

Pierre TOULON<sup>1\*</sup>, Micheline BERRUYER<sup>2</sup>, Marie BRIONNE-FRANCOIS<sup>3</sup>, François GRAND<sup>4</sup>,  
Dominique LASNE<sup>5</sup>, Roberta GIACOMELLO<sup>6</sup>, Neila DE POOTER<sup>7</sup>

## Hémostase pédiatrique : définition des valeurs de référence spécifiques à l'âge pour les paramètres de l'hémostase. Résultats d'une étude multicentrique

### RÉSUMÉ

La connaissance de l'hémostase au cours du développement est essentielle afin d'assurer de façon optimale la prévention, le diagnostic et le traitement des maladies hémorragiques et thrombotiques chez l'enfant. Les résultats des tests de coagulation étant dépendants des réactifs et/ou des analyseurs utilisés, il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses intervalles de référence dépendant de l'âge dans le cadre de son propre environnement technique. Pour répondre à cette question, une étude a été réalisée dans sept centres en utilisant les réactifs et les analyseurs ACL TOP 500/700 d'un même fabricant (Instrumentation Laboratory, Bedford, Etats-Unis). 1437 échantillons provenant de patients pédiatriques (959 garçons et 478 filles) âgés de 2 semaines à 17 ans ont été inclus dans cette étude. L'indication des tests de coagulation était le dépistage préopératoire pour des pathologies non-aiguës dans la plupart des cas. Ils ont été divisés en 6 groupes d'âge : 2-4 semaines (n = 36), 1-5 mois (n = 320), 6-12 mois (n = 176), 1-5 ans (n = 511), 6-10 ans (n = 132) et 11-17 ans (n = 262). Des TCA plus longs ont été observés chez les jeunes enfants, alors que le TP est retrouvé inchangé entre les différents groupes d'âge. Alors que les taux du facteur V restent inchangés et comparables à ceux des adultes, les taux des facteurs II, VII, X, IX, XI, XII et XIII sont significativement diminués chez les plus jeunes enfants et se normalisent généralement avant la fin de la première année de vie. Il en est de même pour les taux d'antithrombine, des protéines C/S et du plasminogène. En revanche, les taux de FVIII et de facteur von Willebrand sont plus élevés chez les nourrissons (<1 mois) que chez l'adulte et se normalisent au-delà de 1 an. Les niveaux de D-dimères sont trouvés élevés pendant l'enfance, en particulier au cours des 6 premiers mois de la vie, et restent légèrement élevés jusqu'à la puberté. Ces données suggèrent que la plupart des résultats des tests de coagulation sont très dépendants de l'âge, principalement au cours de la première année de la vie, et que les valeurs de référence spécifiques à l'âge doivent être utilisées pour garantir une évaluation adéquate de la coagulation chez l'enfant.

### MOTS-CLÉS

Coagulation - Pédiatrie - Valeurs de référence - Développement

### KEYWORDS

Coagulation - Childhood - Pediatrics - Reference ranges - Developmental hemostasis

### I - Introduction

L'enfant n'est pas simplement un "adulte en miniature", du moins en ce qui concerne l'hémostase (1). Non seulement la balance hémostatique pédiatrique est très différente de celle de l'adulte, mais elle constitue un système dynamique évoluant avec l'âge. Ce concept

développé par M. Andrew *et al.*, dans les années 80 (2-4), est maintenant universellement accepté car indispensable à prendre en compte pour assurer le diagnostic, le traitement ou la prévention d'une pathologie hémorragique ou thrombotique chez l'enfant (5-6). Le résultat des tests d'hémostase, en particulier le TP et le TCA, pouvant être influencé par l'automate ou les réactifs utilisés (1),

<sup>1</sup> Université Nice Sophia-Antipolis, CHU Pasteur, Service d'Hématologie Biologique, Nice, France

<sup>2</sup> Laboratoire d'Hématologie, GH Est, Bron, France

<sup>3</sup> Laboratoire d'Hématologie, CHU Côte de Nacre, Caen, France

<sup>4</sup> Laboratoire d'Hématologie, CHU, Angers, France

<sup>5</sup> Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Necker, Paris, France

