'inhibiteur sont réalisés par la méthode Nijmegen. Cette méthode est dérivée de la méthode Bethesda. Cette méthode, longtemps considérée comme la méthode de référence, est basée sur le mélange 1:1 du plasma du patient avec un pool de plasma normal (utilisé comme source de FVIII) (figure 42).

Un mélange 1:1 du pool normal avec un tampon imidazole est utilisé comme référence.

Une étape de chauffage de 90 minutes à 58 °C du plasma du patient est réalisée avant le test afin d'inactiver le FVIII résiduel du plasma du patient (le FVIII est thermolabile alors que les Acs anti-FVIII ne le sont pas) et ainsi éviter au maximum les faux négatifs.

Ces mélanges sont ensuite incubés 2 heures à 37 °C afin de faciliter la liaison des Acs au FVIII.

Un dosage de FVIII:C est réalisé sur ces mélanges. Le taux de FVIII résiduel est alors exprimé selon la formule suivante : FVIII résiduel = (FVIII mélange patient-tampon/FVIII mélange contrôle).

En cas de FVIII résiduel < 25 %, des pré-dilutions supplémentaires sont nécessaires.

Le titrage de l'inhibiteur est exprimé en unité Bethesda (UB). Une unité Bethesda correspond à la quantité d'Acs capable d'inhiber 50 % du FVIII dans 1 ml de plasma.

Ce titrage est calculé à l'aide d'une courbe, en reportant la valeur du FVIII résiduel, en tenant compte de la pré-dilution.

Le seuil de positivité actuellement admis est de 0,6 UB/mL.

Les Acs sont classés en faibles répondeurs ou forts répondeurs selon que leur titre est inférieur ou supérieur à 5 UB/mL.

Dans les années 1990, en raison d'une recherche plus intensive des inhibiteurs liée au développement des FVIII recombinants, une optimisation de la méthode Bethesda a été apportée : il s'agit de la méthode Nijmegen. Cette méthode modifie la méthode Bethesda afin d'en améliorer la sensibilité et la spécificité.

Les principales modifications sont les suivantes : le pH du plasma normal est tamponné à 7,4 et le tampon imidazole du mélange contrôle est remplacé par du plasma déficient en FVIII (figure 42). Les mélanges sont ensuite incubés 2 h à 37 °C puis un dosage du FVIII est ensuite réalisé. De la même manière que pour la technique Bethesda, l'inhibiteur est titré selon la pré-dilution et le taux de FVIII résiduel.

La méthode Nijmegen est actuellement considérée comme la méthode de référence par le sous-comité scientifique FVIII/FIX de l'International society on thrombosis and haemostasis [73].

Des recommandations pratiques sont fournies dans le tableau XIV. Les méthodes Nijmegen ou Bethesda possèdent néanmoins certaines limites.

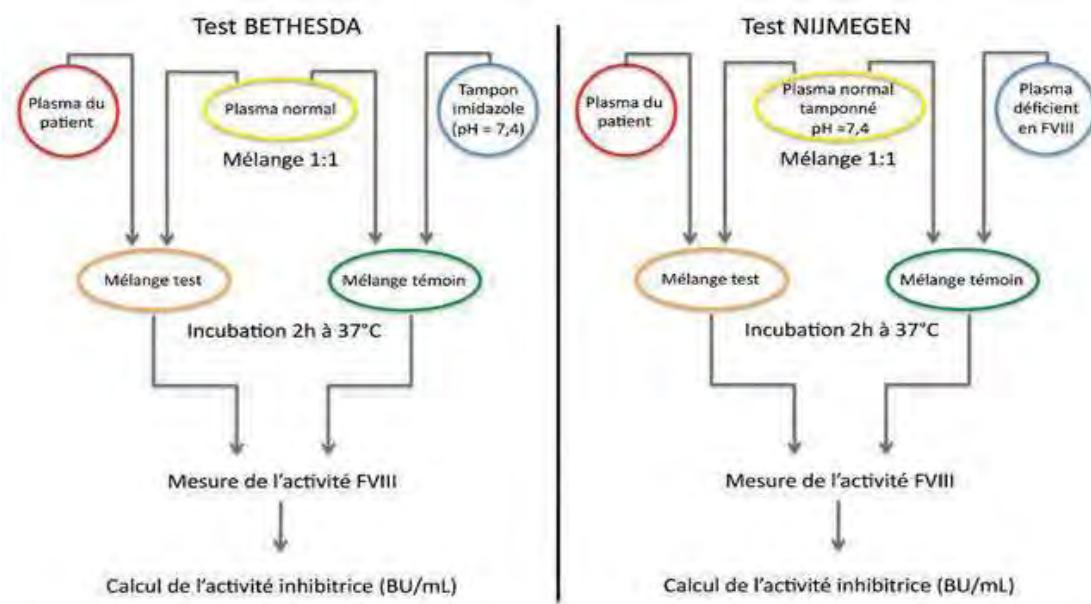


Figure 41 : Méthodes de détection et de titrage des anticorps anti-FVIII par les méthodes Bethesda et Nijmegen [104].

