

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD
FACULTE DE MEDECINE
DR. B. BENZERDJEB - TLEMCEM



وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد
كلية الطب
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

THÈME :

**Analyse des bilans de thrombophilie réalisés au laboratoire
Hémobiologie du CHU Tlemcen entre 2009 et 2013**

Présenté par :

Mr BENSAYAH Abdellatif Salim

Mr ZAZOUA KHAMES Anwar

Soutenu publiquement le 12 juin 2014

Le Jury

Président :

Pr. R. BENHABIB

Maître de conférences classe A en gynécologie obstétrique

Membres :

Dr. S. BENABADJI

Maître assistante en neurologie médicale

Dr. S. AYAD

Assistante en hémobiologie-transfusion sanguine

Dr. F. ADDA

Maître assistante en hémobiologie-transfusion sanguine

Encadreur :

Pr. K. ALLAL-TAOULI

Maître de conférences classe A en hémobiologie-transfusion sanguine

Remerciements

En préambule à ce mémoire nous remercions ALLAH qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude. Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apportées leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Ces remerciements vont tout d'abord aux joyaux de notre vie "Nos parents" qui sont la source de notre réussite, nous leur souhaitons qu'ils trouvent à travers ce mémoire le fruit de leurs efforts et sacrifices. Ainsi qu'à nos frères et sœurs qui nous ont toujours encouragés.

Nous tenons à remercier notre encadreur Professeur K Taouli pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail. Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous remercions également le corps professoral et administratif de la faculté de médecine, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et des grands efforts déployés pour assurer à leurs étudiants une formation optimale.

Nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail en général, et aux résidents du laboratoire hémobiochimie du CHU Tlemcen en particulier.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenus au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à toutes et à tous.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre 01 : Physiologie de l'hémostase	5
1. Hémostase primaire.....	6
2. Coagulation	7
2.1. Les facteurs de la coagulation	7
2.2. Schéma de la coagulation	8
2.3. Inhibiteurs physiologiques de la coagulation	10
2.3.1. Antithrombine	10
2.3.2. Système de la protéine C	12
2.3.3. Protéine Z	14
2.3.4. Inhibiteur de la voie du facteur tissulaire	14
3. Fibrinolyse.....	15
Chapitre 02 :Thrombophilie	16
1. Définition	16
2. Facteurs biologiques de risque de thrombophilie constitutionnelle	17
2.1. Déficits héréditaires en inhibiteurs de la coagulation.....	17
2.2. Polymorphismes génétiques	21
2.3. Autres paramètres biologiques pour le diagnostic de thrombophilie	23
3. Facteurs biologiques de risque de thrombophilie acquise.....	24
3.1. Le syndrome des antiphospholipides	24
3.2. Thrombocytose et thrombocytémie.....	27
3.3. Déficit acquis en AT, PC, PS	27
3.4. Hémoglobinurie paroxystique nocturne	27
Chapitre 03 :Aspects cliniques	28
1. Thrombose veineuse.....	28
2. Thrombose artérielle	30
3. Perte fœtale.....	31

Sommaire

Patients et méthodes	32
I. Patients	33
1. Critères d'inclusion et de non inclusion	33
1.1. Critères d'inclusion	33
1.2. Critères de non inclusion.....	33
2. Prélèvements	33
3. Analyse statistique.....	34
II. Méthodes	35
1. Bilan d'hémostase de routine	35
1.1. Temps de Quick	35
1.2. Temps de céphaline et activateur	35
1.3. Temps de thrombine	36
1.4. Dosage du fibrinogène	36
1.5. Numération de plaquettes.....	36
2. Bilan de thrombophilie.....	37
2.1. Dosage des inhibiteurs et de la résistance à la PC activée	37
2.1.1. Dosage de l'antithrombine	37
2.1.2. Dosage de la Protéine C	39
2.1.3. Dosage de la Protéine S.....	42
2.1.4. Résistance à la PC activée	44
2.2. Recherche des antiphospholipides.....	45
2.2.1. Lupus Anticoagulant : Les tests de coagulation	45
2.2.2. Anticorps antiphospholipides : Les techniques immuno-enzymatiques.....	49

Sommaire

III. Résultats	56
1. Données épidémiologiques.....	56
1.1. L'âge et le sexe.....	56
1.2. Particularités cliniques	57
1.2.1. Hommes	57
1.2.2. Femmes	58
1.3. Services	59
2. Etude des prévalences	60
3. Analyse par type de pathologie	61
3.1. Thrombose veineuse.....	61
3.2. Thrombose artérielle.....	64
3.3. Pertes fœtales.....	66
4. Analyse uni-variée : Le test d'indépendance du Khi-carré de PEARSON	69
4.1. Etude de la corrélation entre la thrombose veineuse et les paramètres biologiques.....	69
4.2. Etude de la corrélation entre la thrombose artérielle et les paramètres biologiques	70
4.3. Etude de la corrélation entre la perte fœtale et les paramètres biologiques.....	71
IV. Discussion	73
Conclusion.....	77
Références bibliographiques	80
Annexes	87

Liste des abréviations

ACC	Anti coagulants circulants
ACL	Anticorps anti cardiolipines
ADP	Adénosine diphosphate
Anti β2-GPI	Anticors anti béta 2 glycoprotéine 1
APA	Anticorps anti phospholipides
APL	Anticorp antiphospholipide
AT	Antithrombine
ATP	Adénosine triphosphate
AVC	Accident vasculaire cérébrale
AVK	Antagonistes de la vitamine K
α2-AP	Alpha 2 anti plasmine
BST	Boucle sensible à la thrombine
β2GP1	Beta 2 glycoprotéine 1
βTG	Bêtathromboglobuline
C4bBP	C4-binding protein
Ca	Calcium
CHU	Centre hospitalo universitaire
DO	Densité optique
DRVVT	Temps de venin de vipère Russel dilué
EGF	Facteurs de croissance épidermiques
EGF	Epidermal growth factor
Elisa	Enzyme linked immunoabsorbant assay
FT	Facteur tissulaire
FVL	Facteur V leiden
GAG	Glycosaminoglycane
GEHT	Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose
Gla	Acide γ -carboxyglutamique
Glu	Glutamyl
GP	Glycoprotéine
HDL	Lipoprotéine de faible densité
IDM	Infarctus du myocarde
IgG	Immunoglobuline G
IgM	Immunoglobuline M
IR	Index de Rosner
ISTH	Société internationale d'hémostase et de thrombose
K	Kringle
LA	Lupus anticoagulant
LDL	Lipoprotéines de haute densité
LEE	Limitante élastique externe
LEI	Limitante élastique interne
MB	Membrane basale
MTEV	Maladie thrombo-embolique veineuse
PAI-1	Inhibiteur 1 de l'activateur du plasminogène

Liste des abréviations

PAR1	Protease-activated receptor 1
PC	Protéine C
PdF	Produit de dégradation de la fibrine
PDGF	Facteur de croissance dérivé des plaquettes
PE	Phosphatidyléthanolamine
PF4	Facteur 4 plaquettaire
PL	Phospholipides
PNA	Paranitroaniline
PNPP	Para nitro phényl phosphate
PS	Protéine S
PSL	Protéine s libre
PST	Protéine S totale
RPCa	Résistance à la protéine C Activé
SAPL	Syndrome des antiphospholipides
SCCS	Système canaliculaire connecté à la surface
SHBG	Sex hormone binding globuline
SMP	Syndromes myéloprolifératifs
SP	Sérine protéase
SRH	Système réticulo-histiocytaire
STD	Système tubulaire dense
TCA	Temps de céphaline activateur
TFPI	Tissu factor pathway inhibitor
TM	Thrombomoduline
TMB	Tétra-méthyl-benzidine
TP	Taux de prothrombine
TQ	Temps de Quick
TSP	Thrombospondine
TV	Thrombose veineuse
TVC	Thrombose veineuse cérébrale
TVP	Thrombose veineuse profonde
TVS	Thrombose veineuse superficielle
TXA2	Thromboxane A2
VWF	Facteur Willebrand

Liste des figures

Figure 1: Les trois étapes de l'hémostase [2].....	5
Figure 2: Schéma synoptique de l'hémostase primaire [4].....	6
Figure 3: Complexes enzymatiques de la coagulation [5].....	8
Figure 4: Schéma de la coagulation [5].....	9
Figure 5: Schéma de la molécule d'antithrombine [9].....	10
Figure 6: mécanismes anticoagulants de l'antithrombine [10].....	11
Figure 7: Schéma de la molécule de protéine C [9].....	12
Figure 8: Schéma de la molécule de protéine S [9].....	12
Figure 9: Les mécanismes anticoagulants du système de la protéine C [10].....	13
Figure 10: Régulation de la coagulation [5].....	14
Figure 11: Activateurs et inhibiteurs du système du plasminogène plasmatique [14].....	15
Figure 12: Mutation du facteur V associées à une diminution de la réponse plasmatique à la PCa. 22	
Figure 13: Triade de Virchow [40].....	28
Figure 14: Déclencheurs de la thrombose veineuse [42].....	29
Figure 15: Déclencheurs de la thrombose artérielle [42].....	30
Figure 16 : Dosage de l'activité PC sur automate STA compact par méthode amidolytique.....	39
Figure 17 : Dosage immuno-enzymatique des aPA IgG ou IgM.....	49
Figure 18 : Dosage immuno-enzymatique des aβ2GPI IgG ou IgM.....	52
Figure 19 : Répartition de la population étudiée selon l'âge.....	56
Figure 20 : Répartition des hommes selon la pathologie.....	57
Figure 21 : Répartition des femmes selon la pathologie.....	58
Figure 22 : Répartition de la population étudiée selon les services.....	59
Figure 23 : Prévalence des différentes anomalies biologiques.....	60
Figure 24 : Répartition selon l'âge des patients ayant eu une thrombose veineuse.....	61
Figure 25 : Répartition par type de thrombose veineuse.....	62
Figure 26 : Prévalence de différentes anomalies biologiques dans la thrombose veineuse.....	63
Figure 27 : Répartition selon l'âge des patients ayant eu une thrombose artérielle.....	64
Figure 28 : Répartition par type de thrombose artérielle.....	65
Figure 29 : Répartition selon l'âge des patientes ayant eu des pertes fœtales.....	66
Figure 30 : Répartition par type de pertes fœtales.....	67
Figure 31 : Prévalence de différentes anomalies biologiques dans les pertes fœtales.....	68

Liste des tableaux

Tableau I : Facteurs de la coagulation avec leurs caractéristiques essentielles [2]	7
Tableau II: Poids moléculaires et concentrations des principaux inhibiteurs [2].....	10
Tableau III : Classification des déficits héréditaires en antithrombine [8].....	18
Tableau IV: Classification des déficits héréditaires en protéine C [8]	19
Tableau V: Classification des déficits héréditaires en protéine S [8].....	20
Tableau VI : Dosage Chronométrique de la protéine C	41
Tableau VII : Dosage Chronométrique de la protéine S totale	42
Tableau VIII : Dosage de la RPCa	44
Tableau IX : Dosage immuno-enzymatique des anticorps antiphospholipides IgG/M.....	50
Tableau X : Dosage immuno-enzymatique des anticorps anti- β 2GPI IgG et IgM	53
Tableau XI : Valeurs normales des APL en fonction des réactifs utilisés	54
Tableau XII : Tableau des prévalences des paramètres biologiques	60
Tableau XIII : Tableau des prévalences des paramètres biologiques dans la thrombose veineuse.....	63
Tableau XIV : Tableau des prévalences des paramètres étudiés.....	65
Tableau XV : Tableau des prévalences des paramètres étudiés dans les pertes fœtales	68
TableauXVI :Tableau de la corrélation entre la thrombose veineuse et les paramètres biologiques ..	69
TableauXVII: Tableau de la corrélation entre la thrombose artérielle et les paramètres biologiques	70
Tableau XVIII : Tableau de la corrélation entre les pertes fœtales et les paramètres biologiques.....	71

Introduction

Introduction

Étant donné la multitude d'expression que représente la thrombose en général et à son fort impact sur la santé humaine par la thrombose veineuse caractérisée par une forte prévalence dans notre société et présentant un risque vital par embolie pulmonaire 3^{ème} cause de décès après les affections néoplasiques et les cardiopathies ischémiques et les séquelles handicapantes notamment la maladie post-thrombotique, ou par la thrombose artérielle qui est aussi importante par son incidence et ses conséquences sur l'être humain comme l'infarctus du myocarde ou les accidents vasculaires cérébraux entre autre, ou par les multiples cas d'avortements spontanés et de mort in utéro.

