HEMOSTASE
ET
CIRCULATION EXTRACORPORELLE

Particularités liées à la pédiatrie

D. LASNE, Laboratoire d'hématologie, hôpital Necker

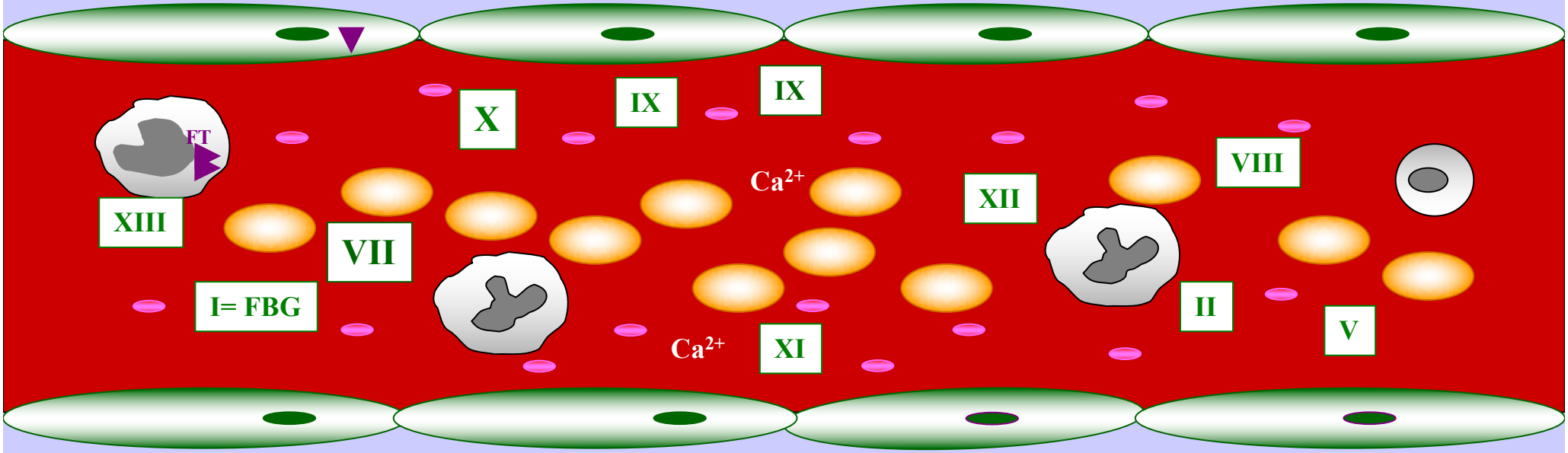
11 Janvier 2018

Intervention chirurgicale sous CEC

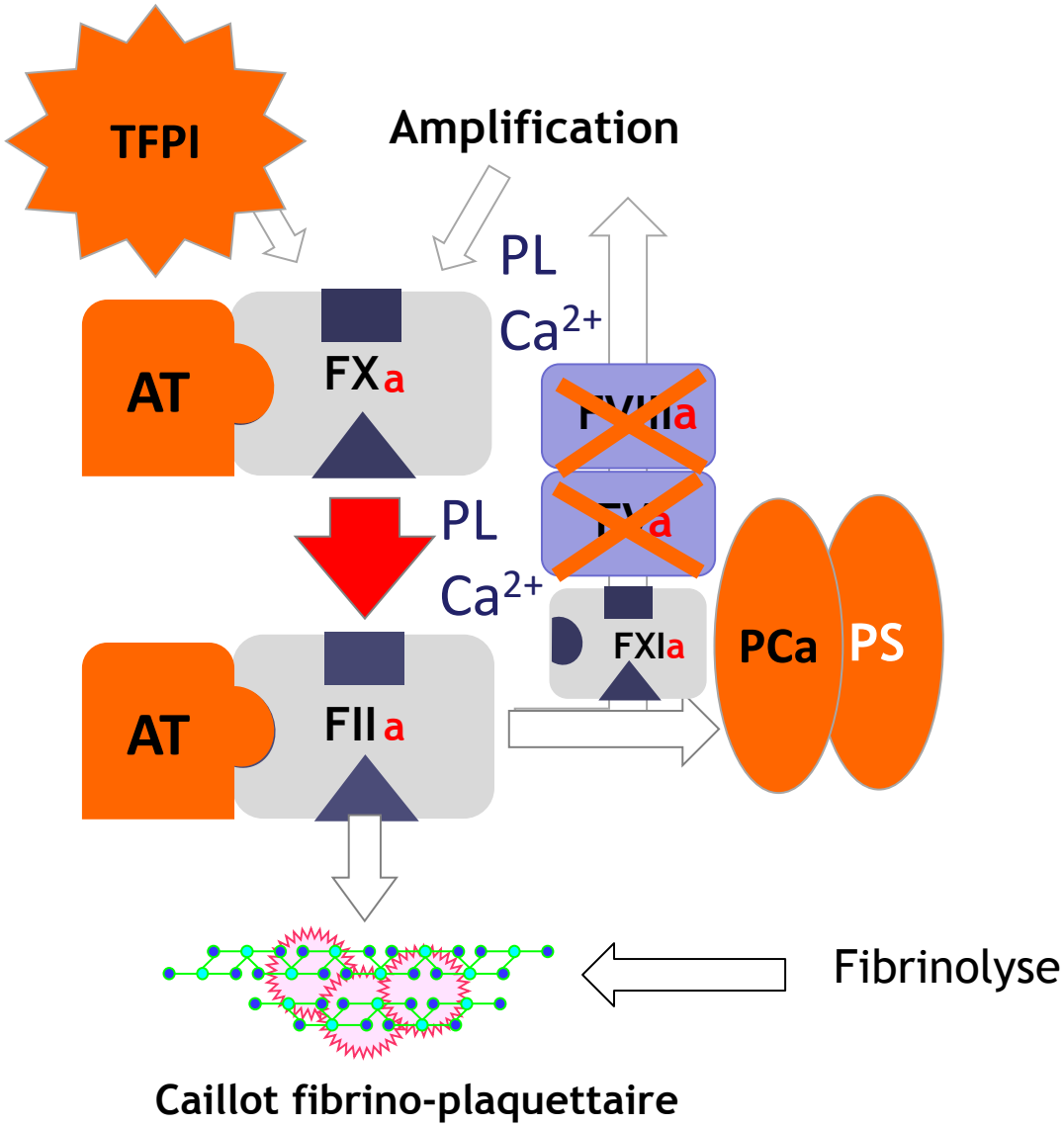
- Sang en contact avec des composants non physiologiques thrombogènes (circuits et membranes de CEC, gaz extérieurs…)
- Hypothermie plus ou moins marquée
- Hémodilution
- Récupération sanguine par aspiration
- Exposition de surfaces biologiques thrombogènes (tissus extravasculaires intacts ou lésés)

