



UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FÈS

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

PROJET DE FIN D'ÉTUDES

Licence en Sciences & Techniques

Sciences Biologiques Appliquées et Santé

(LST-SBAS)

**L'HÉMOSTASE ET LA SURVEILLANCE
DES MALADES SOUS ANTI VITAMINE K**

Présenté par : Mlle ABDI Khaoula

Encadré par : Pr. AZZOUZI Amal

FST Fès

Dr. ATINE Souad

CHP-Midelt

Soutenu le : Le lundi 4 juillet

Devant le jury composé de :

➤ Pr. AZZOUZI Amal

FST Fès

➤ Pr. TLEMÇANI Rachida

FST Fès

➤ Dr. ATINE Souad

CHP-Midelt

Année universitaire : 2021-2022

Stage effectué à : CHP - Midelt

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَمَا أَوْتِينَا مِنْ
الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا



Dédicaces

Je dédie ce travail à :

A Allah :

Puissant qui m'a inspiré, Qui m'a guidé dans le bon chemin et m'a donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste
Louanges et remerciements pour votre clémence et miséricorde.

A mes chers parents ma mère et mon père :

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements.

A mes frères et ma soeur

A mes amies et mes camarades

Sans oublier tout les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

Aux responsables, ainsi que l'ensemble du personnel du laboratoire de CHP de Midelt.



Remerciements

Je remercie les docteurs du laboratoire Dr. ATINE Souad et Dr. Sara, pour leur soutien technique, et pour le temps qu'ils m'ont consacré tout au long de cette période, sachant répondre à mes interrogations. Ainsi que tous les techniciens qui m'ont favorisé le cadre du travail.

Mes vifs remerciements s'adressent à mon encadrante Mme AZZOUZI Amal, enseignante à la Faculté Science et Technique Fès, pour son soutien, son accueil, son écoute, sa confiance et son aide.

Je remercie vivement le jury Pr. TELMCANI Rachida qui a accepté de juger ce travail malgré leurs obligations professionnelles. Nous avons eu la chance de compter parmi vos étudiants et de bénéficier de la qualité de vos enseignements.

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.

SOMMAIRE

Introduction	1
Objectif du travail	2
I- Revue bibliographique.....	3
1-Définition de l'hémostase :	4
2-L'hémostase primaire :	4
a) <i>Physiologie de l'hémostase primaire :</i>	4
b) <i>Acteurs de l'hémostase primaire :</i>	5
c) <i>Exploration de l'hémostase primaire :</i>	7
d) <i>Physiopathologie de l'hémostase primaire :</i>	7
3- L'hémostase secondaire (coagulation) :	8
a) <i>Physiologie de la coagulation :</i>	8
b) <i>Facteurs de coagulation :</i>	8
c) <i>Accélérateurs de la coagulation :</i>	9
d) <i>Inhibiteurs de la coagulation :</i>	9
e) <i>Facteurs consommés au cours de la coagulation :</i>	9
f) <i>Voies de la coagulation : (voie exogène et endogène):</i>	9
g) <i>Exploration de la coagulation :</i>	10
h) <i>Physiopathologie de la coagulation :</i>	11
4-Fibrinolyse:	11
a) <i>Physiologie de la fibrinolyse :</i>	11
b) <i>Activateurs et les inhibiteurs de la fibrinolyse :</i>	11
c) <i>Physiopathologies de la fibrinolyse :</i>	12
II-Matériel et méthodes.....	13
1-Matériel:	14
2-Méthode expérimentale:	16
a) <i>Phase pré-analytique:</i>	16
b) <i>Phase analytique :</i>	18
c) <i>Phase post analytique :</i>	21
III-Résultats et discussion	22

1-Répartition des patients en fonction du sexe, de l'âge et de répétition du test :	23
<i>a)Résultat de TP :</i>	25
<i>b)Résultat de TCA :</i>	25
2- Répartition des patients en fonction du sexe :	26
3- Répartition des patients selon les services :	26
IV-Traitement:	27
<i>a)Différents traitements d'avk :</i>	27
<i>b) Mécanisme d'action :</i>	27
<i>c) Caractéristiques pharmacocinétiques des avk :</i>	27
V-Conclusion:	29
Références bibliographie:	30
Références webographie:	31

LISTE D'ABRÉVIATIONS

- AC** : Anti-coagulant
- ADP** : Adénine diphosphates
- APTT** : Activated partial thromboplastine time
- ATP** : Adénine triphosphates
- AVK** : Anti-vitamine K
- EDTA** : Éthylènediaminetétraacétique
- FIB** : Fibrinogène
- FT** : Facteur tissulaire
- INR** : International normalized ratio
- N** : Normal
- NADH** : Nicotinamide adénine dinucléotide
- PDGF** : Facteur de croissance dérivé des plaquettes
- PF4** : Facteur plaquettaire 4
- PAI** : Inhibiteur de tissu plasminogen
- P** : Pathologique
- PC** : Proenzyme vitamine K-dépendante
- SE** : Sous -endothélium
- TP** : Taux de prothrombine
- TCA** : Temps de céphaline activé
- TQ** : Temps de Quick
- T-PA** : Tissue plasminogen activator
- TPHA** : Treponema Pallidum Hemagglutination Test
- U-TP** : L'urokinase
- VM** : Malformation vasculaire
- vWF** : Facteur von willebrand
- VDRL** : The venereal disease research laboratory

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : Les étapes de l'hémostase

FIGURE 2 : Les étapes de l'hémostase primaire

FIGURE 3 : Les plaquettes

FIGURE 4 : Les couches de la paroi des artères

FIGURE 5 : La voie intrinsèque de la coagulation

FIGURE 6 : La voie extrinsèque de la coagulation

FIGURE 7 : La voie finale de l'hémostase

FIGURE 8 : Ensembles des matériels utilisés pour les examens d'hémostase (TP, TCK)

FIGURE 9 : Centrifugeuse

FIGURE 10 : Tube citrate après centrifugation

FIGURE 11 : Processus du test total

FIGURE 12 : Les étapes du prélèvement

FIGURE 13 : Les étapes du contrôle de TP

FIGURE 14 : Les étapes du contrôle de TCA

FIGURE 15 : Histogramme de répartition des patients en fonction du sexe, de l'âge et de répétition des tests pour les femmes

FIGURE 16 : Histogramme de répartition des patients en fonction du sexe, de l'âge et de répétition des tests pour les hommes.

FIGURE 17 : Résultats d'un patient mesurant le TP

FIGURE 18 : Résultats d'un patient mesurant le TCA

FIGURE 19 : Diagramme de répartition des patients en fonction du sexe

FIGURE 20 : Diagramme de répartition des patients selon les services

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : Les facteurs de coagulation

TABLEAU 2 : Protocole des utilisations des réactifs de l'hémostase

TABLEAU 3 : Répartition des patients en fonction du sexe, de l'âge et de répétition du test

TABLEAU 4 : Les familles des AVK

TABLEAU 5 : Caractéristiques pharmacocinétiques des AVK

PRÉSENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCUEIL



Centre hospitalier provincial

hôpital Midelt

Le nouvel hôpital inauguré par le ministre de la santé, Houcine EL OUARDI, est doté de plusieurs unités dédiées la médecine générale, la gynéco obstétrique et la pédiatrie.

En plus d'un service des urgences, 2 salles de radiologie et un bloc opératoire

Il comprend également plusieurs laboratoires :

Laboratoire de biochimie

Laboratoire d'Hématologie

Laboratoire de Sérologie.

Il est équipé de matériel modernes, une morgue, une pharmacie et d'autres structures.

INTRODUCTION

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
- l'hémostase secondaire appelée aussi la coagulation plasmatique
- la fibrinolyse

Les analyses d'hémostase effectuées dans un laboratoire médical, 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 qui consiste :

- Le Taux de Prothrombine (TP),
- Le Temps de Céphaline Activé (TCA)
- Le fibrinogène (Fib)

En parallèle, nous avons assisté aux différentes phases d'analyses réalisées dans le cadre d'hémostase. C'est dans ce contexte que se situe mon projet de stage de fin d'études. Le rapport se décline en trois grandes parties:

- Revue bibliographique portant sur l'hémostase.
- Une partie expérimentale réalisée au cours de la mise en place de mon projet, comportant une description détaillée du travail réalisé, la méthodologie suivie et les différentes phases de la démarche.
- Partie résultats et discussion

OBJECTIF DU TRAVAIL

En effectuant ce stage, mon but a été :

- ✚ L'analyse bibliographique portant sur l'hémostase
 - ✓ Sa définition
 - ✓ Ses étapes
 - ✓ Sa physiologie
 - ✓ Son exploration
 - ✓ Ses acteurs
 - ✓ Ses différentes analyses
 - ✓ Ses physiopathologies.

- ✚ Partie expérimentale, consiste 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 des patients sous AVK.

I-REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1-Définition de l'hémostase :

Définition de l'hémostase : ensemble des mécanismes assurant :

- la prévention des saignements spontanés
- l'arrêt des hémorragies en cas de rupture de la continuité de la paroi vasculaire, la formation locale d'un caillot et sa dissolution.(figure 1) [1]

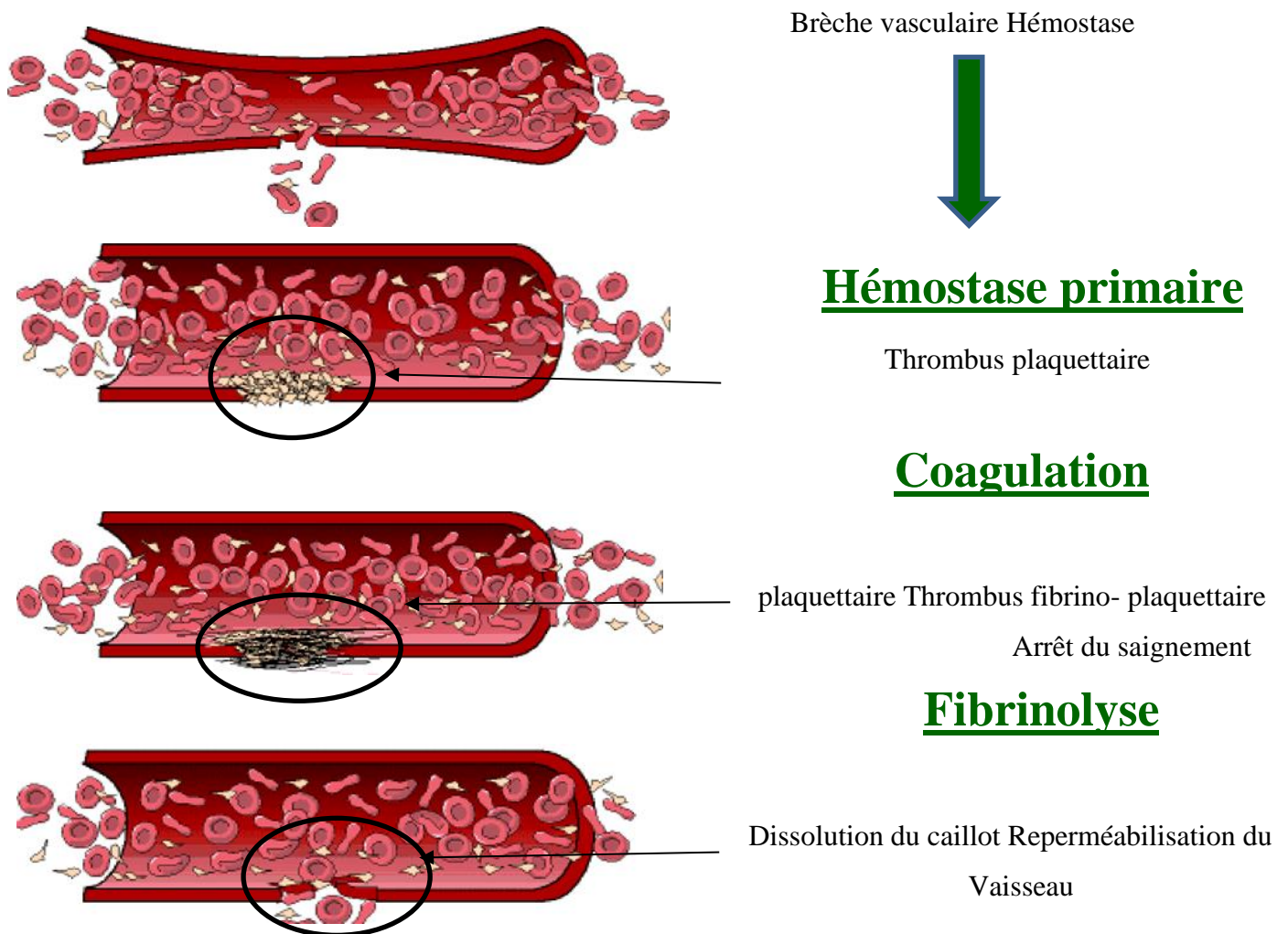


Figure 1: Les étapes de l'hémostase [17]

2-L'hémostase primaire :

a) Physiologie de l'hémostase primaire :

Elle correspond à l'ensemble de mécanismes qui va aboutir à la formation du clou plaquettaire.