À l'instar de la thrombose qui passait inaperçue, les hémorragies étaient largement plus faciles à détecter, toutefois le progrès technologique de ces dernières années qui ont été marquées par des avancées considérables dans les différents domaines analytiques, en effet, actuellement les techniques permettent avec une certaine précision de distinguer les différents constituants du sang que ce soit sur le plan quantitatif ou qualitatif.

L'hémostase s'avérait un équilibre parfait maintenant une fluidité sanguine mais aussi une coagulation optimale lors des hémorragies, la moindre anomalie pouvant perturber cet équilibre.

Dès 1965 avec le travail d'EGEBERG sur le déficit en antithrombine qui restera la seule cause connue de la thrombophilie, petit à petit certains ont démontré que d'autres déficits peuvent être mis en cause comme celui de la protéine C et S en 1981 par GRIFFIN mais ça n'expliquait toujours pas la physiologie de la coagulation plus spécialement à certains facteurs V et VIII qui n'avaient toujours pas d'inhibiteurs mais ça c'était avant l'arrivée de la biologie moléculaire car on a fini par déceler une mutation appelée mutation du facteur V Leiden en 1994 par DAHLBÄCK qui entraînait une résistance directe du facteur V activé et indirecte du facteur VIII activé à l'inhibition par la protéine C activée, puis la mutation 20210A touchant le gène de la prothrombine, ainsi cette dernière devient moins sensible à l'effet inhibiteur de la coagulation de l'antithrombine. Notant que récemment deux publications faisaient état de deux nouvelles mutations touchant aussi cette prothrombine la mutation Yukuhashi au Japon en 2012 et la mutation Belgrade chez 2 familles serbes en 2013.

Introduction

Sans aucun doute la thrombophilie qu'elle soit constitutionnelle ou acquise est considérée comme une prédisposition à la thrombose appelée état d'hypercoagulabilité dans les milieux biologiques ou état pro-thrombotique chez les cliniciens avec une immense hétérogénéité de son expression clinique, de plus la possibilité d'un déficit combiné AT et PC par exemple qui reste certes rare mais plus grave, face à tout ce complexe, la compréhension du mode de transmission autosomal-dominant des principales anomalies constitutionnelles a permis une meilleure explication de l'implication du facteur héréditaire dans la thrombophilie.

En second lieu comme dans tous les domaines, les débuts ont été très difficiles dans les bilans de thrombophilie surtout en ce qui concerne le respect des conditions pré-analytiques ou les interférences médicamenteuses dans les résultats comme celles impliquant les anti-vitamine K dans le déficit de la protéine C et S. Néanmoins l'importance de la stratégie prenant compte des autres facteurs de risque est devenue indispensable, comme le contexte familial ou les circonstances particulières comme l'immobilisation prolongée par exemple et tout ça ne faisait que démontrer tout l'intérêt de la triade de VIRCHOW exposé bien auparavant impliquant la lésion pariétale veineuse, la stase veineuse et l'hypercoagulabilité.

D'autre part, des partisans du mieux vaut prévenir que guérir se sont mis à la prévention même s'il n'existait pas de guide pratique à part un accord sur l'intérêt de la prophylaxie du risque thrombotique, les avantages ont été énormes même si la nécessité et la durée de traitement ont été un problème quotidien pour tous les spécialistes du moins c'était résolu au cas par cas.

Dans cette perspective est ce que réellement les paramètres de la thrombophilie se trouvent perturbé en cas d'expression clinique apparente de la pathologie thrombotique ?

À cet effet nous avons analysé les bilans de thrombophilie au niveau du laboratoire d'Hémobiologie du CHU Tlemcen adressés entre 2009 et 2013 qui avaient pour objectifs :

- Analyse descriptives des bilans de thrombophilie.
- Etude biologique des inhibiteurs de la coagulation et de la résistance à la protéine C activé dans une population qui thrombose.
- Profils biologiques des anticorps anti phospholipides.

Rappels bibliographiques

I. Physiologie de l'hémostase

L'hémostase est l'ensemble des processus physiologiques visant à maintenir l'écoulement fluide du sang, à prévenir les hémorragies spontanées et à arrêter le saignement après une rupture vasculaire, il s'agit d'un des systèmes enzymatiques et cellulaires les plus complexes de l'organisme.

Les principaux intervenants sont les facteurs plasmatiques de la coagulation, les plaquettes sanguines et la paroi vasculaire. On distingue trois phases l'hémostase primaire, la coagulation et la fibrinolyse, qui sont en fait étroitement liées[1].

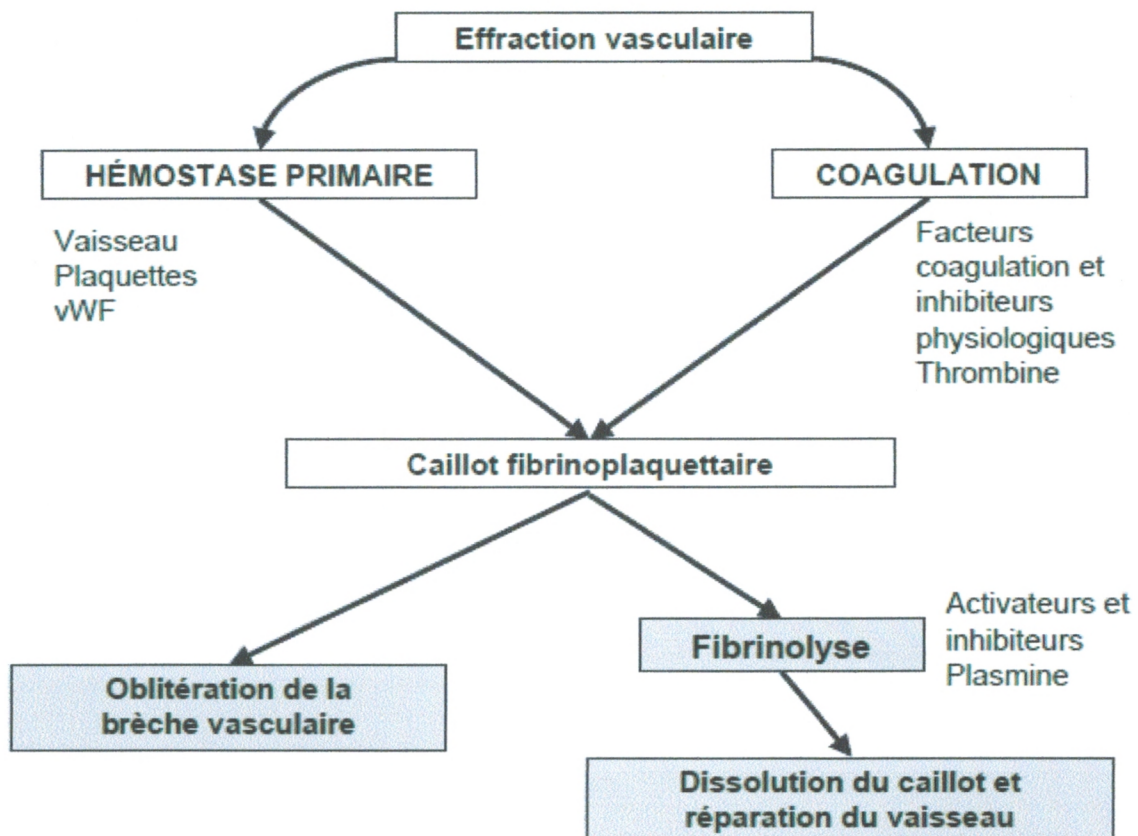


Figure 1: Les trois étapes de l'hémostase [2]

1. Hémostase primaire

Dès qu'une brèche vasculaire se constitue, le processus d'hémostase primaire se met en jeu, il comprend trois étapes essentielles :

- **Le temps vasculaire:** correspond à la première réaction de l'organisme qui est une vasoconstriction localisée qui peut arrêter les hémorragies soit au moins réduire le flux sanguin et modifier les conditions hémodynamiques, favorisant le processus d'interaction molécules et cellules.
- **L'adhésion plaquettaire :** les plaquettes dès leur sortie du vaisseau adhèrent à la structure sous endothéliale mise a nu par la brèche vasculaire. L'adhésion se produit en grande partie par la GP Ib qui se colle au sous endothélium grâce au facteur de Willebrand qui sert de ciment.
- **L'agrégation plaquettaire:** les plaquettes adhérentes s'activent et recrutent d'autres plaquettes circulantes. Les GP IIbIIIa de surface, lors de l'activation plaquettaire subissent une modification qui leur permet de fixer le fibrinogène en présence de calcium. L'agrégation plaquettaire se fait ainsi grâce au fibrinogène qui établit des ponts entre les plaquettes, créant un premier thrombus fragile (agrégation réversible). Grâce à la libération des enzymes et contenu granulaire des plaquettes, le caillot se solidifie (agrégation irréversible), constituant le thrombus blanc[3].