<sup>6</sup> Centro Servizi Laboratorio, Azienda Ospedaliero Universitaria Santa Maria della Misericordia, Udine, Italie

<sup>7</sup> Laboratoire d'Hématologie, CHR, Mulhouse, France

\* Pour correspondance : Dr Pierre Toulon - CHU Nice, Hôpital Pasteur - Service d'Hématologie Biologique - 30, avenue de la Voie Romaine - CS 51069 - 06001 Nice Cedex 1, France - Tél. : + 33 (0)4 92 03 87 09 - Fax : + 33 (0)4 92 03 85 95 - Email : toulon.p@chu-nice.fr

il est recommandé par le Sous-Comité Scientifique (SSC) de l'*International Society on Thrombosis and Haemostasis* (ISTH) de définir les propres valeurs de références spécifiques à l'âge de chaque laboratoire, dans son environnement technique spécifique (7). Cette stratégie se heurte à un obstacle majeur : l'obtention de plasma en quantité suffisante provenant d'un grand nombre de sujets apparemment sains, couvrant toutes les tranches d'âge, ce qui dépasse les capacités de la plupart des laboratoires. Pour contourner cette difficulté, il est usuel de se référer aux données de la littérature, en prenant en compte l'environnement technique utilisé par les auteurs (8-13).

Dans ce contexte, le but de l'étude multicentrique ici présentée, regroupant sept centres travaillant dans des conditions de matériel analytique identiques, est de définir les valeurs de références spécifiques à l'âge pour la plupart des paramètres d'hémostase.

## II - Patients, matériels et méthodes

### 1. Population étudiée

1437 échantillons ont été obtenus de patients pédiatriques (959 garçons et 478 filles), âgés entre 2 semaines et 17 ans. Les prélèvements, effectués sur des tubes contenant du citrate 0,109 M, (1 vol./9 vol.), ont été obtenus dans chacun des centres participants. Il s'agissait de bilans d'hémostase de routine, le plus souvent réalisés dans le cadre d'un bilan préopératoire pour des pathologies non-aiguës. Ils ont été classés en 6 groupes d'âge : entre 2 et 4 semaines (médiane = 3 semaines, n = 36), entre 1 et 5 mois (médiane = 3 mois, n = 320), entre 6 et 12 mois (médiane = 8,5 mois, n = 176), entre 1 et 5 ans (médiane = 2 ans, n = 482), entre 6 et 10 ans (médiane = 8 ans, n = 132) et entre 11 et 17 ans (médiane = 13 ans, n = 262).

### 2. Méthodes

Les différents tests ont été réalisés localement dans chaque centre participant en utilisant des réactifs identiques et des analyseurs ACL TOP 500/700 d'un fournisseur unique (Instrumentation Laboratory, Bedford, MA, USA).

- TP : HemosIL RecombiPlasTin 2G
- TCA : HemosIL SynthASil et TCA : HemosIL APTT SP
- Fibrinogène (Clauss) : HemosIL Fib C et HemosIL QFA Thrombin
- Facteurs de la coagulation : plasmas immunodéplétés en facteur V, VII, X, II, VIII, IX, XI, et XII
- FXIII : HemosIL Factor XIII Antigen (test agglutination latex)
- Antithrombine (AT) : HemosIL Liquid Antithrombin (test chromogénique)

- Protéine C (PC) : HemosIL Protein C (test chromogénique) et HemosIL ProClot (test coagulation)
- Protéine S (PS) : HemosIL Free Protein S (test agglutination latex) et HemosIL Protein S Activity (test coagulation)
- Plasminogène (Pg) : HemosIL Plasminogen (test chromogénique)
- Facteur von Willebrand (vWF) : HemosIL von Willebrand Factor Ristocetin Cofactor activity, HemosIL von Willebrand Factor Activity, et HemosIL von Willebrand Factor Antigen
- D-dimères (D-Di) : HemosIL D-dimer HS 500.

