



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

EVALUATION GLOBALE DE
L'HEMOSTASE

Présenté par : FOUZIYA MOUMNI

Encadré par : Pr SAID HALOTI (FST Fès)

**Pr LHOUSSAIN LOUZI (Hopital Militaire Molay Ismail
Meknès)**

Soutenu le : Le 11 juin 2019

Devant le jury composé de :

- Pr SAID HALOTI
- Pr LHOUSSAIN LOUZI
- Pr TLEMÇANI RACHIDA

**Stage effectué à : Laboratoire d'analyses médicales Hopital Militaire Moulay
Ismail Meknès**

Année universitaire 2018-2019

DEDICACES

✿ À mes parents :

Aucune dédicace ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous.

Vos sacrifices, vos prières pour moi et votre soutien aussi moral que matériel.

Vous êtes et vous serez toujours un exemple à suivre pour vos qualités humaines, vos persévérances et votre perfectionnisme m'a appris le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité.

Que Dieu tout puissant vous protèges et vous procure santé et longue vie .

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

Je n'oublierai jamais vos encouragements.

✿ 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 ami(e)s :

Avec qui j'ai partagé ces années d'études : wissale, amal

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

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

REMERCIEMENTS

Sans l'aide de plusieurs personnes, ce rapport n'aurait pas vu le jour. Je donc tiens, 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 Pr **LOUZI LHOUSSAIN**, le pharmacien biologiste et chef du pôle des laboratoires d'analyses médicale de l'hôpital Militaire Moulay Ismal Meknès, de m'avoir fait confiance et permis d'effectuer ce stage dans les meilleures conditions. Je le remercie encore pour son accueil, sa disponibilité, sa sympathie, ses conseils, son soutien son aide tout au long de ce stage.

Mes vifs remerciements s'adressent à mon encadrant Monsieur **HALOTI SAID**, enseignant à la faculté des Sciences et Techniques Fès, pour son soutien, son accueil, son écoute, sa confiance et son aide.

Mes remerciements les plus chaleureux vont au membre du jury **TLEMÇANI RACHIDA** de m'avoir honoré de leur 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 : Dr.El houssine Malki, houria, saadia, fatima zohra, abdelhak pour leur accueil, amitié, gentillesse, soutien, et leur précieuse assistance. Grâce à vous, une agréable ambiance de travail régnait au laboratoire.

Je voudrai remercier également mes professeurs que j'ai rencontré depuis ces longues années de formation. J'ai appris beaucoup, à vos côtés, et vous avez participé énormément à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I :REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	2
I. Généralités sur le sang	3
II. Généralités sur l'hémostase	3
1. Facteurs de coagulation	4
2. Principales maladies de l'hémostase	5
3. Paramètres de l'hémostase	6
3.1. Temps de quick	7
3.2. Temps de céphaline active	8
3.3. Fibrinogène	9
3-4. D-dimères	10
III. Le bilan pré-operaire en hémostase	10
IV. Traitement adapté	10
1. Héparino-thérapie.	11
2. Traitements aux antivitamines k (AVK).	11
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	13
I. Matériel	14
II. Méthodes experimentales	15
1. Phase pré-analytique.	16
1.1. Accueil du patients.	16
1.2. Prélèvement sanguins.	16

2. Phase analytique.	16
2.1. Mode opératoire.	16
2.1.a. Le temps de prothrombine	17
2.1.b. Le temps de céphaline activé	17
2.1.c. Dosage de fibrinogène	18
2.1.d. Dosage semi quantitatif du D-Dimères	18
3. Phase post analytique .	18
a. Le Temps de prothrombine et le Temps de Quik	18
b. Le Temps de Céphaline Activé	19
c. Dosage de Fibrinogène	20
d. Dosage de D-Dimères	20
CHAPITRE III :RESULTATS ET DISCUSSION	21
1. Répartition des patients internes (hospitalisés) et externes.	22
2. Répartition des patients selon les services.	22
3. Répartition des patients en fonctions de sexe	23
4. Répartition des patients selon la valeur d'INR	23
5. Résultats de Fib et de D-Dimères	24
CONCLUSION GENERALE	25
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES	26
ANNEXES	27

LISTE DES ABRVIATIONS

Abréviations	Terme complet
AVK	Anti-Vitamine K
CIVD	Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée
Fib	Fibrinogène
FT	Facteur Tissulaire
HMMI	Hopital Militaire Molay Ismail
HBPM	Héparine de Bas Poids Moléculaire
HS/HNF	Héparine Standard ou Héparine Non Fractionné
INR	International Normalized Ratio
G/l	Giga par Litre
LMB	Laboratoire de Biologie Médicale
NFS	Numération Formule Sanguin
TCAou TCK	Temps de Céphaline Activé /Temps de Céphaline Kaolin
TP	Temps de prothrombine
TQ	Temps de Quik
TS	Temps de Saignement
TT	Temps de Thrombine

LISTE DES FIGURES

Titre	Page
Figure 1 : Photo de la façade d'entrée de l'hôpital Militaire Ismail Meknès	–
Figure 2 : Les étapes de l'hémostase	4
Figure 3 : La maîtrise de l'équilibre d'hémostase	5
Figure 4 : Exploration de l'hémostase	7
Figure 5 : Appareil SYSMEX XT 2000 i	14
Figure 6 : Appareil STA Compact	15
Figure 7 : Processus de test total	15
Figure 8 : Tube citraté après centrifugation	17
Figure 9 : Répartition des patients externes et internes	22
Figure 10 : Histogramme de la répartition des patients selon les services	22
Figure 11 : Répartition des patients en fonction de sexe	23
Figure 12 : Histogramme de la répartition des patients selon la valeur d'INR	23
Figure 13 : Résultats du patient mesurant le D-Dimères	24

PRESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCUEIL

Mon stage a été réalisé au laboratoire de biologie médicale (LMB) de l'hôpital Militaire Moulay Ismail Meknès. Cet hôpital polyvalent a une capacité de 294 lits et comporte plusieurs tels que : la chirurgie, la médecine interne et la réanimation.



Figure 1: Photo de la façade d'entrée de l'hôpital Militaire Molay Ismail Meknès

Le laboratoire comprend une salle d'accueil des patients externes et quatre salles de prélèvements. Ceux ci peuvent être orientés dans les différents services que compte le laboratoire, à savoir :

- Transfusion ;
- Biochimie ;
- Hématologie ;
- Bactériologie ;
- Parasitologie-mycologie ;
- Sérologie-immunologie.

Pour le personnel du service d'hématologie du laboratoire de HMMI, nous avons été encadré par :

- Pharmacien biologiste ;
- Médecine capitane ;
- Major ;
- 3 techniciens ;

INTRODUCTION

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

L'hémostase regroupe l'ensemble des mécanismes qui concourent à l'arrêt du saignement. Lorsqu'il y a une brèche dans un vaisseau sanguin, la mission de l'organisme est de la réparer. Pour ce faire, il procède par trois étapes : l'hémostase primaire avec le temps vasculaire et le temps plaquettaire, l'hémostase secondaire proprement dite la coagulation plasmatique et, enfin la fibrinolyse.

Il y a différents types d'analyses parmi lesquelles, il ya les analyses d'hémostase, selon les études, les résultats de laboratoire contribuent à l'établissement du diagnostic dans les deux tiers des cas.

Les analyses d'hémostase effectuées dans un laboratoire médicales, et plus spécialement 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 : le Temps de Prothrombine (TP), le Temps de Céphaline Activé (TCA), le fibrinogène (Fib) et D-Dimères permettant de diminuer le risque hémorragique. En parallèle, nous avons assisté aux différentes phases d'analyses réalisés dans le cadre d'hémostase .

C'est dans ce contexte, que se situe ce projet de stage de fin d'études.

Le rapport se décline en trois grandes parties :

- ❖ Revue bibliographique portant sur l'hémostase, ainsi que sur le bilan pré-opératoire et les traitements adaptés.
- ❖ Une partie expérimentale réalisée au cours la mise en place de mon projet, comportant une description détaillé du travail réalisé, la méthodologie suivie et les différentes phases de la démarche.
- ❖ Partie résultats et discussion.