(figure 2)

L'hémostase primaire

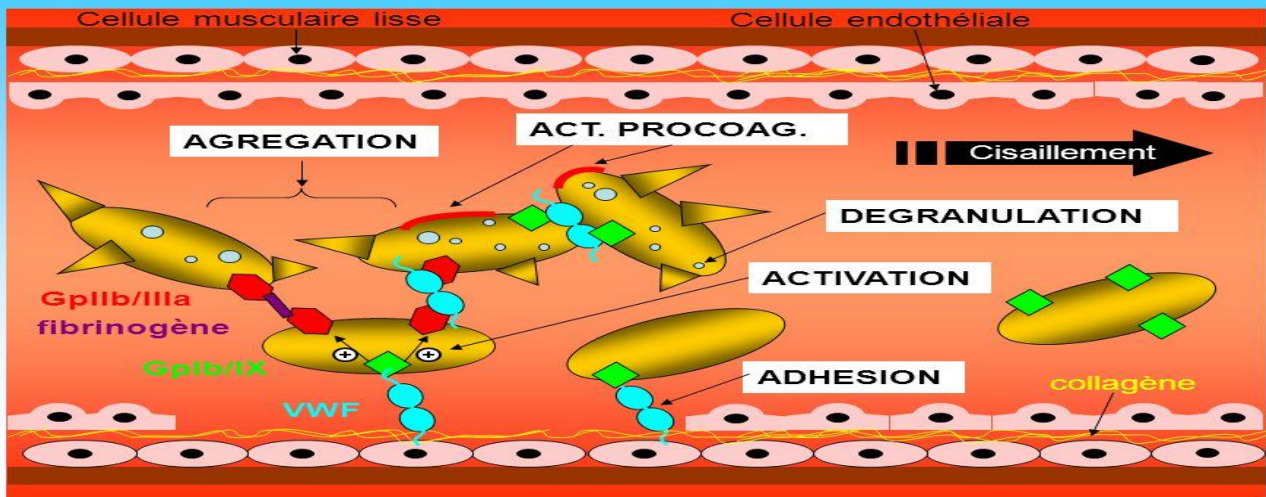


Figure2 : Les étapes de l'hémostase primaire [18]

Temps vasculaire : temps pariétal : Temps Endothélium -Plaquettaire

La paroi du vaisseau et des plaquettes va se modifier. La lésion se situe au niveau des capillaires ou des veinules : rétraction ou des artères : vasoconstriction des vaisseaux. Le flux sanguin diminue : Ce qui ralentit la circulation.[2]

La Vasoconstriction déclenchée par des médiateurs :

- ✚ **Plaquettaire : thromboxane A2** : est un type de thromboxane qui est produit par les plaquettes activées pendant l'hémostase et stimule l'activation de nouvelles plaquettes et augmente l'agrégation plaquettaire
- ✚ **Plasmatique** : qui est le liquide plasmatique
- ✚ **PDGF** : Le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF) est l'un des nombreux facteurs de croissance qui régulent la croissance et la division cellulaires. Il joue un rôle important dans la formation des vaisseaux sanguins. [3]

Temps plaquettaire

Les vaisseaux sont visés « blessures » : les plaquettes adhèrent au collagène du tissu conjonctif de ce vaisseau « adhésion plaquettaire ». Elles s'agrègent entre elles pour former un amas qui va devenir une brèche : clou plaquettaire : thrombus blanc : agrégation plaquettaire au niveau du tissu conjonctif. Cette agrégation est due à la libération de l'ADP (Adénine Diphosphate) qui vient des cellules lésées. L'amas de plaquettes libère la sérotonine qui a un rôle de vasoconstriction.[2]

b) Acteurs de l'hémostase primaire :

Quatre acteurs principaux

- Les plaquettes sanguines.
- Les composants de la paroi vasculaire
- Deux protéines plasmatiques de coagulation (Fibrinogène et le facteur Willebrand).[4]

- ✚ **Les plaquettes** : sont des fragments de cellules qui circulent dans le sang, fabriquées dans la moelle osseuse au départ de précurseurs cellulaires appelés mégacaryocytes. Ils sont d'une importance capitale dans la formation de caillots sanguins, affectant la thrombose et l'hémostase.

Les plaquettes contiennent trois types de granules : (figure 3)

- Les granules denses ou delta, riches en calcium, ATP, ADP et sérotonine
- Les granules alpha α contenant du facteur von Willebrand et des facteurs spécifiquement plaquettaires (PF4, beta-thromboglobuline)
- Les lysosomes

Les plaquettes interviennent dans l'hémostase primaire par :

- Les propriétés de leur membrane
- Le contenu de leur organites intracytoplasmique. [4]

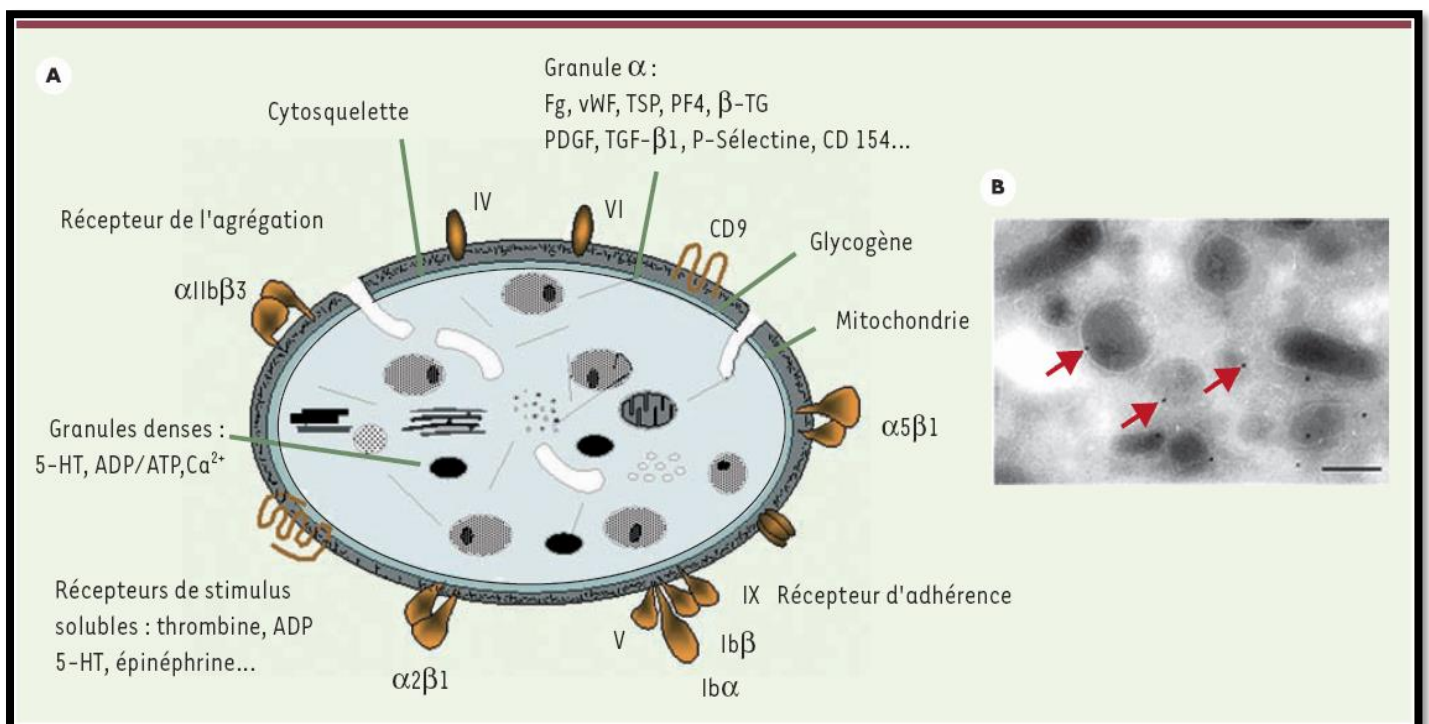


Figure 3 : Les plaquettes [19]

✚ **Parois vasculaires** :

Ils sont constitués par : (figure 4)

- un endothélium qui a de multiples propriétés et n'est pas thrombogène
- un sous-endothélium qui est par contre très thrombogène : il est le lieu d'adhésion des plaquettes et d'activation de la coagulation
- les trois couches constituant les parois des artères sont, de l'extérieur vers l'intérieur :

L'adventice : elle est composée de tissu conjonctif et de fibres élastiques.

La media : c'est la couche moyenne de la paroi artérielle ; elle est composée de collagène et d'élastine.

L'intima : est formée par l'endothélium vasculaire (mono-couche cellulaire) reposant sur une couche de tissu conjonctif.