Activation de la coagulation

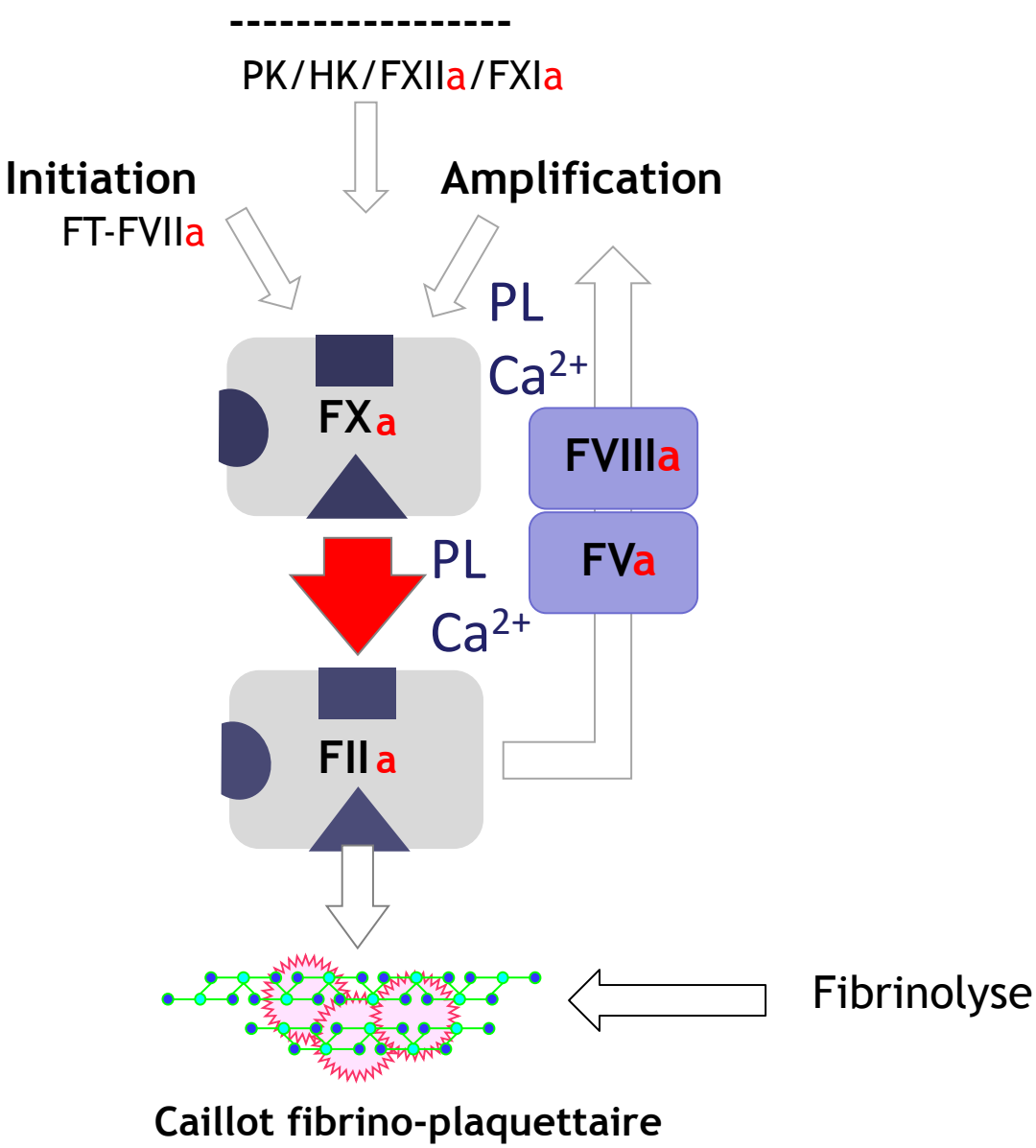
Le système de la coagulation

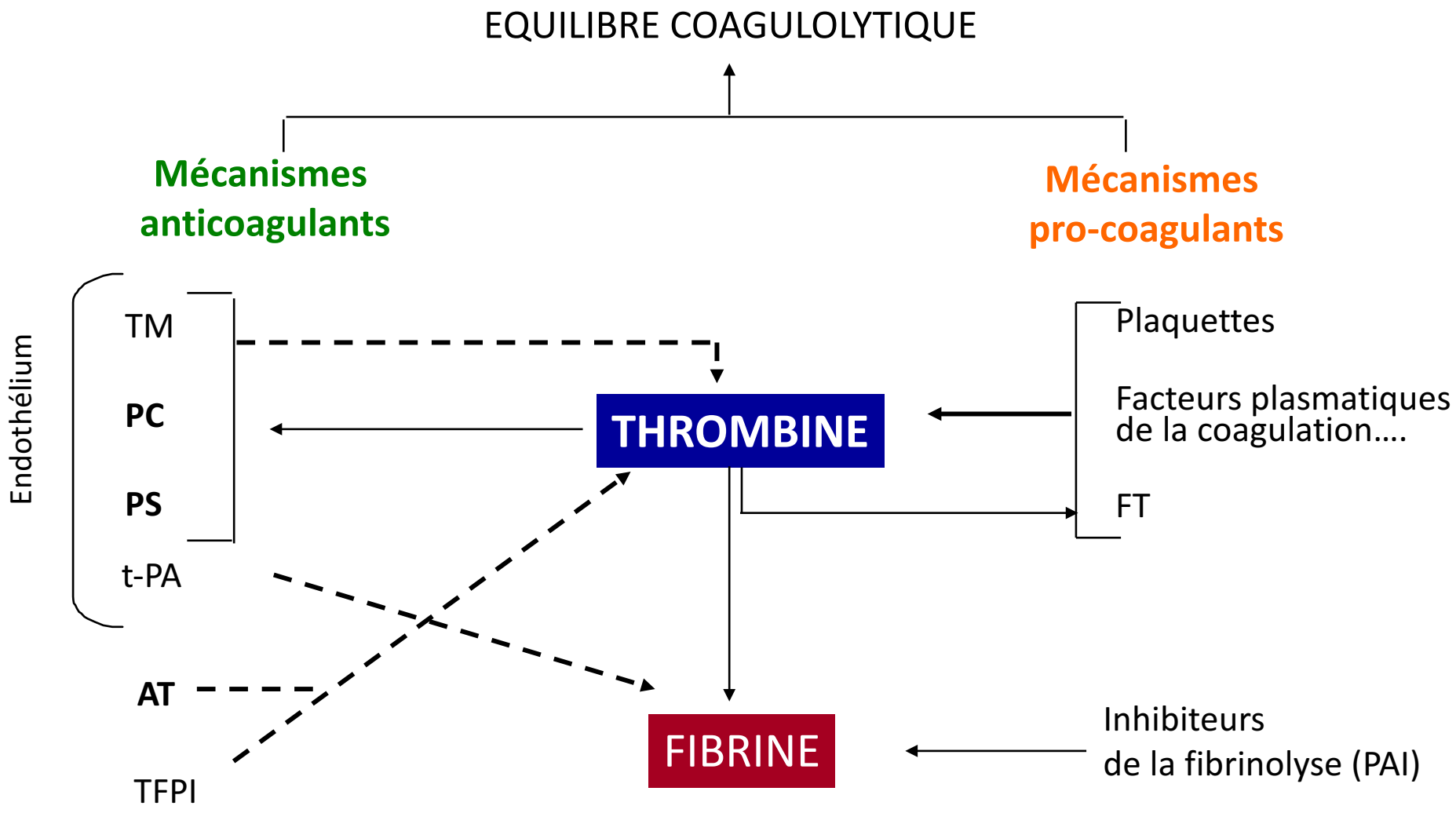


La coagulation et sa régulation



Système contact et CEC




EQUILIBRE COAGULOLYTIQUE
Mécanismes anticoagulants
Mécanismes pro-coagulants
Endothélium
TM
PC
PS
t-PA
AT
TFPI
THROMBINE
FIBRINE
Plaquettes
Facteurs plasmatiques de la coagulation….
FT
Inhibiteurs de la fibrinolyse (PAI)

L'hémostase pédiatrique

- Système dynamique profondément influencé par l'âge

The influence of developmental haemostasis on the laboratory diagnosis and managment of haemostatic disorders during infancy and childhood.
Maureen Andrew, MD et al. Clinics in Laboratory Medecine. 1999 ; 19 : 39-69