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. GENERALITES SUR LE SANG

Le sang est un liquide rouge, visqueux, qui circule dans tous les vaisseaux grâce à la pompe cardiaque (coeur). Le sang irrigue tous les organes et assure plusieurs fonctions telles que la fonction respiratoire, immunitaire, hémostatique (plaquettes), la fonction de nutrition, le maintien de l'équilibre acido-basique de l'organisme ainsi que dans le transport des hormones et des métabolites.

C'est un tissu conjonctif spécialisé composé de cellules : les globules rouges, les globules blancs, les plaquettes et d'un liquide jaune, le plasma.

Le plasma constitue environ 55% du volume sanguin total, et contenant l'eau et les sels minéraux et des substances organiques.

Il faut noter que le sérum est différent du plasma. En effet, le sérum obtenu après la coagulation du sang et ne contient pas de fibrinogène mais peut contenir d'autres protéines de coagulation.

II. GENERALITES SUR L'HEMOSTASE

L'hémostase est définie comme l'ensemble des mécanismes mécaniques, physico-chimiques, biochimiques mis en jeu pour colmater la fuite (Figure 1), l'arrêt des hémorragies en cas de rupture de la continuité de la paroi vasculaire, la formation locale d'un caillot et sa dissolution.

Elle est divisée en trois étapes essentielles :

- **L'Hémostase primaire** (3 à 5 min) → première étape de la coagulation qui aboutit à l'agrégation des plaquettes et la formation du clou plaquettaire.
- **L'Hémostase secondaire ou la coagulation plasmatique** → (5 à 10 min) permet la formation de caillot de fibrine.
 - **Génération de la prothrombinase** : par l'aboutissement de 2 voies différentes appelées extrinsèque et intrinsèque.
 - **Formation de thrombine** : ou la transformation de prothrombine en thrombine par le complexe prothrombinase.
 - **Formation de fibrine** : ou la transformation du fibrinogène en fibrine.

- **La fibrinolyse** (48 à 72 H) permet la dissolution du caillot de fibrine et retour de la circulation à la normale.

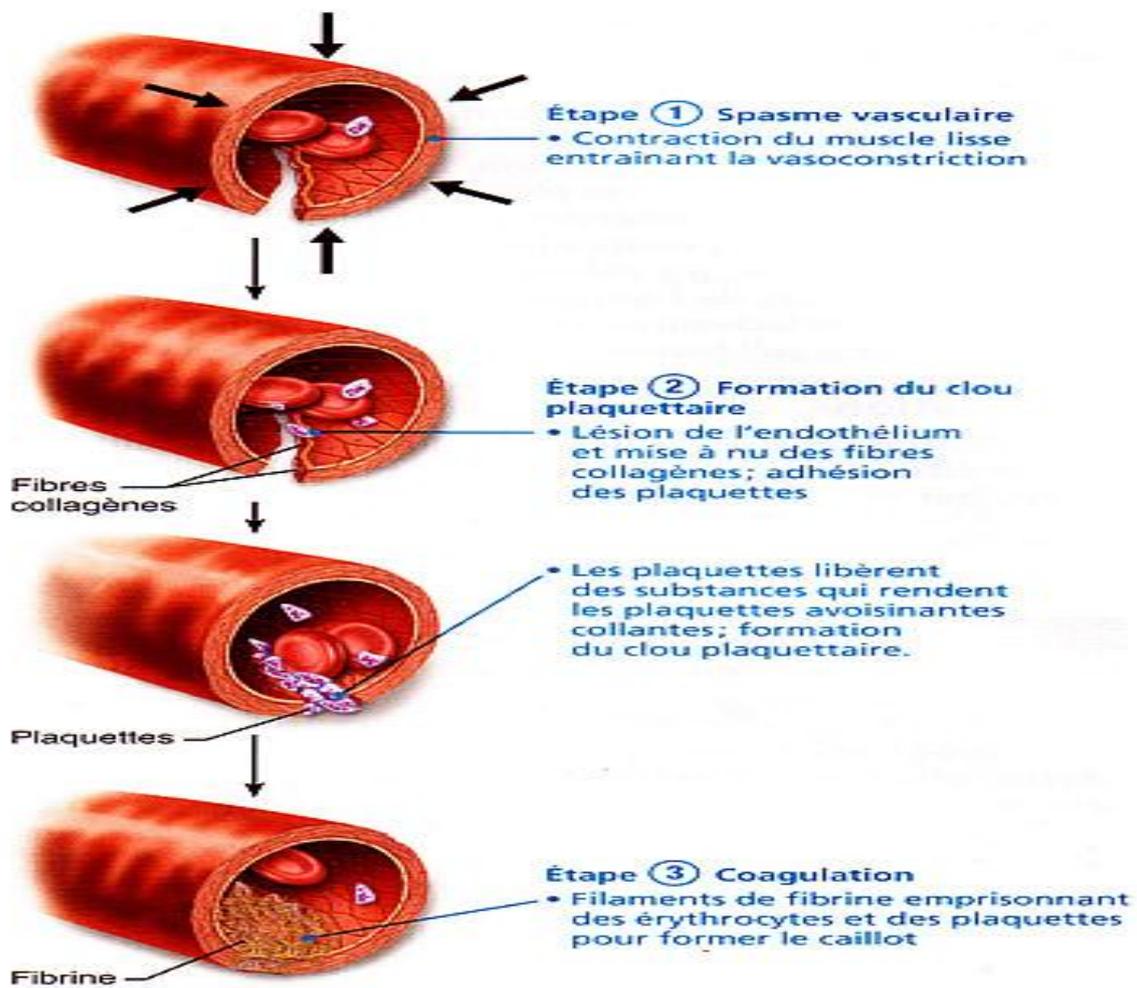


Figure 2 : les étapes de l'hémostase.

1. FACTEURS DE COAGULATION DU SANG

Les facteurs de coagulation sont des glycoprotéines synthétisées dans l'hépatocyte et sont définis par un nom, et par un chiffre romain.

Ces facteurs sont activés au cours du processus de coagulation et sont alors désignés par leur numéro accompagné de « a » pour activer. Un facteur activé sera « actif », il va activer un autre facteur de réaction en cascade (Figure 2). Les deux voies de coagulation, extrinsèque et intrinsèque font intervenir des facteurs distincts pour aboutir à la transformation du fibrinogène en fibrine (1).



Figure 3 : la maîtrise de l'équilibre d'hémostase

Les principaux facteurs participant au processus de la coagulation sont les plaquettes et les facteurs de la coagulation. Ils se trouvent dans le plasma, au nombre de 13 (annexe 1), du facteur I (fibrinogène) au facteur XIII (facteur stabilisant de la fibrine).

2. PRINCIPALES MALADIES DE L'HEMOSTASE

Les troubles de l'hémostase sont soit primaires comme la Thrombocytopénie ou maladie de von Willebrand, ou secondaires comme l'hémophilie A ou B, le déficit en vitamine K ou l'insuffisance hépatocellulaire.

a. Thrombopathies : constitutionnelles ou acquises, correspond à un désordre d'une fonction plaquettaire. Elle est évoquée devant des saignements cutanéo-muqueux inexpliqués associés à une numération plaquettaire normale, un TCA et un TP normaux.

b. Maladie de von willebrand : c'est la plus fréquente due à un déficit quantitatif ou qualitatif du vWF ,cette dernière est une protéine qui permet l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium ,elle est transmise selon un mode autosomal dominant et touche les deux sexes..

c. Hémophilie :se divise en 2 types :

- ✚ hémophilie A :due à un déficit en facteur VIII (la plus fréquente)
- ✚ hémophilie B :due à un déficit en facteur IX

d. Hypovitaminose K :une carence en vitamine K entraine une synthèse des facteurs vitamine k- dépendantes(VII,FIX,PS,PC) non fonctionnelles. Elle affecte les activateurs et les inhibiteurs de la coagulation, elle se traduit par des saignements .

e. Coagulation intravasculaires disséminées (CIVD): est une activation pathologique de la coagulation le plus souvent liée à une expression en excès de FT .Cette surexpression de FT se traduit par une génération incontrôlée de thrombine qui entraîne une consommation des facteurs de coagulation (2).