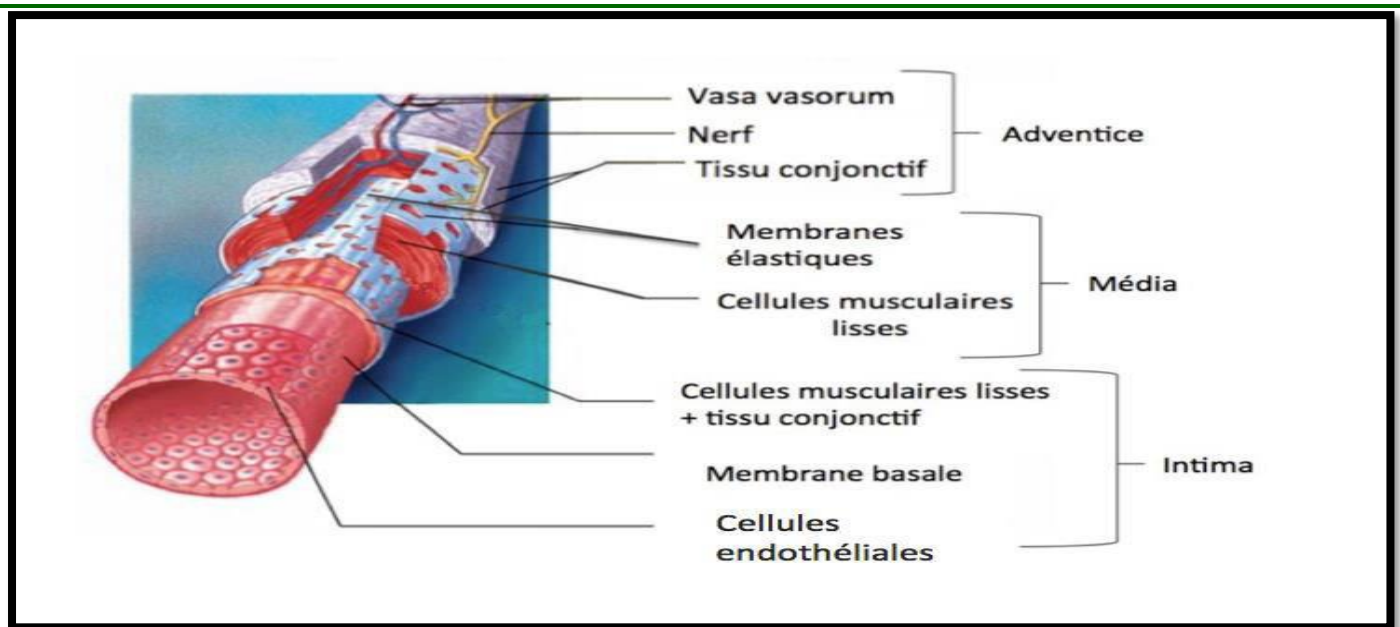


Figure 4 : Les couches de la paroi des artères [20]

- ✚ **Fibrinogène** : Le fibrinogène est une grande glycoprotéine fibreuse complexe avec trois paires de chaînes polypeptidiques reliées entre elles par 29 liaisons disulfure.[5]
- ✚ **Le facteur von Willebrand (vWF)** : Est une glycoprotéine multimérique qui a un double rôle dans l'hémostase, fonctionnant comme protéine porteuse pour le facteur VIII et assurant la médiation de l'adhésion plaquettaire au sous-endothélium (SE) exposé. [6]

c) Exploration de l'hémostase primaire :

- ✚ **Numération des plaquettes** : Elle peut varier selon le laboratoire. Elle se fait à l'aide de compteurs globulaires automatiques. Le nombre normal est de 150 à 400 Giga/litre (G/l)
- ✚ **Temps de saignement** : Correspond au temps qui s'écoule entre la réalisation d'une petite plaie cutanée superficielle et le moment où le saignement provoqué s'arrête.
- ✚ **Étude des fonctions plaquettaires** : Ce test consiste à mesurer le temps d'adhésion et d'agrégation des plaquettes sur une membrane recouverte de collagène (en présence d'adrénaline ou d'ADP) dans des conditions de flux standardisées.

d) Physiopathologie de l'hémostase primaire :

➤ Anomalies vasculaires

Les anomalies vasculaires superficielles constituent un groupe important d'affections malformatives et tumorales développées à partir de tous les types de vaisseaux. On peut distinguer

- ✚ **Les atteintes primitives** : Télangiectasie hémorragique héréditaire ou maladie de Rendu-Osler (hémorragies muqueuses et cutanées liées à une dilatation des artérioles et capillaires), etc.
- ✚ **Les atteintes secondaires** : Purpura associé à une maladie infectieuse

Purpura : Est une lésion hémorragique de la peau ou des muqueuses

➤ Plaquettes

- ✚ **Thrombopénies** : Diminution du nombre (= quantité) de plaquettes

✚ **Thrombopathies** : Altération de la qualité des plaquettes. Elles peuvent être constitutionnelles ou acquises.[1]

3- L'hémostase secondaire (coagulation) :

a) Physiologie de la coagulation :

On a 3 étapes :

- La génération de la prothrombinase par l'aboutissement de 2 voies différentes de la coagulation appelées extrinsèque et intrinsèque.
- La formation de thrombine ou la transformation de la prothrombine en thrombine par Le complexe prothrombinase.
- La formation de fibrine ou la transformation du fibrinogène en fibrine Génération de la prothrombinase.[7]

b) Facteurs de coagulation :

Les différents facteurs de coagulation représenté du tableau ci-dessous. (Tableau 1)

Tableau 1:Les facteurs de coagulation [8]

Facteur	Synonyme	Rôle vitamine K	Demi- vie
I	Fibrinogène	-	4-6j
II	Prothrombine	+	3-4j
III	Facteur tissulaire ou thromboplastine tissulaire		
IV	Calcium		
V	Proaécélerine (Facteur labile)	-	12-36h
VII	Proconvertine (Facteur stable)	+	4-6h
VIII	Facteur Antihémophilique A, Globuline antihémophilique		10-16h
IX	Facteur Antihémophilique B, composant de la thromboplastine plasmatique, Facteur Christmas.	-	24h
X	Facteur Stuart-Prower	+	1-2j
XI	Antécédent de la thromboplastine plasmatique, Hémophilie C, Facteur Rosenthal.	+	1-2j
XII	Facteur Hageman.	-	2-3j
XIII	Facteur stabilisant la fibrine. Facteur Laki-Lorand.	-	

c) Accélérateurs de la coagulation :

Facteur V : Proaécéline

Facteur VIII : Facteur anti-hémophylique A [3]

d) Inhibiteurs de la coagulation :

✚ **Antithrombine III** : Cofacteur de l'héparine, action immédiate et rapide en présence de l'héparine.

✚ **Protéine C** : Activée par la thrombine en présence de :

Thrombomoduline : Est une protéine réceptrice qui est elle aussi exprimée à la surface des cellules endothéliales.

Protéine S : Substance circulant dans le sang, permet d'augmenter l'action de la PC (proenzyme vitamine K-dépendante). On outre elle inactive Facteur Va, Facteur VIIIa.

✚ **Les macrophages** : Phagocytent les molécules activées [16]

e) Facteurs consommés au cours de la coagulation :

- Substrats V,
- Facteurs VIII
- Facteur I(fibrinogène)
- Plaquettes [3]

f) Voies de la coagulation : (voie exogène et endogène)

Il existe 2 voies de coagulation l'une endogène ou intrinsèque(figure 5) et l'autre exogène ou extrinsèque (figure 6).

1- La voie Endogène

Le facteur XII est activé par le contact avec le sous- endothélium. Il active le facteur XI. Le facteur XI active le facteur IX .Le facteur IX activé se lie au facteur VIII (ca+PL) pour donner « 1 complexe enzymatique » qui active le facteur X. Le facteur Xa se lie au facteur V(ca+PL) pour donner la Prothrombinase.

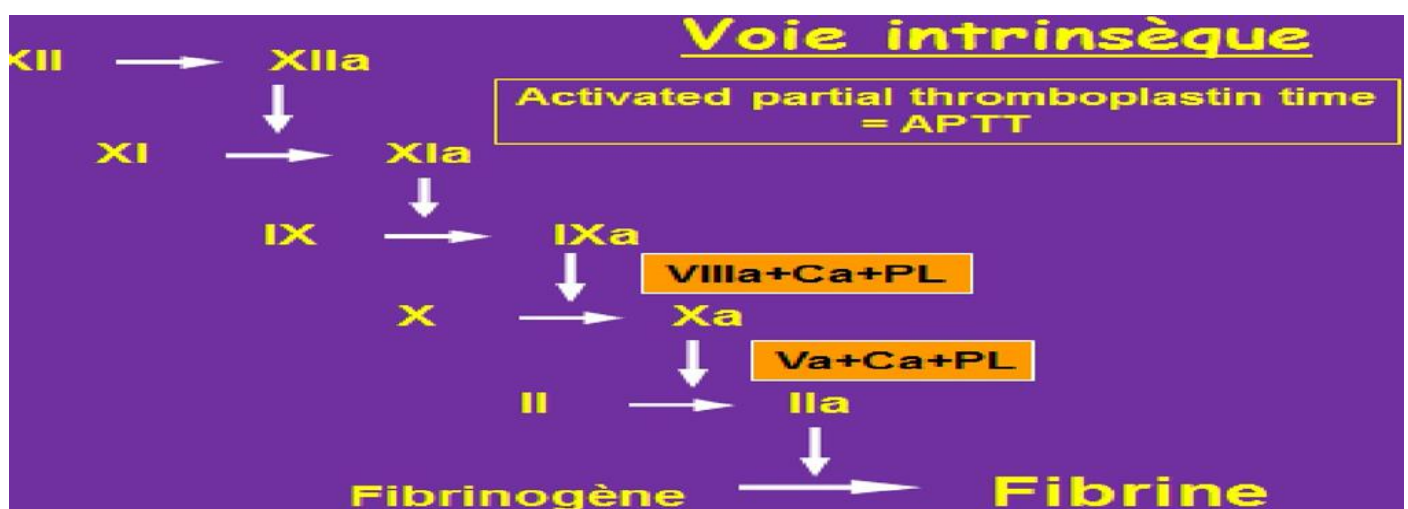


Figure5 : La voie intrinsèque de la coagulation [21]

2 -La Voie Exogène :

Le facteur tissulaire (FT) libéré par les cellules endothéliales active le facteur VII. Le facteur VII a est responsable de de l'activation du facteur X. Le facteur Xa se lie au facteur V (Ca+PL) pour donner de la Prothrombinase.[7]

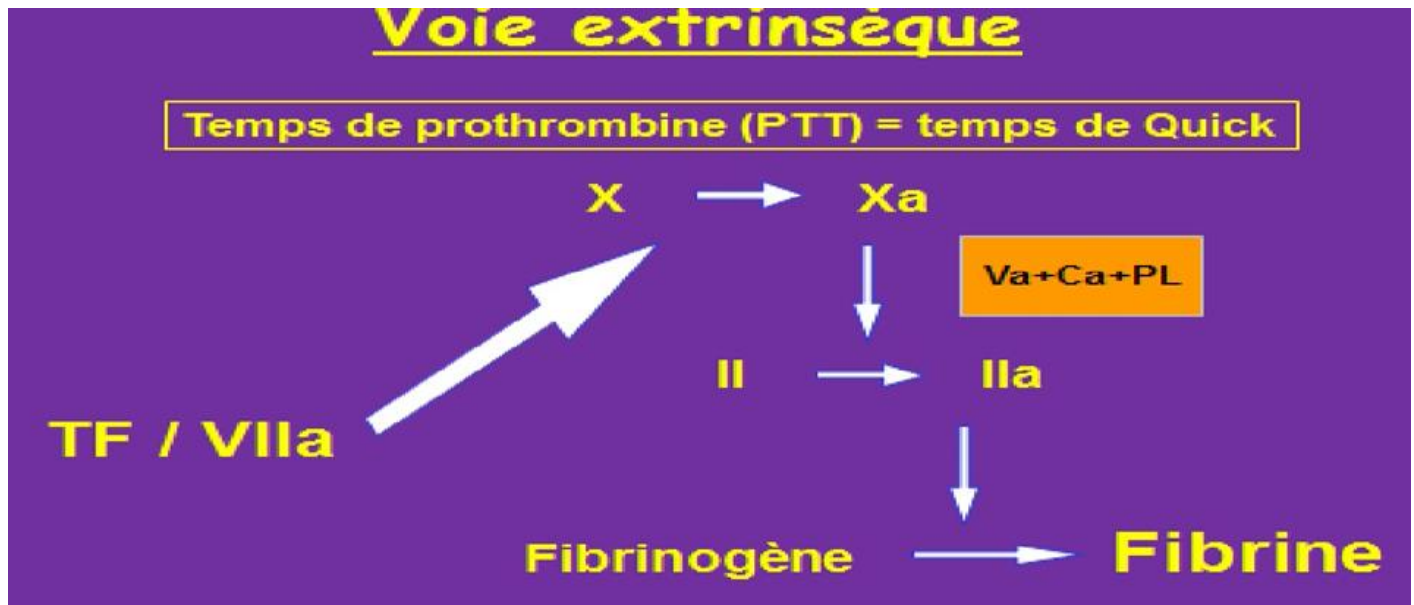


Figure 6 : La voie extrinsèque de la coagulation [21]

g) Exploration de la coagulation :

✚ Le taux de prothrombine (TP) ou le Temps de quick (TQ) :

Analyse du temps de Quick ou taux de prothrombine (PT, prothrombine time) soit le temps de coagulation plasmatique, exprimé en secondes, en présence de thromboplastine tissulaire et d'ions de calcium¹²

Le TQ explore les facteurs II, VII, V X

NB : Le TQ peut également être exprimé en TP (N :70-100%).

