



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES – FES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE



PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence en Sciences & Techniques :
Sciences Biologiques appliquées et Santé

**Paramètres de l'hémostase (TP, TCK, Fibrinogène).
Suivi des patients sous AVK,
au sein du laboratoire d'analyses médicales GHRISSI**

Présenté par : BOFOUCE Ghizlane

Encadré par :

Pr. SQALLI HOUSSAINI Hakima : FST, Fès

Dr. GHRISSI Khalid : Laboratoire des analyses médicales GHRISSI, Fès

Soutenu le : 16 Juin 2015

Devant le jury composé de :

Pr. SQALLI HOUSSAINI Hakima : Présidente

Dr. GHRISSI Khalid : Encadrant

Pr. MIKOU Karima : Examinatrice

Année Universitaire : 2014-2015



DEDICACE

✿ À mes parents:

Nulle dédicace ne pourrait exprimer mon profond amour, mon immense respect et ma grande gratitude pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et toute la patience dont vous avez fait preuve. Papa, maman je vous aime profondément ♥.

✿ À mes frères, mes cousins, mes oncles et tantes:

Je n'oublierai jamais vos encouragements. Je vous aime 😊.

✿ À mes professeurs:

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'estime que je porte à votre égard.
Trouvez dans ce travail ma reconnaissance pour tout votre savoir-faire qui m'a guidé, votre soutien et vos encouragements.

✿ À mes amis:

Avec qui j'ai partagé ces années d'études : Chaimae, Btissam, Zineb...

En reconnaissance des liens fraternels et de solidarité qui nous réunissent, tous les mots ne sauraient exprimer mon affection et gratitude pour vos encouragements et votre sympathie. Sans oublier que votre amitié m'a permis de surmonter les moments difficiles.

Que Dieu vous prête tous, une longue vie, du bonheur, de la santé et de la prospérité.

REMERCIEMENTS

Sous l'aide de plusieurs personnes, ce rapport n'aurait pas vu le jour. Je tiens donc, à travers ces quelques lignes, à exprimer toute ma gratitude à toutes les personnes qui y ont concouru de près ou de loin.

Mes remerciements vont tout d'abord au Dr. GHRISSI Khalid, le Pharmacien Biologiste et Directeur du Laboratoire d'analyses médicales GHRISSI-Fès, pour m'avoir fait confiance et permis d'effectuer ce stage au sein de son laboratoire dans les meilleures conditions. Je le remercie encore pour son accueil, sa disponibilité, sa sympathie, ses précieux conseils, son soutien, son écoute et son aide tout au long de ce stage.

Mes vifs remerciements s'adressent à mon encadrant M^{me} SQALLI HOUSSAINI Hakima, enseignante à la Faculté Science et Technique Fès, pour son soutien, son accueil, son écoute, sa confiance et son aide.

Mes remerciements les plus chaleureux vont au membre du jury M^{me} MIKOU Karima, pour m'avoir honoré de sa présence et d'avoir accepté de juger mon travail. Je vous exprime tout mon respect et ma gratitude.

Mes sincères remerciements s'adressent également à tout le personnel du Laboratoire des analyses médicales GHRISSI-Fès : GHRISSI Fadila, Hajar, Meriem, Soumia, Kawtar, Siham, Malika pour leur accueil, amitié, gentillesse, soutien et leur précieuse assistance. Grâce à vous, une très agréable ambiance de travail régnait au laboratoire.

Mes remerciements s'adressent aussi au coordonnateur de la filière Mr. TAZI Abdelali et au chef du département Mr. BENCHEIKH Rachid.

Et bien remercier mes professeurs que j'ai pu rencontrer depuis ces longues années de formation. J'ai appris énormément, chaque jour, à vos côtés. Vous avez participé à ce travail d'une façon ou d'une autre.

Liste des abréviations

Abréviation	Terme complet
AVK	Anti-Vitamine K (= anticoagulant)
CIVD	Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée
FIB	Fibrinogène
(G/l)	Giga par litre
HbA1C	Hémoglobine glycosylée ou glyquée
INR ou RNI	International Normalized Ratio / (Rapport Normalisé International)
ISI	International Sensitivity Index
LAM-GHRISSI	Laboratoire d'Analyses Médicales GHRISSI
NFS	Numération Formule Sanguine
PIVKA	Proteins Induced by Vitamin K Absence or antagonist
PPP	Plasma Pauvre en Plaquettes
PRP	Plasma Riche en Plaquettes
SAPL	Syndrome des Antiphospholipides
TCK ou TCA	Temps de Céphaline Kaolin / (Temps de Céphaline Active)
TH	Temps de Howell
TP	Taux de prothrombine
TQ	Temps de Quick
TS	Temps de Saignement
TT	Temps de Thrombine
VS	Vitesse de Sédimentation

Liste des figures

	Titre	Page
Figure 1	Mécanismes du maintien du sang dans le système vasculaire	3
Figure 2	Exploration de l'hémostase (TP, TCK, Fib)	5
Figure 3	Appareil CELL-DYN 3200	9
Figure 4	Appareil KC4 Δ Amelung	9
Figure 5	Ensemble de matériels utilisés pour les examens d'hémostase (TP, TCK, Fib)	10
Figure 6	Centrifugeuse	10
Figure 7	Processus du test total	11
Figure 8	Tube Citrate après centrifugation	13
Figure 9	Résultat d'un patient mesurant le Fib	17
Figure 10	Résultat d'un patient mesurant le TCK	17
Figure 11	Résultat d'un patient mesurant le TP	17
Figure 12	Répartition des patients en fonction du sexe	18
Figure 13 (a)	Répartition des patients sous AVK en fonction de l'âge pour les femmes	18
Figure 13 (b)	Répartition des patients sous AVK en fonction de l'âge pour les hommes	18
Figure 14	Répartition des patients selon la comorbidité	19
Figure 15	Répartition des patients en fonction du traitement par AVK	19
Figure 16	Analyse du TP/INR d'après la fiche du patient sous AVK (Femme)	20
Figure 17	Analyse du TP/INR d'après la fiche du patient sous AVK (Homme)	21

Liste des tableaux

	Titre	Page
Tableau 1	Echelonnement des patients en fonction du sexe, du nombre et de l'âge	16
Tableau 2	Exemplaire d'une fiche de patient sous AVK (Femme)	20
Tableau 3	Exemplaire d'une fiche de patient sous AVK (Homme)	21

Sommaire

PRESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCUEIL

INTRODUCTION GENERALE	1
------------------------------------	----------

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur le sang	2
1.Composition du sang.....	2
2.Fonctions.....	2
II. Généralités sur l'hémostase.....	2
1.Facteurs de la coagulation	3
2.Principales maladies de l'hémostase	3
3.Paramètres de l'hémostase	4
3.1. Temps de quick (TQ) et taux de prothrombine (TP).....	5
3.2. Temps de céphaline kaolin (TCK)	6
3.3. Fibrinogène (Fib)	6
III. Généralités sur le bilan pré-opératoire en Hémostase.....	7
IV. Traitement adapté	7
1.Héparino-thérapie.....	7
2.Traitements aux antivitamines K (AVK)	8

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODE

I. Matériel	9
II. Méthode expérimentale.....	11
1.Phase pré-analytique.....	11
1.1.Accueil de patient.....	11
a. Saisie des renseignements sur le patient par le système informatique..	11
b. Saisie des analyses.....	11
1.2.Prélèvement sanguin.....	12

2.Phase Analytique.....	12
2.1.Validation technique de l'appareil	12
a. Conformité de la Température	12
b. Calibration et initialisation de l'appareil.....	12
2.2.Mode opératoire	12
a. Temps de quick (TQ) et taux de prothrombine (TP)	13
b. Temps de céphaline kaolin (TCK)	13
c. Dosage du fibrinogène (Fib).....	14
3.Phase post analytique	14
3.1.Validation biologique selon le dossier de client(Histoire du patient) ...	14
a. Temps de quick (TQ) et taux de prothrombine (TP)	14
b. Temps de céphaline kaolin (TCK)	15
c. Dosage du fibrinogène (Fib).....	15
3.2.Saisi des résultats	15

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Répartition des patients en fonction du sexe, du nombre et de l'âge.....	16
II. Résultat brute de Fib et TCK.....	16
III. Résultat de TP.....	17
1.Répartition des patients en fonction de sexe	17
2.Répartition des patients sous AVK en fonction de l'âge.....	18
3.Répartition des patients en fonction de comorbidité	19
IV. Traitement.....	19
1. Répartition des patients selon les différents traitements d'AVK	19
2. Suivi des patients sous AVK.....	20
2.1.Suivi d'une femme sous AVK	20
2.2.Suivi d'un homme sous AVK	21

CONCLUSION GENERALE	22
----------------------------------	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	23
---	-----------

ANNEXES

PRESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCUEIL

Notre stage est réalisé dans un laboratoire privé d'analyses médicales "Ghrissi". Ce laboratoire est localisé à quartier Saâda, à Fès, devant la clinique Saâda.



Histoire de laboratoire GHRISSI

Le laboratoire a ouvert ses portes, la première fois à la ville de Khénifra en Mai 1985. Après une expérience de 30 ans dans le domaine, le chef du centre Dr. GHRISSI Khalid a fait déplacer le laboratoire vers la ville de Fès, depuis juin 2014.

Personnel de travail

Le travail dans le laboratoire se déroule sous le contrôle personnel du Dr. Biologiste Ghrissi, accompagné :

- des infirmiers et des techniciens spécialisés. Chacun est responsable d'une section dans le laboratoire selon sa spécialité et s'occupe de la partie manipulatrice ;
- trois agents de réception qui reçoivent les sujets de tests et qui s'occupent de la partie administrative du laboratoire.

Structure

La structure est composée d'une large salle de réception, deux salles de prélèvements, une salle de repos et d'un bureau personnel de Docteur chef du centre. Le laboratoire est aussi composé de quatre unités :

- Unité de Bactériologie – Parasitologie ;
- Unité de Biochimie ;
- Unité d'Immuno-Sérologie ;
- Unité d'Hématologie.

INTRODUCTION GENERALE

Dans le domaine de la santé, les analyses de laboratoire sont d'une extrême importance pour le diagnostic des maladies, la surveillance des patients, le traitement adapté et les pronostics.

Selon les études, les résultats de laboratoire contribuent à l'établissement du diagnostic dans les deux tiers des cas. Par ailleurs, certains diagnostics ne peuvent être effectués que sur la base d'un résultat de laboratoire.