Les capacités inhibitrices des Acs anti-FVIII sont évaluées en dosant l'activité FVIII coagulante du mélange d'un plasma du patient avec un plasma normal. Les principales différences entre la méthode Bethesda et la méthode Nijmegen consistent en l'utilisation d'un plasma normal tamponné à pH 7,4 et d'un plasma déficient en FVIII dans la méthode Nijmegen. Une unité Bethesda correspond à la quantité d'anticorps capable d'inhiber 50 % de l'activité FVIII:C contenue dans 1 mL de plasma.

Tableau XIV : Recommandations pratiques pour la recherche d'inhibiteurs anti-FVIII. [104].

Inactivation du FVIII résiduel par la chaleur au bain marie : 58°C - 90 minutes minimum.
Débuter avec du plasma non dilué. Si une pré-dilution est nécessaire (FVIII résiduel < 25 %), diluer avec du plasma déficient en FVIII. Choisir la plus basse pré-dilution procurant un FVIII résiduel entre 25 et 50 %.
Utiliser un plasma déficient en FVIII contenant du facteur von Willebrand comme plasma contrôle.
Utiliser un plasma normal tamponné à 7,4 en imidazole contenant une activité FVIII proche de 100 %.
Incuber 2 h à 37°C au bain-marie avant le dosage de FVIII

Inactivation du FVIII résiduel par la chaleur au bain marie : 58°C - 90 minutes minimum.

Débuter avec du plasma non dilué. Si une pré-dilution est nécessaire (FVIII résiduel < 25 %), diluer avec du plasma déficient en FVIII. Choisir la plus basse pré-dilution procurant un FVIII résiduel entre 25 et 50 %.

Utiliser un plasma déficient en FVIII contenant du facteur von Willebrand comme plasma contrôle.

Utiliser un plasma normal tamponné à 7,4 en imidazole contenant une activité FVIII proche de 100 %.

Incuber 2 h à 37°C au bain-marie avant le dosage de FVIII.

Le principal diagnostic différentiel d'un inhibiteur anti-FVIII est la présence d'un anticoagulant lupique. En cas de doute, la recherche de cet anticoagulant lupique doit être systématiquement explorée, selon les recommandations internationales. En cas de présence d'un anticoagulant lupique, la recherche d'Acs anti-FVIII pourra être réalisée en changeant la méthode de dosage du FVIII:C par une méthode chromogénique. En effet, la méthode chromogénique n'est a priori pas perturbée par la présence d'un anticoagulant lupique.

Les résultats des contrôles de qualité internationaux montrent que ces méthodes de détections des Acs anti-FVIII souffrent encore d'une forte variabilité. Des mesures de standardisation sont encore nécessaires afin d'optimiser le diagnostic des Acs anti-FVIII. De nouvelles méthodes de recherche de ces Acs existent ou sont en cours de développement. Certaines

d'entre elles seront peut-être prochainement disponibles dans les laboratoires d'analyses spécialisées.

A-3.2 Autres méthodes [104]

Il existe d'autres techniques disponibles afin d'étudier la réponse humorale anti-FVIII. Ces techniques, parfois complexes, sont généralement disponibles dans de rares laboratoires de recherche. Elles permettent de mieux comprendre la physiopathologie de cette réponse humorale et de précisément caractériser les Acs anti-FVIII.

Quelques-unes de ces techniques, parfois innovantes, seront présentées ci-dessous. Cette liste ne se veut pas exhaustive mais représente plutôt un aperçu des outils permettant une analyse plus fine au niveau moléculaire des Acs anti-FVIII.