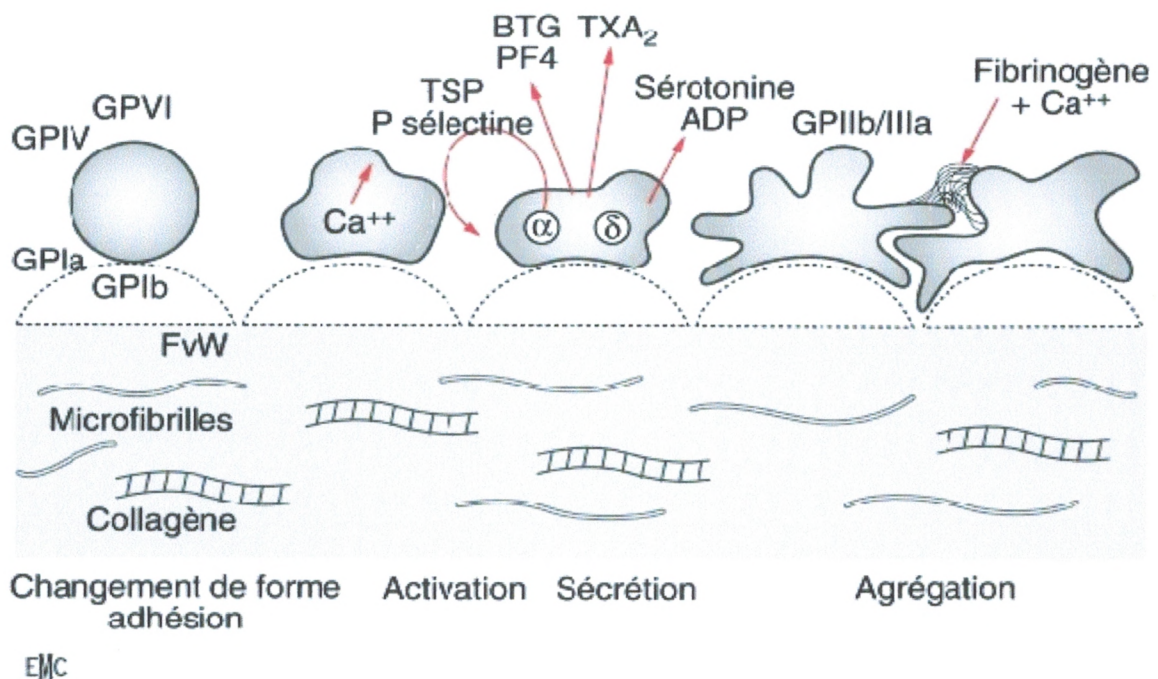


Figure 2: Schéma synoptique de l'hémostase primaire [4]

2. Coagulation

La coagulation doit être appréhendée sous forme dynamique. Après son initiation, elle s'amplifie mais doit rester limitée à la brèche vasculaire et ne pas être associée à une hypercoagulabilité circulante. Des mécanismes régulateurs importants sont mis en jeu.

2.1. Les facteurs de la coagulation

Les facteurs de coagulation sont au nombre de 12. Ce sont des protéines plasmatiques qui ont des noms qui leur sont propres, mais sont désignées dans la nomenclature internationale par des chiffres romains. Une fois activés, les facteurs de coagulation portent leur nom suivi du suffixe « a ». Les facteurs de coagulation peuvent être regroupés en différents groupes, selon leur structure et leur fonction [5].

Tableau I : Facteurs de la coagulation avec leurs caractéristiques essentielles[2]

	Synonyme	Lieu de synthèse	Concentration (mg/l)	Demi-vie (heure)	Taux minimum nécessaire	Vitamine K dépendant
I	Fibrinogène	Foie	2-4 ×103	120	0,5 à 1 g/l	non
II	Prothrombine	Foie	100-150	80	40 %	oui
V	Proaccéléline	Foie	5-10	24	10 à 15 %	non
VII	Proconvertine	Foie	0,35-0,6	6	5 à 10 %	oui
VIII	F antihémophilique A	Foie + SRH	0,1-0,2	12	30 à 50 %	non
IX	F antihémophilique B		3-5	24	30 à 50 %	oui
X	Facteur Stuart	Foie	7-17	48	10 à 20 %	oui
XI	Facteur Rosenthal	Foie	3-6	60	environ 30 %	non
XII	Facteur Hageman	Foie	30-40	60	–	non
XIII	Facteur de stabilisation de la fibrine	Foie Foie	20-30	240	2 à 3 %	non

Toutes les protéines plasmatiques de la coagulation sont synthétisées dans l'hépatocyte avant d'être sécrétées dans la circulation, à l'exception du TFPI qui est produit par l'endothélium vasculaire. Le foie joue donc un rôle-clé dans le maintien d'une hémostase normale. Toutefois, certaines des protéines de la coagulation ne sont pas exclusivement produites par le foie, mais aussi par d'autres organes : c'est le cas pour le facteur VIII, produit également par la rate, le poumon et la protéine S, produite également par l'endothélium vasculaire. Immédiatement après sa sécrétion dans la circulation, le facteur VIII se lie au facteur Willebrand qui le protège de la dégradation[5]. Les facteurs II, VII, IX

et X, et les protéines C et S subissent des modifications vitamine K-dépendantes indispensables à l'acquisition de leur activité fonctionnelle.

L'activation de ces facteurs nécessite un assemblage des complexes enzymatiques qui se fait sur une surface de phospholipides chargés négativement où se fixent l'enzyme, le substrat et le cofacteur. L'enzyme et le substrat se fixent aux phospholipides par leur domaine Gla, en présence d'ions calcium. Le cofacteur interagit à la fois avec l'enzyme, le substrat et les phospholipides et cet assemblage confère une efficacité catalytique optimale à l'enzyme[5].

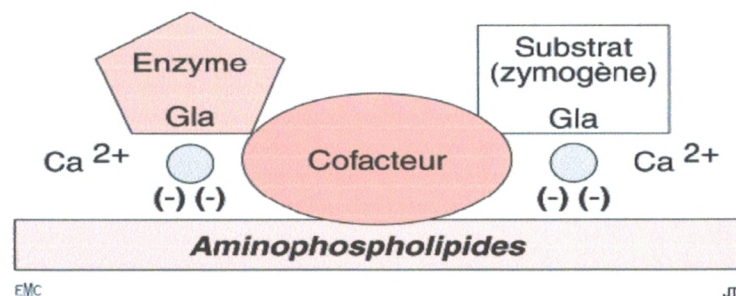


Figure 3: Complexes enzymatiques de la coagulation[5]

2.2. Schéma de la coagulation

La coagulation est initiée par la mise à nu du facteur tissulaire présent dans le sous endothélium mais absent de l'endothélium sain et apparaissant, lorsque celui-ci est anormal, lésé ou activé. De très faibles concentrations de F VIIa sont toujours présentes dans le sang dont la demi-vie est de 2,5 heures responsables de l'activation au niveau des sites où est exposé le FT. Il a été récemment démontré que des traces de FT soluble existent dans le sang circulant. Le complexe FT-FVIIa est le détonateur de la réaction[6].

La coagulation se passe en 3 phases (Fig 4) :

Phase 1: Initiation: Le FT se lie à la fois aux facteurs VII et des traces de VIIa, il en résulte l'activation des facteurs IX et X (IXa et Xa) qui activent leurs substrats respectifs (facteurs X et II) à la surface des plaquettes, les premières molécules de thrombine sont formées, la thrombine transforme le fibrinogène en fibrine. Cette phase est rapide et inhibée par le Tissu Factor Pathway Inhibitor (TFPI).

Phase 2: Amplification

La thrombine amplifie immédiatement sa propre formation, en stimulant d'une part les plaquettes en se fixant sur son récepteur (PAR1), recrutant de nouvelles plaquettes et donc d'autres surfaces catalytiques et d'autre part les facteurs V et VIII leur permettant de

remplir leur fonction, le facteur VIIIa vient accélérer l'activation du facteur X par le facteur IXa, le facteur Va vient accélérer l'activation du facteur II par le facteur Xa[7].

Phase 3: Propagation

Le facteur XI est activé par la thrombine générée à la surface des plaquettes, induisant des réactions enzymatiques et la formation explosive de thrombine. Cette phase se déroule une fois les molécules de fibrine formées. Lorsque la concentration de thrombine formée atteint un certain seuil, la thrombine va convertir le fibrinogène soluble en fibrine, le facteur XIIIa entraîne très rapidement la stabilisation des polymères de fibrine, formant une solide enveloppe autour de l'agrégat de plaquettes pour réaliser le caillot[7].

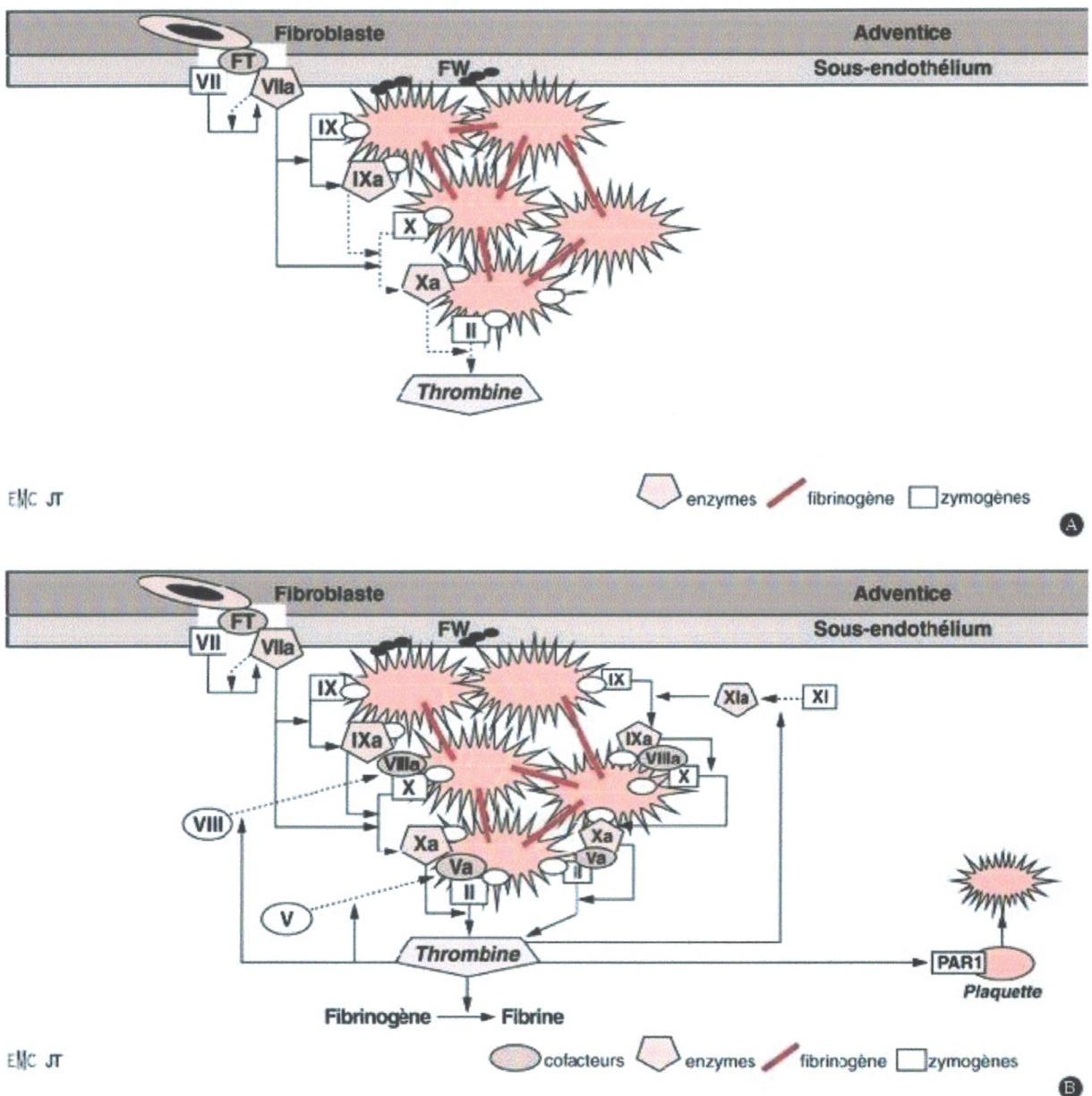


Figure 4: Schéma de la coagulation[5]

2.3. Inhibiteurs physiologiques de la coagulation

Les principaux inhibiteurs de la coagulation sont le TFPI, l'antithrombine, le système de la PC (protéines C et S), la protéine Z et à un moindre degré l'alpha 2 antiplasmine ($\alpha 2$ -AP).