Les analyses d'hémostase effectuées dans un laboratoire d'analyses médicales, spécifiquement à l'unité d'hématologie, ont pour but :

- ✚ la surveillance des patients traités par une anti-vitamine K ;
- ✚ le dépistage du risque hémorragique dans une chirurgie programmée à l'aide du bilan préopératoire ;
- ✚ le dépistage de différents facteurs d'hémostase.

En effet, l'objectif de notre étude est de montrer l'intérêt des tests d'hémostase (TP, TCK, Fibrinogène), permettant de diminuer le risque hémorragique soit lié aux AVK lorsque le rythme de surveillance du traitement était bien rapproché, soit lié à une intervention chirurgicale. En parallèle, nous avons assisté à la cascade de différentes phases d'analyses d'hémostase.

C'est dans ce contexte, que se situe ce projet de stage de fin d'étude intitulé :

"Paramètres de l'hémostase (TP, TCK, Fibrinogène). Suivi des patients sous AVK, au sein du laboratoire d'analyses médicales GHRISSI"

Le présent rapport se décline en trois grands volets :

- Revue bibliographique portant sur l'hémostase (sa définition, ses facteurs mis en jeu, son exploration, ses différentes analyses), ainsi que le bilan préopératoire et les traitements adaptés.
- Partie expérimentale de la réalisation et la mise en place du projet, renferme une description détaillée de la mission de stage, la méthodologie suivie et les différentes phases de la démarche.
- Partie "résultats obtenus" selon les répartitions faites et le suivi de patients sous AVK.

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. GENERALITES SUR LE SANG

Le sang est un liquide rouge, visqueux, circulant dans les artères et dans les veines, grâce à l'action de la pompe cardiaque (le cœur). De par sa composition complexe et sa rapidité de circulation, le sang, en irriguant tous les tissus, assure de multiples fonctions.

1. COMPOSITION DU SANG

Le sang est un tissu composé de cellules : globules rouges, globules blancs, plaquettes (Annexe 1)) et d'une substance interstitielle liquide, le plasma.

Le plasma est la partie liquide du sang. Il constitue environ 55 % du volume sanguin total. C'est un liquide limpide, jaune clair, contenant des sels minéraux et des substances organiques. Son pH varie de 7,33 à 7,45 et sa masse volumique est de 1,023 g/ml (Charrin et Vanneste, 1991 ; Lord-Dubé et Roselyne, 1983).

L'aspect du plasma peut être trouble et blanchâtre si le taux de lipides est augmenté. Il est jaune foncé si le taux de bilirubine est augmenté.

Il faut noter que le sérum est différent du plasma. En effet, ce sérum est obtenu après coagulation du sang et ne contient ni fibrinogène, ni quelques autres protéines consommées au cours de la coagulation (Charrin et Vanneste, 1991).

2. FONCTIONS

Le sang rempli de très nombreuses fonctions telles la fonction respiratoire, la fonction immunitaire, la fonction hémostatique (par les plaquettes), la fonction de nutrition, ainsi que dans le maintien de l'équilibre acido-basique de l'organisme, le transport des hormones et des métabolites et la thermorégulation (Charrin et Vanneste, 1991).

II. GENERALITES SUR L'HEMOSTASE

L'hémostase est définie comme l'ensemble des mécanismes biochimiques et cellulaires qui assurent le maintien du sang dans le système vasculaire, la prévention des saignements spontanés et l'arrêt des hémorragies en cas de lésion vasculaire.

Elle comprend trois étapes essentielles (Samama, 1990 ; Charrin et Vanneste, 1991) :

- **Hémostase primaire** (2 à 5 min) ⇒ Première étape de la coagulation (Figure 1) aboutissant à la formation du 'Clou plaquettaire' (Thrombus blanc = arrêt du saignement au niveau des petits vaisseaux).
- **Coagulation plasmatique** (5 à 10 min) ⇒ Transformation du "clou plaquettaire" en un véritable caillot de fibrine; 'Caillot fibrino-plaquettaire insoluble'.
- **Fibrinolyse** (> 24) ⇒ Destruction de la fibrine ou dégradation du caillot et retour à la perméabilité vasculaire.

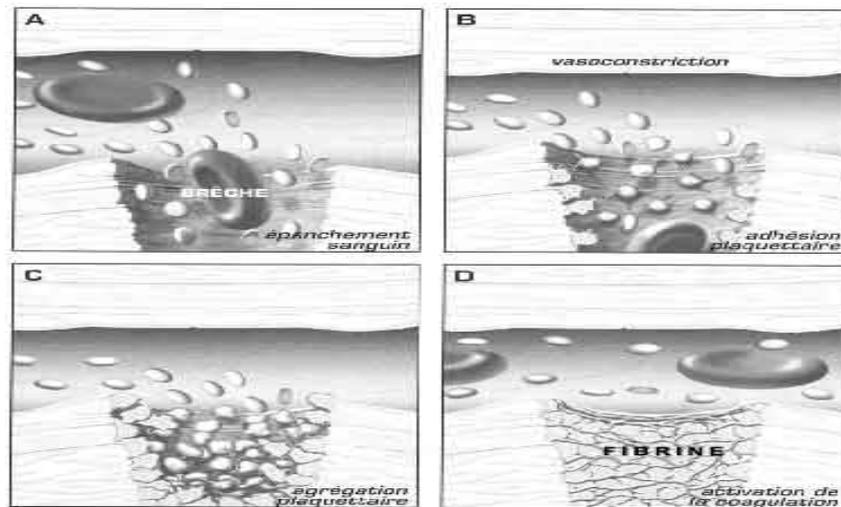


Figure 1 : Mécanismes du maintien du sang dans le système vasculaire.

1. FACTEURS DE LA COAGULATION

La coagulation est un phénomène physiologique complexe, correspondant à la transformation d'une substance liquide en substance plus ou moins solide, qui met en jeu différents facteurs de l'organisme pour aboutir à la formation d'un caillot sanguin (le fibrine, renforçant le thrombus blanc), lequel permet l'arrêt d'une hémorragie ou du saignement.

Les principaux facteurs participant au processus de la coagulation sont, les plaquettes et les facteurs de la coagulation, fabriqués par le foie. Ils sont au nombre de 13 (Annexe 2), circulent librement dans le plasma et sont dénommés par numérotation et par nom : du facteur I ou fibrinogène au facteur XIII (Charrin et Vanneste, 1991).

2. PRINCIPALES MALADIES DE L'HEMOSTASE

Les troubles de l'hémostase sont soit primaires comme la Thrombocytopénie (purpura thrombo-cytopénique idiopathique, CIVD...) ou Maladie de Von Willebrand ; ou secondaires comme l' Hémophilie A ou B, le déficit en vitamine K ou l'insuffisance hépatocellulaire (www.stago.fr/l-hemostase/tests-clinique/).

- a. **Thrombophilie**, constitutionnelle ou acquise, correspond à un désordre de l'hémostase, associé à un état d'hypercoagulabilité à l'origine de la survenue de thromboses veineuses profondes (TVP).
- b. **Coagulation Intravasculaire Disséminée (CIVD)** est un syndrome acquis secondaire à une activation systémique et excessive de la coagulation, rencontré dans de nombreuses situations cliniques en réanimation. Ce syndrome se définit par l'association d'anomalies biologiques avec ou sans signe cliniques témoins de la formation exagérée de thrombine et de fibrine, et de la consommation excessive de plaquettes et facteurs de coagulation.
- c. **Hémophilie A** est la plus fréquente des maladies hémorragiques graves. Due à un déficit en facteur VIII (facteur anti-hémophilique A).
- d. **Hémophilie B** est due à un déficit en facteur IX (facteur anti-hémophilique B).

Pour l'hémophilie A et B, l'affection est transmise par les femmes selon un mécanisme récessif lié au chromosome X. Les femmes susceptibles de transmettre l'affection sont appelées conductrices.

- e. **Maladie de Von Willebrand** est la maladie hémorragique la plus répandue. sa prévalence est estimée à environ 1% dans la population générale.
- f. **Syndrome des anti-phospholipides (SAPL)** est une entité clinico-biologique. Elle associe la persistance d'anticorps anti-phospholipides à des thromboses veineuses ou artérielles récidivantes ou à des manifestations obstétricales.

3. PARAMETRES DE L'HEMOSTASE

Ces paramètres (Charrin et Vanneste, 1991) sont conçus pour explorer globalement l'hémostase primaire et les deux voies de la coagulation (Figure 2).

- **Numération plaquettaire** : les plaquettes sont des cellules clés de la coagulation. Elles interviennent dans la première étape "d'hémostase primaire" pour participer à la formation du caillot ou "clou plaquettaire" en cas de saignement. **Le taux normal de plaquettes est de 150 à 400 (G/l).**
- **Temps de saignement (TS)** : c'est le temps qui s'écoule entre la création au niveau de la peau d'une petite incision et l'arrêt spontané du saignement ainsi provoqué. Ce paramètre permet d'explorer la bonne qualité de l'hémostase primaire.

Deux techniques sont utilisées :

- Technique de Duke réalisée à l'oreille. **Le temps normal ne dépasse pas 5 minutes**
- Technique d'Ivy, au niveau de l'avant-bras. **Le temps normal ne dépasse pas 10 minutes.**
- **Temps de Céphaline avec Activateur (TCA) ou Temps de Céphaline Kaolin (TCK)**, explore la voie endogène de la coagulation.
- **Taux de Prothrombine (TP) ou Temps de Quick (TQ)**, étudie la voie exogène de la coagulation.
- **Temps d'Howell (TH)**, explore la coagulation globale. c'est le temps de la coagulation d'un plasma décalcifié puis recalcifié, mais actuellement ce paramètre n'est plus utilisé puisqu'il a été remplacé par d'autres mesures plus sensibles.
- Dosage du **facteur Willebrand** ou facteur VIII.
- Dosage du **Fibrinogène (FIB)**, réalisé par les méthodes chronométrique et immunologique. La réalisation, en parallèle, de ces deux techniques permet de distinguer les hypo-afibrinogénémies (déficit quantitatif) et les dys-afibrinogénémies (fibrinogène présent en quantité normale mais non fonctionnel).
- **Temps de Thrombine (TT) ou temps de reptilase**, explore la fibrino-formation. Ce paramètre est sensible aux inhibiteurs (antithrombines et anti-polymérase), mais n'est influencé que par un déficit important en fibrinogène.