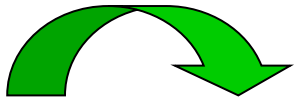
- Equilibre propre au Nné, au nourrisson et à l'enfant

Coagulation Testing in Pediatric Patients: The Young Are Not Just Miniature Adults. *Giuseppe Lippi, et al. Semin Thromb Hemost. 2007 ; 33 : 816-20*

Hémostase du Nné et de l'enfant

Forte influence de l'âge (gestationnel et post natal) sur la maturation des différentes composantes de l'hémostase

- Maturation progressive jusqu'à l'âge de 6 mois, voire jusqu'à adolescence
- Maturation accélérée chez l'enfant prématuré : les taux des protéines de la coagulation atteignent des valeurs similaires à celles des enfants nés à terme vers l'âge de 6 mois



Variations qualitatives et quantitatives
Valeurs de références spécifiques

Toulon P et al, Thromb & Haemost. 2016

Equilibre hémostatique propre au nouveau né et à l'enfant

- **Nouveau né : tendance à l'hypercoagulabilité**
  - ✓ Diminution physiologique des inhibiteurs de la coagulation (AT, PC, PS)
  - ✓ Augmentation des concentrations de VWF et FVIII
  - ✓ Augmentation de l'hématocrite
- **Enfance**
  - ✓ Génération de thrombine retardée et diminuée
  - ✓ Protection contre la thrombose
- **Adolescence**
  - ✓ Adolescentes : augmentation du risque thrombotique

Conséquences épidémiologiques et sur la réponse au traitement anticoagulant

Cvirn G et al. J Thromb Haemost. 2003
Monagle P et al, Thromb & Haemost. 2006

Maturation de l'hémostase

Vie fœtale

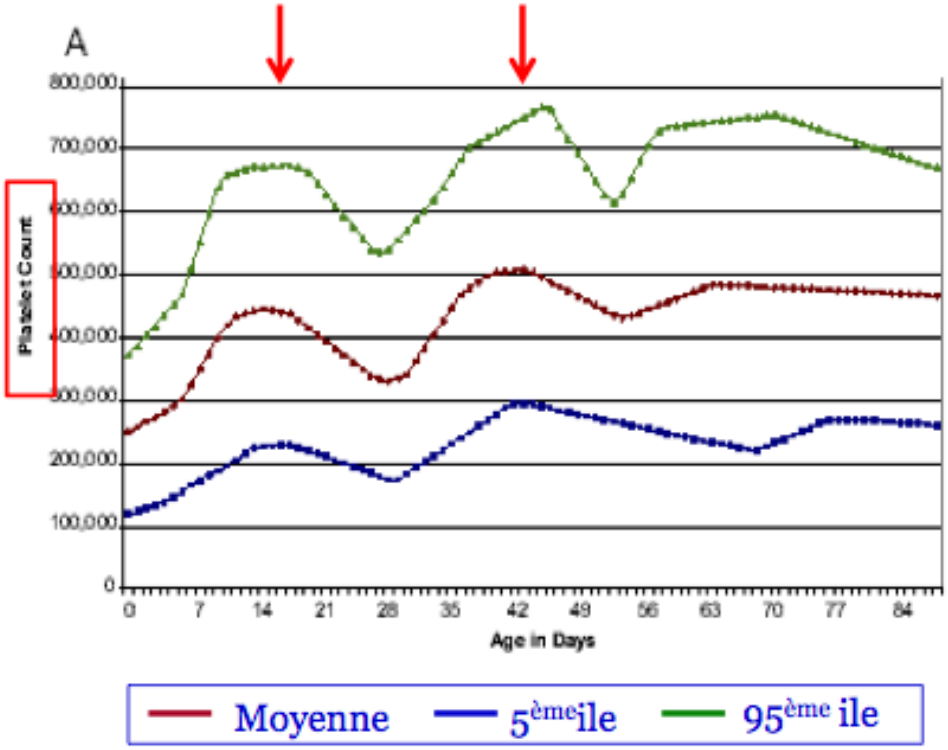
- ✓ Plaquettes : nombre normal dès la 18ème semaine de grossesse
- ✓ Facteurs de la coagulation détectables dès la 5ème semaine de grossesse
- ✓ Coagulation du sang fœtal : 11 semaines de gestation
- ✓ Maturation du foie fœtal
- ✓ Constitution des réserves en vitamine K

Période néonatale

- ✓ Immaturité hépatique physiologique
- ✓ Clairance augmentée des protéines de la coagulation
- ✓ Carence en vitamine K : faible passage transplacentaire de la vitamine K faible concentration en vitamine K du lait maternel et absence de flore intestinale endogène dans les premiers jours de vie (vitamine K2)

Hémostase primaire

- Hyperplaquettose physiologique en période postnatale et chez le nourrisson. VMP normal. *Christensen R. Seminars in Perinatology. 2009*

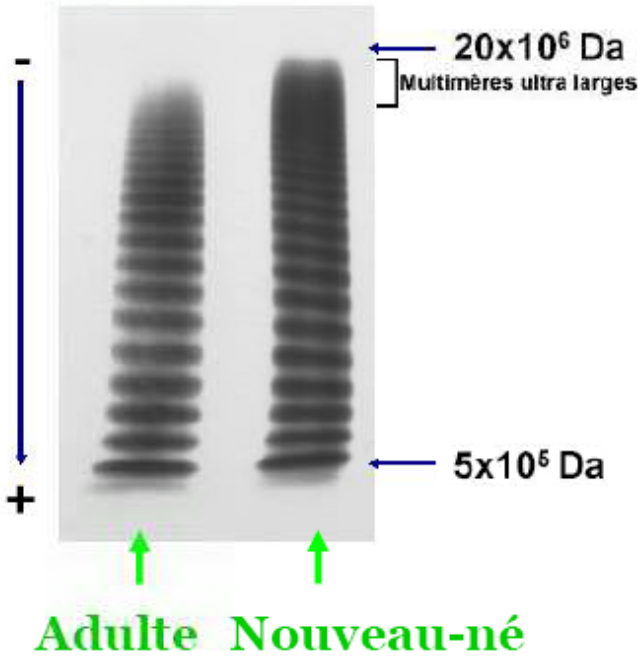


- Hyporéactivité plaquettaire chez le Nné et l'enfant.

Hézard N. Thromb Haemost 2003; 90 : 116-23

- Facteur Willebrand
  - concentrations élevées les premiers mois de vie
  - Nné : augmentation des formes de très haut PM
  - Nadir vers 1 an
  - Pas d'influence du groupe sanguin chez les enfants de moins de 1 an

