

# Dosage du fibrinogène : principes, avantages/limitations des différentes méthodes et applications cliniques

CORATA – 28-29 septembre 2016

Dr Amandine Magnette

CHU UCL Namur



# Plan

- Préanalytique - Recommandations GFHT
- Fibrinogène
  - ✓ Fonctions
  - ✓ Indications du dosage
  - ✓ Intérêt clinique
  - ✓ Méthodes de dosage
  - ✓ Avantages/limitations des méthodes
  - ✓ Interprétation des résultats
  - ✓ Cas cliniques



# Recommandations pré-analytiques du GFHT

## Prélèvement



Paramètres

Recommandé

Garrot

<1min  
Peu serré



- ✓ Hémococoncentration
- ✓ Activation de la fibrinolyse
- ✓ Fibrinogène, facteurs VII, VIII, XII ↑

\*Cattaneo M et al. J Thromb Haemost 2013; 11: 1183-9

\*\*Lippi et al., Blood Coagul Fibrinolysis 2005; 16 : 453-9

\*\*\*Lippi et al., Clin Lab Haematol 2006; 28 : 332-7

\*\*\*Töpfer et al., J Lab Med 2000; 24 : 514-20

# Recommandations pré-analytiques du GFHT

## Prélèvement

Paramètres	Recommandé
Site de ponction	Veineux
Calibre de l'aiguille	19 à 22 gauge

- Ne pas mesurer le fibrinogène à partir de lignes veineuses contaminées par l'héparine
- Traiter l'échantillon dans les plus brefs délais



# Recommandations pré-analytiques du GFHT

## Prélèvement

Paramètres	Recommandé
Place du tube	<p>2<sup>ème</sup> tube après un tube de « purge » (neutre sans additif) ou un tube sec (sans gel et sans activateur de l'hémostase) ou après des hémocultures</p> <p>Lors des prélèvements avec une aiguille épicroânienne, le tube de purge est recommandé</p>

✓ ! Numéroté les tubes lors d'un bilan



# Recommandations pré-analytiques du GFHT

## Prélèvement

### Ordre de prélèvement Recommandations CLSI (NCCLS), Déc. 2007, Doc. H3-A6 et GEHT 2007 ([www.geht.org](http://www.geht.org))

#### AVEC UNE AIGUILLE (ponction franche)



#### AVEC UNE UNITÉ A AILETTES



##### • Avec hémoculture

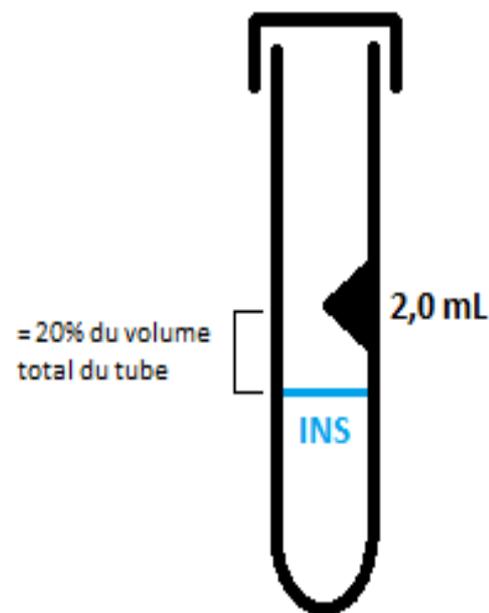
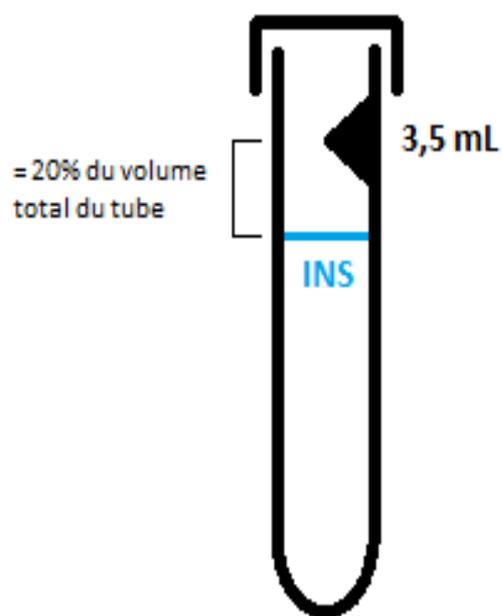


##### • Sans hémoculture



# Recommandations pré-analytiques du GFHT

Paramètres	Recommandé
Remplissage	≥ 90%



# Recommandations pré-analytiques du GFHT

Paramètres	Recommandé
Homogénéisation du tube après le prélèvement	Dès la fin du remplissage du tube, par retournements lents et complets



# Recommandations pré-analytiques du GFHT

## Tube



Paramètres	Recommandé
<b>Tube</b>	Tube sous « vide », stérile Tube citrate : PET étanche Tube CTAD : PET ou verre siliconé Volume d'air résiduel $\leq 20\%$ ! dates de péremption
<b>Anticoagulant</b>	Citrate (109 mmol/L) CTAD : dont citrate (109 mmol/L) Le GFHT recommande une concentration de citrate unique pour un LBM compte tenu des possibles variations des valeurs de référence des tests globaux en particulier (TQ/TCA)
<b>pH plasma anticoagulé</b>	7,3 à 7,45



# Recommandations pré-analytiques du GFHT

Paramètres	Recommandé
Transport sang total	Non réfrigéré 15 à 25°C

- ✓ Transport sur glace ou conservation au frigo avant centrifugation\*
  - Activation plaquettaire + du facteur VII
  - ↓ facteurs VIII et von Willebrand

\*Dempfle C-E, Töpfer G., Pre-examination procedures in laboratory diagnostics, De Gruyter, 2015, 273-281

\*\*Bohm M. et al, Blood Coagul Fibrinolysis, 2006;17:39-45



# Fibrinogène

- Idéalement, analyses réalisées endéans les 8h00 après le prélèvement
- Stable
  - ✓ 7 J à température ambiante\*
  - ✓ 18 mois à -70°C

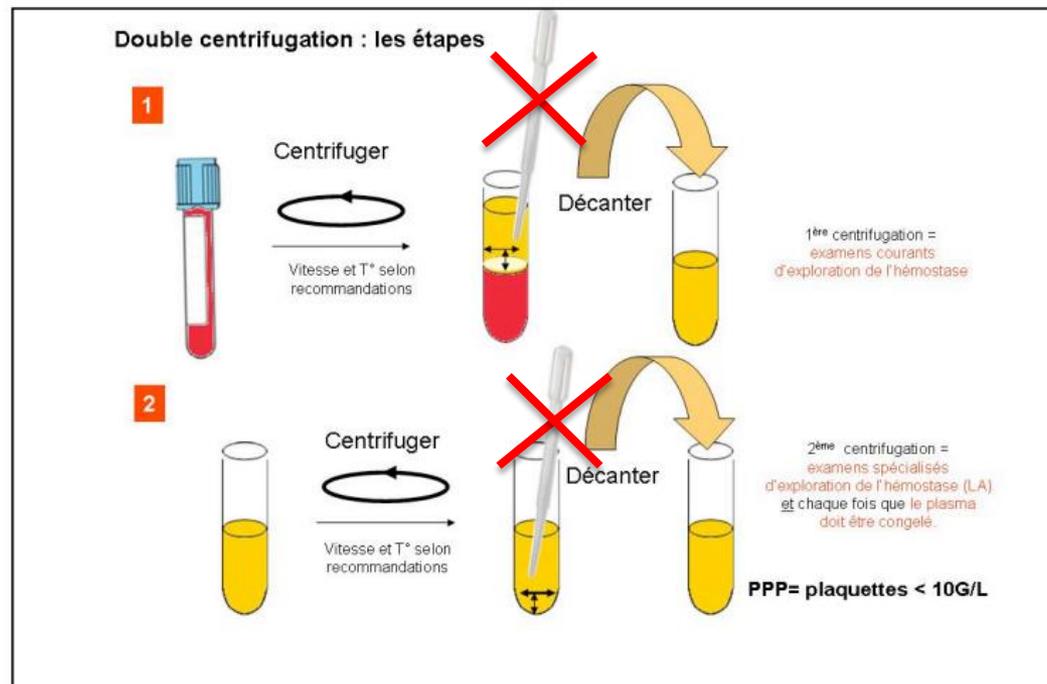
\* Zurcher M, Sulzer I, Barizzi G, Lammle B, Alberio L. Stability of coagulation assays performed in plasma from citrated whole blood transported at ambient temperature. *Thromb Haemost.* 2008; **99**: 416-26



# Recommandations pré-analytiques du GFHT

## Centrifugation

Paramètres	Recommandé
<b>Double centrifugation</b> L'objectif est d'obtenir un taux de plaquettes résiduelles dans le plasma < 10000/ $\mu$ L	Deux centrifugations standards successives (avec décantation entre les 2 centrifugations)



# Recommandations pré-analytiques du GFHT

## Centrifugation

Paramètres	Recommandé
Conditions standards	1500 à 2000g <b>ET</b> au moins 15 min ou 2000 à 2500g <b>ET</b> au moins 10 min
Centrifugation rapide (Limitée aux TQ, TCA, fibrinogène et D-dimères)*	3000g <b>ET</b> au moins 5 min ou 4440g <b>ET</b> au moins 2 min
Température	Centrifugeuse à température contrôlée 15 à 25°C