## 3. Analyse statistique

Les résultats obtenus dans les différents centres n'étant pas différents, ceux-ci ont été rassemblés avant d'être analysés statistiquement. Les résultats sont exprimés en médiane et intervalles de confiance 95 % pour chaque groupe d'âge en regard des recommandations du guide CLSI C28-A3 (14).

## III - Résultats

Le TP reste inchangé chez l'enfant quel que soit son âge entre 15 jours et 17 ans et est équivalent à celui de l'adulte. Le TCA est négativement corrélé à l'âge ( $r = -0,15$ ,  $p < 0,01$ ), avec des temps de coagulation plus longs chez les plus jeunes enfants (Tableau I). Les taux des facteurs II, VII, X, IX, XI et XIII sont significativement diminués chez les plus jeunes enfants, particulièrement ceux âgés de moins de 1 mois, augmentent ensuite avec l'âge pour atteindre les valeurs adultes après 5 ans. Le taux de facteur V reste inchangé quel que soit l'âge. Les taux d'antithrombine, de protéine C/S et du plasminogène, sont diminués chez les nourrissons de moins de 1 mois et se normalisent entre 1 mois et 1 an, selon le paramètre. Par contre, le taux de protéine S libre antigène reste quant à lui inchangé et équivalent à celui de l'adulte. Le taux de fibrinogène, mesuré à l'aide de deux méthodes, évolue en U en fonction de l'âge, avec un taux relativement élevé chez les enfants de moins de 1 mois, puis abaissé pour atteindre un nadir entre 1 et 5 mois, ce taux évoluant ensuite pour atteindre celui de l'adulte entre 1 et 5 ans. Ce profil d'évolution est applicable aux taux des facteurs VIII et von Willebrand (principalement antigène), avec une valeur élevée chez les enfants de moins de 1 mois, le nadir étant atteint entre 6 et 12 mois, puis ce taux évolue pour atteindre la valeur adulte. Les taux des D-dimères sont significativement plus élevés chez les enfants de moins de 6 mois et restent supérieurs aux taux adultes pendant l'enfance, avant de retrouver des valeurs voisines de celles des adultes à la puberté. Les valeurs médianes ainsi que les valeurs de références pour les différentes tranches d'âge sont rapportées dans le Tableau I.

**Tableau I**  
Valeurs médianes et valeurs de références spécifiques à l'âge déterminées selon les recommandations du guide CLSI C28-A3, intervalle de confiance 95 % (entre crochets), pour les tests de coagulation mesurés chez les enfants classés en 6 différents groupes d'âge (d'après (13)).

