DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES ANOMALIES DE L'HEMOSTASE

ACTUALISATION DU SOUS-CHAPITRE 5-02 « HEMOSTASE ET COAGULATION » DE LA NOMENCLATURE DES ACTES DE BIOLOGIE MEDICALE

CADRAGE

Novembre 2010

Service Évaluation des actes professionnels

2 avenue du Stade de France – 93218 Saint-Denis La Plaine CEDEX – Tél. : 01 55 93 70 00 – Fax : 01 55 93 74 00 – http://www.has-sante.fr
N° SIRET : 180 092 041 00011 – Code APE : 751 C

Ce document est téléchargeable sur
www.has-sante.fr

Haute Autorité de Santé
Service communication
2 avenue du Stade de France – 93218 Saint-Denis La Plaine CEDEX
Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 – Fax +33 (0)1 55 93 74 00

Ce document a été validé par le Collège de la Haute Autorité de Santé en **novembre 2010**

© Haute Autorité de Santé – **2010**

L'EQUIPE

Ce document a été réalisé par Mme le Dr Aurélie PACULL, docteur en pharmacie, chef de projet au Service évaluation des actes professionnels, avec l'orientation de M. le Dr Denis Jean DAVID, docteur ès sciences, adjoint au chef de service, et de Mme le Dr Sun Hae LEE-ROBIN, chef de service.

Mme le Pr Marie-Christine BENE, membre de la Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé, a été le membre référent de cette évaluation.

La recherche documentaire a été effectuée par Mme Sophie DESPEYROUX, documentaliste, avec l'aide de Mme Renée CARDOSO, avec l'orientation de Mme Christine DEVAUD, adjoint au chef de service, et de Mme le Dr Frédérique PAGES, docteur ès sciences, chef de service.

L'organisation logistique et le travail de secrétariat ont été réalisés par Mme Stéphanie BANKOUSSOU.

_____

Pour tout contact au sujet de ce document :

Tél. : 01 55 93 71 12

Fax : 01 55 93 74 35

Courriel : contact.seap@has-sante.fr

TABLE DES MATIERES

L'EQUIPE **3**
ABRÉVIATIONS **7**
LA DEMANDE **8**
I. N° DE LA DEMANDE **8**
II. TITRE INITIAL DE LA DEMANDE **8**
III. LE DEMANDEUR **8**
IV. DATE DE LA DEMANDE **8**
V. PRINCIPALES ATTENTES DU DEMANDEUR **8**
VI. PRINCIPAUX ARGUMENTS DU DEMANDEUR **9**
ANALYSE DE LA DEMANDE **10**
I. TEMPS DE SAIGNEMENT (TS) : EPREUVE DE DUKE ET TESTS D'IVY **11**
I.1 Technique **11**
I.2 Circonstances de prescription **11**
I.3 Evaluation de la base documentaire disponible **11**
I.3.1 Documents identifiés *11*
I.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage *12*
I.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition de suppression de ces deux tests **12**
I.5 Prise en charge par l'Assurance Maladie : code, libellé et volume **13**
I.6 Changement attendu suite à l'évaluation **13**
I.7Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s) **13**
II. TEMPS DE THROMBINE (TT) ET TEMPS DE THROMBINE CORRIGE **15**
II.1 Technique **15**
II.2 Circonstances de prescription **15**
II.3 Evaluation de la base documentaire disponible **15**
II.3.1 Documents identifiés *15*
II.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage *15*
II.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition de suppression **16**
II.5 Prise en charge par l'Assurance Maladie **16**
II.6 Changement(s) attendu(s) suite à l'évaluation **16**
II.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s) **17**
III. TEST D'AGREGATION PLAQUETTAIRE (TAP) (METHODE PHOTOMETRIQUE) **18**
III.1 Technique **18**
III.2 Circonstances de prescription **18**
III.3 Evaluation de la base documentaire disponible **18**
III.3.1 Documents identifiés *18*
III.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage *19*
III.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition d'inscription **20**
III.5 Prise en charge par l'Assurance maladie **20**
III.6 Changement(s) attendu(s) suite à l'évaluation **20**
III.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s) **20**
IV. RECHERCHE ET TITRAGE D'INHIBITEUR CONTRE LES FACTEURS ANTI-HEMOPHILIQUES **22**
IV.1 Technique **22**
IV.2 Pathologie et circonstance de prescription **22**
IV.3 Evaluation de la base documentaire disponible **23**
IV.3.1 Documents identifiés *23*

IV.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage 24
IV.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition d'inscription 24
IV.5 Prise en charge par l'Assurance maladie 24
IV.6 Changement(s) attendu(s) suite à l'évaluation 24
IV.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s) 24
V. RECHERCHE D'UN ANTICOAGULANT DE TYPE LUPIQUE DE TYPE II 25
V.1 Technique 25
V.2 Pathologie 25
V.3 Base documentaire disponible 25
V.3.1 Documents identifiés 25
V.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage 26
V.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition d'inscription 28
V.5 Prise en charge par l'Assurance maladie 29
V.6 Changement(s) attendu(s) suite à l'évaluation 29
V.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s) 29
VI. RECHERCHE D'ANTICORPS ANTI-FACTEUR 4 PLAQUETTAIRE (PF4) DANS LE CADRE D'UNE SUSPICION DE THROMBOPENIE INDUITE PAR L'HEPARINE (TIH) 30
VI.1 Technique 30
VI.2 Pathologie 30
VI.3 Evaluation de la base documentaire disponible 30
VI.3.1 Documents identifiés 30
VI.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage 31
VI.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition d'inscription 32
VI.5 Prise en charge par l'Assurance Maladie 32
VI.6 Changement(s) attendu(s) suite à l'évaluation 32
VI.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s) 33
VII. RECHERCHE DE LA MUTATION G1691A DU GENE DU FACTEUR V (FACTEUR V LEIDEN) ET DE LA MUTATION G20210A DU GENE DE LA PROTHROMBINE DANS LE CADRE DE LA RECHERCHE DE FACTEURS DE RISQUE DE LA MALADIE THROMBO-EMBOLIQUE VEINEUSE 34
VII.1 Technique 34
VII.2 Pathologie 34
VII.3 Base documentaire disponible 34
VII.3.1 Documents identifiés 35
VII.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage 36
VII.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition d'inscription 36
VII.5 Prise en charge par l'Assurance maladie 36
VII.6 Changement(s) attendu(s) suite à l'évaluation 37
VII.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s) 37
REALISATION PROPOSEE 38
I. TITRE RETENU POUR L'EVALUATION 38
II. OBJECTIF 38
III. CHAMP DE L'EVALUATION 38
IV. CRITERES DE JUGEMENT RETENUS 38
V. METHODE DE TRAVAIL 38
VI. PLAN DU RAPPORT D'EVALUATION 39
VII. DOCUMENTS A PRODUIRE 39
VIII. CALENDRIER PREVISIONNEL 39
ANNEXES 40
I. PHASE DE CADRAGE ET DOCUMENT DE CADRAGE 40

II. COMPOSITION DU GROUPE D'EXPERTS DE LA CHAP 41
III. ARGUMENTAIRE 43
III.1.1 Argumentaire pour la suppression du temps de saignement : épreuve de Duke (0121), test d'Ivy incision ou test d'Ivy 3 points (0171) 44
III.1.2 Argumentaire pour la suppression du temps de thrombine (0128-183) 48
III.2 Proposition pour l'inscription d'actes inscrits à la NABM 50
III.2.1 Argumentaire pour l'inscription du test d'agrégation plaquettaire à la NABM50
III.2.2 Argumentaire pour l'inscription du test de la recherche et titrage d'inhibiteur contre les facteurs anti-hémophiliques à la NABM 53
III.2.3 Argumentaire pour l'inscription de la recherche et l'identification d'un anticoagulant de type lupique (ou antiphospholipide par une technique de coagulation ou «antiprothrombinase») de type II à la NABM 56
III.2.4 Argumentaire pour l'inscription de la recherche d'anticorps anti-facteur 4 plaquettaire (PF4) dans le cadre d'une suspicion de thrombopénie induite par l'héparine (TIH) à la NABM 60
III.2.5 Argumentaire pour l'inscription de la recherche de la mutation G1691A du gène du facteur V (facteur V Leiden) et de la mutation G20210A du gène de la prothrombine dans le cadre de la recherche de facteurs de risque de maladie thrombo-embolique veineuse à la NABM 63
IV. RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE 66
REFERENCES 70

ABRÉVIATIONS

ACCP : American College of Chest Physicians
AINS : Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens
AFSSaPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
aPL : anticorps antiphospholipides
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
CHAP : Commission de hiérarchisation des actes et prestations
CNAMTS : Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés
ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
F4P : facteur 4 plaquettaire
F4P-héparine : facteur 4 plaquettaire modifié par l'héparine
FAH : Facteur Anti-Hémophilique
HBPM : héparine de bas poids moléculaire
HNF : héparine non fractionnée
Ig : Immunoglobuline
ISTH: International Society on Thrombosis and Haemostasis
ITI : Induction de la Tolérance Immune
JCPA : Journée Cumulée en Présence d'Antigène
LA : anticoagulant lupique
NA : Non Applicable
NABM : Nomenclature des actes de biologie médicale
NP : Numération plaquettaire
PPP : Plasma Pauvre en Plaquettes
PRP : Plasma Riche en Plaquettes
SAPL : Syndrome des antiphospholipides
TCA : Temps de Céphaline + Activateur
TIH : thrombopénie induite par l'héparine
TQ : temps de Quick
TS : Temps de Saignement
TT : Temps de Thrombine
UB: Unité Bethesda
UKHCDO: United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organization
UNCAM : Union Nationale des Caisses d'Assurance Maladie
VWF : von Willebrand factor (facteur Willebrand)

LA DEMANDE

I. N°DE LA DEMANDE

10T15_b

II. TITRE INITIAL DE LA DEMANDE

Actualisation du sous-chapitre 5-02 « Hémostase et coagulation » de la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale : propositions de modifications (suppression d'actes et inscription de nouveaux actes).

III. LE DEMANDEUR

La Commission de hiérarchisation des actes et prestations (CHAP)[1] de biologie médicale a décidé, en accord avec la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS), d'actualiser certains chapitres de la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM), ceux-ci contenant, de l'avis des professionnels de santé et de la CNAMTS, des libellés décrivant des techniques aujourd'hui obsolètes, les techniques actuelles n'étant parallèlement pas toujours décrites.

Pour mener à bien cette actualisation, des groupes d'experts, un par chapitre de la NABM, composés de biologistes, ont été nommés par la CHAP. Ces groupes sont chargés de proposer des modifications de la NABM, en particulier de définir quelles sont les techniques actuelles à inscrire et quelles sont les techniques obsolètes à désinscrire. Ces propositions de modifications sont soumises à la CHAP pour validation. Cette validation acquise, la CNAMTS et la CHAP envoient alors ces propositions à la HAS pour recueillir l'avis nécessaire à la modification de la NABM.

IV. DATE DE LA DEMANDE

18 juin 2010

V. PRINCIPALES ATTENTES DU DEMANDEUR

Mise à jour de la nomenclature des actes de biologie médicale, sous-chapitre 5-02 « Hémostase et coagulation » de la NABM selon les propositions du groupe d'experts de la CHAP (cf. composition et argumentaire en annexes II et III) :

- Radiation des actes obsolètes : il est proposé la radiation des tests de temps de saignement, et de temps de thrombine
- Inscription des actes nouveaux : il est proposé l'inscription des techniques suivantes :
    - Tests d'agrégation plaquettaire ;
    - Recherche et titrage d'inhibiteur contre les facteurs anti-hémophiles ;
    - Recherche et identification d'un anticoagulant de type lupique de type II ;

[1] La CHAP de biologie médicale est un organisme où siègent les régimes d'Assurance maladie et les syndicats représentatifs ; elle a pour mission de proposer un avis sur les règles de hiérarchisation (articles L. 162-1-7, L. 162-1-7-1 et L. 162-14-1 du Code de la sécurité sociale).

- Recherche d'anticorps anti-facteur 4 plaquettaire dans le cadre d'une suspicion de thrombopénie induite par l'héparine ;
- Recherche de la mutation G1691A du gène du facteur V, facteur de Leiden, et de la mutation G20210A du gène de la prothrombine dans le cadre de la recherche de facteurs de risque de la maladie thromboembolique veineuse.

VI. PRINCIPAUX ARGUMENTS DU DEMANDEUR

- Enjeux pour les professionnels :
  - pour les biologistes : nomenclature actualisée ;
  - pour les cliniciens : disposer pour leur prescription d'actes de biologie d'une liste actualisée (avec radiation des actes obsolètes inutiles et inscription d'actes nouveaux plus performants).

- Enjeu financier : un diagnostic biologique adapté permet d'éviter des dépenses sur d'autres postes de soins (hospitalisation, médicaments, etc.).

ANALYSE DE LA DEMANDE

L'hémostase constitue l'ensemble des mécanismes qui assurent la prévention des saignements spontanés et l'arrêt des hémorragies par réparation de la brèche vasculaire.
L'hémostase est constituée de l'hémostase primaire (conduisant au thrombus plaquettaire), de l'hémostase secondaire ou coagulation plasmatique (qui consolide le thrombus plaquettaire par la constitution d'un réseau de fibrine) et de la fibrinolyse (ou dégradation enzymatique de la masse fibrinoplaquettaire à l'issue de la réparation vasculaire) (1).
Les pathologies de l'hémostase sont nombreuses : pathologies de l'hémostase primaire (anomalies plaquettaires, thrombopénies acquises centrales ou périphériques, thrombopénies constitutionnelles, thrombopathies ; anomalies plasmatiques constitutionnelles ou acquises), pathologies de la coagulation (hémophilies, déficits en facteurs de coagulation…) (2).
La découverte d'une anomalie de l'hémostase chez un patient mène à un interrogatoire et un examen clinique qui sont complétés par des tests biologiques (3).

I. TEMPS DE SAIGNEMENT (TS) : EPREUVE DE DUKE ET TESTS D'IVY

Il est proposé par le demandeur une désinscription de ces deux tests de la NABM.

I.1 Technique

Le temps de saignement (TS) est un test global explorant l'hémostase primaire *in vivo*.
Il consiste à mesurer le temps nécessaire à l'arrêt du saignement après incision superficielle (épreuve de Duke ou test d'Ivy incision) ou piqûre de la peau du patient (test d'Ivy 3 points) (4).
Il s'agit d'un test relativement ancien (5), inscrit à la NABM en 1996.

I.2 Circonstances de prescription

- Prescription
  - En préopératoire avant un geste invasif ou une intervention chirurgicale ;
  - Dans l'exploration d'un syndrome hémorragique avéré ou lors d'une suspicion de syndrome hémorragique.

- Pathologies associées à une anomalie du TS
  - Thrombopathies ;
  - Maladie de Willebrand ;
  - Anomalies vasculaires.

I.3 Evaluation de la base documentaire disponible

La recherche bibliographique réalisée pour ce cadrage est présentée en annexe IV.

I.3.1 Documents identifiés

- Pas de travaux ANAES/HAS.
- Pas de rapports d'évaluation d'autres agences (françaises et étrangères).
- Cinq recommandations et autres travaux de sociétés savantes
  - *Guidelines on the assessment of bleeding risk prior to surgery or invasive procedures* de 2008 par le *British Committee for Standards in Haematology*, (6) ;
  - *Assessment of the risk of bleeding in patients undergoing surgery or invasive procedures - Guidelines de 2009 par Italian Society for Haemostasis and Thrombosis (SISET)* (7) ;
  - *The preoperative bleeding time test lacks clinical benefit – Position article* de 1998 du *College of American Pathologists and American Society of Clinical Pathologists* (8) ;
  - *A critical reappraisal of the Bleeding Time,* publication de 2008 supportée par *the Veterans Administration, the Research Evaluation and Allocation Committee (School of Medicine), the Academic Senate of the University of California, the research corporation of Tucson, the National Heart, Lung and Blood Institute, and the National institute of health* (9) ;
  - *Guidelines on platelet function testing* de 1988 par *The British Society for Haematology BCSH Haemostasis and Thrombosis Task Force* (10).
- Estimation du nombre d'articles par type d'étude, identifiés par la recherche systématique sur Medline
  - La recherche systématique sur Medline a identifié 7 publications de type « Recommandations ». En excluant les articles sans rapport avec l'évaluation diagnostique, le nombre de articles été estimé à 5.

- La recherche systématique sur Medline a identifié 29 publications de type « Revues ». En excluant les articles sans rapport avec l'évaluation diagnostique, le nombre d'articles a été estimé à 16.

I.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage

- Performance de la technique

D'après l'analyse préliminaire de la littérature réalisée pour la note de cadrage, la réalisation de la technique semblerait difficilement standardisable (profondeur de l'incision ou des points de piqûre) et la reproductibilité du test médiocre car nécessairement opérateur-dépendante (6,11,12).
Le TS est un test relativement invasif (7).
Le TS semble peu sensible vis-à-vis d'anomalies fréquentes de l'hémostase (formes modérées des thrombocytopathies et de la maladie de Willebrand) mais influencé par de nombreux autres facteurs (numération plaquettaire, hématocrite, état clinique, âge, anxiété, agitation du patient lors de l'examen, température de la peau, prise médicamenteuse préalable, expérience de l'opérateur) (4,9,10,12,13).
Le TS semble peu spécifique (thrombopathies, de la maladie de Willebrand, prise d'aspirine ou d'autres anti-inflammatoires non stéroïdiens) (4,6,11,14-16).
Enfin, le TS ne semble pas prédictif du risque hémorragique (4,6-8,11,17).
Il ne serait donc pas recommandé de réaliser systématiquement un TS dans le bilan d'hémostase préopératoire (4,6,11,18,19).

- Technique de substitution

D'après la base documentaire disponible, le TS ne serait plus recommandé et la prise en charge médicale actuelle reposerait sur des techniques de substitution (6).

L'interrogatoire serait apparemment une étape cruciale et peut être considéré comme un des meilleurs éléments de dépistage du risque hémorragique (8,11,14,19,20).

En fonction des données de l'interrogatoire et de l'examen clinique qui permettent d'orienter l'exploration biologique, différents tests pourraient alors être proposés :

- Exploration de base de l'hémostase préopératoire : numération plaquettaire (NP) (permet de détecter une éventuelle thrombopénie associée ou non à des anomalies morphologiques plaquettaires lors de l'examen microscopique du frottis sanguin) ; Temps de Quick (TQ) (dosage de l'activité prothrombinique) ; Temps de Céphaline + activateur (TCA) ;
- Etude du Facteur Willebrand : la partie biologique du diagnostic de la maladie de Willebrand nécessite le recours à des tests spécifiques (détection du facteur de Willebrand antigène, dosage du facteur Willebrand cofacteur de la ristocétine…) (13,14).

I.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition de suppression de ces deux tests

« En pratique, un temps de saignement normal n'exclut pas une majoration du saignement per-opératoire liée à une pathologie hémorragique constitutionnelle ou acquise de l'hémostase primaire. Inversement, un temps de saignement allongé trouvé lors d'un examen préopératoire systématique n'est pas prédictif du risque hémorragique périopératoire. Enfin, dans l'exploration d'un syndrome hémorragique, le temps de saignement est peu utile au diagnostic de pathologie hémorragique, car il n'est pas spécifique.
En conséquence, il apparaît que le temps de saignement réalisé de manière systématique en préopératoire ou avant un geste invasif est inutile comme examen de dépistage du risque hémorragique.

Enfin, en cas de suspicion de syndrome hémorragique ou de syndrome hémorragique avéré, les démarches diagnostiques incluent aujourd'hui des interrogatoires de mieux en mieux standardisés et validés (en cas de suspicion de maladie de Willebrand par exemple).
La réalisation d'un test dit "global" comme le temps de saignement n'est plus d'aucune aide pour le diagnostic ; il est systématiquement remplacé par des tests spécifiques, y compris chez l'enfant de moins de 2 ans (facteur Willebrand, tests d'agrégation plaquettaire…)».

La CHAP propose la suppression du « Temps de saignement » de la NABM.