Tableau II: Poids moléculaires et concentrations des principaux inhibiteurs[2]

Facteur	PM (Da)	Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)	Concentrations plasmatiques (μM)	Vitamine Kdépendant
AT	58 000	140	2,4	non
PC	62 000	4	0,064	oui
PS	69 000	10 (libre)	1,144	oui
PZ	72 000	2,6	0,04	oui
$\alpha 2$ -antiplasmine	63 000	66	0,95	non
$\alpha 2$ -macroglobuline	725 000	2,100	2,89	non
TFPI	34 000	0,073	0,002	non

2.3.1. Antithrombine

❖ Structure et synthèse

L'antithrombine est une glycoprotéine monocaténaire de 432 acides aminés, de MM 56 kDa, synthétisée par l'hépatocyte. Sa demi-vie plasmatique est de 50 à 70 heures. Elle appartient à la famille des inhibiteurs de sérine-protéase ou serpin.

L'AT comporte deux sites fonctionnels fondamentaux : le site réactif qui comporte l'arginine (Arg) 393 et la sérine (Ser) 394 et le domaine de liaison à l'héparine qui comporte la région des acides aminés 41 à 49 et 107 à 156. Sa concentration plasmatique est de 180 à 300 mg/L. Le gène codant l'AT est situé sur le chromosome 1, comporte sept exons et s'étend sur 13 480 paires de bases [8].

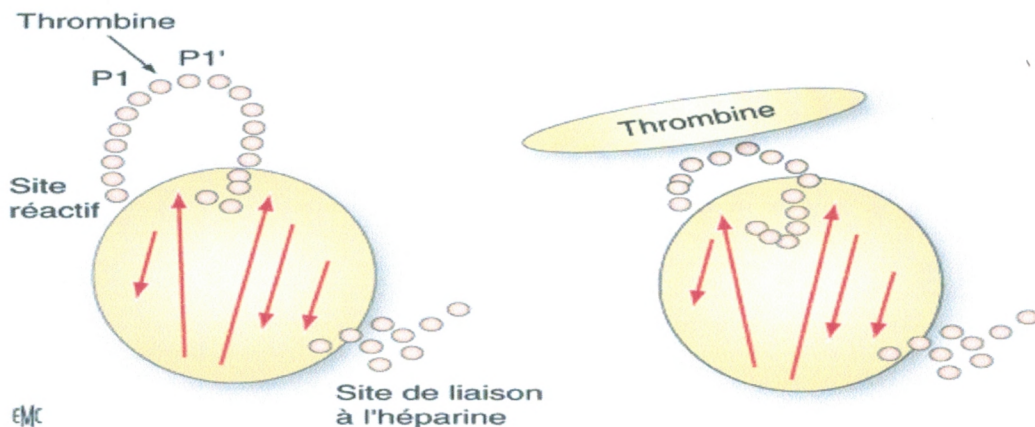


Figure 5: Schéma de la molécule d'antithrombine[9]

❖ **Mode d'action**

L'AT agit sur presque tous les facteurs activés de la coagulation. Elle joue un rôle essentiel pour freiner les mécanismes de coagulation. Anciennement dénommée AT III (antithrombine III), l'AT inhibe à la fois le FVIIa, le FIXa, le FXa, le FXIa et la thrombine[2].

Elle présente une action inhibitrice irréversible sur les facteurs activés de la coagulation. Cette action, dans les conditions physiologiques, est progressive et va devenir puissante et immédiate (accélération d'un facteur 2 000) par liaison à certains glycosaminoglycanes dont l'héparine[8].

Les mécanismes d'inhibition de la thrombine et du facteur Xa sont un peu différents selon l'enzyme cible : dans le cas de la thrombine, les héparane sulfates se lient à la fois à l'AT et à la thrombine, alors que dans le cas du facteur Xa, il n'y a pas d'interaction directe des héparane sulfates avec l'enzyme et seule l'interaction héparane sulfates-AT conditionne l'inhibition du facteur Xa[5].

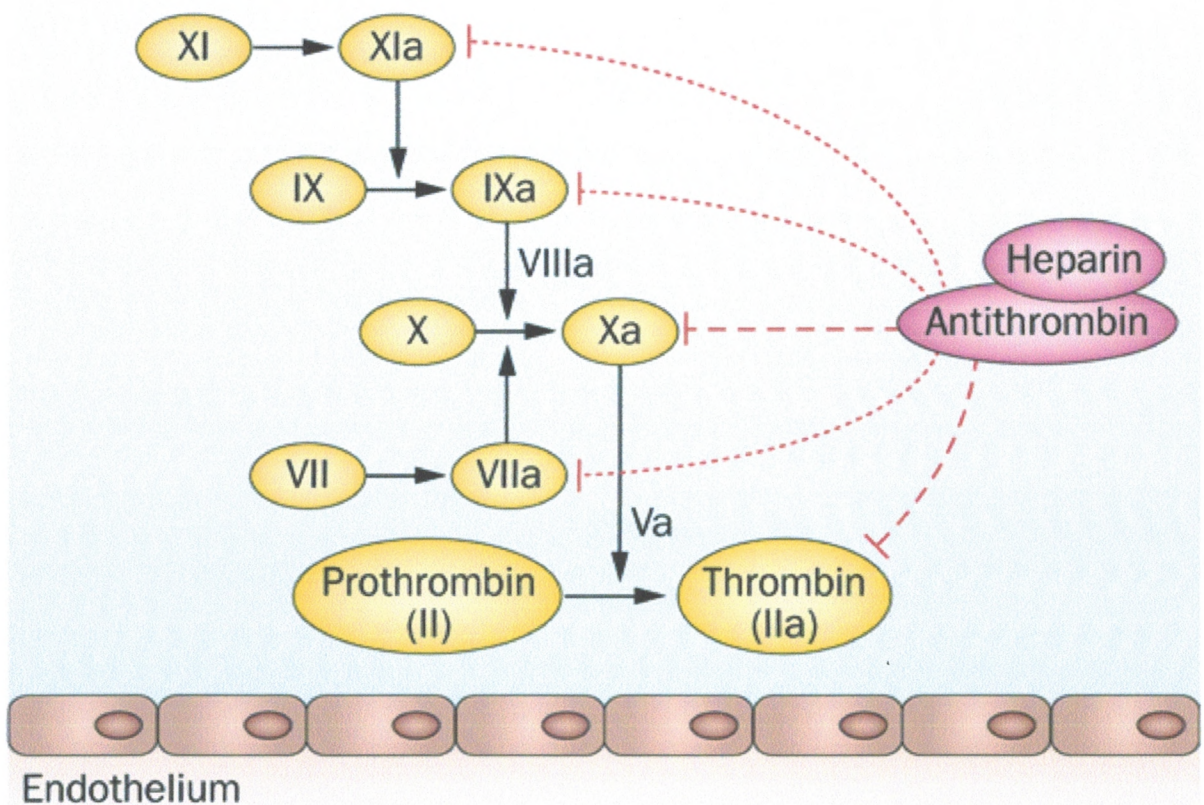


Figure 6: mécanismes anticoagulants de l'antithrombine[10]

2.3.2. Système de la protéine C

❖ Structure et synthèse

La protéine C Cest une glycoprotéine bicaténaire de 461 acides aminés, de MM 62 kDa. Elle est vitamine K dépendante, synthétisée par l'hépatocyte. Elle a une demi-vie courte de six à huit heures. L'extrémité N-terminale de la chaîne légère contient neuf résidus d'acide gammacarboxyglutamique (GLA) indispensables à sa fixation par le calcium aux phospholipides (PLs). La chaîne lourde contient un site de clivage Arg-Leu pour la thrombine et un site catalytique, Sa concentration plasmatique est de 3 à 5 mg/L. Le gène de la PC, situé sur le chromosome 2, s'étend sur 11,6 kb et comprend neuf exons[8].

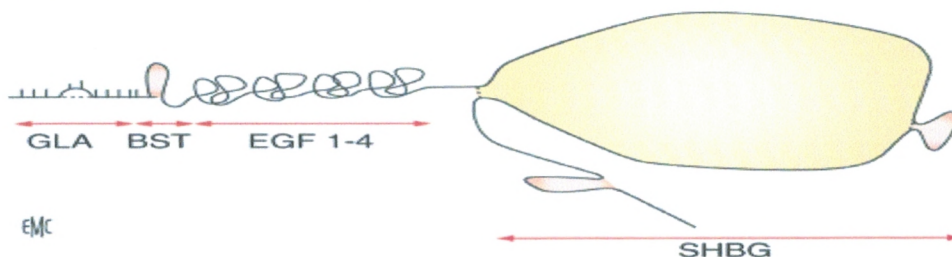


Figure 7: Schéma de la molécule de protéine C [9]

La protéine S est une protéine vitamine K dépendante de 635 acides aminés, de MM 69 kDa. Sa synthèse n'est pas exclusivement hépatocytaire, elle est produite par les cellules endothéliales, les cellules de Leydig et le cerveau. La partie N-terminale de la protéine contient 11 GLA qui lient les ions calcium et lui confèrent une haute affinité pour les PLs membranaires. Le gène codant la PS a été localisé sur le chromosome 3. Sa concentration plasmatique est d'environ 25 mg/L et sa demi-vie est de 42 heures.

Dans le plasma, la PS circule principalement sous deux formes, une forme libre (40 %) et une forme liée (60 %) à une protéine régulatrice du système du complément, la C4b-binding protein (C4b-BP). La PS ne se lie qu'à l'isoforme bêta de la C4b-BP (80 % de la C4b-BP circulante)[11].

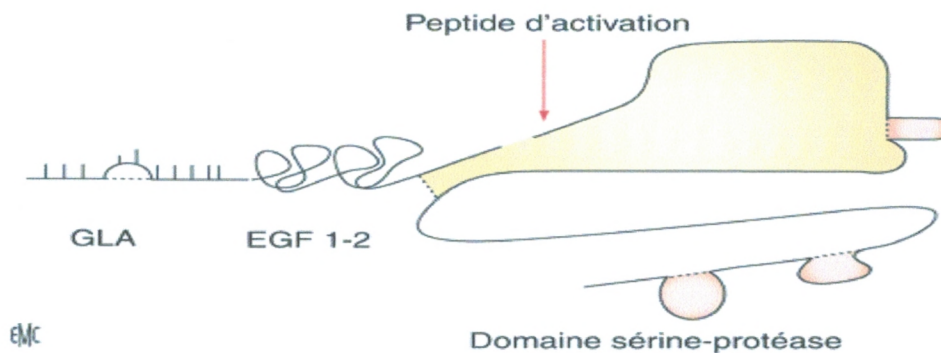


Figure 8: Schéma de la molécule de protéine S [9]

2.3.3. Protéine Z

La protéine Z (PZ) circule dans le sang sous la forme d'un complexe avec un inhibiteur PZ-dépendant (PZI, pour protein Z inhibitor). Cet inhibiteur est une sérine protéase dont la concentration plasmatique est de 38 µg/ml (53 nM/ml). La PZ sert de catalyseur à la neutralisation du facteur Xa par PZI, en présence de phospholipides. Le PZI inhibe le FXIa sans le concours de la PZ[2].