	2 - 4 semaines	1 - 5 mois	6 - 12 mois	1 - 5 ans	6 - 10 ans	11 - 17 ans	Adultes
TP %	100,0 [83 – 109] (n = 36)	100,0 [78 – 108] (n = 320)	100,0 [81,9 – 108,3] (n = 176)	100,0 [76,0 – 103,8] (n = 507)	94,5 [66,6 – 111,2] (n = 132)	94,0 [72,0 – 109,0] (n = 262)	109,5 [90,0 – 148,8] (n = 64)
TCA (ratio) SynthASil	1,16 [0,91 – 1,43] (n = 36)	1,10 [0,82 – 1,30] (n = 311)	1,07 [0,82 – 1,32] (n = 174)	1,06 [0,80 – 1,31] (n = 490)	1,04 [0,85 – 1,28] (n = 124)	1,02 [0,81 – 1,28] (n = 249)	1,04 [0,86 – 1,20] (n = 64)
TCA (ratio) APTT SP	1,28 [1,12 – 1,43] (n = 36)	1,10 [0,86 – 1,38] (n = 32)	1,12 [1,04 – 1,49] (n = 31)	1,07 [0,84 – 1,26] (n = 34)	1,08 [0,87 – 1,39] (n = 34)	1,06 [0,86 – 1,55] (n = 34)	1,08 [0,88 – 1,30] (n = 44)
Fg (g/L) FibC	2,54 [1,43 – 4,02] (n = 34)	2,26 [1,50 – 3,76] (n = 289)	2,33 [1,57 – 3,60] (n = 163)	2,73 [1,88 – 4,13] (n = 453)	2,78 [1,89 – 4,75] (n = 113)	2,66 [1,77 – 4,20] (n = 209)	2,75 [2,17 – 3,42] (n = 44)
Fg (g/L) QFA	2,40 [1,36 – 3,00] (n = 30)	2,10 [1,41 – 4,37] (n = 96)	2,30 [1,48 – 3,67] (n = 53)	2,60 [1,64 – 4,97] (n = 105)	2,76 [1,71 – 5,37] (n = 36)	2,48 [1,68 – 5,29] (n = 63)	2,86 [2,13 – 4,22] (n = 44)
FII (%)	56,3 [44,8 – 74,3] (n = 21)	75,0 [46,7 – 110,6] (n = 81)	91,5 [73,9 – 117,2] (n = 37)	99,0 [49,4 – 130,0] (n = 64)	90,0 [68,4 – 132,0] (n = 29)	93,5 [47,6 – 119,2] (n = 44)	101,0 [75,2 – 132,0] (n = 46)
FV (%)	100,0 [69,0 – 123,7] (n = 21)	99,5 [59,5 – 147,0] (n = 79)	102,0 [59,0 – 159,8] (n = 37)	110,5 [73,2 – 188,1] (n = 64)	101,0 [82,0 – 140,6] (n = 27)	97,0 [61,7 – 124,8] (n = 41)	99,0 [60,7 – 141,6] (n = 45)
FVII (%)	75,6 [55,0 – 108,0] (n = 21)	88,0 [43,0 – 141,1] (n = 71)	88,0 [55,2 – 128,0] (n = 33)	82,0 [47,8 – 124,2] (n = 44)	77,0 [55,0 – 135,4] (n = 21)	81,5 [55,4 – 133,1] (n = 38)	95,0 [59,0 – 151,0] (n = 43)
FX (%)	85,0 [66,0 – 92,0] (n = 21)	89,0 [67,5 – 122,2] (n = 78)	100,0 [75,8 – 134,4] (n = 36)	99,0 [59,7 – 152,8] (n = 58)	99,0 [71,3 – 161,5] (n = 23)	93,0 [64,0 – 130,5] (n = 40)	106,0 [72,8 – 150,4] (n = 46)
FVIII (%)	95,5 [65,2 – 153,4] (n = 21)	84,5 [50,3 – 187,3] (n = 134)	75,0 [53,4 – 132,2] (n = 51)	95,0 [59,0 – 167,0] (n = 98)	86,5 [60,6 – 154,4] (n = 31)	93,0 [42,8 – 154,6] (n = 45)	97,0 [56,0 – 145,9] (n = 44)
FIX (%)	43,5 [30,0 – 77,0] (n = 21)	53,0 [29,0 – 105,1] (n = 134)	76,5 [50,5 – 106,8] (n = 50)	84,0 [52,6 – 128,9] (n = 97)	80,0 [55,3 – 156,0] (n = 31)	96,5 [60,2 – 138,4] (n = 52)	112,0 [69,5 – 131,0] (n = 40)
FXI (%)	56,0 [32,9 – 75,0] (n = 21)	64,0 [27,6 – 126,4] (n = 124)	86,0 [60,9 – 125,6] (n = 51)	92,0 [58,0 – 154,0] (n = 92)	83,0 [31,8 – 154,0] (n = 30)	84,0 [55,4 – 139,4] (n = 54)	105,0 [49,1 – 139,2] (n = 43)