\*Suchsland J., Friedrich N., Grotevendt A., Kallner A., Lüdemann J., Nauck M., Petersmann A., Optimizing centrifugation of coagulation samples in laboratory automation. Clin Chem Lab Med 2014 Aug;52(8):1187-91

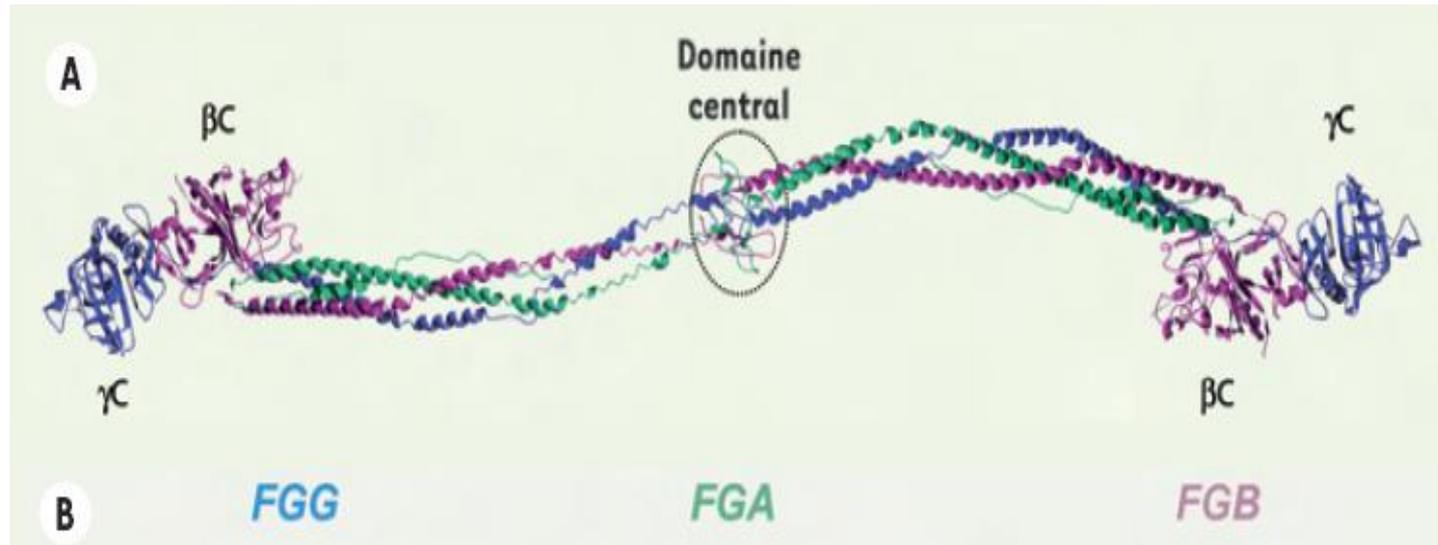
# Recommandations pré-analytiques du GFHT

## Centrifugation

Paramètres	Recommandé
Rotor	Rotor à godets mobiles
Frein	Frein désactivé
Contrôles des centrifugeuses	1x/an Critères de contrôle des plasmas: plaquettes < 10000/ $\mu$ L sur au moins 6 échantillons consécutifs analysés

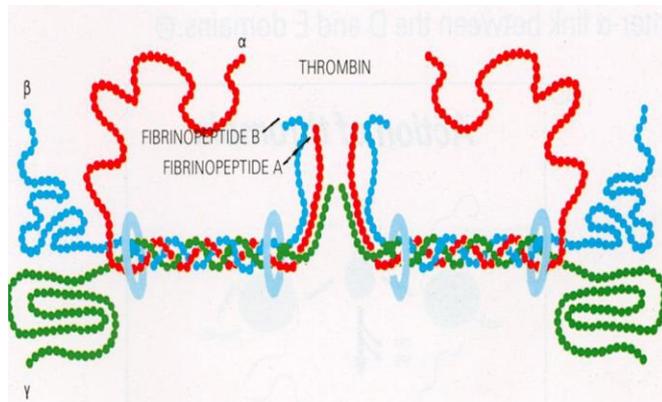
# Introduction

- **Facteur I**
- Glycoprotéine, hexamère de 3 chaînes ( $A\alpha$ ,  $B\beta$ ,  $\gamma$ ), codées par 3 gènes sur le **chromosome 4**
- 340 kDa
- Synthèse hépatique, mégacaryocyte
- $\frac{1}{2}$  vie plasmatique : 3 à 5 jours
- Valeurs normales : **1,8 à 4,1 g/L**