2.3.4. Inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI)

Le TFPI circule sous deux formes, une forme liée aux lipoprotéines (HDL, lipoprotéine A, LDL) et une forme libre étant responsable de l'activité anticoagulante(20 % du TFPI circulant).

Le TFPI inhibe l'activité catalytique du complexe FT-VIIa en deux étapes :

- Dans un premier temps, le TFPI se fixe au FXa.
- Puis le complexe TFPI-Xa s'associe au complexe FT-VIIa pour former le complexe quaternaire inactif FXa-TFPI-FT-FVIIa (justifiant la nécessité de la présence du Xa pour initier l'inhibition par le TFPI).

In vivo, l'héparine déplace le TFPI fixé aux glycosaminoglycanes de la paroi vasculaire, avec pour conséquence une augmentation de son activité inhibitrice[2].

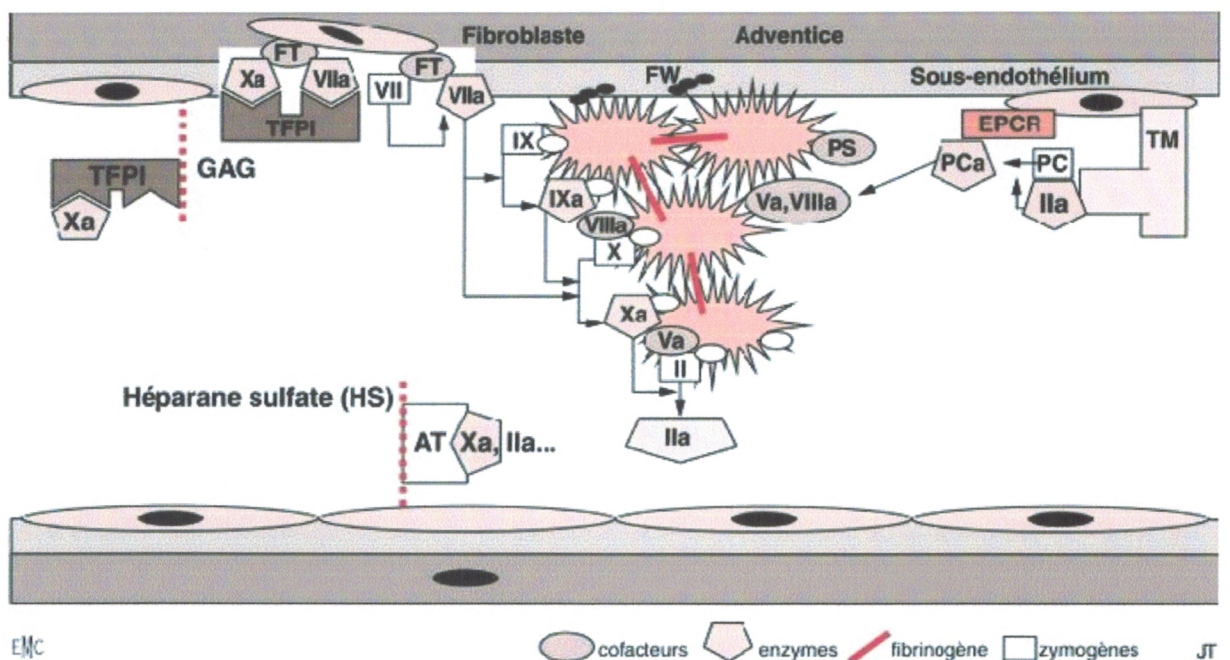


Figure 10: Régulation de la coagulation[5]

3. Fibrinolyse

Le système fibrinolytique correspond à la conversion d'un pro-enzyme, le plasminogène, en un enzyme actif, la plasmine dont les deux fonctions principales sont de détruire le caillot de fibrine et de participer à la dégradation des matrices extracellulaires. Cette conversion s'effectue sous l'action de deux activateurs du plasminogène (PA), de type tissulaire (t-PA) et urinaire (u-PA). L'activation du plasminogène médiée par le t-PA est impliquée dans la dissolution de la fibrine intravasculaire et favorise l'activation du plasminogène à la surface des cellules.

L'inhibition du système fibrinolytique relève de l'action des inhibiteurs sur les activateurs du plasminogène (PAI) et de la plasmine (α_2 -antiplasmine). Récemment, un inhibiteur de la fibrinolyse activé par la thrombine (TAFI) a été décrit. Il élimine les résidus lysine en position COOH terminale exposés par la fibrine en cours de dégradation et contrôle ainsi la biodisponibilité des substrats de la plasmine [13]

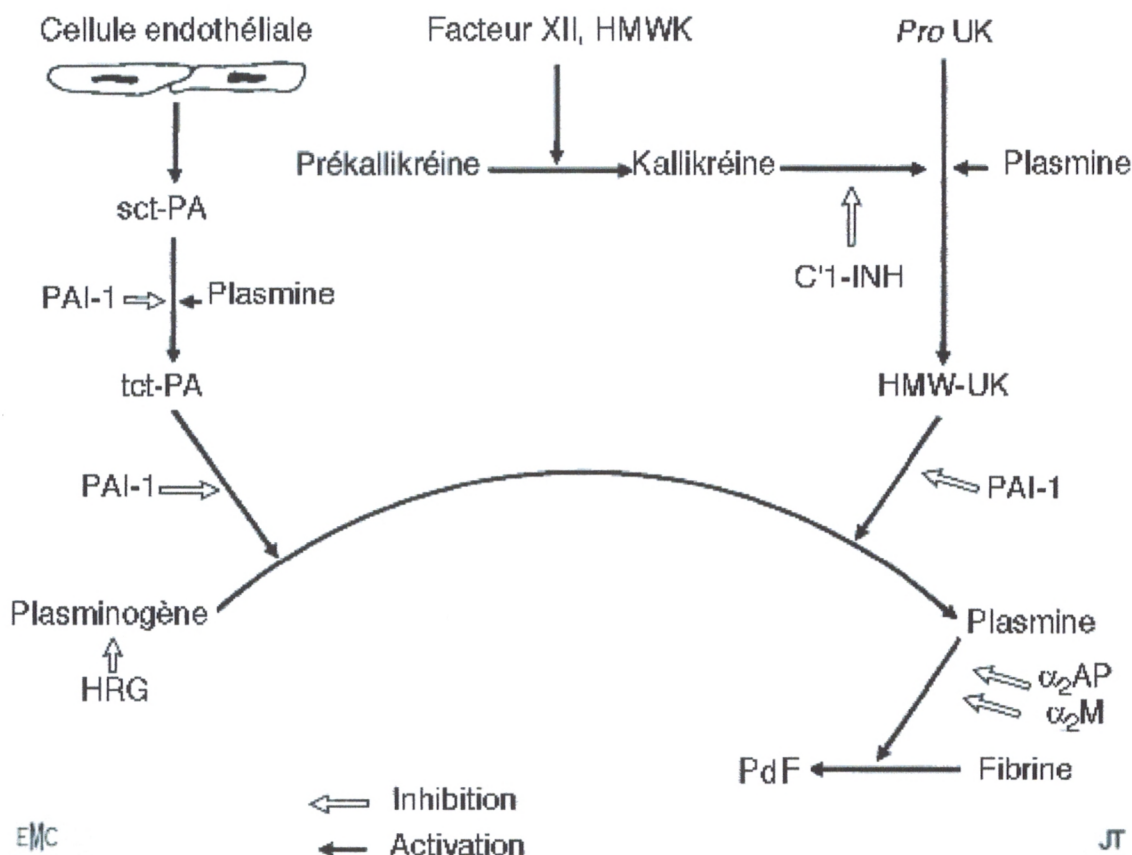


Figure 11: Activateurs et inhibiteurs du système du plasminogène plasmatique[14]

II. Thrombophilie

1. Définition

Le terme thrombophilie désigne habituellement les anomalies de l'hémostase prédisposant aux thromboses ou la tendance aux thromboses. Les ambiguïtés sur le mot thrombophilie viennent du fait que ce mot a été créé récemment par analogie avec hémophilie[15].

Habituellement, la thrombophilie désigne un ensemble d'anomalies moléculaires congénitales ou acquises entraînant un risque accru de thromboses, mais il est reconnu qu'une proportion importante de sujets porteurs de cette anomalie ne développera jamais de thromboses. A l'inverse, chez presque la moitié des patients ayant une maladie thrombotique récidivante, voir familiale, les investigations biologiques les plus poussées ne mettent en évidence aucune anomalie[15].

La pathologie thrombotique concernée est essentiellement veineuse (1 à 2 individus sur 1000 chaque année) [16]. Bien que moins clairement délimitée, l'hypercoagulabilité est également soupçonnée de jouer un rôle dans la thrombose artérielle[17].

Thrombophilie constitutionnelle se définit par une tendance déterminée génétiquement à faire des thromboses. Elle peut être due :

- Soit à la perte de fonction de certains inhibiteurs de la coagulation : déficit en antithrombine (AT), déficit en protéine C, déficit en protéine S, résistance à la protéine C activée (facteur V Leiden).
- Soit à un gain de fonction par augmentation de l'expression de certains facteurs procoagulants : augmentation du facteur II par mutation du nucléotide 20201 (G→A), élévation du taux des facteurs VIII, IX, X, XI et l'hyperhomocystéinémie [18].

Thrombophilie acquise regroupe toutes les conditions pathologiques (biologiques ou cliniques) entraînant une prédisposition à la thrombose.

Ainsi les maladies comme le syndrome des antiphospholipides (SAPL), les syndromes myéloprolifératifs (SMP), l'hémoglobinurie paroxystique nocturne, les syndromes de consommation telle que la coagulation intra vasculaire disséminée(CIVD), la thrombopénie induite par l'héparine (TIH), l'hyperhomocystéinurie sont autant d'étiologies de thrombophilie acquise[18].

2. Facteurs biologiques de risque de thrombophilie constitutionnelle

2.1. Déficiets héréditaires en inhibiteurs de la coagulation

2.1.1. Déficit en antithrombine

Le déficit héréditaire en AT, décrit pour la première fois en 1965 par Egeberg, le déficit constitutionnel en AT est rare : sa prévalence serait de 1/2000 à 1/5000 dans la population générale [15] et dans la population jeune qui thrombose est de 7%, en Algérie 6.5%[19].

Les manifestations cliniques les plus fréquentes sont des thromboses veineuses profondes et des embolies pulmonaires survenant spontanément ou dans des situations à risque de thrombose (alitement, chirurgie, prise de contraceptif oestroprogestatif, grossesse et post-partum) chez l'adulte jeune.

Les déficiets sont de plusieurs types : quantitatifs (type I), qualitatifs (type II) (tableau 3).

Dans les déficiets quantitatifs, la concentration de la protéine est diminuée, mais elle fonctionne normalement, dans les déficiets qualitatifs de type IIRS (reactive site) ou HBS (heparin-binding site), la concentration plasmatique de la protéine est normale, mais la fonction du site actif pour les premiers ou du site de liaison à l'héparine pour les seconds est anormale, dans les déficiets de type IPE (pléiotropiques), la stabilité de la protéine est modifiée, et sa concentration plasmatique est légèrement diminuée[8].