FXII (%)	69,2 [25,0 – 81,0] (n = 21)	76,0 [38,0 – 136,6] (n = 73)	109,2 [48,0 – 156,1] (n = 32)	107,0 [50,0 – 174,7] (n = 40)	83,7 [49,4 – 153,5] (n = 21)	91,7 [49,4 – 153,5] (n = 37)	108,0 [46,5 – 157,3] (n = 36)
FXIII (%)	86,0 [78,4 – 100,0] (n = 21)	82,9 [55,3 – 133,2] (n = 77)	92,0 [51,1 – 136,8] (n = 35)	97,4 [49,4 – 137,2] (n = 97)	96,5 [53,5 – 142,4] (n = 36)	106,0 [64,4 – 133,1] (n = 60)	100,4 [68,1 – 138,2] (n = 46)
AT (%)	41,0 [32,8 – 62,8] (n = 20)	80,1 [29,0 – 120,0] (n = 60)	96,0 [63,0 – 121,8] (n = 34)	96,5 [60,5 – 128,3] (n = 54)	97,0 [64,2 – 136,4] (n = 29)	97,0 [69,1 – 135,9] (n = 42)	111,5 [83,2 – 125,7] (n = 46)
PC chromo (%)	39,1 [27,2 – 48,0] (n = 20)	51,2 [22,8 – 95,0] (n = 80)	79,9 [46,6 – 150,9] (n = 36)	92,6 [59,1 – 147,5] (n = 101)	100,5 [45,9 – 153,5] (n = 36)	99,0 [72,3 – 155,1] (n = 56)	108,0 [70,2 – 144,0] (n = 46)
PC coag (%)	37,5 [29,7 – 114,6] (n = 20)	82,0 [28,1 – 127,8] (n = 80)	85,0 [43,7 – 151,3] (n = 37)	86,3 [61,0 – 143,5] (n = 100)	91,0 [39,3 – 170,3] (n = 39)	95,1 [65,8 – 126,6] (n = 58)	119,0 [68,8 – 149,0] (n = 37)
PS libre Ag (%)	83,8 [61,0 – 108,0] (n = 20)	94,9 [48,0 – 126,5] (n = 80)	86,0 [63,0 – 138,9] (n = 37)	86,4 [53,0 – 134,9] (n = 102)	95,1 [61,5 – 141,7] (n = 40)	93,5 [61,4 – 130,7] (n = 63)	89,9 [63,1 – 127,2] (n = 48)
PS coag (%)	90,1 [29,0 – 115,2] (n = 20)	81,6 [33,3 – 153,9] (n = 78)	88,3 [51,8 – 138,4] (n = 35)	97,6 [60,2 – 148,8] (n = 94)	104,8 [66,5 – 161,5] (n = 34)	99,3 [52,5 – 147,1] (n = 48)	101,9 [57,9 – 137,5] (n = 47)
vWF:RCo (%)	99,6 [87,8 – 121,5] (n = 21)	89,0 [33,2 – 154,1] (n = 81)	67,1 [37,1 – 118,6] (n = 37)	83,3 [40,8 – 131,8] (n = 99)	89,1 [42,1 – 162,6] (n = 35)	92,8 [45,0 – 139,1] (n = 54)	87,7 [46,8 – 131,4] (n = 48)
vWF Act (%)	121,5 [73,7 – 188,9] (n = 21)	104,0 [40,9 – 191,0] (n = 73)	86,0 [42,7 – 176,0] (n = 36)	82,4 [43,6 – 155,8] (n = 93)	83,0 [41,2 – 128,9] (n = 35)	83,5 [54,0 – 136,9] (n = 58)	93,9 [41,6 – 152,5] (n = 46)
vWF:Ag (%)	163,3 [46,0 – 219,5] (n = 21)	101,5 [35,5 – 217,0] (n = 74)	78,6 [48,4 – 199,4] (n = 36)	89,1 [41,0 – 185,7] (n = 92)	80,0 [44,8 – 141,1] (n = 35)	92,0 [55,6 – 123,4] (n = 58)	90,8 [42,5 – 144,4] (n = 46)
Pg (%)	52,6 [41,0 – 82,7] (n = 20)	69,2 [37,6 – 109,6] (n = 72)	80,7 [49,3 – 126,4] (n = 37)	91,8 [59,6 – 178,0] (n = 93)	92,0 [52,4 – 158,1] (n = 30)	91,8 [58,1 – 130,6] (n = 43)	94,0 [63,4 – 134,8] (n = 47)
D-Di (ng/mL)	530 [445 – 1200] (n = 20)	515 [90 – 878] (n = 44)	270 [133 – 844] (n = 37)	280 [88 – 780] (n = 72)	275 [60 – 567] (n = 30)	245 [69 – 580] (n = 53)	277 [109 – 560] (n = 41)

