



ANNEE 2002 THESE : 2002 – TOU 3 – 4058

EXPLORATION DE LA COAGULATION PLASMATIQUE CHEZ LE CHIEN : ESSAI DU SCA 2000

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2002
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Patrick, André, Alexandre PONS
Né, le 12 avril 1976 à LE MANS (Sarthe)

Directeur de thèse : M. le Professeur Jean-François GUELFI

JURY

PRESIDENT :
Mme Elisabeth ARLET-SUAU

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Jean-François GUELFI
M. Didier MATHON

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



TABLE DES MATIERES

page

INTRODUCTION -----	6
CHAPITRE 1 -----	7
1. LA COAGULATION PLASMATIQUE -----	7
1.1 LES FACTEURS DE LA COAGULATION -----	7
1.1.1 NOMENCLATURE-----	7
1.1.2 LIEU DE SYNTHESE -----	7
1.1.3 MODE D'ACTION -----	8
1.2 LES ETAPES -----	10
1.2.1 FORMATION DE LA PROTHROMBINASE -----	10
1.2.1.1 VOIE EXOGENE (EXTRINSEQUE) -----	10
1.2.1.2 VOIE ENDOGENE (INTRINSEQUE)-----	10
1.2.2 FORMATION DE LA THROMBINE -----	10
1.2.3 FORMATION DE LA FIBRINE-----	11
1.2.4 DEVENIR DU CAILLOT-----	13
1.3 LES TESTS D'EXPLORATION DE LA COAGULATION-----	15
1.3.1 LES TESTS GLOBAUX-----	15
1.3.1.1 LE TEMPS DE CEPHALINE-ACTIVATEUR :TCA-----	16
1.3.1.2 LE TEMPS DE QUICK :TQ-----	18
1.3.1.3 LE TEMPS DE THROMBINE :TT-----	18
1.3.2 LES TESTS ANALYTIQUES -----	18
1.4 INTERET PRATIQUE DE CES TESTS -----	19
1.4.1 INTERET DIAGNOSTIC -----	19

1.4.2 INTERET DANS LE SUIVI THERAPEUTIQUE-----	20
CHAPITRE 2 -----	22
2. ESSAI COMPARATIF DU SCA 2000 -----	22
2.1 PROTOCOLE EXPERIMENTAL-----	22
2.1.1 LES ANIMAUX-----	22
2.1.2 LES PRELEVEMENTS -----	22
2.1.2.1 REALISATION-----	22
2.1.2.2 CONSERVATION -----	24
2.1.3 REALISATION DES TESTS AVEC LE SCA2000 -----	24
2.1.3.1 MATERIEL-----	24
2.1.3.2 PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT -----	24
2.1.3.3 METHODE DE REALISATION -----	25
2.1.4 REALISATION DU TEMPS DE QUICK PAR LA METHODE CHRONOMETRIQUE -----	25
2.1.4.1 MATERIEL-----	25
2.1.4.2 METHODE -----	26
2.1.5 REALISATION DU TEST DE CEPHALINE AVEC ACTIVATEUR PAR LA METHODE CHRONOMETRIQUE -----	26
2.1.5.1 MATERIEL-----	26
2.1.5.2 METHODE -----	26
2.1.6 TRAITEMENT DES RESULTATS -----	27
2.1.6.1 REPETABILITE-----	27
2.1.6.1 REPRODUCTIBILITE -----	27
2.2 RESULTATS OBTENUS -----	27
2.2.1 REPETABILITE -----	27
2.2.2 REPRODUCTIBILITE-----	28

2.2.3 COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS PAR LES DEUX METHODES -----	29
2.2.3.1 VALEURS OBTENUES CHEZ LES CHIENS SAINS-----	29
2.2.3.2 RESULTATS POUR LE TEMPS DE QUICK-----	30
2.2.3.3 RESULTATS POUR LE TEMPS DE CEPHALINE-ACTIVATEUR-----	32
CHAPITRE 3 -----	34
3. DISCUSSION-----	34
PRECISION DE LA METHODE-----	34
POUR LE TEMPS DE QUICK -----	34
Répétabilité :-----	34
Reproductibilité :-----	35
POUR LE TEMPS DE CEPHALINE-ACTIVATEUR-----	35
Répétabilité :-----	35
Reproductibilité :-----	35
COMMENTAIRE-----	35
COMPARAISON DES RESULTATS-----	35
ASPECTS PRATIQUES-----	37
CONCLUSION-----	38
ANNEXES -----	39
BIBLIOGRAPHIE-----	44

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLEAUX

Tableau 1 : Les facteurs de la coagulation plasmatique ([3][9][10]).....	9
Tableau 2 : Modifications des tests au cours des principaux troubles de l'hémostase du chien et du chat ([8][11][17])	21
Tableau 3 : affections rencontrées dans l'échantillon des chiens malades.....	23
Tableau 4: Répétabilité pour le temps de Quick au SCA 2000	27
Tableau 5: Répétabilité pour le temps de Céphaline-Activateur au SCA 2000.....	28
Tableau 6: Appréciation de la reproductibilité par calcul des coefficients de variation (CV).....	28
Tableau 7: Valeurs pour les différents tests et par les deux types de méthodes pour les 31 chiens sains	30
Tableau 8 : Répartition des résultats obtenus pour le temps de Quick pour les 68 chiens malades.....	30
Tableau 9 : Répartition des résultats obtenus pour le TCA pour les 68 chiens malades	32

GRAPHIQUES

Graphique 1: Corrélation entre les mesures de temps de Quick effectuées par la méthode chronométrique et avec le SCA2000 pour l'échantillon des chiens malades (on a utilisé les Log pour éparpiller la distribution).	31
Graphique 2: Corrélation entre les mesure de temps de Céphaline-Activateur réalisées par la méthode chronométrique et avec le SCA 2000 pour l'échantillon des chiens malades (on a utilisé les Log pour éparpiller la distribution).	33

ANNEXES

Annexe 1 : Temps obtenus pour l'échantillon des chiens sains (en secondes).....	40
Annexe 2 : Temps obtenus pour l'échantillon des chiens malades (en secondes).....	42
Annexe 3 : mode d'emploi du SCA 2000	43

INTRODUCTION

L'hémostase est un état d'équilibre relativement instable qui peut être maintenu grâce à trois mécanismes successifs : l'hémostase primaire qui aboutit à la formation du clou plaquettaire, la coagulation plasmatique dont résulte la formation du caillot et la fibrinolyse qui permettra à terme la solubilisation de ce caillot.

Une perturbation de l'une de ces étapes aura pour conséquence un déplacement de l'équilibre dans le sens d'un syndrome hémorragique ou d'un syndrome thrombotique. Et si ces anomalies peuvent être suspectées cliniquement, leur diagnostic proprement dit passe par des examens complémentaires plus ou moins complexes et donc plus ou moins accessibles au praticien, car difficiles à standardiser et à interpréter.

Ainsi la coagulation plasmatique nécessite pour son évaluation de base:

- ✓ Le temps de céphaline avec activateur (T.C.A.) qui explore la voie endogène et la voie commune de la coagulation plasmatique
- ✓ Le temps de Quick (T.Q.) qui explore la voie exogène et la voie commune de la coagulation plasmatique
- ✓ Le temps de thrombine (T.T.) qui explore la fibrinof formation, dernière étape de la coagulation plasmatique.

Ces examens nécessitent, outre une certaine habitude de leur réalisation, de comparer l'échantillon testé à un échantillon témoin, ce qui rend leur réalisation plus lourde encore.

Le laboratoire SYNBIOTICS propose en commercialisant le SCA2000 une méthode d'obtention du T.C.A. et du T.Q. qui est rapide, automatisée, réalisable à partir d'un simple échantillon de sang total et ne requerrant pas de comparaison à un échantillon témoin. L'objet de ce travail est d'apprécier, en la comparant aux méthodes chronométriques classiquement employées, la fiabilité de cette méthode chez le chien.

Après un bref rappel des mécanismes mis en jeu lors de la coagulation plasmatique, nous décrirons les techniques employées, les méthodes utilisées pour les comparer et les résultats obtenus. Enfin, nous évaluerons l'intérêt de ces méthodes, leurs limites et leur applicabilité en pratique courante.

CHAPITRE 1

1. LA COAGULATION PLASMATIQUE

L'hémostase est un état d'équilibre complexe qui découle de trois grands mécanismes. Le 1^{er} d'entre eux est l'hémostase primaire qui aboutit à la formation d'un clou plaquettaire. La coagulation plasmatique intervient ensuite pour renforcer ce clou plaquettaire grâce à la synthèse d'un caillot de fibrine (celui ci sera par la suite remanié au cours de la 3^{ème} étape de l'hémostase que constitue la fibrinolyse). Elle fait intervenir de nombreux facteurs qui vont interagir au cours d'étapes réactionnelles successives.

1.1 LES FACTEURS DE LA COAGULATION ([3][9][10])

Cf. tableau 1

1.1.1 NOMENCLATURE

Ces facteurs sont pour la plupart des glycoprotéines plasmatiques. Ils sont désignés par des chiffres romains suivi ou non d'un « a » indiquant leur état activé ou pas.

Ils sont au nombre de douze (I,II,III,IV,V,VII,VIII,IX,X,XI,XII,XIII) auxquels il faut ajouter deux facteurs découverts plus récemment : le kininogène de haut poids moléculaire (KHPM) et la prékallicréine (préK).

1.1.2 LIEU DE SYNTHÈSE ([21])

La plupart de ces facteurs ont une synthèse hépatique (facteurs I,II,V,VII, VIIIc ?, IX, X, XI, XII, XIII) , ce qui explique que des troubles de la coagulation peuvent faire partie des anomalies biologiques rencontrées lors d'une affection hépatique.