- La technique ELISA est une technique largement répandue dans de nombreux laboratoires. Certains kits de dosages ont été développés afin de détecter les Acs anti-FVIII. Cette méthode possède une bonne sensibilité et spécificité ainsi qu'une bonne valeur prédictive négative. Elle est néanmoins difficilement applicable en routine dans les laboratoires, en raison de sa consommation relativement élevée en plasma. Elle n'appartient pas, à ce jour, aux recommandations pour la recherche d'anti-FVIII mais il existe des études cliniques en cours visant à évaluer son intérêt en pratique clinique. De plus, la technique ELISA n'apporte que peu d'information supplémentaire car elle ne permet pas de caractériser de manière fine les épitopes reconnus par les Acs anti-FVIII.
- Les techniques d'immuno-empreinte ou d'immunoprecipitation ont permis les premières études sur la spécificité épitopique des Acs anti-FVIII. L'utilisation de fragments du FVIII générés suite aux clivages par la thrombine ou l'utilisation de fragments recombinants des différents domaines du FVIII ont permis de cartographier de manière précise des épitopes reconnus par les Acs anti-FVIII. Cependant, ces techniques ne permettent pas d'identifier des épitopes conformationnels (ou discontinus), représentant 90 % des épitopes reconnus par les Acs. Elles possèdent également certaines limites quant à la résolution de l'analyse épitopique en raison de l'absence de dissociation de la chaîne légère par la thrombine, par exemple.
- L'utilisation d'hybrides FVIII porcin/FVIII humain a également permis une localisation fine des épitopes au sein du FVIII. En effet, ces constructions chimériques basées sur le remplacement systématique de séquences homologues du FVIII humain par celles du FVIII porcin ont pour but d'identifier les résidus responsables de

différences antigéniques. Cependant, en raison des homologies de séquence entre le FVIII humain et le FVIII porcin, cette technique ne permet pas l'identification complète du répertoire épitopique du FVIII. De plus, cette technique n'est envisageable qu'au prix d'un lourd investissement matériel et de longues étapes de préparation des mutants, de purifications, la rendant, en pratique, peu accessible en routine.

- La technique Spot est basée sur l'utilisation d'une membrane de cellulose sur laquelle est fixée un grand nombre de peptides, généralement synthétisés à partir de la séquence peptidique de la protéine d'intérêt. Ces peptides sont ensuite immergés par une solution contenant les anticorps anti-FVIII et la liaison des Acs est révélée par un Acs marqué. Cet outil a permis l'identification de nombreux épitopes continus au sein du FVIII. En revanche, cette technique ne permet pas la caractérisation d'épitopes discontinus et nécessite une quantité importante de plasma.
- La technique de phage display consiste à faire exprimer par des phages des peptides aléatoires. Cette technique est très performante pour identifier d'éventuels épitopes conformationnels. Elle est bien adaptée au criblage d'épitopes reconnus par des anticorps monoclonaux. Néanmoins, elle est relativement longue et n'est pas très bien adaptée à l'étude des Acs polyclonaux contenus dans le plasma de certains patients hémophiles.
- La technique Luminex est également utilisée afin de rechercher et de caractériser les Acs anti-FVIII. Cette technique est basée sur l'utilisation de microbilles magnétiques possédant chacune une combinaison spécifique de marqueurs fluorescents. À la surface de ces billes, il est possible de coupler chimiquement des protéines d'intérêt (Acs, FVIII, peptides). Elle utilise le principe de la cytométrie en flux : un premier laser reconnaît le codage fluorescent de la bille et un second laser reconnaît l'anticorps secondaire marqué à la phycoérythrine.

En revanche, cet outil ne permet pas de distinguer le caractère inhibiteur ou non- inhibiteur d'un Acs. Du fait de la diffusion de plus en plus importante de la technologie Luminex dans les laboratoires de biologie médicale, cette technique pourrait s'avérer un outil intéressant pour une détection rapide des Acs anti-FVIII. Malheureusement à ce jour, il n'existe pas de kit standardisé, commercialisé et dédié à la détection des Acs anti-FVIII.

A-4 Traitement des anticorps anti-FVIII [5]

Le traitement est celui du syndrome hémorragique : il est alors identique à celui des antifacteurs VIII de l'hémophilie A :

Facteur VIII humain, quand le titre de l'inhibiteur est faible et chez un faible répondeur, ou facteur VIII recombinant.

Facteur VIII porcin, en l'absence d'immunogénicité croisée chez le patient.

Plasmaphérèse ou adsorption extracorporelle, pour diminuer le titre de l'inhibiteur chez le receveur.

Concentrés de complexe prothrombique, de FIX activé ou de FVII activé, qui court-circuitent l'inhibiteur du FVIII.

Le Minirin ou DDAVP, a également été utilisé pour traiter les anti-VIII du post- partum.