I.5 Prise en charge par l'Assurance Maladie : code, libellé et volume

- Prise en charge par l'Assurance maladie des tests de temps de saignement : chiffre d'activité

Code de l'acte	Libelle de l'acte	Nb 2006	Nb 2007	Nb 2008	*PCAP 2008/2007 (%)*
0121	Temps de saignement (TS) : Epreuve De Duke	205 997	185 654	168 776	*-9,1%*
0171	Temps de saignement (TS) : Test D'Ivy (Incision Ou 3 Points)	108 383	102 694	98 491	*-4,1%*

Source : BiolAM 2006/2007/2008 (Juillet 2009)

- Prise en charge par l'Assurance Maladie des actes de substitution potentiels
  - L'acte libellé « Exploration de base de l'hémostase préopératoire : numération plaquettaire (NP), dosage de l'activité prothrombinique/Temps de Quick (TQ), Temps de Céphaline + Activateur (TCA) est inscrit à la NABM sous le code 1128 du sous-chapitre 5-02 « HEMOSTASE ET COAGULATION ». « La cotation 1128 se substitue au cumul des trois cotations 1107, 0126 et 1127. »
  - L'orientation diagnostique précise que « En cas d'allongement anormal du TS non lié à la prise d'un agent antiplaquettaire, tel l'aspirine : numération des plaquettes avec aspect des plaquettes sur lame (1107). »
  - Les actes de mesure du facteur Willebrand et du dosage de l'activité de la ristocétine sont inscrits à la NABM respectivement sous les codes 0187 et 0192.

I.6 Changement attendu suite à l'évaluation

Suppression des deux actes de la NABM (codes 0121 et 0171).

I.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s)

- Le temps de saignement fait partie des mentions légales de la spécialité pharmaceutique REOPRO[2] (indiqué en complément de l'administration d'héparine et d'acide acétylsalicylique pour la prévention des complications cardiaques

[2] http://www.lilly.fr/docs/product/REOPROML.pdf

ischémiques chez les patients qui font l'objet d'une intervention coronarienne percutanée ainsi que pour la réduction à court terme du risque d'infarctus du myocarde chez les patients souffrant d'angor instable réfractaire au traitement médical conventionnel, chez lesquels une intervention coronarienne percutanée est programmée.) ; un contact devra donc être pris avec l'AFSSaPS.

- La technique d'incision fait appel à des dispositifs commerciaux, dont SURGICUTT (CML). Il semblerait que d'autres matériels comme SIMPLATE (Organon) ou MICROLANCE, n'existeraient plus[3]. Même si le volume des actes remboursés cotés 0121 et 0171 est en diminution, le volume est encore assez important (source BiolAM) ; on ne peut donc pas exclure des réactions négatives de la part de ceux qui réalisent encore ces actes et des fabricants des dispositifs commerciaux.
- Les résultats de l'analyse critique préliminaire de la littérature réalisée pour le cadrage, selon la méthode HAS, semblent congruents avec les conclusions du groupe d'experts de la CHAP de Biologie Médicale.

[3] http://www.probioqual.com/Syntheses/Questions2004.pdf

http://www.cml.fr/produits_cml/prelevement/pdf/2007/prelevements-sanguins.pdf

II. TEMPS DE THROMBINE (TT) ET TEMPS DE THROMBINE CORRIGE

Il est proposé par le demandeur une désinscription de ces deux tests de la NABM.

II.1 Technique

Le temps de thrombine (TT) est un test global d'exploration de la fibrinoformation.
Après incubation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes (PPP) (21) à 37°C, la coagulation est déclenchée par addition de thrombine calcique et la formation du caillot est détectée par une méthode optique ou électromécanique. Le résultat est exprimé en secondes par rapport à un plasma témoin.
En cas d'allongement du TT, une épreuve de correction par addition de plasma témoin peut être réalisée : l'absence de correction du TT signe la présence d'un inhibiteur dans le prélèvement (héparine, anticoagulant lupique…).

II.2 Circonstances de prescription

- En préopératoire
- Dans l'exploration d'un syndrome hémorragique
- En cas d'allongement isolé du Temps de Céphaline Activée (TCA), le TT avec son épreuve de correction sont fréquemment utilisés par le biologiste pour détecter la présence d'héparine dans le prélèvement.

II.3 Evaluation de la base documentaire disponible

La recherche bibliographique réalisée pour ce cadrage est présentée en annexe IV.

II.3.1 Documents identifiés

- Pas de travaux ANAES/HAS
- Pas de rapport d'évaluation d'autres agences (françaises et étrangères)
- Pas de recommandation et autres travaux des sociétés savantes
- Estimation du nombre d'articles par type d'étude, identifiés par la recherche systématique sur Medline
    - La recherche systématique sur Medline a identifié 3 publications de type « Recommandations ». Aucun article n'a été exclu par le critère « aucun rapport avec l'évaluation diagnostique ».
    - La recherche systématique sur Medline a identifié 21 publications de type « Revues ». En excluant les articles sans rapport avec l'évaluation diagnostique, le nombre d'articles été estimé à 9.

II.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage

- Performance de l'acte

D'après l'analyse préliminaire de la littérature réalisée pour la note de cadrage, le TT semble peu sensible aux hypofibrinogénémies modérées (0,8-1,5 g/L) et pourrait être remplacé par la mesure directe en première intention le taux de fibrinogène fonctionnel (22,23).

Par contre, le TT serait très sensible à la présence de traces d'héparine dans le prélèvement sans pour autant être recommandé pour l'adaptation des traitements par dérivés héparíniques (24).
L'allongement du TT semble peu spécifique (fortes hypofibrinogénémies ou fortes hyperfibrinogénémies, dysfibrinogénémies, protéines monoclonales, produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine au cours de fibrinolyse aiguë ou de coagulopathie de consommation, solutés de remplissage …).

- Prise en charge actuelle et technique de substitution : dosage du fibrinogène

Depuis son automatisation, le dosage du fibrinogène serait réalisé en première intention et le temps de thrombine n'aurait alors plus d'intérêt.

II.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition de suppression

« En pratique, la mesure du taux de fibrinogène fonctionnel, test spécifique, est réalisée en première intention et remplace celle du TT, test global peu sensible et peu spécifique. Le TT n'est mentionné dans aucune recommandation de sociétés savantes (ni bilan préopératoire, ni diagnostic ou suivi de CIVD, ni suivi de traitements héparíniques).
Par ailleurs, l'utilité de la réalisation d'un TT à l'initiative de certains biologistes pour vérifier l'absence de traces d'héparine dans le prélèvement n'est pas discutée, mais s'inscrit dans une démarche pré-analytique d'assurance-qualité du prélèvement d'hémostase ; Le TT ne doit pas être coté en tant que tel dans ce contexte.
Au total, le TT et le TT corrigé n'ont actuellement plus leur place à la NABM**. »**

La CHAP propose la suppression du « Temps de Thrombine » et du « Temps de Thrombine corrigé » de la NABM.

II.5 Prise en charge par l'Assurance Maladie

- Prise en charge par l'Assurance maladie des tests de temps de thrombine : chiffre d'activité

Code de l'acte	**Libelle de l'acte**	**Nb 2006**	**Nb 2007**	**Nb 2008**	*PCAP 2008/2007 (%)*
0128	Temps de Thrombine (T.T.)	30 344	32 656	31 491	*-3,6%*
0183	Correction du temps de thrombine	3 654	3 581	4 189	*17,0%*

Source : BiolAM 2006/2007/2008 (Juillet 2009)

- Prise en charge par l'Assurance Maladie de l'acte de substitution potentiel

Le dosage du fibrinogène est pris en charge par l'Assurance maladie et inscrit à la NABM sous le code 0174 du sous-chapitre 5-02 « HEMOSTASE ET COAGULATION ».

II.6 Changement(s) attendu(s) suite à l'évaluation

Suppression des actes 0128 et 0183 de la NABM.

II.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s)

- Ces actes restent à ce jour pratiqués (source BiolAM); on ne peut donc pas exclure des réactions négatives de la part de ceux qui réalisent encore ces actes (à minorer cependant car ces suppressions pourront s'accompagner de la réalisation du dosage du fibrinogène).
- Les résultats de l'analyse critique préliminaire de la littérature réalisée pour le cadrage, selon la méthode HAS, semblent congruents avec les conclusions du groupe d'experts de la CHAP de Biologie Médicale.

III. TEST D'AGREGATION PLAQUETTAIRE (TAP) (METHODE PHOTOMETRIQUE)

Il est proposé par le demandeur une inscription de ce test à la NABM.

III.1 Technique

Le test d'agrégation plaquettaire (agrégométrie) consiste à évaluer la formation d'agrégats plaquettaires *in vitro* après activation des plaquettes par des agonistes variés.

Ce test est effectué classiquement sur du plasma riche en plaquettes (PRP) (21), issu de la centrifugation à faible vitesse du sang prélevé dans un tube contenant un anticoagulant adapté (citrate) (25,26). L'agrégation plaquettaire est mesurée par une technique photométrique sur un agrégomètre (27) puis traitée par un logiciel dédié.[4]

Les contraintes de réalisation du test d'agrégation plaquettaire, aux niveaux pré-analytiques et analytiques, semblent importantes (26) :

- Le test devrait être réalisé dans les 2 heures suivants le prélèvement (19,28) ;
- Le test semble chronophage (26) ;
- La technique nécessiterait un personnel technique qualifié et un biologiste expérimenté (26) ;
- Le biologiste semble devoir fournir une interprétation claire des résultats dans le compte-rendu et proposer le cas échéant les tests complémentaires spécialisés ;
- Il semblerait qu'il n'existe aucun contrôle qualité interne ou externe pour la mesure des fonctions des plaquettes (28) ;

La pratique serait donc limitée à des centres spécialisés (5,19,26).

III.2 Circonstances de prescription

- Diagnostic des troubles hémorragiques de l'hémostase primaire de type anomalie de fonction des plaquettes (29,30) (ou dans des cas spécifiques de maladie de Willebrand (31)).
- Suivi de l'administration de médicaments antiplaquettaires (aspirine et thiénopyridines) et plus précisément recherche d'une résistance biologique à ces médicaments, lorsqu'une inefficacité clinique est suspectée (18,32,33).
- Diagnostic de thrombopénie induite par l'héparine (TIH) (25,34,35).

III.3 Evaluation de la base documentaire disponible

La recherche bibliographique réalisée pour ce cadrage est présentée en annexe IV.

III.3.1 Documents identifiés

- Un rapport d'évaluation de la HAS de 2005 : « Recherche d'anticorps potentiellement responsables d'une thrombopénie induite par l'héparine » (25)

[4] La technique d'étude de l'agrégation plaquettaire comporte des variantes (plaquettes isolées du milieu plasmatique après filtration sur gel de sépharose ou lavage des cellules après des étapes de centrifugation, mesures d'impédance sur sang total, mesure de la libération plaquettaire de l'ATP ou des flux calciques intracellulaires par des photomultiplicateurs) (12)

et un avis ANAES 2004 sur les actes « sous-chapitre 5-02 1030 : Temps d'occlusion plaquettaire in vitro (PFA), 1001 : Etude des fonctions plaquettaires par méthodes d'agrégation (méthode photométrique) sur sang frais par agent agrégant, 1021 : Dosage du facteur de Fletcher ou Flaugeac, 1022 : Dosage du plasminogène, 1023 : Dosage de l'alpha 2 antiplasmine. »

- Pas de rapport d'évaluation d'autres agences (françaises et étrangères)
- Cinq recommandations et autres travaux des sociétés savantes
    - *Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology* 2009 (33) ;
    - *Treatment and prevention of heparin-induced thrombocytopenia: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition);* 2008 (36) ;
    - *The management of heparin-induced thrombocytopenia by the Haemostasis and Thrombosis Task Force of the British Committee for Standards in Haematology*; 2006 (35) ;
    - *Heparin-induced thrombocytopenia: recognition, treatment, and prevention. The seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy* de 2004 (37) ;
    - Thrombopénie induite par l'héparine ; Conférence d'experts de 2002 Société Française d'Anesthésie et de Réanimation, Groupe d'étude hémostase et thrombose de la Société française d'hématologie, Société française de cardiologie, Société de réanimation de langue française. (34) ;
    - *Platelet count monitoring and laboratory testing for heparin-induced thrombocytopenia,* publication de 2002 par le *College of American Pathologists* (38) ;
    - *Guidelines on platelet function testing* de 1988 par *The British Society for Haematology BCSH Haemostasis and Thrombosis Task Force* (10).
- Estimation du nombre d'articles par type d'étude, identifiés par recherche systématique sur Medline
    - La recherche systématique sur Medline a identifié 5 publications de type « Recommandations ». Aucun article n'a été exclu par le critère « aucun rapport avec l'évaluation diagnostique ».
    - La recherche systématique sur Medline a identifié 58 publications de type « Revues ». En excluant les articles sans rapport avec l'évaluation diagnostique, le nombre d'articles été estimé à 30.

III.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage

- Performance de l'acte

D'après l'analyse préliminaire de la littérature réalisée pour la note de cadrage, la sensibilité varierait entre 35 et 85% (25,38) et la spécificité serait de l'ordre de 80% (25,34,38).

- Prise en charge actuelle

Les recommandations de la SFAR de 2002 et un rapport HAS de 2005 recommandent l'utilisation des tests d'agrégation plaquettaire dont le test d'agrégation par méthode d'agrégométrie pour le diagnostic de la TIH (25,34).

III.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition d'inscription

« Au total, les tests d'agrégation plaquettaire ont des indications limitées mais formelles, pour lesquelles ils constituent actuellement les seuls moyens diagnostiques des thrombopathies constitutionnelles et acquises, ou des variants de maladie de Willebrand. Leur prescription nécessite une collaboration étroite entre le clinicien et le biologiste. A noter qu'en cas de suspicion de TIH de type II, la réalisation de tests d'agrégation plaquettaire est le complément indispensable à la recherche d'anticorps anti-facteur 4 plaquettaire (PF4). Ceci justifie leur inscription comme acte à la NABM.

Les contraintes pré-analytiques et analytiques sont fortes. Ces techniques sont particulièrement chronophages, car non automatisables, et nécessitent un personnel technique qualifié ainsi qu'un biologiste expérimenté, limitant en pratique leur réalisation à des centres spécialisés. Le biologiste doit fournir une interprétation claire des résultats dans le compte-rendu et proposer le cas échéant les tests complémentaires spécialisés. »

La CHAP propose l'inscription du test d'agrégation plaquettaire à la NABM.

« Etude des fonctions plaquettaires par méthode d'agrégation (méthode photométrique) à réaliser dans les 2 heures qui suivent le prélèvement :

- Par agent agrégant

  Le nombre maximum de cotations ne peut être supérieur à 5.

  Les agents agrégants utilisés doivent être précisés sur le compte rendu.

  Les tests d'agrégation plaquettaire peuvent aussi être effectués pour le diagnostic de thrombopénie induite par l'héparine de type II

Une conclusion interprétant les résultats doit figurer sur le compte rendu. »

III.5 Prise en charge par l'Assurance maladie

A ce jour, les tests d'agrégation plaquettaire ne sont pas pris en charge par l'Assurance maladie.

III.6 Changement(s) attendu(s) suite à l'évaluation

Inscription de l'acte Test d'agrégation plaquettaire à la NABM.

III.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s)

- Concernant le test d'agrégation plaquettaire par agrégométrie (méthode photométrique) :
  - Les contraintes pré-analytiques et analytiques semblent très fortes.
  - La réalisation serait probablement à réserver à des centres spécialisés. Or, le délai pré-analytique limiterait la réalisation du test aux 2 heures suivants le prélèvement.
- D'autres techniques d'analyse de la fonction plaquettaire autres que l'agrégométrie par méthode photométrique ont été développées (Tests d'agrégation sur sang total, test d'exploration globale de la fonction plaquettaire comme le test d'occlusion ou PFA-100). La méthode par agrégométrie semble être la plus répandue. L'analyse préliminaire de la littérature semblent confirmer que l'agrégométrie par méthode photométrique

serait plus spécifique et resterait le *gold standard* (18,19,28,30,32,33). Le demandeur ne sollicite l'inscription que de cette technique d'agrégométrie par méthode photométrique. L'évaluation ne portera donc que sur cette méthode (si l'analyse critique finale de la littérature le confirme).

- Les résultats de l'analyse critique préliminaire de la littérature réalisée pour le cadrage, selon la méthode HAS, semblent congruents avec les conclusions du groupe d'experts de la CHAP de Biologie Médicale. A noter la question de la réalisation du test dans les 2 heures suivant le prélèvement dans des centres spécialisés.

IV. RECHERCHE ET TITRAGE D'INHIBITEUR CONTRE LES FACTEURS ANTI-HEMOPHILIQUES

Il est proposé par le demandeur une inscription de ce test à la NABM.

IV.1 Technique

D'après l'*International Society on Thrombosis and Hemostasis* (ISTH) (39), et selon les recommandations de l'AFSSaPS (40), la méthode d'analyse de référence serait la méthode Bethesda-Nijmegen (*Nijmegen modification of the Bethesda assay*).

IV.2 Pathologie et circonstance de prescription

- Pathologie

L'hémophile est une maladie hémorragique liée à un déficit en facteur VIII (Hémophilie A) ou en facteur IX (Hémophilie B). Il existe des hémophilies congénitales et des hémophilies acquises.

Le traitement de l'hémophilie congénitale fait appel à l'utilisation de concentrés de facteur anti-hémophilique (FAH) : facteur VIII pour l'hémophilie A, facteur IX pour l'hémophilie B.
La complication iatrogène la plus fréquente et la plus redoutée est l'apparition d'un anticorps qui inhibe l'activité procoagulante du facteur antihémophilique, le rendant inefficace (40,41). Cette complication se voit principalement au cours de l'hémophilie A sévère (40-42).
La recherche et le dosage éventuel d'un inhibiteur dirigé contre le F VIII ou le F IX sont des examens à réaliser régulièrement et de façon obligatoire chez l'hémophile traité par concentré de facteur anti-hémophilique (FAH). (40) Ce dosage permet de distinguer les hémophiles avec inhibiteurs appelés faibles répondeurs, traités en augmentant les doses de F VIII ou IX injectées, des patients dits forts répondeurs traités par des produits dits « court-circuitants » (41,43). Le traitement de fond repose sur l'Induction d'une tolérance immune (ITI), durant laquelle le dosage permet d'apprécier l'efficacité du traitement et d'adapter le protocole à la réponse constatée (40,43).

L'hémophile acquise est une maladie auto-immune au cours de laquelle se développent des anticorps dirigés contre un facteur de coagulation du patient, jusque-là indemne de maladie hémorragique. La plus fréquente est l'hémophile A acquise par auto-immunisation anti facteur VIII (44). Le diagnostic se fait sur la constatation d'un taux de FAH effondré, associé à la découverte d'un anticorps anti-FAH.
Le traitement de l'hémophilie acquise repose sur une thérapie antihémorragique (selon le titre d'inhibiteur : facteur VIII humain, desmopressine, facteur VIII porcin, complexes prothrombinique activés, facteur VII activé recombinant) et sur un traitement de fond (immunosuppresseurs et fortes doses d'immunoglobulines) (44).

- Circonstances de prescription

La détection d'inhibiteurs anti-VIII ou anti-IX semblerait devoir être réalisée :

- systématiquement lors du diagnostic d'une hémophilie pour différencier hémophilie congénitale et hémophilie acquise dont les traitements et la prise en charge sont différents.

- chez l'hémophile congénital traité par concentrés de facteur anti-hémophilique selon un schéma dépendant de la gravité de l'hémophilie, et également durant l'ITI (40).

IV.3 Evaluation de la base documentaire disponible

La recherche bibliographique réalisée pour ce cadrage est présentée en annexe IV.