Appel IM. J Thromb Haemost 2012;10:2254-63



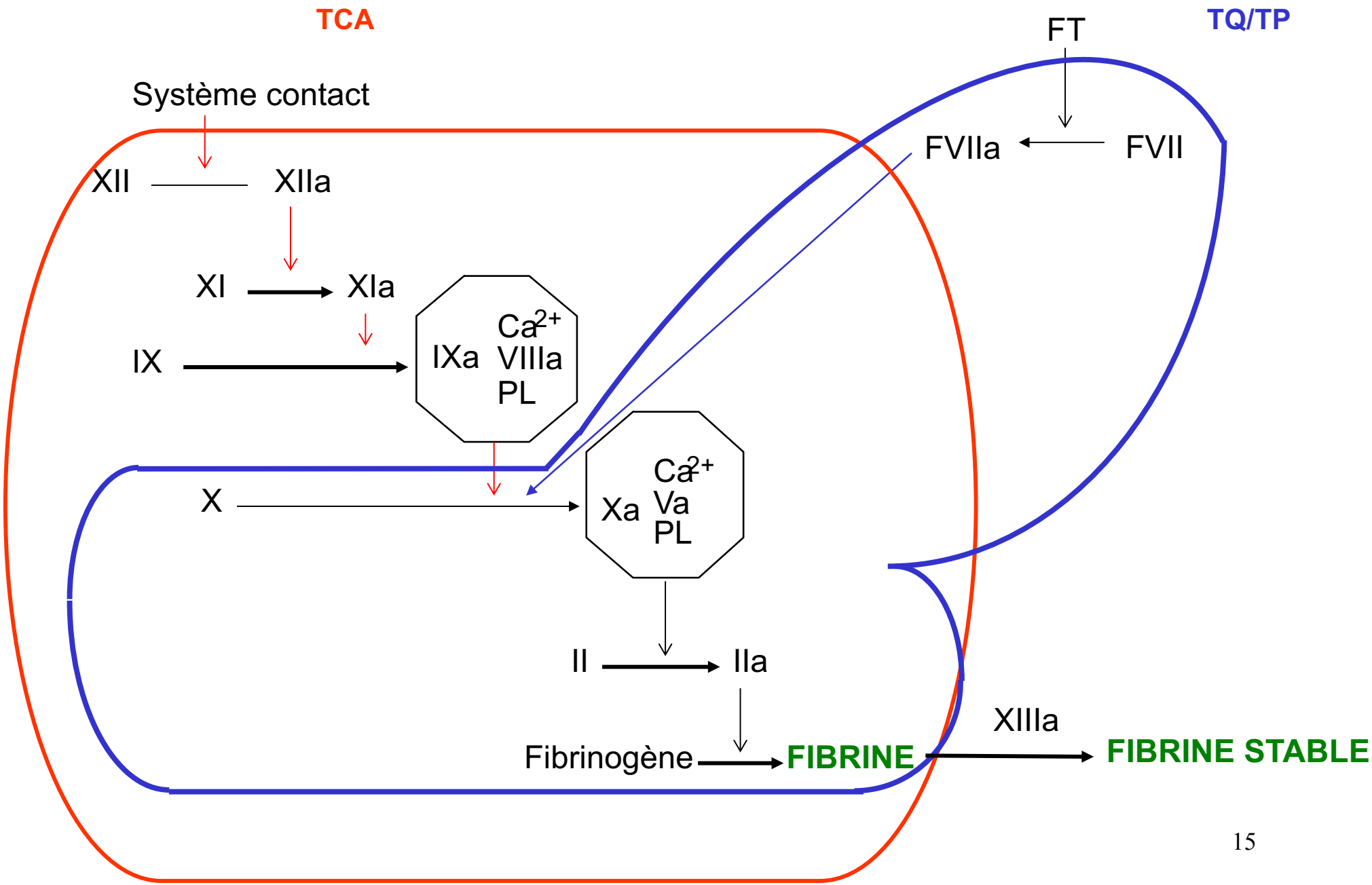
Facteurs de la coagulation

Facteurs	Naissance	Valeurs adultes
Facteurs vitamine K dépendants (II, VII, IX, X)	↓	Qq jours à 6 mois Plus tard pour le IX
Phase contact (PK, KHPM, FXII, FXI)	↓	4 à 6 mois
FV, FXIII Fibrinogène	Normaux Normal	
FVIII VWF	↑	Qq jours Qq semaines

Andrew M. Blood. 1990; 12:95-104
Toulon P et al, Thromb & Haemost. 2016

Consequences sur les examens d'hémostase

- TCA souvent allongé jusqu'à l'âge de 3 mois
- TQ allongé (TP diminué) et mal corrélé aux concentrations de facteurs à la naissance
- Tests globaux peu informatifs chez le Nné


TCA
TQ/TP
FT
Système contact
FVIIa
FVII
XII
XIIa
XI
XIa
IX
IXa
Ca2+
VIIIa
PL
X
Xa
Ca2+
Va
PL
II
IIa
XIIIa
Fibrinogène
FIBRINE
FIBRINE STABLE

Inhibiteurs de la coagulation

Facteurs	Naissance	Valeurs adultes
Antithrombine	↓	3 mois
Protéine C	↓	2 à 3 ans voir plus tard
Protéine S	Légèrement ↓	3 mois
Alpha2 macroglobuline	↑↑	16 ans

Andrew M. Blood. 1990; 12:95-104

Valeurs de référence pédiatriques des principales analyses en Hémostase

Laboratoire d'Hématologie Générale - Hôpital Necker Enfants Malades

Libellés		Unités	Normes pédiatriques				
			0 à 30 jrs	30 à 90 jrs	90 à 180 jrs	180 j à 1 an	1 à 15 ans
Taux de prothrombine		%	Non Fait	>70			
INR			Zone thérapeutique : fonction de l'indication chez les patients sous anticoagulant oraux				
Facteur II		%	>25	>35	>50	60-140	
Facteur V		%	>40	>50	60-140		
Facteur VII		%	>30	>40	>50	60-140	
Facteur X		%	>20	>35	60-140		
Temps de céphaline + activateur (réactif CK Prest)		ratio	Ratio temps du malade/temps du témoin < 1,2				
Facteur VIII		%	>80	>70*		60*-150	
Facteur IX		%	>20		>40	>50	
Facteur XI		%	>25		>50	60-140	
Facteur XII		%	>15	>25		60-140	
Dosage du fibrinogène (Clauss)		g/L	1,5 à 3,5				
Temps de thrombine		sec	< Témoin + 6				
Temps de reptilase		sec	< Témoin + 6				
Dosage des D-Dimères		ng/ml	<500				
Recherche de complexes solubles			absence				
Temps de lyse des euglobulines		h	> 3				
Temps de lyse plasmatique		h	> 48				
Antithrombine		%	>40	>50	80-120		
Protéine C (activité)		%	>25	>40	50-120		
Protéine S (activité)		%	>20	>50		60-120	
Inhibiteur de type lypique	Rosner	%	<15				
	dRVVT (ratio)	ratio	<1,2				
Facteur XIII		%	>50				
PFA (temps d'occlusion)	ADP	sec					60-100
	EPI						75-150
Prothrombine résiduelle		%	<5				
Facteur von Willebrand activité (VWFRCo)		%	>100	>70*			50*-150
Facteur von Willebrand antigène		%	>100	>70*			50*-150
Anticorps anti facteur VIII ou anti IX		UB/ml	<0,6				
Agrégation plaquettaire (INT)	Spontannée	% max d'agre	absence				
	Collagène 0,8 µg/ml		> 50 + aspect des courbes				
	ADP 5 µM		> 50 + aspect des courbes				
	Acide ARA 0,6 mM		> 50 + aspect des courbes				
	Ristocétine 1,2 mg/ml		> 50 + aspect des courbes				
Glycoprotéines plaquettaires*	CD 41 (GPIIb)	Nombre de sites/plaquette	Cf normes adultes et interpréter en fonction de la référence de Hézard et al, thrombosis and haemostasis, Thromb Haemost. 2003 Jul;90(1):116-23				
	CD 42 (GPIb)						
	CD 62 P (GMP140)						

Decembre 2017

* des valeurs plus basses peuvent etre observées chez les sujets de groupe sanguin O, excepté chez les nouveau-nés

Bilan pré-CEC en pédiatrie

- Évaluation du risque hémorragique en préopératoire difficile chez le nouveau né :

- Importance de l'interrogatoire à la recherche d'ATCD **familiaux**
- Difficultés de prélèvement
- Facteur II, V, VII, X plutôt que le TQ
- TCA associé si nécessaire au dosage des facteurs VIII, IX, XI $\pm$ *XII* (en fonction du résultat du TCA **ou** de l'interrogatoire familiale)
- Fibrinogène
- Importance de la numération plaquettaire. Pas de tests rapides et faibles pour évaluer la fonction plaquettaire