Le taux de prothrombine est considéré comme normal lorsqu'il est compris entre 70 et 100%. [9]

✚ Temps de céphaline activée (TCA) ou activated partial thromboplastine time (APTT)

Le temps de céphaline avec activateur (TCA) explore la voie intrinsèque de la coagulation. C'est le temps de coagulation d'un plasma déplaqueté recalcifié en présence de phospholipides et activateur du système contact de la coagulation.

Il est considéré comme normal lorsqu'il dure une trentaine de secondes, et que le rapport TCA patient /TCA témoin est entre 0,8 et 1,2. [8]

✚ Fibrinogène (FIB) :

Le Facteur I de la coagulation, ou fibrinogène, est une protéine présente dans le plasma sanguin et fabriquée par le foie et transforme en fibrine sous l'action d'une autre protéine du plasma, la thrombine. Cette fibrine

intervient notamment dans la formation du caillot sanguin lors du phénomène de coagulation qui permet d'arrêter les saignements.

Les valeurs normales du taux de fibrinogène dans le sang sont comprises entre 2 et 4 g/L chez l'adulte et abaissées de 1,50 à 3,50 g/l chez le jeune enfant.

h) Physiopathologie de la coagulation :

- ✚ **Maladie de von Willebrand :** Correspondante à une anomalie quantitative ou qualitative de ce facteur. C'est la coagulopathie innée la plus fréquente.[10]
- ✚ **Hémophilies ou déficit en facteur VIII, déficit en facteur IX :** Est une maladie hémorragique constitutionnelle liée à l'X, caractérisée par un déficit quantitatif ou qualitatif en facteur VIII (FVIII) pour l'hémophilie A et facteur IX (FIX) pour l'hémophilie B. [11]
- ✚ **Déficit en vitamine K :** Diminue les taux de prothrombine et de facteurs de coagulation dépendants de la vitamine K, entraînant une coagulation défectueuse et un risque hémorragique. C'est une maladie grave du foie. [12]
- ✚ **Insuffisance hépato-cellulaire :** C'est le défaut de fonctionnement normal du foie. Caractérisée par arrêt ou diminution des fonctions hépatocytaires, et peut compliquer une pathologie chronique ou aiguë grave. [13]

4-Fibrinolyse :

a) Physiologie de la fibrinolyse :

C'est la dissolution du caillot au bout de 72 h : elle est due à l'action enzymatique plasmatique, la plasmine « la fibrinolysine ». C'est le processus enzymatique de dissolution de la fibrine.(figure 7) [1]

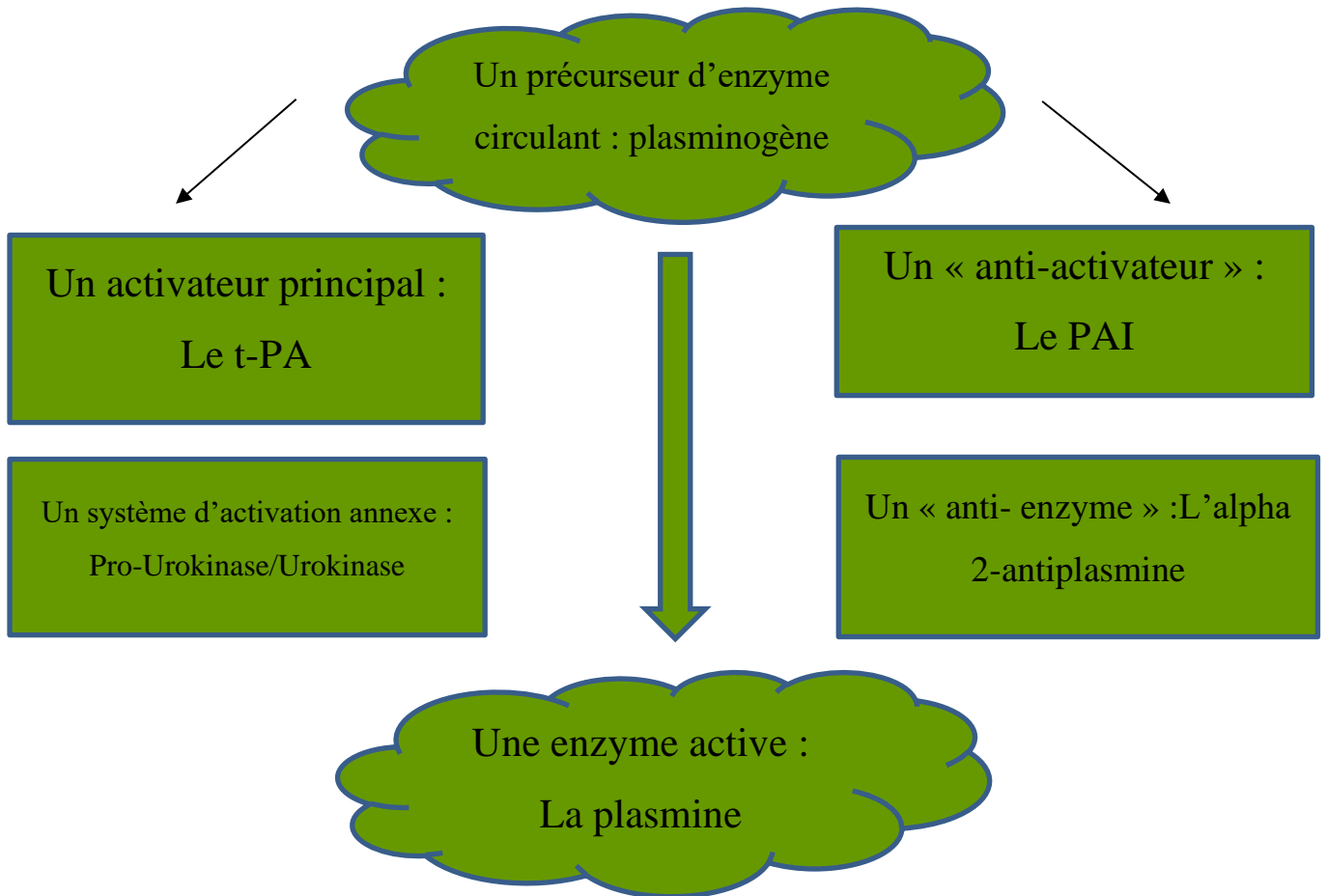


Figure 7 : La voie finale de l'hémostase [21]

b) Activateurs et les inhibiteurs de la fibrinolyse :

Le système fibrinolytique (comme celui de la coagulation) consiste en une cascade d'enzymes.

Il y a des activateurs et des inhibiteurs qui régulent la formation de plasmine.



Pour les activateurs :

- t-PA : tissue plasminogen activator
- u-PA : l'urokinase.
- A la différence du t-PA, l'u-PA est capable de cliver le plasminogène efficacement en l'absence de fibrine.

Pour les inhibiteurs :

- Le PAI-1 : est l'inhibiteur rapide du t-PA et de l'u-PA. Il est trouvé dans le plasma humain, dans les cellules endothéliales, hépatiques et dans les plaquettes.
- Le PAI-2 : ne se trouve en général pas dans le plasma, sauf en cas de grossesse où il représente l'inhibiteur principal de la fibrinolyse.
- L'alpha 2-antiplasmine est une protéine inhibitrice de la plasmine, et donc de la fibrinolyse.

c) Physiopathologies de la fibrinolyse :

Lorsque la fibrinolyse est insuffisante, on parle d'hypo-fibrinolyse.

Cette hypo-fibrinolyse peut résulter d'une diminution des activateurs ou d'une augmentation des inhibiteurs

On parle d'hyper-fibrinolyse en cas d'activité exagérée du système fibrinolytique.

II-MATÉRIEL ET MÉTHODES

1-Matériel:

Pour les examens d'Hémostase (TP,TCK), nous avons utilisé le matériel suivant : (figure 8)

- ✓ **Un Start Max :** Nouvelle génération de semi-automate de coagulation pour tous les tests chronométriques : TP, TCA, Fibrinogène, Temps de Thrombine, Temps de Reptilase, l'ensemble des facteurs II, V, VII, X, VIII, IX, XI, XII, Héparines, Protéine C, Protéine S, recherche d'anticoagulants de type lupique.



Figure 8 : Ensembles des matériels utilisés pour les examens d'hémostase (TP, TCK) [22]

Légende

- 1-Semi-automate Start Max
- 2-Multipette reliée à Start Max par un câble
- 3-Combi tip (pour aspirer les réactifs) spécifique à la multipette
- 4-Micropipettes (50µl)
- 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- flacon bleu

- ✓ **Une centrifugeuse (figure 9) :** Pour la centrifugation du sang total, ce qui permet séparer les 2 phases (culot :Concentré globulaire et surnageant : Plasma riche en plaquette).



Figure 9 : Centrifugeuse [23]

Un tube citrate (figure 10) :