Les facteurs II, VII, IX et X sont dits « vitamine K dépendants » car leur synthèse est tributaire de la présence de vitamine K. Celle-ci permet en effet la fixation d'un groupement carboxyl dans la chaîne polypeptidique de ces facteurs, ce groupement conférant aux facteurs en question la capacité de se lier au calcium et aux phospholipides. Un déficit en vitamine K (classiquement rencontré en cas d'intoxication par certains anticoagulants) se traduira donc par la synthèse de facteurs inactifs et donc par des troubles de la coagulation.

1.1.3 MODE D'ACTION

Les facteurs II, VII, IX, X, XI, XII et XIII sont des zymogènes qui acquièrent leur fonctionnalité après activation par protéolyse (ce sont le plus souvent des sérine-protéases).

Les facteurs V et VIII sont eux des cofacteurs enzymatiques, véritables catalyseurs de la coagulation plasmatique. Ils n'ont en effet pas d'activité enzymatique propre mais participent, avec le Ca^{2+} et les phospholipides, à la formation des complexes activateurs ténase et prothrombinase.

N.B. : le facteur VIII est en réalité la combinaison de deux protéines reliées par des liaisons non covalentes : le facteur VIII coagulant (VIIIc) et le facteur de Von Willebrand (FVW).

N°	Dénomination	Forme active	Lieu de synthèse	consommation	Demi-vie	Rôle
I	fibrinogène	fibrine	foie	oui	2-4 jours	Monomère protéique se polymérisant pour donner la fibrine
II	prothrombine	thrombine	foie avec vitamine K	oui	3-4 jours	Hydrolyse le fibrinogène. Active les facteurs II,V,VII,VIII,XI & XIII
III	thromboplastine tissulaire	absente	tissus	---	---	Active le facteur X dans le complexe prothrombinase
IV	ion calcium	Ca ²⁺	---	---	---	Nécessaire à la plupart des étapes de la coagulation
V	proaccélélerine	Va	foie et SMM	oui	36-48 heures	Cofacteur du X dans le complexe prothrombinase
VII	proconvertine	VII et VIIa	foie avec vitamine K	non	4 heures	VIIa et facteur tissulaire activent le X
VIIIc	facteur anti-hémophilique A	VIIIa	foie? Cellules endothéliales	oui	10-16 heures	Cofacteur du IX dans le complexe antihémophilique, constitué avec les phospholipides, le Ca ²⁺ et le IXa le complexe ténase permettant l'activation du X
IX	facteur anti-hémophilique B	IXa	foie avec vitamine K	non	24 heures	Entre dans la composition du complexe ténase permettant l'activation du X par voie endogène
X	facteur Stuart	Xa	foie avec vitamine K	non	36-48 heures	Donne le Xa faisant partie du complexe prothrombinase et active les facteurs VII et IX
XI	facteur PTA	XIa	foie?	peu consommé	2-3 jours	Donne le XIa qui active le facteur IX en présence de calcium
XII	facteur Hageman	XIIa	foie ?	peu consommé	48 heures	Système contact. Active le XI. Participe au système fibrinolytique et au système des kinines
XIII	facteur stabilisant de la fibrine	XIIIa	foie ?	oui	7 jours	Donne en présence d'ions calcium le XIIIa (transaminase) qui transforme la fibrine soluble en fibrine insoluble
prék	prékallicréine	kallicréine	---	---	---	Système contact. Active le XII, le système des kinines, la prérénine et le plaminogène
KHPM	kininogène de haut poids moléculaire	idem	---	---	---	Système contact. Active la prékallicréine en présence de XIIa

Tableau 1 :Les facteurs de la coagulation plasmatique ([3][9][10])

1.2 LES ETAPES ([2][3][5][9])

Cf. Schéma 1

La coagulation plasmatique consiste en une cascade enzymatique qui va voir se former la prothrombinase, une enzyme responsable de la transformation de la prothrombine en thrombine. Celle-ci, une protéase, permettra le clivage de la molécule de fibrinogène en fibrine.

1.2.1 FORMATION DE LA PROTHROMBINASE

C'est l'enzyme permettant le clivage de la prothrombine (II) en thrombine (IIa). Elle résulte de l'association, sur une matrice de phospholipides, du facteur Stuart (Xa), de la proaccéléline (Va) et de calcium. L'association de ces facteurs peut être déclenchée par deux mécanismes différents :

1.2.1.1 VOIE EXOGENE (EXTRINSEQUE)

C'est le contact du plasma et du facteur tissulaire avec le facteur VIIa qui va entraîner l'activation du facteur X. celui-ci va alors former la prothrombinase en s'associant au facteur Va en présence de Ca^{2+} .

1.2.1.2 VOIE ENDOGENE (INTRINSEQUE)

Elle est initiée par le «Système contact » (= facteur XII + KHPM + prékallicroïne) qui est activé par l'exposition du sous endothélium au niveau d'une lésion vasculaire. S'ensuit alors l'activation en cascade des facteurs XI puis IX. Les facteurs IXa et VIIIc vont alors s'associer, en présence de Ca^{2+} et sur une matrice phospholipidique, formant ainsi le complexe Ténase. Celui-ci induit l'activation du facteur X et donc la formation de la prothrombinase.

1.2.2 FORMATION DE LA THROMBINE

Elle résulte de l'action de la prothrombinase sur la prothrombine. La thrombine ainsi formée possède trois rôles majeurs :

- Cliver le fibrinogène en fibrine
- Favoriser l'agrégation plaquettaire

- Activer le facteur XIII (en présence de Ca^{2+})

1.2.3 FORMATION DE LA FIBRINE

La thrombine clive le fibrinogène en deux fibrinopeptides (A et B) et un monomère de fibrine. Ces monomères vont se polymériser en fibrine soluble. C'est le facteur XIIIa qui va renforcer la cohésion entre les monomères et rendre ainsi la fibrine insoluble : le caillot est formé.

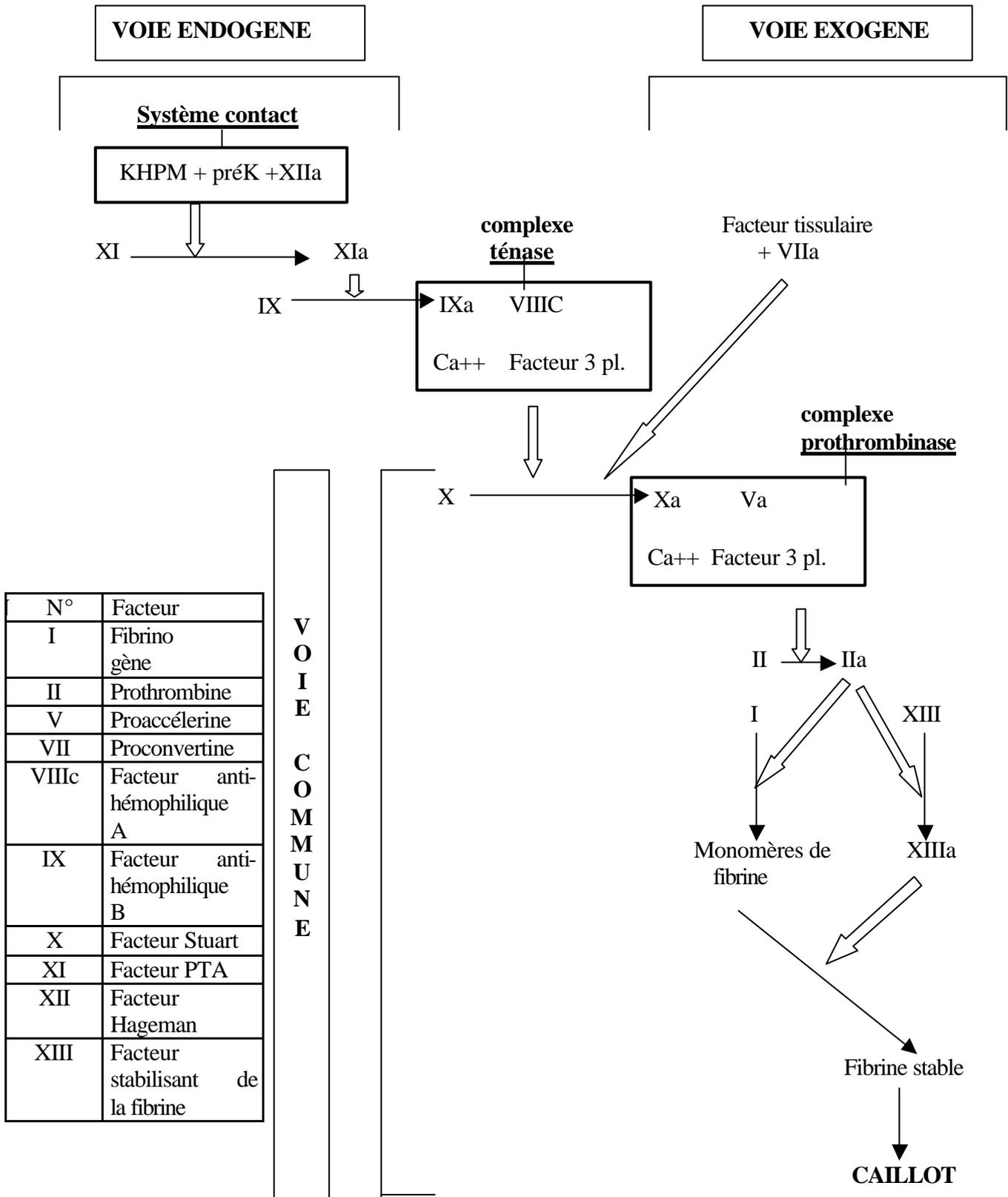


Schéma 1 : La coagulation plasmatique ([2][3][23][24])

1.2.4 DEVENIR DU CAILLOT

Cf. Schéma 2

Pour permettre la reperméabilisation du vaisseau, ce caillot sera ensuite remanié au cours de la troisième étape constitutive de l'hémostase : la fibrinolyse. Elle consiste essentiellement en l'activation du plasminogène en plasmine, une enzyme protéolytique capable de lyser la fibrine et le fibrinogène (on appelle PDF les produits de cette dégradation). Le rôle de cette enzyme est aussi de dégrader certains facteurs de la coagulation (facteurs V, VII, XIIIa ...) et d'activer certaines fractions du complément.