- Importance de l'ACT avant héparinisation

Surveillance per-CEC

Sang sous CEC

Mécanismes anticoagulants

Mécanismes pro-coagulants

1. Activation de la coagulation risque de « caillotage » du circuit

Jaggers et al, Ann Thorac Surg, 1999, 13:330-45

Sang sous CEC

+ anticoagulation

Mécanismes anticoagulants

Mécanismes pro-coagulants

2. Perturbation de l'hémostase

Hémodilution
Consommation
Activation de la fibrinolyse

→ Risque hémorragique

Challenge au cours des CEC

Eviter la thrombose et l'hémorragie per et post CEC

1. Anticoagulation adéquate du circuit de CEC

2. Maintenir l'équilibre coagulolytique

→ Médicaments hémostatiques

→ Transfusion de MDS

Anticoagulation du circuit de CEC

Héparine Non Fractionnée (HNF) : anticoagulant de référence

Délai d'action et demi-vie courts

Neutralisation par la protamine

Peu d'effets secondaires indésirables (TIH mais rare en pédiatrie)

Très grandes variations individuelles en réponse à une dose fixe d'héparine +++ encore plus importantes chez l'enfant (taux d'AT variable chez Nnés, hémodilution...)
En pédiatrie, sensibilité plus faible à l'héparine que l'adulte.

↓

Nécessité d'une surveillance adaptée de l'HNF en cours de CEC.

Protocoles d'anticoagulation par l'HNF pendant la CEC

Pas de consensus

Le plus souvent : **Dose initiale de 300 à 400 UI/Kg avant la CEC**

perfusion continue ou bolus additionnels si le test de surveillance indique une insuffisance d'anticoagulation

Difficulté de réaliser cette surveillance dans les laboratoires centraux :

→ **Nécessité d'obtention rapide des résultats**

→ **Concentrations élevées d'héparine**

↓

Le plus souvent, surveillance par des tests de biologie délocalisée, dont le plus répandu est l'ACT ou « Activated Clotting time »

L'ACT : temps de coagulation global

- Mesure le temps de coagulation du sang total activé par de la célite (CACT) ou du kaolin (KACT) à 37° C en présence de calcium

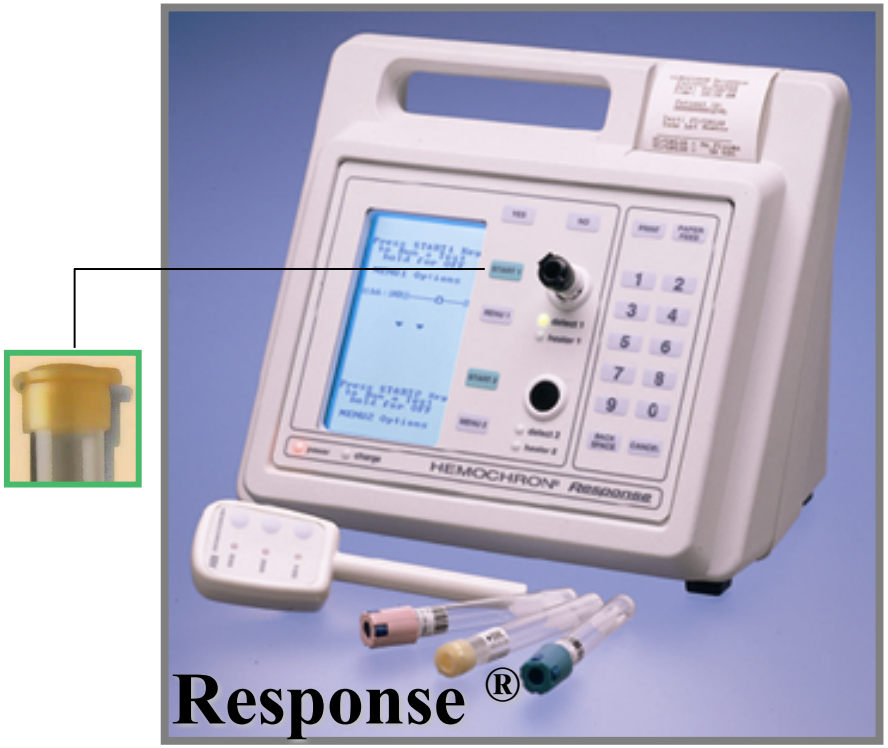
- Mesure surtout l'action anti-IIa de l'HNF : reflet de l'anticoagulation du patient

- Très simple d'utilisation et fiable sous réserve de bien respecter les règles de maintenance et de contrôles indiquées par le fabriquant (décret 2001-1154 du 05 Déc 2001) .

  Maintenance = nettoyage régulier, vérification de T, CIQ

- Nombreux appareils : ACT Plus (Medtronic), Hemochron (ITC, Gamida)…

Les Moniteurs Hemochron



Response ®

Jr Signature ®

Hemochron Elite

FA132759 ISSN 0335-3931

norme européenne
norme française

NF EN ISO 22870
Mai 2006

Indice de classement : **S 92-063**

ICS : 03.120.10 ; 11.100.01

Analyses de biologie délocalisées (ADBD)

Exigences concernant la qualité et la compétence

E : Point-of-care testing (POCT) — Requirements for quality and competence
D : Patientennahe Untersuchungen (point-of-care testing, POCT) — Anforderungen an Qualität und Kompetenz

Norme française homologuée

par décision du Directeur Général d'AFNOR le 5 avril 2006 pour prendre effet le 5 mai 2006.

Correspondance La Norme européenne EN ISO 22870:2006 a le statut d'une norme française. Elle reproduit intégralement le norme ISO 22870:2006.

Analyse

Le présent document fournit des exigences spécifiques applicables aux analyses de biologie délocalisée, et est destiné à être utilisé conjointement à l'EN ISO 15189 «Laboratoires d'analyses de biologie médicale — Exigences particulières concernant la qualité et la compétence».

Descripteurs

Modifications

Corrections

Éditée et diffusée par l'Association Française de Normalisation (AFNOR) — 11, rue Francis de Pressensé — 93571 La Plaine Saint-Denis Cedex
Tél. : + 33 (0)1 41 62 80 00 — Fax : + 33 (0)1 49 17 90 00 — www.afnor.fr

© AFNOR 2006 — Tous droits réservés

© AFNOR 2006 AFNOR 2006 1er tirage 2006-05-P

Ann Biol Clin 2015 ; 73 (2) : 225-54

Recommandations pour l'accréditation de l'*Activated clotting time* (ACT) pour la surveillance de l'anticoagulation par l'héparine non fractionnée selon la norme EN ISO 22870

Guidelines for certification of Activated clotting time (ACT) according to the EN ISO 22870 standards

Dominique Lasne[1]
Anne Bauters[2]
Agnès Le Querrec[3]
Carole Bourdin[1]
Sophie Voisin[4]

[1] Laboratoire d'hématologie, Hôpital Necker, Paris, France
<dom.lasne@nck.aphp.fr>