Le risque thrombotique est fonction du type de déficit. En effet, le déficit de type IHBS engendre un risque beaucoup plus faible que les déficiets de type I ou IIRS. Le degré de risque associé au déficit de type PE est variable en fonction de la position de l'anomalie[20].

Les bases moléculaires des déficiets ont été établies, et les nombreuses mutations identifiées sont regroupées dans des bases de données. Les déficiets homozygotes sont extrêmement rares (car probablement le plus souvent létaux avant la naissance) et ne sont rencontrés que pour des anomalies de type IHBS ou quelques variantes instables modérément ou peu délétères[21,22,23].

L'AT Cambridge II (Ala384Ser) est un variant associé à des taux d'AT peu diminués. Son rôle dans la survenue des thromboses est controversé (effet significatif dans une étude espagnole mais non confirmé dans deux études françaises) [8].

Tableau III: Classification des déficits héréditaires en antithrombine [8]

		Activité cofacteur de l'héparine	Activité progressive	Antigène
Type I		↓	↓	↓
Type II	RS	↓	↓	N
	HBS	↓	N	N
	PE	limite	limite	limite

2.1.2. Déficit en protéine C

Les déficits héréditaires en PC sont mis en évidence chez environ 3 % des patients atteints de MTEV. Ces déficits sont de transmission autosomale dominante.

Les manifestations cliniques observées chez les hétérozygotes sont à rapprocher de celles qui sont observées en cas de déficit en AT.

La prévalence du déficit en PC associé à des thromboses dans la population générale est comprise entre 1/16 000 et 1/36 000, La prévalence dans la population jeune qui thrombose est 3 à 8%, en Algérie 6.5%[19].

Mais une prévalence beaucoup plus forte du déficit en PC asymptomatique a été mise en évidence dans des populations saines de donneurs de sang (1/200 à 1/700). L'homozygotie est rare. Les parents d'enfants homozygotes sont généralement asymptomatiques. Lorsque l'homozygotie est associée à une absence totale de protéine circulante active, la pathologie thrombotique peut être gravissime, en effet les patients sont alors susceptibles de présenter dès la naissance un purpura fulminans ou un syndrome thrombotique sévère.

Il existe des déficits quantitatifs (type I) et qualitatifs (type II)[8]

- **Type I déficit quantitatif (90%)** : défaut de sécrétion de la protéine.
- **Type II déficit qualitatif (10%)** : protéine sécrétée normalement, mais présente une anomalie fonctionnelle.

✓ Type II AM

- Activité enzymatique diminuée décelée avec les méthodes amidolytiques.
- Anomalie au niveau du site actif.
- 04 mutations identifiées.

✓ **Type II AC**

- Activité anticoagulante diminuée décelée par méthodes de coagulation
- Site catalytique intact.
- Anomalies au niveau du site d'interaction avec les autres protéines(PS, FVa, FVIIIa, PL).
- 08 mutations identifiées.

Tableau IV: Classification des déficits héréditaires en protéine C[8]

		Activité anticoagulante	Activité amidolytique	Antigène
Type I		↓	↓	↓
Type II	AM	↓	↓	N
	AC	↓	N	N

2.1.3. Déficit en protéine S

Les déficits héréditaires en PS sont liés à des mutations ou des délétions d'un gène situé sur le chromosome 3. Ce déficit est retrouvé chez 2 à 3 % des patients thrombophiliques, il pourrait être de l'ordre de 0,05 à 0,10 % dans la population générale[8]. La fréquence dans la population qui thrombose est de 3% et en Algérie 3.2% [19].

De rares déficits homozygotes ont été décrits mais la grande majorité des patients sont hétérozygotes. La transmission se fait également sur le mode autosomique dominant. Les bases moléculaires des déficits ont été établies [24] Un nombre important de mutations délétères du gène PROS1 est retrouvé qui sont dans la plupart du temps des mutations « privées ».

Trois types de déficits héréditaires sont définis[25]:

- **Type quantitatifs** (I et III) affectent la quantité de protéine circulante :
 - le type I : la PS totale et la PS libre sont diminuées de façon équivalente.
 - le type III : seule la PS libre est basse.
- **Type qualitatif** (II) un rare déficit associant un taux de PSL normal et une activité diminuée :
 - Type IIa : anomalie au niveau de la PS libre.
 - Type IIb : concentration en PS libre normale mais activité anticoagulante abaissée.

Tableau V: Classification des déficits héréditaires en protéine S[8]

	Activité cofacteur de la PCa	PS libre	PS Totale
Type I	↓	↓	↓
Type II	↓	↓	N
Type III	↓	N	N

In vivo, l'importance des conséquences du déficit a été démontrée par les manifestations cliniques observées dans les familles déficitaires initialement décrites par Comp et al en 1984 [26] et par le tableau clinique dramatique du très rare déficit homozygote dans la période néonatale, similaire à celui du déficit homozygote en PC.

Dans les études familiales, à l'état hétérozygote, les déficits en PS entraînent une MTEV chez l'adulte. La prévalence des déficits a été difficile à évaluer compte tenu des difficultés initiales des dosages de la PS.

Le polymorphisme Herleen (Ser460Pro) est une mutation qui affecte un site de glycosylation et qui influence la durée de vie de la protéine dans la circulation, ce qui explique son association à des taux de PS qui peuvent être à la limite des valeurs pathologiques chez les hétérozygotes. Il est probablement sans conséquence clinique à l'état hétérozygote en l'absence de facteurs de risque associés. Une influence significative indépendante de l'âge et du sexe d'un polymorphisme fréquent (Pro626Pro) des régions codantes sur les taux de PSL et de PST avait été rapportée il y a quelques années. En revanche, une étude récente ne retrouve pas d'influence sur la PST, un effet significatif sur le taux de PS libre est observé mais uniquement chez les femmes, Pro626Pro n'a pas d'influence sur les événements cliniques survenus dans les familles déficitaires[8].

2.2. Polymorphismes génétiques

2.2.1. Polymorphisme du facteur V : « résistance plasmatique à l'action de la protéine C activée »

Le polymorphisme Leiden du facteur V, qui résulte du remplacement du nucléotide G par un A en position 1691 du gène du FV, affecte l'Arg 506 du cofacteur V de la coagulation. Le FV possède des fonctions pro- et anticoagulantes, en effet il est procoagulant en tant que cofacteur de l'action du FXa sur la prothrombine et anticoagulant en tant que cofacteur de la PCa vis-à-vis de la dégradation du FVIIIa. La PCa dégrade le FVa par clivage au niveau des Arg 306, 506, 679 et 994. Le clivage en 506 intervient en premier, et il est prépondérant lorsque le FVa et la PCa sont présents en faible concentration, mais l'inactivation n'est totale qu'après clivage en 306. L'activité du FV en tant que cofacteur de la PCa pour la dégradation du FVIIIa nécessite le clivage en 506[27].

Lorsque le polymorphisme Leiden est présent, l'Arg 506 est remplacée par une glutamine, ce qui entraîne un gain de fonction du FV. Cette mutation engendre une résistance à la PCa (RPCa) qui peut être mise en évidence dans des tests de coagulation.

Le polymorphisme Leiden du FV est un facteur de risque génétique de thrombose très fréquent.

Il existe une hétérogénéité géographique de sa répartition : il est présent à l'état hétérozygote dans le Nord de l'Europe et aux États-Unis, avec une fréquence moyenne de 5 % dans la population générale, sa fréquence diminue du nord au sud de l'Europe, avec une fréquence de l'ordre de 2 % chez les hispaniques, La fréquence des homozygotes a été évaluée à 0,02 % (chez les Caucasiens). Elle est plus faible chez les Noirs américains et africains (1 %) et chez les Asiatiques (0,5 %)[28]. En Algérie la fréquence allélique dans la population générale est de 1,3%, et dans la population qui thrombose est de 8,5%[19].

Deux mutations privées qui affectent, sur le FV, le site de clivage en 306 ont été rapportées : la mutation Hong Kong (Arg306Cys) qui serait sans effet sur la RPCA et la mutation Cambridge (Arg306Thr) qui pourrait être associée à une résistance accrue[29].

Une RPCA n'est pas toujours due à une mutation V Leiden (Arg506Glu), en effet d'autres mutations et polymorphismes ont été décrits :

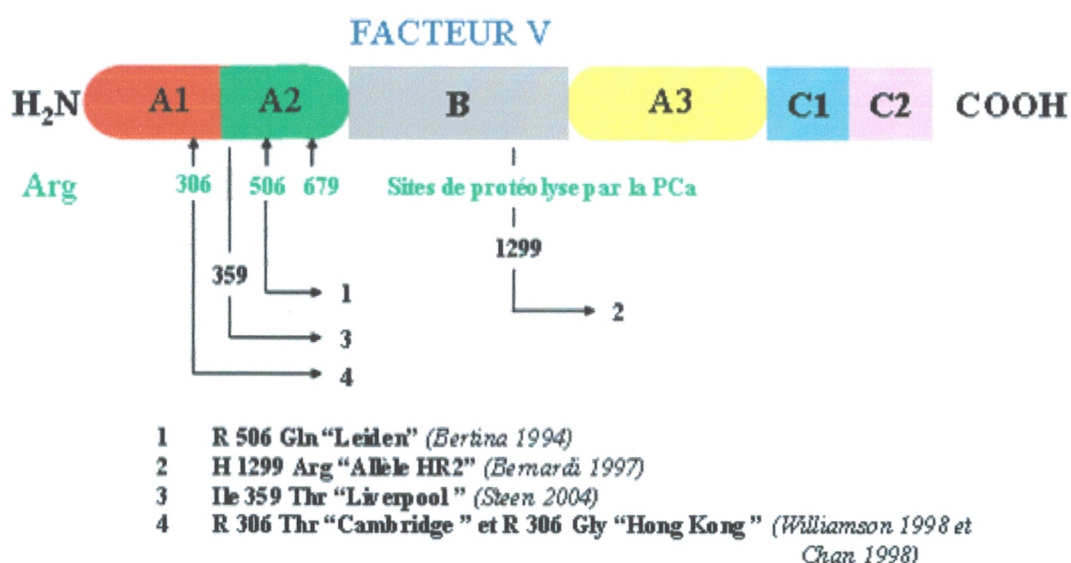


Figure 12: Mutation du facteur V associées à une diminution de la réponse plasmatique à la PCa.

2.2.2. Polymorphisme du facteur II: Mutation 20210G>A du gène de la prothrombine

Le polymorphisme 20210G>A du gène de la prothrombine (FII) se situe en aval de la séquence codante, dans la région 3' non traduite (3'UTR). Il est situé dans une région fonctionnelle qui conditionne la maturation des ARN messagers. La mutation G>A augmente l'efficacité du clivage et de la maturation, entraîne une accumulation d'ARNm mature dans le cytoplasme et une augmentation de la synthèse protéique. Ce mécanisme explique l'association significative de la mutation à des taux élevés de FII qui a été mise en évidence. Cette augmentation de concentration pourrait, de plus, par son impact sur la génération de thrombine, expliquer son influence sur le risque thrombotique. Produite à partir du FII, la thrombine, qui transforme le fibrinogène en fibrine, est la sérine-protéase la plus efficace du système pro-coagulant. La concentration du FII et celle de l'AT sont deux déterminants majeurs de la génération de thrombine.

