



Le temps de prothrombine revisité 70 ans après

Rev Med Suisse 2008 ; 4: 350-3

G. Reber
F. Boehlen

Drs Guido Reber et Françoise Boehlen
Unité d'hémostase
Service d'angiologie et hémostase
HUG, 1211 Genève 14
guido.reber@hcuge.ch
françoise.boehlen@hcuge.ch

Seventy years later: prothrombin time revisited

Introduced by Armand Quick in 1935, the prothrombin time is the test the most frequently performed in haemostasis laboratories. The diversity of origin and purity of the tissue factor contained in the thromboplastin reagents as well as the composition of phospholipids explain the differences in sensitivity to factor(s) deficiency(ies) observed. Unfortunately, the expression of assay results in non anticoagulated patients varies depending on the place the test is performed. For patients under oral anticoagulation treatment, huge standardisation efforts have led to the implementation of the International Normalized Ratio (INR) for the monitoring of the treatment, which has considerably reduced the differences between thromboplastin reagents. It is hoped that a comparable degree of standardization will be achieved for samples from patients with hepatic disease.

Le temps de prothrombine, décrit par Armand Quick en 1935, reste le test le plus pratiqué dans le domaine de l'hémostase. La diversité des origines et la pureté du facteur tissulaire contenu dans les réactifs de thromboplastine, ainsi que la composition des phospholipides, expliquent les différences de sensibilité aux déficits factoriels observées. L'expression des résultats du test chez les patients non anticoagulés varie selon les endroits où le test est effectué. Pour le suivi des traitements par des antivitamines K, les efforts de standardisation ont abouti à l'introduction de l'*International Normalized Ratio* (INR), permettant ainsi de diminuer les différences entre thromboplastines. Il est à espérer qu'il en sera de même pour l'harmonisation des résultats des patients souffrant d'atteintes hépatiques.

INTRODUCTION

Le temps de Quick figure parmi les tests les plus réalisés dans le monde. Il explore la voie dite extrinsèque de la coagulation dans laquelle interviennent les facteurs VII, V, X et la prothrombine. La qualification historique d'extrinsèque provient du fait que la réaction était initiée avec un extrait tissulaire, appelée «thromboplastine» par opposition à la voie «intrinsèque» dans laquelle tous les éléments se trouvent dans le sang et les vaisseaux. On le trouve également sous la dénomination «temps de prothrombine» (TP) car à l'époque de sa création par Armand Quick (1935) celui-ci pensait que seule la prothrombine et le fibrinogène intervenaient dans le test (les facteurs V, VII et X furent identifiés plus tard). Bien que plus correcte du point de vue de la nomenclature, la dénomination «temps de thromboplastine» ne s'est jamais imposée.

TEST

La thromboplastine utilisée dans le TP est constituée d'une protéine transmembranaire, le facteur tissulaire, et de phospholipides. Elle est extraite principalement de cerveau (lapin, bœuf) ou de placenta humain et elle est ensuite enrichie en phospholipides et en calcium. Le facteur tissulaire est également disponible sous forme de protéine recombinante (humaine ou animale).

La thromboplastine ajoutée au plasma (citraté pour chélater une grande partie du calcium) va se lier au facteur VII (ainsi qu'aux traces de facteur VII activé, FVIIa). Le complexe ainsi formé va activer le facteur X en facteur Xa. Le FXa a deux fonctions principales: d'une part il active le facteur VII en FVIIa, ce qui va augmenter la quantité de FXa présente par rétroaction positive et d'autre part il active la prothrombine en thrombine. L'activation de la prothrombine se fait par l'intermédiaire d'un complexe, appelé prothrombinase, comprenant le FXa, les phospholipides et le calcium apportés par le réactif de thromboplastine ainsi qu'un cofacteur sans activité enzymatique, le facteur V. La thrombine ainsi générée transforme le fibrinogène en fibrine (figure 1). Le temps de coagulation est le délai qui s'écoule entre l'adjonction de la thromboplastine et la formation du

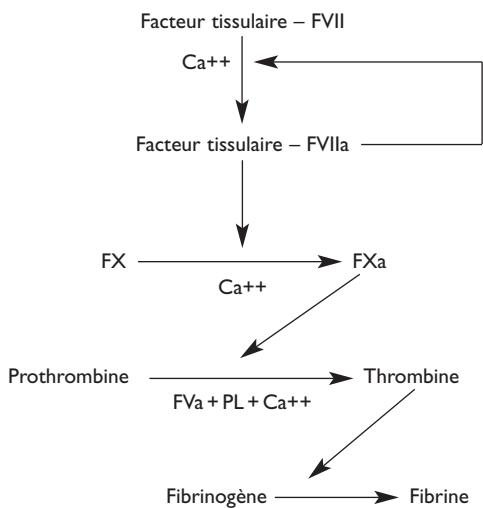


Figure 1. Schéma illustrant les différentes réactions de la voie extrinsèque de la coagulation
 PL : phospholipides ; Ca⁺⁺ : calcium ionisé.

caillot. Il est en général de l'ordre de 10 à 11 secondes chez les sujets normaux.