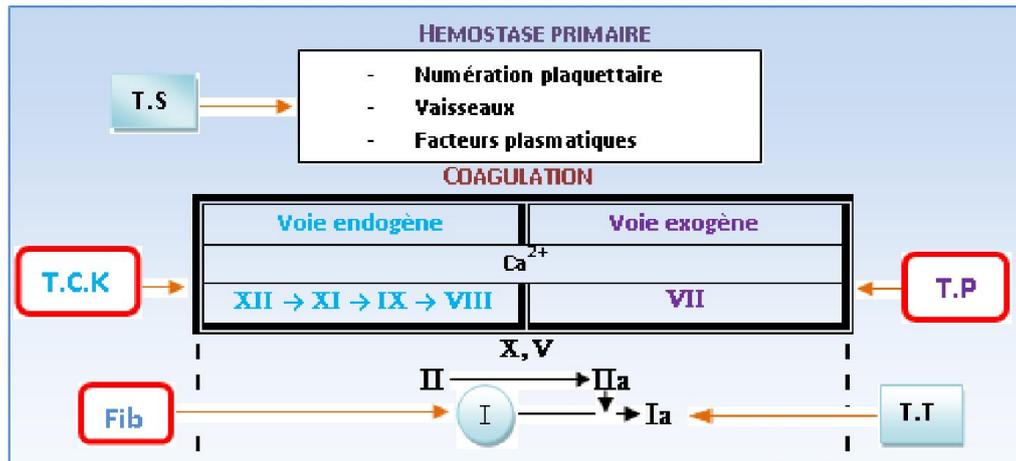


Figure 2 : Exploration de l'hémostase (TP, TCK, Fib).

3.1. Temps de Quick (TQ) et taux de prothrombine (TP)

Le Temps de Quick et le Taux de Prothrombine permettent d'étudier globalement l'activité des facteurs de la coagulation II, V, VII et X ainsi que le fibrinogène (Caen et *al.*, 1975), dont l'un (le facteur V) n'est pas vitamine K dépendant.

Le TQ ignore certains facteurs de coagulations vitamine K dépendants et n'inclut pas le facteur XII et les protéines C et S (Duxbry et Poller, 2011).

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté, dans un optimum calcique, en présence d'un excès de thromboplastine tissulaire, à 37°C (Charrin et Vanneste, 1991). Ce temps est exprimé en secondes (Duxbry et Poller, 2011).

Un allongement du TQ est observé dans les situations cliniques suivantes :

- Déficiences congénitales ou acquises en facteurs II, V, VII, X ou fibrinogène (Caen et *al.*, 1975).
- Insuffisance hépatique (cirrhose, hépatite) (Caen et *al.*, 1975).
- Administration d'AVK (Caen et *al.*, 1975).
- Hypovitaminoses K : carence d'apport, trouble de l'absorption ou du métabolisme de la vitamine K (maladie hémorragique du nouveau-né, cholestase, antibiothérapie) (Sampol et *al.*, 1995).
- Fibrinolyse (Caen et *al.*, 1975).
- CIVD (Caen et *al.*, 1975).

Un traitement anticoagulant par les AVK demande une surveillance biologique, habituellement réalisée à l'aide du TQ (Beeser, 1988). Afin de réduire la variabilité des résultats exprimés en pourcentage, variabilité due à l'utilisation de réactifs et de protocoles différents, une standardisation a été préconisée (Van Den Besselaar, 1991). Dans ce cadre, les thromboplastines utilisées sont comparées à des thromboplastines de référence et caractérisées par leur ISI.

3.2. Temps de Céphaline-Kaolin (TCK)

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté dans un optimum calcique, en présence de céphaline (substitut plaquettaire) et de kaolin (activation standardisée du facteur XII) à 37°C. Il explore la totalité de la voie endogène de la coagulation à l'exception des plaquettes, c'est-à-dire les facteurs XII, XI, IX, VIII, X, V, II et I (Charrin et Vanneste, 1991).

Un allongement du TCK peut être observé dans les situations cliniques suivantes (Charrin et Vanneste, 1991) :

- Diminution de la concentration de facteur VIII : maladie de Willebrand (déficit en facteur de Willebrand).
- Déficit en facteur XI : maladie de Rosenthal (rare)
- Avitaminoses K (Absence de la l'apport de la vitamine K)
- Atteintes hépatiques (cirrhose)
- CIVD
- Fibrinolyse primitive.

3.3. Fibrinogène (Fib)

Le fibrinogène est la principale protéine plasmatique effectuant la vitesse de sédimentation (Tietz et *al.*, 1999 ; Tietz, 2006). En présence d'un excès de thrombine, le temps de coagulation d'un plasma préalablement dilué est inversement proportionnel à la concentration en FIB (Charrin et Vanneste, 1991 ; Hurlet et Josso, 1972).

Une augmentation du FIB plasmatique constitue un facteur de risque pour les maladies coronariennes ou du système cérébro-vasculaire. L'augmentation de la concentration plasmatique en FIB peut être observée dans les situations cliniques suivantes :

- Inflammation, de nécrose tissulaire, de diabète ou d'obésité.
- Administration d'œstrogène et la grossesse.

La diminution de la concentration plasmatique en FIB est en général à mettre en rapport avec :

- Une anomalie du métabolisme hépatique (cirrhose, ictère...)
- Des cas de fibrinolyse ;
- CIVD (Tietz et *al.*, 1999 ; Tietz, 2006).

III. GENERALITES SUR LE BILAN PRE-OPERATOIRE EN HEMOSTASE

Le bilan préopératoire en hémostase vise à s'assurer de l'absence de facteurs de risque hémorragique chez un patient devant subir une intervention chirurgicale. Autrement dit il a pour but de contrôler les fonctions hémostatiques avant toute opération et il est recommandé pour dépister une anomalie de l'hémostase susceptible d'engendrer des troubles pendant et après l'opération (www.stago.fr/l-hemostase/tests-clinique/bilan-pre-operatoire/).

Les tests biologiques demandés au bilan pré-opératoire sont la formule sanguine avec numération plaquettaire, le TP, le TCK et le fibrinogène : parfois le TS. Ces tests permettant d'étudier l'hémostase sont réalisés dans deux circonstances (www.stago.fr/l-hemostase/tests-clinique/bilan-pre-operatoire/) :

- Dans le cadre de troubles cliniques de l'hémostase, syndromes hémorragiques ou thrombotiques, pour diagnostiquer l'origine de ces troubles.
- Pour la femme enceinte, la décision du mode d'accouchement, reste à l'appréciation de l'obstétricien et tient compte d'une part des risques pour le bébé et d'autre part des risques pour la mère qu'il s'agisse de la voie basse ou de la césarienne.

IV. TRAITEMENT ADAPTE

Le traitement adapté, vise à limiter et ralentir une coagulation excessive. Il s'agit d'un médicament utilisé sous contrôle médical étroit. Il permet de fluidifier le sang et d'empêcher la formation de caillot sanguin; c'est un anticoagulant (Charrin et Vanneste, 1991).

Les anticoagulants sont prescrits en cas de phlébite, d'embolie pulmonaire, d'un ralentissement de l'afflux sanguin aux organes ou d'insuffisance cardiaque. Deux types d'anticoagulants sont utilisés en médecine : les héparines (héparinothérapie), anticoagulants rapidement actifs, mais peu recommandés pour une utilisation sur de longues périodes, et les antivitamines K (AVK), agissant plus lentement, mais pouvant être pris au long cours.

1. HEPARINO-THERAPIE

L'héparine est un muco-polysaccharide sulfaté extrait de tissus riches en mastocytes. En fait, par différents procédés, on a isolé deux sortes d'héparine, l'héparine standard (HS) et l'héparine de bas poids moléculaires (HBPM) (Charrin et Vanneste, 1991).

L'héparine a un effet anticoagulant immédiat et temporaire. Il est employé à titre préventif (surtout les HBPM). Elle agit en se combinant à l'antithrombine III dont elle augmente l'action inhibitrice vis-à-vis des sérine-protéases, à savoir surtout la thrombine, mais aussi les facteurs Xa, IXa, XIa, XIIa, et Kallikréine. L'action de l'héparine sur ces facteurs varie selon le type d'héparine et selon la dose administrée. Globalement, *in vivo*, l'HS a une activité préférentiellement anti-IIa alors que les HBPM ont une activité préférentiellement anti-Xa (Charrin et Vanneste, 1991).

2. TRAITEMENTS AUX ANTI VITAMINES K (AVK)

Il existe de très nombreux antagonistes de la vitamine K (Annexe 3), répartis en deux groupes, les dérivés coumariniques et les dérivés de l'indane-dione. Ils diffèrent par leurs délai et durée d'action (Charrin et Vanneste, 1991).

Les AVK restent, à ce jour, les seuls anticoagulants administrables par voie orale - sont absorbés au niveau gastro-intestinal, et ils traversent la barrière placentaire - en traitement de longue durée. Ils agissent en inhibant certains facteurs ou certaines étapes de la cascade de la

coagulation sanguine, limitant ainsi la formation de la fibrine insoluble (Charrin et Vanneste, 1991).

Leur mode d'action repose sur le blocage de l'effet de la vitamine K, qui est nécessaire à la synthèse de plusieurs facteurs de coagulation dits "vitamine-K-dépendants " (facteurs II, VII, IX, X, et des inhibitrices protéines C et S). Il en résulte l'obtention de taux bas et stables des facteurs vitamine-K-dépendants, impliqués normalement dans la survenue des thromboses (www.afssaps.fr, 2004).

Les traitements par anticoagulants, et les facteurs influençant l'action des AVK sont très nombreux, ce qui imposera donc une surveillance stricte. La zone thérapeutique est en fonction de l'effet recherché, la dose d'anticoagulant permettant de l'atteindre est en fonction de nombreux paramètres liés (Charrin et Vanneste, 1991) :

- à l'étendue du risque thrombotique, en cas de dose insuffisante ;
- à l'étendue du risque hémorragique, en cas de dose trop élevée ;
- à l'anticoagulant : nature, mode et rythme d'administration ;
- au sujet lui-même : âge, mode de vie, habitudes alimentaires, pathologie et traitements associés....

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODE

I. MATERIEL

Notre étude est une analyse d'hémostase ayant porté sur 118 patients effectuant un prélèvement sanguin réalisée dans le service hématologique du laboratoire d'analyses médicales GHRISSI-Fès, durant une période de 2 mois s'étalant du 06/04/2015 au 31/05/2015. Nous avons assisté et partiellement participé aux différentes étapes des analyses d'hémostase, depuis la réception des patients jusqu'à la transmission des résultats soit au médecin des patients sous AVK, soit à la clinique demandant un bilan préopératoire d'un patient.