3.PARAMETRES DE L'HEMOSTASE

Les paramètres de l'hémostase sont conçus pour explorer globalement l'hémostase primaire et les deux voies de la coagulation (Figure 3)

- **Numération plaquettaire :**les plaquettes sont des cellules clés de la coagulation. Elle interviennent dans l'hémostase primaire pour participer à la formation du « clou plaquettaire » en cas de saignement. Le taux normal de plaquettes : 150 à 400 G/L.
- **Temps de saignement (TS) :** c'est le temps nécessaire à l'arrêt du saignement après une incision superficielle de la peau du patient. Il y a deux techniques :
 - ✚ **Technique d'Ivy :** avant-bras 3 points de pique ou incision de 1 cm, sous pression 50 mmHg. Le temps normal TS <10 min
 - ✚ **Technique de duke :** réalise au lobe de l'oreille. Le temps normal TS<5 min.
- **Temps de prothrombine (TP) et temps de Quik (TQ) :** explorer la fonctionnalité de l'ensemble des facteurs de la voie exogène et la voie commune.

- **Temps de céphaline activé (TCA) ou temps de céphaline kaolin (TCK) :** explore la fonctionnalité de l'ensemble des facteurs de la voie endogène et la voie commune.
- **Fibrinogène et D-Dimères :** le premier explore l'hémostase secondaire et le deuxième explore la phase de fibrinolyse
- **Temps de thrombine (TT) ou temps de reptilase :** explore la fibrinofomation mesurée par le temps de coagulation d'un plasma sanguin citraté lors de l'ajout de venin, la reptilase qui transforme la fibrinogène en fibrine. Ce paramètre est sensible à la présence d'inhibiteur (antithrombine) (3).

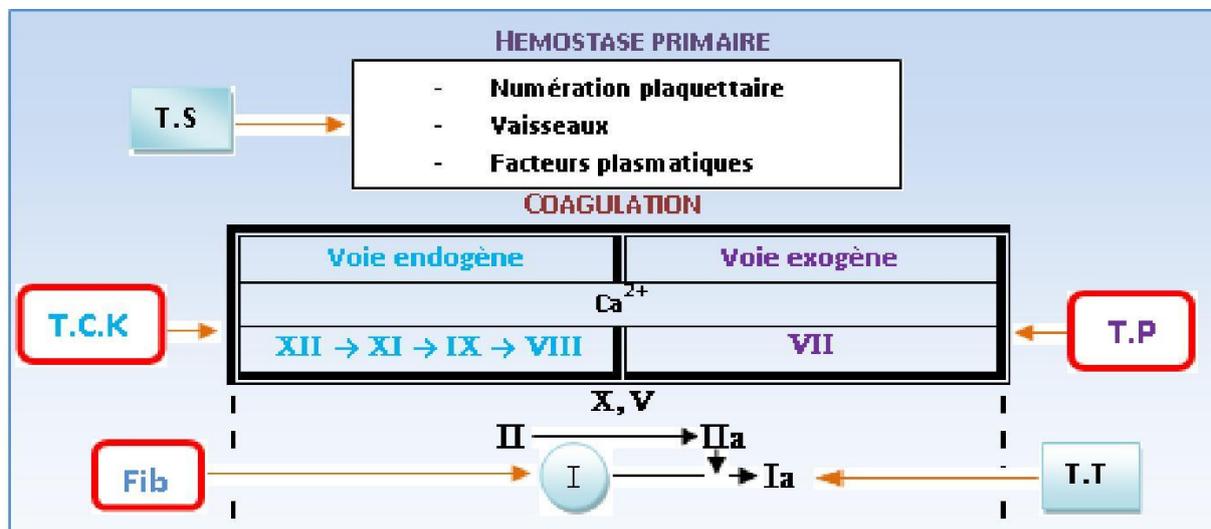


Figure 4 : exploration de l'hémostase (TP,TCK,Fib)

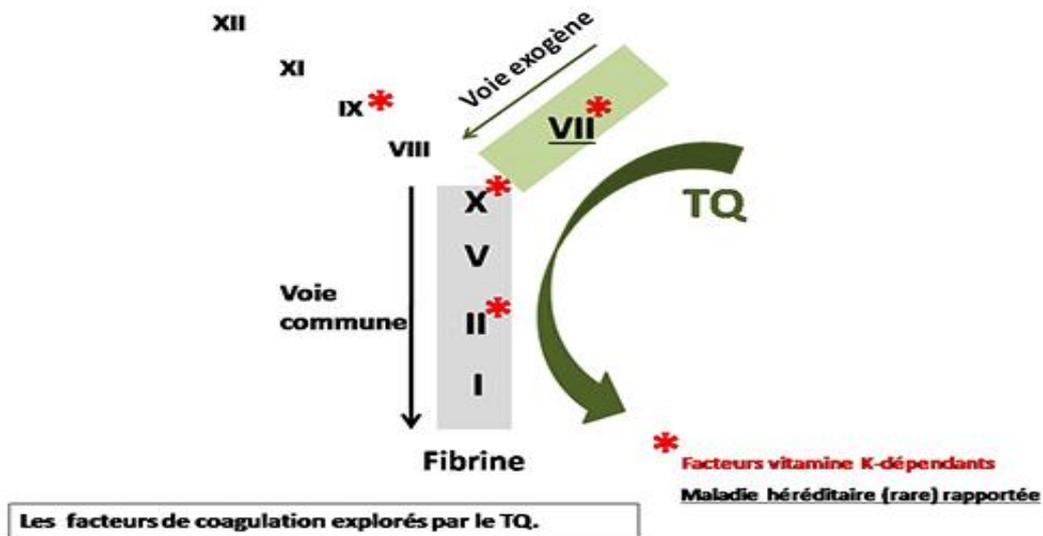
Parmi tous ces paramètres nous avons s'intéresser à quatre les plus demandés au laboratoire d'analyses :

3.1.Temps de prothrombine(TP) ou temps de Quik(TQ)

Le temps de prothrombine ou temps de Quik c'est le test globale d'exploration de la coagulation extrinsèque ou voie exogène et la voie commune (Figure). Il renseigne sur l'activité des facteurs II,V,VII et X de la coagulation

Le Temps de Quik est le temps de coagulation à 37 °C d'un plasma sanguin citraté, déplaquetté et recalcifié en présence de thromboplastine calcique (contenant du facteur

tissulaire et des phospholipides en large excès). Ce temps est exprimé en secondes par rapport au temps obtenu pour un plasma témoin.



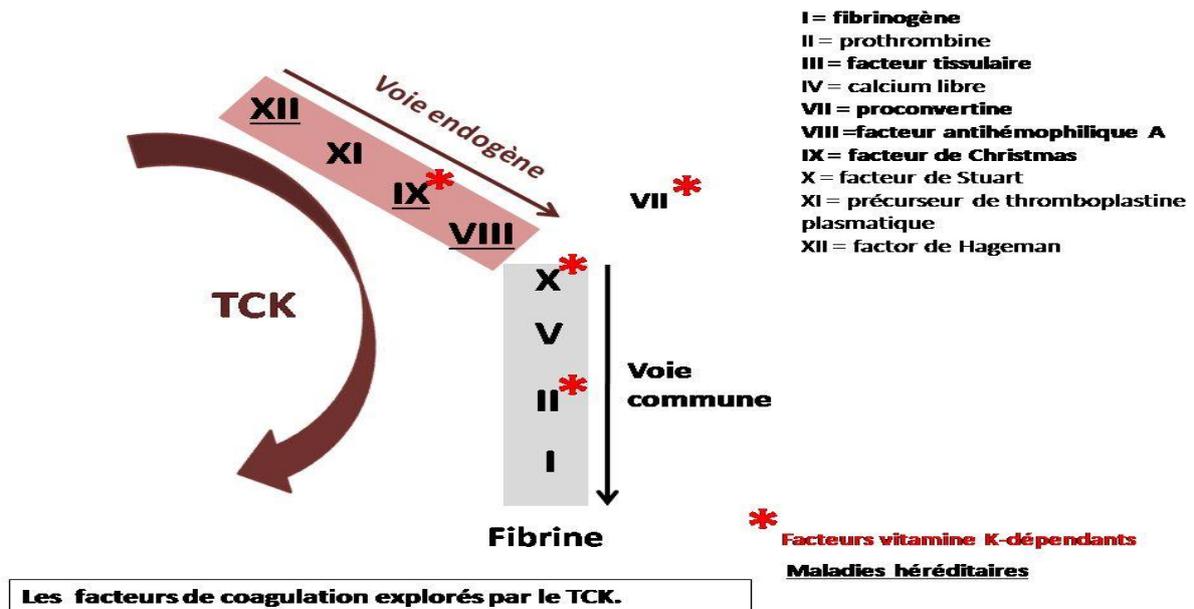
Un allongement du TQ est observé dans les situations cliniques suivantes :