EXPRESSION DES RÉSULTATS DU TEMPS DE PROTHROMBINE

L'expression des résultats du TP varie en fonction des régions. Dans les pays anglo-saxons, le TP est exprimé généralement en secondes, correspondant au temps de coagulation du patient ou dans le rapport [temps de coagulation du patient/temps de coagulation du plasma de référence]. Dans la plupart des pays européens, le résultat du TP est exprimé en pour cent: le temps de coagulation obtenu est rapporté sur une courbe de calibration obtenue en diluant le plasma de référence (proche de 100%) et en mesurant le temps de coagulation de ces dilutions. Une approche introduite récemment consiste à établir cette courbe de calibration à partir d'un set de plasmas calibrés en pour cent par le fabricant de la thromboplastine. Les deux méthodes présentent des inconvénients. Vu la diversité des thromboplastines présentes sur le marché et leurs différences (origine de l'espèce, extraites ou recombinantes, composition des phospholipides, force ionique, etc.), les thromboplastines présentent des sensibilités différentes aux déficiences factorielles et aux facteurs partiellement décarboxylés induits par l'ingestion d'antivitamine K.¹ De ce fait, pour un même patient et un même plasma de référence, les temps de coagulation obtenus avec différentes thromboplastines vont varier. La méthode en pour cent est également sujette aux contraintes exposées ci-dessus. De plus, elle introduit un biais supplémentaire dans la mesure où dans la courbe de calibration tous les facteurs, ainsi que le fibrinogène, sont dilués d'un même taux alors que ce n'est en général pas le cas chez les patients. Dès lors, pour toutes les raisons exposées ci-dessus, les résultats obtenus avec différents réactifs ne sont pas semblables quel que soit leur mode d'expression.

INTERNATIONAL NORMALIZED RATIO (INR)

Cette différence de résultats selon la méthode et le réactif utilisés s'est révélée particulièrement délicate pour les patients sous traitement par des antivitamines K dans la mesure où leur traitement est ajusté avec le résultat du TP: les intervalles thérapeutiques, exprimés en secondes ou en pour cent, varient en effet d'un réactif à l'autre. Sous l'égide de l'OMS, un système de calibration des réactifs de TP a été développé afin de diminuer les différences dans les résultats observés.² Les réactifs commerciaux ont été comparés à l'une des quatre thromboplastines de référence de l'OMS en fonction de leur origine (humaine, lapin, bovine, combinée) à l'aide de 20 sujets normaux et de 60 plasmas de patients sous anticoagulation orale stable. Un Indice de Sensibilité International (ISI) a été obtenu pour chaque thromboplastine commerciale. Cet ISI permet de calculer un International Normalized Ratio (INR) calculé à partir du temps de coagulation du patient, de celui du plasma de référence et de l'ISI. C'est la raison pour laquelle les résultats des TP de patients sous anticoagulation orale sont exprimés exclusivement en INR et non plus en pour cent ou en secondes. Le système de l'INR est loin d'être parfait mais il représente une avancée majeure dans la sécurité des traitements par anticoagulants oraux. Par exemple, pour une thromboplastine donnée, l'ISI peut dépendre en partie du coagulomètre utilisé. Dès lors, pour chaque thromboplastine du fabricant (et pour chaque lot de celle-ci), un ISI spécifique à ses appareils est généralement fourni. Alternativement, il est possible également de se procurer des sets de plasmas calibrateurs dont la valeur en INR est fournie par le fabricant pour une thromboplastine et un coagulomètre donné. De plus, il faut tenir compte de la variation interindividuelle: pour une même intensité d'anticoagulation, les taux relatifs des facteurs vitamino-K dépendants actifs varient en effet d'un individu à un autre. En outre, les facteurs (FVII, FX et prothrombine) décarboxylés ou partiellement carboxylés induits par le traitement présentent une réactivité qui diffère en fonction de la thromboplastine utilisée. Lors des enquêtes de qualité externes, les résultats sont groupés par type de thromboplastine pour tenir compte de ces différences que le système d'harmonisation ISI/INR ne parvient pas à éliminer.