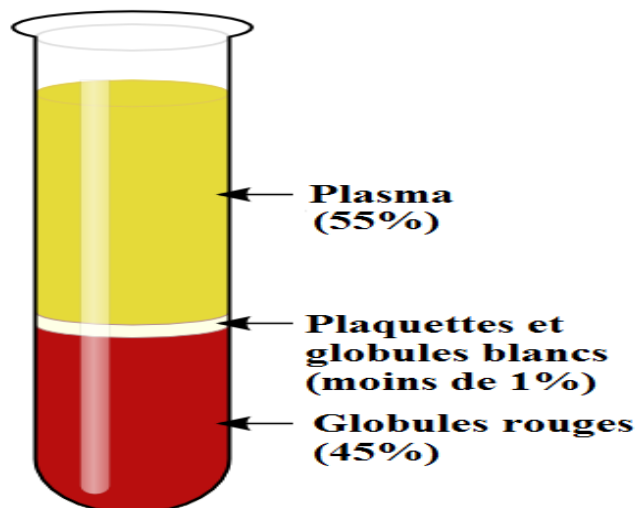


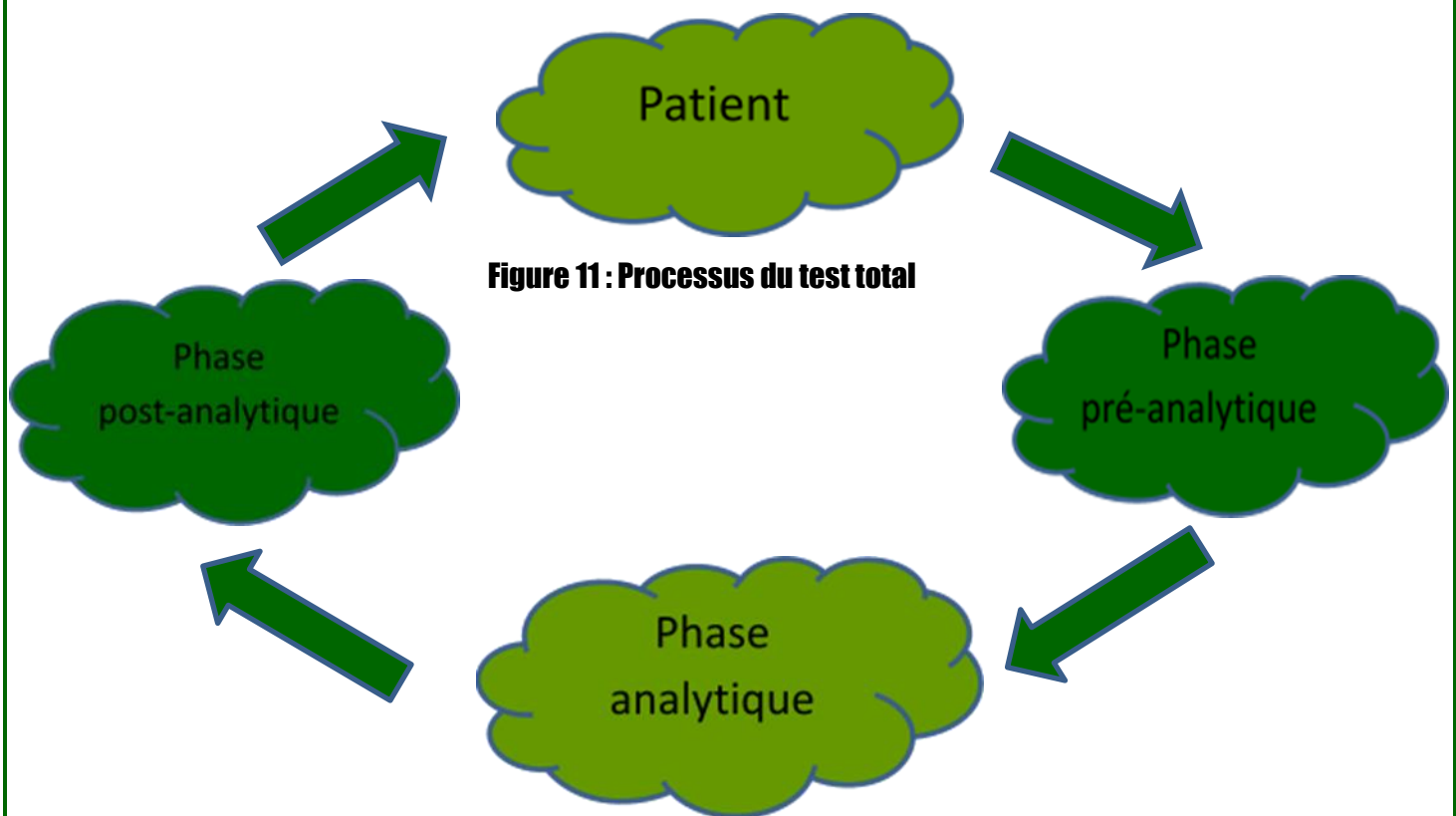
Figure 10 : Tube citrate après centrifugation [24]

Le plasma : C'est un liquide de composition chimique, c'est la partie liquide du sang dans laquelle est suspendue les cellules sanguines. Il se présente sous forme d'un liquide jaunâtre qui contient par litre :

- De l'eau à 91 %
- Des substances organiques = nutriments ; glucides
- Eléments minéraux : K+, Ca+, Mg, Ph, Cl-, bicarbonate
- Gaz dissous : O₂, CO₂, fibrinogène
- Vitamines
- Des produits de déchets = substances intermédiaires du métabolisme.

2-Méthode expérimentale:

a)Phase pré-analytique :



✓ Saisie des renseignements sur le patient :

Les patients accédant à L'hôpital de Midelt pour faire les analyses d'hémostase, la secrétaire pose des questions au patient sur le test demandé, et après avoir prendre l'accord du patient pour la réalisation de ces analyses, elle prend les données suivantes :

prénom du patient ; Sexe, date de naissance ; Nom du médecin traitant ; ainsi que les informations médicales nécessaires à la réalisation de l'analyse.

✓ Prélèvement sanguin :

Les étapes que nous avons suivi pour du prélèvement sont affichées sur la (figure 12) :

✚ Choix des tubes et les matériels :

- Choisir le matériel de ponction et les tubes à prélèvement suivant la prescription
 - Pour les Analyses d'hémostase on utilise les tubes bleus
- Prélèvement par ponction veineuse franche avec garrot peu serré
- Le port de gant est recommandé.

- Anticoagulant : citrate trisodique à 3,8% (pas d'EDTA ni héparine)

✚ Rapport volume anticoagulant /prélèvement :

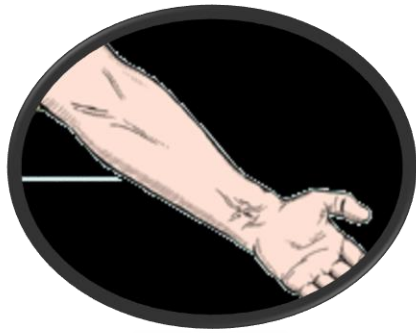
Le rapport anticoagulant /volume sanguin recommandé est de 1 pour 9 (volume à volume).

Ce rapport est contingent au bon remplissage des tubes.

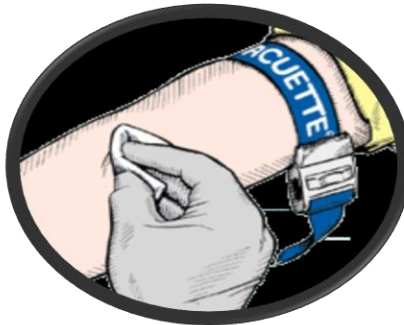
Respecter les proportions : 1v d'AC pour 9v de sang **Très important**

✚ Après le prélèvement, s'assurer de :

- Agiter immédiatement par retournements successifs
- L'identification des tubes.
- Eliminer le matériel de ponction Identifier les tubes de prélèvement, poser un pansement
- Transmettre les tubes selon les recommandations de conservation, ainsi que le dossier patient pour analyse.
- Faire les tests au maximum 4h après le prélèvement



1-Faire incliner le bras vers le bas

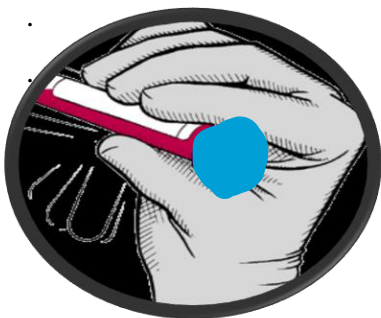


2- Avec un garrot usuel ou une manchette à pression,

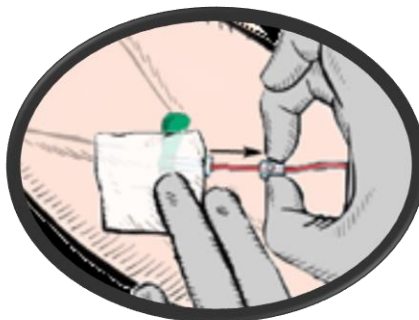


3- La seringue est toujours en contact direct avec la clavicule

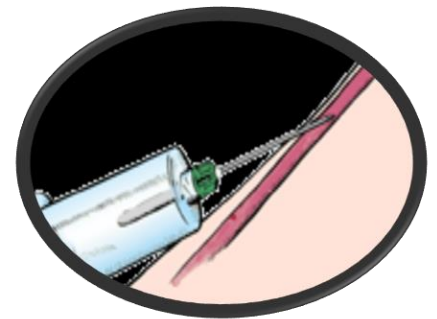
Figure 12 : Les étapes du prélèvement [14]



6-Agiter immédiatement par retournements successifs



5-Après avoir retiré le tube, fixer avec les doigts d'une main une compresse sèche et stérile



4- On atteint la lumière de la veine à une profondeur de ponction de 10 à 15 mm

✓ **Conservation de l'échantillon :**

La température de stockage peut influencer le résultat en cas de mauvaise température, risque d'instabilité de prélèvement. Ainsi que la durée et le lieu de stockage.

✓ **Conditions de transport et de conservation avant centrifugation :**

La température de transport et de conservation des échantillons avant centrifugation doit être faite à température ambiante soit une température comprise entre 15°C et 25°C.

Une température de +2°C à + 8°C ou > 37°C est fortement déconseillée.

b)Phase Analytique :

Il s'agit de la série d'étapes permettant l'obtention d'un résultat lors de l'analyse de l'échantillon.

✓ **Préparation de l'échantillon :**

L'identification des tubes avec les informations du bilan

Vérification de l'ordre :

- Respecter les proportions : 1v d'AC pour 9v de sang **Très important**

✓ **Traitement des échantillons :**

La durée de la centrifugation doit être respectée, ainsi que la température et la vitesse.

Dans le cas de prélèvement sérique, une centrifugation trop précoce peut être à l'origine d'une coagulation incomplète susceptible d'induire de nombreux problèmes lors de l'étape analytique : bouchage des sondes, résultats sous-estimés, etc.

D'une façon générale, il est recommandé de centrifuger les prélèvements bouchés pendant 10 à 15 min à 2000-2500g.[8]

✓ **Non conformités de l'hémostase :**

 **Tube non adapté à l'analyse**

 **La non identification des tubes**

Assurer une identité exacte aux tubes est une étape critique et le premier acte de soin d'une prise en charge de qualité pour la sécurité des patients, puisque le tube constitue le seul lien entre le patient et l'examen demandé par le prescripteur.

 **Absence du cachet de médecin et/ou de la date de prescription**

Pour juger conforme, la fiche de prescription doit être correctement datée et signée par le médecin prescripteur, sinon elle ne sera pas acceptée.

 **Absence de la fiche de prescription ou de tube**

Un tube sans demande ou demande sans tube est sans doute une NC « Non conformités » bloquante qui nécessite le refus de la réalisation de l'analyse.

 **Absence de la date et l'heure du prélèvement**

La précision de la date et l'heure de prélèvement est importante. Elle permet au biologiste de prévoir une mauvaise conservation donc faire face aux interprétations fausses des résultats.

Absence de respecter les proportions : 1v d'AC pour 9v de sang .

✓ **Vérification des performances techniques de l'appareil :**

✚ **Conformité de la Température :** Instrument à température stable ($37 \pm 0,5^\circ\text{C}$).