Les prélèvements sanguins sont analysés à l'aide de :

- **Automate CELL-DYN 3200** (Figure 3) pour le test évaluant l'hémostase primaire (Numération des plaquettes lors de l'analyse du sang total (Annexes 1 & 4)). Il est utilisé pour le comptage et la numération formule sanguine, par une aspiration du sang total.
- **Semi-automate KC4 Δ Amelung** (Figure 4) pour les tests de base de la coagulation sanguine (TP-TCK-Fibrinogène), en analysant le plasma (Annexes 1 & 4). Le KC4 Δ Amelung qui est un système de détection mécanique semi-automatisé de caillot, conçu pour détermination de temps de prothrombine (PT), temps de céphaline activé (APTT), et la concentration en fibrinogène. Tout essai de temps de coagulation qui a pour la formation de caillot pendant que son point final est exécuté sur KC4 Δ ; la mesure est dite quantitative. Cet appareil utilise des réactifs appropriés, et le plasma comme échantillon. L'addition de l'échantillon et des réactifs est manuelle, alors que la mesure de temps du point final de coagulation est automatisée.

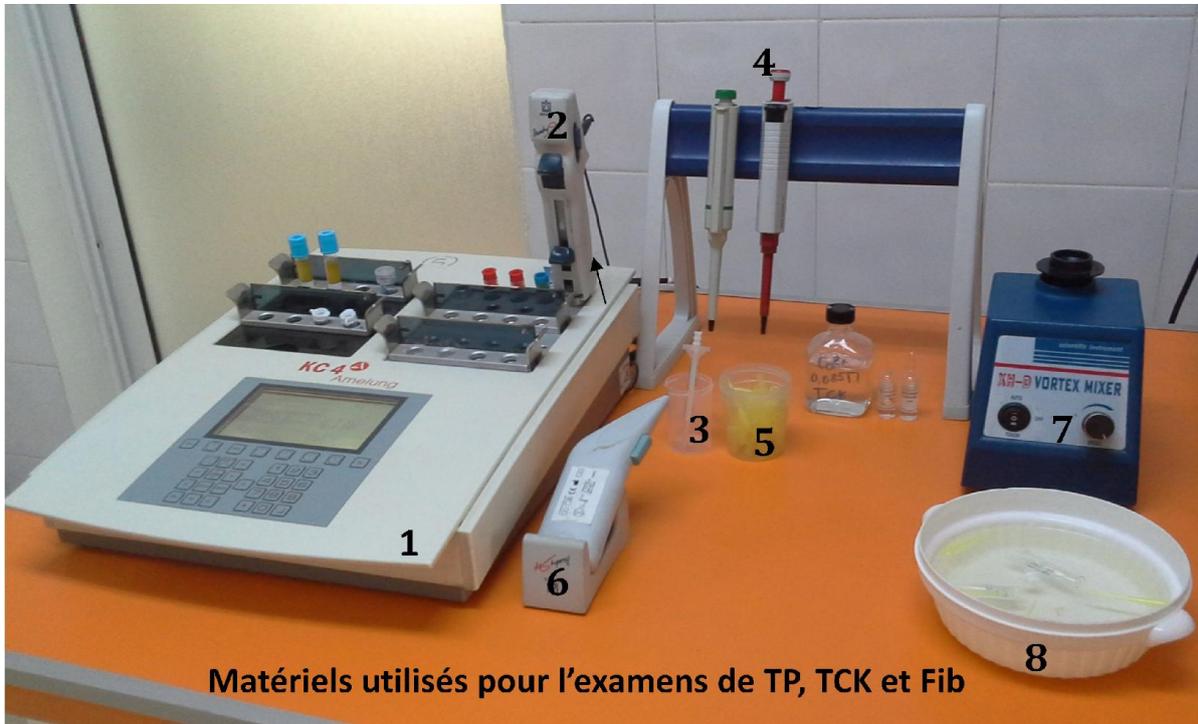


Figure 3 : Appareil CELL-DYN 3200.



Figure 4 : Appareil KC4 Δ Amelung.

La mesure des paramètres d'hémostase (TP, TCK et Fib) nécessite un ensemble de matériels (Figure 5) en plus d'une centrifugeuse (Figure 6).



Matériels utilisés pour l'examens de TP, TCK et Fib

Figure 5 : Ensemble des matériels utilisés pour les examens d'hémostase (TP, TCK, Fib).

La liste de ce matériel est comme suit :

- 1- Semi-automate KC4 Δ Amelung ;
- 2- Multipette reliée à KC4 par un câble ;
- 3- Combitip (pour aspirer les réactifs) spécifique à la multipette ;
- 4- Deux micropipettes (de 5 μ l et 50 μ l) ;
- 5- Petites icônes de couleur jaune (pour aspirer le plasma) spécifique aux micropipettes ;
- 6- Distributeur de billes magnétiques, joue le rôle d'un agitateur dans la cupule ;
- 7- Agitateur ou vortex ;
- 8- Bassin stérile (pour éliminer les tubes, les icônes après usage).

Figure 6 : Centrifugeuse.



II. METHODE EXPERIMENTALE

Les étapes des analyses de l'hémostase suivent le processus du test total, débutant par la commande d'un test jusqu'à l'interprétation d'un résultat. Le processus du test total démarre et se termine par le patient, et il est subdivisé en trois phases : phase pré-analytique (avant l'analyse), phase analytique (analyse proprement dite) et phase post-analytique (après l'analyse) (Figure 7).

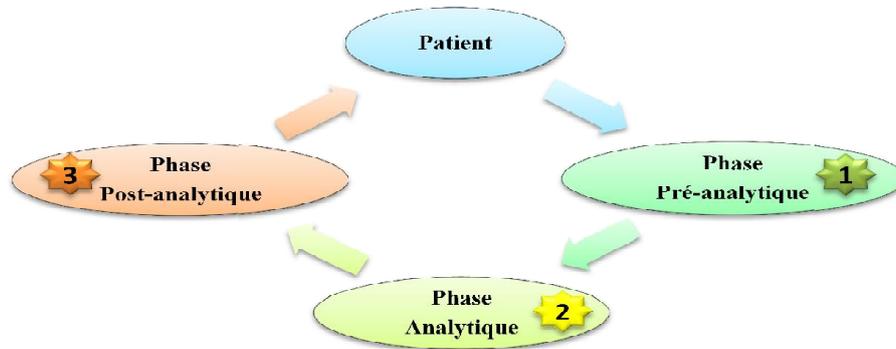


Figure 7 : Processus du test total.

1. PHASE PRE-ANALYTIQUE

La phase pré-analytique est l'ensemble des facteurs qui peuvent influencer le résultat d'un échantillon avant analyse. Une bonne application des règles permet de réduire l'anxiété du patient tout en augmentant l'efficacité et la précision du préleveur.

1.1. Accueil du patient

a. Saisie des renseignements sur le patient par le système informatique

Les clients accédant au LAM-GHRISSI pour faire les analyses d'hémostase, la secrétaire pose des questions au patient sur le test demander, et après avoir prendre l'accord du patient pour la réalisation de ces analyses, elle prend les donnés suivantes : (le nom, prénom du patient; Sexe, date de naissance ; Nom du médecin traitant; ainsi que les informations médicales nécessaires à la réalisation de l'analyse : on peut citer par exemple : pour dosage TP/INR, nature traitement AVK, posologie ; Si autre médicament lequel : aspirine ou autre... ; et si le patient est déjà opéré ou non, ou avait un maladie cardiaque...), et elle saisi en parallèle ces renseignements du patient sur le système informatique.

b. Saisie des analyses

Les tests de laboratoire se réalisent d'après un bilan d'orientation = plaquettes + Tests de base de la coagulation sanguine (TCA, TP, TT, Fib) ; qui sont imprimés sous forme d'une feuille de palliasse (Annexe 5), ainsi que le code barre proposé par le responsable du laboratoire (étiquette contenant une référence du patient selon l'ordre).

- pour les patients sous AVK (surveillance), la saisie des analyses se fait par ordre précis ;
- pour les patients qui vont faire ces analyses pour la première fois, la saisie des analyses se fait par autre ordre, selon les tests demandés par le médecin.

1.2. Prélèvement sanguin

Après avoir imprimé la feuille du paillasse et le code référence du patient, la préleveuse appelle le patient à la salle de prélèvement sanguin. Ces prélèvements s'effectuent en suivant des étapes bien précises (Annexe 6) et ce durant toute la journée. Un code couleur international pour les tubes de prélèvement (Annexe 7), doit être obligatoirement respecté. Il est impératif de respecter également les principes de sécurité et d'hygiène. Le patient doit être pris en charge pendant toute la durée de la prise de sang.

2. PHASE ANALYTIQUE

Pour réaliser cette étape, on utilise le semi-automate Amelung KC4 Δ pour les tests de base de la coagulation sanguine.

2.1. Validation technique de l'appareil

a. Conformité de la Température

Après avoir alimenté le KC4 Δ , l'écran d'indicateur de la température sera montré jusqu'à ce que le bloc de mesure thermo-statiquement commandé, ait atteint 35°C.

En approximativement 20 minutes l'analyseur atteindra la température de fonctionnement (37.3°C \pm 0.5°C). L'affichage changera au Menu Principale.

b. Calibration et initialisation de l'appareil

La calibration se fait par le test pool. Son principe est de réaliser un ensemble de dilution de plasma des patients qui n'ont pas sous AVK, pour doser le nouveau coffret de réactifs, et savoir le temps témoin du test TP.

Quand l'écran de menu principal sera activé en utilisant le bouton "MENU", et l'appareil sera initialisé.

2.2. Mode opératoire

Pour les examens d'hémostase (TP/INR, TCK, Fib), le plasma est obtenu après prélèvement franc du sang sur citrate et la centrifugation est faite à 4000 tours/ minute pendant 15 minutes (Figure 8).

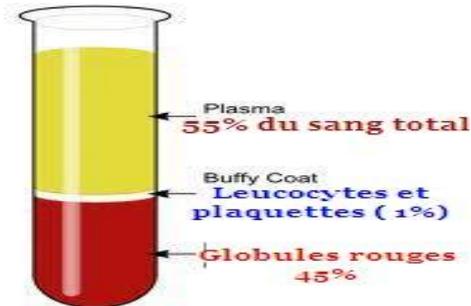


Figure 8 : Tube Citrate après centrifugation.

a. Taux de Prothrombine (TP) et Temps de Quick (TQ)

Reconstituer la thromboplastine à l'avance (Annexe 8), en diluant un flacon du réactif 1 (Néoplastine® CI, sous forme poudre) par un flacon de 5 ml, de réactif 2 (solvant contenant du calcium). Laisser dissoudre puis agiter par retournements successifs pour obtenir une suspension homogène. Ensuite déposer le réactif du TP dans des tubes qui doivent être conservés à 2-8°C.