- Insuffisance hépatique (hépatites, cirrhoses, ictères) ;
- Déficits congénitaux ou acquis en facteurs II,V,VII ,X et fibrinogène ;
- Consommation excessive d'AVK ;
- Fibrinolyse ;
- Hypovitaminose K : carence d'apport, malabsorption ;
- CIVD

Chez les personnes sous anticoagulants par antivitamine K (AVK), le résultat est exprimé en INR(International Normalized Ratio) qui correspond au rapport entre le temps de Quik du patient et le temps de Quik du témoin.

3.2. Temps de céphaline activé (TCA)

C'est le temps de coagulation à 37°C d'un plasma sanguin recalcié en présence de céphaline (substitut plaquettaire) et d'un activateur particulière (silice, kaolin).Il explore la voie intrinsèque de la coagulation et le voie commune (les facteurs VII,IX,XI,XII ,II,V,X,I).



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

- Déficit en l'un des facteurs VIII, IX, XI, XII, en PK, KHPM ;
- Insuffisance hépatiques ;
- CIVD ;
- Carence en vitamine K ;
- Traitement par héparine .

3.3. Fibrinogène (Fib).

Le fibrinogène sous l'action de la thrombine se transforme en fibrine, une protéine insoluble essentielle à la coagulation du sang. Il joue un rôle important dans la formation de caillot, module l'activité des plaquettes sanguines et maintient l'intégrité de la paroi vasculaire. Le fibrinogène est synthétisé par les cellules du foie, il intervient aussi dans les inflammations.

Une augmentation du taux de fibrinogène est un facteur de risque cardiovasculaire fort et indépendant, cette augmentation peut être observée dans les situations cliniques suivantes :

- Inflammation, infection
- Cancer

Une diminution de la concentration en fibrinogène peut s'observer au cours de plusieurs situations :

- Insuffisance hépatique
- CIVD
- Médicaments ou substances antithrombine (héparine..).

3.4.D-dimères

Les D-dimères sont produits lors de la dégradation de la fibrine par le système fibrinolytique qui est activé dès la formation d'un thrombus.

Les trois enzymes responsables de la dégradation sont : la thrombine, le facteur XIII et la plasmine.

III. 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. Le bilan préopératoire a pour but de contrôler les fonctions hémostatiques avant toute opération. Il est recommandé pour dépister une quelconque anomalie de l'hémostase susceptible d'engendrer des troubles pendant et après l'intervention chirurgicale.

Les tests biologiques demandés dans un bilan préopératoire sont la numération de la formule sanguine (NFS) mais ce qui nous intéresse c'est la numération plaquettaire, le TP, le TCK et le fibrinogène. Ces tests permettant d'étudier l'hémostase, ils sont demandés dans deux situations :

- Dans le cadre de troubles cliniques de l'hémostase, syndromes hémorragiques ou thrombotiques, pour diagnostiquer l'origine de ces troubles.
- Chez la femme enceinte, la décision du mode d'accouchement, reste à l'appréciation de l'obstétricien et tient compte des risques pour le bébé et sa mère (4).

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.

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

1. HEPARINO – THERAPIE

L'héparine est un mucopolysaccharide sulfaté naturel, extrait d'organes animaux. Il y a deux sortes d'héparine : l'héparine non fractionnée (HNF) ou standard (HS) et l'héparine de bas poids moléculaire (HBPM).

L'héparine est un anticoagulant administrée par voie sous-cutanée ou intraveineuse, d'action immédiate, active l'antithrombine III dont elle augmente l'action inhibitrice vis-à-vis des sérine-protéases, 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. L'HS inhibe en effet deux facteurs de coagulation : la thrombine, le facteur X alors que l'HBPM leur activité anticoagulante est due à leur fixation à haute affinité à l'antithrombine III, elle accélèrent l'inactivation du facteur Xa (5).

2. TRAITEMENTS AUX ANTIVITAMINES K (AVK)

Il existe plusieurs antagonistes de la vitamine K, répartis en 2 types : dérivées de la coumarine et les dérivés de l'indane-1,3-dione. Ils diffèrent selon leur délai et durée d'action.

Les AVK sont des anticoagulants oraux « indirects » qui ont pour but de s'opposer à la formation du caillot de fibrine et l'*inhibition de la synthèse hépatique des facteurs de la coagulation vitamine K dépendants* (facteurs II, VII, IX, X, protéines C et S). Du fait de ce mécanisme d'action, ils nécessitent un certain délai avant d'être efficaces. Ils traversent la barrière placentaire, et sont généralement bien réabsorbés par voie digestive.

Les traitements par anticoagulants, et les facteurs qui influencent sur 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 :

- à l'étendue du risque thrombotique, en cas de dose insuffisante.
- à l'étendue du risque hémorragique, en cas de dose élevée.
- à l'anticoagulant : nature, mode et rythme d'administration.
- Au sujet lui même : âge, mode de vie, alimentations, pathologies et traitements associés ...

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODE

I. MATERIEL

Notre étude consiste en une analyse d'hémostase ayant porté sur 439 patients effectuant un prélèvement sanguin réalisé dans le service hématologie de l'hôpital Militaire Molay Ismail Meknès , durant une période de 7 semaines du 01/04/2019 au 20/05/2019. Nous avons assisté et partiellement participé aux différentes étapes des analyses d'hémostase, depuis la réception des prélèvements des patients jusqu'à la transmission des résultats aux patients externes ou aux infirmiers pour les patients hospitalisés.

II. METHODE

a. Appareillage utilisé

Les prélèvements sanguins sont analysés à l'aide de :

- **Automate Sysmex xt 2000 i** (Figure 5). Cet automate permet la numération des éléments figurés du sang (GR, GB, Plq). Le calcul de l'hématocrite, le dosage d'hémoglobine et éventuellement l'établissement de la formule leucocytaire. Pour notre travail nous nous sommes intéressés plutôt aux plaquettes sanguines qui évaluent l'hémostase primaire. Cet appareil contient des racks où on met les tubes sanguins qui passent d'une manière automatique. Chaque rack porte 10 tubes.



Figure 5 : Appareil SUSMEX XT 2000i

- **Automate STA Compact** (Figure 6) : il est utilisé pour les tests de base de la coagulation (TP, TCK , Fib, D-Dimères), en analysant le plasma obtenu par centrifugation. Cet appareil détermine automatiquement le temps de prothrombine (TP), le temps de chépaline activé (TCA), la concentration de Fibrinogène et aussi la valeur de D-Dimères. L'automate STA Compact utilise des réactifs appropriés (annexe 2).



Figure 6 : Appareil STA Compact

b. Méthode expérimentale

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 démarre et se termine par le patient, il est subdivisé en trois phases : phase pré-analytiques, phase analytique, phase post-analytique (après l'analyse) (Figure 7).