IV.3.1 Documents identifiés

- Deux guides ALD HAS « Guide Affection longue durée. Hémophilies et affections constitutionnelles de l'hémostase graves - Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare » de 2007 et Liste des actes et prestations Affection longue durée. Hémophilies et affections constitutionnelles de l'hémostase graves (en dehors des thrombopathies constitutionnelles) de 2010 (45,46). Le rapport d'évaluation ANAES de 2002 ne semble pas inclure de recommandations sur les tests biologiques de recherche et titrage d'inhibiteur contre les facteurs anti-hémophiliques.
- Un rapport d'évaluation d'autres agences (françaises et étrangères)

Rapport de l'AFSSaPS de mai 2006 sur le « Développement des inhibiteurs et prise en charge chez les patients hémophiles traités par facteur VIII ou IX d'origine plasmatique ou recombinante » (40).

- Quatre recommandations et autres travaux des sociétés savantes
    - *A detailed comparison of the performance of the standard versus the Nijmegen modification of the Bethesda assay in detecting factor VIII:C inhibitors in the haemophilia A population of Canada. Association of Haemophilia Centre Directors of Canada* - une publication de 1998 par le *Factor VIII/IX Subcommittee of Scientific and Standardization Committee of International Society on Thrombosis and Haemostasis* (39) ;
    - *The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organisation*; 2006 (47) ;
    - Italian guidelines for the diagnosis and treatment of patients with haemophilia and inhibitors de 2005 par *The Italian Association of Haemophilia Centres* (48) ;
    - *Suggestions for the management of factor VIII inhibitors* de 2000 par *the Inhibitor Subcommittee of the Association of Haemophilia Clinic Directors of Canada* (49).

- Estimation du nombre d'articles par type d'étude, identifiés par la recherche systématique sur Medline
    - La recherche systématique sur Medline a identifié 15 publications de type « Recommandations ». En excluant les articles sans rapport avec l'évaluation diagnostique, le nombre d'articles été estimé à 10.
    - La recherche systématique sur Medline a identifié 140 publications de type « Revues ». En excluant les articles sans rapport avec l'évaluation diagnostique, le nombre d'articles été estimé à 22.

IV.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage

La méthode Bethesda-Nijmegen est recommandée par l'*International Society on Thrombosis and Hemostasis* (ISTH) (39), et l'AFSSaPS (40) ainsi que par l'association italienne des centres de traitement de l'hémophilie (48).
A noter qu'en Europe, la modification de Nijmegen est utilisée à la différence du Canada et de l'Amérique Latine où la méthode Bethesda initiale est encore réalisée (49-51).

IV.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition d'inscription

« Le diagnostic et la prise en charge de l'hémophilie constitutionnelle ou acquise ne peuvent se faire si l'on ne dispose pas des tests de détection et de titrage éventuel d'inhibiteurs dirigés contre le facteur VIII ou le facteur IX. Ils sont déterminants pour le choix des traitements anti-hémophiliques et les éventuelles modifications de stratégie thérapeutique lors du suivi de ces pathologies. Ceci justifie pleinement l'inscription de cet acte à la NABM. »

La CHAP propose l'inscription du test de « recherche et titrage d'inhibiteur contre les facteurs anti-hémophiliques » à la NABM.
« 1009 : Recherche et titrage d'un anticoagulant circulant antifacteur VIII, antifacteur IX, ou dirigé contre un autre facteur de coagulation. »

IV.5 Prise en charge par l'Assurance maladie

A ce jour, l'acte de « recherche et titrage d'inhibiteur contre les facteurs anti-hémophiliques » n'est pas inscrit à la NABM.

IV.6 Changement(s) attendu(s) suite à l'évaluation

Inscription à la NABM

IV.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s)

Les résultats de l'analyse critique préliminaire de la littérature réalisée pour le cadrage, selon la méthode HAS, semblent congruents avec les conclusions du groupe d'experts de la CHAP de Biologie Médicale.

V. RECHERCHE D'UN ANTICOAGULANT DE TYPE LUPIQUE DE TYPE II

Il est proposé par le demandeur une inscription de ce test à la NABM.

V.1 Technique

Les différentes étapes de la procédure diagnostique d'un anticoagulant lupique (LA) sont les suivantes :

1. Dépistage ou détection en présence de faibles concentrations en phospholipides
2. Mise en évidence d'un inhibiteur
3. Confirmation de sa dépendance aux phospholipides

V.2 Pathologie

La thrombophilie désigne les anomalies de l'hémostase prédisposant aux thromboses ou une tendance clinique aux thromboses (thromboses veineuses profondes et embolies pulmonaires). En France, l'incidence annuelle de la thrombose veineuse profonde serait de 120 pour 100 000 et celle de l'embolie pulmonaire entre 60 et 111 pour 100 000. La maladie thrombo-embolique veineuse serait responsable d'une mortalité de 7,2 pour 100 000. Dans le cadre de la grossesse, la prévalence de la maladie thrombo-embolique veineuse serait de 1 cas pour 1 000 à 2 000 grossesses (52).

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est une des les causes acquises de thrombophilie. Le SAPL est caractérisé par la production d'anticorps antiphospholipides (aPL) à des taux modérés ou élevés.
Il est défini par l'association (52) :
– d'un critère biologique (présence d'un anticorps de la famille des antiphospholipides persistant sur deux prélèvements séparés d'au moins 6 semaines de type anticardiolipine et/ou de type anticoagulant lupique) ;
– et d'un critère clinique (thrombose micro ou macrovasculaire veineuse ou artérielle, ou pathologie obstétricale).

L'anticoagulant lupique est une anomalie acquise, qui toucherait environ 2 % de la population générale. *In vitro*, l'anticoagulant lupique entraîne un allongement du temps de coagulation mais *in vivo*, il est associé à un risque de thrombose qui peut se manifester par des complications obstétricales, neurologiques, rénales ou pulmonaires.
Selon les caractéristiques des patients, l'incidence des complications liées aux thromboses serait de 5 à 20 % chez les patients ayant un anticoagulant lupique.
L'anticoagulant lupique serait présent chez 8 à 14 % des patients ayant une thrombose veineuse profonde et 1/3 des patients ayant un accident vasculaire cérébral avant l'âge de 50 ans (52).

V.3 Base documentaire disponible

La recherche bibliographique réalisée pour ce cadrage est présentée en annexe IV.

V.3.1 Documents identifiés

- Un rapport d'évaluation de la HAS de 2006 sur la « Recherche complémentaire et identification d'un anticoagulant lupique » (52).
- Un rapport d'évaluation d'autres agences (françaises et étrangères) : celui de l'AFSSaPS de novembre 2009 : « Prévention et traitement de la maladie

thromboembolique veineuse en médecine. Recommandations de bonne pratique » (53).

- Recommandations et autres travaux des sociétés savantes
    - *Subcommittee meeting on Lupus Anticoagulant Phospholipid detection; Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection of the guidelines for lupus anticoagulant detection* de 2009 (54) ;
    - Les facteurs biologiques de risque dans le cadre de la maladie thromboembolique veineuse. Recommandations professionnelles de 2009 par le Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose (GEHT) (55) ;
    - *Venous thromboembolism, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition)*; 2008 (56)

- Recommandations et autres travaux des sociétés savantes antérieurs au rapport HAS de 2006
    - Lupus anticoagulant testing using plasma spiked with monoclonal antibodies: performance in the UK NEQAS proficiency testing programme de 2004 (57) ;
    - Thrombophilie et grossesse. Prévention des risques thrombotiques maternels et placentaires. Conférence de consensus de 2003 par Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé, Club de périfoetologie et l'ANAES (58) ;
    - Lupus anticoagulant testing: improvements in performance in a UK NEQAS proficiency testing exercise after dissemination of national guidelines on laboratory methods de 2002 (59) ;
    - Guidelines on the investigation and management of the APS de 2000 (60)
    - Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH de 1995 (61) ;
    - *Guidelines on testing for the lupus anticoagulant. Lupus anticoagulant working party on behalf of the BCSH Haemostasis and Thrombosis Task Force* de 1991 par le *British Society for Haematology* (62).

- Estimation du nombre d'articles par type d'étude, identifiés par la recherche systématique sur Medline
    - La recherche systématique sur Medline a identifié 20 publications de type « Recommandations ». En excluant les articles sans rapport avec l'évaluation diagnostique, le nombre d'articles été estimé à 7.
    - La recherche systématique sur Medline a identifié 63 publications de type « Revues ». En excluant les articles sans rapport avec l'évaluation diagnostique, le nombre d'articles été estimé à 34.

V.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage

Depuis le rapport d'évaluation de la HAS de 2006 « recherche et identification d'un anticoagulant lupique », le diagnostic biologique de LA a fait l'objet d'une actualisation des recommandations (initialement proposées par Brandt et al en 1995) par le *Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody* du *Scientific and Standardization Committee* de l'ISTH (54).

La procédure diagnostique comprend différentes étapes :

1. Dépistage ou détection en présence de faible concentration en phospholipides

Aucun test ne semble être sensible à toutes les formes de LA du fait de l'hétérogénéité des anticorps, un second test différent serait donc nécessaire. Par contre, le risque de faux positifs serait augmenté si plus de 2 tests sont réalisés.
L'allongement du temps de coagulation semble donc devoir être évalué lors de 2 tests de coagulation dépendants des phospholipides (54).
Les tests recommandés seraient les suivants (54) :

- Le Temps de Venin de Vipère Russell dilué (dRVVT)

Le dRVVT semble être le premier test recommandé car il semble être le plus robuste dans la détection du LA (54,63).
L'activation directe du facteur X permettrait au dRVVT de ne pas être influencé par les déficits de la voie endogène ou les anomalies associées de la coagulation (64).

- Le Temps de Céphaline avec Activateur (TCA) utilisant la silice comme activateur ('Activated Partial Thromboplastin Time')

Il ne semble pas recommandé d'utiliser le Temps de Thrombine Diluée (54).
Pour exclure un LA, il faudrait que les résultats des deux tests de dépistage soient négatifs (54).

2. Mise en évidence d'un inhibiteur

La démonstration de la présence d'un inhibiteur semble reposer sur l'absence de correction de l'allongement du test de dépistage par l'apport de plasma normal dans un rapport 1 :1.

3. Confirmation de sa dépendance aux phospholipides

La caractérisation de cet inhibiteur passerait par l'apport d'un excès de phospholipides.

Les résultats semblent devoir être reportés de manière quantitative et interprétés dans le contexte du LA.
Toute autre coagulopathie semble devoir être exclue (52,64).

Lorsqu'un patient a été identifié positif pour le LA, il semble impératif que les tests soient répétés sur un 2ème prélèvement réalisé à au moins 12 semaines après les premiers tests (54,65).

Les tests semblent devoir être réalisés par le même laboratoire en utilisant le même test et le même coagulomètre (66).

Des dosages immunologiques complémentaires pourraient être réalisés (recherche d'anticorps anticardiolipine et antiβ2glycoprotéine1).

– Indications potentielles

Selon le rapport de la HAS 2006 (52)	Selon l'actualisation des recommandations du « Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody » du « Scientific and Standardization Committee » de l'*International Society on Thrombosis and Haemostasis* (54)
▪ Episode de thrombose veineuse profonde ou embolie pulmonaire sans cause apparente ; ▪ Récidive de thrombose veineuse profonde ou embolie pulmonaire (même en présence d'autres facteurs de risque de thrombose) ; ▪ Accident vasculaire cérébral ou thrombose artérielle périphérique en l'absence de facteur de risque ; ▪ Thromboses artérielles récidivantes malgré un traitement anticoagulant préventif ; ▪ Lupus érythémateux disséminé, pour évaluer le risque de thrombose ; ▪ Fausses couches multiples ; ▪ Pré-éclampsie précoce ou sévère ou insuffisance placentaire sévère ; ▪ Mort intra-utérine inexpliquée ; ▪ Retard de croissance intra-utérin sévère inexpliqué.	▪ Faible probabilité : accident thromboembolique veineux ou artériel chez des patients âgés. ▪ Probabilité modérée : TCA allongé chez des sujets asymptomatique, fausses couches multiples, accident thromboembolique veineux ou artériel chez le sujet jeune ▪ Forte probabilité : accident thromboembolique veineux ou artériel non expliqués chez le sujet jeune (<50 ans), thrombose dans des sites inhabituels, mort intra-utérine, thrombose ou mort intra-utérine tardive chez des patients atteints de maladie auto-immune.

- Performance du test

Selon le rapport HAS « recherche complémentaire et identification d'un anticoagulant lupique de 2006 » (52), la sensibilité et la spécificité de la recherche (et de l'identification) de l'anticoagulant lupique varieraient respectivement de 82 % à 99 % et de 88 % à 99 % selon le type et la composition des plasmas utilisés.

V.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition d'inscription

« Etant donné l'importance du LA comme facteur de risque de thrombose et le fait qu'il soit l'un des éléments diagnostiques du SAPL, nous proposons l'inscription de cet acte à la NABM selon le libellé suivant : **«** Recherche et identification d'un anticoagulant de type lupique (ou antiphospholipide par une technique de coagulation ou « antiprothrombinase »).
La prescription de cet acte doit être strictement réservée aux indications.
Cet examen doit être effectué à l'aide d'au moins deux tests de coagulation dépendants des phospholipides, dont le temps de venin de vipère Russell dilué.
Une conclusion interprétant les résultats doit figurer sur le compte rendu. »

La CHAP propose l'inscription de la « Recherche et identification d'un anticoagulant de type lupique (ou antiphospholipide par une technique de coagulation ou « antiprothrombinase ») à la NABM.

« Recherche et identification d'un anticoagulant de type lupique (ou antiphospholipide par une technique de coagulation ou « antiprothrombinase »).

Cet examen doit être effectué à l'aide d'au moins deux tests de coagulation dépendant des phospholipides, dont le temps de venin de vipère Russell dilué.

Une conclusion interprétant les résultats doit figurer sur le compte rendu.

Les indications de cet acte sont les suivantes :

- épisode de thrombose veineuse profonde ou embolie pulmonaire sans cause évidente ;
- récidive de thrombose veineuse profonde ou embolie pulmonaire (même en présence d'autres facteurs de risque de thrombose) ;
- accident vasculaire cérébral ou thrombose artérielle périphérique en l'absence de facteur de risque ;
- thromboses artérielles récidivantes malgré un traitement anticoagulant préventif ;
- lupus érythémateux disséminé, pour évaluer le risque de thrombose ;
- fausses couches récidivantes précoces ;
- pré-éclampsie précoce ou sévère ou insuffisance placentaire sévère ;
- mort intra-utérine inexpliquée ;
- retard de croissance intra-utérin sévère inexpliqué. »

V.5 Prise en charge par l'Assurance maladie

L'acte « recherche et identification d'un anticoagulant lupique » n'existe pas à la NABM.

Il existe actuellement deux libellés dans la NABM :

- Dans le sous-chapitre 5-02 HEMOSTASE ET COAGULATION
  - Temps de Céphaline activée + activateur (code 1127)
  - Correction du temps de Céphaline activée + activateur (code 0182)

« En cas d'allongement anormal du temps de Céphaline + activateur non lié à un traitement anticoagulant : dépistage d'un anticoagulant circulant par l'épreuve de correction du temps de céphaline + activateur (0182) »

- Dans le chapitre 7-03 AUTOIMMUNITE, code 1460 : « Titrage des auto-anticorps antiphospholipides (anticardiolipine…) » qui est précisé par le commentaire suivant : « en cas de dépistage d'un anticoagulant circulant » (code : 0182) « ou d'une sérologie de syphilis dissociée » (code : 1306) « et s'il y a confirmation d'un syndrome des antiphospholipides, le directeur de laboratoire peut de sa propre initiative pratiquer les examens 1460 et 1461 ». L'inscription de l'acte « Recherche et identification d'un anticoagulant lupique par une technique de coagulation » à la NABM pourrait induire d'éventuelles précisions concernant le libellé existant 1460.

V.6 Changement(s) attendu(s) suite à l'évaluation

Inscription à la NABM

V.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s)

Les résultats de l'analyse critique préliminaire de la littérature réalisée pour le cadrage, selon la méthode HAS, semblent congruents avec les conclusions du groupe d'experts de la CHAP de Biologie Médicale.

VI. RECHERCHE D'ANTICORPS ANTI-FACTEUR 4 PLAQUETTAIRE (PF4) DANS LE CADRE D'UNE SUSPICION DE THROMBOPENIE INDUITE PAR L'HEPARINE (TIH)

Il est proposé par le demandeur une inscription de ce test à la NABM.

VI.1 Technique

La recherche d'anticorps anti-facteur 4 plaquettaire semble nécessiter la réalisation de deux tests : un test fonctionnel et un test immunologique.

VI.2 Pathologie

La thrombopénie induite par l'héparine (TIH) est un syndrome clinico-biologique qui résulte de l'interaction d'anticorps (IgG le plus souvent) avec le facteur 4 plaquettaire (F4P) libéré par les plaquettes en présence d'héparine. Cette interaction entraîne une activation plaquettaire intense ainsi qu'une activation de la coagulation qui peut aboutir à à la survenue de thromboses artérielles et veineuses.

La TIH est d'apparition tardive (typiquement 5 à 8 jours, mais ce délai peut être plus court chez un patient exposé à l'héparine antérieurement), et fait suite à l'administration d'héparine non fractionnée (HNF) ou d'héparine de bas poids moléculaire (HBPM).
La TIH est un événement rare. Chez les patients traités par HNF, la fréquence de la TIH varie de 1 % en milieu médical à 3 % en milieu chirurgical (jusqu'à 5 % en chirurgie cardiaque et orthopédique). Chez les patients traités par HBPM, la survenue de la TIH est possible, mais plus rare, et inférieure à 1 %. (25)

La population cible est constituée de tous les cas de suspicion de TIH. En France, toute suspicion de TIH doit être déclarée au centre régional de pharmacovigilance. D'après les données de l'AFSSaPS, 233 cas de thrombopénie ont été déclarés en 2004, dont 179 (76,8 %) ont fait l'objet d'une recherche d'anticorps potentiellement responsables d'une TIH (12 données manquantes).
Ces données sont assujetties aux biais de notification, seuls les cas de thrombopénies graves avec suspicion de TIH ayant été déclarés. L'importance de la sous-notification ne peut pas être chiffrée. Le chiffre de 179 est donc une sous-estimation de la population cible. (25)

VI.3 Evaluation de la base documentaire disponible

La recherche bibliographique réalisée pour ce cadrage est présentée en annexe IV.

VI.3.1 Documents identifiés

- Un rapport HAS de 2005 « Recherche d'anticorps potentiellement responsables d'une thrombopénie induite par l'héparine » (25).
- Pas de rapport d'évaluation d'autres agences (françaises et étrangères).
- Deux recommandations et autres travaux des sociétés savantes

  - *Treatment and prevention of heparin-induced thrombocytopenia: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition)*; 2008 (36) ;
  - *The management of heparin-induced thrombocytopenia.; Haemostasis and Thrombosis Task Force of the British Committee for Standards in Haematology*; 2006 (35).
- Recommandations et autres travaux des sociétés savantes antérieurs au rapport HAS
  - Heparin-induced thrombocytopenia: recognition, treatment, and prevention. The seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy de 2004 (37) ;
  - Thrombopénie induite par l'héparine ; Conférence d'experts de 2002 par la Société Française d'Anesthésie et de Réanimation, Groupe d'étude hémostase et thrombose de la Société française d'hématologie, Société française de cardiologie, Société de réanimation de langue française (34) ;
  - *Platelet count monitoring and laboratory testing for heparin-induced thrombocytopenia*, publication de 2002 par le *College of American Pathologists* (38).

- Estimation du nombre d'articles par type d'étude, identifiés par la recherche systématique sur Medline
  - La recherche systématique sur Medline a identifié 8 publications de type « Recommandations ». En excluant les articles sans rapport avec l'évaluation diagnostique, le nombre d'articles a été estimé à 6.
  - La recherche systématique sur Medline a identifié 46 publications de type « Revues ». En excluant les articles sans rapport avec l'évaluation diagnostique, le nombre d'articles a été estimé à 31.

VI.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage

- Place dans la stratégie thérapeutique et prise en charge actuelle

Le rapport de la HAS 2005, ainsi que les recommandations du *College of American Pathologists* et du *British Committee for Standards in Haematology* recommandent la réalisation de la recherche d'anticorps anti-facteur 4 plaquettaire (PF4) dans le cadre d'une suspicion de thrombopénie induite par l'héparine (25,35,36).