Thromboplastine calcique (Néoplastine® CI) = Tube TP est préalablement Chauffé à 37°C (15 minutes), puis on met deux cupules (pour avoir la moyenne) dans les puits de l'appareil KC4 et on distribue la bille magnétique. Dans chaque cupule on introduit :

- 50 µl plasma du patient ;
- Agiter la cupule par le vortex et incuber 2 minutes exactement à 37°C ;
- Additionner 200 µl du réactif Néoplastine®, puis noter le temps de coagulation (en seconde).

La dernière étape consiste à ranger les réactifs, décontaminer le matériel utilisé et le ranger, retirer les gants et les jeter dans la poubelle adéquate, enregistrer les résultats et faire la transmission en tenant compte de la confidentialité.

b. Temps de céphaline activé (TCK)

Les réactifs du TCK sont reconstitués à l'avance (Annexe 8), en diluant le réactif (Dapttin® TC) par l'eau distillée (pour préparation injectable 4 ml). Ensuite, on dépose le réactif dans les eppendorfs qui doivent être conservés à 2-8°C.

Pour débiter la manipulation, préchauffer la solution de CaCl₂ et le réactif reconstitué Dapttin® TC à 37°C, puis on met deux cupules (pour avoir la moyenne) dans les puits de l'appareil KC4 et on distribue la bille magnétique. Ensuite introduit dans chaque cupule :

- 50 µl d'échantillon de plasma ;
- Agiter par le vortex et incuber 2 minutes exactement à 37°C ;
- Rajouter 50 µl de DAPTIN® TC ;
- En déclenchant un chronomètre ;
- Additionner 100 µl de solution de CaCl₂ (25 mmol/L ; 37°C) ;
- Déterminer le temps de coagulation (point final).

c. Dosage du fibrinogène (FIB)

D'abord, on place deux cupules (Annexe 8) (pour avoir une moyenne) dans les puits de l'appareil KC4, puis on distribue la bille magnétique et ensuite, on effectue une dilution de 1/10 :

- Ajouter 900 µl du tampon (diluant parmi les réactifs du fibrinogène) dans un tube et additionner 100 µl d'échantillon de plasma ;
- Agiter l'ensemble par le vortex, puis rajouter 100 µl de cette dilution dans chaque cupule par une micropipette ;
- Rajouter 200 µl du Thrombine (réactif du Fib) par la multipipette ;
- Noter le résultat affiché.

3. PHASE POST ANALYTIQUE

3.1. Validation biologique selon le dossier de client (Historique du patient)

a. Taux de prothrombine (TP) et Temps de quick (TQ)

Pour déterminer la valeur de l'ISI d'une thromboplastine donnée, les TQ de plasma normaux et de plasma de patients sous AVK sont déterminés d'une part avec cette thromboplastine, d'autre part avec la thromboplastine de référence.

Le temps obtenu (TQ du patient) est reporté sur graphe log-log, et l'équation de la droite de régression orthogonale est calculée (droite de Thivolle). La pente de cette droite multipliée par la valeur de l'ISI de la thromboplastine de référence représente la valeur de l'ISI de la thromboplastine étudiée.

La conversion des TQ (seconde) en TP exprimés en pourcentage se fait grâce à la droite de Thivolle. Le TQ, est exprimé en INR dont la valeur est égale à celle calculée par la formule suivante :

$$INR = \left(\frac{TQ \text{ du patient}}{TQ \text{ Témoin}} \right)^{ISI}$$

L'expression des résultats en INR est recommandée pour la surveillance du traitement AVK chez les patients. Ces derniers ont un INR compris entre 2,5 – 3,5 et un TP compris entre 25 et 30 %

Dans certains cas pour être traité efficacement, il est souhaitable d'obtenir un intervalle de l'INR plus élevé compris entre 3 et 4,5.

Outre la conversion du Temps de Quick en pourcentage (Taux de Prothrombine) permet d'apprécier l'activité prothrombinique du plasma à tester comparativement à un plasma témoin servant de référence (100 %). Cette conversion est faite à l'aide d'un tableau qui est livré avec chaque lot de réactifs. Les valeurs normales du taux de prothrombine sont comprises entre 70 % et 100 %. (INR < 1,5), et les taux supérieurs à 100 % n'ont pas de signification pathologique. Une attention particulière doit être accordée aux prélèvements de sujets traités par les antivitamines K.

La validation biologique des résultats finals est réalisée par le biologiste, effectuant un second contrôle, soit :

- Pour le bilan préopératoire du patient ;
- Pour le suivi des patients sous AVK. Une vérification de l'effet du traitement PER OS 'Traitement AVK' obtenu par le temps de prothrombine (TP) et l'INR (ratio normalisé international) est aussi contrôlé par le biologiste. Les doses d'AVK administrée dans les derniers contrôles sont prises en considération afin de les régulariser.

b. Temps de céphaline activée (TCK)

Le temps de céphaline kaolin affiché sur l'appareil et noté directement. Le domaine de référence est : 29-42 secondes. On considère qu'un TCK est allongé si l'écart avec le témoin dépasse 8 secondes.

Remarque : Les résultats indiqués ci-contre, ne sont valables que pour les réactifs "STAGO". Le TCK normal varie en fonction des réactifs utilisés.

D'une façon générale, on considère qu'un TCK est allongé lorsque le rapport TCK du malade/TCK témoin est supérieur à 1,2. Un temps supérieur à 42 secondes doit être considéré comme anormal et un temps inférieur ou égal à 20 secondes amène à vérifier s'il n'y a pas un coagulum.

Notons qu'en cas de traitement par l'héparine (TCK compris entre 50 et 100 secondes) ou par les antivitamines K (TCK compris entre 50 et 65 secondes), une importance particulière doit être accordée au prélèvement.

c. Dosage du fibrinogène (FIB)

Le taux de FIB lu sur l'appareil est multiplié par la valeur du témoin. Son intervalle de référence est entre : 1,50-4,00 g/l

3.2. Saisie des résultats

La saisie des résultats après contrôle, se fait premièrement sur le système informatique (pour les patients sous AVK ou pour les bilans préopératoires). Excepté les résultats du bilan préopératoires sont scannés directement à la clinique demandant ces analyses. Par contre, les résultats des patients qui font le contrôle du TP/INR sont enregistrés en même temps sur la fiche "client sous AVK" (Annexe 5).

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

II. REPARTION DES PATIENTS EN FONCTION DU SEXE, DU NOMBRE ET DE L'AGE

Notre étude durant la période du 06/04/2015 au 31/05/2015, au sein du laboratoire d'analyses médicales GHRISSE-Fès, a porté sur 118 patients, comprenant 70 femmes et 48 hommes de différents âges.

Les femmes et les hommes sont répartis en trois classes d'âge : âge inférieur à 25 ans, âge compris entre 25 et 50 ans et âge supérieur à 50 ans (Tableau 1). Ensuite, on a sommé les patients venant faire les analyses d'hémostase soit pour la première fois, soit pour les patients qui sont sous traitement d'anti-vitamine K (AVK) et leur surveillance.

Tableau 1 : Echelonnement des patients en fonction du sexe, du nombre et de l'âge.

Sexe	Femme			Homme		
	Nombre total	1 ^{ère} fois	Sous AVK	Nombre total	1 ^{ère} fois	Sous AVK
< 25	6	6	-	9	9	-
25 – 50	35	32	3	16	13	3
> 50	29	21	8	23	17	6
Nombre	70	59	11	48	39	9
Total	118					

D'après le tableau 1, pour les patients d'âge inférieur à 25 ; que ça soit pour la femme ou pour l'homme, on remarque qu'on n'a pas d'effectif faisant un suivi, tous venant pour la première fois, alors pour l'âge compris entre 25-50ans, les patients du sexe féminins sont nombreux que sexe masculins, dont son nombre est de 35 patientes , 32 venant pour la première fois et 3 faisant le suivi. Et pour les patients âgés plus de 50 an, on constate que la surveillance est importante pour cette catégories, car on a trouvé 8 femmes parmi 29 et 6 hommes parmi 23 qui sont sous AVK.

III. RESULTAT BRUTE DE FIB ET TCK

Notre étude a montré que seulement 7 patients font le test de fibrinogène, alors que 53 patients font le test de TCK ; et qui sont à la normale. Les résultats sont affichés sur l'écran du KC4 sous la forme suivante, soit pour le test Fib (Figure 9) ou le test TCK (Figure 10):



Figure 9 : Résultat d'un patient mesurant le Fib.



Figure 10 : Résultat d'un patient mesurant le TCK.

IV. RESULTAT DE TP

Le test du TP se fait pour 118 patients, on a un exemple d'un résultat d'un patient qui n'est pas sous traitement qui s'est affiché sur l'écran du KC4 sous la forme suivante (Figure 11):

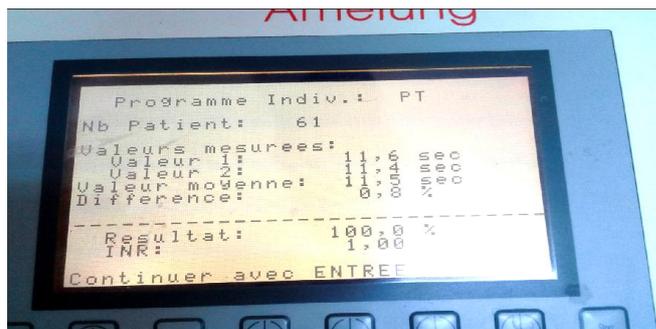


Figure 11 : Résultat d'un patient mesurant le TP

1. REPARTITION DES PATIENTS EN FONCTION DE SEXE

D'après la figure 12, on constate qu'il existe une prédominance féminine avec 70 femmes (59 %) et 48 hommes (41 %). La sex-ratio est de 1,4 en faveur des femmes.

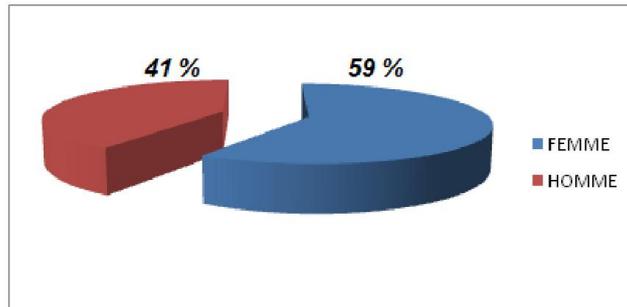


Figure 12 : Répartition des patients en fonction du sexe.

2. REPARTITION DES PATIENTS SOUS AVK EN FONCTION DE L'AGE

L'âge doit être considéré comme un facteur de risque hémorragique accru et ce même si certaines études n'observent pas de relation direct entre l'âge et le risque hémorragique.