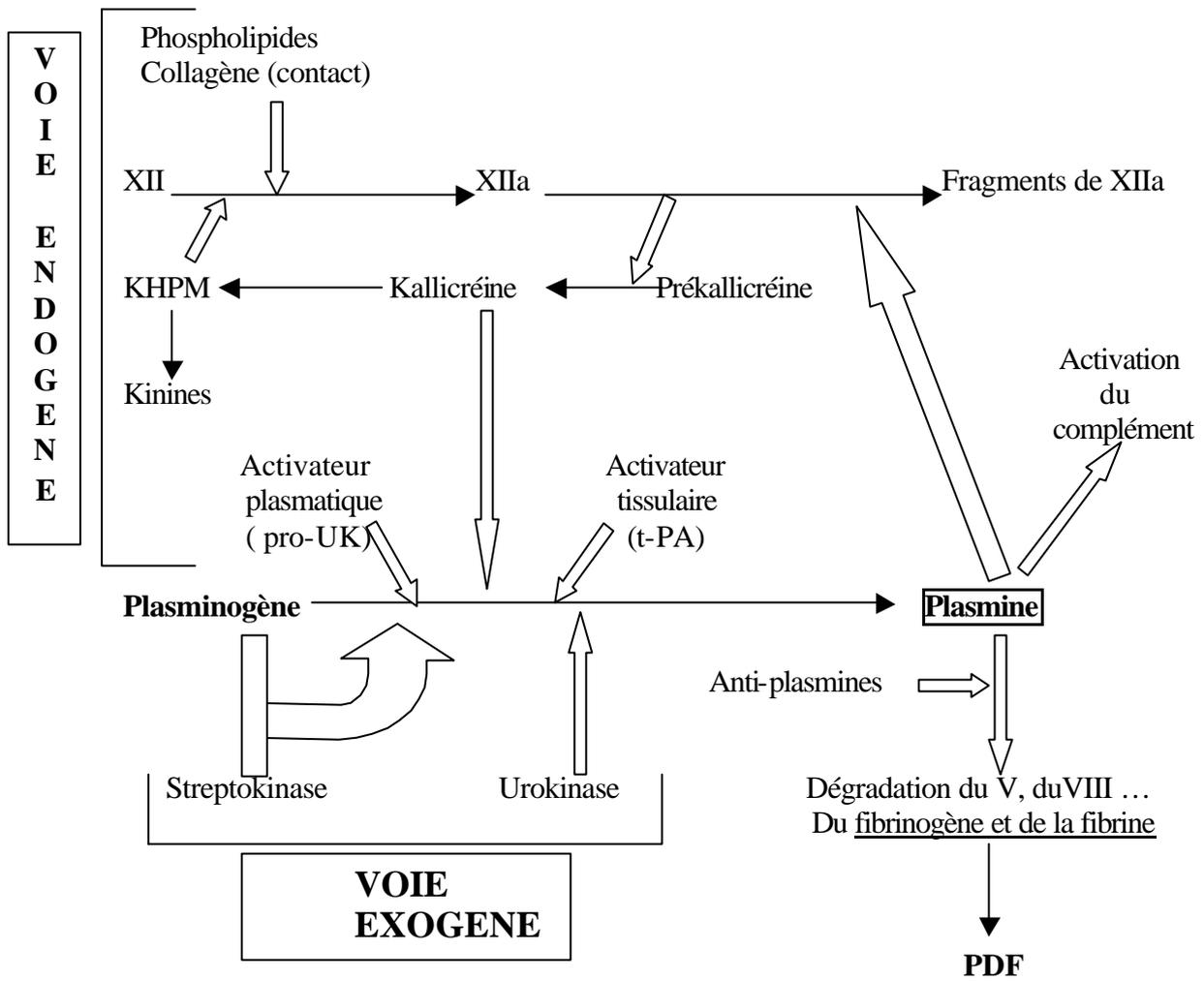


Schéma 2 : La fibrinolyse ([3][10])

1.3 LES TESTS D'EXPLORATION DE LA COAGULATION ([7][13])

Le diagnostic des affections liées à des troubles de l'hémostase passe par l'exploration des trois temps qui la composent.

En pratique on explorera l'hémostase primaire en réalisant deux examens de base : la mesure du temps de saignement (valeurs normales de 2 à 4 min chez le chien pour une incision gingivale au niveau de la lèvre supérieure) et la numération plaquettaire (valeurs normales de 200 à 500 $\cdot 10^9/L$). Ces examens pourront éventuellement être complétés par une ponction de moelle (pour identifier le caractère central ou périphérique d'une thrombopénie) et/ou par la réalisation, via un laboratoire spécialisé, de tests fonctionnels évaluant les capacités d'adhésion, d'agrégation et de libération de constituants au niveau plaquettaire (tests toutefois peu usités en médecine vétérinaire).

La fibrinolyse sera explorée par la mesure du temps de lyse des euglobulines du plasma ou, de manière plus classique aujourd'hui, par le dosage des PDF dans le plasma : une fibrinolyse anormalement élevée entraînera une augmentation de leur concentration (on considère comme pathologique une concentration en PDF supérieure à 10 $\mu g/mL$).

Pour ce qui est de la coagulation plasmatique, on dispose principalement de trois tests permettant une approche globale (ces tests sont les plus couramment réalisés en pratique mais il en existe d'autres). Ce sont les mesures des temps de Céphaline-Activateur, de Quick et de Thrombine.

Ces tests peuvent être complétés le cas échéant par des tests analytiques, basés sur le dosage d'un des facteurs de la coagulation ou de ses produits de dégradation.

1.3.1 LES TESTS GLOBAUX

Ces tests s'effectuent à partir de sang prélevé dans des tubes citratés (on préconise un ratio égal à 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang). Il est important de réaliser ces tests rapidement après la prise de sang (délai maximum de 3-4h).

Parmi toutes les méthodes, les plus utilisées en pratique sont les méthodes chronométriques basées sur la mesure par l'opérateur du temps nécessaire à l'obtention d'un caillot après mise en contact avec les réactifs.

1.3.1.1 LE TEMPS DE CEPHALINE-ACTIVATEUR :TCA

Cf. Schéma 3

C'est par définition le temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes (i.e. centrifugé à 4000 tours pendant 5-10 min) mis en présence d'une suspension phospholipidique, d'un activateur et de calcium. L'activateur le plus souvent employé est le kaolin : on parle alors de temps de céphaline-kaolin (TCK).

Ce test n'est pas parfaitement reproductible. Il est donc préférable de comparer le plasma testé à un plasma de chien témoin : on considérera comme allongé un TCA supérieur à 1.3 fois le TCA du témoin.

Le TCA dépend de l'ensemble des facteurs de la voie endogène et de la voie commune. Il explore donc les facteurs I, II, V, VIII, IX, X, XI et XII. Néanmoins, la disponibilité d'un facteur devant être réduite d'au moins 70% par rapport à la normale pour observer un allongement de ces temps, il peut arriver que certains individus hétérozygotes (hémophiles A ou B par exemple) ne soient pas détectés (car l'activité du facteur est encore comprise entre 40 et 60 % de son activité normale).

A l'E.N.V.Toulouse, les valeurs de TCA considérées comme normales chez le chien sont comprises entre **10 et 14 sec.**

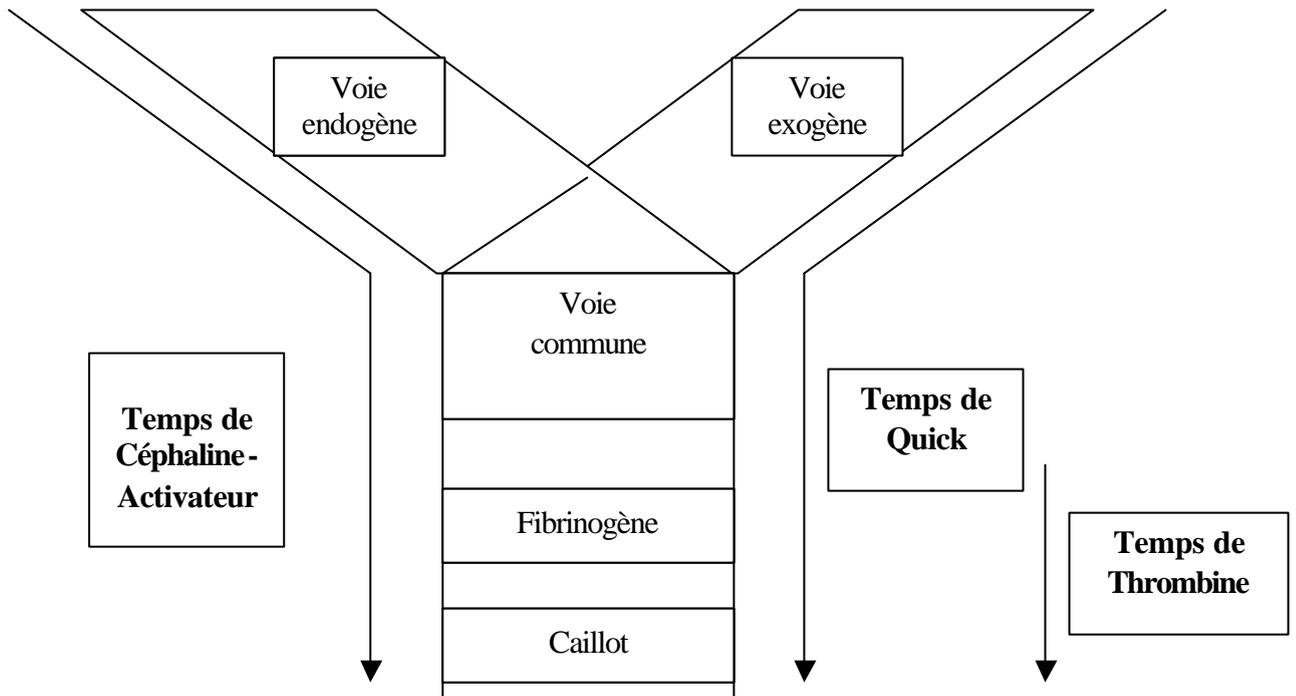


Schéma 3 : Etapes de la coagulation explorées par les 3 principaux paramètres ([4][5])

1.3.1.2 LE TEMPS DE QUICK :TQ

Le TQ est le temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes mis en présence d'un excès de facteur tissulaire (thromboplastine) et de Ca^{++} . Il explore la voie exogène et la voie commune de la coagulation, c'est à dire les facteurs I, II, V, VII et X.