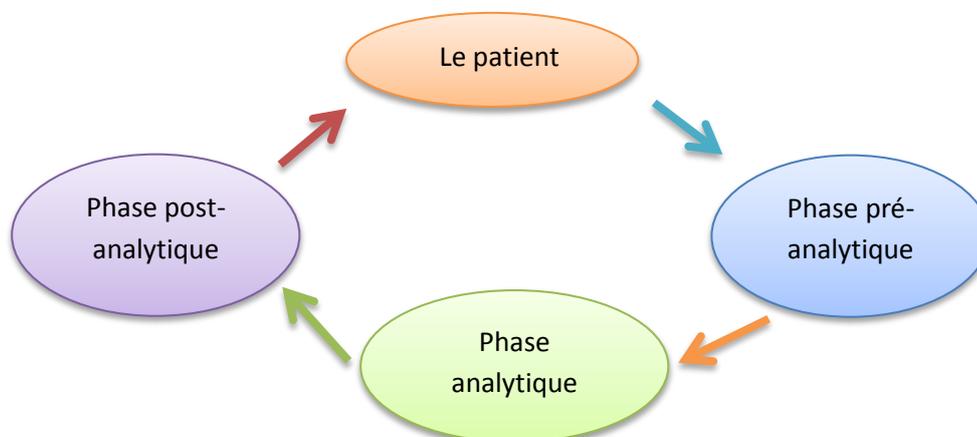


Figure 7 : processus de test total

1. PHASE PRE-ANLYTIQUE

C'est l'ensemble des facteurs qui peuvent influencer le résultat d'un échantillon avant l'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

Les patients accédant à l'hôpital Militaire Molay Ismail Meknès pour effectuer les analyses d'hémostase, sont soit des gens qui viennent de l'extérieur de l'hôpital, qui doivent d'abord remplir les journalies administratives et se diriger vers la salle des prélèvements, soit des malades hospitalisés qui sont pris en charge par les infirmiers qui s'occupent des prélèvements et apportent les tubes des patients vers le laboratoire de l'hématologie

1.2.Prélèvement sanguin

Il s'effectue à la salle des prélèvements durant toute la matinée. Après avoir rempli tous les informations du patient et il attend que son tour arrive et se dirige vers la salle des prélèvements d'où l'infirmière prend des échantillons de sang. Ces prélèvements s'effectuent en suivant les étapes bien précises (annexe 3). Un code couleur international pour les tubes de prélèvement (annexe 4), doit être obligatoirement respecté et également respecté les principes de sécurité et d'hygiène.

2. PHASE ANALYTIQUE

Pour réaliser cette étape, on utilise l'automate STA Compact pour les tests de base de la coagulation sanguine.

2.1. Mode opératoire

➤ Echantillon :

Classiquement, les tests d'hémostase (TP, TCK, Fib, D-Dimères) sont réalisés à un sujet qui peut ne pas être strictement à jeun.

Le prélèvement se fait en utilisant un tube contenant comme anticoagulant le citrate de sodium à 3,8%, en respectant la proportion d'un volume d'anticoagulant pour neuf volumes du sang (bien remplir le tube jusqu'au trait supérieur). On le centrifuge à 2500 tpm pendant 20 min pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes (Figure 8). Le test doit être effectué dans un délai n'excédant pas 4 heures après le prélèvement.

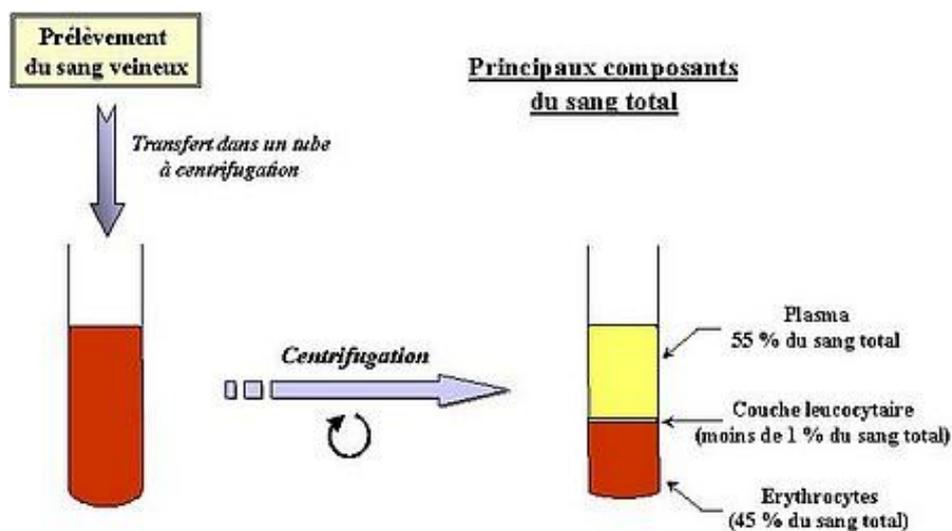


Figure 8 : tube citaté après centrifugation

2.1.a. Taux de Prothrombine (TP) et Taux de Quik (TQ)

D'abord l'automate passe en mode chauffage après l'allumage ,pour atteindre la température 37°C. Cela peut prendre 30 min .Quand la température atteint 37°C l'automate est prêt pour effectuer les analyses. Après on suit les étapes suivantes :

- ✓ Placer le réactif du TP (Néoplastine) dans les puits de réactif au moins pendant 10 min.
- ✓ Pipeter 50 µl de l'échantillon dans la cupule à réaction.
- ✓ Mettre la cupule de réaction dans les puits de lecture destiné à mesurer le TP .
- ✓ Appuyer sur Start, ceci déclenche l'incubation pendant 2min .
- ✓ A 0s un long bip est émis. A ce moment il faut ajouter 100 µl du réactif du TP .
- ✓ Une fois le réactif additionné la réaction commence et le chronomètre démarre et le résultat sera affiché à la fin de l'analyse.

2.1.b. Temps de céphaline activé (TCA) ou Temps de céphaline kaolin (TCK)

après l'allumage de l'automate, on suit les étapes suivantes :

- ✓ Placer le réactif TCK et CaCl₂ dans l'incubateur réactif et laisser 10 min.
- ✓ Pipeter 50 µl de l'échantillon et mettre pour l'incubation
- ✓ Appuyer sur start, après 10s pipeter 50 µl du réactif TCK.
- ✓ A 0s ajouter le réactif et fermer le couvercle .

- ✓ Quand le compteur atteint 10s pipeter 50 µl de CaCl₂.
- ✓ La détection commence et le résultat sera affiché en fin de la réaction.

2.1.c. Dose du Fibrinogène

après l'allumage de l'automate, on suit les étapes :

- ✓ On effectue une dilution 1/10 : ajouter 100 µl d'échantillon de plasma d'un tube et additionner 900 µl du tampon (diluant parmi les réactifs du fibrinogène).
- ✓ Agiter l'ensemble par le vortex , puis rajouter 200 µl de cette dilution dans une cupule.
- ✓ Rajouter 200 µl du réactif du fib
- ✓ Le résultat sera affiché

2.1.d. Dosage semi quantitatif du D-Dimères

Dans une plaque spécifiques pour ce dosage on met dans une zone :

- ✓ 20 µl du plasma
- ✓ 20 µl de D-Di test lotex (réactif de D-Dimères)
- ✓ Mélanger à l'aide d'agitateur
- ✓ Agiter le contenu de la zone du plaque pendant 2 min.
- ✓ Observer L'apparition éventuelle d'agglutinations :
 - ❖ Présence d'agglutination (test positive) : taux de D-Dimères $\geq 0,5 \mu\text{g/ml}$.
 - ❖ Absence d'agglutination (test négative): taux de D-Dimères $< 0,5 \mu\text{g/ml}$

3. PHASE POST ANALYTIQUE

a. Temps de prothrombine (TP) et Temps de Quik (TQ)

TQ s'exprime par comparaison à un témoin , Il varie entre 11s et 13s .Habituellement on exprime le TQ en pourcentage par rapport à un plasma normal.On l'appelle alors Taux de prothrombine ou TP qui varie entre 70% et 100 % .

 **Augmentation du TP** (valeurs supérieures à 100%).

Les taux supérieurs à 100% n'ont pas de signification pathologiques ,et sont considérés comme normaux.