Selon le LAM-GHRISSI et d'après les figures 13 (a et b), on constate :

- sur le nombre total : 50 % des femmes âgées de 25 à 50 ans et seulement 33 % des Hommes se présentent pour un contrôle de TP. Ceci peut être dû au fait qu'une analyse du TP est demandée à un grand nombre de femmes enceintes.
- Parmi les patients âgés de moins de 25 ans, aucun n'est traité par l'AVK.
- Dans la tranche d'âge entre 25 et 50 ans, on remarque qu'il y a largement plus d'Homme traités par AVK (19 %), que de femmes (9%).
- Les patientes sous AVK (28 %) âgées de plus de 50 ans sont légèrement plus nombreuses que les Hommes (26 %).

Tous ces patients sous AVK nécessitent une surveillance régulière du TP/INR, pour ajuster la dose du traitement.

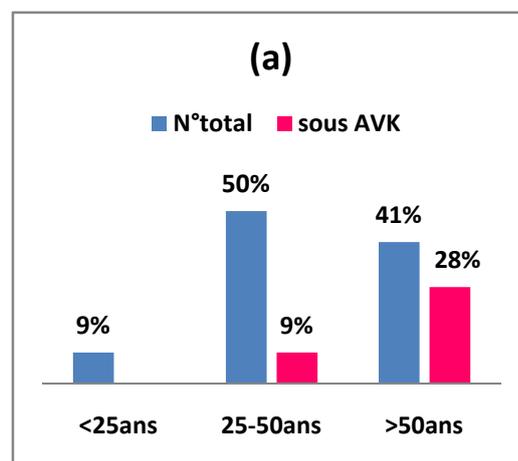


Figure 13 (a): Répartition des patients sous AVK en fonction de l'âge pour les femmes

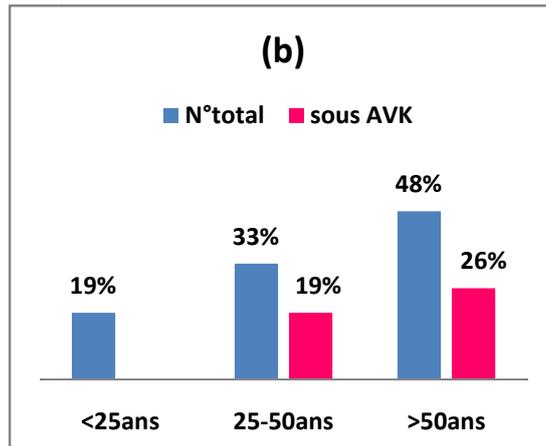


Figure 13 (b): Répartition des patients sous AVK en fonction de l'âge pour les hommes

3. REPARTITION DES PATIENTS EN FONCTION DE COMORBIDITE

En termes de comorbidité (Figure 14), on observe une prédominance du diabète (45 %), suivi d'opération d'angine (33 %), puis de l'insuffisance rénale et du goitre (11 %). Ces résultats n'impliquent pas qu'il y a un effet ou une relation entre ces comorbidités et les déviations du TP.

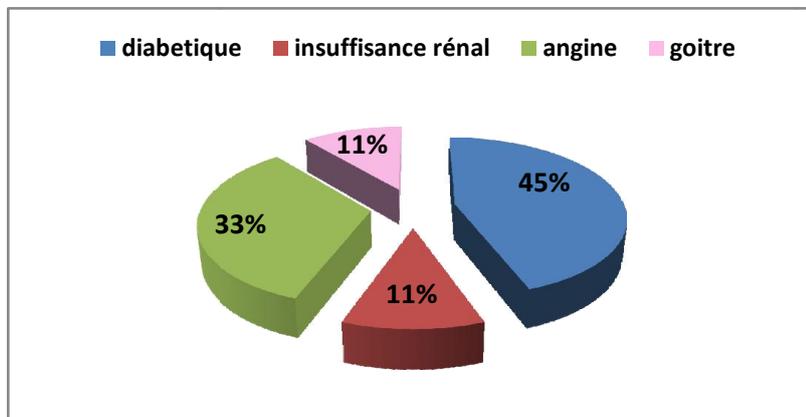


Figure 14 : Répartition des patients selon la comorbidité.

V. TRAITEMENT

1. REPARTITION DES PATIENTS SELON DIFFERENTS TRAITEMENTS D'AVK

D'après la (Figure 15), on constate que 80 % des patients de l'étude sont traités par Sintrom®, 15 % par Previscan®, et 5 % par Coumadine®. En effet, la prescription de Sintrom® reste la plus importante chez l'ensemble des patients. Ceci est probablement dû au bas pris et à la disponibilité de Sintrom® par rapport à Previscan®.

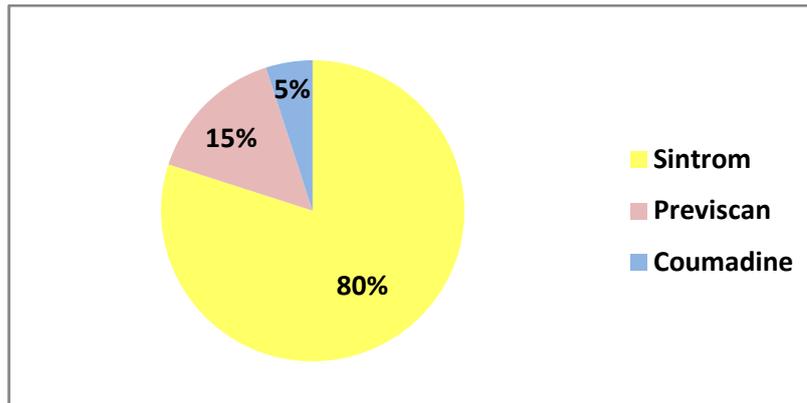


Figure 15 : Répartition des patients en fonction du traitement par AVK.

2. SUIVI DES PATIENTS SOUS AVK

2.1. Suivi d'une femme sous AVK

D'après le Tableau 2 et la figure 16, on constate que le taux de prothrombine du 14/04/2015 est de 65 % (INR est de 1,26 presque à la normale), alors qu'après quinze jours sous une dose de Sintrom® à respecter, une deuxième surveillance est faite pour cette patiente le 28/04/2015. On a trouvé 41 % pour le TP et 1,85 pour l'INR. On remarque alors que son TP est abaissé de 24 % alors que son INR est augmenté.

En effet, le médecin va ajuster la dose pour régler la coagulation du sang, mais il va demander aussi qu'après chaque semaine une autre surveillance doit être faite au laboratoire, jusqu'à ce qu'on obtienne la norme thérapeutique du TP et de l'INR.

Plus tard (du 05/05/2015 au 12/05/2015), on remarque que le TP est abaissé de 41 % à une valeur de 38 %, et l'INR est augmenté de 1,85 à 2,01. A la cinquième surveillance (19/05/2015), on constate que le TP continue d'abaisser à une valeur de 28% et en parallèle l'INR continue d'augmenter à une valeur de 3,18. On peut dire que cette patiente montre des valeurs de TP et de l'INR à leurs normes thérapeutiques. La dose prescrite pendant cette période est alors convenable jusqu'au prochain contrôle.

Tableau 2 : Exemple d'une fiche de patient sous AVK (Femme).

Étiquettes de lignes	Valeurs		
	Somme de TQ en (Sec)	Somme de TP en %	Somme de l'INR
14.04.2015	14,3	65	1,26
27.04.2015	19,3	41	1,85
05.05.2015	20,7	38	2,02
12.05.2015	20,4	38	2,01
19.05.2015	27,6	28	3,18

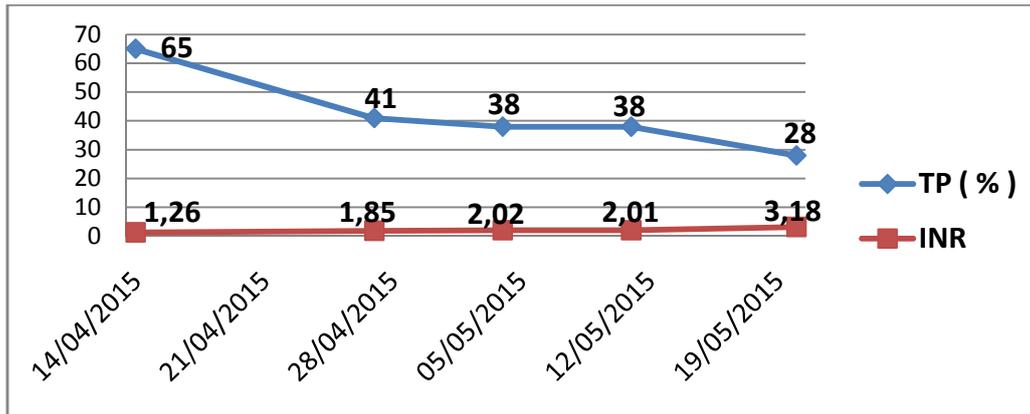


Figure 16 : Analyse du TP/INR d'après la fiche du patient sous AVK (Femme).

2.2. Suivi d'un homme sous AVK

D'après le tableau 3 et la figure 17, on constate que lors de la première surveillance (18/05/2015), le taux de prothrombine est de 24 % (INR est de 2,58 à la norme thérapeutique), alors qu'après trois jours sous une dose de Sintrom® à respecter, une deuxième surveillance est faite le 22/05/2015. Le TP est de 33 % et l'INR est de 1,94. On remarque alors que son TP est augmenté alors que son INR est abaissé. En effet, le médecin va ajuster la dose pour régler la coagulation du sang, mais il va demander aussi qu'après chaque trois jours une autre surveillance doit être faite au laboratoire, jusqu'à obtention de la norme thérapeutique du TP et de l'INR.

Après quatre jours, une troisième surveillance est faite au laboratoire (27/05/2015). On remarque que le TP continue d'augmenter à une valeur de 46 % et en parallèle l'INR continue de diminuer à une valeur de 1,89. Les valeurs de TP et de l'INR n'atteignent pas la norme thérapeutique. Le médecin doit augmenter le nombre de surveillance avec ajustement de la dose de Sintrom®, pour avoir des paramètres normaux de l'hémostase et aussi pour ne pas avoir un problème d'hémorragie.

Tableau 3 : Exemple d'une fiche de patient sous AVK (Homme).