✚ **Maintenance des matériels**

- Éviter toute contamination du réactif par des traces de plasma.
- Verrerie rigoureusement propre, de préférence à usage unique

✚ **Les contrôles de qualité « internes » :**

Les différentes étapes des contrôles de TP et TCA sont présentés sur les figures 13 et 14 :

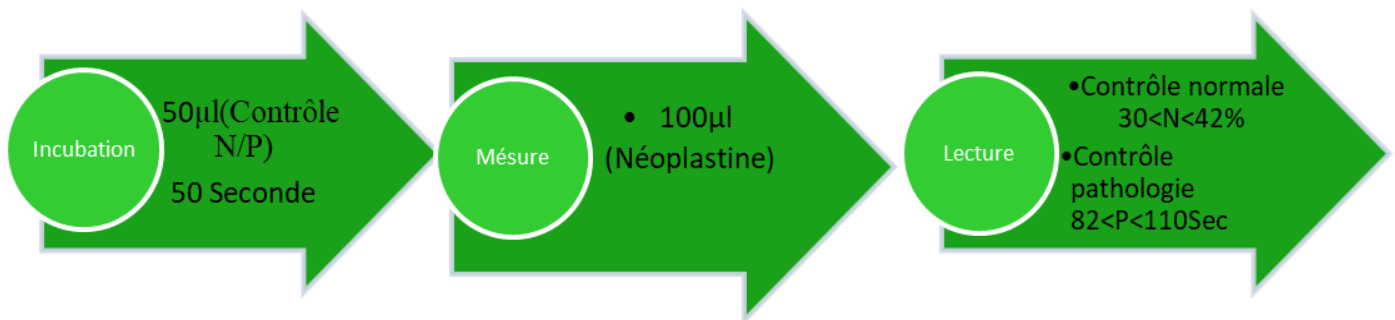


Figure 13 : Les étapes du contrôle de TP

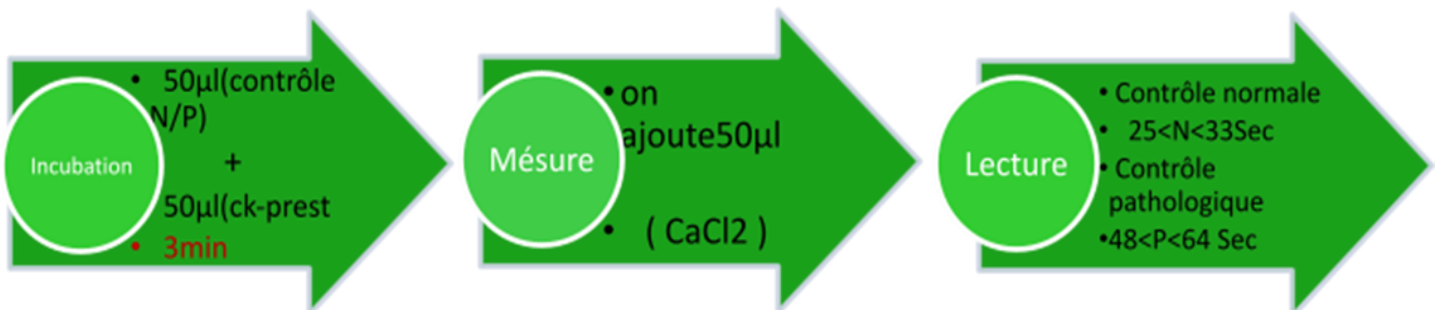


Figure 14 : Les étapes du contrôle de TCA

Mode opératoire

➤ Temps de quick (TQ) et taux de prothrombine (TP) :

1. Reconstituer la Néoplastine (réactif) avec le réactif 2 (Solvant) d'un même coffret et mettre le mélange à pré-incuber à 37°C pendant 30 min avant utilisation
2. Placer les barrettes à préchauffer en zone d'incubation (3 min Minimum) et on dépose une bille dans chaque cuvette
3. Récupérer 50 µl de chaque dilution et on la dépose dans chaque cuvette
4. Chaque point d'étalonnage sera effectué en double détermination
5. Déclencher le chronomètre pour 60s
6. Transférer la barrette en position de mesure, on active la micropipette et on distribue 100 µl de la Néoplastine pré incubé dans chaque cupule
7. Les résultats seront enregistrés et exprimés en % et INR dans le menu d'étalonnage

➤ Temps de céphaline kaolin (TCK)

Dans une cuvette à 37°C

1. Récupérer 50 µl d'échantillon de plasma ; et 50 µl de C.k- Prest
2. Agiter par le vortex et incuber 2 minutes exactement à 37°C ;
3. En déclenchant un chronomètre ;
4. Transférer la barrette en position de mesure
5. Additionner 50 µl de solution de CaCl₂
6. Déterminer le temps de coagulation.

Tableau 2 : Protocole des utilisations des réactifs de l'hémostase[15]

<p><u>Néoplastine :</u> Reconstituer avec le solvant Attendre 30 min, mélanger doucement Stabilité: Lyophilisés: 2-8°C jusqu'à la date de péremption du coffret Reconstitués: 8h Sur START MAX, 7j à 2-8°C et 48 h à 20 +/-5°C</p>	<p><u>Les contrôle (Normale et Pathologique):</u> Reconstituer avec 1ml d'eau distillée Attendre 30 min; mélanger doucement Stabilité: 2-8°C jusqu'à la date de péremption du coffret Reconstituée :8h sur START MAX et 5j congelé à (-20°C)</p>
<p>Activateur CaCl₂: Pret à l'emploi Attendre 30 min avant l'utilisation Stabilité: Avant ouverture : 2-8°C jusqu'à la date de péremption du coffret Après ouverture du flacon et homogénéisation du flacon :8h sur START MAX et 8j à 2-8°C</p>	<p><u>C.K-Prest:</u> Reconstituer avec le solvant; Attendre 30min, mélanger doucement Stabilité : Lyophilisés: 2-8°C jusqu'à la date de péremption du coffret Reconstitués: 7j à 2-8°C et 2j à 20 +/-5°C</p>

les réactifs

c)Phase post analytique :

➤ Validation biologique :

+ Principe

La validation biologique est le contrôle de la vraisemblance et de la cohérence de l'ensemble des résultats biologiques contextualisés (informations cliniques ...) avant édition et transmission aux clients du laboratoire (patient).

+ Responsabilités

La validation biologique est sous la responsabilité des biologistes. Lors des gardes de nuit et des week-ends, si le biologiste n'est pas présent et que le résultat doit être transmis en urgence, les techniciens utilisent un code particulier indiquant le nom du biologiste de garde qui est responsable de la validation et transmission des résultats durant cette période.

+ Les principales étapes de la validation biologique

- Validation sur le système informatique.
- Signature des résultats.

III-RESULTATS ET DISCUSSION

1-Répartition des patients en fonction du sexe, de l'âge et de répétition du test :

Notre étude durant la période du 25/04/2022 au 07/06/2022, au sein du laboratoire d'analyses médicales (hôpital Midel) a porté sur 89 patients, comprenant 63 femmes et 26 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 3).

Après, 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 3 ; Répartition des patients en fonction du sexe, de l'âge et de répétition du test

Sexe Âge	Femmes			Hommes		
	Nombre Total	1 ^{ère} Fois	Sous AVK	Nombre Total	1 ^{ère} Fois	Sous AVK
<25	14	12	2	5	5	—
25-50	31	30	1	9	9	—
>50	18	18	—	12	12	—
Totale	89					

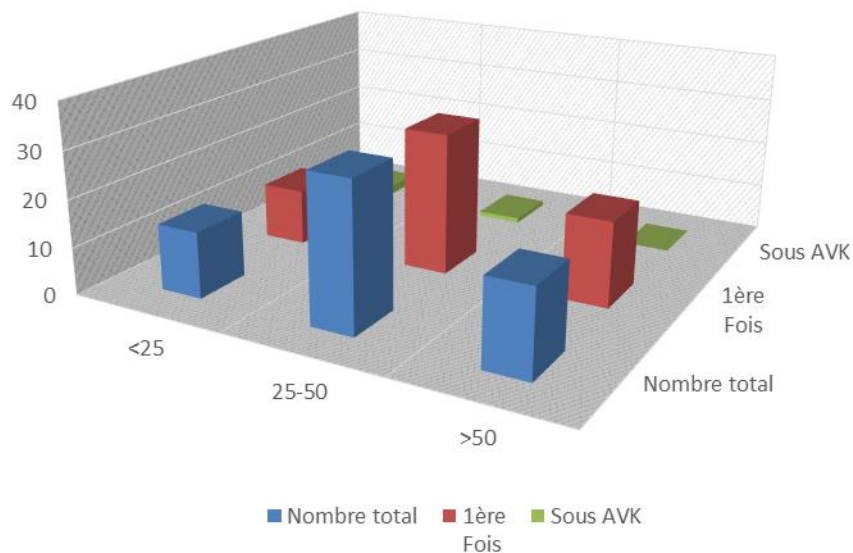


Figure 15 : Histogramme de répartition des patients en fonction du sexe, de l'âge et de répétition des tests pour les femmes

63 femmes sont venues au CHP-Midelt pour le dépistage du risque d'hémostase .3 d'entre elles sont sous L'AVK. La majorité de ces femmes sont âgées entre 25-50 et >50.

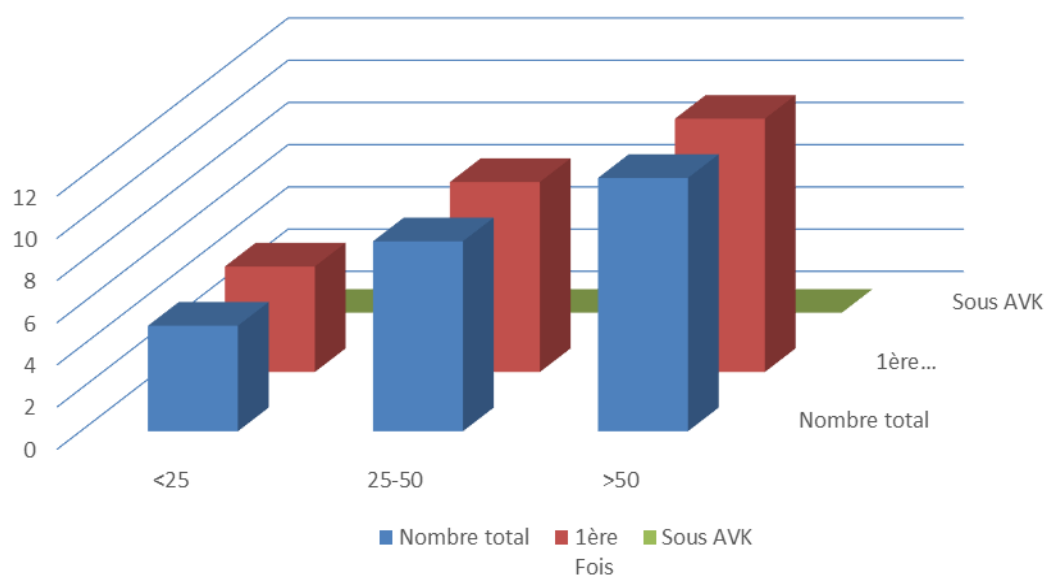
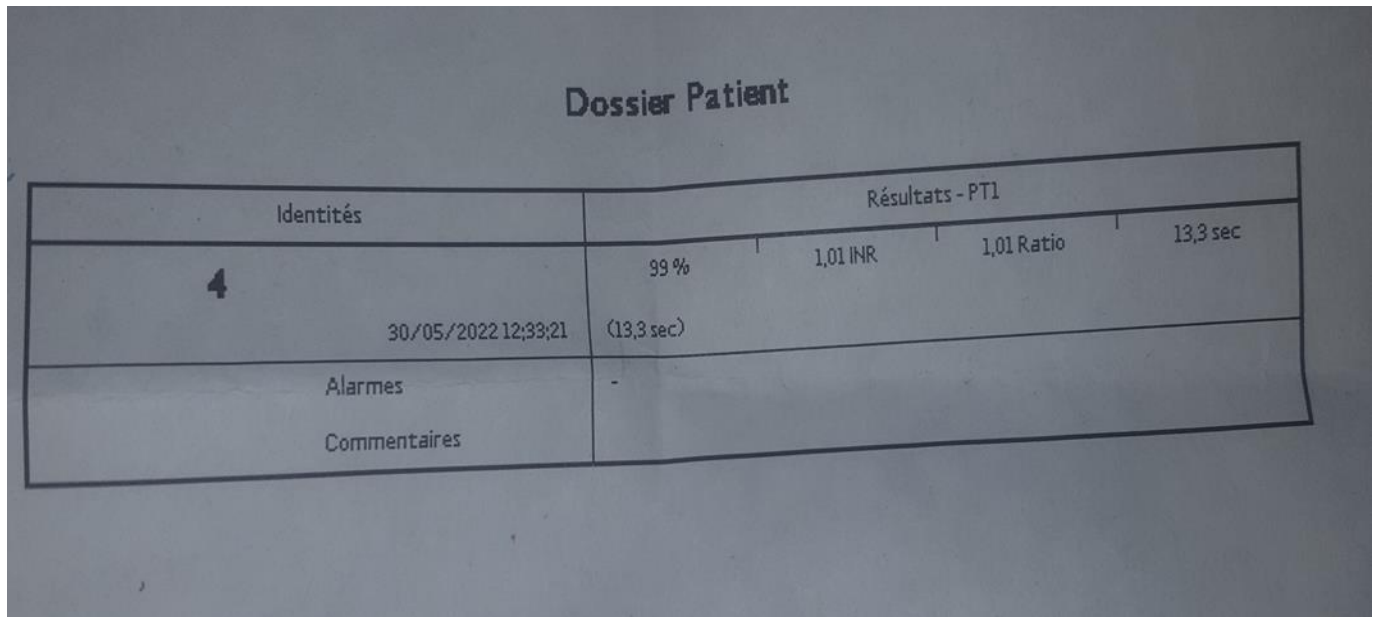