Les deux tests complémentaires qui semblent être recommandés sont (35,36) :

- Un test fonctionnel : test d'agrégation plaquettaire ou test de libération de sérotonine radiomarquée (qui nécessite un agrément RIA et n'est donc disponible que dans des laboratoires spécialisés) ;
- Un test immunologique par méthode ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) ou EIA (Enzyme ImmunoAssay).

La présence d'anticorps potentiellement responsables d'une TIH constitue un des éléments diagnostiques devant une suspicion de TIH, le diagnostic de TIH reposant sur un faisceau d'arguments. Des scores peuvent être utilisés comme aide au diagnostic. La décision

d'arrêter l'héparine et de la remplacer par un autre antithrombotique d'action immédiate est prise dès la suspicion de TIH et avant la confirmation biologique. La confirmation de la TIH par des tests diagnostiques conditionne la prise en charge ultérieure du malade (25).

Selon le rapport 2005 de la HAS (25), cet acte ne devrait être utilisé que devant une suspicion de TIH et il est non-indiqué dans le suivi d'un traitement par héparine.

- Indications potentielles

Selon le rapport 2005 de la HAS (25), l'indication serait toute suspicion de TIH, c'est-à-dire devant la survenue des événements suivants :

- numération plaquettaire < 100 G/L (en l'absence de numération antérieure), et/ou une chute relative des plaquettes sur deux numérations successives (de 30 % à 50 % selon les recommandations) sous traitement par héparine ;
- thromboses veineuses ou artérielles sous traitement par héparine ;
- résistance à l'héparinothérapie avec extension du processus thrombotique initial ;
- même si le patient n'est plus sous héparine, devant la survenue d'une thrombose ou d'une thrombocytopénie.

- Performance du test

Selon le rapport de la HAS de 2005(25), l'association des deux tests permet d'obtenir une sensibilité de 100 % et la réalisation du test fonctionnel nécessite un laboratoire spécialisé.

VI.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition d'inscription

« La recherche d'anticorps anti-PF4 est, avec les tests fonctionnels plaquettaires, un élément diagnostique indispensable pour le diagnostic de thrombopénie induite par l'héparine de type II, complication potentiellement redoutable des traitements par les dérivés héparíniques. L'impact sur la prise en charge des patients est majeur, ce qui justifie son inscription à la NABM »

La CHAP propose l'inscription de l'acte « recherche d'anticorps anti-facteur 4 plaquettaire (PF4) dans le cadre d'une suspicion de thrombopénie induite par l'héparine » à la NABM.

« 1012 Recherche d'anticorps anti-facteur 4 plaquettaire (PF4 dans le cadre d'une suspicion de thrombopénie induite par l'héparine
Cet acte ne doit être utilisé que devant une suspicion de TIH de type II. Il n'est pas indiqué dans le suivi d'un traitement par héparine. »

VI.5 Prise en charge par l'Assurance Maladie

A ce jour, l'acte « recherche d'anticorps anti-facteur 4 plaquettaire (PF4) dans le cadre d'une suspicion de thrombopénie induite par l'héparine » n'est pas inscrit à la NABM.

Le « sous-chapitre 5-03 IMMUNOHEMATOLOGIE » présente un libellé concernant « Recherche d'anticorps antiplaquettaires dans le cadre de la transfusion sanguine (receveur), en « pathologie néonatale (mère et enfant), et dans les cytopénies auto-immunes : Dépistage sur un panel de plaquettes provenant de 5 à 10 donneurs (code 0162). En cas de positivité de la recherche 0162, identification sur les plaquettes de 20 donneurs supplémentaires typés préalablement (code 0163). »

VI.6 Changement(s) attendu(s) suite à l'évaluation

Inscription à la NABM.

VI.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s)

Les résultats de l'analyse critique préliminaire de la littérature réalisée pour le cadrage, selon la méthode HAS, semblent congruents avec les conclusions du groupe d'experts de la CHAP de Biologie Médicale.

VII. RECHERCHE DE LA MUTATION G1691A DU GENE DU FACTEUR V (FACTEUR V LEIDEN) ET DE LA MUTATION G20210A DU GENE DE LA PROTHROMBINE DANS LE CADRE DE LA RECHERCHE DE FACTEURS DE RISQUE DE LA MALADIE THROMBO-EMBOLIQUE VEINEUSE

Il est proposé par le demandeur une inscription de ce test à la NABM.

VII.1 Technique

Cette recherche consiste en un examen de biologie moléculaire avec analyse de l'ADN (63,67,68).

L'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales est réglementé par le Code de la santé publique : titre III de la nouvelle partie législative (articles L. 1131-1 à L. 1131-3) et titre III de la nouvelle partie réglementaire (articles R. 1131-1 à R. 1131-21).[5]

VII.2 Pathologie

- Description

La thrombophilie désigne les anomalies de l'hémostase prédisposant aux thromboses ou à une tendance clinique au développement de thromboses (thromboses veineuses profondes et embolies pulmonaires). Ces anomalies peuvent être liées à la présence de certaines mutations, telles que FV Leiden et FII G20210A (55).

- Indications potentielles

D'après l'évaluation de la HAS (69), ces actes présenteraient un intérêt pour le diagnostic des facteurs de risque de récidive de thrombose et permettraient d'adapter la prise en charge préventive et curative dans certaines situations. Les indications consensuelles de ces examens seraient regroupées selon que l'on se trouve ou non dans un contexte obstétrical.

- Dans le cas général (en dehors d'une grossesse), c'est le bilan étiologique, en particulier chez un sujet de moins de 50 ans :
  - d'une thrombose veineuse profonde inexpliquée ou récidivante ;
  - d'une embolie pulmonaire inexpliquée ou récidivante.
- Chez la femme enceinte, c'est le bilan étiologique demandé :
  - devant la survenue d'une thrombose veineuse ;
  - en cas d'antécédents familiaux de thrombose veineuse prouvés ;
  - en cas d'antécédents personnels de thrombose veineuse.

VII.3 Base documentaire disponible

La recherche bibliographique réalisée pour ce cadrage est présentée en annexe IV.

[5] «L'examen des caractéristiques génétiques, à des fins médicales, est défini comme suit par le code de la santé publique dont l'article R.1131-1 du Code de santé Publique : « L'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales consiste à analyser ses caractéristiques génétiques héritées ou acquises à un stade précoce du développement prénatal.
« Cette analyse a pour objet :
- soit de confirmer ou d'infirmer le diagnostic de maladie génétique chez une personne qui en présente les symptômes,
- soit de rechercher, chez une personne asymptomatique, les caractéristiques d'un ou de plusieurs gènes susceptibles d'entraîner à terme le développement d'une maladie chez la personne elle-même ou sa descendance »

VII.3.1 Documents identifiés

- Deux rapports HAS
    - Test de résistance à la protéine C activée ; Recherche de la mutation Facteur V Leiden ; Recherche de la mutation g.20210G>A de la prothrombine (69)
    - Thrombophilie et grossesse - Prévention des risques thrombotiques maternels et placentaires (58)
- Un rapport d'évaluation d'autres agences (françaises et étrangères)

Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSaPS). Prévention et traitement de la maladie thromboembolique veineuse en médecine ; Recommandations de bonne pratique ; Novembre 2009 (53).

- Recommandation des sociétés savantes

Les facteurs biologiques de risque dans le cadre de la maladie thromboembolique veineuse. Recommandations professionnelles de 2009 par le Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose (GEHT) (55)

- Recommandations et autres travaux des sociétés savantes antérieurs au rapport HAS
    - *Thrombophilia and venous thromboembolism. International consensus statement. Guidelines according to scientific evidence. European Genetics Foundation* de 2005 (70) ;
    - Recommandation de l'*American College of Chest Physicians* (ACCP) en 2004 lors de la 7e conférence ACCP sur les traitements antithrombotique et thrombolitique :
        - *Use of antithrombotic agents during pregnancy. The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy: evidence-based guidelines* (71) ;
        - *Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease. The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy: evidence-based guidelines* (72) ;
        - *Methodology for guideline development for the Seventh American College of Chest Physicians Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy: evidence-based guidelines* (73) ;
        - *The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy: evidence-based guidelines* (74) ;
    - *Guidelines for the laboratory investigation of inherited thrombophilias. Recommendations for the first level clinical laboratories* de 2003 par l' *European Communities Confederation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Working Group on Guidelines for Investigation of Disease* (75) ;
    - Facteurs génétiques prédisposant à la thrombophilie – publication de 2001 par la Société française de génétique humaine (67) ;

- *American College of Medical Genetics consensus statement on factor V Leiden mutation testing* de 2001 par *l'American College of Medical Genetics* (76) ;
- *Investigation and management of heritable thrombophilie*, Guideline de 2001 par le *British Society for Haematology* (68) ;
- *Thromboembolism in pregnancy* – publication de 2000 de *l'American College of Obstetricians and Gynecologists* (77).

- Estimation du nombre d'articles par type d'étude, identifiés par la recherche systématique sur Medline
  - A ce jour, le nombre de publications de type « Recommandations » est estimé à 4.
  - A ce jour, le nombre de publications de type « Revues » est estimé à 47.
  - La recherche systématique sur Medline a identifié 4 publications de type « Recommandations ». Aucun article n'a était exclu par le critère « aucun rapport avec l'évaluation diagnostique ». La recherche systématique sur Medline a identifié 124 publications de type « Revues ». En excluant les articles sans rapport avec l'évaluation diagnostique, le nombre d'articles été estimé à 47.

VII.3.2 Synthèse préliminaire réalisée pour la note de cadrage

Les techniques de biologie moléculaire permettant la recherche des deux mutations constituent les méthodes de référence pour ces diagnostics.
Le résultat de ces actes permet, dans certaines indications, d'adapter la prise en charge du patient pour prévenir la survenue ou la récidive d'une thrombose veineuse (mise sous traitement anticoagulant, adaptation de la posologie et de la durée de ce traitement, etc.), en tenant compte du risque hémorragique lié au traitement anticoagulant. (69)

VII.4 Conclusion du groupe d'experts de la CHAP : proposition d'inscription

« Ces actes présentent un intérêt pour l'identification des facteurs de risque de maladie thromboembolique veineuse et apportent des arguments biologiques majeurs à la décision thérapeutique concernant en particulier les indications de durée de traitement et les éventuelles propositions de traitement anticoagulant au long cours. »

La CHAP propose l'inscription à la NABM des actes Recherche de la mutation G1691A du gène du facteur V (facteur V Leiden) et de la mutation G20210A du gène de la prothrombine dans le cadre de la recherche de facteurs de risque de la maladie thromboembolique veineuse.

« Recherche de la mutation G1691A du gène du facteur V (facteur V Leiden)
Cette cotation comprend toutes les étapes techniques nécessaires à l'obtention du résultat.
Recherche de la mutation G20210A du gène de la prothrombine (facteur II Leiden). Cette cotation comprend toutes les étapes techniques nécessaires à l'obtention du résultat. »

VII.5 Prise en charge par l'Assurance maladie

A ce jour les actes de mise en évidence de la mutation G1691A du gène du facteur V (facteur V Leiden) et de la mutation G20210A du gène de la prothrombine, dans le cadre de

la recherche de facteurs de risque de la maladie thromboembolique veineuse, ne sont pas inscrits à la NABM.

VII.6 Changement(s) attendu(s) suite à l'évaluation

Inscription à la NABM.

VII.7 Question(s) soulevée(s) par l'évaluation – Problématique(s) – Enjeu(x) – Difficulté(s)

Les résultats de l'analyse critique préliminaire de la littérature réalisée pour le cadrage, selon la méthode HAS, semblent congruents avec les conclusions du groupe d'experts de la CHAP de Biologie Médicale.

REALISATION PROPOSEE

I. TITRE RETENU POUR L'EVALUATION

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES ANOMALIES DE L'HEMOSTASE

II. OBJECTIF

Actualisation du sous-chapitre 5-02 « Hémostase et coagulation » de la NABM en proposant la radiation des techniques obsolètes et l'inscription de techniques plus nouvelles et *a priori* plus performantes à la NABM.

III. CHAMP DE L'EVALUATION

- Aspects inclus : actes proposés à modification par la CHAP de Biologie médicale
- Aspects exclus : actes non proposés à modification par la CHAP de Biologie médicale

Cette évaluation ne comprendra pas de volet médico-économique en raison notamment des difficultés de quantification de la population cible. Une analyse de l'impact budgétaire associé à la détermination d'éventuelles non-indications pour certains des actes évalués sera cependant réalisée.

IV. CRITERES DE JUGEMENT RETENUS

- Critère principal : efficacité des différents actes (performance diagnostique)
- Critères secondaires :
    - Sécurité de ces actes
    - Place et impact sur la stratégie thérapeutique

V. METHODE DE TRAVAIL

- Analyse critique de la littérature
    - L'analyse critique de la littérature sera effectuée selon la méthode habituelle de la HAS (Guide d'analyse de la littérature et gradation des recommandations ; ANAES janvier 2000 ; http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/analiterat.pdf)
    - Etant donné la concordance de l'analyse préliminaire de la littérature, et de l'avis des experts de la CHAP, la recherche de la littérature synthétique (recommandations, rapports d'évaluation technologique, revues systématiques, …) sera privilégiée.
    - Pour les techniques ayant fait l'objet d'une évaluation récente par la HAS (recherche et identification d'un anticoagulant de type lupique; recherche d'anticorps anti-PF4 dans le cadre d'une suspicion de thrombopénie induite par l'héparine ; recherche des mutations G1691A et G20210A), seuls les documents plus récents seront recherchés et l'analyse de la littérature se concentrera surtout à la mise à jour de ces rapports d'évaluation.

- Rappel de la proposition du groupe d'experts de la CHAP.

La position des professionnels de santé consistera à exposer les propositions et les arguments du groupe d'experts « Hémostase et coagulation » de la CHAP, composé d'experts de différentes spécialités impliquées dans l'hémostase (biologistes, biologistes spécialisés en hématologie et clinicien hématologue dont des experts universitaires MCU-PH et PU-PH) et de différents exercices (privés et publics). Ce travail ayant été réalisé en amont de l'évaluation et le cadrage ayant permis de constater une concordance entre les recommandations identifiées et les propositions de ce groupe, il n'est pas prévu de recourir à une nouvelle interrogation d'experts.

VI. PLAN DU RAPPORT D'EVALUATION

- Préambule et introduction ;
- Méthode d'évaluation ;
- Résultats de l'évaluation et conclusions, pour chaque technique :
  - Résultats de l'analyse critique de la bibliographie
  - Proposition du groupe d'experts de la CHAP
  - Conclusion
- Conclusion générale.

VII. DOCUMENTS A PRODUIRE

- Rapport d'évaluation ;
- Texte court ;
- Document d'avis ;
- Texte court en anglais ;
- Brief INAHTA ;
- Information à préciser auprès de l'AFSSaPS relative aux AMM mentionnant encore les tests proposés à la désinscription (e.g. le temps de saignement pour REOPRO) ;
- Une fiche de bon usage pourra être réalisée à la suite de l'évaluation.

VIII. CALENDRIER PREVISIONNEL

CNEDIMTS : février 2011

Collège : mars 2011

Mise en ligne : avril 2011

ANNEXES

I. PHASE DE CADRAGE ET DOCUMENT DE CADRAGE

Cette note de cadrage est le document élaboré à l'issue de la phase de cadrage, première phase du processus d'évaluation d'une technologie de santé.

Elle fait suite à la phase de faisabilité / priorisation qui détermine si la demande d'évaluation est acceptée par la HAS.

Elle a pour principaux buts de :

- définir le contexte dans ces différentes dimensions (médical, organisationnel, les enjeux, les difficultés, …) ;
- formuler les questions auxquelles répondre (*i.e.*, le champ de l'évaluation) ;
- définir la méthode de l'évaluation.

Elle prépare l'évaluation à proprement parler.

La méthode utilisée lors de cette phase de cadrage s'appuie sur :

- la recherche d'information par tous les moyens possibles ;
- une recherche bibliographique systématique permettant d'avoir i) la littérature synthétique (rapports d'évaluation, recommandations de bonne pratique, …) sur le sujet, ii) une estimation macroscopique et quantitative des publications par type d'étude dans les bases de données ;
- des contacts, et le cas échéant la tenue de réunion, avec les différentes parties prenantes (demandeur, institutionnels, professionnels de santé, …).

Ce cadrage est réalisé par un chef de projet de la HAS, avec le soutien d'un membre de la Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé (CNEDiMTS) de la HAS, le référent du sujet.

Ce cadrage est examiné par la CNEDiMTS puis validé par le Collège de la HAS ; la composition de ces deux instances figure sur le site de la HAS.

II. COMPOSITION DU GROUPE D'EXPERTS DE LA CHAP

Nom	Organisme	Commentaires
Madame le Pr Martine AIACH	Hôpital européen Georges Pompidou Laboratoire d'hématologie	PU-PH
Monsieur le Dr Jean-Claude AZOULAY	Laboratoire de Biologie Médicale	Désigné par le syndicat National des Médecins Biologistes (SNBM)
Monsieur le Dr Denis-Jean DAVID	Haute Autorité de santé	Représentant de la HAS
Monsieur Guy DAYLIES	Direction de la sécurité sociale Ministère de la santé, de la jeunesse et des sports	
Monsieur le Dr Vincent ESTEVE	Laboratoire de biologie médicale CH d'Orsay	Désigné par le syndicat national des biologistes hospitaliers (SNBH)
Madame le Pr Pascale GAUSSEM	Hôpital européen Georges Pompidou Laboratoire d'hématologie	PU-PH
Madame le Dr Anne-Françoise KUHN	CNAMTS Département des produits de santé	

Madame le Dr Régine LAPEGUE-LAUZANNE	Haute Autorité de santé	Représentant de la HAS
Monsieur le Dr Pierre LE TREUT	Laboratoire d'analyses médicales Cherpy	
Madame le Dr Laurence MAURY	Laboratoire CERBA	
Madame le Dr Laurence ROBBA	CNAMTS Département des produits de santé	en remplacement d'Anne Françoise Kuhn
Monsieur le Dr Jean-François SCHVED	Hôpital Saint Eloi - CHU de Montpellier Laboratoire central d'hématologie	PU-PH
Madame le Dr Virginie SIGURET	Groupe hospitalier Charles Foix - Jean Rostand Laboratoire d'hématologie	MCU-PH Rapporteur
Monsieur Le Dr Jean-Paul TAAR	Laboratoire Zerah Taar Pfeffer	
Madame le Dr Delphine TISSOT-DUPONT	Clinilab Clinique Belledonne	Désignée par le syndicat des laboratoires de biologie clinique (SLBC)

III. ARGUMENTAIRE

Actualisation du sous-chapitre 5-2 "hémostase et coagulation" de la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale : propositions de modifications (suppression d'actes et inscription de nouveaux actes)

MEMBRES DU GROUPE DE TRAVAIL (par ordre alphabétique)

- Pr Martine AIACH
- Dr Jean-Claude AZOULAY
- Dr Denis-Jean DAVID
- Dr Guy DAYLIES
- Dr Vincent ESTEVE
- Pr Pascale GAUSSEM
- Dr Anne-Françoise KUHN
- Dr Régine LAPEGUE-LAUZANNE
- Dr Pierre LE TREUT
- Dr Laurence MAURY
- Dr Laurence ROBBA
- Pr Jean-François SCHVED
- Dr Virginie SIGURET, **rapporteur**
- Dr Jean-Paul TAAR
- Dr Delphine TISSOT-DUPONT

Février 2010

III.1 Argumentaire pour la suppression du temps de saignement : épreuve de Duke (0121), test d'Ivy incision ou test d'Ivy 3 points (0171)

Rédigé par V. SIGURET (MCU-PH)
revu par JF SCHVED (PU-PH) et P. GAUSSEM (PU-PH)
et tous les biologistes du groupe de travail

I - DEFINITION

Le temps de saignement est un test global explorant l'hémostase primaire *in vivo*. Il consiste à mesurer le temps nécessaire à l'arrêt du saignement après incision superficielle (épreuve de Duke ou test d'Ivy incision) ou piqûre de la peau du patient (test d'Ivy 3 points).