 **Diminution du TP** (valeurs inférieures à 70 %).

Les taux inférieurs à 70 % ,peuvent orienter vers :

- Un déficit en facteurs II ,V ,VII, X
- Une atteinte hépatique, un traitement anticoagulant par AVK
- La présence d'anticoagulants circulants (anti II ,V ,VII, X)
- Une hypofibrinogènie

Au cours des traitements anticoagulants oraux (AVK) ,la zone thérapeutique du TP varie en fonction des réactifs utilisés de 15% 35% . pour remédier à ce manque de standardisation , il est actuellement proposé d'exprimer les résultats en INR qui tient compte des différences de réactifs et permet de standardiser les résultats grâce à l'introduction d'un coefficient qui sera fourni par chaque fabricant de réactif.

La zone thérapeutique de l'INR est comprise entre 2 à 3.

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

ISI :Indice de sensibilité international ,spécifique du réactif thromboplastine utilisé

b. Temps de céphaline activé (TCA)

Le taux de TCK est exprimé en secondes par rapport au témoin. Les valeurs sont très variables selon les réactifs utilisés, pour notre réactif utilisé dans le laboratoire le témoin est 35s. Les valeurs normales sont situées entre 24s et 35s, un temps inférieur à 35s n'a habituellement pas de signification pathologique.

La zone thérapeutique du TCK chez un malade sous héparine se situe généralement entre 1,5 à 2 fois le temps de témoin : 51s à 68s.

L'allongement du TCK est interprété en fonction des résultats du temps de Quik

- TCK allongé et le temps de Quik normal :
 - Si l'allongement du TCK est corrigé par l'addition du plasma normal à parties égales,on cherchera alors un déficit éventuel respectivement en facteur anti hémophilie A (VIII), anti hémophilie B (IX) et en facteur (XI);car les hémophilies A ou B représentent la grande majorité des déficits congénitaux de la voie intrinsèque.

- Si l'allongement du TCK n'est pas corrigé par l'addition du plasma témoin normal à parties égales ,on cherchera un anticoagulant circulant ou syndrome anti-phospholipide
- TCK allongé et temps de Quik allongé :
 - Insuffisance hépatique sévère.
 - Afibrinogénémie congénitale(6).

c. Dosage de fibrinogène (Fib)

Les valeurs normales du fibrinogène dans le sang sont comprises entre 2 et 4 g/L.

Une augmentation du fibrinogène de plus de 5 g/L peut traduire différents problèmes.Elle est rencontrée dans les syndromes inflammatoires.

Toute augmentation du Fib modifie la viscosité du sang, le potentiel de thrombose et donc le risque cardiovasculaire. Un taux élevé correspond à un risque plus élevé de développer un caillot sanguin.

Un taux de Fib inférieur à 1,5 g/L peut être lié à une diminution de synthèse ou une augmentation de consommation.Cette diminution peut être la traduction d'une maladie génétique,d'une insuffisance hépatique grave ou troubles de la coagulation (7).

d. Dosage de D-Dimères

La concentration de D-dimères dans le sang est normalement inférieure à 0 ,5g/ml.

L'augmentation de cette concentration peut être due d'embolie pulmonaire et de thrombose veineuse.

La présence de D-dimères ne signifie pas obligatoirement présence de thrombose. En effet on peut observer une élévation des D-dimères :

- Grossesse .
- Les phénomènes inflammatoires.
- L'âge (8).

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

1.Répartition des patients internes (hospitalisés) et externes

Notre étude durant la période du 01/04/2019 au 20/05/2019, au sein du laboratoire de l'hôpital Militaire Molay Ismail de Meknès a porté sur 439 patients , comprenant 219 patients externes et 220 proviennent des différents services de l'hôpital.

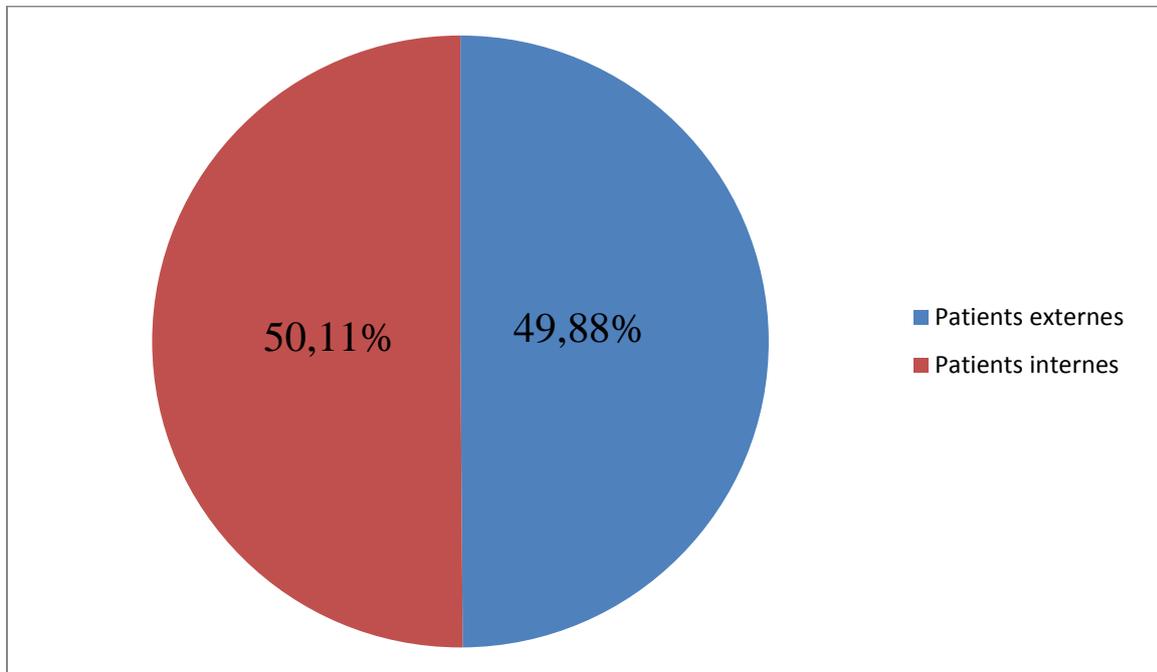


Figure 9 : Répartition des patients externes et internes

2.Répartition des patients selon les services de l'hôpital.

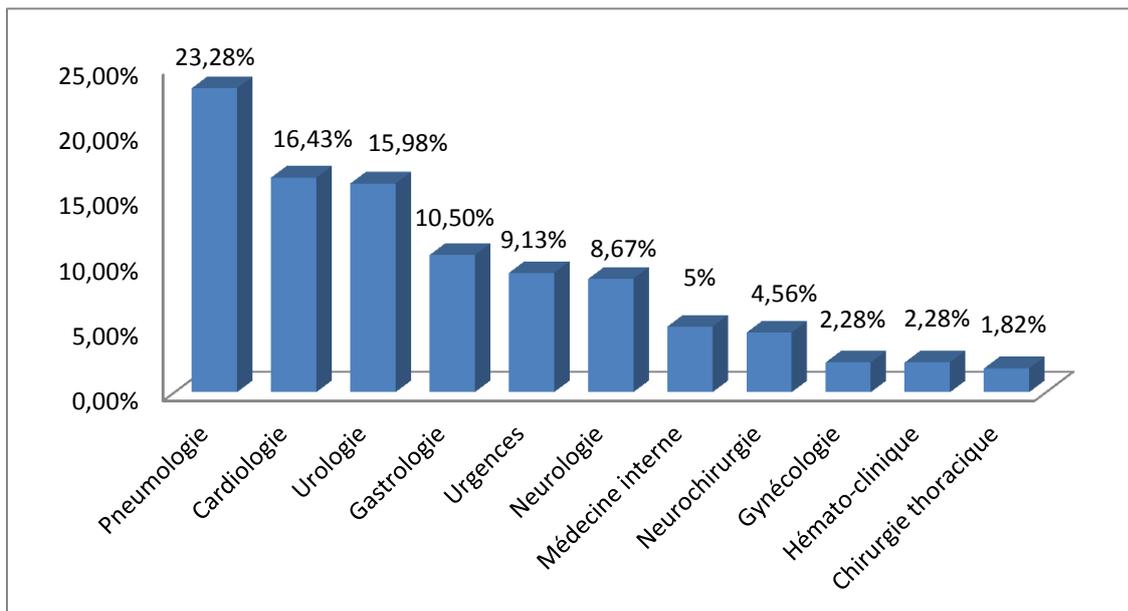


Figure 10 : Histogramme de la répartition des patients selon les services

Cet histogramme montre que la majorité des prélèvements (23,28%) proviennent du service de pneumologie suivi par la cardiologie (16,43%) et l'urologie (environ 16%).