Le déficit en facteur tissulaire ne semble pas possible car il est présent dans tous les tissus.

C'est le test de choix en cas de suspicion d'intoxication au antivitamine K car il est le premier modifié, la demi-vie du facteur VII (à synthèse vitamine K –dépendante) étant la plus courte (environ 4 heures).

Une hypofibrinogénémie peut aussi être responsable d'un allongement du TQ.

A l'E.N.V.Toulouse, les valeurs de TQ considérées comme normales chez le chien sont comprises entre **6 et 7 sec.**(en utilisant une thromboplastine extraite d'encéphale de lapin).

On peut exprimer cette valeur en pourcentage par rapport à un témoin : on parle alors de taux de prothrombine.

1.3.1.3 LE TEMPS DE THROMBINE :TT

Il explore la fibrinoformation, dernière étape de la voie commune.

C'est le temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes mis en présence de thrombine.

L'allongement de ce temps résulte soit d'un déficit quantitatif (hypofibrinogénémie) ou qualitatif en fibrinogène, soit de la présence d'inhibiteurs de la thrombine (héparine, antithrombine III) ou de la polymérisation des monomères de fibrine (PDF).

A l'E.N.V.Toulouse, les valeurs de TT considérées comme normales chez le chien sont comprises entre **18 et 30 sec.** (en utilisant une thrombine d'origine bovine diluée au $1/20^{\text{ème}}$).

1.3.2 LES TESTS ANALYTIQUES ([9])

Ces tests, basés eux aussi sur des méthodes chronométriques, permettent de « doser » un facteur de la coagulation en particulier. Chez le chien, on recherche plus particulièrement les facteurs I, II, V, VIIIc et X ainsi que l'ensemble VII+X.

Le principe est relativement simple : on recherche le temps de coagulation d'un plasma chimère, mélange du plasma à tester et d'un plasma spécifique du commerce contenant tous les facteurs sauf celui recherché. On effectue alors un temps de Quick s'il s'agit d'un facteur

de la voie commune ou exogène, un temps de Céphaline-Activateur s'il s'agit d'un facteur de la voie endogène. Les résultats sont exprimés en pourcentage par rapport à un plasma témoin : on considère comme normal un temps compris entre 70 et 120 % du temps obtenu avec le plasma témoin.

Pour le fibrinogène, on peut accéder à la valeur de la fibrinogénémie par ce type de méthode. En effet, en présence de concentration élevée de thrombine et de concentration faible de fibrinogène (plasma dilué), on peut établir un lien entre le temps obtenu et la fibrinogénémie (via une relation bilogarithmique).

Les valeurs usuelles de fibrinogénémie chez le chien sont de **2-4 g/L**.

Il est également possible de doser l'antithrombine III dont le taux diminue lors d'activation de la coagulation, d'insuffisance hépatique et de syndrome néphrotique. On réalise ce dosage en ajoutant au plasma de l'héparine et de la thrombine et en mesurant l'activité de la thrombine résiduelle sur un substrat synthétique. Les résultats ainsi obtenus sont exprimés en pourcentage par rapport à un plasma témoin : on considère comme normales des valeurs comprises entre 80 et 120 % de celles obtenues avec le témoin.

Enfin il faut citer le dosage des PDF qui permet de dépister une activation de la coagulation suivie de thrombolyse ou bien une hyperfibrinolyse primitive. Il s'effectue à l'aide de kits spécifiques basés sur des techniques d'agglutination de particules de latex recouvertes d'anticorps anti-PDF.

Chez le chien, des valeurs de PDF supérieures à **10 µg/mL** sont considérées comme anormales et des valeurs supérieures à 30-40 µg/mL sont fortement évocatrices d'une CIVD ([14]).

1.4 INTERET PRATIQUE DE CES TESTS

Ils jouent un rôle à la fois dans le diagnostic et le suivi thérapeutique.

1.4.1 INTERET DIAGNOSTIC

Une suspicion clinique de trouble de l'hémostase est caractérisée par un syndrome d'anémie (le plus souvent sans hémolyse) associé à la survenue de saignements multiples et/ou répétés (qu'ils soient extériorisés, intra-articulaires ou intracavitaires). Dans certains cas, cette situation nécessite de prendre des dispositions d'urgence (remplissage vasculaire, assistance

respiratoire...). Un diagnostic rapide est alors primordial. Celui-ci passe en premier lieu par un bilan associant un hémogramme, le dosage des protéines plasmatiques et l'exploration de la coagulation plasmatique par la réalisation d'un TQ, d'un TCA et d'un TT (ou d'une fibrinogénémié).

Ce premier bilan lui permettra d'écarter ou de confirmer un trouble de l'hémostase voire de l'identifier de manière précise, permettant ainsi la mise en place d'une thérapeutique adaptée.

Cf. tableau 2

1.4.2 INTERET DANS LE SUIVI THERAPEUTIQUE

Ces tests ont aussi pour vocation de suivre l'évolution du patient au cours de son traitement.

Ainsi un animal intoxiqué aux rodenticides anti-vitamine K sera traité classiquement par l'administration quotidienne de vitamine K1 (5 mg/Kg) pendant 3 semaines. On vérifiera l'efficacité du traitement en effectuant un TQ 48 heures après l'arrêt du traitement : si celui-ci est encore allongé, on prescrira 10 jours de traitement supplémentaires ([16]).

Le TCA pourra par exemple être utile à la surveillance d'un animal ayant présenté une CIVD et traité à l'héparine : une évolution favorable se signe par une normalisation du TCA concomitante d'une diminution des PDF plasmatiques.

Troubles de l'hémostase	TQ	TCA	TT	Fibrinogène	Numération plaquettaire	Autres tests éventuels
Intoxication aux anti-vitamines K	↑ ++	↑ ++	=	=	= (ou ↓)	F II ↓ F V =
CIVD aiguë	↑	↑	↑	↓	↓	PDF ↑
Insuffisance hépatique	↑	↑ ±	↑ ±	↓ ±		Parfois associée à 1 CIVD
Hémophilies	=	↑	=	=	=	Facteurs VIII ou IX ↓ Tps saignement =
Déficit en F VII	↑	=	=	=	=	F VII ↓
Déficit en F I	↑	↑	↑	↓	=	Temps corrigés par apport de plasma
Déficit en F XII	=	↑	=	=	=	F XII ↓
Anticoagulants circulants	↑ Ou =	↑ Ou =	↑ Ou =			Temps non corrigés par apport de plasma
Thrombopénies (sauf CIVD)	=	=	=	=	↓ ++	
Mie de Von Willebrand	=	↑ ±	=	=	=	↑ Temps de saignement F Willebrand ↓
Trouble des fonctions plaquettaires	=	=	=	=	=	Temps de saignement ↑

Tableau 2 : Modifications des tests au cours des principaux troubles de l'hémostase du chien et du chat ([8][11][17])

CHAPITRE 2

2. ESSAI COMPARATIF DU SCA 2000

2.1 PROTOCOLE EXPERIMENTAL

On se propose de comparer ici les temps de Quick et les temps de Céphaline avec Activateur donnés par le SCA2000 avec ceux obtenus par les méthodes chronométriques classiques utilisées en routine au Laboratoire d'Hématologie du service de Médecine de l'ENVT.

2.1.1 LES ANIMAUX

cf. tableau 3

On dispose d'un pool de 98 animaux pour lesquels une exploration de l'hémostase a été demandée. Ils sont répartis en deux échantillons.

L'échantillon des chiens « malades » comprend 68 individus, présentés pour différentes raisons à la consultation. Une trentaine d'entre eux présente effectivement des perturbations de la coagulation plasmatique.

L'échantillon des chiens « sains » est quant à lui constitué de 31 animaux cliniquement sains appartenant à l'ENVT (animaux destinés à l'enseignement pratique) ou à des étudiants, ou bien vus en consultation pour des opérations de convenance (stérilisation par exemple).

2.1.2 LES PRELEVEMENTS

2.1.2.1 REALISATION

Les tests sont effectués à partir de sang veineux. Le prélèvement est obtenu par ponction jugulaire franche après compression manuelle. On utilise un système de type vacutainer associant une aiguille, un porte-aiguille et un tube sous vide contenant un milieu de prélèvement citraté (tube de 5 mL contenant 0,5 mL de citrate de soude à 3,8%). Le tube est rempli « au trait » dans le but d'avoir un rapport entre la quantité de sang et l'anticoagulant proche de 9 pour 1.

On effectue les mesures à l'aide du SCA 2000 avec du sang total. Celui-ci est ensuite centrifugé pour donner le plasma pauvre en plaquettes nécessaire à la réalisation des tests par la méthode chronométrique.