Le traitement peut aussi tendre à empêcher ou diminuer la synthèse des Acs anti-FVIII, par :

Les immunosuppresseurs : corticothérapie, cyclophosphamide, ou azathioprine.

De fortes doses d'immunoglobulines intraveineuses (IgIV) employées isolément ou en association avec du FVIII et du cyclophosphamide.

En induisant une tolérance immunitaire par l'injection de doses élevées et répétées de FVIII.

B- Les anticorps anti-FIX

B-1 Allo-Anticorps anti-FIX [104]

Les Allo-Acs anti-FIX sont relativement rares. Ils se développent chez 1 à 3 % des hémophiles B (9 à 23 % des hémophiles B sévères) [45]. Une des hypothèses retenues afin d'expliquer la plus faible incidence des anti-FIX, par rapport aux anti-FVIII, est la plus forte proportion de patients ayant un taux circulant de FIX antigène détectable supérieur au taux de FIX activité (patients cross reacting material (CRM) +). Le type de mutation (ponctuelle surtout) est directement responsable de ce phénotype et est donc directement lié au risque de développement d'un Allo-Acs anti-FIX. De plus, le FIX semble moins immunogène que le FVIII en raison de sa taille et de ses nombreuses homologies de séquence avec les autres facteurs vitamine K dépendant, conférant probablement une tolérance vis-à-vis de la réponse immunitaire. L'ethnie, le génotype de l'IL-10 ou du TNF alpha, le type de produit ne semblent pas être des facteurs de risque particuliers de développement d'un inhibiteur anti-FIX. L'apparition d'un Allo-Acs anti-FIX est souvent reliée à une manifestation allergique ou anaphylactoïde sévère. Le mécanisme de cette réaction n'est pas bien connu à l'heure actuelle, témoignant d'une réponse immunitaire particulière.

La réponse immunitaire anti-FIX semble polyclonale et cible plus particulièrement les domaines GLA et serine protéase. Les domaines EGF et le peptide d'activation ne semblent pas être la cible de ces Acs. Ces Acs bloquent l'interaction du FIXa avec le FVIIIa nécessaire à l'activation du FX via une interférence avec les phospholipides ou la chaîne légère du FVIII.

B-1.1 Diagnostic biologique [104]

- Il n'existe pas de recommandations particulières pour la détection de ces Acs. L'épreuve du mélange du TCA avec calcul de l'indice de Rosner peut être un premier test de dépistage.
- La méthode permettant la détection et le titrage des inhibiteurs anti-FIX est la méthode Bethesda en utilisant du plasma déficient en FIX. La variante Nijmegen pour la détection de ces Acs est parfois utilisée, mais sans validation comparable à celle appliquée aux Acs anti-FVIII. Les faibles incidences de l'hémophilie B et, qui plus est, du développement des Acs anti-FIX font que ces Acs sont peu étudiés et donc peu d'outils sont disponibles afin d'étudier leurs caractéristiques.

B-2 Auto-Anticorps anti-FIX [45]

Le développement d'Auto-Acs anti-FIX chez des patients indemnes de coagulopathie définit l'hémophilie B acquise.

L'incidence de l'hémophilie B acquise est tellement rare (quelques cas seulement décrits dans la littérature) qu'il est impossible de fournir des données chiffrées.

Elle est le plus souvent responsable d'un syndrome hémorragique parfois brutal. L'hémophilie B acquise peut être associée à des maladies auto-immunes, des néoplasies ou bien être idiopathique, sans étiologie associée.

Les méthodes de détection sont identiques à celles utilisées pour la détection des Allo-Acs anti-FIX.

B-3 Traitement des anticorps anti-FIX [5]

Dans la plus part des cas rapportés, l'anticorps anti-FIX disparaît spontanément en quelques mois en l'absence de stimulation antigénique. Le traitement est identique à celui des anticorps anti-FVIII. Il fait également appel à l'immunosuppression ou à des concentrés de facteurs activés en cas de problème hémorragique. En cas de titre élevé d'inhibiteur, on peut y associer les plasmaphérèses ou l'immunoabsorption extracorporelle.

6. Syndrome hémorragique secondaire aux accidents des anticoagulants

Les traitements anticoagulants sont très largement utilisés dans la prévention et le traitement de thromboses artérielles et veineuses. Ils peuvent être séparés en 2 groupes selon leur mode d'administration :

Les anticoagulants oraux : les antivitamines K (AVK) et les nouveaux anticoagulants oraux tels : dabigatran et rivaroxaban. Les anticoagulants injectables qui regroupent : les héparines non fractionnées (HNF), les héparines de bas poids moléculaire (HBPM), les inhibiteurs de la thrombine et le danaparoxide sodique.