II - PRINCIPES DE REALISATION TECHNIQUE

1. Epreuve de Duke : elle consiste à effectuer une incision horizontale dans la zone médiane du lobe de l'oreille à l'aide d'un vaccinostyle.

2. Test d'Ivy 3 points – Test d'Ivy-incision : il consiste à effectuer, sous une pression de 40 mm de Hg maintenue à l'aide d'un brassard à tension, soit une incision horizontale à la face antérieure du tiers supérieur de l'avant-bras à l'aide d'un dispositif à usage unique (incision de 5 à 8 mm de longueur) (Ivy-incision), soit au même site, 3 points de piqûre à l'aide d'un dispositif à usage unique type « Microlance ».

Dans tous les cas, il nécessite une désinfection préalable de la peau. Le chronomètre est déclenché immédiatement après le geste (piqûre ou incision). Le sang est recueilli sur du papier filtre toutes les 30 secondes jusqu'à l'arrêt du saignement.

Valeurs usuelles :
Epreuve de Duke : 2 à 5 min
Test d'Ivy-3 points : 2 à 5 min
Test d'Ivy-incision : 4 à 8 min

III - CONTEXTE DE PRESCRIPTION

Il a pour intérêt théorique de dépister les anomalies constitutionnelles ou acquises des fonctions plaquettaires (thrombopathies), la maladie de Willebrand (déficit en facteur Willebrand), et certaines anomalies vasculaires [1].
En pratique, il est prescrit dans les circonstances suivantes :

- en pré-opératoire avant un geste un geste invasif ou une intervention chirurgicale
- dans l'exploration d'un syndrome hémorragique avéré ou lors d'une suspicion de syndrome hémorragique

IV - INTERET DIAGNOSTIQUE - LIMITES

La pratique quotidienne et l'analyse de la littérature montrent que le temps de saignement, quel qu'en soit son mode opératoire, est un examen difficile à réaliser, peu sensible et peu spécifique, non prédictif du saignement, avec au total, une absence de « service médical rendu » pour le patient [2-4].

Les limites du temps de saignement sont d'abord liées aux **difficultés de réalisation technique** :

- il est recommandé de ne plus pratiquer l'épreuve de Duke étant donné son absence de standardisation et son absence avérée de sensibilité ; malgré des efforts de standardisation pour le temps de saignement Ivy-incision, le temps de saignement est peu reproductible et opérateur-dépendant. Il nécessite un personnel entraîné et dépend de nombreuses variables : localisation de l'incision ou des piqûres, pression exercée, vascularisation, épaisseur de la peau, agent utilisé pour la désinfection
- il n'est pas utilisable chez le patient très âgé (amincissement et modifications du tissu cutané) ou le nouveau-né ; il est difficile à réaliser chez le nourrisson ou le très jeune enfant
- il nécessite des conditions d'hygiène strictes
- le temps de saignement Ivy-incision laisse une cicatrice indélébile
- il est à l'origine d'hémorragie locale en cas de déficit sévère de l'hémostase (thrombopénie sévère…)
- il n'existe pas de contrôle de qualité.

Les limites sont également liées à son manque de **sensibilité** et **de spécificité.**

- Le temps de saignement réalisé au niveau de la peau ne reflète pas nécessairement le risque de saignement au niveau d'un autre site.
- De nombreux facteurs liés au patient **peuvent allonger le temps de saignement**, **sans lien direct avec le risque hémorragique :**
    - comorbidités : anémie sévère, insuffisance rénale, dysglobulinémie
    - Il n'est pas spécifique de l'hémostase primaire et s'allonge en cas de déficit en facteur VII, en facteur V ou en fibrinogène
    - médicaments : prise d'antiplaquettaires (aspirine, thiénopyridines type clopidogrel…), d'anti-inflammatoires non stéroïdiens, ou d'inhibiteurs de recapture de la sérotonine…

- Inversement, le **temps de saignement** peut être **« normal »**, compris dans les valeurs usuelles **en cas d'anomalies avérées de l'hémostase**, alors même que celles-ci peuvent avoir un retentissement en per-opératoire dans les circonstances suivantes :
    - Maladie de Willebrand (environ 1% de la population générale) : dans un tiers des cas avérés de maladie de Willebrand, le temps de saignement est normal (manque de sensibilité : faux négatifs) [5]. La normalité du temps de saignement n'exclut donc pas une maladie de Willebrand.
      En cas de clinique évocatrice lors d'un interrogatoire ou dans une autre circonstance (recherche étiologique d'un saignement anormal per ou post-opératoire ou en post-partum…) ou bien, enfin, dans un contexte d'enquête familiale, il est désormais recommandé de prescrire directement le dosage de l'activité du facteur Willebrand en cas de suspicion de maladie de Willebrand.

    - dans certaines thrombopathies constitutionnelles ou acquises (maladie du pool vide…) : les tests d'agrégation plaquettaire sont les seuls qui permettent d'orienter le diagnostic.
    - lors de thrombopénies modérées : il n'existe pas de lien direct entre le chiffre de plaquettes en cas de thrombopénie et l'allongement éventuel du temps de saignement [3,6-7].
    - chez certains usagers de l'aspirine, plus rarement du clopidogrel : l'historique médicamenteux des 10 jours précédant la réalisation du temps de saignement est essentiel à préciser avec un interrogatoire bien mené.

V - CONCLUSION

En pratique, un temps de saignement normal n'exclut pas une majoration du saignement per-opératoire liée à une pathologie hémorragique constitutionnelle ou acquise de l'hémostase primaire.
Inversement, un temps de saignement allongé trouvé lors d'un examen préopératoire systématique n'est pas prédictif du risque hémorragique périopératoire.
Enfin, dans l'exploration d'un syndrome hémorragique, le temps de saignement est peu utile au diagnostic de pathologie hémorragique, car il n'est pas spécifique.
Au total, l'évaluation du risque hémorragique ne laisse pratiquement pas de place au temps de saignement.

En conséquence, il apparaît que le temps de saignement réalisé de manière systématique en pré-opératoire ou avant un geste invasif est inutile comme examen de dépistage du risque hémorragique [6-8]. A noter qu'il n'est, ni n'a jamais été recommandé comme examen systématique pré-opératoire dans aucun texte de la Société Française d'Anesthésie Réanimation (SFAR) [9]. Il ne saurait se substituer à un interrogatoire minutieux du patient lorsque le patient est interrogeable : antécédents hémorragiques personnels, familiaux, traitement antiplaquettaire en cours….[7].
Récemment, au Royaume-Uni, des « Guidelines » ont été publiées en 2008 sur l'évaluation du risque hémorragique avant une chirurgie ou un geste invasif [1] accompagnées d'une étude critique de la littérature :

- parmi les tests cités, la réalisation systématique du temps de saignement chez des patients non sélectionnés n'est pas recommandée (grade B, niveau III)
- elles mettent l'accent sur la qualité nécessaire de l'interrogatoire (Grade C, niveau IV)
- en cas d'absence d'antécédents hémorragiques, aucun test n'est indiqué (Grade C, niveau IV)
- en cas d'antécédents hémorragiques, les tests appropriés seront mis en œuvre orientés en fonction de la clinique…(Grade C, niveau IV).

Enfin, en cas de suspicion de syndrome hémorragique ou de syndrome hémorragique avéré, les démarches diagnostiques incluent aujourd'hui des interrogatoires de mieux en mieux standardisés et validés (en cas de suspicion de maladie de Willebrand, par exemple, cf [10]). La réalisation d'un test dit "global" comme le temps de saignement n'est plus d'aucune aide pour le diagnostic ; il est systématiquement remplacé par des tests spécifiques, y compris chez l'enfant de moins de 2 ans (facteur Willebrand, tests d'agrégation plaquettaire…) [2,11].

Références

1. Chee YL, Crawford JC, Watson HG, Greaves M. Guidelines on the assessment of bleeding risk prior to surgery or invasive procedures. British Committee for Standards in Haematology. Br J Haematol. 2008;140(5):496-504
2. Lasne D. Le temps de saignement doit-il être mesuré en préopératoire ? Sang Thrombose Vaisseaux 2001, 13, 342-347.
3. Stepanian A. Biron-Andreani C. Exploration de l'hémostase primaire. Ann Biol Clin 2001, 59 :725-35.
4. Chee YL, Greaves M. Role of coagulation testing in predicting bleeding risk. Hematol J. 2003;4(6):373-8.
5. Fressinaud E, Veyradier A, Truchaud F, Martin I, Boyer-Neumann C, Trossaert M, Meyer D. Screening for von Willebrand disease with a new analyzer using high shear stress: a study of 60 cases. Blood. 1998;91(4):1325-31
6. Lind SE. The bleeding time does not predict surgical bleeding. Blood 1991, 77:2547-52
7. *In* Samama CM. Conduites pratiques en hémostase et thrombose. Ed Alinea (2008), Paris. pp1-169

8. www.has-sante.fr : Jude B, Bauters A, Susen S. Hémorragie : facteurs prédictifs des saignements (2008)
9. www.sfar.org Site de la Société Française d'Anesthésie – Réanimation
10. Bowman M, Mundell G, Grabell J, Hopman WM, Rapson D, Lillicrap D, James P. Generation and validation of the Condensed MCMDM-1VWD Bleeding Questionnaire for von Willebrand disease. 2008 ;6(12):2062-6.
11. Favaloro EJ. Appropriate laboratory assessment as a critical facet in the proper diagnosis and classification of von Willebrand disorder. In Michiels JJ. Clinical Haematology: Von Willebrand factor and Von Willebrand disease, 2001, 14 : 299-320.

III.2 Argumentaire pour la suppression du temps de thrombine (0128-183)

Rédigé par V. SIGURET, MCU-PH – revu par JF SCHVED et P. GAUSSEM (PU-PH)
et tous les biologistes du groupe de travail

I - DEFINITION

Le temps de thrombine (TT) est la mesure du temps de coagulation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes à 37°C en présence de thrombine calcique. C'est un test global d'exploration de la fibrinoformation. En revanche, il n'explore pas la stabilisation de la fibrine par le facteur XIII activé.

II - ETAPES PRE-ANALYTIQUES - PRINCIPES DE REALISATION TECHNIQUE

Le temps de thrombine est réalisé sur un plasma citraté pauvre en plaquettes (PPP).
Les étapes pré-analytiques pour l'obtention du PPP (conditions de prélèvement sanguin, transport, délai de centrifugation, conditions de centrifugation, délai de réalisation de l'examen, conservation de l'échantillon…) ont fait l'objet de recommandations par le Groupe d'Etudes d'Hémostase et de la Thrombose [1].
Le TT est un test de coagulation : après incubation du PPP à 37°C, la coagulation est déclenchée par addition de thrombine calcique et la formation du caillot est détectée par une méthode adéquate (optique ou électro-mécanique). Le résultat est exprimé en secondes par rapport à un plasma témoin [2].
En cas d'allongement du TT, une épreuve de correction par addition de plasma témoin peut être réalisée : l'absence de correction du TT signe la présence d'un inhibiteur dans le prélèvement (héparine, anticoagulant lupique…).

III - CONTEXTE DE PRESCRIPTION

Circonstances de prescription : bilan pré-opératoire, exploration d'un syndrome hémorragique
En cas d'allongement isolé du TCA, le TT avec son épreuve de correction sont fréquemment utilisés par le biologiste pour détecter la présence d'héparine dans le prélèvement.

IV - INTERET DIAGNOSTIQUE – LIMITES

C'est un test d'exploration globale de la fibrino-formation qui manque de sensibilité et de spécificité [1] :
- le TT est peu sensible aux hypofibrinogénémies modérées (0,8-1,5 g/L) qui peuvent avoir une grande valeur sémiologique d'où l'intérêt de mesurer directement en première intention le taux de fibrinogène fonctionnel. C'est particulièrement important pour apprécier d'éventuelles variations du taux de fibrinogène (syndromes de défibrination) : le taux de fibrinogène fait partie des critères diagnostiques et de gravité de la coagulation intra-vasculaire disséminée pour l'International Society on Thrombosis and Haemostasis et la Société Française d'Anesthésie Réanimation [3,4].
- l'allongement du TT est peu spécifique et peut survenir dans différents contextes clinico-biologiques : hypofibrinogénémies ou fortes hyperfibrinogénémies, dysfibrinogénémies, protéines monoclonales, produits de dégradation du fibrinogène ou de la fibrine (du fait de

leur activité antithrombine) au cours de fibrinolyse aiguë ou de coagulopathie de consommation, solutés de remplissage …
- le TT est très sensible à la présence de traces d'héparine dans le prélèvement (contamination ou traitement reçu par le patient) ; néanmoins, ce test n'est pas utilisable pour l'adaptation des traitements par héparine ou hirudine comme l'indiquent les recommandations françaises et nord-américaines concernant la prescription et la surveillance biologique des dérivés héparíniques [5,6].

Avant l'automatisation des tests en hémostase (années 85-90), le TT était techniquement plus simple, plus rapide et moins onéreux à réaliser que le dosage du fibrinogène : il était donc souvent réalisé en première intention. Depuis l'automatisation, le dosage du fibrinogène est réalisé en première intention et le temps de thrombine n'a plus d'intérêt.

V - CONCLUSION

En pratique, la mesure du taux de fibrinogène fonctionnel, test spécifique, est réalisée en première intention et remplace celle du TT, test global peu sensible et peu spécifique. Le TT n'est mentionné dans aucune recommandation de sociétés savantes (ni bilan pré-opératoire, ni diagnostic ou suivi de CIVD, ni suivi de traitements héparíniques).
Par ailleurs, l'utilité de la réalisation d'un TT à l'initiative de certains biologistes pour vérifier l'absence de traces d'héparine dans le prélèvement n'est pas discutée, mais s'inscrit dans une démarche pré-analytique d'assurance-qualité du prélèvement d'hémostase ; Le TT ne doit pas être coté en tant que tel dans ce contexte.
Au total, le TT et le TT corrigé n'ont actuellement plus leur place à la NABM.

Références

[1] Polack B, Schved JF, Boneu B; Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose' (GEHT).
Preanalytical recommendations of the 'Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose' (GEHT) for venous blood testing in hemostasis laboratories. Haemostasis. 2001; 31 :61-8.

[2] Sié P. Exploration de la coagulation. *In* Manuel d'hémostase. J. Sampol, D. Arnoux, B. Boutière. Elsevier Paris, 1995.

[3] XXIIème Conférence de consensus en réanimation : coagulations intravasculaires disséminées en réanimation : définition, classification et traitement. Sang Thrombose Vaisseaux 2003 ;15 :38-47.

[4] Toh CH, Hoots WK; SSC on Disseminated Intravascular Coagulation of the ISTH. The scoring system of the Scientific and Standardisation Committee on Disseminated Intravascular Coagulation of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: a 5-year overview. J Thromb Haemost. 2007 ; 5:604-6.

[5] http://www.afssaps.sante.fr/

[6] Hirsh J, Bauer KA, Donati MB, Gould M, Samama MM, Weitz JI; American College of Chest Physicians. Parenteral anticoagulants: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th Edition). Chest. 2008 Jun;133(6 Suppl):141S-159S. Erratum in: Chest. 2008 Aug;134(2):473.

III.3 Proposition pour l'inscription d'actes inscrits à la NABM

III.3 Argumentaire pour l'inscription du test d'agrégation plaquettaire à la NABM

Rédigé par Jean SZYMEZAK (interne en biologie) et Pascale GAUSSEM (PU-PH)
Revu par Jean-François SCHVED (PU-PH)
et tous les biologistes du groupe de travail

I - DEFINITION

Le test d'agrégation plaquettaire est utilisé depuis les années 1960 [1]. Il consiste à évaluer la formation d'agrégats plaquettaires *in vitro* après activation des plaquettes par des agonistes variés. Ce test est effectué classiquement sur du plasma riche en plaquettes, issu de la centrifugation à faible vitesse du sang prélevé dans un tube contenant un anticoagulant adapté (citrate) [2].

II - ETAPES PRE-ANALYTIQUES - PRINCIPES DE REALISATION TECHNIQUE

Les étapes pré-analytiques pour l'obtention d'un plasma riche en plaquettes (PRP) et du plasma pauvre en plaquettes (PPP) (conditions de prélèvement sanguin, transport, délai de centrifugation, conditions de centrifugation, délai de réalisation de l'examen, conservation de l'échantillon…) ont fait l'objet de recommandations par le Groupe d'Etudes d'Hémostase et de la Thrombose [3].

L'une des particularités de ce test est que le prélèvement doit être effectué avec soin, à jeun, sur un tube adapté et doit être acheminé au laboratoire dans un délai très court (2 heures) afin d'y être techniqué immédiatement.

L'agrégation plaquettaire en présence de différents agonistes est mesurée par une technique photométrique sur un agrégomètre après un étalonnage où le 0% de transmission optique correspond au PRP du patient sans agoniste et le 100% correspond au PPP.

Il n'existe pas de contrôle national de qualité, le test devant être effectué sur des plaquettes « fraîches », dans un délai court.

Des progrès majeurs ont été réalisés depuis une dizaine d'année avec notamment le traitement informatique automatisé des données de mesures sur l'agrégomètre (logiciel) et la standardisation des conditions pré-analytiques et analytiques, augmentant la reproductibilité, la précision, et donc la fiabilité de ce test.

III - CONTEXTE DE PRESCRIPTION – INTERET DIAGNOSTIQUE

Le test d'agrégation plaquettaire occupe une place incontournable dans trois circonstances cliniques :

- Le diagnostic des troubles hémorragiques de l'hémostase primaire de type anomalie de fonction des plaquettes ou maladie de Willebrand.
- Le suivi des médicaments antiplaquettaires (aspirine et thiénopyridines) et plus précisément la recherche d'une résistance biologique à ces médicaments, lorsque qu'une inefficacité clinique est suspectée.
- Le diagnostic de thrombopénie immuno-allergique induite par l'héparine (TIH).

1) Exploration d'un syndrome hémorragique :

- *Dépistage d'une anomalie de fonction des plaquettes (thrombopathie)* [4]

Le dépistage d'une thrombopathie repose sur la mise en évidence d'anomalies de l'agrégation plaquettaire. Le test d'agrégation plaquettaire est systématiquement prescrit en présence d'arguments cliniques, notamment des hémorragies muqueuses spontanées ou provoquées inexpliquées. Il existe de nombreux agonistes plaquettaires explorant spécifiquement chacune des voies d'activation plaquettaire : collagène, acide arachidonique, U46619, thrombine, TRAP, ADP, ristocétine, etc. Aussi, il est usuel d'utiliser plusieurs agonistes lors d'une exploration complète, utilisés en première intention puis en deuxième intention selon la thrombopathie suspectée [4]. Ces tests peuvent également être demandés chez les membres de la famille du propositus lors d'une enquête familiale.

- Le test d'agrégation plaquettaire est un élément indispensable du diagnostic, dont la confirmation nécessite la mise en route d'un panel d'analyses plus élaborées (cytométrie en flux avec étude des glycoprotéines membranaires selon la thrombopathie suspectée, étude des fonctions plaquettaires en plaquettes lavées, étude de l'activation plaquettaire, étude des mutations génétiques à l'origine de ces anomalies, …) [4].

- *Maladie de Willebrand*

Le diagnostic de la maladie de Willebrand (prévalence d'environ 1% dans la population générale) repose sur un faisceau d'arguments cliniques et biologiques. Le dosage plasmatique (PPP) de l'activité du facteur Willebrand (activité cofacteur de la ristocétine), puis du facteur Willebrand antigénique sont les examens de première intention (actes inscrits à la NABM). Pour réaliser le diagnostic différentiel des variants de maladie de Willebrand (type 2A, 2B, 2M…) (20% des cas de maladie de Willebrand), le test d'agrégation plaquettaire sur PRP en présence de différentes concentrations de ristocétine ou d'autres agonistes (botrocétine…) est indispensable et effectué de façon systématique. Ces tests seront interprétés en fonction des résultats des autres tests (étude des multimères, analyse du gène du facteur Willebrand, …).