[2] Laboratoire d'hématologie A, Hôpital cardiologique, Lille, France

[3] Laboratoire d'hématologie, CHU Côte de Nacre, Caen, France

[4] Laboratoire d'hématologie, Hôpital Rangueil, Toulouse, France

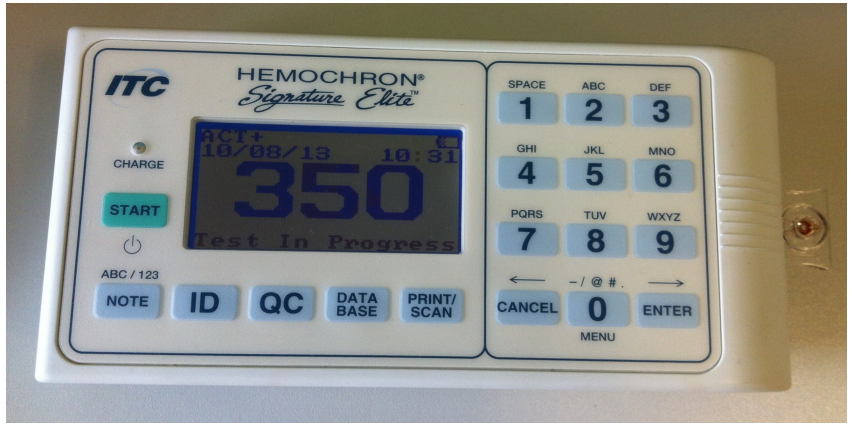
Groupe de relecture

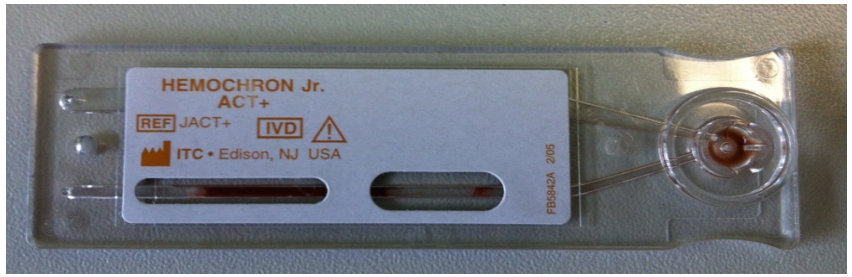
Marie-Françoise Aillaud (biologiste, Marseille), Elodie Boissier (biologiste,

Résumé. Les examens de biologie médicale délocalisés (EBMD) sont encadrés par les exigences de la norme EN ISO 22870 et de la réforme de la biologie médicale qui les placent sous la responsabilité des biologistes. L'*Activated clotting time* (ACT) est un test sur sang total réalisé uniquement en délocalisé, indispensable pour surveiller l'anticoagulation par l'héparine, principalement en chirurgie cardiaque avec circulation extracorporelle (CEC) et en cathétérisme cardiaque. Pour aider les comités de biologie délocalisée des établissements de santé, les unités de soins et les biologistes, à se mettre en conformité avec la réglementation, nous présentons les recommandations de la sous-commission « CEC et biologie délocalisée » du Groupe d'étude d'hémostase et thrombose pour l'accréditation de l'ACT. Elles reposent sur les recommandations de la Société française de biologie clinique (SFBC), sur l'analyse de la littérature pour justifier le besoin clinique et pour évaluer les performances analytiques des analyseurs utilisés en France, et sur une enquête de pratiques réalisée auprès de biologistes de centres hospitaliers français et belges.

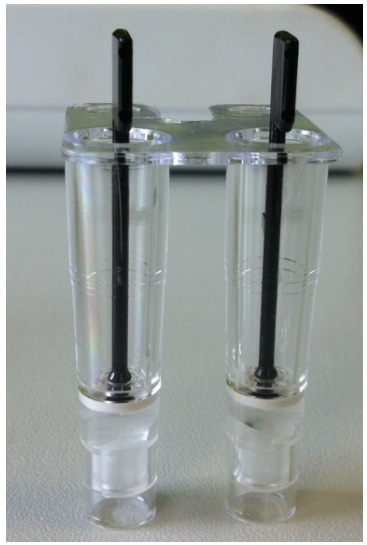
Mots clés : *ACT, examen de biologie délocalisée, norme EN ISO 22 870, hémostase*

Hemochron Signature ELITE (Gamida/ITC)



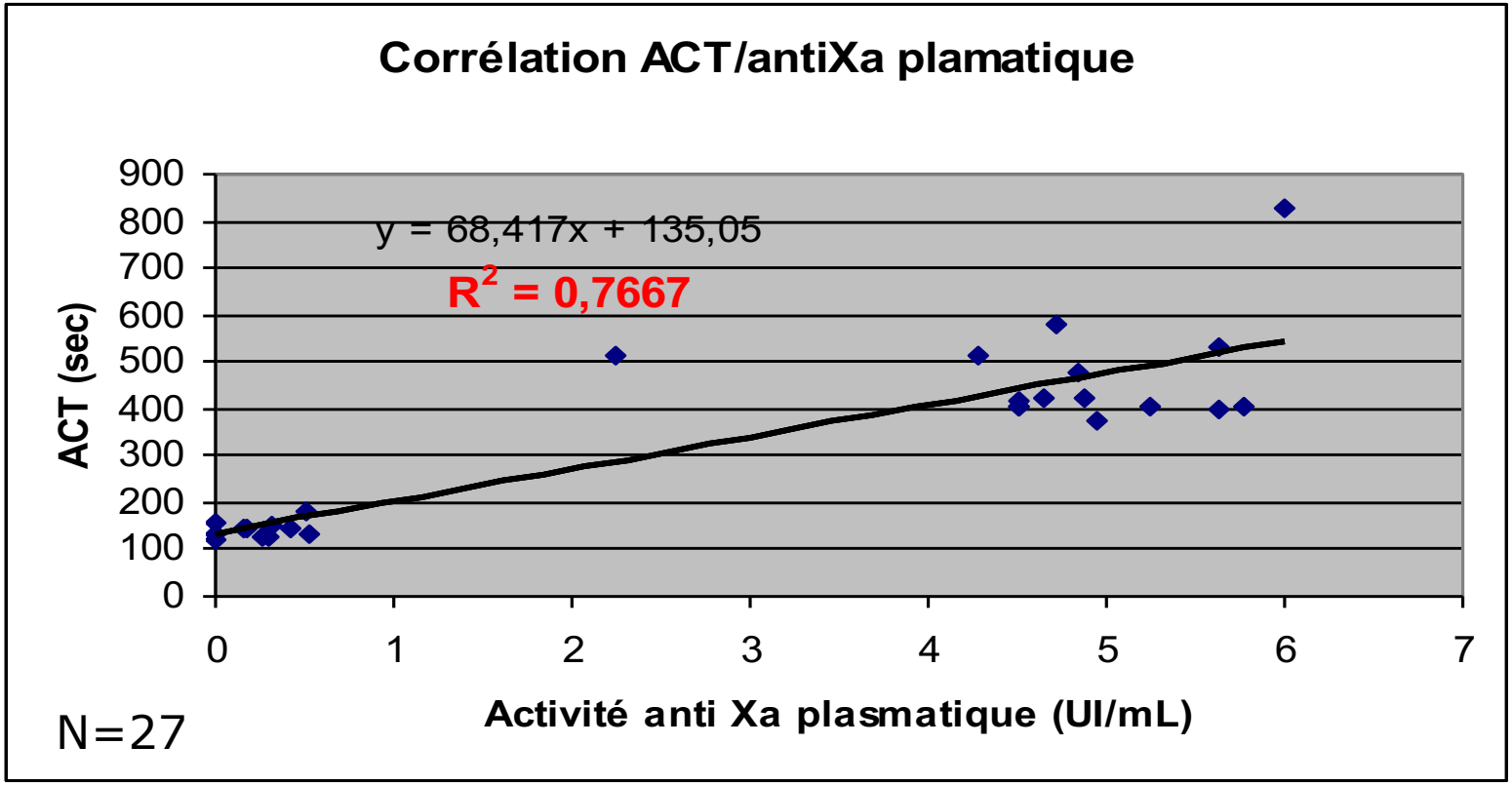


ACT Plus (Medtronic)