Malgré les limites de cette harmonisation, l'INR représente un progrès majeur.

TEMPS DE PROTHROMBINE ET DÉFICITS EN FACTEURS

En l'absence de traitement par les antivitamines K, un allongement du TP indique un déficit acquis^{3,4} ou héréditaire dans un ou plusieurs facteurs de la voie extrinsèque (FV, FVII, FX, prothrombine) ou un taux de fibrinogène inférieur à 0,8 g/l. Pour les raisons décrites plus haut, le retentissement de ce(s) déficit(s) sur le temps de coagulation est fonction de la thromboplastine utilisée. Une étude récente a montré que la concentration relative en phosphatidylsérine dans le mélange utilisé pour la recalcification du facteur tissulaire jouait un rôle important dans la sensibilité aux déficits factoriels, particulièrement pour la prothrombine et le facteur VII.⁵ Des thromboplastines ayant



un ISI similaire peuvent différer dans la sensibilité aux déficits factoriels.

UTILISATION DU TEMPS DE PROTHROMBINE DANS LES SCORES CLINIQUES

L'utilisation du TP dans les scores cliniques se heurte aux problèmes déjà discutés plus haut : les différents modes d'expression du résultat et la sensibilité des thromboplastines aux déficits en facteurs. Dans la formule originale du score MELD (Model for End-Stage Liver Disease), le résultat du TP était introduit en secondes. Plusieurs groupes ont cherché à déterminer quel mode d'expression (secondes, rapport patient/référence, pour cent, INR) pouvait atténuer les différences de sensibilité entre les thromboplastines. Une étude française parue en 1998 montrait que le pour cent était la solution la moins mauvaise.⁶ L'INR n'est pas applicable dans ce cas particulier car **les déficits induits par les antivitamines K sont très différents de ceux rencontrés dans les atteintes hépatiques. En particulier, le taux de facteur V est très élevé chez les patients sous antivitamine K alors que dans les atteintes hépatiques il peut être très bas.** En outre, les facteurs partiellement carboxylés et non carboxylés affectent de façon diverse les thromboplastines en fonction de leur origine. Deux études récentes, parues dans le même numéro d'*Hepatology*, ont abordé le problème par une voie novatrice, calquée sur le modèle théorique de l'INR.^{7,8} A l'aide de plasmas de patients présentant une atteinte hépatique, de plasmas d'individus sains et des thromboplastines de référence de l'OMS, un **ISI «hépatique» (ISIMELD)** a été déterminé pour une dizaine de thromboplastines commerciales. A l'aide de celui-ci, il est désormais possible de calculer un INRMELD et d'utiliser la formule du score avec toutes ces thromboplastines. **Il est souhaitable que les fabricants de thromboplastines fournissent un ISIMELD en même temps qu'un ISIAVK.** Il est intéressant de noter que pour les thromboplastines d'origine humaine, recombinantes ou non, les valeurs des deux ISI sont très proches (tableau 1).

VARIABLES PRÉANALYTIQUES ENTRE LE PRÉLÈVEMENT ET LE LABORATOIRE

Les **prélèvements sanguins** destinés aux tests d'hémostase **doivent être anticoagulés** avec une **solution de citrate de sodium dans un rapport de 1 à 9.** La chélation du calcium par le citrate **empêche la coagulation de se produire** parce que cet ion est indispensable à certaines réactions enzymatiques aboutissant à la formation de la thrombine. L'EDTA ou l'oxalate ne sont pas utilisables parce que la concentration résiduelle en calcium est trop faible pour garantir la stabilité des facteurs V et VIII. **Dans le commerce, on trouve des tubes de prélèvement contenant deux concentrations différentes de citrate, 0,109 ou 0,129 mol/l.** L'International Society on Thrombosis and Haemostasis **recommande l'utilisation du citrate 0,109 mol/l.**⁹ Certaines études ont montré que les échantillons prélevés avec du citrate 0,129 mol/l avaient des INR plus élevés que ceux prélevés avec du citrate 0,109 mol/l avec certaines thromboplastines. La concentration en citrate peut donc avoir une influence sur

Tableau 1. Comparaison entre les valeurs d'ISI obtenues par calibration contre la thromboplastine internationale de référence avec des patients sous traitement par antivitamines K (AVK) et des patients avec insuffisance hépatique (MELD)