# Introduction

## FORMATION DE LA FIBRINE



### 1. Protéolyse

- Séparation par la **Thrombine** libérant FPA en FPB
- Monomère de Fibrine

### 2. Dimérisation

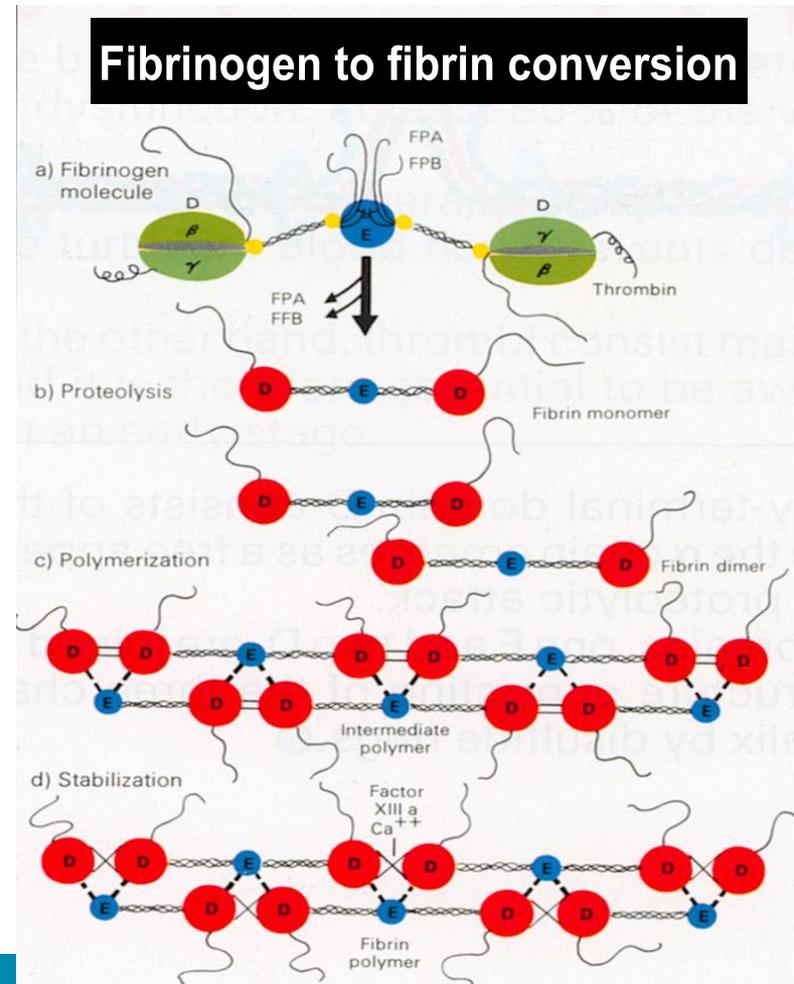
- Dimère de Fibrine

### 3. Polymérisation

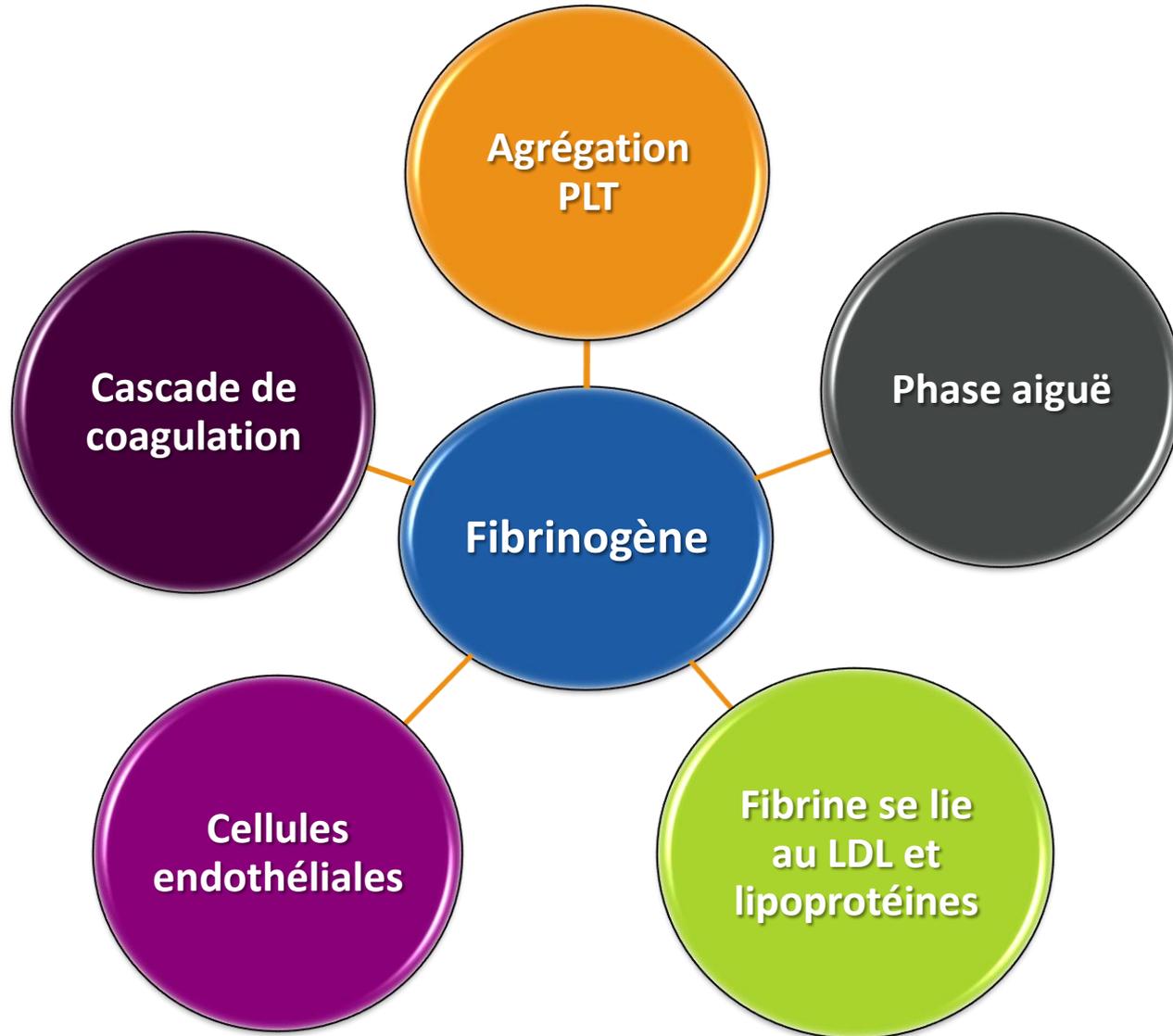
Polymère intermédiaire non covalent

### 4. Stabilisation

- **Thrombine** active factor XIII (FXIIIa)
- Cross-linking
- Polymère de Fibrine



# Fonctions



S.Kamath and G.Y.H Lip, QJ Med 2003; 711-729

# Indications du dosage

- Diagnostic d'un syndrome hémorragique
- Bilan étiologique d'une thrombose veineuse à la recherche d'une hypo ou d'une dysfibrinogénémie
- Bilan systématique ou pré-opératoire
- Bilan inflammatoire
- Bilan des facteurs de risque cardiovasculaire
- Oncologie



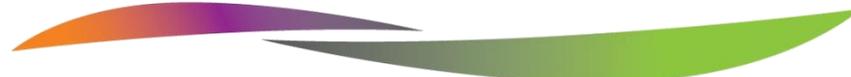
# Intérêt clinique du fibrinogène

Variations physiologiques	Variations pathologiques
↑ grossesse	<b>Hyperfibrinogénémie</b> Syndrome inflammatoire, cancers Syndromes néphrotiques Sujet HIV Sujet tabagique Diabète, obésité
↓ enfant	<b>Hypofibrinogénémie acquise :</b> Insuffisance hépatocellulaire Syndrome de défibrination : CIVD, fibrinolyse primitive ou thérapeutique Chimiothérapie <b>Déficit constitutionnel :</b> Afibrinogénémie Hypofibrinogénémie Dysfibrinogénémie Rares dysfibrinogénémies acquises (hépatome, cirrhose du foie, ...)



# Méthodes de dosage

- TCA et TQ très peu sensibles au déficit en Fg
- Intérêt: fraction coagulable
- Déficit **quantitatif** / **qualitatif**
  - ✓ **Clauss: méthode chronométrique**
    - Temps de thrombine modifié, mesure du fibrinogène fonctionnel
  - ✓ **Dérivé: méthode optique**
    - Dérivé du temps de Quick, mesure du fibrinogène quantitatif
  - ✓ **Immunologique: Ac polyclonaux**
    - Mesure du fibrinogène quantitatif
  - ✓ **Pondéral: méthode de référence**
    - Mesure du fibrinogène quantitatif



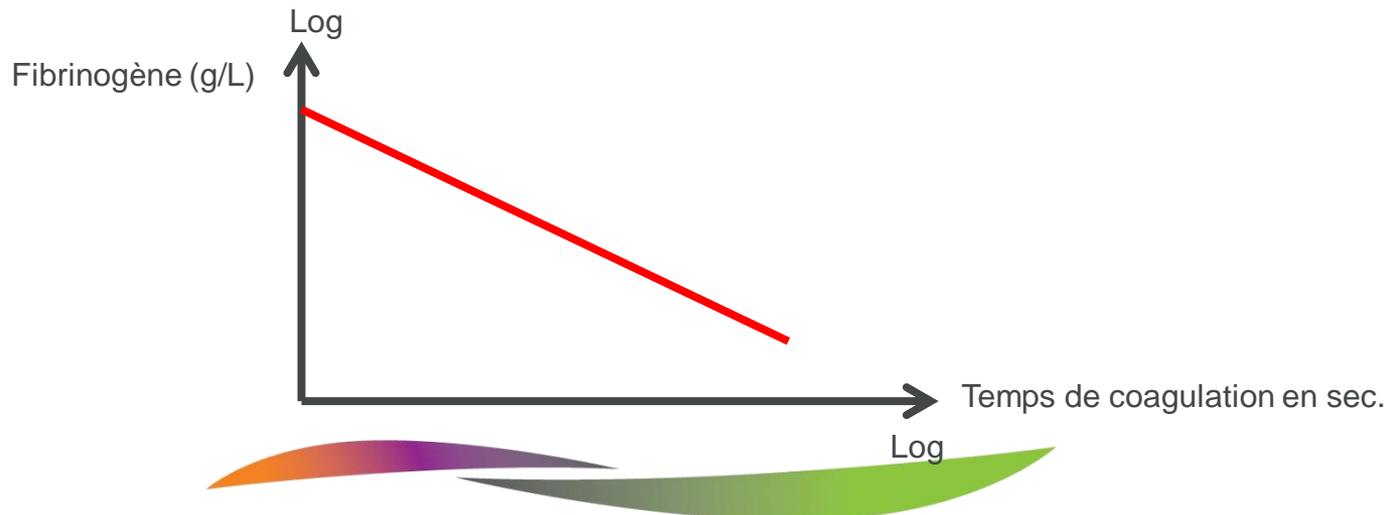
# Fibrinogène Clauss

- = Mesure indirecte du fibrinogène, basée sur le temps de coagulation d'un plasma citraté dilué, après ajout d'un excès de thrombine
- Méthode rapide
- Dépistage d'un déficit quantitatif et qualitatif
- Dilution du plasma du patient (1/20 STA, 1/10 Werfen)
- En cas de forte ↓ ou ↑ du fibrinogène, modifier la dilution du plasma afin de rester dans la zone de linéarité du dosage
- **Calibration:** La courbe de calibration est obtenue par dilution progressive d'un calibrateur ou précalibré par fabricant (STAGO)

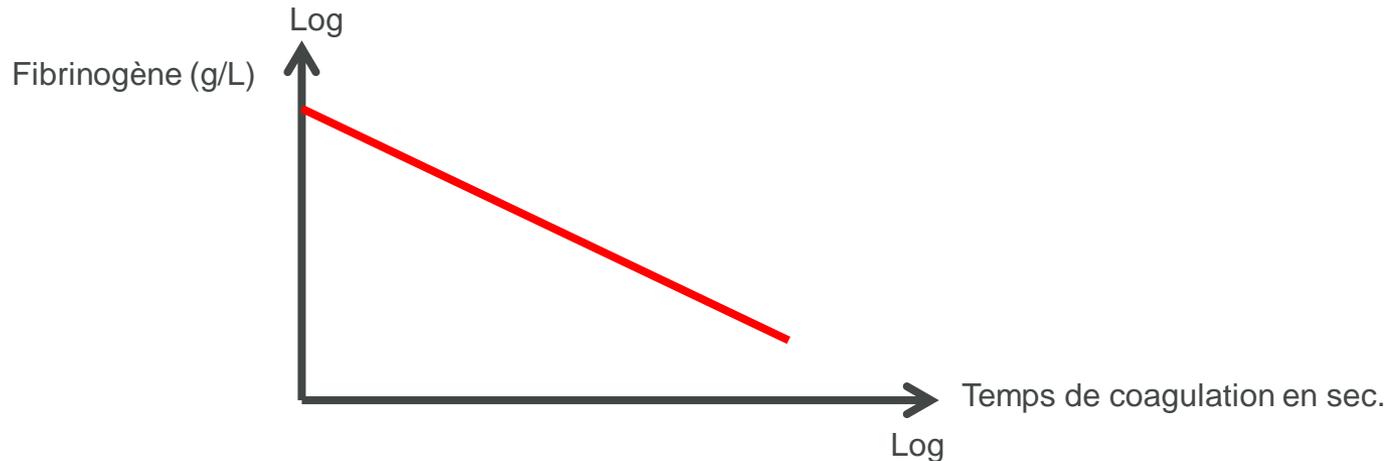


# Fibrinogène Clauss

- Excès de thrombine + concentrations faibles de fibrinogène → temps de coagulation à 37°C d'un plasma citraté pauvre en plaquettes, préalablement dilué dans des proportions adéquates, est inversement proportionnel à la quantité de fibrinogène plasmatique et donc au fibrinogène « fonctionnel »
  - Plus le fibrinogène est élevé, plus le temps de coagulation sera court