Ce qui explique l'intérêt du bilan d'hémostase réalisé systématiquement le dépistage du risque hémorragiques dans une chirurgie cardiaque et aussi lors d'une embolie pulmonaire ou de thrombose veineuse.

3. Répartition des patients en fonction du sexe

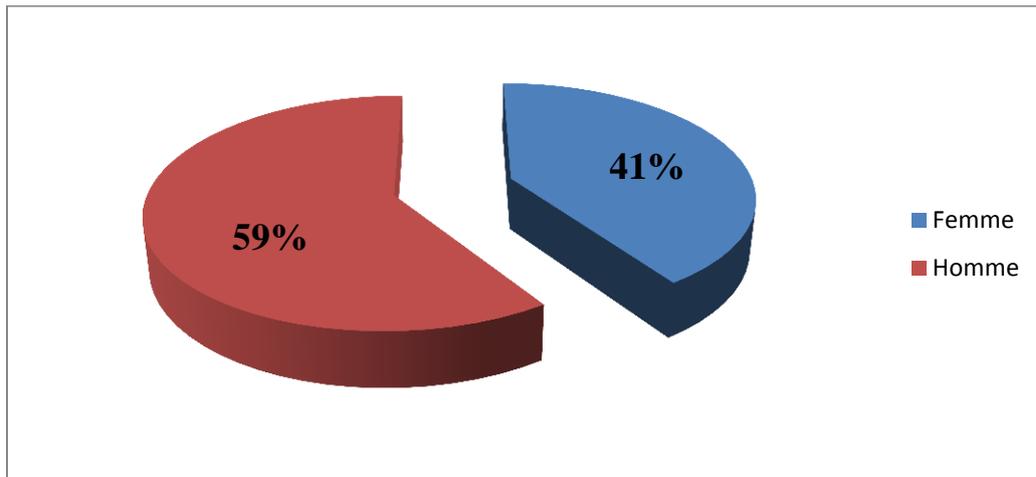


Figure 11: Répartition des patients selon le sexe

La répartition des patients selon le sexe montre que 59% sont des hommes et seulement 41% sont des femmes.

4. Répartition des patients en fonction de la valeur de l'INR

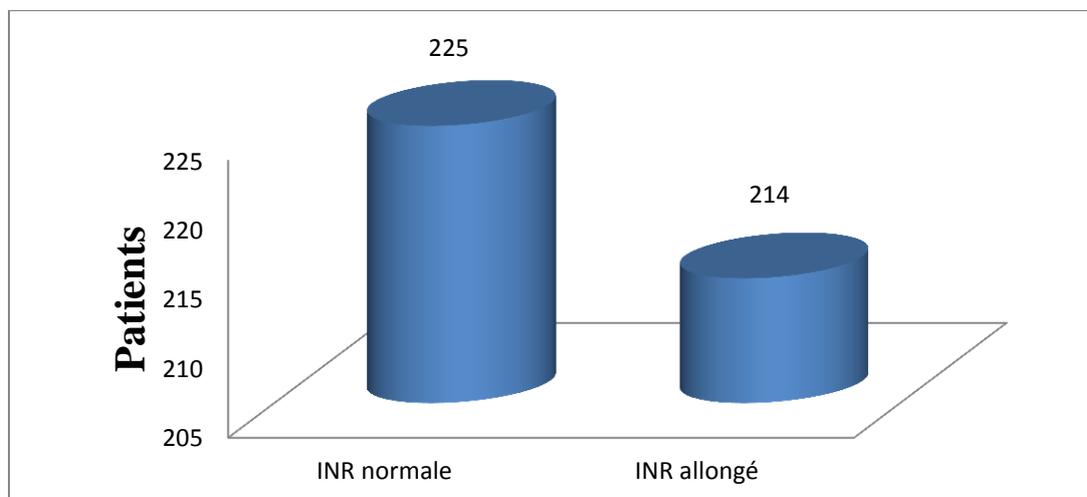


Figure 12 : Histogramme de la répartition des patients selon la valeur d'INR

D'après la figure 11 nous avons remarqué que les résultats d'INR sont inversement proportionnels aux résultats de Temps de Prothrombine quand l'INR augmente le TP diminue.

Rappelons que la norme thérapeutique de l'INR est comprise entre 2 et 3.

Ce test est le seul utilisé pour suivre les patients traités par anti-vitamine K (AVK) afin d'adapter les posologies pour obtenir un INR cible. Les AVK sont prescrits dans environ 80% des cas pour une indication cardiologique. Dans ce cas, un INR compris entre 2 et 3 est recherché, avec une valeur cible de 2,5 ; alors qu'un INR inférieur à 2 représenté un risque thrombotique et à un INR supérieur à 3 correspond à une dose trop forte, avec un risque potentiel d'hémorragie (patient trop anti-coagulé). Le patient doit idéalement passer plus de 70% du temps sous traitement par AVK dans la zone thérapeutique. Un traitement équilibré correspond à un INR stable retrouvé lors des contrôles consécutifs pour une même dose(9).

5. Résultats de Fib et de D-Dimères

Notre étude a montré que seule 9 patients ont fait le test de D-Dimères, et 12 patients font le test de fibrinogène. Un exemple de résultat de D-Dimères (Figure 12).

Service : 24

ROYAUME DU MAROC
FORCES ARMÉES ROYALES
HOPITAL MILITAIRE
MOULAY ISMAIL
MEKNES

Prénom : [Redacted] Grade : 24 Mle :
Nom : [Redacted] Corps : Degré de parenté :

EXAMEN DEMANDE	REPOSE DU SPECIALISTE
D - Dimères	D-Di < 0,5 ug/ml absence d'agglutination
A Meknès, le : Le médecin	A Meknès, le : 16/5/2019 Le médecin spécialiste

H.M.M.I. BPS 15 - Tél. : 05.35.51.73.95/97 Fax : 05.35.51.73.99 Modèle 30/HMMI

Figure 13 : Résultat d'un patient mesurant le D-Dimères

CONCLUSION GENERALE

le stage que j'ai effectué au sein du laboratoire d'hématologie de l'hôpital Militaire Molay Ismaï Meknès, m'a permis de montrer mes capacités à s'intégrer dans un travail d'équipe, il m'a offert une vision proche de la réalité du monde de la santé. Ce stage m'a également permis d'améliorer mes connaissances pratiques et de faire le lien entre la théorie acquise au cours de mon cursus universitaire et l'application dans le milieu professionnel. J'ai pris ainsi connaissance des protocoles expérimentaux pour la réalisation des analyses, et également du matériel nécessaire pour la réalisation de ces analyses et de l'interprétation des résultats.

Mon travail de PFE « Evaluation globale de l'hémostase », m'a permis de confirmer l'intérêt pratique des tests du temps de prothrombine (TP), du temps de céphaline activé (TCA) et du dosage de 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, le médecin, le biologiste et le pharmacien, qu'on peut aussi qualifier par, les trois points du triangle 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 et nous avons constaté que la sensibilité à l'anti-coagulant varie d'une personne à l'autre et peut changer au cours du traitement. Le médecin doit contrôler régulièrement l'évaluations lors des visites et prescrire la posologie qui correspond aux besoins du patient.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) : **DOUGNON V** et **HOUNGUE C** (2008), *Importance du prélèvement sanguin en hémostase : observation faites au cnhu de contonou.*

(2) : **Université Médicale Virtuelle Francophone** (2010-2011), *trouble de l'hémostase et de la coagulation.*(Article).