2) Diagnostic de résistance biologique aux médicaments antiplaquettaires

L'étude de la pharmacologie des médicaments antiplaquettaires a récemment mis en évidence chez certains patients une « résistance biologique » à ces médicaments, pouvant se traduire par une « résistance clinique », c'est-à-dire des récidives après traitement et des complications graves en termes de morbi-mortalité (thrombose de stent, …) [5]. Cette notion de résistance chez certains patients objectivée par un test d'agrégation plaquettaire est un nouveau champ d'application pour ce test.

L'exploration de cette résistance est basée sur plusieurs tests fonctionnels. Les tests sont en première intention des tests d'agrégation plaquettaire (agrégation à l'ADP pour les thiénopyridines, à l'acide arachidonique pour l'aspirine, …). Ils peuvent être complétés par des tests en cytométrie de flux (mesure de la phosphorylation de VASP intra-plaquettaire) et génétiques (étude des variants génétiques des isoenzymes du cytochrome P450 et des récepteurs à l'ADP). Ces tests sont toutefois d'indications limitées (exploration de patients traités par antiplaquettaire ayant présenté une récidive d'accident thrombo-embolique, patients à très haut risque de récidive…) [5] et doivent faire l'objet d'une concertation entre le clinicien et un biologiste expert dans ce domaine avant toute analyse.

3) La thrombopénie induite par l'héparine de type II

La thrombopénie induite par l'héparine (ou TIH) de type immunoallergique est un effet indésirable grave des traitements par les héparines. Il s'agit un phénomène imputé à la

production d'anticorps dirigés contre des néoantigènes du facteur 4 plaquettaire exprimés en présence d'héparine, pouvant être à l'origine chez le patient de thromboses veineuses et artérielles, avec une morbi-mortalité élevée.

Les tests d'agrégation plaquettaires sont réalisés avec des plaquettes témoins en présence du plasma pauvre en plaquettes du patient et d'héparine, afin de mettre en évidence sur un plan fonctionnel les anticorps anti-facteur 4 plaquettaire-héparine [6-7]. De plus, ce test permet d'étudier la réactivité croisée avec le danaparoïde sodique, traitement substitutif administré au patient dans ce contexte et pour lequel une allergie croisée est présente dans 10 à 15% des cas [8].

IV - CONCLUSION

Au total, les tests d'agrégations plaquettaires ont des indications limitées mais formelles, pour lesquelles ils constituent actuellement les seuls moyens diagnostiques des thrombopathies constitutionnelles et acquises, ou des variants de maladie de Willebrand. Leur prescription nécessite une collaboration étroite entre le clinicien et le biologiste. A noter qu' en cas de suspicion de TIH de type II, la réalisation de tests d'agrégation plaquettaire est le complément indispensable à la recherche d'anticorps anti-facteur 4 plaquettaire (PF4). Ceci justifie leur inscription comme acte à la NABM.

Les contraintes pré-analytiques et analytiques sont fortes. Ces techniques sont particulièrement chronophages, car non automatisables, et nécessitent un personnel technique qualifié ainsi qu'un biologiste expérimenté, limitant en pratique leur réalisation à des centres spécialisés. Le biologiste doit fournir une interprétation claire des résultats dans le compte-rendu et proposer le cas échéant les tests complémentaires spécialisés .

Références

[1] Harrison P. Platelet function analysis. Blood Rev. 2005 ;19(2):111-23.

[2] Gaussem P. Exploration plaquettaire chez l'homme. Thérapie. 2006 ;61(5):395-400.

[3] Polack B, Schved JF, Boneu B. Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose' (GEHT). Preanalytical recommendations of the 'Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose' (GEHT) for venous blood testing in hemostasis laboratories. Haemostasis. 2001; 31 :61-8.

[4] Nurden P, Cazes E, Vergnes C, Nurden A. Diagnostic des thrombopathies constitutionelles en 1998. Hématologie. 1998;4(3):190-200.

[5] Gaussem P, Hulot J. Prise en charge de la résistance aux antiplaquettaires. MT Cardio. 2008;4(5-6):316-23.

[6] Elalamy I, Tardy-Poncet B, Mulot A, de Maistre E, Pouplard C, Nguyen P, et al. Risk factors for unfavorable clinical outcome in patients with documented heparin-induced thrombocytopenia. Thromb Res. 2009 ;124(5):554-9.

[7] www.has-sante.fr/portail/jcms/c_492962/recherche-danticorps-potentiellement-responsables-dune-thrombopenie-induite-par-lheparine

[8] Tardy-Poncet B, Wolf M, Lasne D, Bauters A, French P, Elalamy I, et al. Danaparoid cross-reactivity with heparin-induced thrombocytopenia antibodies: report of 12 cases. Int Care Med. 2009 ;35(8):1449-53.

III.4 Argumentaire pour l'inscription du test de la recherche et titrage d'inhibiteur contre les facteurs anti-hémophiliques à la NABM

Rédigé par Jean-François SCHVED (PU-PH)

Revu par P. GAUSSEM (PU-PH) et V. SIGURET (MCU-PH)
et tous les biologistes du groupe de travail

I - DEFINITION

La recherche d'inhibiteurs dirigés contre les facteurs de coagulation, principalement contre les facteurs anti-hémophilique A (F VIII) ou anti-hémophilique B (F IX) consiste à détecter dans le plasma du patient la présence d'un anticorps ayant la capacité d'inhiber l'activité du F VIII ou du F IX de la coagulation. La recherche d'inhibiteur est effectuée sur un mélange à parts égales [plasma du patient + plasma titré à 100% de facteur VIII ou IX][1].

II - ETAPES PRE-ANALYTIQUES - PRINCIPES DE REALISATION TECHNIQUE

Les étapes pré-analytiques pour l'obtention du plasma pauvre en plaquettes (PPP) (conditions de prélèvement sanguin, transport, délai de centrifugation, conditions de centrifugation, délai de réalisation de l'examen, conservation de l'échantillon…) ont fait l'objet de recommandations par le Groupe d'Etudes d'Hémostase et de la Thrombose [2].

La méthode de Bethesda-Nijmegen est la seule recommandée actuellement [3]. Après incubation à 37°C du mélange plasma du patient + plasma titré en FVIII ou FIX, le taux de facteur VIII ou de facteur IX résiduel est dosé et comparé au taux d'un mélange à parts égales d'une solution tampon imidazole (ou d'un plasma contrôle sans inhibiteur) et d'un plasma titré à 100% de facteur VIII ou IX. Dans ce dernier mélange, le taux de facteur VIII ou IX attendu est de 50%. La présence d'un inhibiteur se caractérise par un taux de F VIII ou IX inférieur à 50% dans le mélange effectué avec le plasma du patient, comparé aux 50% retrouvés dans le mélange réalisé avec la solution tampon [1,3].

La détection d'un inhibiteur doit être impérativement complétée par un titrage de cet inhibiteur. La méthode de référence est la méthode de Bethesda-Nijmegen [3]. Elle consiste à réaliser une série de mesures avec des dilutions croissantes du plasma contenant l'anticorps inhibiteur. Par définition, une unité Bethesda est la quantité d'anticorps neutralisant 50% du plasma de référence [3].

La détection des inhibiteurs s'est trouvée facilitée par l'automatisation des dilutions et des dosages des facteurs VIII et IX sur les automates d'hémostase, améliorant la performance des tests. Néanmoins, ces techniques sont en pratique réalisées dans des centres d'hémostase spécialisés prenant en charge régulièrement des hémophiles.

Il existe des contrôles de qualité externes, notamment organisés au plan européen par la fondation ECAT : External Quality Assessment Programme (EQAP).

III - CONTEXTE DE PRESCRIPTION – INTERET DIAGNOSTIQUE

1. Hémophilie congénitale

La recherche et le dosage éventuel d'un inhibiteur dirigé contre le F VIII ou le F IX sont des examens à réaliser régulièrement et de façon obligatoire chez l'hémophile traité par concentré de facteur anti-hémophilique (FAH) [4].

Le traitement de l'hémophilie congénitale fait appel à l'utilisation de concentrés de FAH : facteur VIII pour l'hémophilie A, facteur IX pour l'hémophilie B. L'apparition d'un inhibiteur, rencontrée principalement dans l'hémophilie A est actuellement la complication iatrogène la plus fréquente et la plus redoutée de l'hémophilie : elle touche 20 à 30% des hémophiles A sévères traités par FAH d'origine recombinante, 10 à 20% des hémophiles traités par FAH d'origine plasmatique ; elle est beaucoup plus rare chez les hémophiles B sévères (1,5 à 3% des cas) La présence d'un inhibiteur rend partiellement ou totalement inefficace l'injection de FAH, empêchant de traiter les complications hémorragiques ou de les prévenir. Cet inhibiteur survient surtout chez les hémophiles sévères (moins de 1% de F VIII ou F IX), après 10 à 50 injections [4]. Le traitement des complications hémorragiques est alors totalement différent et doit faire appel à des produits qui permettent de court-circuiter les FAH dans la cascade de la coagulation [5]. Ces produits, très coûteux, sont de maniement délicat. L'éradication à long terme de l'inhibiteur peut être obtenue à l'aide d'injections quotidiennes de très fortes doses de FAH. Ce procédé est intitulé induction de tolérance immune (ITI).

En cas de détection d'un inhibiteur, le titrage est nécessaire. Il permet de distinguer les hémophiles avec inhibiteurs appelé faibles répondeurs, chez lesquels le traitement des complications hémorragiques peut se faire en augmentant les doses de F VIII ou IX injecté, des patients dits forts répondeurs chez lesquels cette méthode est inefficace nécessitant le recours aux produits "by-passants".

Chez un hémophile traité par ITI, le dosage permet d'apprécier l'efficacité du traitement et d'adapter le protocole à la réponse constatée [6].

2. Hémophilie acquise

L'hémophile acquise est une maladie auto-immune dans laquelle se développent des anticorps dirigés contre un facteur de coagulation du patient, jusque là indemne de maladie hémorragique. La plus fréquente est l'hémophile A acquise par auto-immunisation anti facteur VIII (incidence de 1 à 1,5 million/an, probablement sous-estimée du fait de la difficulté du diagnostic). L'affection se caractérise par un syndrome hémorragique souvent grave, apparaissant chez un sujet n'ayant aucun antécédent de maladie hémorragique personnel ni familial [7]. Le diagnostic se fait sur la constatation d'un taux de FAH, facteur VIII dans la plupart des cas, effondré, souvent inférieur à 1% comme dans l'hémophilie congénitale sévère, associé à la découverte d'un anticorps anti-FAH détecté selon la méthode décrite précédemment. L'existence de cette pathologie explique pourquoi toute découverte d'hémophilie doit systématiquement s'accompagner d'une recherche et du titrage éventuel d'un inhibiteur.

3. Règles de prescription

La détection d'inhibiteurs anti-VIII ou anti-IX doit être réalisée :

- systématiquement lors du diagnostic d'une hémophilie pour différencier hémophilie congénitale et hémophilie acquise dont les traitements et la prise en charge sont très différents.

- chez l'hémophile congénital traité par concentrés de facteur anti hémophilique, au moins une fois pendant la période des dix premières injections puis régulièrement, (tous les mois) jusqu'à ce que le patient ait reçu 100 injections de FAH. Il devra être refait si le patient change de produits de substitution anti-hémophilique, ou à l'initiative du clinicien devant la constatation d'une inefficacité clinique ou biologique des injections de FAH [4].

IV - CONCLUSION

Le diagnostic et la prise en charge de l'hémophilie constitutionnelle ou acquise ne peuvent se faire si l'on ne dispose pas des tests de détection et de titrage éventuel d'inhibiteur dirigé contre le facteur VIII ou le facteur IX. Ils sont déterminants pour le choix des traitements anti-hémophiliques et les éventuelles modifications de stratégie thérapeutique lors du suivi de ces pathologies. Ceci justifie pleinement l'inscription de cet acte à la NABM.

Références

[1] Lapalud P, SCHVED JF, Granier C, Villard-Saussine, Lavigne-Lissalde G. Les anticorps antifacteur VIII : caractérisation, mécanismes d'action et méthodes de détection. Hématologie, 2008; 14: 453 -466

[2] Polack B, Schved JF, Boneu B; Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose' (GEHT). Preanalytical recommendations of the 'Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose' (GEHT) for venous blood testing in hemostasis laboratories. Haemostasis. 2001; 31 :61-8.

[3] Giles AR, Verbruggen B, Rivard GE, Teitel J, Walker I. A detailed comparison of the performance of the standard versus the Nijmegen modification of the Bethesda assay in detecting factor VIII:C inhibitors in the haemophilia A population of Canada. Association of Hemophilia Centre Directors of Canada. Factor VIII/IX Subcommittee of Scientific and Standardization Committee of International Society on Thrombosis and Haemostasis. Thromb Haemostas 1998 ; 79: 872-875.

[4] Afssaps. Développement des inhibiteurs et prise en charge chez les patients hémophiles traités par facteur VIII ou IX d'origine plasmatique ou recombinante. Rapport du 15 mai 2006. www.afssaps.sante.fr

[5] Schved JF. Traitements de l'hémophilie. Encyclopédie Médico-Chirurgicale. Ed. Elsevier Masson SAS, Paris 2008: Hématologie, 13-021-B20: p 1-11

[6] Astermark J, Morado M, Rocino A, van den Berg HM, von Depka M, Gringeri A, et al. Current European practice in immune tolerance induction therapy in patients with haemophilia and inhibitors. Haemophilia 2006; 12: 363-371

[7] Delgado J, Jimenez-Yusle V, Hernandez-Navarro F, Villare A. Acquired haemophilia: review and meta-analysis focused on therapy and prognostic factors. Br J Haematol 2003; 121: 21-35

III.5 Argumentaire pour l'inscription de la recherche et l'identification d'un anticoagulant de type lupique (ou antiphospholipide par une technique de coagulation ou «antiprothrombinase») de type II à la NABM

V. SIGURET (MCU-PH)
Revu par I. GOUIN-THIBAULT (MCU-PH), P. GAUSSEM (PU-PH), JF SCHVED (PU-PH)
et tous les biologistes du groupe de travail

I - DEFINITION – INTRODUCTION

Les anticoagulants de type lupique (LA) font partie de la famille hétérogène des anticorps antiphospholipides : les LA ont pour caractéristique d'inhiber *in vitro* la coagulation au cours de tests de coagulation dépendants de phospholipides. Il s'agit d'une anomalie acquise de l'hémostase prédisposant à des accidents thrombotiques artériels ou veineux.
La « recherche et l'identification d'un anticoagulant de type lupique (ou antiphospholipide par une technique de coagulation ou « antiprothrombinase) », a fait l'objet, en 2006, d'un avis favorable pour son inscription à la NABM.
Cet avis motivé est consultable sur le site de l'HAS :
www.has-sante.fr/portail/jcms/c_474508/recherche-complementaire-et-identification-dun-anticoagulant-lupique
Ces données sont toujours d'actualité, complétées ci-dessous par des recommandations nationales et internationales récentes [1-3].

II - ETAPES PRE-ANALYTIQUES - PRINCIPES DE REALISATION TECHNIQUE

Le diagnostic biologique de LA a fait l'objet de recommandations de l'HAS [4] et du « Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody » du « Scientific and Standardization Committee » de l'*International Society on Thrombosis and Haemostasis* [1]. Il repose sur la réalisation de tests de dépistage « sensibilisés » puis de tests de confirmation montrant la phospholipo-dépendance des anticorps, une autre coagulopathie ayant été exclue chez le patient.

Le contexte clinique de la recherche de LA doit être connue du biologiste, ainsi que l'éventuel traitement anticoagulant en cours. L'étape pré-analytique est déterminante. Les étapes pré-analytiques pour l'obtention du plasma pauvre en plaquettes (PPP) (conditions de prélèvement sanguin, transport, délai de centrifugation, conditions de centrifugation, délai de réalisation de l'examen, conservation de l'échantillon…) ont fait l'objet de recommandations par le Groupe d'Etudes d'Hémostase et de la Thrombose [5,6] ; pour la recherche de LA, le plasma devant être très appauvri en plaquettes doit subir une double-centrifugation dans des conditions détaillées dans [1].

1/ Tests de dépistage : deux tests **sensibles dépendants des phospholipides** doivent être mis en œuvre, de principes différents, du fait de l'hétérogénéité des anticorps. Un seul test ne permet pas une sensibilité suffisante ; au contraire, la multiplication des tests peut induire un excès de faux positifs d'où la recommandation de pratiquer les deux tests suivants [1] :

- il est recommandé de recourir systématiquement au **temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT)** : ce test présente l'avantage d'être fiable, plus sensible et plus spécifique que les autres tests [7]. Il est réalisé en présence d'une faible concentration de phospholipides et, du fait de l'activation directe du facteur X par le venin de vipère Russell est peu sensible aux éventuelles anomalies associées de la coagulation (déficits en FXI, XII…).

- le 2ème test recommandé est un temps de céphaline avec activateur (TCA) réalisé en présence d'une faible concentration en phospholipides, et de silice comme activateur (TCA « sensibilisé ») [1]. A noter que ces réactifs sont distincts des réactifs utilisés habituellement pour la mesure du TCA (bilans pré-opératoires…).
- il est recommandé de ne pas utiliser le temps de thromboplastine diluée [1].

Dans les deux cas, dRVVT et TCA « sensibilisé », une épreuve de mélange du plasma à tester avec un plasma témoin pauvre en phospholipides est réalisée, l'absence de correction permettant de conclure à une inhibition de la coagulation.

Pour conclure à l'absence de LA, il faut que les résultats de deux tests sensibles de dépistage, dRVVT et TCA « sensibilisé », soient négatifs [1].

2/ Tests de confirmation :

Ils permettront de confirmer que l'inhibiteur est dépendant de la concentration en phospholipides. Le test de confirmation recommandé en première intention est le dRVVT, cette fois réalisé en présence de fortes concentrations de phospholipides, du fait de son excellente sensibilité [1].

En cas de diagnostic de LA, sa persistance dans le temps doit être confirmée à l'aide des mêmes tests sur un 2ème prélèvement réalisé à distance d'au moins 12 semaines et interprétée en fonction du contexte clinique [8].

La combinaison de ces tests permet d'atteindre une sensibilité et une spécificité allant de 80 à 99% (HAS 2006)[5].

Ces tests sont aisément automatisables. Il existe des contrôles de qualité disponibles dans le commerce (LA de faible titre et de fort titre). Il existe des contrôles de qualité externes, notamment organisés au plan européen par la fondation ECAT : External Quality Assessment Programme (EQAP) [6].

III - CONTEXTE DE PRESCRIPTION

Les indications de cet acte retenues en 2006 par les experts de l'HAS [5] et reprises pour le libellé de l'inscription de l'acte à la NABM sont les suivantes :

- épisode de thrombose veineuse profonde ou embolie pulmonaire sans cause évidente ;
- récidive de thrombose veineuse profonde ou embolie pulmonaire (même en présence d'autres facteurs de risque de thrombose) ;
- accident vasculaire cérébral ou thrombose artérielle périphérique en l'absence de facteur de risque ;
- thromboses artérielles récidivantes malgré un traitement anticoagulant préventif;
- lupus érythémateux disséminé, pour évaluer le risque de thrombose ;
- fausses couches récidivantes précoces ;
- pré-éclampsie précoce ou sévère ou insuffisance placentaire sévère ;
- mort intra-utérine inexpliquée ;
- retard de croissance intra-utérin sévère inexpliqué.»