# Fibrinogène Clauss



- Imprécision dans les valeurs de fibrinogène élevées (fibrinogènes inflammatoires)
  - Temps de coagulation très court
  - Plasma dilué : caillot fragile
  - Problème de précision sur la dilution

# Pièges et causes d'erreur

- Dans les grandes fibrinopénies, la dilution au 1/10<sup>ème</sup> est pratiquement incoagulable
  - ✓ Il faut alors répéter le test en utilisant le plasma dilué au 1/2, voire le plasma pur
- Inversement, dans les grandes hyperfibrinogénémies, on doit ↑ la dilution du plasma à tester, de façon à rester dans la zone de sensibilité déterminée par la droite d'étalonnage



# Fibrinogène Clauss

- Thrombine à haute concentration : excès d'enzyme par rapport au substrat
- Permet de limiter les interférences pour ne dépendre que du fibrinogène
- Réactif colle sur l'aiguille → rinçages +++
- ! Fixer les pieds de la machine (caillot mou)

ACL-TOP : **QFA thrombin** (100 UNIH/ml, insensible au dabigatran) ; **Fib Clauss** (35 UNIH/ml)  
STA-R : **Fib 5** (80 UNIH/ml) ; **Fib Liquid** (100 UNIH/ml)



# Fibrinogène Clauss

## ➤ Avantages

- ✓ Obtention d'un résultat de fibrinogène coagulable reproductible et automatisé

## ➤ Inconvénients

- ✓ **Variabilité** plus ou moins importante selon la **technique** utilisée (**optique/mécanique – protocole de dilution** du plasma citraté) et les **types de réactifs** utilisés (**thrombine humaine/bovine – concentration en thrombine**)
- ✓ Sensibilité variable aux PDF et PDF et aux anticoagulants
- ✓ La présence d'une substance à activité anti-thrombine dans le plasma peut interférer avec le dosage chromométrique (anticoagulant circulant, PDF ou D-dimères en quantité importante, héparine à forte dose) et peut conduire à un résultat par défaut
  - Il faut dans ce cas répéter le dosage sur des dilutions croissantes de plasma



# Fibrinogène Clauss

## ➤ Inconvénients

- ✓ Au cours des traitements thrombolytiques (streptokinase, urokinase, rt-PA, tenecteplase, ...), le dosage du fibrinogène peut être faussé par l'activité fibrinolytique circulante et l'↑ des PDF et PDF qu'elle entraîne
- ✓ Certains PDF ont une activité anticoagulante et influencent le dosage par la méthode de Clauss, entraînant des résultats par défaut
  - Il est recommandé d'ajouter à la solution de citrate contenue dans le tube de prélèvement, un antifibrinolytique de type aprotinine



# Le fibrinogène fonctionnel Clauss: exemple de variabilité technique/réactif

Réactif	Technique	Volume plasma dilué	Dilution plasma	Volume Ila	Conc Ila	Dilution plasma finale	Conc Ila finale	Ratio Ila (UI)/plasma (µL)
<b>STA Fib-5</b>	Mécanique	100 µl	1/20	50 µl	80U/mL (Hum.)	1/33	27U/L	1/1250
<b>STA Liquid</b>	Mécanique	150 µl	1/20	50 µl	100U/mL (Hum.)	1/27	25U/L	1/1500
<b>IL QFA</b>	Optique	100 µl	1/10	50 µl	100U/mL (Bovine)	1/15	33U/L	1/2000



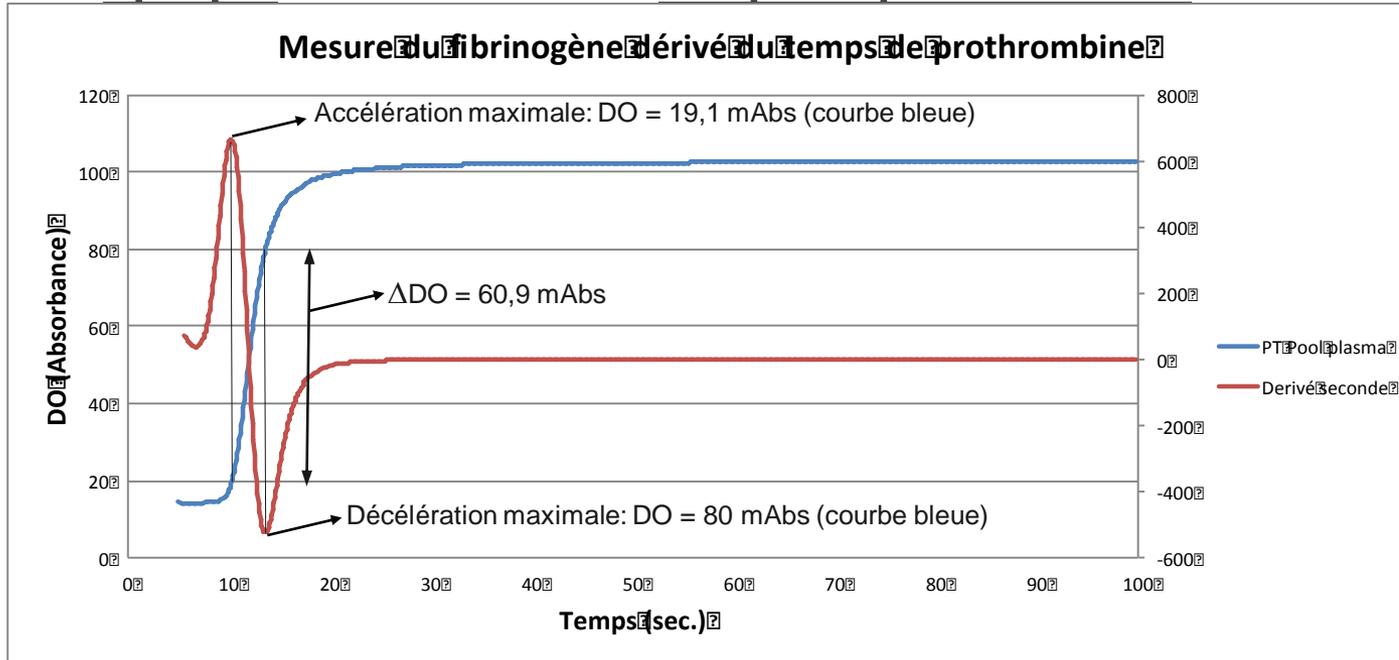
# Le fibrinogène fonctionnel dérivé du PT

- Méthode optique (ACL-TOP)
- Se base sur une observation de la courbe du temps de prothrombine
- La  $\Delta$  de densité optique avant et après coagulation est proportionnelle au taux de fibrinogène



# Le fibrinogène fonctionnel dérivé du PT

- = Mesure indirecte du fibrinogène, basée sur la variation de densité optique mesurée lors du temps de prothrombine



Courbe bleue : variation de densité optique au cours du PT

Courbe rouge : dérivé seconde de la courbe bleue



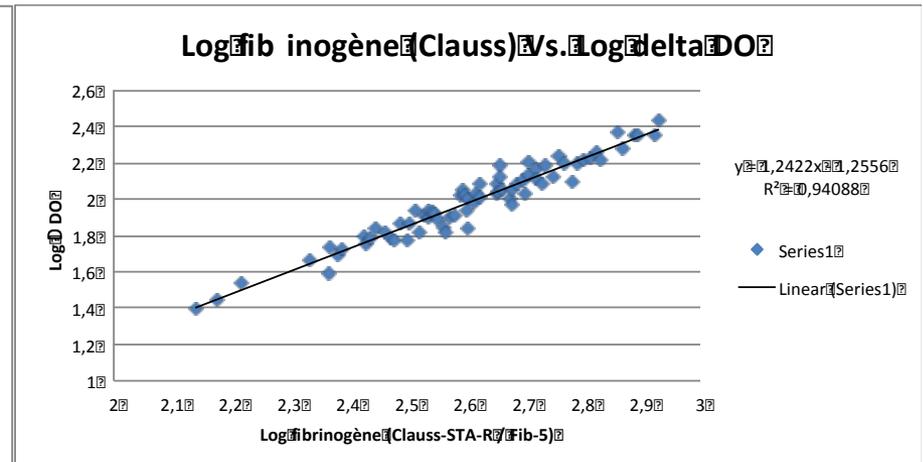
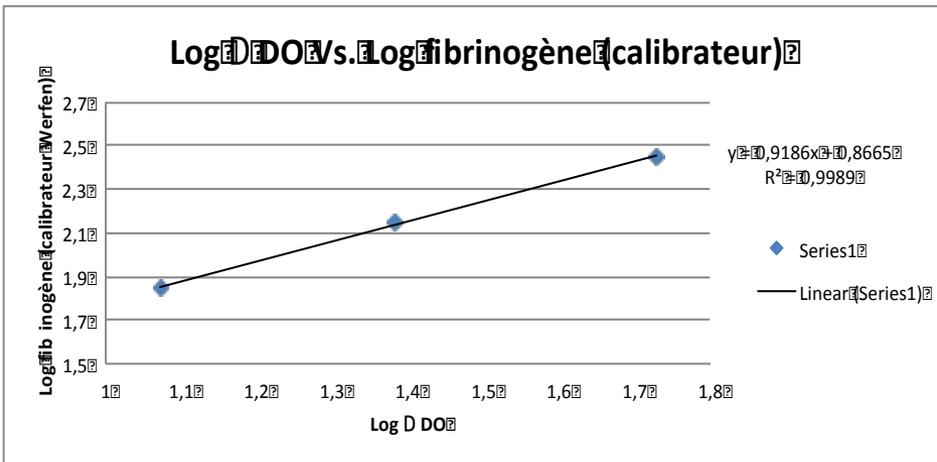
Il existe une relation entre le delta DO au cours du PT et la concentration en fibrinogène.