La prévalence du polymorphisme en Europe est aux alentours de 2 %, avec un gradient croissant nord-sud. Il est rare dans les populations d'Afrique et d'Asie. Le risque relatif de thrombose veineuse chez les hétérozygotes est de l'ordre de 2 à 3[9].

2.3. Autres paramètres biologiques pour le diagnostic de thrombophilie

Il est démontré que l'élévation du taux plasmatique des facteurs VIII, IX, X ou XI et l'hyperhomocytéinémie sont des facteurs de risque de MTEV. Comme ces anomalies ne sont pas exclusivement d'origine génétique, elles ne permettent pas de poser avec certitude le diagnostic de thrombophilie[30].

➤ **Augmentation du FVIII et groupe sanguin AB0**

L'étude d'une large cohorte néerlandaise de patients ayant une MTEV (la Leiden Thrombophilia Study ou LETS) a montré que 25 % d'entre eux avaient un taux de facteur VIII > 150 % contre 11 % parmi les sujets témoins. En cas d'augmentation du facteur VIII, le risque de MTEV était multiplié par 4,8[31].

L'élévation du facteur VIII pourrait dans certains cas avoir un support génétique, mais le rôle de facteurs environnementaux ne peut le plus souvent pas être exclu. Le facteur VIII augmente significativement lors de syndromes inflammatoires et durant la grossesse. Il a été montré que son élévation majorait le risque de la thrombose veineuse profonde(TVP) après la prise d'œstro-progestatif (OP)[30].

Il a été établi un risque de MTEV deux fois plus élevé chez les sujets de groupe sanguin A, B et AB par rapport au groupe sanguin O[32].

Le groupe sanguin non-O est un facteur de risque faible de TVP jusqu'à ce qu'un autre facteur de risque thrombotique comme le facteur V Leiden coexiste et réalise une interaction gène-gène synergique [32].

La concentration du facteur VIII de la coagulation est influencée par celle du facteur Willebrand et le groupe sanguin avec des concentrations plus élevées chez les sujets de groupe sanguin nonO[32].

➤ **Élévation du taux plasmatique des facteurs IX, X et XI**

Un taux de facteur XI supérieur à 130%est associé à un risque élevé de TVP. Cette élévation fréquente (10 % de la population) double le risque de TVP.De même un taux de facteur X supérieur à 130 % multiplie par 1,6 le risque de TVP. Ce risque est plus marqué chez les femmes pré-ménopausées ne prenant pas d'OP. Enfin, un taux de facteur IX supérieur à 130 % double voire triple le risque de TVP. Aucune donnée concernant les conséquences des variations de ces facteurs n'est disponible chez la femme enceinte[30].

➤ **Hyperhomocystinémie et mutation C677T de la MTHFR**

Les études épidémiologiques ont montré qu'une hyperhomocystéinémie est associée à un risque accru de TVP, avec un RR de 2 environ. Le dosage de cet acide aminé, assez délicat, n'est réalisé que par des laboratoires spécialisés. L'augmentation de l'homocystéine plasmatique est favorisée par une carence en acide folique (notamment chez les sujets homozygotes pour l'allèle 677T du gène du méthylène tétrahydrofolate réductase [MTHFR]) ou en vitamine B6, voire en vitamine B12 [30].

3. Facteurs biologiques de risque de thrombophilie acquise

La thrombophilie acquise regroupe toutes les conditions pathologiques (biologiques ou cliniques) acquises entraînant une prédisposition à la thrombose.

3.1. Le syndrome des antiphospholipides « SAPL »

Le SAPL est aujourd'hui reconnu comme l'une des plus fréquentes causes de thrombophilie acquise, survenant le plus souvent dans un cadre d'un lupus érythémateux systémique ou isolément ce syndrome associe des manifestations cliniques à type d'évènements thrombotiques récurrents veineux ou artériels ou des manifestations obstétricales variées à la présence durable d'anticorps antiphospholipides.

Les critères cliniques et biologiques de Sapporo (définis lors du 8^e symposium international sur les Ac antiphospholipides en 1998) ont été retenus pour définir le SAPL. Ils ont été revus en 2005 à Sydney[33].

Le SAPL est caractérisé par l'association d'au moins un critère clinique et un critère biologique.

Critères cliniques :

Les critères cliniques comportent la thrombose vasculaire et/ou les manifestations obstétricales :

➤ **La thrombose vasculaire :**

Elle est définie par un ou plusieurs épisodes cliniques de thrombose artérielle, veineuse ou des petits vaisseaux dans n'importe quel tissu ou organe. La thrombose doit être confirmée par imagerie doppler ou par histologie.

➤ **Les manifestations obstétricales** sont définies par au moins un de ces critères :

- ✓ Une ou plusieurs morts inexplicables de fœtus morphologiquement normaux (échographie ou examen direct du fœtus) à la 10^e semaine de gestation (SG) ou au-delà.

- ✓ Une ou plusieurs naissances d'un nouveau-né à la 34e semaine de gestation (SG) ou avant en raison d'une prééclampsie, d'une éclampsie ou d'une insuffisance placentaire sévère.
- ✓ Trois avortements spontanés ou plus, inexpliqués avant la 10e semaine de gestation (SG), après exclusion d'anomalies hormonales ou anatomiques maternelles et des causes chromosomiques paternelles ou maternelles.

Critères biologiques :

- ✓ Mise en évidence d'un LA détecté d'après les recommandations du sous-comité LA de l'ISTH, deux fois ou plus à deux occasions séparée d'au moins 12 semaines.
- ✓ Présence d'un ACL d'isotype IgG et/ou IgM dans le plasma ou le sérum, de titre moyen ou fort (c'est-à-dire > 40 UGPL ou MPL, ou > 99e percentile), détecté à deux occasions séparée d'au moins 12 semaines, mesuré par un test ELISA standardisé.
- ✓ Présence d'un anti-β2GPI d'isotype IgG et/ou IgM dans le plasma ou le sérum, de titre supérieur au 99e percentile, détecté à deux occasions séparée d'au moins 12 semaines, mesuré par un test ELISA standardisé et d'après les procédures recommandées par Reber et al[34].

Les APL sont traditionnellement classés en deux sous types en fonction de la méthode qui permet leur détection :

- Les tests de coagulation sont utilisés afin de mettre en évidence les anticoagulants circulants type lupique appelés ACC ou lupus anticoagulants (LA).
- La méthode immunologique de type ELISA permet de détecter les anticardiolipines et les antiβ2-GPI.

A. Les Anti Coagulants Circulants (ACC) ou LA

Les anticorps à effet « anticoagulant lupique » (LA) sont détectés dans des tests de coagulation. Il existe une compétition entre ces anticorps et les facteurs vitamine K dépendants vis-à-vis des sites de liaison mis en jeu dans la cascade de la coagulation, localisés sur les PLs anioniques. Les LA sont donc susceptibles d'engendrer des allongements des temps de coagulation dans les tests qui font intervenir ces facteurs. La sensibilité des tests vis-à-vis des LA dépend de la concentration en PL (qui doit être faible) et de la séquence réactionnelle explorée. De façon paradoxale, ils n'ont pas d'action anticoagulante in vivo et s'accompagnent de phénomènes thrombotiques[35].

B. Les anticorps Anti Cardiolipines (ACL)

La cardiolipine est un phospholipide anionique présent dans la membrane interne des mitochondries. La cible antigénique des ACL est constituée par un complexe cardiolipine-cofacteurs plasmatiques. La protéine plasmatique $\beta 2$ GPI a été identifiée comme cofacteur principal des ACL.

La détection des APL fait appel à la technique ELISA. Les isotypes dosés sont généralement de type IgG et IgM, parfois IgA. Contrairement à d'autres anomalies, il n'existe pas de corrélation entre le taux d'ACL et la sévérité du tableau clinique.

Les ACL retrouvés au cours des infections sont généralement transitoires et sans conséquence clinique[36].

C. Les anticorps anti $\beta 2$ GPI

La $\beta 2$ -CPI est une glycoprotéine synthétisée par le foie est présente dans le plasma de sujets normaux elle est le principal cofacteur des ACL, et elle représente par elle-même la cible antigénique de la plupart des ACL associée à un SAPL. Dans des conditions physiologiques, la $\beta 2$ -CPI se lie aux phospholipides membranaires avec une faible affinité et il est donc peu probable qu'elle exerce une activité anticoagulante en interférant avec des protéines de la coagulation. Après liaison aux anticorps, l'affinité de la $\beta 2$ -CPI pour les phospholipides membranaires augmente, ce qui peut induire des conditions prothrombotiques soit en inhibant certaines protéines ayant une activité anticoagulante, soit en induisant l'expression de molécules d'adhésion à la surface endothéliales.[37]

3.2. Thrombocytose et thrombocytémie

Thrombocytose ou thrombocytémie réactionnelle ou primitive, si le nombre de plaquettes est $>800\text{G/L}$, elles ont tendance à s'agréger dans la microcirculation, constituant un facteur de risque de thrombose veineuse et artérielle.

3.3. Déficit acquis en AT, PC, PS

Par ailleurs les concentrations plasmatiques des facteurs de la coagulation, qui vont déterminer le risque thrombotique, dépendent également de facteurs acquis comme les pathologies qui touchent les organes producteurs de ces facteurs (hépatopathies) ou les déficits alimentaires (notamment en vitamine K).

Le syndrome de malabsorption (maladie cœliaque, maladie de crhon) ou les atteintes hépatiques en faveur d'une diminution de synthèse.

Tandis que le syndrome néphrotique en faveur d'une clairance accrue où la PS libre est abaissée sans déficit de la PS totale, par augmentation du taux de C4bBP, et probablement par passage de la PS libre dans les urines. Mais aussi la diminution du taux d'AT pourrait expliquer le risque thrombotique accru dans ce cas là.

Ces facteurs acquis contribuent ainsi aux variations intra et inter individus d'où un risque thrombotique différent selon les individus et les situations[2].

3.4. Hémoglobinurie paroxystique nocturne

Hémoglobinurie paroxystique nocturne ou maladie de Marchiafava-Micheli, est une cause rare, mais reconnue de TV des veines hépatiques, rénales, cérébrales ou de la veine cave inférieure. L'hémolyse intravasculaire libère de l'ATP et des PL qui ont un rôle procoagulant[38].

III. Aspects cliniques

1. Thrombose veineuse

La MTEV regroupe la thrombose veineuse et sa complication immédiate, l'embolie pulmonaire (EP). Quatrième cause de mortalité dans les pays industrialisés et troisième cause de mortalité cardiovasculaire derrière l'infarctus du myocarde et les accidents vasculaires cérébraux[39].

La thrombose veineuse est une pathologie multifactorielle. Dès 1856, Rudolph Virchow décrit dans sa triade les mécanismes pouvant concourir à la formation d'un thrombus : la stase veineuse, la lésion de la paroi vasculaire et les altérations de la coagulation. Les facteurs favorisant ces trois éléments sont résumés dans la figure 13.