Figure 16 : Histogramme de répartition des patients en fonction du sexe, de l'âge et de répétition des tests pour les hommes

Les hommes qui sont venues au CHP-Midelt pour les analyses d'hémostase, sont tous venues pour la 1ère fois.46% de ces hommes sont âgés au plus de 50 ans.

a) Résultat de TP :

Le test du TP à été fait sur 89 patients, on a un exemple d'un résultat normal d'un patient et représenté par la (figure 15).



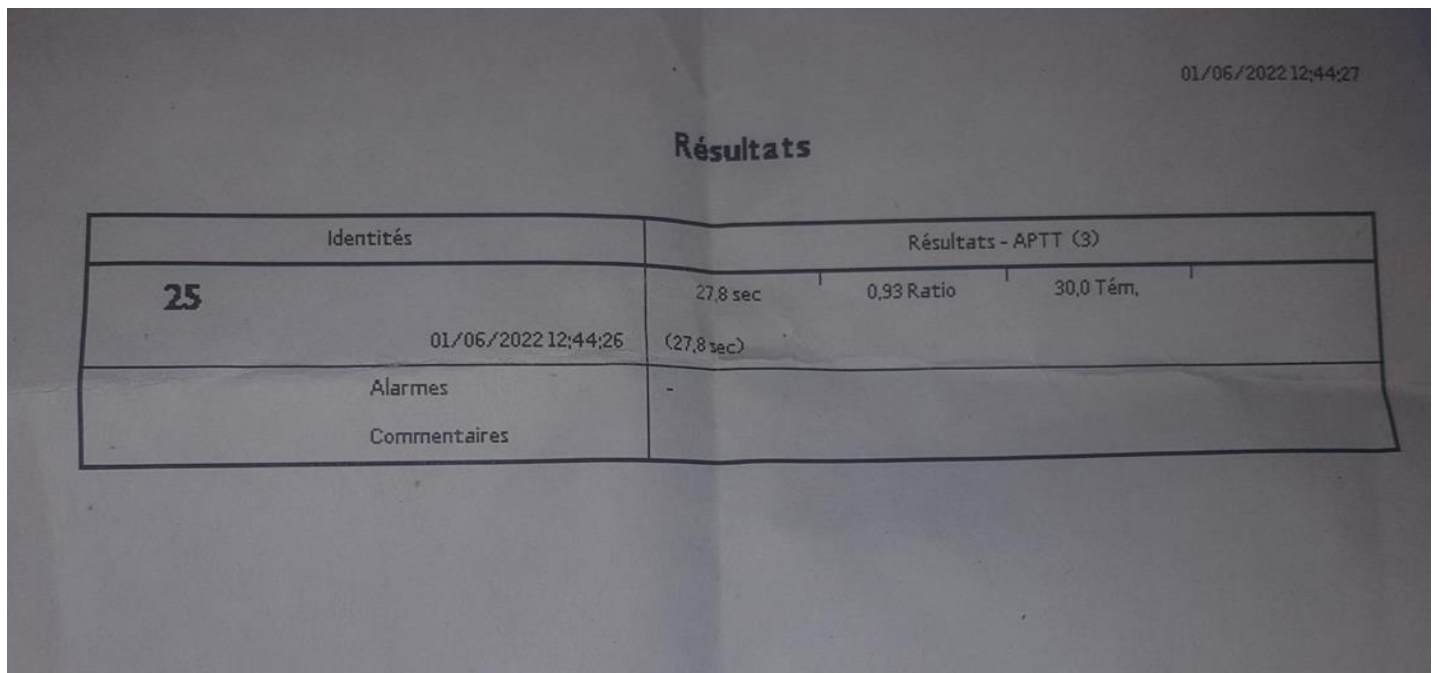
The image shows a screenshot of a patient record titled "Dossier Patient". It contains a table with the following data:

Identités		Résultats - PT1		
4	30/05/2022 12:33:21	99 % (13,3 sec)	1,01 INR	1,01 Ratio 13,3 sec
Alarmes		-		
Commentaires		-		

Figure17 : Résultats d'un patient mesurant le TP

b) Résultat de TCA :

Le test du TCA à été fait sur 26 patients, On a un exemple d'un résultat normal d'un patient et représenté par la (figure 16) .



The image shows a screenshot of test results titled "Résultats". It contains a table with the following data:

Identités		Résultats - APTT (3)		
25	01/06/2022 12:44:26	27,8 sec (27,8 sec)	0,93 Ratio	30,0 Tém,
Alarmes		-		
Commentaires		-		

Figure18 : Résultats d'un patient mesurant le TCA(APPT)

2- Répartition des patients en fonction du sexe :

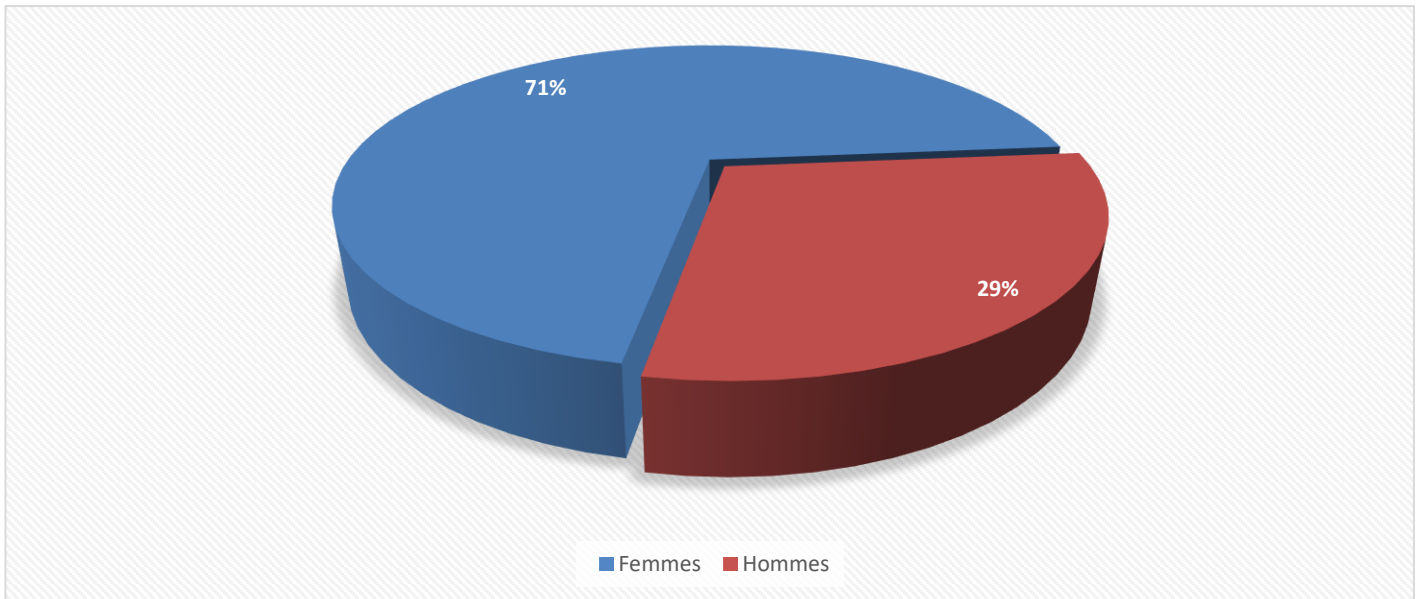


Figure1 9 : Diagramme de répartition des patients en fonction du sexe

D'après la figure 17, on constate qu'il existe une prédominance féminine avec 63 femmes (71%) et 26 hommes (29 %). Ceci peut expliquer par le risque d'hémorragie qui est plus grand chez certaines femmes par rapport les hommes

3- Répartition des patients selon les services :

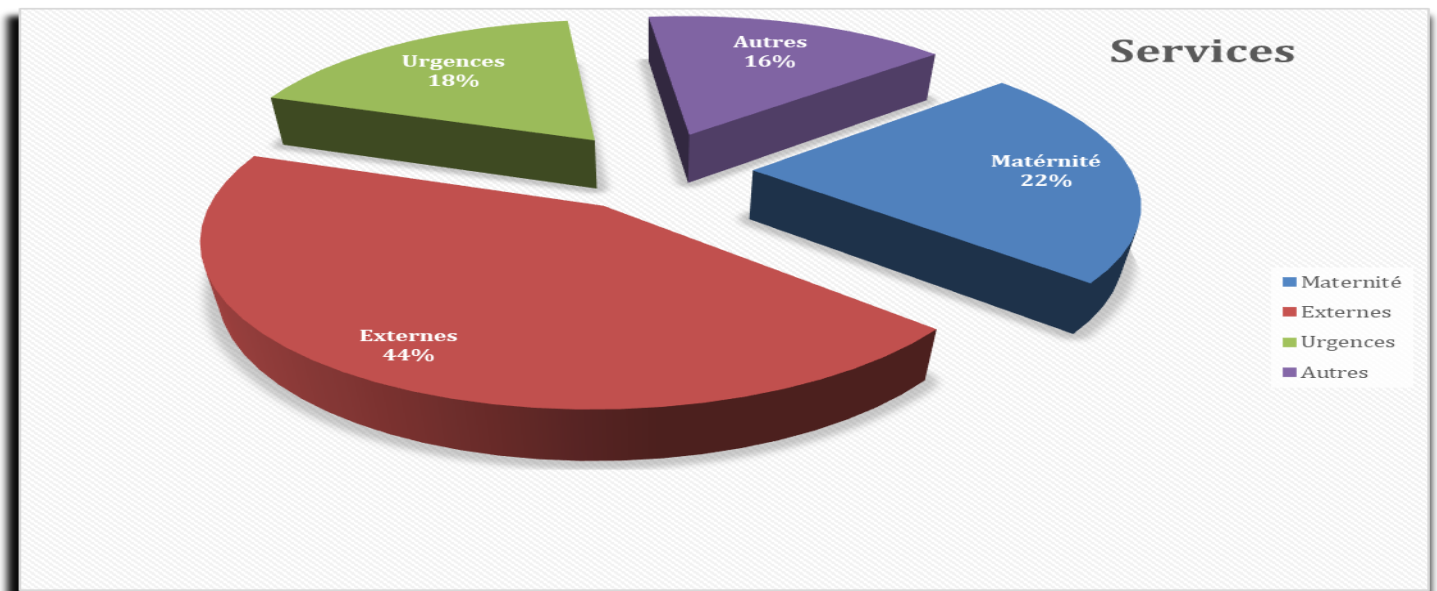


Figure20 : Diagramme de répartition des patients selon les services

Les résultats de cette figure 20 explique que les patients les plus demandeurs des tests d'hémostase sont des patients externes avec un pourcentage de 44% ,en suite la maternité avec 22% ,ainsi que l'urgence avec 18% et à la fin les autres services.