## IV - Conclusions

Ces résultats confirment que, dans l'environnement technique considéré, les résultats de la plupart des paramètres de l'hémostase sont très dépendants

de l'âge de l'enfant, particulièrement durant la première année de vie. Aussi, l'utilisation de valeurs de référence spécifiques à l'âge est-elle indispensable pour permettre une évaluation correcte de l'hémostase en pédiatrie.

### BIBLIOGRAPHIE

- (1) LIPPI G., FRANCHINI M., MONTAGNANA M., GUIDI GC. Coagulation testing in pediatric patients: the young are not just miniature adults, *Semin Thromb Hemost*, 2007, 33:816-820, doi:10.1055/s-2007-1000373
- (2) ANDREW M., PAES B., MILNER R. *et al.*, Development of the human coagulation system in the full-term infant, *Blood*, 1987, 70:165-172
- (3) ANDREW M., PAES B., MILNER R. *et al.*, Development of the human coagulation system in the healthy premature infant, *Blood*, 1988, 72:1651-1657
- (4) ANDREW M., VEGH P., JOHNSTON M., BOWKER J., OFOSU F., MITCHELL L., Maturation of the hemostatic system during childhood, *Blood*, 1992, 80:1998-2005
- (5) ANDREW M., Developmental hemostasis: relevance to hemostatic problems during childhood, *Semin Thromb Hemost*, 1995, 21:341-356
- (6) TOULON P., Developmental hemostasis: laboratory and clinical implications, *Int J Lab Hematol*, 2016, 38 (Suppl1):66-77, doi:10.1111/ijlh.12531
- (7) IGNJATOVIC V., KENET G., MONAGLE P., Perinatal and Paediatric Haemostasis Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Developmental hemostasis: recommendations for laboratories reporting pediatric samples, *J Thromb Haemost*, 2012, 10:298-300
- (8) FLANDERS MM, CRIST RA, ROBERTS WL, RODGERS GM, Pediatric reference intervals for seven common coagulation assays, *Clin Chem*, 2005, 51:1738-1742, doi:10.1373/clinchem.2005.050211
- (9) FLANDERS MM, PHANSALKAR AR, CRIST RA, ROBERTS WL, RODGERS GM, Pediatric reference intervals for uncommon bleeding and thrombotic disorders, *J Pediatr*, 2006, 149:275-277
- (10) MONAGLE P., BARNES C., IGNJATOVIC V. *et al.*, Developmental haemostasis. Impact for clinical haemostasis laboratories, *Thromb Haemost*, 2006, 95:362-372
- (11) MONAGLE P., MASSICOTTE P., Developmental haemostasis: secondary haemostasis, *Semin Fetal Neonatal Med*, 2011, 16:294-300
- (12) APPEL IM, GRIMMINCK B., GEERTS J., STIGTER R., CNOSSSEN MH, BEISHUIZEN A., Age dependency of coagulation parameters during childhood and puberty, *J Thromb Haemost*, 2012, 10:2254-2263, doi:10.1111/j.1538-7836.2012.04905.x
- (13) TOULON P., BERRUYER M., BRIONNE-FRANCOIS M. *et al.*, Age dependency for coagulation parameters in pediatric populations. Results of a multicenter study aimed at defining the age-specific reference ranges, *Thromb Haemost*, 2016, 116:9-16
- (14) HOROWITZ GL, ALTAIE S., BOYD JC *et al.*, CLSI Document C28-A3. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline-Third edition, *Clinical and Laboratory Standards Institute*, Wayne, PA, USA, 2009, Vol.28, n°30