IV - INTERET DIAGNOSTIQUE

La recherche de LA doit être limitée aux indications précisées dans le libellé de l'acte (cf *supra*). Anomalie acquise dans la très grande majorité des cas, la recherche de LA fait partie du bilan étiologique de thromboses veineuses ou artérielles. C'est l'un des critères diagnostiques du syndrome des antiphospholipides (SAPL), comme le titrage des autoanticorps antiphospholipides (anticardiolipine,…) par des tests immunologiques (acte

1460 inscrit à la NABM – chapitre Immunologie) [3,7]. La recherche de LA est également prescrite dans certaines pathologies autoimmunes (lupus,…) ou en obstétrique lors de la survenue de certaines pathologies vasculaires placentaires (cf indications *supra*) [9]. Dans ces différents contextes cliniques, la présence persistante d'anticorps antiphospholipides dont les LA a été montrée comme un facteur de risque ou de survenue ou de récidive d'une thrombose [2].
Ainsi, **le diagnostic d'un LA est un argument décisionnel majeur dans la prise en charge d'un patient,** notamment pour ce qui concerne la durée du traitement antithrombotique chez un patient ayant un antécédent thrombotique, ou quant à l'instauration d'un traitement prophylactique éventuel ; ces décisions se prennent au cas par cas [2].

V - CONCLUSION

Etant donné l'importance du LA comme facteur de risque de thrombose reconnu par l'HAS [5] et le fait qu'il soit l'un des éléments diagnostiques du SAPL, nous proposons l'inscription de cet acte à la NABM selon le libellé suivant :
« Recherche et identification d'un anticoagulant de type lupique (ou antiphospholipide par une technique de coagulation ou « antiprothrombinase »).
La prescription de cet acte doit être strictement réservée aux indications listées *supra*. Cet examen doit être effectué à l'aide d'au moins deux tests de coagulation dépendants des phospholipides, dont le temps de venin de vipère Russell dilué.
Une conclusion interprétant les résultats doit figurer sur le compte rendu.

Références

[1] Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, De Groot PG. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. J Thromb Haemost. 2009;7:1737-40.

[2] Agence Francaise de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSaPS). Prévention et traitement de la maladie thromboembolique veineuse en médecine. Recommandations de bonne pratique. Novembre 2009.

[3] Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose (GEHT). Les facteurs biologiques de risque dans le cadre de la maladie thromboembolique veineuse. Recommandations professionnelles. Sang Thromboses Vaisseaux 2009 ; 21, p5-39.

[4] Haute Autorité de Santé (HAS) 2006 : http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_474508/recherche-complementaire-et-identification-dun-anticoagulant-lupique

[5] Polack B, Schved JF, Boneu B; Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose' (GEHT).
Preanalytical recommendations of the 'Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose' (GEHT) for venous blood testing in hemostasis laboratories. Haemostasis. 2001; 31 :61-8.

[6] Alhenc-Gelas M, Aillaud MF, Delahousse B, Freyburger G, Le Quérrec A, Reber G. La recherche de facteurs biologiques de risque établis de maladie thromboembolique veineuse : état des connaissances et conséquences pour la pratique en biologie clinique. Sang Thrombose Vaisseaux 2009, 21: 12-39.

[7] Urbanus RT, Derksen RH, de Groot PG. Current insight into diagnostics and pathophysiology of the antiphospholipid syndrome. Blood Rev 2008 ; 2:93-105.

[8] Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, DE Groot PG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost. 2006;4:295-306.

[9] Haute Autorité de Santé (HAS) 2003 : http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_272236/thrombophilie-et-grossesse-prevention-des-risques-thrombotiques-maternels-et-placentaires.

III.6 Argumentaire pour l'inscription de la recherche d'anticorps anti-facteur 4 plaquettaire (PF4) dans le cadre d'une suspicion de thrombopénie induite par l'héparine (TIH) à la NABM

V. SIGURET (MCU-PH)
revu par M. ALHENC-GELAS (PH) et JF SCHVED (PU-PH)
et tous les biologistes du groupe de travail

Préambule : la « recherche d'anticorps potentiellement responsables d'une thrombopénie induite par l'héparine », incluant la recherche d'anticorps anti-PF4, a fait l'objet d'un **avis favorable** en 2005 pour **son inscription à la liste des actes**. Cet avis motivé est consultable sur le site de l'HAS [1]:

www.has-sante.fr/portail/jcms/c_492962/recherche-danticorps-potentiellement-responsables-dune-thrombopenie-induite-par-lheparine

Ces données sont toujours d'actualité, complétées ci-dessous par des références plus récentes [2-4].

I - INTRODUCTION

La thrombopénie induite par l'héparine (TIH) est une complication rare mais potentiellement grave d'un traitement par un dérivé héparinique : elle survient dans environ 1% des traitements par héparine non fractionnée, dans moins de 0,5% des traitements par héparine de bas poids moléculaire (HBPM) et est beaucoup plus fréquente dans un contexte chirurgical que médical. Elle résulte d'un processus immuno-allergique où apparaissent des anticorps (Ac) dont la majorité sont dirigés contre des néoantigènes du facteur 4-plaquettaire (PF4) exprimés en présence d'héparine. Ces Ac, en se fixant par leur fragment Fc sur la membrane plaquettaire, induisent une activation plaquettaire, laquelle peut conduire à une activation de la coagulation et à un processus thrombotique. Toute TIH est causée par la présence d'Ac à l'origine d'une activation plaquettaire. En revanche, tous les Ac dirigés contre le PF4 en présence d'héparine n'entraînent pas forcément une TIH (manque de spécificité) [2].

II - ETAPES PRE-ANALYTIQUES - PRINCIPES DE REALISATION TECHNIQUE

Les étapes pré-analytiques pour l'obtention du plasma pauvre en plaquettes (PPP) (conditions de prélèvement sanguin, transport, délai de centrifugation, conditions de centrifugation, délai de réalisation de l'examen, conservation de l'échantillon…) ont fait l'objet de recommandations par le Groupe d'Etudes d'Hémostase et de la Thrombose [4]. De plus, il est préférable d'effectuer les tests après arrêt du traitement héparinique et à la phase aiguë de la suspicion de TIH.
La recherche d'anticorps anti-PF4 se fait par méthode ELISA. Il existe des contrôles de qualité commercialisés.

III - CONTEXTE DE PRESCRIPTION

Il a été défini par les experts de l'HAS [1] et est repris dans le libellé de l'acte.
« Suspicion d'une thrombopénie induite par l'héparine : elle est suspectée dans les circonstances suivantes :

- numération < 100 Giga/L en l'absence de numération antérieure, et/ou une chute relative des plaquettes sur deux numérations successives (plus de 30%) sous traitement par l'héparine
- thromboses veineuses ou artérielles sous traitement par héparine
- résistance à l'héparinothérapie avec extension du processus thrombotique initial,

même si le patient n'est plus sous héparine,, devant la survenue d'une thrombose ou d'une thrombocytopénie.
La recherche d'anticorps anti-PF4 ne doit être utilisé que devant une suspicion de TIH. »

IV - INTERET DIAGNOSTIQUE – PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES DANS LA TIH DE TYPE II

1-Performances du test

D'après les données de la littérature analysées par l'HAS en 2005, les différents tests disponibles pour la recherche d'Ac anti-PF4 par méthode immunologique (enzyme-immuno-assay [EIA]…) ont une sensibilité supérieure ou égale à 87%. La spécificité est de 50 à 75% pour les Ig G/A/M et 50 à 90% pour les IgG [1-2].
Au total, cet acte a une excellente valeur prédictive négative pour le diagnostic de TIH mais une valeur prédictive positive modérée (en raison d'une spécificité moyenne).

2-Place de l'acte dans la stratégie diagnostique de la TIH

Pour le diagnostic biologique de TIH, il est recommandé et indispensable de coupler la recherche d'Ac anti-PF4 par méthode immunologique à des tests fonctionnels plaquettaires : tests d'agrégation plaquettaire à l'aide de plaquettes lavées de donneurs « bons répondeurs » (sensibilité variant de 35 à 85% selon les études, spécificité de 95 à 99%) (*cf argumentaire sur la demande d'inscription à la NABM des tests d'agrégation plaquettaire*) ou test de libération de la sérotonine marquée (test considéré comme test de référence mais nécessitant un agrément RIA – test disponible dans de très rares laboratoires). L'association d'un test immunologique pour la recherche d'anticorps anti-PF4 et d'un test d'agrégation plaquettaire permet d'obtenir une sensibilité proche de 100% pour le diagnostic de TIH.
A noter qu'il n'y a pas de nécessité à effectuer les tests biologiques en urgence, en particulier la recherche d'anticorps anti PF4, compte tenu de la mauvaise spécificité de ce dernier. Des résultats des tests ne dépend pas la prise en charge thérapeutique immédiate du patient. Toutefois, il est important de conserver du plasma pour réaliser les tests *a posteriori*, adressés à un laboratoire spécialisé (cf *infra*).
Le diagnostic de TIH repose sur un faisceau d'arguments incluant des données cliniques (survenue ou extension d'une thrombose veineuse ou artérielle), biologiques (diminution brutale du chiffre de plaquettes ou thrombopénie < 100 Giga/L), chronologiques (date de survenue par rapport à l'instauration du traitement par l'héparine, remontée du chiffre de plaquettes à l'arrêt du traitement héparinique) et une autre cause de diminution des plaquettes doit avoir été exclue. Dans la pratique, le diagnostic, qui fait appel à une concertation pluridisciplinaire, est parfois difficile à établir avec certitude : des scores sont désormais utilisés comme aide au diagnostic [3].
La réalisation de tests biologiques est indispensable pour documenter une suspicion de TIH, et retenir ou infirmer le diagnostic suspecté à partir du score clinico-biologique. En cas de suspicion de TIH non documentée, le patient est susceptible d'être privé d'un traitement

héparinique, qui peut être vital dans certaines situations et les alternatives au traitement héparinique sont complexes et onéreuses.
La confirmation par les tests biologiques (Ac anti-PF4, tests fonctionnels plaquettaires), en cas de TIH avérée, conditionne la prise en charge ultérieure du malade [4] et d'adapter une stratégie thérapeutique en cas de nécessité d'une anticoagulation.

V - CONCLUSION

La recherche d'anticorps anti-PF4 est, avec les tests fonctionnels plaquettaires, un élément diagnostique indispensable pour le diagnostic de thrombopénie induite par l'héparine de type II, complication potentiellement redoutable des traitements par les dérivés hépariniques. L'impact sur la prise en charge des patients est majeur, ce qui justifie son inscription à la NABM.

Références

[1] www.has-sante.fr/portail/jcms/c_492962/recherche-danticorps-potentiellement-responsables-dune-thrombopenie-induite-par-lheparine

[2] Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia. J Thromb Haemost. 2009 Jul;7 Suppl 1:9-12.

[3] Pouplard C, Gueret P, Fouassier M, Ternisien C, Trossaert M, Régina S, Gruel Y. Prospective evaluation of the '4Ts' score and particle gel immunoassay specific to heparin/PF4 for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. J Thromb Haemost. 2007;5:1373-9.

[4] Warkentin TE, Greinacher A, Koster A, Lincoff AM. Treatment and prevention of heparin-induced thrombocytemia. Chest 2008, 133,:340S-380S.

III.7 Argumentaire pour l'inscription de la recherche de la mutation G1691A du gène du facteur V (facteur V Leiden) et de la mutation G20210A du gène de la prothrombine dans le cadre de la recherche de facteurs de risque de maladie thrombo-embolique veineuse à la NABM

Isabelle GOUIN-THIBAULT (MCU-PH) revu par Virginie SIGURET (MCU-PH), Jean-François SCHVED (PU-PH) et Pascale GAUSSEM (PU-PH)
et tous les biologistes du groupe de travail

I - INTRODUCTION

Préambule : Les tests génétiques (actes 1017 et 1018) relèvent de la législation sur l'examen des caractéristiques génétiques, identification génétique et recherche génétique (articles L. 1131-1 à L. 1131-7 du code de la santé publique). Des décrets en Conseil d'Etat fixent les conditions de prescription et de réalisation de ces actes. Récemment est paru le décret n°2008-321 du 4 Avril 2008 relatif à l'examen génétique d'une personne (JO 6 Avril 2008). Seuls les laboratoires autorisés et les praticiens agréés sont habilités à exécuter ces actes.

En 2003, la commission de la NABM émis un avis en faveur de l'inscription à la liste des actes de la « recherche de la mutation Facteur V Leiden » et de la « recherche de la mutation G20210A de la prothrombine » . Cet avis motivé est consultable sur le site de l'HAS : http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_474522/rapport-recherche-mutations-fv-leiden-et-fii-20210
Ces données sont toujours d'actualité, complétées ci-dessous par des recommandations récentes de différentes sociétés savantes.

Les mutations G1691A du gène du facteur V (facteur V Leiden) et G20210A du gène de la prothrombine font partie des facteurs de risque biologique héréditaires de maladie thromboembolique veineuse, au même titre que les déficits en inhibiteurs de la coagulation (antithrombine, protéine C et protéine S). La recherche de ces mutations s'intègre dans un bilan biologique de « thrombophilie ».
Lorsque la **mutation G1691A du gène du facteur V** est présente, l'arginine 506 est remplacée par une glutamine abolissant un des sites principaux de clivage du facteur Va par la protéine C activée et générant ainsi « une résistance à l'action de la protéine C activée ».
La mutation G20210A du gène de la prothrombine est située dans une région régulatrice du gène, augmente le taux d'ARNm et de ce fait la synthèse protéique du facteur II.
Le risque de maladie thromboembolique veineuse est significativement augmenté en présence [1] :

- de la mutation G1691A du gène du facteur V ou de la mutation G20210A du gène de la prothrombine à l'état homozygote
- de la double hétérozygotie de ces mutations
- de l'une de ces mutations associée à un déficit en inhibiteur de la coagulation,
- ces différentes situations étant considérées comme thrombophilies majeures.

Ces deux mutations sont les facteurs de risque génétique les plus fréquents avec une hétérogénéité de répartition géographique.

En Europe, la prévalence dans la population générale de la mutation G1691A du gène du facteur V est environ de 5% et celle de la mutation G20210A du gène de la prothrombine de 2%.
La recherche de ces mutations doit s'inscrire dans une prise en charge multidisciplinaire du patient associant notamment le biologiste.

II - TECHNIQUE DE REALISATION

Comme pour tout prélèvement à des fins de génétique moléculaire, il est nécessaire que le prescripteur obtienne et transmette au biologiste préleveur un exemplaire du consentement signé par le patient et par lui-même après une information au patient sur les mutations recherchées.
D'après les « recommandations pour la recherche de facteurs biologiques de risque dans le cadre de la maladie thromboembolique veineuse (MTEV) » publiées sous l'égide du Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose et de la Société Française de Médecine Vasculaire [1], la recherche du polymorphisme 1691G>A de l'exon 10 du gène du facteur V et du 20210G>A de la région 3' non traduite du gène du facteur II est simple, toutes les méthodes de recherche des mutations ponctuelles peuvent être employées et apportent une quasi-certitude quant au statut d'un individu vis-à-vis du polymorphisme recherché.
Il existe des trousses diagnostiques et des contrôles de qualité disponibles [2].
En France, ces actes ne peuvent être réalisés que dans des laboratoires et par des praticiens agréés par l'Agence de la Biomédecine pour exercer une activité de génétique (cf *Préambule*).

III - CONTEXTE DE PRESCRIPTION

La prescription se fait au sein d'une équipe multidisciplinaire incluant le biologiste qui doit disposer de renseignements cliniques. Des recommandations précises ont été édictées concernant les patients chez lesquels il doit être rechercher des facteurs biologiques de risque thrombo-embolique parmi lesquels les mutations G1691A du gène du facteur V et G20210A du gène de la prothrombine [1,3]. En résumé, l'exploration doit se faire :
- en cas de premier épisode de thrombose veineuse proximale et/ou embolie pulmonaire :
  - en cas de premier épisode de MTEV non provoquée survenu avant l'âge de 60 ans (grade C)
  - chez les femmes en âge de procréer, que l'épisode soit provoqué ou non, compte tenu de l'impact sur la prise en charge des grossesses (grade C)
- en cas de récidive :
  - toute récidive de TVP proximale et/ou EP provoquée ou non, dont le premier épisode est survenu avant l'âge de 60 ans (accord professionnel)
  - toute récidive de TVP distale non provoquée dont le premier épisode est survenu avant l'âge de 60 ans (accord professionnel)
- en cas de thrombose veineuse dans un site insolite
- en cas de pathologie vasculaire placentaire

B

IV - INTERET DIAGNOSTIQUE

La présence d'une de ces mutations à l'état homozygote ou des deux mutations combinées à l'état hétérozygote permettent une meilleure prise en charge du patient, chaque décision devant être discutée au cas par cas. Ainsi, pour le choix de la durée du traitement anticoagulant chez un patient ayant présenté un épisode thromboembolique veineux, la présence d'une thrombophilie majeure fait partie des facteurs à prendre en compte [4]. Par ailleurs, chez les femmes enceintes, la présence de ces mutations donne des arguments décisionnels pour l'instauration d'un traitement prophylactique pendant la grossesse et/ou en post-partum [1,4-5]. D'autres situations médicales particulières nécessitent aussi une prise en compte du résultat de ces mutations [1].

V - CONCLUSION

Ces actes présentent un intérêt pour l'identification des facteurs de risque de maladie thromboembolique veineuse et apportent des arguments biologiques majeurs à la décision thérapeutique concernant en particulier les indications de durée de traitement et les éventuelles propositions de traitement anticoagulant au long cours.

Références

[1] Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose (GEHT). Les facteurs biologiques de risque dans le cadre de la maladie thromboembolique veineuse. Recommandations professionnelles. STV 2009 ; 21, p5-39.

[2] Alhenc-Gelas M, Aillaud MF, Delahousse B, Freyburger G, Le Quérrec A, Reber G. La recherche de facteurs biologiques de risque établis de maladie thromboembolique veineuse : état des connaissances et conséquences pour la pratique en biologie clinique. Sang Thrombose Vaisseaux 2009, 21: 12-39.

[3] Haute Autorité de Santé (HAS) 2003 : http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_272236/thrombophilie-et-grossesse-prevention-des-risques-thrombotiques-maternels-et-placentaires

[4] Agence Francaise de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSaPS). Prévention et traitement de la maladie thromboembolique veineuse en médecine. Recommandations de bonne pratique. Novembre 2009.

[5] Bates SM, Greer IA, Pabinger I, Sofaer S, Hirsh J. Venous thromboembolism, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy. Chest 2008, 133:844S-886S.

.

IV. RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

- Les sources suivantes ont été interrogées :
  - pour la littérature internationale : la base de données Medline ;
  - pour la littérature francophone : la Banque de Données en Santé Publique ;
  - la Cochrane Library ;
  - les sites internet publiant des recommandations, des rapports d'évaluation technologique ou économique ;
  - les sites Internet des sociétés savantes compétentes dans le domaine étudié.

- Cette recherche a été complétée par la bibliographie fournie par l'argumentaire écrit du groupe d'experts et les références citées dans les documents analysés.

- La stratégie de recherche dans les bases de données bibliographiques est construite en utilisant, pour chaque sujet, soit des termes issus de thésaurus (descripteurs), soit des termes libres (du titre ou du résumé). Ils sont combinés avec les termes décrivant les types d'études.
  Le *tableau 1* présente la stratégie de recherche dans la base de données Medline. Dans ce tableau, des références doublons peuvent être présentes entre les différents thèmes et/ou types de d'études.