IV-TRAITEMENT:

Les antivitamines K (AVK) sont des anticoagulants actifs par voie orale. Ce sont des médicaments potentiellement dangereux (2 % d'accidents graves par année de traitement). Une mauvaise compliance, un état psychique déficient, des chutes fréquentes peuvent ainsi devenir des contre-indications.[16]

a) Différents traitements d'AVK :

Les médicaments AVK appartiennent à deux familles pharmacologiques :

- Les coumariniques : L'Acénocoumarol et la warfarine sont les deux molécules appartenant aux coumariniques.
- les dérivés de l'Indanedione

Tableau 4 : Les familles des AVK [16]

Famille pharmacologique	Coumarinique	Coumarinique			Dérivés de l'Indanedione
DCI	Acénocoumarol		Warfarine		Fluindione
Nom de médicament	Sintrom®	Mini Sintrom®	Coumadine®	Coumadine®	Préviscan®
Dosage	4 mg	1mg	2mg	5mg	20mg

b) Mécanisme d'action :

L'action anticoagulante des AVK présente plusieurs caractéristiques à prendre en compte :

Les AVK inhibent en compétition la vitamine K-époxyde réductase et la vitamine K-NADH réductase, (responsables de la régénération de la vitamine K à partir de la vitamine K oxydée sous forme d'époxyde).

Ce qui a pour conséquence une inhibition de la synthèse des protéines vitamines dépendantes actives dont la concentration plasmatique chute. Cette rapidité de leur décroissance dépend du degré d'inhibition de leur synthèse et surtout de leur demi-vie. [16]

c) Caractéristiques pharmacocinétiques des AVK :

Le tableau ci-dessous présente les Caractéristiques pharmacocinétiques des AVK.

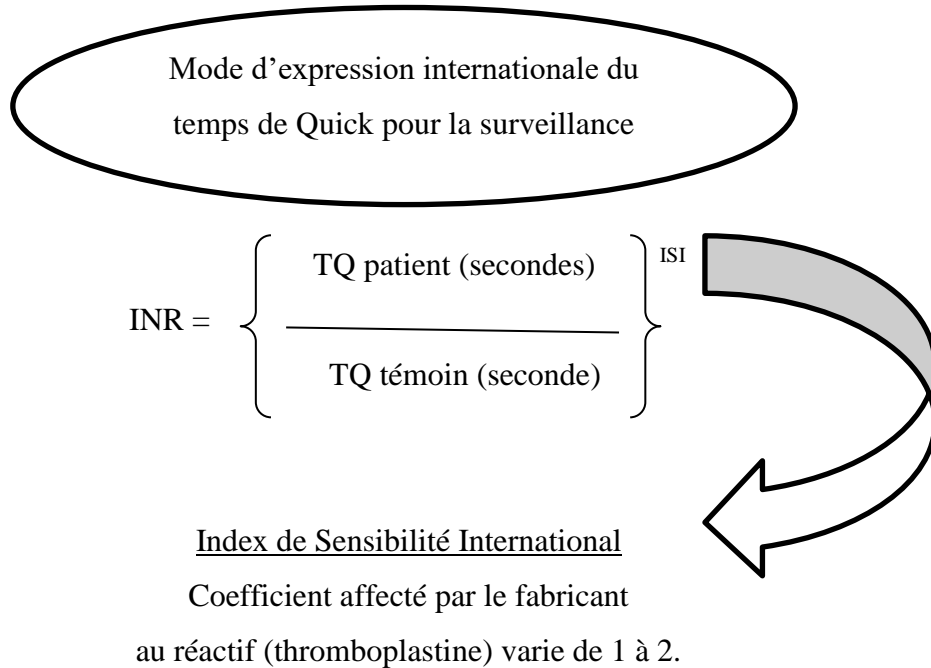
Tableau 5 : Caractéristiques pharmacocinétiques des AVK [16]

AVK	Demi-vie (heures)	Durée d'action après arrêt de l'AVK (jours)
Acénocoumarol	8-9	2-3
Fluindione	30	3-4
Warfarine	35-45	4

- ✓ **Pour l'Acénocoumarol (Sintrom®), qui possède une demi-vie plus courte, il sera préférable de le prendre deux prises par jour.**

La surveillance du traitement par AVK se fait par la mesure du temps de Quick ; elle est exprimée en INR (International Normalised Ratio), sorte d'espéranto biologique. L'INR permet en effet de comparer des résultats obtenus avec des réactifs différents. L'INR s'utilise principalement pour l'anticoagulation orale. Par exemple, une thrombose veineuse profonde doit être anti coagulée avec une INR entre 2 et 3.

TQ : expression en INR : « International Normalized Ratio »



En cas d'anticoagulation trop marquée (INR > 5,0) on peut diminuer l'INR en donnant de la vitamine K. La préparation utilisée s'appelle le Konakion®. On l'administre en général par voie orale. Si on est pressé (intervention chirurgicale par exemple) ou si le patient saigne, on donne des préparations viro- inactivées contenant des facteurs vitamine K dépendants purifiés.

A la fin on peut dire que le traitement par Sintrom est l'AVK le plus consommé par les patients réalisant le suivi au sein du laboratoire d'analyses médicales (CHP-Midelt).

V-CONCLUSION

Ce stage effectué au sein du laboratoire d'analyses médicales (CHP- Midelt), m'a permis de découvrir et de pratiquer les différentes analyses médicales :

Hématologie : TP, TCK, NFS (Numération de formule sanguine) et Groupage du sang.

Sérologie : TPHA et VDRL

Biochimie : Urée, Créatinine, Cholestérol, Tris glycéride

D'autre part il m'a permis de mieux comprendre le fonctionnement d'un laboratoire d'analyses médicales, ainsi que le rôle et la relation maintenue entre les trois responsables sanitaires, qui sont le médecin, le biologiste et le pharmacien.

Mon travail sur L'hémostase et le traitement d'AVK m'a permis de confirmer l'intérêt pratique des tests du taux de prothrombine (TP) et du temps de céphaline kaolin (TCK). Ces paramètres jouent un rôle important à la fois dans le diagnostic et le suivi thérapeutique.

D'après notre étude, le taux de prothrombine (TP) demeure le test d'hémostase le plus pratiqué. Par ailleurs, le traitement par Sintrom (AVK) reste le plus recommandé par les médecins.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIE

- [1] Philippe DE MOERLOOSE, Françoise BOEHLLEN (2005-2006) : - HEMOSTASE - Service d'Angiologie et Hémostase Hôpitaux Universitaires et Faculté de Médecine de Genève. Pages :2,12,13,18,24
- [2] Mme BENDJEBLA (25-10-04) : - L'HEMOSTASE- Expliquer les mécanismes de l'hémostase primaire. Pages :1,2
- [3] Pr D. Bordessoule (2005-2006) : -Hémostase-Temps vasculaire. Pages :7,15,17,18
- [4] Mme ABIDA (2022) : - Cours de l'hématologie- Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques de Fès. Pages :119,121
- [5] John W WEISEL (2005) : -Fibrinogène et fibrine- Département de biologie cellulaire et du développement, École de médecine de l'Université de Pennsylvanie.
- [6] E FRESSINAUD, D Meyer (1991 avril) : -von Willebrand factor and platelet interactions with the vessel Wall-Coagul sanguin Fibrinolysis.
- [7] Pr A. ARABI, Dr N. HAKIKI : - INTERPRETATION DU BILAN DE COAGULATION- Hématologie E.H. U. Oran. Rappel sur la physiologie et l'exploration de la coagulation. Pages :8,9,10
- [8] Meyer Michel SAMAMA, Carol EMILE, Rémi FAVIER, Jacqueline CONARO, Marie Hélène HORELLOU Ismail ELALAMY, Isabelle GOUINTHIBAUT, Monique CADIOU (2000) : - Hémostase et thrombose- Cahier de formation biologie médicale. Pages :14,27,65
- [9] Marie Louise Alonso, T.M., Hélène Arsenault, Dr Normand Blais, Anik Cormier, Danielle Cousineau (2017) : -Guide D'hémostase- Ordre Professionnel des Technologistes Médicaux du Québec. Page :15
- [10] S. Cherkaoui, A. Laaloui, S. Faiz, N. BENCHEMSI (2007) : -Pregnancy and delivery in a patient with Willebrand's disease-Laboratoire d'hématologie CHU Iben Rochd, Casablanca, Maroc.
- [11] Claude Négrier et Jenny Goudemand, et des Docteurs Anne Lienhart, Sandrine Meunier, Thierry Lambert, Catherine Ternisien du Centre National de Référence de l'hémophilie et autres déficits

hémorragiques (hormis maladie de Willebrand) et des Docteurs Gaële Comte et Gilles Bagou SAMU-69 Lyon. (2009) : -Urgences-hémophilie. Page :1

[12] Larry E. JOHNOSON, MD, PhD, (2020) : -Carence en vitamine K-Université of Arkansas for Médical Sciences.

[13] Dr. Alice Quinart (2013) : - Insuffisance hépato-cellulaire aigue et indications de la transplantation- Unité de transplantation hépatique et rénale ? Service d'Anesthésie-Réanimation I, CHU Bordeaux Pellegrin. Page :3

[14] Dr. Martin DITTMANN (2009) : -Guide et notices explicatives pour le prélèvement sanguin veineux- Techniques de prélèvement sanguin. Pages : 4,7,9,21

[15] Procédure de Préparation des réactifs Analyseur semi-automatique START MAX-STAGO. Ministère de santé CHP-Midelt Laboratoire d'analyses médicales.

[16] Benoît BEAUCAMP (2015 Nov 23) : Traitement par antivitamine K ; place du pharmacien d'officine et entretiens pharmaceutiques. Pages :28 ,40,42,44

RÉFÉRENCES WEBOGRAPHIE

[17] [https:// images.app.goo.gl/MNBKsHssz7eEf5HbA](https://images.app.goo.gl/MNBKsHssz7eEf5HbA)

[18] [https:// images.app.goo.gl/wMQ336RoHVwnLR2s7](https://images.app.goo.gl/wMQ336RoHVwnLR2s7)

[19] [https:// images.app.goo.gl/cTRaHqyBAq22E1Xb8](https://images.app.goo.gl/cTRaHqyBAq22E1Xb8)

[20] [https:// images.app.goo.gl/saYd7kLpYDemYuTT8](https://images.app.goo.gl/saYd7kLpYDemYuTT8)

[21] [https:// images.app.goo.gl/obm6FFmoZmVPAzBW7](https://images.app.goo.gl/obm6FFmoZmVPAzBW7)

[22] [https:// images.app.goo.gl/Z64Us3y8MgEH8rwr8](https://images.app.goo.gl/Z64Us3y8MgEH8rwr8)

[23] [https:// images.app.goo.gl/wjiWAMGnr73CjZo16](https://images.app.goo.gl/wjiWAMGnr73CjZo16)

[24] [https:// images.app.goo.gl/Enn9mhcGGrJsQ2H6A](https://images.app.goo.gl/Enn9mhcGGrJsQ2H6A)