$\Delta DO$  = Différence d'absorbance entre deux points:  
Point 1 = Absorbance au moment de l'accélération maximale  
Point 2 = Absorbance au moment de la décélération maximale

# Le fibrinogène fonctionnel dérivé du PT

- **Calibration:** la courbe de calibration est obtenue par **dilution progressive d'un calibrateur avec un tampon (mauvais!!)** ou **établie localement en reliant les  $\Delta DO$  du PT à la concentration de fibrinogène** sur une série d'échantillons de la routine ou sur une série de calibrateurs (**mieux!!**)



Delta DO (mAbs)	<del>Fibrinogène dérivé (calibrateur) (mg/dl)</del>	Fibrinogène dérivé (Claus) (mg/dl)
50	<del>268</del>	239
100	<del>506</del>	418
150	<del>735</del>	579
200	<del>958</del>	730
250	<del>1176</del>	873



**Calibration à refaire à chaque changement de lot de thromboplastine**

# Le fibrinogène fonctionnel dérivé du PT

- Variation d'absorbance ou de diffusion de la lumière
  - ✓ Très peu sensible aux dysfibrinogénémies
  - ✓ Très peu sensible aux PDf et PDF
  - ✓ Applicable lorsque le temps de thromboplastine est allongé (Quick bas)
    - Dépend de l'instrument et de la thromboplastine utilisée
  - ✓ Pas d'interférence avec hémolyse
  - ✓ Faible interférence avec échantillons lipémiques



# Le fibrinogène fonctionnel dérivé du PT

## ➤ Avantages

- ✓ Obtention d'un résultat de **fibrinogène fonctionnel à moindre coût, reproductible et automatisé**
- ✓ Le résultat du fibrinogène dérivé est dans la plupart des cas **proche du fibrinogène antigénique (sauf dans de rares cas de dysfibrinogénémies)**
- ✓ Intéressant pour les fibrinogènes inflammatoires

## ➤ Inconvénients

- ✓ Possibilité de **passer à côté de dysfibrinogénémies de découverte fortuite** si utilisé comme seule mesure de fibrinogène en routine (**≈ 55% des dysfibrinogénémies**)

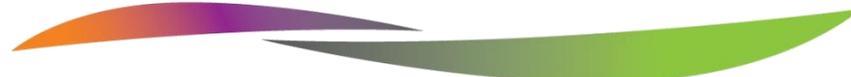


# Pièges et causes d'erreur

- Les nouveaux anticoagulants pourraient modifier les taux de fibrinogène, notamment dosés par une technique dérivée du TP

	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban
Clauss	Pas d'influence ou diminution (Si faible concentration en thrombine : Fibrinogène C (35UNIH/ml))	Pas d'influence	
Dérivé du PT	Influence minime (surestimation)	Surestimation possible si forte concentration (selon sensibilité de la thromboplastine)	

Doux fils J, Mullier F, and coll. Thromb Haemost 2012  
Doux fils J, Mullier F, and coll. Thromb Res 2012  
Doux fils J, Chatelain C and coll. Thromb Haemost 2013  
Vanblerk M. and coll. Thromb Haemost 2014



# Remboursement

## ➤ Fibrinogène dérivé

- « Gratuit » : pas d'utilisation de réactif/machine/cuvette supplémentaires par rapport à un PT
- Non facturé

## ➤ Fibrinogène Clauss

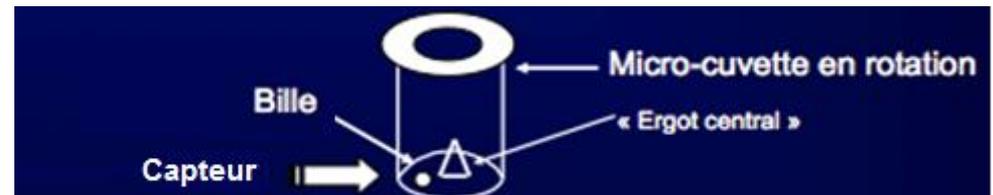
Fibrinogène et PT sur une même demande sont remboursés si :

- MAP diathèse hémorragique
- Insuffisance hépatique
- CIVD
- Hémorragie post-partum
- Sepsis

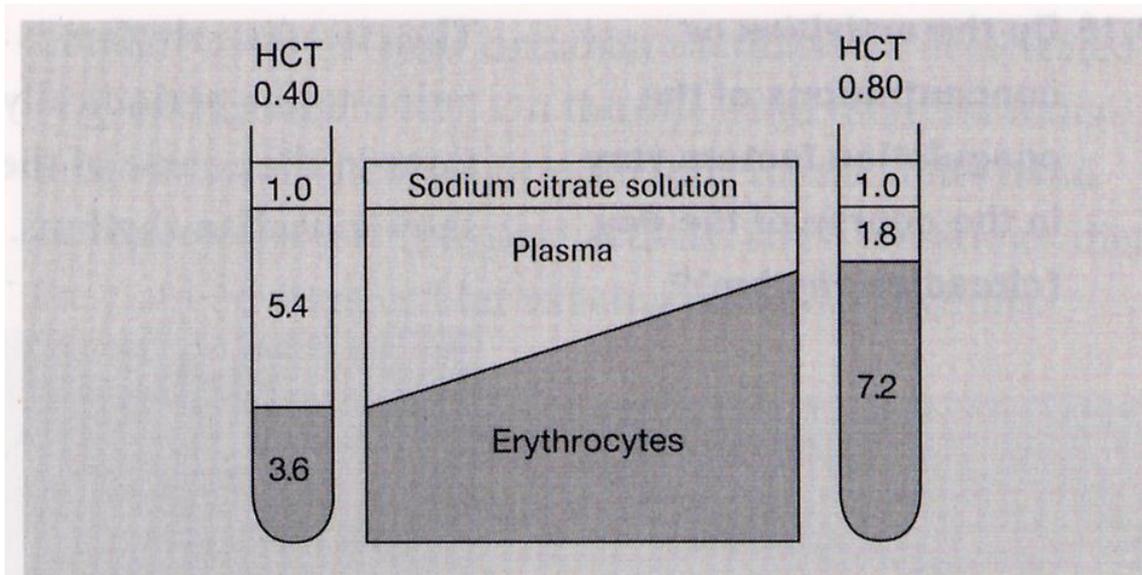
# Dosage rapide du fibrinogène sur sang total (KC10)

## ➤ Mode opératoire :

- ✓ Dilution du sang total (1/10)
- ✓ 150 µL sang total dilué + 150 µL thrombine (80 U/mL)
- ✓ Mesure temps de coagulation sur le KC10