Les complications les plus fréquentes de ces traitements sont les accidents hémorragiques. Elles sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité non négligeables et représentent un problème majeur de santé publique. Pourtant leur prévention est possible et facile à mettre en œuvre. D'autres complications doivent être bien connues, notamment les thrombopénies induites par les héparines.

6.1. Mécanisme d'action des anticoagulants

6.1.1 Mode d'action de l'héparine

L'héparine est un anticoagulant injectable qui intervient dans la cascade de coagulation conduisant à la formation du caillot de fibrine. En particulier, l'héparine est capable de se lier à l'antithrombine (ou antithrombine III), augmentant considérablement son inhibition endogène vis-à-vis de facteurs de la coagulation, en particulier les facteurs IIa (thrombine), Xa (facteur de Stuart) et XIIa (facteur Hageman). Il en résulte une activité anticoagulante immédiate et puissante qui dépend de la concentration d'héparine, de la concentration de l'antithrombine et de celles des facteurs de la coagulation [56].

6.1.2. Mode d'action des AVK

Les anticoagulants oraux sont historiquement représentés par les AVK qui bloquent la synthèse hépatique des facteurs vitamine K-dépendants, en particulier II et X, mais également VII et IX. Leur effet n'est observable qu'après quelques jours, le temps que les facteurs déjà présents soient éliminés. Cela implique de débuter le traitement par un anticoagulant injectable lorsqu'un effet thérapeutique immédiat est recherché.

6.1.3. Mode d'action des nouveaux anticoagulants oraux

Les nouveaux anticoagulants oraux ou « anticoagulants oraux directs » (AOD) sont des inhibiteurs directs des facteurs IIa (dabigatran) ou Xa (rivaroxaban, apixaban). Dans la mesure où les AOD bloquent l'activité enzymatique des facteurs (et non leur synthèse comme les AVK), leur effet est présent sans délai et ne requiert donc pas d'instauration préalable

d'anticoagulant injectable. Outre leur mécanisme d'action ciblé soit sur le FIIa, soit sur le FXa, les AOD se distinguent également par leurs propriétés pharmacocinétiques. Certains, tels que le dabigatran ou le rivaroxaban, sont principalement éliminés par voie rénale, alors que l'apixaban est majoritairement éliminé par voie biliaire après métabolisation [57].

6.2. Diagnostic biologique d'un accident des anticoagulants

La priorité est de reconnaître la gravité de l'hémorragie. Celle-ci est définie par la présence d'un des critères suivants :

- Abondance du saignement, appréciée notamment sur le retentissement hémodynamique (examen clinique, prise de pression artérielle) et l'hématocrite : le patient présente une instabilité hémodynamique si la pression artérielle systolique est inférieure à 90 mmHg ou diminuée de 40 mmHg par rapport à la pression artérielle systolique habituelle, ou si la pression artérielle moyenne est inférieure à 65 mmHg, ou devant tout signe de choc.
- Localisation pouvant engager un pronostic vital (système nerveux central, hémopéritoine) ou fonctionnel (œil, syndrome des loges).
- Hémorragie non contrôlable par les moyens usuels.
- Nécessité d'une transfusion de concentrés érythrocytaires.
- Nécessité d'un geste hémostatique en urgence [167].

6.2.1 Diagnostic du surdosage en héparine [90]

En dehors de la numération plaquettaire bihebdomadaire, l'évaluation ex vivo de l'effet biologique de l'HNF passe par la mesure communément admise de son action anticoagulante par le TCA. Ainsi, il est classiquement recommandé que le ratio TCA patient/TCA témoin soit de l'ordre de 2 à 4 en contexte curatif et de l'ordre de 1 à 1,5 en contexte prophylactique. Il existe une grande variabilité interindividuelle de l'effet selon la dose fixe utilisée et il existe une grande hétérogénéité des résultats selon les réactifs.

L'autre test classique pour surveiller l'héparinothérapie au cours des CEC est l'activated clotting time ou temps de coagulation activé (ACT). Ce monitorage est réalisé de manière automatisée au bloc opératoire sur un échantillon de sang total en présence d'un activateur de la phase contact de la coagulation (kaolin ou célite). Les valeurs-cibles restent débattues compte tenu des automates différents, des types de cartouches variables et des protocoles opératoires des diverses équipes.