CN	Motif de la demande	Diagnostic de l'affection
1	Rhinite - Epistaxis	aspergillose
2	Saignements	tumeur vaginale
3	post op	ovariohystérectomie
4	post op	pyomètre
5	pré op	pyomètre
6	post op	ovariohystérectomie
7	suivi intoxication	intoxication-anticoagulants
8	Hématurie	Cystite
9	Méléna	Gastro-entérite
10	suivi intoxication	intoxication-anticoagulants
11	atteinte hépatique	shunt portocave
12	atteinte hépatique	lymphome
13	retard de croissance	foie?
14	CIVD décompensée	tumeurs mammaires
15	Ascite	foie?
16	saignements	Hernie discale avec
17	anémie chronique	Myélosclérose
18	Choc	torsion estomac
19	suivi torsion	torsion estomac
20	Méga œophage	shunt portocave
21	atteinte hépatique	tumeur hépatique
22	épanchement péricardique	tumeur péricardique
23	post op (péritonite)	Pyomètre
24	CIVD	Péritonite
25	Suivi métastases	tumeurs mammaires
26	Saignements	intoxication-anticoagulants
27	Préop	Ovariectomie
28	abdomen aigu	Péritonite
29	CIVD	péritonite-nécrose intestinale
30	CIVD	Suivi 28 et 29
31	epistaxis-hématurie	L.A.M.
32	epistaxis unilatérale	Rhinite
33	Saignements	
34	atteinte hépatique	tumeur hépatique
35	Suivi tumeur hépatique	hypothyroïdie
36	post op	ovariectomie
37	suivi intoxication	intoxication-anticoagulants
38	Hématurie	Cystite
39	héparinothérapie	CIVD
40	héparinothérapie	CIVD
41	atteinte hépatique	?
42	suivi intoxication	intoxication-anticoagulants
43	suivi IRC	insuffisance rénale
44	Epanchement pleural	lymphome
45	Leishmaniose	
46	Méléna	
47	anémie-choc	histiocytose
48	hyperthermie	arthrite septique
49	post op	pyomètre
50	post op	tumeur abdominale
51	post op	pyomètre
52	suivi	piroplasmose
53	CIVD?	tumeur rate
54	CIVD post op	ovariectomie
55	post op	pyomètre
56	Ictère	lithiase foie
57	suivi 56	lithiase foie
58	Pré op	cytoponctions pulmonaires
59		Atteinte hépatique
60	retard de croissance	shunt portocave
61	Apathie	intoxication-anticoagulants
62	ascite-ictère	atteinte hépatique
63	suivi 61	
64	suivi 61 62	
65		
66		anticoagulants circulants
67	vomissements chroniques	atteinte hépatique
68		atteinte hépatique

Tableau 3 : affections rencontrées dans l'échantillon des chiens malades

2.1.2.2 CONSERVATION

Le prélèvement sur citrate permet de différer la réalisation des tests mais on considère que passé 2 heures après le prélèvement, les résultats obtenus sont altérés.

Certains des tests ont été réalisés à partir d'échantillons de plasma congelé remis à température avant la réalisation de ces tests, ceci dans le but de grouper les manipulations. Cette méthode courante d'entreposage n'altère de toute façon en rien l'évaluation de la fonction hémostatique ([1]).

2.1.3 REALISATION DES TESTS AVEC LE SCA2000

2.1.3.1 MATERIEL

On dispose d'un automate SCA2000 et des cartouches correspondant aux tests à pratiquer (dénomination « APTT citraté » et « TP citraté »). Ces cartouches à usage unique contiennent sous forme déshydratée les réactifs nécessaires à la réalisation du test.

Ainsi la cartouche pour temps de Quick est pourvue d'une chambre-test contenant une préparation déshydratée de thromboplastine, de sels de calcium et d'agents stabilisants.

La cartouche pour temps de Céphaline Activateur est elle pourvue d'une préparation déshydratée de kaolin, de phospholipides, de sels de calcium et d'agents stabilisants.

2.1.3.2 PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT

Le mécanisme de détection du caillot est basé sur un système optique qui va mesurer la vitesse à laquelle l'échantillon (sang + réactifs) circule entre des détecteurs. Au fur et à mesure que le caillot se forme, le flux sanguin ralentit. Quand la vitesse chute sous un seuil prédéterminé, l'analyseur considère que la formation du caillot est achevée et affiche le temps qu'il a fallu à ce caillot pour se former.

2.1.3.3 METHODE DE REALISATION ([22])

cf. Annexe 3

La démarche suivie est celle décrite par le fabricant dans la notice de l'appareil. La manipulation est simple :

- On sort la cartouche correspondant au test à pratiquer du réfrigérateur quelques temps avant son utilisation, le fabricant recommandant d'utiliser ces cartouches à température ambiante.
- La cartouche est ensuite insérée dans l'appareil qui va l'identifier et procéder à une étape de préchauffage visant à amener les réactifs qu'elle contient à la température idéale.
- L'opérateur dépose ensuite à l'aide d'une seringue ou d'une pipette une goutte de sang dans le puits de la cartouche, sans bulle d'air, et lance l'analyse en poussant le bouton « Start ». L'analyseur aspire ensuite précisément la quantité juste de sang nécessaire à l'analyse (soit 15µL).
- Le résultat du test est lu sur l'écran de l'appareil : il s'agit d'une valeur donnée en secondes.

2.1.4 REALISATION DU TEMPS DE QUICK PAR LA METHODE CHRONOMETRIQUE

Ce test consiste à activer in vitro la prothrombine présente dans l'échantillon par addition de thromboplastine calcique. On obtient alors de la thrombine qui hydrolyse le fibrinogène en fibrine et permet la formation du caillot.

2.1.4.1 MATERIEL

On dispose d'un bain-marie réglé à 37°C, de pipettes, de tubes à hémolyse, d'un crochet et d'un chronomètre.

La source de thromboplastine calcique est une préparation lyophilisée à base de cervelle de lapin (Thromboplastine calcique bioMérieux) que l'on reconstitue avant usage en y ajoutant un volume donné d'eau distillée.

2.1.4.2 METHODE

On travaille à partir d'un plasma pauvre en plaquettes obtenu en centrifugeant le sang citraté du patient à 4000 tr pendant 5-8 minutes. On peut travailler à partir de plasma frais ou décongelé.

La première étape consiste à pré-incuber au bain-marie 0,1mL de plasma et 0,2 mL de réactif pendant quelques minutes.

On mélange ensuite les 2 composants et on déclenche le chronomètre. Le mélange est continuellement sondé à l'aide du crochet jusqu'à ce que le caillot formé ait été croché. On arrête alors le chronomètre et le temps indiqué est noté (en secondes).

Cette méthode est la méthode de référence classiquement employée dans les études concernant le temps de Quick ([18]).

2.1.5 REALISATION DU TEST DE CEPHALINE AVEC ACTIVATEUR PAR LA METHODE CHRONOMETRIQUE

Ce test consiste à provoquer la coagulation d'un plasma in vitro en le mettant en présence d'une suspension phospholipidique, d'un activateur et de calcium.

2.1.5.1 MATERIEL

On emploie le même matériel que celui employé pour la mesure du temps de Quick.

On utilise un kit de détermination du temps de céphaline-kaolin produit par les laboratoires Diagnostica Stago. Il est composé de 2 flacons, l'un contenant de la céphaline lyophilisée, l'autre contenant une solution tamponnée de kaolin à 5 mg/mL. Le réactif est préparé une demi-heure avant emploi par transvasement de la solution dans le flacon contenant la céphaline lyophilisée et homogénéisation.

On emploie un deuxième réactif qui est une solution de CaCl₂ à 0,025M prête à l'emploi.

Cette méthode est la méthode de référence classiquement employée dans les études concernant le temps de Céphaline-Activateur ([6]).

2.1.5.2 METHODE

On pré-incube dans le bain-marie 0,1 mL de plasma, 0,1 mL de réactif que l'on aura bien homogénéisé au préalable et 0,1 mL de solution calcique. On mélange tout d'abord le plasma et le réactif puis on laisse incuber 3 minutes. On ajoute alors la solution calcique et on déclenche le chronomètre. Le caillot est alors croché à l'aide du crochet et on note le temps correspondant (en secondes).

2.1.6 TRAITEMENT DES RESULTATS

2.1.6.1 REPETABILITE

Les tests avec le SCA2000 ont été réalisés 5 fois de suite sur 2 prélèvements de sang citraté avec TQ et TCA non modifiés (chiens n° 23 et 26) et sur 2 prélèvements avec TQ et TCA allongés (chiens n° 63 et 59) .

On estime la répétabilité par le coefficient de variation :

$$\text{Coefficient de variation (\%)} = (\text{écart-type/moyenne}) \times 100$$

2.1.6.1 REPRODUCTIBILITE

L'étude de la reproductibilité est basée sur la répétition des tests de répétabilité. En effet les 5 tests successifs sont réalisés dans les 30 minutes suivant la prise de sang puis une nouvelle série de 5 tests est réalisée 1h30 après la prise de sang.

Elle est estimée par la même technique.

2.2 RESULTATS OBTENUS

2.2.1 REPETABILITE

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux suivants :

Prélèvements physiologiques		Prélèvements pathologiques	
N°	$\overline{M \pm s}$ (CV)	N°	$\overline{M \pm s}$ (CV)
23 (30min)	14.4±0.55 (3.8%)	63 (30min)	20.6±1.67 (8.1%)
23 (1h30)	14.4±0.55 (3.8%)	63 (1h30)	22±1.41 (6.4%)
26 (30 min)	14.2±0.45 (3.1%)	59 (10min)	25.6±1.52 (6%)
26 (1h30)	13.2±1.10 (8.3%)		

Tableau 4: Répétabilité pour le temps de Quick au SCA 2000

Prélèvements physiologiques		Prélèvements pathologiques	
N°	$\overline{M+s}$ (CV)	N°	$\overline{M+s}$ (CV)
23 (30min)	65.4±2.07 (3.2%)	63 (30min)	89.8±5.54 (6.2%)
23 (1h30)	74.6±2.30 (3.1%)	63 (1h30)	100±4.74 (4.7%)
26 (30 min)	74.2±3.00 (4.1%)	59 (30 min)	101±3.67 (4%)
26 (1h30)	72.4±1.34 (1.9%)		

Tableau 5: Répétabilité pour le temps de Céphaline-Activateur au SCA 2000

On constate que, pour le temps de Quick comme pour le temps de Céphaline-Activateur, les résultats obtenus sont assez homogènes et caractérisés par des coefficients de variation peu élevés. La répétabilité des tests pratiqués à l'aide du SCA2000 semble donc satisfaisante.