# Influence de l'hématocrite et de la dilution par le citrate

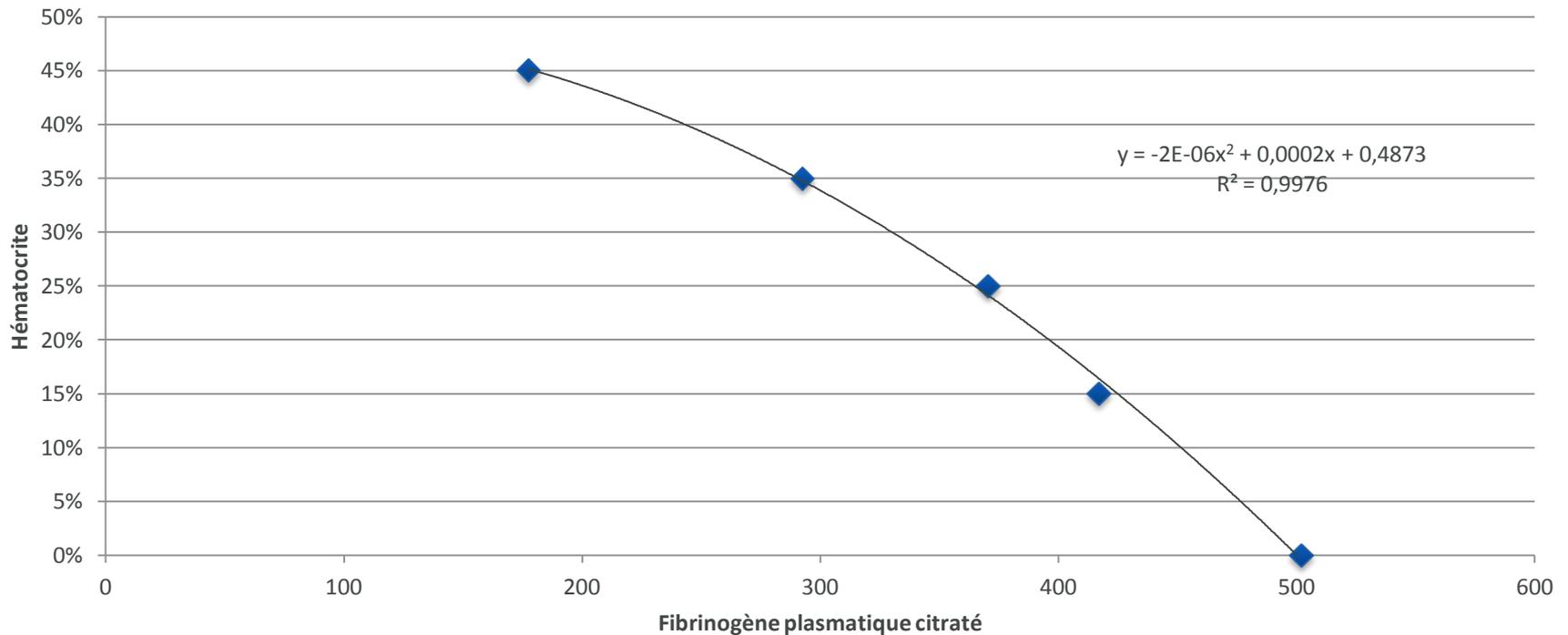


**Fig. 36: Schematic volume distributions in a sample with a normal and an elevated haematocrit (volumes in millilitres)**

- L'hématocrite influence le volume plasmatique
- Le plasma est dilué par le citrate
- La dilution par le citrate augmente quand l'hématocrite augmente  
→ Fibrinogène Clauss : x mg/100 ml de plasma citaté

# Fibrinogène plasmatique dépend de la dilution par le citrate et de l'hématocrite

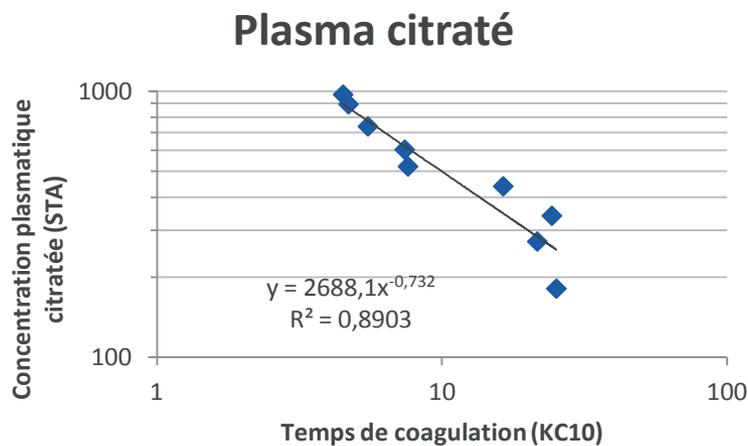
Fibrinogène plasmatique citraté en fonction de l'hématocrite



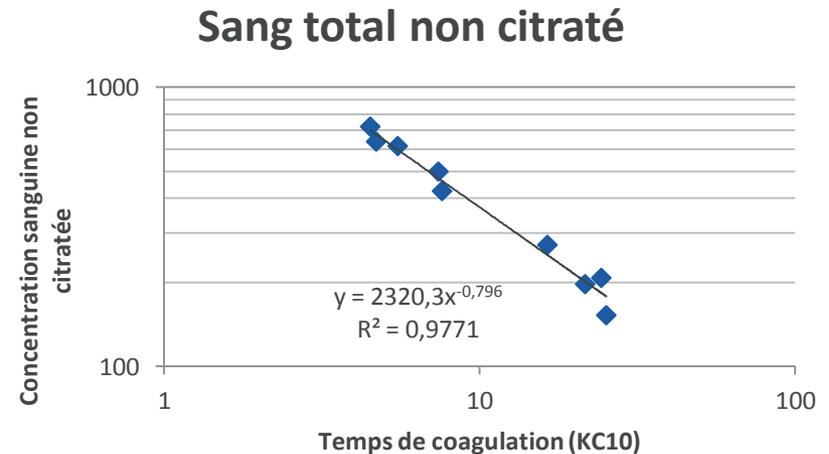
# Important : Taux de fibrinogène dans le sang total

## ➤ Calibration

- ✓ Temps sur le KC10 (sec)
  - ✓ Concentration du fibrinogène Clauss dans plasma citraté (mg/dl)
    - Corrigée par dilution par le citrate
    - Corrigée en fonction de l'hématocrite
- Concentration du fibrinogène dans sang total non citraté



Référence : 180-400 mg/dl



Référence : 118-264 mg/dl

# Fibrinogène sur sang total

- [Fibrinogène plasmatique] \* facteur correctif
- Remplissage tube citraté = 1 vol d'AC + 9 vol sang

$$\frac{[9 \text{ volumes} * (1 - Hct)] + 1 \text{ volume}}{[9 \text{ volumes} * (1 - Hct)]}$$

ou  $[9 \text{ volumes} * (1 - Hct)] = \text{volume de plasma}$

Pour un Hct de +/-45% → facteur correctif = +/- 1,2



# Fibrinogène sur sang total

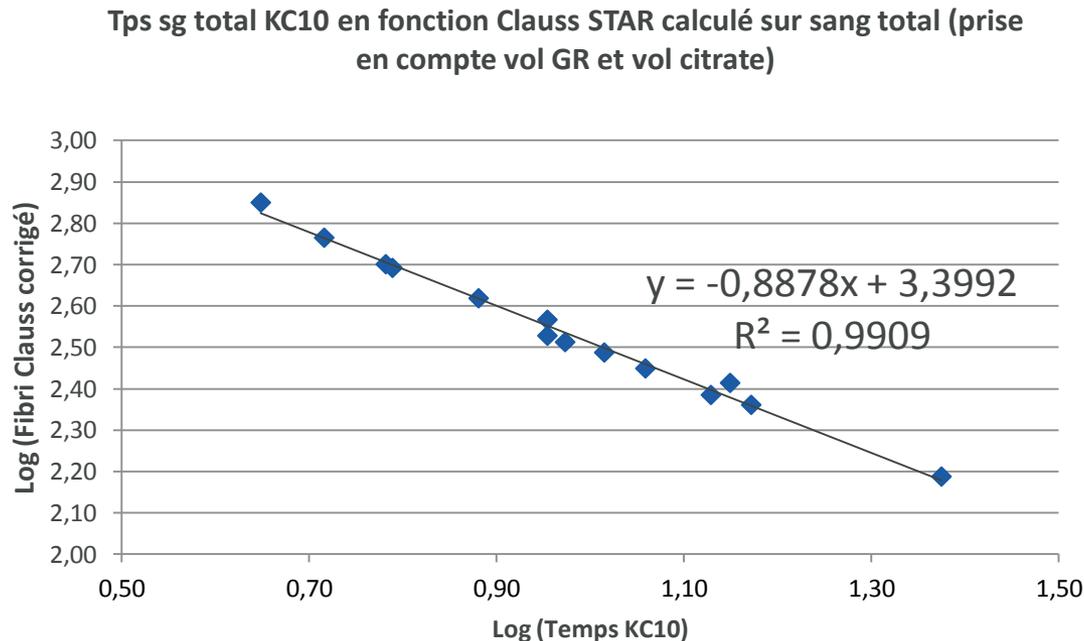
➤ [fibrinogène plasmatique corrigé par la dilution par le citrate]

➤ 
$$[\textit{fibri plasmatique}] * \frac{100 - Hct}{100}$$

➤ Obtention du fibrinogène sur sang total

# Important : Taux de fibrinogène dans le sang total

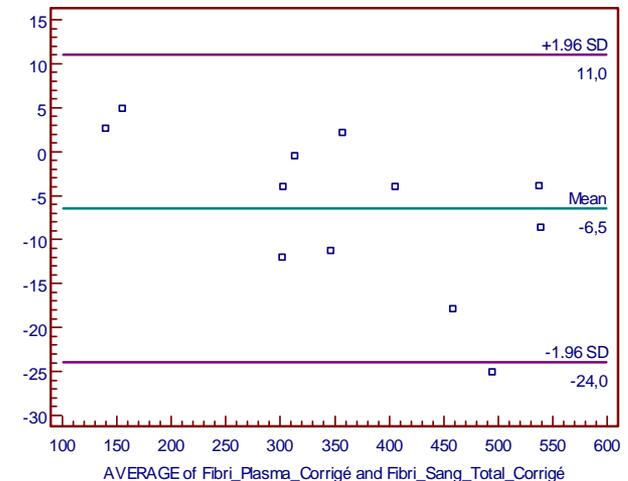
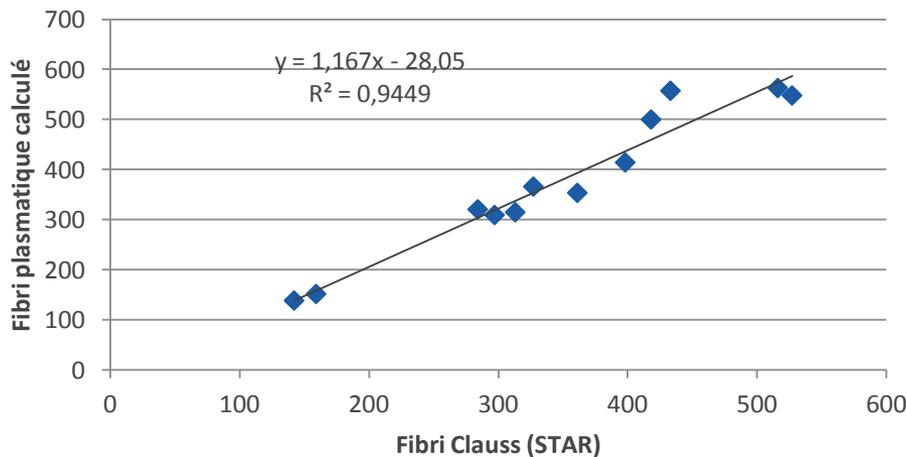
- Calibration du KC10 pour la mesure du fibrinogène sur sang total
- Comment: Réalisation d'un Clauss sur STAR
- Correction du fibri Clauss et confrontation au temps de coagulation obtenu sur KC10 (sang total)