Un troisième test classique est disponible pour déterminer l'activité anti-Xa plasmatique de l'héparine et qui est mal nommé « héparinémie ». En revanche, compte tenu

de la nécessité du délai court pour l'obtention du résultat, des automates de proximité permettent d'évaluer l'héparinémie en sang total par la mesure de l'activité anti-IIa par une méthode de titration à la protamine. Les valeurs-cibles sont là encore liées aux modes d'analyse et à la mesure de l'hématocrite.

Pour l'HNF :

Le diagnostic de surdosage se fait avec une mesure de l'anti-Xa supérieure à 1,2 UI/mL, justifiant l'interruption du traitement.

Pour l'HBPM :

Le dosage de l'activité anti-Xa supérieure à 1,8 UI/mL traduit un surdosage, justifiant d'interrompre le traitement.

6.2.2. Diagnostic du surdosage en AVK [6]

Le diagnostic du surdosage en AVK repose sur la détermination de l'INR.

Si l'introduction de l'INR a permis de s'affranchir des variations du TP liées à l'usage de différentes thromboplastines, il persiste des différences dans les modalités de détection du caillot (optique ou mécanique) entre les laboratoires. Ainsi, selon la méthode de mesure utilisée, certains éléments du plasma, comme les triglycérides, peuvent perturber la mesure de l'INR, rendant le suivi des patients sous AVK plus délicat. La connaissance de ces facteurs « perturbateurs » doit permettre d'adapter les méthodes de détermination de l'INR en fonction des pathologies associées du patient et de limiter ainsi l'iatrogénie liée aux traitements par AVK.

L'INR manque de fiabilité au-delà de 4,5, ces valeurs étant exclues des calibrations de l'ISI (Indice de sensibilité International). La relation logarithmique entre INR et TQ implique une augmentation exponentielle des valeurs d'INR, ces dernières ne reflétant plus correctement l'hémostase secondaire dans les valeurs extrêmes (moins de 1,5, plus de 4,5).

En pratique, la posologie recommandée en cas d'hémorragie grave est de 20 à 40 UI/kg d'équivalent facteur IX.

6.2.3. Diagnostic du surdosage en AOD

Pour rechercher une éventuelle accumulation de produit, il convient de connaître l'heure de prélèvement par rapport à l'heure d'administration ; il est préférable de mesurer l'activité anticoagulante résiduelle plutôt qu'au pic (2 à 4 h) car les concentrations au pic varient beaucoup d'un patient à l'autre.

Dabigatran

Parmi les tests usuels, le TCA est le plus sensible. Toutefois, les données obtenues avec des plasmas surchargés en médicament montrent un allongement du TCA avec l'augmentation des concentrations, mais cet allongement n'est pas linéaire (aplatissement de la courbe pour les fortes concentrations) et variable selon le réactif utilisé.

Le TP est peu sensible au dabigatran (avec également une variabilité importante).

Le TT est extrêmement sensible au dabigatran, trop pour être utile à la surveillance thérapeutique ; il peut néanmoins être utilisé pour éliminer toute prise de dabigatran s'il est normal.

Le test spécifique à utiliser pour le dabigatran est un temps de thrombine dilué ou un temps d'écarine. Ces tests nécessitent une calibration spécifique avec des calibrants disponibles, permettant une expression des résultats en ng/ml.

Rivaroxaban

Le TCA est peu sensible ; son allongement est faible aux doses thérapeutiques.

Le TP est plus sensible à cette molécule et sa diminution est linéaire avec l'augmentation des concentrations ; toutefois, la variabilité des résultats est très importante selon le réactif utilisé (ratios variant de 1 à 2,7). Il est recommandé, si le TP doit être utilisé pour la surveillance de cette molécule, de tester dans chaque laboratoire la sensibilité du réactif utilisé vis-à-vis de calibrants rivaroxaban.

Le test spécifique à privilégier est une mesure de l'activité anti-Xa, comme pour les HBPM, mais en utilisant des configuration/calibration spécifiques.

Des calibrants (et contrôles) sont disponibles permettant une expression des résultats en ng/ml.

Un certain nombre de kits sont disponibles, dont les mesures sont fiables entre 20 et 668 ng/ml (étude de Samama M.M.) ; toutefois, il faut noter une variabilité interindividuelle des dosages, notamment au pic d'activité.

NB : les méthodes de dosage d'anti-Xa avec ajout d'antithrombine exogène ne sont pas recommandées, car elles surestiment la concentration plasmatique de rivaroxaban.