Étiquettes de lignes	Valeurs		
	Somme de TQ (sec)	Somme de TP (%)	Somme de l'INR
18.05.2015	15	24	2.58
22.05.2015	24	33	1.94
27.05.2015	19	46	1.89

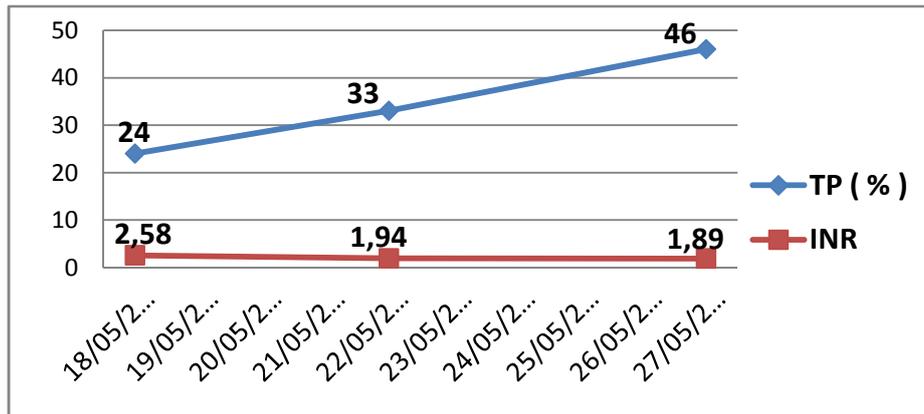


Figure 17 : Analyse du TP/INR d'après la fiche du patient sous AVK (Homme).

On peut conclure d'après les résultats obtenues chez ces deux patients sous AVK que quand l'INR augmente le TP diminue. Cela s'explique grâce à la formule connue :

$$INR = \left(\frac{TQ \text{ du patient}}{TQ \text{ Témoin}} \right)^{ISI}$$

Dont la norme thérapeutique est comprise entre $2,5 < INR < 3,5$.

CONCLUSION GENERALE

Ce stage effectué au sein du laboratoire d'analyses médicales GHRISSI, m'a permis de découvrir et de pratiquer les différentes analyses médicales et de mieux comprendre le fonctionnement d'un laboratoire d'analyses médicales. J'ai aperçue au cours de mon stage que la réalisation d'un travail est faite en binôme dans les différentes phases des analyses sans oublier le fameux proverbe du Dr Khaled GHRISSI "Faire confiance c'est bien, mais contrôler c'est mieux".

Mon travail de PFE "Paramètres de l'Hémostase (TP, TCK, Fibrinogène) et le suivi des patients sous AVK au sein du laboratoire d'analyses médicales GHRISSI" ; me permet de confirmer l'intérêt pratique des tests du taux de prothrombine (TP), du temps de céphaline kaolin (TCK), et du dosage du fibrinogène (FIB). Ces paramètres jouent un rôle à la fois dans le diagnostic et le suivi thérapeutique. Ce travail m'a aussi permis d'établir la relation et le rôle des trois responsables sanitaires, qui sont le médecin, le biologiste et le pharmacien, qu'on peut aussi appeler, les trois points du triangle de sanitaire dont leurs fonctions sont attachées et enchaînées.

D'après notre étude, le taux de prothrombine (TP) demeure le test d'hémostase le plus pratiqué. Ainsi que le traitement par Sintrom est l'AVK le plus consommée par les patients réalisant le suivi au sein du laboratoire d'analyses médicales GHRISSI. Ensuite, nous avons constaté que la sensibilité à l'anti-coagulation varie d'une personne à l'autre et peut changer au cours de traitement. Le médecin doit contrôler régulièrement l'évolution lors des visites et prescrire la posologie qui correspond aux besoins du patient.

Références bibliographiques

- **BEESER H. (1988)** - Critical evaluation of the so far experience using the WHO model of prothrombin time calibration and outlook for further development. *Haemostasis*. 182 p.
- **CAEN J., LARRIEU M.J. et SAMAMA M., (1975)** - L'hémostase. Méthodes d'exploration et diagnostic pratique. *Paris : L'Expansion scientifique*. 347 p.
- **CHARRIN M. et VANNESTE P. (1991)** - Hématologie : Aspects théoriques et pratiques. *Biosciences et techniques. Doin éditeurs – Paris*. 189 p.
- **DUXBRY BM. et POLLER L. (2011)** - The oral anticoagulant saga: past, present, and future. Pp : 269-275.
- **FARHI A. (2011)** - Temps de Howell.
- **HOLBROOK AM., PEREIRA JA., LABIRIS R. et al. (2005)** - Systematic overview of Warfarin and its drug and food interactions. *Arch Intern Med*. pp: 1095-1106.
- **HURLET A. et JOSSO F. (1972)** - Pathologie biologique. 173 p.
- **LORD-DUBE H. et ROSELYNE L. (1983)** - Hématologie. *Décarie éditeur, Montréal, et Maloine éditeur – Paris*. 335 p.
- **POLLER L. (2004)** - International Normalized Ratio: The first 20 years. pp : 849-860.
- **SAMAMA M. (1990)** - Physiologie et exploration de l'hémostase. *Edition Doin*. 233p.
- **SAMPOL J., ARNOUX D. et BOUTIERE P. (1995)** -Manuel d'hémostase. *Editions scientifique et médicales Elsevier*. 163 p.
- **SCHVED J.F., DE MOERLOOSE P., JUDE B. et TOULON P. (2000)** - Utilisation des antivitamines K en pratique médicale courante. *Recommandations du Groupe d'Etudes sur l'Hémostase et la Thrombose (GEHT), 3^{ème} édition*, pp : 26-39.
- **SULTAN C., PRIOLET G., BEUZARD Y., ROSA R. et JOSSO (1978)** - Techniques en hématologie : Les examens de laboratoires. *Flammarion médecine-sciences éditeurs, Paris*. 264 p.
- **TIETZ N.W. (2006)** - Clinila Guide to Laboratory Test. *4th Ed*. pp: 404-405.
- **TIETZ N.W., CURTIS C.A., ASHWOOD E.R et SAUNDERS W.B. (1999)** - Text book of clinical chemistry. *3rd Ed*. 1846 p.
- **VAN DEN BESSELAAR A.M.H.P. (1991)** - The significance of the international normalized ratio (INR) for oral anticoagulant therapy. 153 p.
- **VINET B. (2005)** - Le suivi du traitement à la Warfarine mis en doute à cause de variations analytiques importantes. *Ann Biol Clin Qué*. pp : 27-30.
- **WITTKOWSKY AK. (2003)** - Warfarin and other coumarin derivatives: pharmacokinetics, pharmacodynamics, and drug interactions. *Semin Vasc Med*. pp: 221-230.

- www.afssaps.fr, 2004 et 2009
- www.stago.fr/l-hemostase/tests-clinique/
www.stago.fr/l-hemostase/tests-clinique/bilan-pre-operatoire/

ANNEXES

Annexe 1 Les plaquettes sanguines

Les plaquettes (ou thrombocytes) sont des cellules anucléées, présentes dans le sang au nombre de 200 à 400 10⁹/l. On parle de :

- *Thrombopénie* si le nombre de plaquettes est inférieur à 150 10⁹/l.
- *Thrombocytose* s'il est supérieur à 500 10⁹/l.

En fait, les plaquettes de la circulation générale représentent environ les deux tiers des plaquettes sanguines. En effet, 30% d'entre elles sont séquestrées par la rate et représentent le pool splénique.

Protéines de la membrane plaquettaire, classées en fonction de leur ligand

Ligand principal	Protéine	Autres dénominations
Collagène	Intégrine $\alpha 2\beta 1$	CD49b
Collagène	GP VI	GMP 140, PADGEM
collagène (thrombospondine)	GP IV	CD36
Fibronectine	intégrine $\alpha 5\beta 1$	CD49e
Laminine	intégrine $\alpha 6\beta 1$	CD49f
fibrinogène (vWF)	Intégrine $\alpha IIb\beta 3$	GP IIb-IIIa (CD41 + CD61= CD41b)
Facteur Von Willebrand (thrombine)	GP Ib-IX-V	CD42a, b, c
Thrombine	PAR	récepteurs couplés à la prot. G
ADP	P2	récepteurs couplés à la prot. G

Annexe 2
Facteurs de coagulation
(Charrin et Vanneste, 1991)

N°	Nom	Utilité Vit K*	Stabilité	Présence		Demi-vie	Taux plasmatique
				dans plasma	dans sérum		
I	Fibrinogène	N	O	O	N	3-5j	2-4g/l
II	Prothrombine	O	O	O	N	3-5j	100-150mg/l
III	Thromboplastine tissulaire		O	N	N		
IV	Calcium		O	O (in vivo)	O		
V	Proaccélélerine	N	N	O	N	15-24 h	< 10 mg/l
VII	Proconvertine	O	O	O	O	4-6h	< 1 mg/l
VIII	Antihémophilique A	N	N	O	N	12-18 h	10-15mg/l
IX	Antihémophilique B	O	O	O	O	18-30 h	3-5 mg/l
X	Stuart	O	O	O	O	48-72h	10-15mg/l
XI	Rosenthal	N	O	O	O	48 h	<10 mg/l
XII	Hageman	N	O	O	O	50-70 h	< 10 mg/l
XIII	Facteur stabilisant la fibrine	N	O	O	O	3-5j	20-30mg/l
	Fletcher ou Prékallicroïne			O			50-70mg/l
	Fitzgerald ou HPM-kininogène			O		5-6j	50-90mg/l

N = Non

O = Oui

N.B : Le facteur VI n'existe pas

Utilité Vit K* : Utilité de la Vit.K pour la synthèse de ce facteur

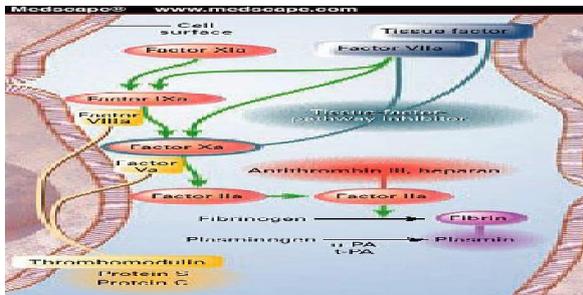
Annexe 3 Anti vitamines K

(Holbrook et al., 2005 ; Vinet, 2005 ; Wittkowsky, 2003 ; www.afssaps.fr/, 2009)

1- Mode d'action

Les AVK ont une structure chimique proche de la vitamine K, ce qui leur confère un mode d'action commun.

La vitamine K est un dérivé de la naphthoquinone. Elle comporte une chaîne hydrophobe qui diffère suivant l'origine végétale (Vitamine k1 ou phylloquinone, ou phytonémadiol) ou bactérienne (Vitamine k2 ou ménaquinone). C'est une vitamine liposoluble apportée par l'alimentation (20%), ou synthétisée par la flore intestinale (80%). Son absorption est étroitement liée à la fonction biliaire. Une fois absorbée, la vitamine K se retrouve dans l'hépatocyte dans un cycle métabolique, où elle constitue un cofacteur enzymatique qui permet la gamma-carboxylation des résidus glutamates des facteurs de coagulation vitamine-K-dépendants en anticorps gamma-carboxy-glutamiques. Les résidus gamma-carboxy-glutamates permettent le changement de conformation des facteurs de coagulation, nécessaire à l'acquisition de leur activité biologique



(a) Schéma de la coagulation



(b) Apports alimentaires en Vit K.