# Obtention d'une valeur de fibrinogène plasmatique calculée à partir du sang total

- Sang total citraté sur KC10  
→ obtention d'un temps de coagulation
- A partir de la courbe de calibration obtenue, utilisation de l'équation pour obtenir une concentration de fibrinogène plasmatique calculée proche de celle obtenue par méthode de Clauss

Fibri Clauss (STA-R) - Fibri plasmatique calculé



# Dosage rapide du fibrinogène sur sang total (KC10)

## ➤ Avantages

- ✓ Méthode + rapide (pas de centrifugation)
- ✓ Proche de la réalité
- ✓ Le dosage du fibrinogène sur sang total sur KC10 montre de très bonnes performances analytiques, tenir compte de l'hématocrite du patient est indispensable
- ✓ La correction des résultats obtenus en fonction de l'hématocrite fournit une estimation fiable du fibrinogène plasmatique
- ✓ Estimation rapide des [ ] de fibrinogène serait bénéfique dans des situations cliniques de saignement traumatique et périopératoire aiguë pour guider le traitement hémostatique



# Dosage rapide du fibrinogène sur sang total (KC10)

- ✓ Des études cliniques supplémentaires sont nécessaires pour prouver ce concept et définir les délais d'exécution dans un contexte clinique de saignement périopératoire ou traumatique pour son application clinique dans les services d'urgence et les salles d'opération



# Fibrinogène pondéral

- Méthode de référence
- PPP
- Dosage pondéral après action d'une solution de thrombine calcique qui transforme le fibrinogène en fibrine
- Puis séparation, lavage, séchage et pesée du caillot
  - ✓ 5 mL plasma citaté + 4,5 mL calcium M/4 + 0,5 mL thrombine (250 U/mL) + 40 mL de solution de dilution : 37°C 15 min. max 2h
  - ✓ Lavage caillot fibrine (NaCl, eau distillée, alcool dénaturé, éther)
  - ✓ Séchage et pesée
- Beaucoup moins sensible aux dysfibrinogénémies



# Fibrinogène immunologique

- Test antigénique
- Néphélométrie ou immunoturbidimétrie
- Mesure quantitative



# Temps de thrombine

- = Mesure du temps de coagulation d'un plasma après apport d'une quantité connue de thrombine
- Mesure l'activité et la quantité de fibrinogène dans le plasma
- Prolongation
  - ✓ Déficit en fibrinogène (quantitatif ou qualitatif)
  - ✓ Patients sous héparine (HNF et HBPM) ou anti IIa
  - ✓ Maladie hépatique (hypo- ou dysfibrinogénémie)
  - ✓ Transfusion massive
  - ✓ CIVD, fibrinolyse primaire ou secondaire
  - ✓ Présence +++ de D-dimères



# Temps de reptilase

- Enzyme (venin de vipère Bothrops Atrox) capable de transformer directement le Fg en fibrine (via un site d'action différent de celui de la thrombine)
- Provoque la formation de fibrine en présence d'héparine
- Utilisé pour démontrer la présence d'héparine (contamination) dans le plasma
- Egalemeent allongé si hypo- ou dysfibrinogénémie



# Interpréter un fibrinogène (Clauss) ↓ ?

Hypofibrinogénémie  
constitutionnelle?

Dysfibrinogénémie  
constitutionnelle ou acquise?

Fibri Clauss ↓

Fibri Clauss ↓

Fibri dérivé ↓

Fibri dérivé normal

Fibri immuno ↓

Fibri immuno normal

Fibri pondéral ↓

Fibri pondéral normal

Temps de thrombine ↑

Temps de thrombine ↑

Temps de reptilase ↑

Temps de reptilase normal ou ↑



# Symptomatologie clinique

Déficit	Symptomatologie clinique
Afibrinogénémie (fibrinogène < 0,2 g/L)	Ecchymoses – hématomes Hémorragies graves dès la naissance (SNC, muqueuses)
Hypofibrinogénémie (fibrinogène entre 0,2 et 0,8 g/L)	Tableau identique mais beaucoup moins intense
Dysfibrinogénémie (taux de fibrinogène normal, mauvais fonctionnement)	Expression clinique variable : 40 à 50 % asymptomatiques 30 à 50 % hémorragies mineures (traumatisme, actes chirurgicaux) 10 à 20% thromboses veineuses et/ou artérielles ≈ 55% des dysfibrinogénémies congénitales sont diagnostiquées de manière fortuite*

\*A. Casini et al. JTH - 2015



# Cas clinique 1

- Bilan diathèse thrombogène chez un patient de 38 ans
- Antécédent : TVP
- Bilan hémostase :
  - ✓ **PT et APTT normaux**
  - ✓ **Temps de thrombine** : 35 sec (réf: 19-26 sec) → **Allongé**
  - ✓ **Fibrinogène Clauss** : → **Abaissé**
    - 145 mg/dl (Fib-5 – STA-R evolution – STAGO)
  - ✓ **Fibrinogène dérivé du PT** : → **Abaissé**
    - 114 mg/dl (Recombiplastin 2G – ACL-top –Werfen)
  - ✓ **Fibrinogène immunologique** : 141 mg/dl → **Abaissé**
  - ✓ **Fibrinogène pondéral coagulable** : 150 mg/dl → **Abaissé**
  - ✓ **Temps de reptilase** : 20,9 sec (réf: <20 sec) → **Allongé**



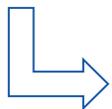
Bilan compatible avec une hypofibrinogénémie  
Mise en évidence d'une mutation hétérozygote du gène de la prothrombine

# Cas clinique 2

- Bilan chez un patient de 54 ans
- ATCD : AVC + plusieurs TVP
- Bilan hémostase :
  - ✓ **PT et APTT normaux**
  - ✓ **Temps de thrombine** : 22,9 sec (réf: 13,5 - 20,5 sec) → **Allongé**
  - ✓ **Fibrinogène Clauss** :
    - 105 mg/dl (Fib-5 – STA-R evolution – STAGO) → **Abaissé**
  - ✓ **Fibrinogène dérivé du PT** :
    - 209 mg/dl (Recombiplastin 2G – ACL-top –Werfen) → **Normal**
  - ✓ **Fibrinogène immunologique** : 211 mg/dl → **Normal**
  - ✓ **Fibrinogène pondéral coagulable** : 192 mg/dl → **Normal**
  - ✓ **Temps de reptilase** : 23,8 sec (réf: <20 sec) → **Allongé**



Bilan compatible avec une dysfibrinogénémie



Analyse génétique : mutation hétérozygote d'un site d'épissage FGA IVS2 +1G>A (c.180+1G>A)