Il faut souligner que si l'on a pas testé la répétabilité pour les tests pratiqués par la méthode chronométrique c'est que l'on considère que cette méthode est connue pour être fiable et dotée d'une bonne répétabilité dans la mesure où la personne réalisant les tests est toujours la même, ce qui est le cas ici.

2.2.2 REPRODUCTIBILITE

Les résultats obtenus pour la reproductibilité sont présentés dans le tableau suivant:

N°	CV pour TQ	CV pour TCA
23	0	9.3
26	5.2	1.7
63	4.6	7.6

Tableau 6: Appréciation de la reproductibilité par calcul des coefficients de variation (CV)

On constate qu' en ce qui concerne le temps de Quick, les résultats sont plutôt bons dans la mesure où les coefficients de variation sont relativement peu élevés et proche de ceux calculés pour la répétabilité. Ils semblent par ailleurs être assez homogènes entre eux.

En revanche, les résultats semblent un peu moins bons pour le temps de Céphaline-Activateur car les coefficients de variations sont relativement élevés et peu homogènes entre eux.

Néanmoins ces résultats, même s'ils ne sont pas excellents, sont acceptables.

2.2.3 COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS PAR LES DEUX METHODES

2.2.3.1 VALEURS OBTENUES CHEZ LES CHIENS SAINS

Les résultats obtenus pour les chiens « sains » sont concluants dans la mesure où les valeurs sont normales pour tous les chiens par les 2 méthodes pour le TQ comme pour le TCA.

On note cependant que les valeurs obtenues avec le SCA 2000 délimitent des intervalles un peu différents de ceux donnés par le constructeur (Cf. Annexe 1).

	Méthode chronométrique	Méthode SCA2000
Valeurs du TQ	5 à 6.7 sec ($m=6\pm 0.44$)	12 à 15 sec ($m=13.8\pm 0.99$)
Valeurs du TCA	11 à 14 sec ($m=12.7\pm 0.87$)	51 à 92 sec ($m=74.1\pm 10.53$)

Tableau 7: Valeurs pour les différents tests et par les deux types de méthodes pour les 31 chiens sains

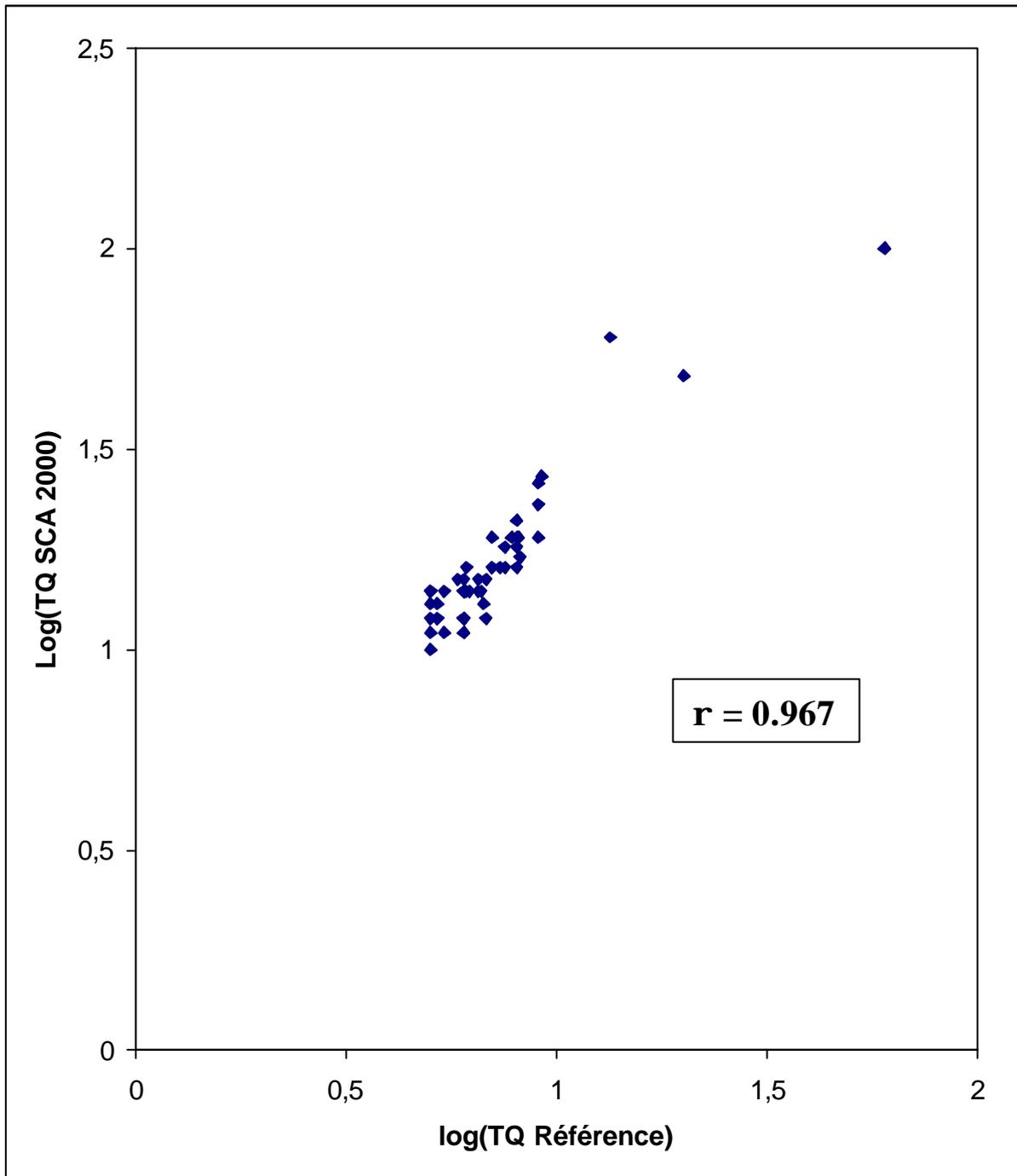
2.2.3.2 RESULTATS POUR LE TEMPS DE QUICK

Les résultats obtenus pour le temps de Quick chez les chiens malades sont exposés en Annexe 2.

	Nombre de chiens
TQ référence et TQ SCA2000 normaux	44
TQ référence et TQ SCA2000 augmentés	23
TQ référence normal et TQ SCA augmenté	1

Tableau 8 : Répartition des résultats obtenus pour le temps de Quick pour les 68 chiens malades

Les deux méthodes d'obtention du temps de Quick sont caractérisées par un très fort coefficient de corrélation : $r = 0.967$



Graphique 1: Corrélation entre les mesures de temps de Quick effectuées par la méthode chronométrique et avec le SCA2000 pour l'échantillon des chiens malades (on a utilisé les Log pour éparpiller la distribution).

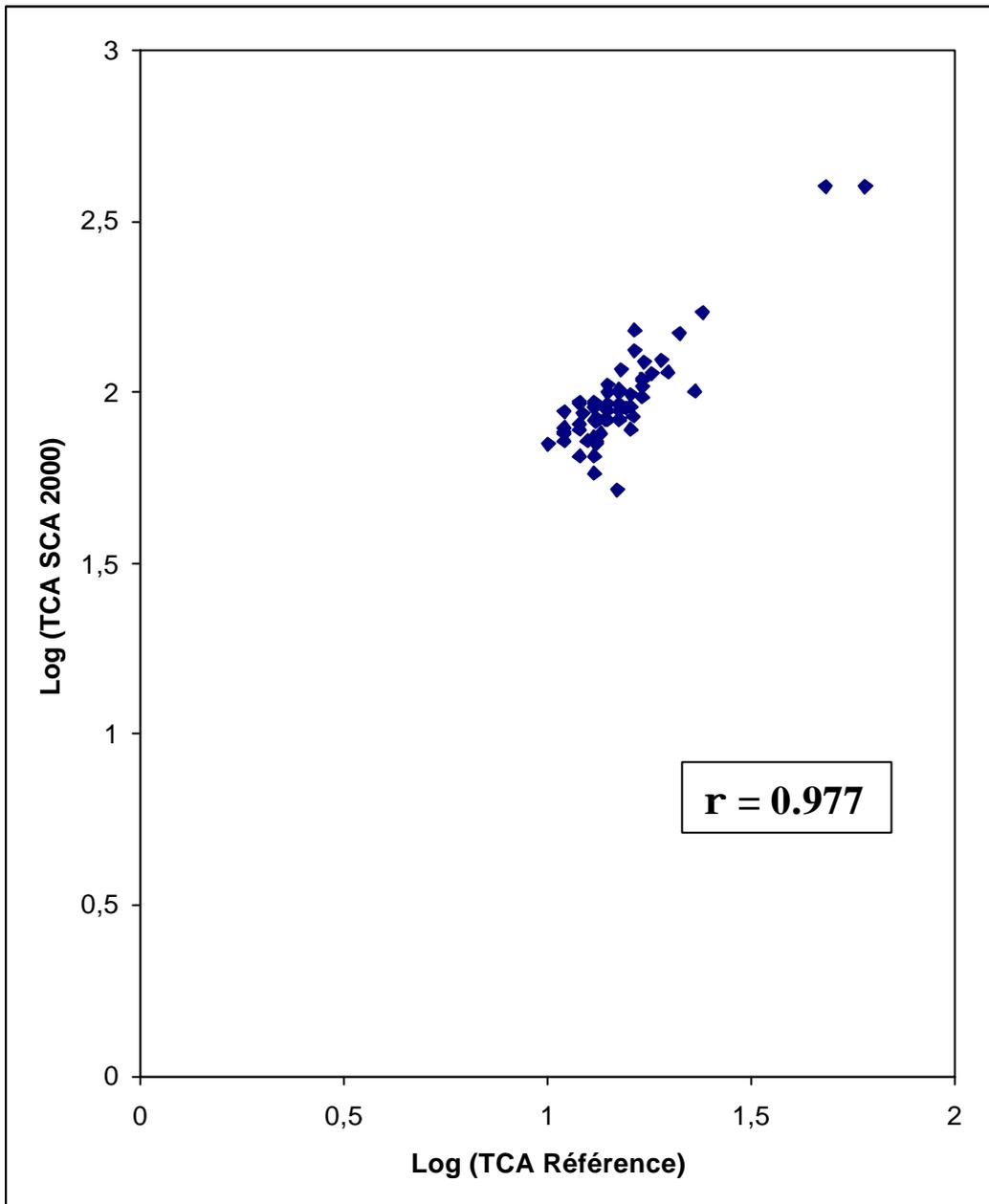
2.2.3.3 RESULTATS POUR LE TEMPS DE CEPHALINE-ACTIVATEUR

Les résultats obtenus pour le temps de Céphaline-Activateur sont exposés en Annexe 2.