Apixaban

Son comportement vis-à-vis des tests globaux est différent de celui du rivaroxaban : le TP et le TCA sont très peu sensibles aux doses thérapeutiques utilisées (ils sont souvent normaux pour des concentrations de médicaments de 100 à 200 ng/ml) et variables d'un réactif à l'autre. Il est donc nécessaire d'avoir recours à un test spécifique : des études sont en cours

actuellement avec 3 tests mesurant l'activité anti-Xa, pour obtenir une mesure fiable entre 200 et 800 ng/ml [55].

6.3. Conduite à tenir en cas de surdosage en anticoagulants

6.3.1. Conduite à tenir en cas de surdosage aux AVK[167]

Lors d'un traitement par AVK, la prise en charge d'un surdosage devra tenir compte de la demi-vie de l'AVK utilisé, de l'indication (en particulier en cas de valve mécanique, pour laquelle une correction totale de l'INR est redoutée) et des caractéristiques propres au malade (âge, risque hémorragique...). Les mesures de correction proposées sont progressives pour ne pas provoquer un risque de thrombose. La conduite à tenir est fonction de l'INR, de la présence d'une hémorragie et de sa gravité.

Les mesures correctrices recommandées aujourd'hui en cas de surdosage asymptomatique aux AVK sont fonction de l'INR mesuré et de l'INR cible (tableau XV). Dans tous les cas :

- Un contrôle de l'INR doit être réalisé le lendemain. En cas de persistance d'un INR supra-thérapeutique, les attitudes précédemment décrites seront reconduites.
- La cause du surdosage doit être identifiée et prise en compte dans l'adaptation éventuelle de la posologie.
- La présence d'une hémorragie grave, ou potentiellement grave (traumatisme crânien), définie selon les critères précédemment cités, nécessite une prise en charge hospitalière. La conduite à tenir recommandée inclut les étapes suivantes

Nécessité d'un geste hémostatique chirurgical, endoscopique ou endovasculaire : à discuter rapidement avec les chirurgiens et les radiologues (et après administration de l'antidote).

Restauration d'une hémostase normale dans un délai le plus bref possible (quelques minutes) : objectif d'un INR inférieur à 1,5. Pour cela, il faut :

- Arrêter la prise de l'AVK.
- Administrer en urgence un antidote rétablissant immédiatement une coagulation normale, à savoir un concentré de PPSB (Prothrombine, Proconvertine, facteurs Stuart, facteur antihémophilique B appelé aussi CCP, concentré de -complexe prothrombique = fraction coagulante extraite du plasma et contenant de la proconvertine ou facteur VII, de la prothrombine ou facteur II, du facteur Stuart ou facteur X et du facteur antihémophilique B ou facteur IX (25 UI/kg, 1 ml/kg) et de la vitamine K (10 mg) per os ou intraveineuse lente. Le PPSB corrige immédiatement le déficit de coagulation, mais de façon non durable du fait de la demi-vie courte des

facteurs injectés. L'effet antidote de la vitamine K est plus tardif (6 à 12 heures selon le mode d'administration), mais plus prolongé.

- Assurer simultanément le traitement usuel d'une éventuelle hémorragie massive (correction de l'hypovolémie, transfusion de concentrés érythrocytaires, si besoin...).
- Reprendre le traitement par AVK dans un délai établi en fonction du risque de récidive hémorragique et du risque thrombotique. En cas d'administration de vitamine K à dose élevée, il faut s'attendre à ce que le patient devienne résistant aux AVK pendant au moins une semaine. S'il existe un risque thrombotique, le recours à un médicament anticoagulant de type HNF ou HBPM sera donc proposé, en adaptant la durée de ce traitement à l'état de résistance du patient.

Tableau XV : Surdosage aux AVK : conduite à tenir [167].

INR mesuré	Mesures correctrices	
	INR cible 2,5	INR cible $\geq 3,5$
INR < 4	<ul style="list-style-type: none"> • Pas de saut de prise. • Pas d'apport de vitamine K. • Diminuer la dose d'AVK. 	
4 \leq INR < 6	<ul style="list-style-type: none"> • Saut d'une prise. • Pas d'apport de vitamine K. 	<ul style="list-style-type: none"> • Pas de saut de prise • Pas d'apport de vitamine K.
6 \leq INR < 10	<ul style="list-style-type: none"> • Arrêt du traitement 1 à 2 mg de vitamine K par voie orale. 	<ul style="list-style-type: none"> • Saut d'une prise. • Un avis spécialisé est recommandé pour discuter un traitement éventuel par 1 à 2 mg de vitamine K par voie orale.
INR ≥ 10	<ul style="list-style-type: none"> • Arrêt du traitement 5 mg de vitamine K par voie orale. 	<ul style="list-style-type: none"> • Un avis spécialisé sans délai ou une hospitalisation sont recommandés.