Réactif	Source	ISI _{AVK}	ISI _{MELD}
Recombiplastin*	Humaine, recombinante	0,87	0,95
Recombiplastin**	Humaine, recombinante	0,83	0,85
Thrombotest*	Bovine, cerveau	0,88	0,93
Innovin*	Humaine, recombinante	0,94	0,85
Thromborel S*	Humaine, placenta	0,98	0,84
Thromborel S**	Humaine, placenta	1,11	0,87
Simplastin Excel S**	Lapin, cerveau	1,05	0,70
Neoplastin plus*	Lapin, cerveau	1,30	0,84
PT HS*	Lapin, cerveau	1,46	1,03
Simplastin Excel**	Lapin, cerveau	1,54	0,94
Neoplastin CI**	Lapin, cerveau	1,67	0,98
Simplastin Excel*	Lapin, cerveau	1,77	1,14

* Valeurs provenant de la réf.⁷; ** Valeurs provenant de la réf.⁸. L'utilisation de différents coagulomètres et de lots d'une même thromboplastine explique les différences dans les ISI_{AVK}.

la valeur de l'ISI.

Les tubes de prélèvement doivent être remplis complètement, avec une tolérance de -10%. Les réactifs utilisés pour les tests d'hémostase contiennent du calcium afin d'antagoniser l'effet du citrate. Lorsque le tube est mal rempli, la concentration du citrate dans le plasma est trop grande par rapport au calcium ajouté par les réactifs. Ce manque de calcium induit un prolongement des temps de coagulation. De plus, le rapport (volume de citrate/volume de plasma) n'est pas respecté, ce qui induit une dilution trop importante du plasma. Pour ces deux raisons, **il convient également d'adapter le volume de citrate dès que la valeur de l'hématocrite est égale ou supérieure à 55%.**

Le délai entre le prélèvement et la réalisation du test est un élément important. Le facteur V étant labile, ce délai ne doit pas dépasser quatre heures, l'échantillon devant être conservé à température ambiante afin d'éviter l'activation du facteur VII au froid. Ce délai peut être porté à huit heures pour les patients sous anticoagulation orale dans l'intervalle thérapeutique: chez ces patients le taux de facteur V est généralement supérieur à 100% et les éléments qui déterminent le temps de coagulation sont les taux de facteurs VII, X et la prothrombine.

CONCLUSION

Le temps de prothrombine demeure le test d'hémostase le plus pratiqué. Les réactifs de thromboplastine ont évolué en fonction des connaissances accumulées sur la structure et les fonctions du facteur tissulaire. Il subsiste cepen-



dant le problème de la grande diversité des thromboplastines disponibles dans le commerce et l'absence d'une méthode uniforme d'expression des résultats. Il faut souligner les grands efforts d'harmonisation qui ont conduit à

l'établissement de l'INR et à sa généralisation à travers le monde. Il est à souhaiter que la variante hépatique de l'ISI connaisse le même développement.



Bibliographie

- 1 ** Jackson CM, Esnouf MP, Lindahl TL. A critical evaluation of the prothrombin time for monitoring oral anticoagulant therapy. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003;33:43-51.
- 2 WHO Expert Committee on Biological Standardization. 33rd Report. Technical Report Series No 687. Geneva: World Health Organisation, 1983.
- 3 Trotter JF. Coagulation abnormalities in patients who have liver disease. *Clin Liver Dis* 2006;10:665-78.
- 4 Kamal AH, Tefferi A, Pruthi RK. How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. *Mayo Clin Proc* 2007;82:864-73.
- 5 Smith SA, Comp PC, Morrissey JH. Phospholipid composition controls thromboplastin sensitivity to individual clotting factors. *J Thromb Haemost* 2006;4:820-7.
- 6 Robert A, Chazouillères O. Prothrombin time in liver failure: Time, ratio, activity percentage, or international normalized ratio? *Hepatology* 1996;24:1392-4.
- 7 * Tripodi A, Chantarangkul V, Primignani M, et al. The international normalized ratio calibrated for cirrhosis (INR(liver)) normalizes prothrombin time results for model for end-stage liver disease calculation. *Hepatology* 2007;46:520-7.
- 8 * Bellest L, Eschwège V, Poupon R, Chazouillères O, Robert A. A modified international normalized ratio as an effective way of prothrombin time standardization in hepatology. *Hepatology* 2007;46:528-34.
- 9 Shahangian S, Labeau KM, Howerton DA. Prothrombin time testing practices: Adherence to guidelines and standards. *Clin Chem* 2006;52:793-4.

* à lire

** à lire absolument