# Cas clinique 3

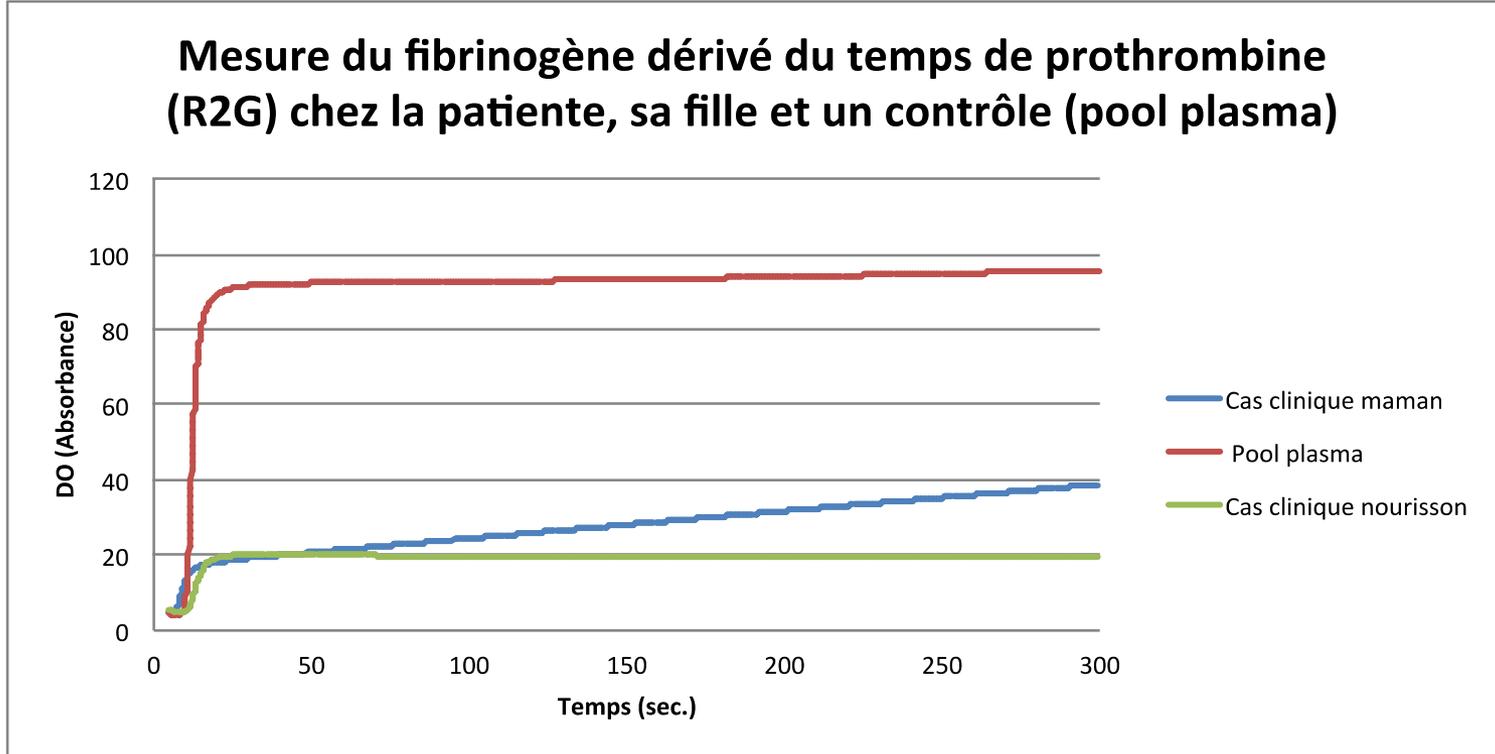
- Bilan pré-accouchement chez une patiente de 23 ans en fin de grossesse
- Antécédent : fausse couche précoce
- Bilan hémostase :
  - ✓ **PT et APTT normaux**
  - ✓ **Temps de thrombine** : 30 sec (réf: 13,5 – 20,5 sec) → **Allongé**
  - ✓ **Fibrinogène Clauss** :
    - 293 mg/dl (liquid fib – STA-R evolution – STAGO)
    - 229 mg/dl (Fib-5 – STA-R evolution – STAGO)
    - 314 mg/dl (QFA – ACL-top –Werfen)
  - ✓ **Fibrinogène dérivé du PT** : → **Abaissé**
    - 84 mg/dl (Recombiplastin 2G – ACL-top –Werfen)
  - ✓ **Fibrinogène immunologique** : 569 mg/dl → **Normal**
  - ✓ **Fibrinogène pondéral coagulable** : 540 mg/dl → **Normal**
  - ✓ **Temps de reptilase** : 42,5 sec (réf: 16 – 22 sec) → **Allongé**

*NB. Référence fibrinogénémie fin de grossesse: 350-650 mg/dl*



Bilan compatible avec une dysfibrinogénémie

# Cas clinique 3



**$\Delta DO$  = Différence d'absorbance entre deux points:  
Point 1 = Absorbance au moment de l'accélération maximale  
Point 2 = Absorbance au moment de la décélération maximale**

Pool plasma:  $\Delta DO = 69,1 \text{ mAbs} = 310 \text{ mg/dl}$

Cas clinique maman:  $\Delta DO = 13,6 \text{ mAbs} = 84 \text{ mg/dl}$

Cas clinique nourisson:  $\Delta DO = 8,7 \text{ mAbs} = 58 \text{ mg/dl}$

# Cas clinique 3

## Analyse génétique chez notre patiente : dysfibrinogénémie congénitale

Mise en évidence d'une nouvelle mutation (c.1552 del G) sur le gène FGA (7.617 pb), situé sur le chromosome 4, qui code pour la chaîne alpha du fibrinogène.

→ Mutation présente à l'état hétérozygote

→ Il s'agit d'une délétion de la guanine en position 1552. Ceci entraîne une modification du cadre de lecture et donc une protéine tronquée.

→ Apparition d'une nouvelle extrémité C-terminale très raccourcie :

**Contrôle:**

Glu Ala Ala Phe Phe Asp Thr Ala Ser Thr Gly Lys Thr Phe Pro Gly Phe Phe Ser Pro Met Leu Gly Glu  
GAA GCT ~~X~~CC TTC TTC GAC ACT GCC TCA ACT GGA AAA ACA TTC CCA GGT TTC TTC TCA CCT ATG TTA GGA GAG

**Patiente:**

Glu Ala **Pro Ser Ser Thr Leu Pro Gln Leu Glu Lys His Ser Gln Val Ser Ser His Leu Cys Stop** .....  
GAA GCT CCT TCT TCG ACA CTG CCT CAA CTG GAA AAA CAT TCC CAG GTT TCT TCT CAC CTA TGT TAG GAG AGT



**Deux autres mutations** (délétions) faisant apparaître une extrémité C-terminale **similaire** ont été **décrites** dans la littérature (**mutation Mannheim V** et **mutation San Giovanni Rotondo**).

Des études approfondies sur ces mutations ont montré que l'apparition de la cystéine libre au niveau C-terminale permettait une liaison avec l'albumine.

# Cas clinique 4

- Bilan chez une patiente de 46 ans
- Motif : AEG, vertiges, céphalées
- Bilan hémostase :
  - ✓ **PT et APTT normaux**
  - ✓ **Temps de thrombine : 27,3 sec (réf: 13,5 - 20,5 sec)** → **Allongé**
  - ✓ **Fibrinogène Clauss :** → **Normal**
    - 206 mg/dl (Fib-5 – STA-R evolution – STAGO)
  - ✓ **Fibrinogène dérivé du PT :** → **Abaisé**
    - 63 mg/dl (Recombiplastin 2G – ACL-top –Werfen)
  - ✓ **Fibrinogène immunologique : 392 mg/dl** → **Normal**
  - ✓ **Fibrinogène pondéral coagulable : 418 mg/dl** → **Normal**
  - ✓ **Temps de reptilase : 42,8 sec (réf: <20 sec)** → **Allongé**



Bilan compatible avec une dysfibrinogénémie

# Cas clinique 4

- Analyse génétique chez notre patiente : dysfibrinogénémie congénitale
  - ✓ Mise en évidence d'une nouvelle mutation (c.1552 del G) sur le gène FGA (7.617 pb), situé sur le chromosome 4, qui code pour la chaîne alpha du fibrinogène
  - ✓ Mutation présente à l'état hétérozygote
  - ✓ Il s'agit d'une délétion de la guanine en position 1552
  - ✓ Ceci entraîne une modification du cadre de lecture et donc une protéine tronquée
  - ✓ Ajout d'une cystéine à l'extrémité C-terminale de la chaîne A alpha
  - ✓ Cette cystéine se lie vraisemblablement à de l'albumine par un pont disulfure



# Conclusions

- Le **fibrinogène fonctionnel dérivé du temps de prothrombine** est un test donnant des résultats **proches du fibrinogène antigénique** et qui présente par conséquent le **désavantage de passer à côté de dysfibrinogénémies de découverte fortuite**
- Le **fibrinogène fonctionnel Clauss** est le **+ fiable** pour éviter de passer à côté de diagnostic de **dysfibrinogénémies fortuites** en routine. Cependant, notre expérience nous montre qu'utiliser le fibrinogène Clauss comme seule mesure du fibrinogène, ne nous met **pas à l'abri de fausses hyperfibrinogénémies**
- Le Fg Clauss et le Fg dérivé sont **complémentaires**
- La mesure du fibrinogène sur sang total est une méthode rapide **qui pourrait être considérée comme une alternative à la mesure de fibrinogène plasmatique en cas de gestion de saignement aigu**



# Remerciements

- Pr Bernard Chatelain
- Pr François Mullier
- Dr Bérangère Devalet
- Justine Baudar
- Maïté Guldenpfennig
- Nicolas Bailly

**MERCI POUR VOTRE ATTENTION**



# BACK UP SLIDES



# Multifibren

- = fibrinogène de Clauss modifié
- ✓ Plasma non dilué
  - ✓ Ajout de thrombine
  - ✓ Ajout d'un inhibiteur de la fibrinoformation



# Tests de base

	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban
PT (dépend du réactif*)	Prolongé +	Prolongé + à +++	Non prolongé ou prolongé +
TCA (dépend du réactif**)	Prolongé + à +++	Prolongé +	
TT	Prolongé +++	Pas d'influence	

\* Rivaroxaban : Néoplastine R = le plus sensible; Innovin, Thromborel S = les moins sensibles

\*\* Dabigatran : Actin FSL = le moins sensible; Autres : un peu plus sensible