Tableau 1 : Stratégie de recherche dans la base de données Medline:

Type d'étude / sujet	Termes utilisés	**Période**	**Nombre de références**
Temps de saignement			
Recommandations		Pas de limite 08/2010	**7**
Etape 1	Bleeding Time/de OR (bleeding time* OR Ivy method* OR Ivy test OR Ivy tests OR Duke method* OR Duke test OR Duke tests OR aspirin tolerance test OR aspirin tolerance tests)/ti,ab		
ET			
Etape 2	(guidelines as topic OR practice guidelines as topic OR health planning guidelines OR consensus development conferences as topic OR consensus development conferences, NIH as topic)/de OR (practice guideline OR guideline OR consensus development conference OR consensus development conference, NIH)/type de publication OR (recommendation* OR guideline*)/ti		
Revues		Pas de limite 08/2010	**29**
Etape 1	Bleeding Time/de OR (bleeding time* OR Ivy method* OR Ivy test OR Ivy tests OR Duke method* OR Duke test OR Duke tests OR aspirin tolerance test OR aspirin tolerance tests)/ti		
ET			
Etape 3	review*/ti OR Review /pt		
Temps de thrombine			
Recommandations		Pas de limite 08/2010	**3**
Etape 4	Thrombin Time/de OR thrombin time*/ti,ab		
ET			
Etape 2			
Revues		01/2000 – 08/2010	**21**
Etape 4 ET Etape 3			
Recherche et titrage d'inhibiteur contre les facteurs anti-hémophiliques			
Recommandations		01/2000 – 08/2010	**15**
Etape 5	(Hemophilia B/diagnosis OR Hemophilia B/immunology OR Hemophilia A/diagnosis OR Hemophilia A/immunology)/de OR ((haemophili*/ti OR hemophili*/ti)		

	AND inhibitor*/ti) OR (anti-hemophili* OR anti-haemophili*)/ti,ab OR (Factor VIII/diagnostic use OR Factor VIII/isolation and purification OR Factor IX/diagnostic use OR Factor IX/isolation and purification)/de OR (FVIII inhibitor OR Factor VIII inhibitor OR FIX inhibitor OR Factor IX inhibitor)/ti,ab		
ET			
Etape 2			
Revues		01/2000 – 08/2010	**140**
Etape 6	(Hemophilia B/diagnosis OR Hemophilia B/immunology OR Hemophilia A/diagnosis OR Hemophilia A/immunology)/de OR (anti-hemophili* OR anti-haemophili*)/ti OR (Factor VIII/diagnostic use OR Factor VIII/isolation and purification OR Factor IX/diagnostic use OR Factor IX/isolation and purification)/de OR (FVIII inhibitor OR Factor VIII inhibitor OR FIX inhibitor OR Factor IX inhibitor)/ti		
ET			
Etape 3			
PF4 dans la thrombopénie induite par l'héparine			
Recommandations		01/2000 – 08/2010	**8**
Etape 7	(Platelet Factor 4/de AND Thrombocytopenia/de AND Heparin/de) OR ((Platelet Factor 4 OR PF4)/ti AND (thrombocytopenia OR thrombopenia)/ti AND heparin induced/ti) OR ((“PF4/heparin” OR “(PF4)/heparin” OR “heparin/PF4”)/ti,ab) AND (thrombocytopenia OR thrombopenia)/ti)		
ET			
Etape 2			
Revues		01/2000 – 08/2010	**46**
Etape 8	(Platelet Factor 4/de AND (Thrombocytopenia/chemically induced/de OR Thrombocytopenia/diagnosis/de) AND Heparin/adverse effects/de) OR ((Platelet Factor 4 OR PF4)/ti) AND (thrombocytopenia OR thrombopenia)/ti AND heparin induced/ti OR ((“PF4/heparin” OR “(PF4)/heparin” OR “heparin/PF4”)/ti,ab AND (thrombocytopenia OR thrombopenia)/ti)		
ET			
Etape 3			
Recherche d'anticoagulant de type lupique			
Recommandations		01/2000 – 08/2010	**20**

Etape 9	(Lupus Coagulation Inhibitor OR Antibodies, Antiphospholipid)/de OR (lupus coagulation inhibitor OR lupus anticoagulant OR antiphospholipid* OR antiprothrombin* OR anti prothrombin*)/ti,ab OR (lupus/ti AND anticoagulant*/ti)		
ET			
Etape 2			
Revues		01/2000 – 08/2010	**63**
Etape 10	Lupus Coagulation Inhibitor/blood/de OR (lupus coagulation inhibitor OR lupus anticoagulant*/ti		
ET			
Etape 3			
Test d'agrégation plaquettaire			
Recommandations		01/2000 – 08/2010	**5**
Etape 11	(Platelet Function Tests/de OR platelet function*/ti) AND (Platelet Aggregation/de OR platelet aggregation/ti)		
ET			
Etape 2			
Revues		01/2000 – 08/2010	**58**
Etape 11 ET Etape 3			
Mutations G1691A du facteur V (Leiden) et G20210A de la prothrombine			
Recommandations		01/2000 – 08/2010	**4**
Etape 12	((factor V Leiden/Substance Name OR Factor V/de OR (factor V OR FV Leiden)/ti,ab) AND (G1691A* OR 1691A)/ti,ab) OR ((Prothrombin/de OR (factor II OR prothrombin)/ti,ab) AND (G20210A* OR 20210A OR prothrombotic mutation*)/ti,ab) OR ((Thrombophilia/diagnosis OR Thrombophilia/genetics)/de OR thrombophili*/ti)		
ET			
Etape 2			
Revues		01/2000 – 08/2010	**136**
Etape 13	((factor V Leiden/Substance Name OR Factor V/de OR (factor V OR FV Leiden)/ti,ab) AND (G1691A* OR 1691A)/ti,ab) OR ((Prothrombin/de OR (factor II OR prothrombin)/ti,ab) AND (G20210A* OR 20210A OR prothrombotic mutation*)/ti,ab)		
ET			
Etape 3			

* troncature; de: descriptor; ti: title; ab: abstract; pt: publication type

REFERENCES

1. de Revel T, Doghmi K. Physiologie de l'hémostase. Encyclo Méd Chir Stomatologie 2004;22-009-D-20.

2. Gouault-Heilmann M. Aide mémoire d'hémostase. Paris: Flammarion Médecine-Sciences; 2006.

3. Elalamy I, Lecrubier C, Samama MM. Anomalies de l'hémostase et tests biologiques. Encyclo Méd Chir Angéiologie 2000;19-0610.

4. Lasne D. Le temps de saignement doit-il être mesuré en préopératoire ? Sang Tromb Vaiss 2001;13(6):342-7.

5. Matzdorff A. Platelet function tests and flow cytometry to monitor antiplatelet therapy. Semin Thromb Hemost 2005;31(4):393-9.

6. Chee YL, Crawford JC, Watson HG, Greaves M. Guidelines on the assessment of bleeding risk prior to surgery or invasive procedures. British Committee for Standards in Haematology. Br J Haematol 2008;140(5):496-504.

7. Italian Society for Haemostasis and Thrombosis, Cosmi B, Alatri A, Cattaneo M, Gresele P, Marietta M, *et al.* Assessment of the risk of bleeding in patients undergoing surgery or invasive procedures: Guidelines of the Italian Society for Haemostasis and Thrombosis (SISET). Thromb Res 2009;124(5):e6-e12.

8. College of American Pathologists, American Society of Clinical Pathologists, Peterson P, Hayes TE, Arkin CF, Bovill EG, *et al.* The preoperative bleeding time test lacks clinical benefit: College of American Pathologists' and American Society of Clinical Pathologists' position article. Arch Surg 1998;133(2):134-9.

9. Rodgers RP, Levin J. A critical reappraisal of the bleeding time. Semin Thromb Hemost 1990;16(1):1-20.

10. British Society for Haematology Haemostasis and Thrombosis. Guidelines on platelet function testing. J Clin Pathol 1988;41(12):1322-30.

11. Stepanian A, Biron-Andréani C. Exploration de l'hémostase primaire. Ann Biol Clin (Paris) 2001;59(6):725-35.

12. Trzeciak MC, Bordet JC. Exploration de l'hémostase primaire. Encyclo Méd Chir Hématologie 2002;13-019-A-10.

13. Fressinaud E, Veyradier A, Truchaud F, Martin I, Boyer-Neumann C, Trossaert M, *et al.* Screening for von Willebrand disease with a new analyzer using high shear stress: a study of 60 cases. Blood 1998;91(4):1325-31.

14. Fressinaud E, Meyer D. Maladie de Willebrand. Encyclo Méd Chir Hématologie 2008;13-021-A-50.

15. Italian Association of Hemophilia Centers, Federici AB, Castaman G, Mannucci PM. Guidelines for the diagnosis and management of von Willebrand disease in Italy. Haemophilia 2002;8(5):607-21.

16. Michiels JJ, Gadisseur A, van der Planken M, Schroyens W, van de Velden A, Berneman Z. Guidelines for the evaluation of intravenous desmopressin and von Willebrand factor/factor VIII concentrate in the treatment and prophylaxis of bleedings in von Willebrand disease types 1, 2, and 3. Semin Thromb Hemost 2006;32(6):636-45.

17. Lind SE. The bleeding time does not predict surgical bleeding. Blood 1991;77(12):2547-52.

18. Michelson AD, Frelinger AL, Furman MI. Current options in platelet function testing. Am J Cardiol 2006;98(10A):4N-10N.

19. Harrison P. Platelet function analysis. Blood Rev 2005;19(2):111-23.

20. Bowman M, Mundell G, Grabell J, Hopman WM, Rapson D, Lillicrap D*, et al.* Generation and validation of the Condensed MCMDM-1VWD Bleeding Questionnaire for von Willebrand disease. J Thromb Haemost 2008;6(12):2062-6.

21. Polack B, Schved JF, Boneu B, Groupe d'Etude sur l'Hemostase et la Thrombose' (GEHT). Preanalytical recommendations of the 'Groupe d'Etude sur l'Hemostase et la Thrombose' (GEHT) for venous blood testing in hemostasis laboratories. Haemostasis 2001;31(1):61-8.

22. International Society on Thrombosis and Haemostasis, Toh CH, Hoots WK. The scoring system of the Scientific and Standardisation Committee on Disseminated Intravascular Coagulation of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: a 5-year overview. J Thromb Haemost 2007;5(3):604-6.

23. Société française d'anesthésie et de réanimation, Société française d'hématologie. XXIIème Conférence de consensus en réanimation et médecine d'urgence organisée par la Société de réanimation de langue française : coagulation intravasculaire disséminée en réanimation : définition, classification et traitement (à l'exception des cancers et hémopathies malignes). Sang Thromb Vaiss 2003;15(1):38-47.

24. American College of Chest Physicians, Hirsh J, Bauer KA, Donati MB, Gould M, Samama MM*, et al.* Parenteral anticoagulants: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th Edition). Chest 2008;133(6 Suppl):141S-59S.

25. Haute Autorité de Santé. Recherche d'anticorps potentiellement responsables d'une thrombopénie induite par l'héparine. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2005. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/rapport_thrombopenie_par_heparine.pdf

26. Favaloro EJ, Lippi G, Franchini M. Contemporary platelet function testing. Clin Chem Lab Med 2010;48(5):579-98.

27. Lecompte T, Toussaint-Hacquart M. Inhibiteurs du fonctionnement plaquettaire. Encycl Med Chir Hématologie 2005;13-022-F-10.

28. Gaussem P. Exploration plaquettaire chez l'homme. Thérapie 2006;61(5):395-400.

29. McGlasson DL, Fritsma GA. Whole blood platelet aggregometry and platelet function testing. Semin Thromb Hemost 2009;35(2):168-80.

30. Shah U, Ma AD. Tests of platelet function. Curr Opin Hematol 2007;14(5):432-7.

31. Favaloro EJ. Appropriate laboratory assessment as a critical facet in the proper diagnosis and classification of von Willebrand disorder. Best Pract Res Clin Haematol 2001;14(2):299-319.

32. Gaussem P, Hulot JS. Prise en charge de la résistance aux antiplaquettaires. MT Cardio 2008;4(5-6):316-23.

33. European Society of Cardiology, Kuliczkowski W, Witkowski A, Polonski L, Watala C, Filipiak K*, et al.* Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the

European Society of Cardiology. Eur Heart J 2009;30(4):426-35.

34. Société française d'anesthésie et de réanimation, Société française d'hématologie, Société française de cardiologie, Société de réanimation de langue française. Thrombopénie induite par l'héparine. Ann Fr Anesth Reanim 2003;22(2):150-9.

35. British Committee for Standards in Haematology, Keeling D, Davidson S, Watson H. The management of heparin-induced thrombocytopenia. Br J Haematol 2006;133(3):259-69.

36. Warkentin TE, Greinacher A, Koster A, Lincoff AM, American College of Chest Physicians. Treatment and prevention of heparin-induced thrombocytopenia: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest 2008;133(6 Suppl):340S-80S.

37. Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia: diagnosis and management. Circulation 2004;110(18):e454-e458.

38. Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia. Curr Hematol Rep 2002;1(1):63-72.

39. International Society on Thrombosis and Haemostasis, Association of Hemophilia Centre Directors of Canada, Giles AR, Verbruggen B, Rivard GE, Teitel J*, et al.* A detailed comparison of the performance of the standard versus the Nijmegen modification of the Bethesda assay in detecting factor VIII:C inhibitors in the haemophilia A population of Canada. Thromb Haemost 1998;79(4):872-5.

40. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Développement des inhibiteurs et prise en charge chez les patients hémophiles traités par facteur VIII ou IX d'origine plasmatique ou recombinante. Saint Denis: AFSSAPS; 2006. http://www.afssaps.fr/var/afssaps_site/storage/original/application/ec94eda837a7c67a8faaa130b9f211dc.pdf

41. Schved JF. Hémophilie : physiopathologie et bases moléculaires. Encycl Med Chir Hématologie 2008;13-021-B-10.

42. DiMichele D. Inhibitor development in haemophilia B: an orphan disease in need of attention. Br J Haematol 2007;138(3):305-15.

43. Schved JF. Traitement de l'hémophilie. EMC Hématologie 2009;13-021-B-20.

44. Franchini M, Gandini G, Di PT, Mariani G. Acquired hemophilia A: a concise review. Am J Hematol 2005;80(1):55-63.

45. Haute Autorité de Santé. Hémophilies et affections constitutionnelles de l'hémostase graves. Protocole national de diagnostic et de soins pour une maladie rare. Guide Affection longue durée. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2007. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/07-030_hemophilies-guide_edite_sans_lap.pdf

46. Haute Autorité de Santé. Liste des actes et prestations Affection longue durée. Hémophilies et affections constitutionnelles de l'hémostase graves (en dehors des thrombopathies constitutionnelles). Actualisation. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2010. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/actulap_hemophilie_web.pdf

47. Hay CR, Brown S, Collins PW, Keeling DM, Liesner R. The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organisation. Br J Haematol 2006;133(6):591-605.

48. Italian Association of Haemophilia Centres, Gringeri A, Mannucci PM. Italian guidelines for the diagnosis and treatment of patients with haemophilia and inhibitors. Haemophilia 2005;11(6):611-9.

49. Rubinger M, Rivard GE, Teitel J, Walker H, Inhibitor Subcommittee of the Association of Hemophilia Clinic Directors of, Canada. Suggestions for the management of factor VIII inhibitors. Haemophilia 2000;6(Suppl 1):52-9.

50. DiMichele DM. Inhibitor treatment in haemophilias A and B: inhibitor diagnosis. Haemophilia 2006;12 Suppl 6:37-41.

51. Perez Bianco R, Ozelo MC, Villaca PR, Solano MH, Jimenez CG, Martinez MC, *et al.* Diagnosis and treatment of congenital hemophilia with inhibitors a Latin American perspective. Medicina (B Aires) 2008;68(3):227-42.

52. Haute Autorité de Santé. Recherche complémentaire et identification d'un anticoagulant lupique. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2006. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/rapport_anticoagulant_lupique.pdf

53. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Prévention et traitement de la maladie thromboembolique veineuse en médecine. Recommandations de bonne pratique. Saint-Denis: AFSSAPS; 2009. http://www.afssaps.fr/Infos-de-securite/Recommandations-de-bonne-pratique/Prevention-et-traitement-de-la-maladie-thromboembolique-veineuse-en-medecine-recommandations-de-bonne-pratique

54. International Society on Thrombosis and Haemostasis , Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, *et al.* Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. J Thromb Haemost 2009;7(10):1737-40.

55. Pernod G, Biron-Andreani C, Morange PE, Boehlen F, Constans J, Couturaud F, *et al.* Recommandations pour la recherche de facteurs biologiques de risque dans le cadre de la maladie thromboembolique veineuse applications cliniques. Sang Thromb Vaiss 2009;21(Suppl):5-11.

56. American College of Chest Physicians, Geerts WH, Bergqvist D, Pineo GF, Heit JA, Samama CM, *et al.* Prevention of venous thromboembolism: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th Edition). Chest 2008;133(6 Suppl):381S-453S.

57. Jennings I, Mackie I, Arnout J, Preston FE, UK National External Quality Assessment Scheme for Blood Coagulation. Lupus anticoagulant testing using plasma spiked with monoclonal antibodies: performance in the UK NEQAS proficiency testing programme. J Thromb Haemost 2004;2(12):2178-84.

58. Haute Autorité de Santé. Thrombophilie et grossesse - Prévention des risques thrombotiques maternels et placentaires. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2003. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/Thrombophilie_grossesse_%20long.pdf

59. Jennings I, Greaves M, Mackie IJ, Kitchen S, Woods TA, Preston FE, *et al.* Lupus anticoagulant testing: improvements in performance in a UK NEQAS proficiency testing exercise after dissemination of national guidelines on laboratory methods. Br J Haematol 2002;119(2):364-9.

60. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000;109(4):704-15.

61. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. Thromb Haemost 1995;74(4):1185-90.

62. Guidelines on testing for the lupus anticoagulant. Lupus Anticoagulant Working Party on behalf of the BCSH Haemostasis and Thrombosis Task Force. J Clin Pathol 1991;44(11):885-9.

63. Alhenc-Gelas M, Aillaud MF, Delahousse B, Freyburger G, Le Quérrec A, Reber G. La recherche de facteurs biologiques de risque établis de maladie thromboembolique veineuse: état des connaissances et conséquences pour la pratique en biologie clinique. Sang Thromb Vaiss 2009;21(Suppl):12-39.

64. Hachulla E, Darnige L, Arvieux J. Syndrome des antiphospholipides. Encycl Med Chir Hématologie 2007;13-022-C-10.

65. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R*, et al.* International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006;4(2):295-306.

66. Tripodi A. Laboratory testing for lupus anticoagulants: diagnostic criteria and use of screening, mixing, and confirmatory studies. Semin Thromb Hemost 2008;34(4):373-9.

67. Société française de génétique humaine, Aiach M, Alhenc-Gelas M, Léger P, Levesque H. Facteurs génétiques prédisposant à la thrombophilie. Cah Diagnost Génét 2001.

68. British Committee for Standards in Haematology, Walker ID, Greaves M, Preston FE. Investigation and management of heritable thrombophilia. Br J Haematol 2001;114(3):512-28.

69. Haute Autorité de Santé. Test de résistance à la protéine C activée. Recherche de la mutation Facteur V Leiden. Recherche de la mutation g.20210G>A de la prothrombine. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2006. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/rapport_recherche_mutations_fv_leiden_et_fii_20210.pdf

70. European Genetics Foundation, Cardiovascular Disease Educational and Research Trust, International Union of Angiology, Mediterranean League on Thromboembolism, Nicolaides AN, Breddin HK*, et al.* Thrombophilia and venous thromboembolism. International consensus statement. Guidelines according to scientific evidence. Int Angiol 2005;24(1):1-26.

71. Bates SM, Greer IA, Hirsh J, Ginsberg JS. Use of antithrombotic agents during pregnancy: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 2004;126(3 Suppl):627S-44S.

72. Buller HR, Agnelli G, Hull RD, Hyers TM, Prins MH, Raskob GE. Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 2004;126(3 Suppl):401S-28S.

73. Schunemann HJ, Munger H, Brower S, O'Donnell M, Crowther M, Cook D*, et al.* Methodology for guideline development for the Seventh American College of Chest Physicians Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 2004;126(3 Suppl):174S-8S.

74. Proceedings of the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy: evidence-based guidelines. Chest 2004;126(3

Suppl):172S-696S.

75. Carraro P, European Communities Confederation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Working Group on Guidelines for Investigation of Disease. Guidelines for the laboratory investigation of inherited thrombophilias. Recommendations for the first level clinical laboratories. Clin Chem Lab Med 2003;41(3):382-91.

76. Grody WW, Griffin JH, Taylor AK, Korf BR, Heit JA, Acmg F, V. American College of Medical Genetics consensus statement on factor V Leiden mutation testing. Genet Med 2001;3(2):139-48.

77. American College of Obstetrician and Gynecologist. Thromboembolism in pregnancy. ACOG Pract Bull 2000;(19).