Les AVK et la vitamine K entrent en compétition au niveau des sites d'activation de l'époxyde réductase, bloquant alors le cycle de la vitamine K et la gamma-carboxylation, empêchant la conversion de la forme époxyde de la vitamine K en sa forme hydroquinone (vitamine K réduite), indispensable à la transformation, par les hépatocytes, des précurseurs des facteurs vitamine-K- dépendants en facteurs biologiquement actifs. Les AVK inhibent donc la réduction de la vitamine K, nécessaire à l'activité de la carboxylase qui active les facteurs de coagulation (Vinet, 2005).

2- Classification des antivitamines K

Les AVK peuvent être distinguées :

Selon leur structure chimique : Les AVK appartiennent à plusieurs groupes de dérivés chimiques qui ont en commun une parenté de structure avec la vitamine K. On commercialise, en France, les dérivés de l'Indanedione (*Préviscan®*), et les dérivés de la coumarine (*Sintrom®*, *Minisintrom®*, *Coumadine®*) (Wittkowsky, 2003).

Selon leur demi-vie plasmatisque : Il s'agit du temps au bout duquel, administrés à posologie constante, les AVK atteignent la moitié de leur concentration plasmatisque de stabilité. Le tableau suivant montre les antivitamines K disponibles en France en 2011

Médicaments	Nom commercial	½ vie plasmatisque (en h)	Délai équilibre (en h)
Demi-vie courte ou intermédiaire			
Acénocoumarol	Sintrom®, Minisintrom®	8 - 9	32 - 48
Demi-vie longue			
Fluindione	Préviscan®	30	120 -150
Warfarine	Coumadine®	35 - 45	140 - 225

3- Interactions médicamenteuses

Une multitude de médicaments peuvent interférer avec la pharmacocinétique ou la pharmacodynamique des antivitamines K, ayant comme effet une augmentation ou une diminution de l'effet anticoagulant.

Il convient d'insister sur certains médicaments car leur utilisation est fréquente en médecine générale : les antibiotiques, dont quasiment toutes les classes ont un effet potentialisateur du traitement AVK, et les inhibiteurs de la pompe à protons, tel l'oméprazole, le paracétamol médicaments fréquemment prescrit, notamment chez les personnes âgées.

Associations contre indiquées

- **Acide acétylsalicylique** : pour des doses anti-inflammatoire d'acide acétylsalicylique, pour des doses antalgiques ou antipyrétiques et en cas d'antécédents d'ulcère gastroduodéal. Majoration du risque hémorragique. Notamment en cas d'antécédents d'ulcère gastroduodéal.
- **AINS pyrazolés** : augmentation du risque hémorragique de l'anticoagulant oral (agression de la muqueuse gastroduodéal par les AINS)
- **Miconazole** (voie générale et gel buccal) : hémorragies imprévisibles qui peuvent éventuellement être graves
- **Millepertuis** : diminution des concentrations plasmatique de l'anticoagulant oral en raison de son effet inducteur enzymatique, avec risque de baisse d'efficacité, voire annulation, dont les conséquences peuvent être graves.

Associations déconseillées

Acide acétylsalicylique et **AINS**.

Associations nécessitant des précautions d'emploi :

- **Amiodarone & Allopurinol** : augmentation de l'effet anticoagulant et risque hémorragique
- **Anticonvulsivant inducteur enzymatique**: (carbamazépine, fosphénytoïne, phénobarbital) & **Azathioprine** : diminution de l'effet anticoagulant.
- **Antidépresseur inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (citalopram, fluoxétine, paroxétine, sertraline)**: augmentation de l'effet anticoagulant.

Le plus simple est de retenir que toute modification d'un traitement médicamenteux chez un patient sous AVK doit faire évoquer une interaction possible et faire rapprocher transitoirement les INR (Afssaps, 2009).

4- Interactions alimentaires

Le traitement par AVK ne justifie pas de suivre un régime particulier. Un régime alimentaire équilibré doit être respecté. Ce n'est qu'en cas d'anticoagulation chroniquement mal équilibrée qu'il convient de faire une enquête alimentaire détaillée pour préciser les écarts à éviter. Le tableau suivant indique les principaux aliments ayant une interaction avec les AVK (Holbrook, 2005).

Potentialisation	
Très probable	Alcool, huile de poisson, mangue
Probable	Pamplemousse
Inhibition	
Très probable	Abats, avocats, brocolis, carottes, choucroute, Choux, choux fleurs/ choux de Bruxelles Epinards, fenouil, foie, laitue, tomates
Probable	Lait de soja
Possible	Sushi contenant des algues

Annexe 4
Tubes et instruments du domaine hématologique

Test	Tube du prélèvement	Méthode ou Appareils
Groupage sanguin et Rhésus		 <p>Beth-Vincent et Simona</p>
NFS		 <p>Cell dyn 3200</p>
HbA1c		 <p>NycoCard® READER II</p>
Vitesse de sédimentation		<p>IMPROVE</p> 
Hémostase (TP - TCK - Fibrino gène)		 <p>KC4 delta Amelung</p>

Annexe 5
Ensemble de feuilles et fichier

(a) **Modèle de la feuille du paillasse d'un patient sous AVK**

<u>LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES GHRISSI</u>	
Nom Prénom : DU PATIENT	
Examens demandés par Dr : NOM PRENOM DU DOCTEUR	Référence : J/M/A+3numéro (ex : 60415124)
<u>Liste des Examens Demandés</u>	Total Dh Avance Dh Reste Dh
Taux de prothrombine / INR :	
<u>Dr : NOM PRENOM DU DOCTEUR. REFERENCE: 60415124. AGE : ...</u>	
<u>Liste des Examens Demandés</u>	
Taux de prothrombine / INR :	

(b) **Modèle de la feuille du paillasse d'un patient selon le bilan pré-opératoire**

<u>LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES GHRISSI</u>	
Nom Prénom : DU PATIENT	
Examens demandés par Dr : NOM PRENOM DU DOCTEUR	Référence : J/M/A+3numéro (ex : 60415125)
<u>Liste des Examens Demandés</u>	Total Dh Avance Dh Reste Dh
NFS /Plaquettes :	Fibrinogène:
Taux de prothrombine :	TS : Urée :
TCK :	Glycémie :
<u>Dr : NOM PRENOM DU DOCTEUR. REFERENCE: 60415125. AGE : ...</u>	
<u>Liste des Examens Demandés</u>	
NFS Plaquettes :	Fibrinogène :
Taux de prothrombine :	TS : Urée :
TCK	Glycémie

(c) : **Exemplaire d'une fiche client sous AVK**

N° de Fiche		Nom, prénom, tél : du patient			Nom, Prénom, Tél : du Médecin
Date du contrôle	Référence	TQ	TP%	INR	TTT (combien du comprimé doit prendre)

Annexe 6

Etapas à suivre lors d'un prélèvement sanguin

1. Installer le patient pour le prélèvement ;
2. Identification du patient par le contrôle des tests demandés afin d'éviter une information manquante ;
3. Préparation du patient (le Rassurer et le positionner) ;
4. Préparation du matériel : choisir des tubes adaptés (tube à bouchon violet – EDTA pour la NFS ou les plaquettes ; tube à bouchon bleu – Citrate de sodium pour TP-TCK-Fibrinogène), aiguilles et corps de prélèvement (venoject) ;
5. Placer le garrot (si difficulté de repérer la veine), relâcher au plus tard après 30 secondes ;
6. Le patient doit avoir la main fermée et la préleveuse doit choisir le site de ponction de manière appropriée ;
7. Désinfecter le site de ponction et laisser sécher avant de réaliser la ponction ;
8. Effectuer la ponction veineuse en introduisant l'aiguille dans un angle se situant entre 15° et 30°.
9. Remplir les tubes en respectant l'ordre approprié et respecter impérativement le rapport anticoagulant/sang (1 volume de citrate pour 9 volumes de sang) et donc le bon remplissage des tubes ;
10. Relâcher le garrot dès le remplissage du 1^{er} tube ;
11. Mélanger calmement les tubes (minimum 5 retournements, après le prélèvement pour éviter l'hémolyse) ;
12. Déposer le dernier tube rempli sur le portoir ;
13. Retirer aiguille/corps de prélèvement, détacher le garrot, main ouverte ;
14. Appliquer une compresse, une pression sur la veine bras tendu et poser un pansement ;
15. Étiquetage immédiat des tubes de prélèvement ;
16. Transporter rapidement les tubes à la salle technique selon les recommandations de conservation (transport idéal : en position verticale).

Annexe 7
Code couleur international selon ISO 6710



Ordre de prélèvement Recommandations CLSI (NCCLS), Déc. 2007, Doc. H3-A6 et GEHT 2007 (www.geht.org)

AVEC UNE AIGUILLE (ponction franche)

Autres tubes :
ACD, VS, Aprotinine
et tube Thrombine
(toujours en dernier)

Type de tube	Nom de tube	Couleur du bouchon		Anticoagulant	Application
Tube pour plasma	Tube Citrate coagulation			Citrate de sodium (sous forme liquide)	Hématologie : <i>TP-TCK-Fibrinogène.</i> <i>Facteurs de coagulation</i>
	Tube Fluore			Fluorure de sodium-oxalate de potassium	Biochimie : <i>Glycémie</i> Hématologie : <i>Hb/Ac</i>
	Tube Héparine			Héparinate de lithium	Biochimie : <i>Magnésium</i>
Tube pour sérum	Tube Sec gel			(Sans anticoagulant) Avec Gel séparateur du culot	Biochimie, Immuno-sérologie.
Tube pour sang total	Tube EDTA			EDTA tripotassique	H é m a t o l o g i e <i>NFS ,</i> <i>Groupe sanguin</i>
	Tube Citrate VS			Citrate de sodium	<i>Vitesse de Sédimentation (VS)</i>

Annexe 8 Réactifs et matériels utilisés au LAM-GHRISSI

Cupule spécifique pour KC4 delta Amelung



Cupule utilisée pour récupérer l'échantillon et le réactif spécifique pour chaque examen.

Temps de Quick

(TQ) et Taux de Prothrombine (TP)



Réactif 1 et 2 : Néoplastine®CI



Tube TP

Temps de Céphaline Activé (TCA)



Réactif DAPTIN®TC + eau



Eppendorf TCK

Fibrinogène (FIB)