CORRELATION HR-ACT/AntiXa plasmatique

(Carole Bourdin, Necker, Paris)



R^2 = 0,81 si élimination des ACT > 600 sec

COMPARAISON DES ACT DE LA GAMME HEMOCHRON ET MEDTRONIC

(Carole Bourdin, Necker, Paris)

Temps	ACT Plus (Medtronic) Canal 1	Canal 2	Signature + bloc 2	Elite labo	Signature + bloc 1	Moyenne	ET	CV	Informations complémentaires
T0	144	136	119	120	121	120	1,0	0,8	Avant
T1	443	36	396	385	382	388	7,4	1,9	Apres héparine
T2	808		516	537	610	554	49,3	8,9	per CEC 20° C
T3	435	560	475	438	463	459	18,9	4,1	33° C
T4	**182**	**200 (qi)**	**133**	**123**	**132**	**129**	**5,5**	**4,3**	Post protamine
T0									
T1	338	331		386	379	382,5	4,9	1,3	
T2			434	425	445	435	10,0	2,3	
T0			154						33° C
T1	**999**	**999**	**654**	**>1000**					30° C
T2			>1000	829					29° C
T3			>1000	>1000		>1000			30° C
T4			540	423		481,5	82,7	17,2	35° C
T5			137	126		131,5	7,8	5,9	36° C

Cibles spécifiques à chaque appareils, les appareils ne sont pas interchangeables

Limites de l'ACT

- Test global, sensible à d'autres facteurs que l'HNF :

  – Particularité de certains patients :
  déficit sévère en facteurs de la coagulation (facteurs XII,…)
  présence d'inhibiteurs (anticoagulants circulants de type lupique)

  → Importance de l'ACT avant héparinisation

  – Facteurs liés à la CEC :
  influence de l'hypothermie, de l'hémodilution, de la dysfonction plaquettaire

- Problème règlementaire : traçabilité uniquement si connexions informatiques

Limites de l'ACT

- Problème des valeurs cibles

→ Le plus souvent recommandées : 400 à 700 sec mais discuté

Tenir compte :

–du type d'appareil. Appareils non interchangeables

–des conditions de réalisation de la CEC

Rythme des tests (recommandations ANAES, Déc 2004)

- En début d'intervention +++
- 5 min après l'administration d'HNF
- Toutes les 30 minutes pendant la CEC
- Intérêt pour contrôler la neutralisation en fin de CEC discuté

Surveillance fin de CEC

- ACT : vérification préalable indispensable de la sensibilité à l'héparine en fin de CEC

- Au laboratoire :

	Délais moyens à Necker
✓ Numération plaquettaire (tube citraté)	<5' (80%)
✓ Contrôle de la neutralisation par une activité anti-Xa ✓ TP ✓ Fibrinogène	<30' (90%)

- Attention : tous les tests anti-Xa plasmatiques ne sont pas équivalents (additifs comme le dextran dans certains réactifs)

Groupe de patient	**Nombre de patients**	**Moyenne des différences (UI/mL)**	**Différence minimale (UI/mL)**	**Différence maximale (UI/mL)**
Patient ayant une CEC prélevés 5 minutes après la neutralisation de l'héparine par la protamine	20	-0,22	0	- 0.56
Patients de réanimation de chirurgie cardiaque traités par HNF	34	-0.12	0	-0.3
Patients traités par HNF à l'hôpital Necker en dehors des réanimations	17	-0.05	0	-0.11

Tableau 1 : différences obtenues entre la mesure de l'activité anti-Xa avec le réactif STA-Liquid Anti-Xa et le réactif Biophen Heparin LR (STA-Liquid Anti-Xa - Biophen Heparin LR)

Mouton C et al, Dextran sulfate included in factor Xa assay reagent overestimates heparin activity in patients after heparin reversal by protamine. Thromb Res. 2003;111(4–5):273–9.

BIOLOGIE DELOCALISEE

LES TESTS D'HEMOSTASE PROPOSES

NF EN ISO 22870

ACCREDITATION COFFRAC – ISO EN 22870
Echéance 2020

1. **Justifier les besoins de recourir à la biologie délocalisée**
   - **Arguments organisationnels**
   - **Arguments scientifiques**
   - **Arguments cliniques**

2. **Choix du matériel**

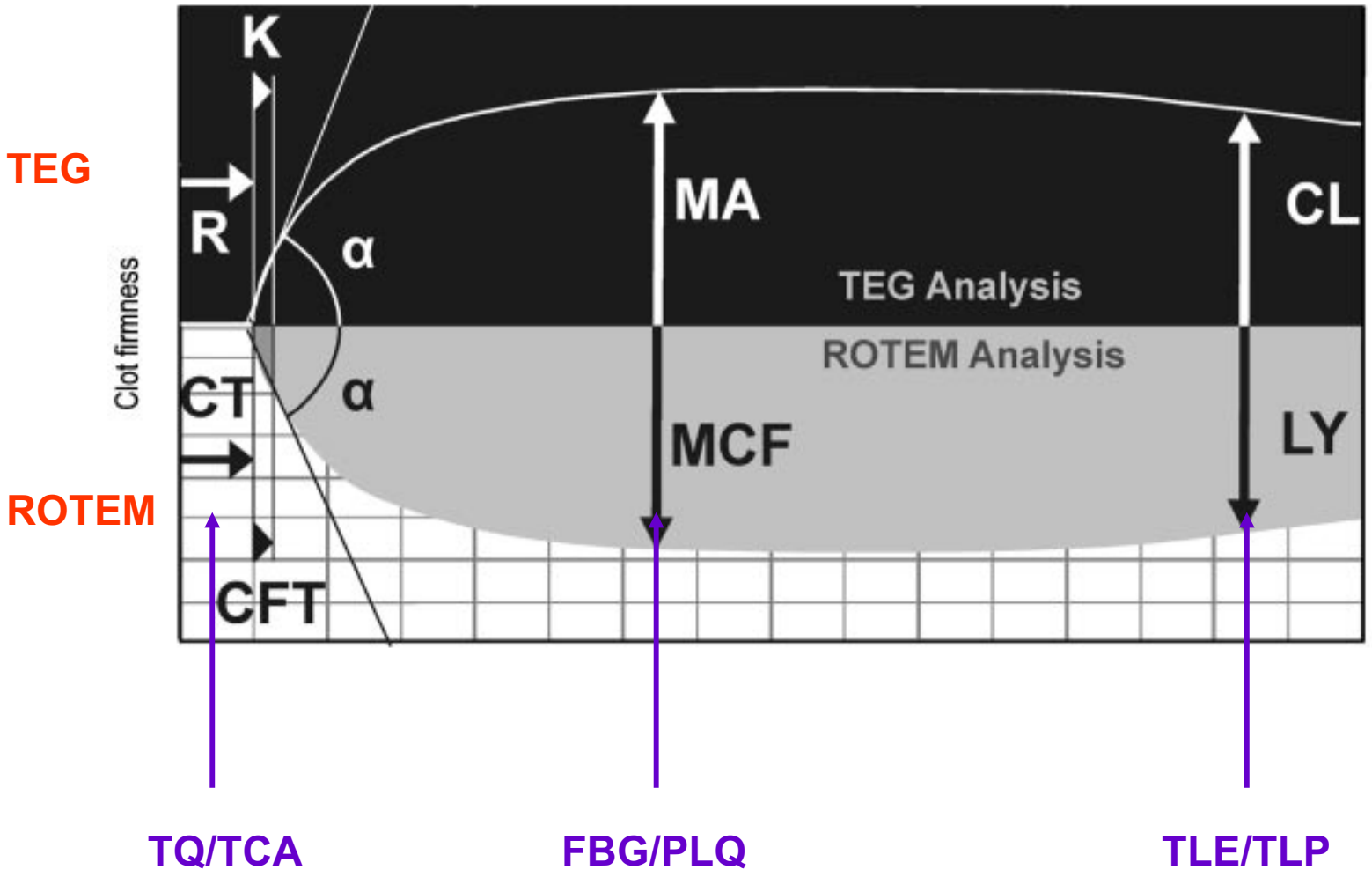
3. **Assurer la qualité**
   - **Contrôles**
   - **Formation et habilitation du personnel**