	Nombre de chiens
TCA normal par les 2 méthodes	29
TCA allongé par les 2 méthodes	24
TCA référence normal et TCA SCA 2000 allongé	6
TCA référence allongé et TCA SCA 2000 normal	9

Tableau 9 : Répartition des résultats obtenus pour le TCA pour les 68 chiens malades

La comparaison des deux méthodes par la méthode du coefficient de corrélation donne ici encore d'excellents résultats puisque on a un coefficient là aussi très fort : $r = 0.977$.



Graphique 2: Corrélation entre les mesure de temps de Céphaline-Activateur réalisées par la méthode chronométrique et avec le SCA 2000 pour l'échantillon des chiens malades (on a utilisé les Log pour éparpiller la distribution).

CHAPITRE 3

3. DISCUSSION

Avec le SCA 2000, la possibilité s'offre d'utiliser une méthode rapide, simple et automatisée de mesure du temps de Quick et de Céphaline-Activateur. En permettant la mise en œuvre de 2 des tests les plus usités en première intention lors de suspicion de troubles de l'hémostase, cet appareil répondrait donc à une vraie attente du praticien vétérinaire. On a donc cherché à démontrer que les résultats fournis par cet appareil s'avèrent aussi fiables que ceux fournis par la méthode chronométrique classique.

La répartition des troubles observés sur l'échantillon des 68 chiens malades a été la suivante :

- ❖ Pas de modification : 31 cas.
- ❖ C.I.V.D. : 20 cas.
- ❖ Insuffisance hépatique : 6 cas.
- ❖ Intoxication aux anti-vitamine K : 6 cas.
- ❖ Autres : 5 cas.

La gamme des temps observés pour le TQ et le TCA s'étend des valeurs usuelles à des résultats extrêmes (« incoagulable » dans 4 cas).

Cette diversité permet donc une étude comparative intéressante.

PRECISION DE LA METHODE

Dans l'étude de la précision de cette technique, menée pour les 2 tests, nous avons observé :

POUR LE TEMPS DE QUICK

Répétabilité :

Les coefficients de variation que l'on a obtenu sont voisins de 6% en moyenne. Un travail antérieur mené au sein du Laboratoire du Service de Médecine de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse sur le temps de Quick ([20]) donne des coefficients de variation pour la méthode chronométrique classique de l'ordre de 1.8%. On a donc une précision un peu

moindre par la méthode au SCA 2000 mais ces coefficients de variation restent tout à fait compatibles avec une interprétation diagnostique.

Reproductibilité :

Les valeurs de coefficients de variation obtenues sont proches de 5% ce qui sans doute moins bon que pour la méthode manuelle mais reste acceptable.

POUR LE TEMPS DE CEPHALINE-ACTIVATEUR

Répétabilité :

Les coefficients de variation sont peu élevés puisque proches de 4% en moyenne. On ne dispose pas de données bibliographiques sur les valeurs concernant la méthode chronométrique mais là aussi on peut supposer que ces valeurs sont compatibles avec une interprétation clinique.

Reproductibilité :

Les valeurs de coefficients de variation, proches de 6% en moyenne, sont compatibles avec une utilisation diagnostique de la méthode.

COMMENTAIRE

Dans l'ensemble, l'utilisation du SCA 2000 est une méthode un peu moins précise que la méthode chronométrique classique « au crochet ». Néanmoins, les coefficients de variation observés restent tout à fait raisonnables et l'on peut donc considérer que les résultats obtenus seront cliniquement pertinents.

COMPARAISON DES RESULTATS

Les 2 méthodes donnent des résultats différents en valeur absolue, ce qui nécessite de modifier l'intervalle des valeurs usuelles selon la technique que l'on emploie.

Ainsi pour le TQ on obtient avec le SCA 2000 pour l'échantillon des chiens sains des valeurs de 12 à 15 s, les valeurs fournies par le constructeur étant de 12 à 17 s. Or les valeurs comprises entre 15 et 17 s correspondent, au laboratoire d'hématologie de l'ENVT, à des valeurs de 7 à 8.3 s qui sont considérées comme modérément à moyennement allongées et donc anormales.

Pour le TCA, les valeurs observées sur l'échantillon des chiens sains s'étendent de 51 à 92 s. Les valeurs figurant dans la notice du constructeur vont de 71 à 102 s.

Les résultats obtenus par les 2 techniques sont fortement corrélés pour le temps de Quick comme pour le temps de Céphaline-Activateur. On considère donc que les résultats obtenus avec le SCA 2000 ont la même signification clinique et diagnostique que ceux obtenus manuellement par la méthode « au crochet ».

On notera cependant que dans quelques cas de chiens «malades » et pour des valeurs situées aux limites de l'intervalle des valeurs usuelles, on a obtenu des discordances entre les 2 méthodes. Ces anomalies concernent essentiellement la mesure du temps de Céphaline-Activateur : en effet, sur les 68 chiens « malades » testés, on a observé une divergence chez 15 animaux.

Pour 6 d'entre eux (chiens n° 7, 19, 20, 33, 58 et 67) on note un TCA référence normal et un TCA SCA 2000 augmenté. Parmi eux, les chiens n° 20, 33, 58 et 67 ont un TCA SCA 2000 très faiblement augmenté (93 à 94 s). Le chien n° 7, souffrant d'une intoxication aux anti-vitamine K traitée 48 heures auparavant avec de la vitamine K à probablement vu sont TCA référence sous estimé. En effet son TQ est encore assez élevé et on pourrait s'attendre à ce qu'il en soit de même pour son TCA.

On note aussi pour 9 chiens (n°17, 24, 28, 31, 41, 46, 50, 55 et 63) un TCA SCA 2000 normal et un TCA référence augmenté. Cette divergence est faible pour 6 d'entre eux : TCA référence allant de 14.8 à 15.5 s c'est à dire très modérément allongé. Pour les 3 autres, l'allongement est plus marqué (de 15.6 à 16.2 s). Ces chiens présentaient :

- Une leucémie aiguë myéloïde (chien n° 31)
- Une C.I.V.D. (chiens n° 50 et 63)

Dans la mesure où ces échantillons n'ont pas été traités différemment des autres, on peut se demander si ces anomalies ne sont pas liées au prélèvement lui-même. On sait par exemple que des variations de paramètres hématologiques de l'échantillon tels que le taux d'hémolyse, la lipémie ou la bilirubinémie sont susceptibles d'influer légèrement sur les valeurs de TQ et de TCA mesurée à l'aide d'un coagulomètre à bille d'acier et de réactifs du commerce ([15]). On pourrait donc imaginer que la technique employée par le SCA 2000 soit plus sensible à ces variations.

D'autres auteurs évoque des perturbations de ces tests liées à une anémie marquée ou un hyperviscosité sanguine ([19]).

Un rôle possible des PDF est aussi à envisager pour expliquer ces perturbations des tests.

Dans le doute, il paraît donc souhaitable de renouveler le prélèvement et le test en cas de TCA SCA 2000 compris entre 92 et 100 s, surtout si le contexte clinique et les autres paramètres biologiques sont évocateurs d'un trouble de la coagulation.

ASPECTS PRATIQUES

La méthode employant le SCA 2000 est incontestablement plus pratique que la méthode chronométrique :

- Elle nécessite peu de matériel : seulement de quoi effectuer le prélèvement sur milieu citraté et une pipette pour placer l'échantillon dans le puits de la cartouche-test.
- Elle nécessite un minimum de manipulations : le prélèvement effectué, il suffit d'allumer l'appareil, d'introduire la cartouche-test et d'y déposer l'échantillon à tester. C'est donc un acte de faible technicité, ne nécessitant pas de formation particulière et pouvant donc être délégué à un auxiliaire vétérinaire par exemple.
- C'est un appareil peu encombrant, portable même puisqu'il fonctionne aussi sur batterie. Il est donc adapté aux petites structures et peut suivre le vétérinaire lors de ses visites.

Le SCA 2000 est donc un appareil adapté à la pratique vétérinaire que se soit dans une simple cabinet (pour le diagnostic et le suivi des intoxications aux rodenticides de type anti-vitamine K par exemple) comme dans une structure beaucoup plus lourde, à vocation spécialisée telle qu'un bloc chirurgical (pour la surveillance des patients à problèmes) ou une structure urgentiste (pour l'évaluation rapide des fonctions hémostatiques d'un patient choqué par exemple).

CONCLUSION

Lorsqu'une exploration de l'hémostase s'avère nécessaire, les temps de Quick et de Céphaline-Activateur sont parmi les premiers paramètres demandés. Le praticien vétérinaire s'adresse classiquement à des laboratoires d'analyse car les méthodes manuelles classiques de détermination de ces temps sont peu pratiques à réaliser et les méthodes automatisées font appel à des appareils issus de la médecine humaine (et donc coûteux). Le SCA 2000 est donc une alternative intéressante puisqu'il propose une méthode automatisée adaptée à la pratique de la médecine vétérinaire avec un coût plus accessible.

Nous avons donc testé un échantillon de 31 chiens «sains » et de 68 chiens « malades » avec la méthode chronométrique « au crochet » employée classiquement au Laboratoire de Médecine de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et avec la méthode automatisée proposée par le SCA 2000.