6.3.2. Conduite à tenir en cas de saignement au cours d'un traitement héparinique

- L'héparine est un médicament anticoagulant susceptible d'entraîner des incidents hémorragiques dans 1 à 4 % des cas, au cours des traitements curatifs.
- Evaluer la gravité de l'accident : examen clinique, hématocrite, prise de la tension. Vérifier s'il y a eu erreur de dose, contrôler le TCA (héparine standard), ou l'activité anti-Xa (HBPM).

- Savoir que la demi-vie de l'héparine standard est d'environ 1h (voie intraveineuse : IV) ou 2h (voie sous-cutanée : SC) et que celle des HBPM (voie SC) est d'environ 4h.
- En fonction de toutes ces données, évaluer l'intérêt d'administrer par voie IV du sulfate de protamine (antidote). La dose est de 1mg pour 100 U d'héparine injectée. Compte tenu de la demi-vie de l'héparine et du moment où le diagnostic du syndrome hémorragique est fait, la dose de sulfate de protamine à injecter par voie IV est inférieure à la dose d'héparine administrée. Le sulfate de protamine peut entraîner une réaction anaphylactique.
- La dose de sulfate de protamine peut être administrée en deux injections SC lorsque l'héparine à neutraliser a été délivrée par voie SC, afin de tenir compte de la résorption retardée de l'héparine.
- Le sulfate de protamine neutralise complètement l'héparine standard et incomplètement les HBPM. Toutefois, les règles d'utilisation sont identiques dans les deux cas [167].

6.3.3. Autres anticoagulants

Les nouveaux anticoagulants, comme les héparines et les AVK, induisent un risque hémorragique. Il faut retenir que le fondaparinux, pentasaccharide de synthèse, ne peut pas être neutralisé par le sulfate de protamine. Aucun antidote spécifique n'est disponible pour ce produit, ni pour les nouveaux anticoagulants oraux, dabigatran et rivaroxaban.

CONCLUSION

L'hémostase peut être définie comme un processus physiologique assurant la prévention des saignements spontanés et la formation d'un thrombus pour arrêter une hémorragie apparue lors de la rupture de la continuité de la paroi vasculaire.

Les syndromes hémorragiques présentent toujours un caractère de gravité. Ces syndromes concernent des anomalies de l'hémostase, dite primaire ou secondaire, et peuvent être constitutionnelles ou acquises.

Le diagnostic repose sur l'anamnèse, l'examen clinique, et le bilan biologique de l'hémostase. Toutes les trois notions sont fondamentales pour dépister, prouver, caractériser cette anomalie. L'interrogatoire est essentiel et constitue le premier temps obligatoire de la demande diagnostique. Son but est de préciser le type de syndrome hémorragique et de regrouper les éléments en faveur d'une étiologie constitutionnelle ou acquise. L'examen clinique évalue l'intensité de l'anomalie et l'urgence de la situation, et oriente l'exploration biologique. Il est complété par un examen général et recherche des signes de gravité.

Le bilan de l'hémostase nous permettra de différencier une anomalie de l'hémostase primaire et de la coagulation d'une anomalie congénitale ou acquise.

La sémiologie en cas de contexte clinique hémorragique est importante, car elle permet de mieux définir la stratégie du diagnostic biologique avec une étude de la coagulation basée sur des tests complémentaires.

La biologie permet d'affirmer le diagnostic, mais elle n'est pas toujours standardisée, avec des variations possibles liées aux réactifs utilisés et aux modalités pratiques de réalisation. L'analyse soigneuse et croisée de ces tests de coagulation, complétée par le dosage spécifique des facteurs en seconde intention et le recours à des centres spécialisés, est indispensable pour définir l'attitude thérapeutique ou prophylactique consécutive au diagnostic biologique.

De nouveaux questionnaires standardisés permettent d'évaluer les symptômes présentés par les patients et d'orienter le bilan biologique.

De nombreux traitements sont à disposition pour diminuer le risque hémorragique, mais les risques (en particulier thrombotiques) dus au traitement préventif, doivent être bien pesés par rapport au risque hémorragique éventuel.

Notre espoir est de faire profiter nos patients des acquisitions récentes en matière de diagnostic et de traitement des maladies hémorragiques.