(5) : **Dr YANNICK B** , (CHU de Dijon), 15 juin 2011.

(6) : **SELOUAN F.Z** (2013-2014), *les tests hématologiques sérologiques, effectués au sein du laboratoire du centre hospitalier el ghassani de fès.*(Thèse).

(7) : **DAVID B** , *guide pratique des analyses médicales* de Pascal Dieusaert-6^e édition- Edition Maloine –avril 2015.(Article).

(8) : **GHIRSTOPHE M, GIOLE O, ARNAUD P, MARC R** ,(2014) *Médecine & hygiène*

(9) : **AMINE L, CAMELIA M, PAMELA N A, VIRGINIE S,EMMANUEL C,IOANNIS N** (2016), *vérification de méthode : exemple de la mesure du TQ/TP/INR au laboratoire d'hématologie de lariboisière sur deux analyseurs STAGO 'STAR' : l'INR est-il paramètre robuste ?*

WEBOGRAPHIE

(3) : [NotreFamille.com/le bilan de l'hémostase](http://NotreFamille.com/le-bilan-de-l-hemostase)

(4) : [www.stago.fr/l'hémostase/Tests & clinique/Bilan pré-opératoire.](http://www.stago.fr/l-hemostase/Tests-&-clinique/Bilan-pre-operatoire)

ANNEXE 1

Les facteurs de coagulation

Facteurs de coagulation et substances apparentées			
N°	Nom	Origine	Fonction
I	Fibrinogène	Foie et plaquettes	forme des caillots (fibrine)
II	Prothrombine	Foie	active I, V, VIII, XI, XIII, protéine C, plaquettes. Vitamine K dépendant
III	Facteur tissulaire		Co-facteur VIIa
IV	Calcium	Plasma	
V	Proaccélélerine	Foie, plaquettes	co-facteur X.
VI	(accélélerine; ancien nom du Facteur Va)		
VII	Proconvertine	Foie	active IX, X. Vitamine K dépendant
VIII	Facteur antihémophile A	Foie	co-facteur IX
IX	Facteur Christmas ou facteur antihémophile B	Foie	active X. Vitamine K dépendant
X	Facteur Stuart-Prower	Foie	active II. Vitamine K dépendant
XI	Facteur Rosenthal, Antécédent de la thromboplastine plasmatique	Foie	active XII, IX and prékallikréine
XII	Facteur Hageman	Foie	active prékallikréine et fibrinolyse
XIII	Facteur fibrin-stabilizing	Foie, moelle osseuse	stabilise la fibrine
	Facteur de von Willebrand	Plaquettes et cellules endothéliales	lie VIII, intermédiaire de l'adhésion des plaquettes
	Prékallikréine ou Facteur Fletcher		active XII et prékallikréine ; scinde HMWK
	Kininogène de haut poids moléculaire (HPMK)		soutient l'activation réciproque de XII, XI, et prékallikréine
	fibronectine		médiateur adhésion cellulaire

ANNEXE 2

Les réactifs de l'automate STA Compact

Paramètres	Réactifs	Reconstitution	Stabilisation à T.A.	Stabilité à bord				
TP	STA®- Néoplastine® R * STA®- Néoplastine® Cl, Cl Plus	+ solvant + barreau blanc	30 minutes	5 j / Cap + Reducer 48 h / Cap + Reducer				
TCA	STA®- Cephascreen® 4 STA®- Cephascreen® 10	Réactifs prêts à l'emploi Homogénéiser avant utilisation		7 j / Cap + Reducer 10 j / Cap + Reducer				
	STA®- PTT Automate 5 *	+ 5 ml H ₂ O		24 h / Cap				
	STA®- C.K. Prest® 5 *	+ solvant + barreau rouge		24 h sur STA® & STA-R®, 48 h sur STA Compact® / Cap				
	Fibrinogène	STA®- Fib 2 STA®- Fibrinogen 5		+ 2 ml H ₂ O + 5 ml H ₂ O	4 j 5 j / Cap			
Temps de Thrombine	STA®- Thrombin 2	+ 2 ml H ₂ O		8 h				
Reptilase	STA®- Thrombin 10	+ 10 ml H ₂ O		7 j / Cap + Reducer				
Facteurs exogènes	STA®- Reptilase®	+ 2 ml H ₂ O		48 h				
Facteurs endogènes	STA®- Déficit II, V, VII, X	+ 1 ml H ₂ O		8 h				
	STA®- Déficit VIII, IX, XI, XII	+ 1 ml H ₂ O		4 h				
dRVV	STA®-Staclot® dRVV Screen (2 ou 5 ml)	+ 2 or 5 ml H ₂ O	60 minutes	72 h / Cap + Reducer				
	STA®- Staclot® dRVV Confirm	+ 2 ml H ₂ O		8 h				
Protéine C	STA®- Staclot® Protein C	+ 1 ml H ₂ O	60 minutes	21 j / Cap + Reducer				
Protéine S	STA®- Stachrom® Protein C	Venin : + 3 ml H ₂ O Substrat : + 6 ml H ₂ O		4 h				
RPCa	STA®- Staclot® Protein S	+ 1 ml H ₂ O	60 minutes	8 h				
	STA®- Staclot® APC-R *	+ 1 ml H ₂ O		7 j / Cap + Reducer				
Antithrombine	STA®- Stachrom® AT III * (3 ou 6 ml)	Thrombine (flacon 1) + solvant (flacon 3) Substrat (flacon 2) + 3 or 6 ml H ₂ O	60 minutes	7 j / Cap + Reducer				
Héparine / HBPM	STA®- Rotachrom® Héparin (4 ou 8 ml)	Substrat + 4 ou 8 ml H ₂ O Xa : solvant		7 j / Cap + Reducer				
HNF / HBPM	STA®- Staclot® Héparin 1	+ 1 ml H ₂ O		7 h				
Antiplasmin	STA®- Stachrom® Antiplasmin	Plasmin (flacon 1) + solvant (flacon 3) Substrat (flacon 2) + 6ml H ₂ O	60 minutes	8 j / Cap + Reducer				
Plasminogène	STA®- Stachrom® Plasminogen	+ 3 ml H ₂ O		7 j				
Protéine S libre	STA®- Liatest® Free PS 2 ml STA®- Liatest® Free PS 6 ml	Réactifs prêts à l'emploi Homogénéiser avant utilisation	15 minutes	32 h 5 j / Cap + Reducer				
	D-Dimères			STA®- Liatest® D-Di	15 j / Cap + Reducer			
Facteur von Willebrand	STA®- Liatest® vWF			15 j / Cap + Reducer				
Contrôles	STA®- System Control N+P STA®- Coag Control N+P STA®- Liatest® Control N+P	+ 1 ml H ₂ O	30 minutes	8 h 8 h 8 h				
	STA®- Control LA 1+2 STA®- Héparine Control STA®- Quality LMWH			8 h 4 h 4 h				
	Calibrants			STA®- Unicalibrator STA®- Hepanorm® H STA®- Calibrator LMWH	30 minutes	4 h		
	Réactifs auxiliaires			STA®- Owren-Koller STA®- CaCl ₂ 0.025 M		Prêt à l'emploi	Non	72 h / Pas de bouchon
				Solution				STA®- Desorb U

* Voir au recto

Les informations de ce document sont données à titre indicatif
Le document de référence est la notice incluse dans

Département Application Juin 2007
Réf: 27780

ANNEXE 3

Les étapes 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 1er 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 4

Ordre de prélèvement et les codes couleurs des tubes de prélèvements



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>IP-TCK-Fibrinogène. Facteurs de coagulation</i>
	Tube Fluore			Fluorure de sodium-oxalate de potassium	Biochimie : <i>Glycémie</i> Hématologie : <i>Hb1Ac</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 triptossique	H é m a t o l o g i e <i>NFS, Groupe sanguin.</i>
	Tube Citrate VS			Citrate de sodium	<i>Vitesse de Sédimentation (VS)</i>