Les résultats obtenus sont assez concluants, montrant une bonne corrélation entre les deux méthodes même si on a pu pour quelques cas dans la mesure du TCA constater des divergences.

Le SCA 2000, avec des intervalles de valeurs usuelles adaptés a cette méthode, est donc un moyen tout à fait valable d'exploration de l'hémostase chez le chien. Il est de plus très intéressant car, en se référant à des valeurs chronométriques de normalité, il permet d'envisager de ne plus comparer l'échantillon à un témoin.

ANNEXES

1. Tableau détaillé des résultats obtenus pour les temps de Quick et de Céphaline-Activateur par les deux méthodes avec l'échantillon des chiens « sains ».
2. Tableau détaillé des résultats obtenus pour les temps de Quick et de Céphaline-Activateur par les deux méthodes avec l'échantillon des chiens « malades ».
3. Schéma d'utilisation du SCA 2000 ([22]).

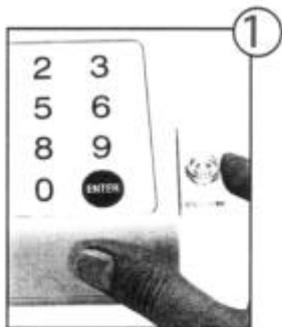
CN	TQ chronométrique	TQ SCA2000	TCA chronométrique	TCA SCA2000
1	6,5	15	13,4	57
2	6,3	14	13,7	78
3	6,2	15	13,5	72
4	6,4	15	13,6	79
5	6,1	14	13,1	78
6	6,1	15	12,2	86
7	6,3	13	12,1	74
8	6,5	13	12,9	78
9	5,9	13	13,2	87
10	6,4	13	12	71
11	6,3	14	11,9	66
12	6,7	15	11,5	61
13	5,2	13	11,2	66
14	5,3	13	12	59
15	5,8	13	12,5	60
16	5,2	13	12,8	51
17	5,9	12	13,3	60
18	5	13	13	86
19	5,9	12	11	74
20	6	13	14	75
21	6,1	12	14	76
22	6	15	12	87
23	6,2	14	13,2	66
24	5,8	14	13,5	81
25	6,1	15	13,4	80
26	6,4	14	13,2	79
27	6	14	11,2	66
28	5,8	15	12,2	87
29	6,4	14	12	92
30	5,1	14	14	82
31	6	15	12,8	83

Annexe 1 : Temps obtenus pour l'échantillon des chiens sains (en secondes)

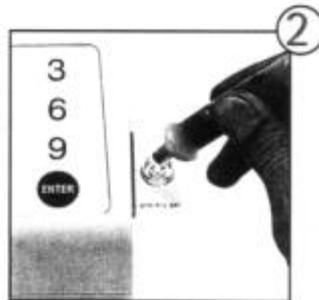
CN	TQ chronométrique	TQ SCA2000	TCA chronométrique	TCA SCA2000
1	6	14	12,2	87
2	5	12	10	71
3	5	14	12	93
4	5	14	13	90
5	6	12	11	77
6	5	14	11	72
7	9	26	14	105
8	5,2	12	13,3	84
9	5	11	11	76
10	7,5	18	15,1	117
11	7	16	15	100
12	9	23	13,8	90
13	6,6	14	14	89
14	60	100	60	400
15	5	12	13	74
16	6	14	13,5	76
17	6	11	14,8	52
18	5,4	14	13	83
19	5,4	11	14	100
20	5	14	13	94
21	7	19	12	65
22	5	10	13,2	72
23	6	14	15	102
24	6	12	15	83
25	5,2	13	13	91
26	60	100	60	400
27	6	12	12,5	72
28	6,5	15	15	89
29	8	21	16,3	133
30	13,4	60	48	400
31	6	12	16	78
32	5	14	13	65
33	5	12	12	94
34	6	12	14	83
35	6,8	12	14	93
36	6	12	13	58
37	9	19	13,1	82
38	6,1	14	12	78
39	6,8	15	17	104
40	5,8	15	21	149
41	7,5	16	15	92
42	20	48	17,2	123
43	5,2	12	13,1	71
44	8,2	17	11	79
45	6	14	17	97
46	6,7	13	15	84
47	6	11	16	99

48	6	12	12	81
49	6	12	11	88
50	8	16	16	91
51	6,2	14	13,8	84
52	6	14	15	100
53	6	15	17	110
54	6	14	19	125
55	6,2	14	15,5	90
56	8	18	16,3	152
57	7,3	16	24	172
58	6	14	13	93
59	9,2	27	23	101
60	5	13	13	91
61	60	100	60	400
62	7,8	19	17	109
63	8,1	19	16,2	85
64	7	16	15	93
65	6,1	16	18	114
66	6,5	14	19,8	115
67	6	12	13	93
68	8	19	16,8	110

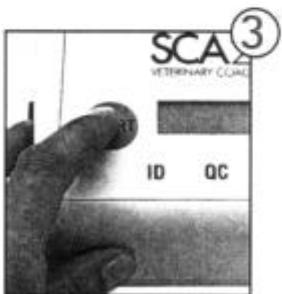
Annexe 2 : Temps obtenus pour l'échantillon des chiens malades (en secondes)



1
Insérer la cartouche.
L'instrument se met
automatiquement
en fonction.



2
Quand l'appareil indique "add sample"
ajouter une goutte de sang
dans la capsule placée au centre
de la cartouche.



3
Appuyer sur start



4
Lire le résultat

Annexe 3 : mode d'emploi du SCA 2000

BIBLIOGRAPHIE

1. **BATEMAN S.W., MATHEWS K.A., ABRAMS-OGG A.C.G., LUMSDEN J.H., JOHNSTONE I.B.** - Evaluation of the effect of storage at -70°C for six months on hemostatic function testing in dogs. *Can.J.Vet.Res.*, 1999; **63**: 216-220.
2. **BROOKS M.** - Coagulopathies and thrombosis. In ETTINGER S.J. & FELMAN E.C. Textbook of Internal Veterinary Medicine. 5ed., *WB Saunders Company*, Philadelphia, 1999;1829-1841.
3. **CLOET-CHABRE B.** - 1^{ère} partie: Physiologie de l'hémostase primaire, la coagulation plasmatique et la fibrinolyse. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 1996 ; **4**: 279-287.
4. **CLOET-CHABRE B.** - 2^{ème} partie: L'hémostase et la fibrinolyse : leur exploration biologique. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 1996 ; **5**: 375-382.
5. **COTARD J.P.** - L'hémostase et son exploration en pratique courante. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*,1983 ;**18** : 31-36.
6. **EVANS G.O., FLYNN R.M.** - Activated partial thromboplastin time measurements in citrated canine plasma. *J.Comp.Path.*, 1992; **106**: 79-82.
7. **FAUD.** - Exploration de l'hémostase. *Le Point Vétérinaire*, 1985 ; **17**(91) :381-386.
8. **FOURNEL C.** - Diagnostic différentiel des troubles de l'hémostase. *Le Point Vétérinaire*, 1985 ; **17**(91) :387-393.
9. **GUELFY J.F., DIQUELOU A.** - Exploration biologique de l'hémostase chez le chien. *Le Point Vétérinaire*,1995 ; **26**(164) :755-759.
10. **GUELFY J.F., DIQUELOU A., TRUMEL C., DOSSIN O.** - Hypocoagulabilités plasmatiques acquises du chien. Encyclopédie Vétérinaire, Paris (Elsevier), 1996, Biologie clinique, 0500, 7p.
11. **GUELFY J.F., VERWAERDE P.** - Conduite à tenir devant un saignement. *Le Point Vétérinaire*,1998 ; **29**:15-19.
12. **GOUEMAND J.** - Allongement du temps de céphaline kaolin ou activé, du temps de Quick, du temps de saignement. *La revue du praticien (Paris)*,1997 ;**47** :879-889.
13. **JOHNSTONE I.B.** - Clinical and laboratory diagnosis of bleeding disorders. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 1988;**18**(1) : 21-33.
14. **KEROACK S., CADORE J.L.** - Diagnostic et traitement de la CIVD. *Le Point Vétérinaire*, 1999 ; **30**(202) :11-18.

15. **MORENO P., GINEL P.J.** - Effects of haemolysis, lipaemia and bilirubinaemia on prothrombin time, activated partial thromboplastin time and thrombin time in plasma samples from healthy dogs. *Research in Veterinary Science*, 1999; **67**: 273-276.
16. **GUILLERMO COUTO C.** - Disorders of hemostasis. In NELSON R.W.& GUILLERMO COUTO C. *Small Animal Internal Medicine*. 2ed, *Mosby*, St Louis, 1998 ; 1192-1206.
17. **MISCHKE R.** - Hämostasediagnostik beim hund:3.Ergebnisinterpretation und differentialdiagnose. *Der praktische Tierarzt*, 2000; **81**(1) : 25-32.
18. **MISCHKE R.** - Optimization of prothrombin time measurements in canine plasma. *American Journal of Veterinary Research*, 1997; **58** (3) : 236-241.
19. **MONCE K.A., LOUGHMAN C.M.** - Evaluation of a commercially available prothrombin time assay kit for use in dogs and cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1995 ; **207** (5) : 581-584.
20. **PAYRIERE M.M.** - Le temps de Quick chez le chien : comparaison d'une technique chronométrique manuelle et d'une technique chromogénique manuelle ou semi-automatisée (Thèse). Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 1990 ;n°87.
21. **PECHEREAU D.** - Affection hépatiques et troubles de l' hémostase. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*,1987 ;**6** : 503-507
22. **SYNBIOTICS EUROPE.** Le SCA2000 : le premier analyseur vétérinaire de coagulation. Document d'accompagnement.
23. **TARADACH M.C.** - Exploration de la coagulation plasmatique et de la fibrinolyse avant et après intervention chirurgicale chez le chien : étude de 50 cas (Thèse). Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, 1992 ;n°30.
24. **TROYG.C.** -An overview of hemostasis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 1988;**18**(1) : 5-19.