	Utilité démontrée (médico économique)	Publication GEHT	Fournisseurs
ACT	Oui	Oui Annales de biologie clinique 2015	-ITC (hemochron) -Medtronic (ACT) - Abott (I-stat)…
TQ/INR	Oui	A paraitre début 2018 (ABC)	- Roche (CCXS plus) - *hemosense* - Protime ITC…
TEG **ROTEM**	Variable		- Haemonetics - Werfen
DDimères	Dépend des organisations locale		-Cobas -Status CS acute Care
HMS	?		-- Medtronic
Verify Now	Oui		-- Accumetrics
Multiplate	?		- Roche
TEGPM	?		- Haemonetics
ROTEM PLT	?		- Werfen
….			

TEG/ROTEM en chirurgie cardiaque pédiatrique

ROTEM® 05

Plusieurs variables différentes

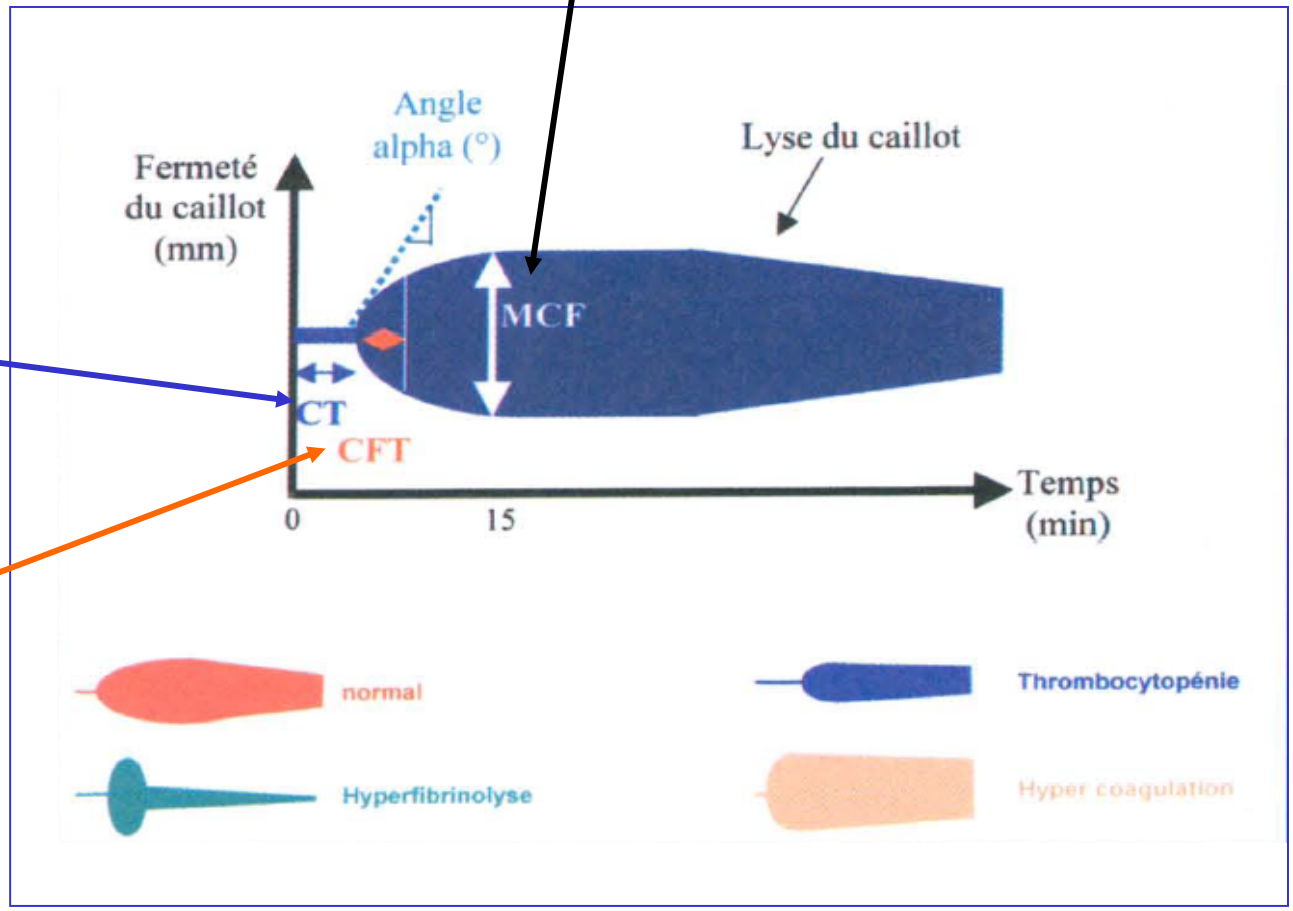


Opérateur entrainé +++

MCF = fermeté maximale du caillot

CT = Temps de coagulation

CFT = temps de formation du caillot



Plusieurs tests différents

TEG (sang natif ou citraté) (Haemonetics)	**ROTEM (sang citraté) (Pentapharm)**
Natif (ST)	Ex TEM
Natif heparinase	In TEM
TEG Kaolin	Fib TEM
TEG Kaolin heparinase	Hep TEM
Rapid TEG	Ap TEM
Fibrinogène Fonctionnel	

TEG/ROTEM en chirurgie cardiaque pédiatrique

- Tests viscoelastiques sur sang total
- Rapidité (premiers résultats < 10 min)
- Intérêt dans la prise en charge du traumatisé sévère, et en chirurgie cardiaque (étude IMOTEC en cours). Manque de données en pédiatrie
- Evolution vers des appareils adaptés à la biologie délocalisée +++
- Mais :
    - Modifications technologiques : redéfinir les valeurs de référence, seuils décisionnels, revoir les algorithmes
    - les 2 appareils TEG et ROTEM ne sont pas interchangeables

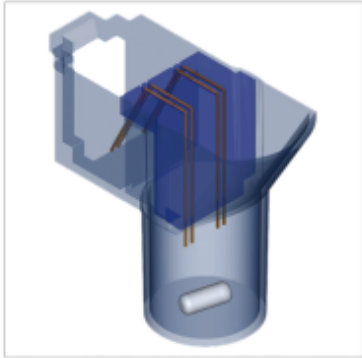
- Nécessité d'algorithmes adaptés à chaque population de patients
- Positionnement à discuter avec les biologistes

EVALUATION DE LA FONCTION PLAQUETTAIRE

Verify Now

TEG et TEG Platelet mapping

Multiplate



Platelet works

Hemostatus

TEG ROTEM

CONCLUSION

Équilibre hémostatique fragile chez l'enfant

Importance de l'interrogatoire en préopératoire

Surveillance de l'anticoagulation per CEC et de la neutralisation post CEC rigoureuse : biologie délocalisée et laboratoire

Attente d'outils fiables pour l'évaluation rapide de la fonction plaquettaire