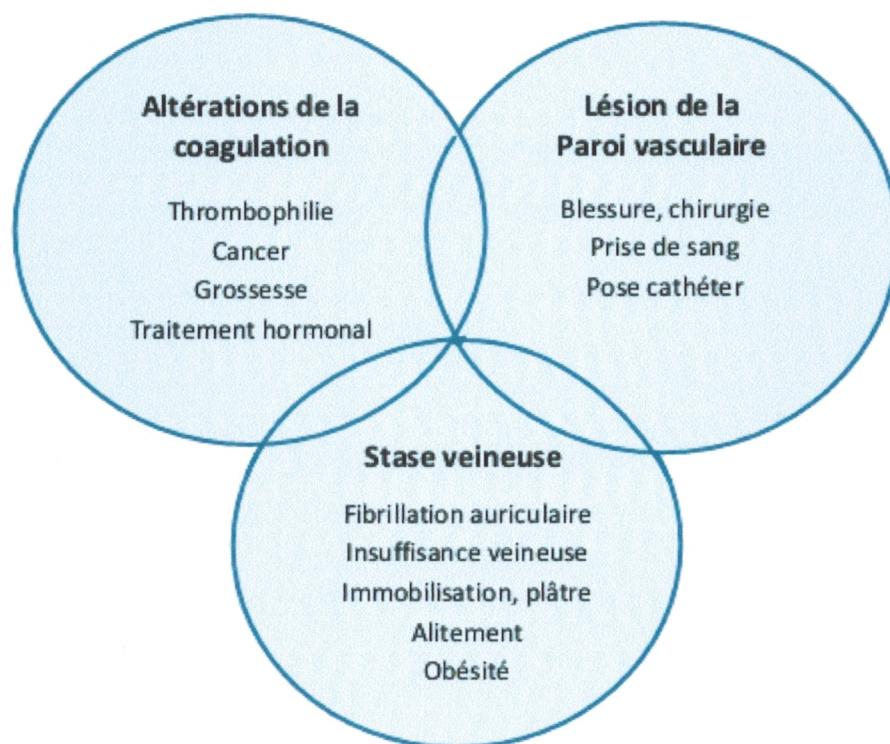


Figure 13: Triade de Virchow [40]

Ces trois mécanismes décrits agissent en interaction et sont souvent très intriqués, de sorte qu'il est souvent difficile de mettre en évidence l'implication d'un mécanisme plutôt qu'un autre. De plus, la présence de l'un de ces facteurs est une cause suffisante mais pas forcément nécessaire à l'apparition d'une thrombose veineuse [41].

La thrombose veineuse résulte d'une activation localisée de la coagulation avec constitution d'un thrombus dans le système veineux. Le thrombus, constitué de fibrine, de

globules blancs et de plaquettes, peut provoquer une occlusion partielle ou totale de la lumière veineuse, obstruant ainsi la circulation du sang. Elle peut affecter n'importe quelle partie du système veineux, mais les manifestations les plus fréquentes concernent les sites de bas débit sanguin du réseau veineux profond des membres inférieurs. Une fois formé, le thrombus peut se détacher ou se fractionner, migrer dans les artères pulmonaires via la circulation sanguine et provoquer une EP, complication aiguë et potentiellement fatale de la thrombose.

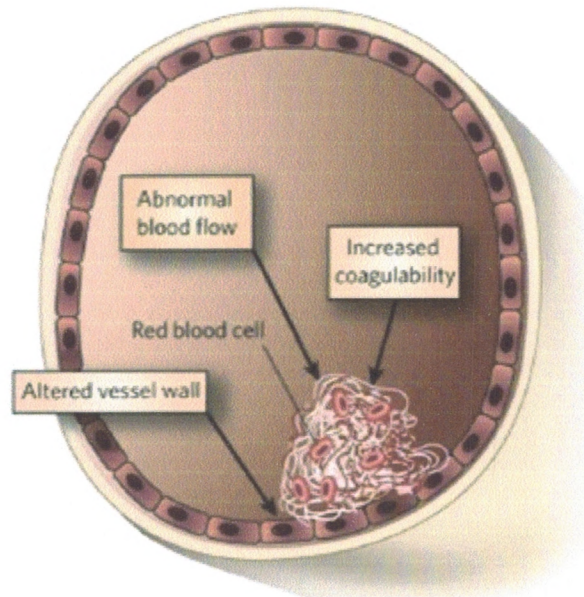


Figure 14: Déclencheurs de la thrombose veineuse[42]

Les thromboses veineuses cérébrales (TVC) sont des événements rares et représentent près de 5 % des accidents vasculaires cérébraux. Les manifestations cliniques sont très variées pouvant aller d'une céphalée isolée jusqu'au coma avec ou sans signes de localisation. Un diagnostic précoce est primordial pour pouvoir instaurer un traitement adapté. Celui-ci repose sur les différentes techniques d'imagerie [43].

Quand le diagnostic de TVC est posé il faut rechercher une thrombophilie sous-jacente, même en présence d'autres facteurs de risque évidents comme une grossesse ou la prise de contraceptifs oraux. Une thrombophilie héréditaire est retrouvée dans près de 20 % des cas. Parmi les mutations génétiques, le facteur V de Leiden est celle qui est le plus fréquemment retrouvée avec une prévalence de 11 à 24 % [44]. La mutation G20210A du gène de la prothrombine est aussi significativement associée à un phénomène thrombotique veineux cérébral. Sa prévalence se situe entre 6 et 27 % [45]. Une thrombophilie acquise doit aussi être recherchée. La présence d'anticorps antiphospholipides est considérée comme un facteur de risque de TVC [46].

2. Thrombose artérielle

Les marqueurs de thrombophilie sont des facteurs de risque établis de la MTEV, mais leur association avec les événements thrombotiques artériels reste un sujet de controverse.

La thrombophilie peut jouer un rôle dans la pathologie artérielle, qui rares en cas d'authentique thrombophilie familiale, semblent plus fréquentes en cas de déficit en PS et dans des circonstances majorant le risque artériel surtout chez les patients jeunes, tabagiques, sous contraception, ou ceux qui ont une réocclusion précoce après revascularisation. Des discordances persistent sur l'influence FII G20210A et du FVL sur la survenue d'accidents artériels[47].

L'infarctus du myocarde est une nécrose ischémique d'une zone myocardique dont la perfusion est soudainement interrompue par l'occlusion d'une artère coronaire, qui est la conséquence du développement d'un thrombus sur une plaque d'athérome fissurée ou érodée. Les autres causes d'infarctus sont nettement moins fréquentes, il s'agit de spasme, d'embolie coronaire, de dissection aortique, de lésion traumatique, de maladies inflammatoires ou d'anomalies congénitales des artères coronaires[48]

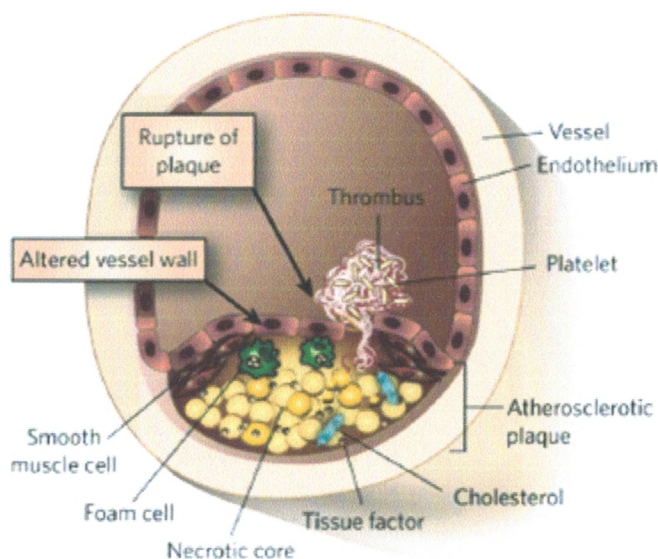


Figure 15: Déclencheurs de la thrombose artérielle[42]

L'AVC est causé par une perturbation soudaine de la vascularisation d'une partie du cerveau. Il peut s'agir soit d'une ischémie par mécanisme obstructif provoquant un infarctus cérébral, ce type est le plus fréquent (80% des AVC). Soit la rupture d'une artère, déclenchant une hémorragie intracérébrale (15%), ou une hémorragie méningée (5% des AVC) [49].

3. Perte fœtale

Le bon fonctionnement du système vasculaire utéro placentaire est nécessaire pour amener une grossesse à terme. Le déroulement physiologique de la grossesse prédispose aux thromboses, par des modifications hémodynamiques, anatomiques et biologiques notamment hémostatiques[50]. En effet, au cours de la grossesse, on assiste à des modifications quantitatives des protéines de la coagulation et de la fibrinolyse[51], qui vont dans le sens d'une hypercoagulabilité physiologique permettant de limiter les risques hémorragiques de l'accouchement.

Lorsqu'un facteur génétique ou acquis prédisposant aux thromboses se surajoute à cet état d'hypercoagulabilité physiologique, le risque thrombogène se trouve augmenté et le système vasculaire utéroplacentaire peut être infarci par des microthromboses. Ces thromboses vasculaires peuvent engendrer un défaut d'irrigation de l'unité foeto-placentaire responsable des complications obstétricales d'où les pertes fœtales à répétition[52].

L'hypercoagulabilité est le résultat d'une activation endothéliale et de l'hémostase primaire, d'une activation de la coagulation plasmatique par augmentation des facteurs procoagulants (vWF, VIII, V, VII, X, II et Fibrinogène) associée à une baisse d'activité des inhibiteurs physiologiques, et par une diminution de l'activité fibrinolytique[53].

La relation entre thrombophilie et complications vasculaires obstétricales reste débattue. Une thrombophilie acquise ou héréditaire peut augmenter le risque de pathologie obstétricale, souvent par le biais d'événements thrombotiques placentaires.

Dans la thrombophilie acquise, le lien avec les fausses couches précoces est bien démontré au cours du syndrome des antiphospholipides. La recherche d'un anticorps antiphospholipides est justifiée en cas d'antécédent de trois fausses couches consécutives[54].

L'association entre la présence du FVL et la survenue de fausses couches a été établie par plusieurs études, alors que cette relation reste encore débattue pour la mutation G20210A du facteur II[55].

Patients et méthodes

I. Patients

Nous envisagerons successivement les modalités de recrutement des sujets, la réalisation des techniques et enfin le traitement des données à partir des fiches préétablies (annexe 01).

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective.

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'hémiobiologie du C.H.U Tlemcen sur une durée de 8 mois entre octobre 2013 et mai 2014.

1. Critères d'inclusion et de non inclusion

1.1. Critères d'inclusion

Tous les patients adressés au laboratoire d'hémiobiologie du C.H.U. Tlemcen pour un bilan de thrombophilie entre le 01 janvier 2009 et le 31 décembre 2013.

1.2. Critères de non inclusion

On n'a pas inclus dans la présente étude :

- ✓ Patients sous traitement anticoagulant.
- ✓ Patientes sous oestro-progestatifs.
- ✓ Patients présentant une pathologie hépatique.

2. Prélèvements

Le bilan d'hémostase a été réalisé au laboratoire d'hémiobiologie du CHU Tlemcen, en dehors de tout épisode infectieux et à distance d'un accident thrombotique (au moins 3 mois).

Les modes de prélèvement ont été réalisés selon les recommandations édictées par l'international society on thrombosis and haemostasis (ISTH) et du GEHT (Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose 1998) :

L'échantillon sanguin est obtenu par ponction veineuse franche, avec une aiguille de taille 19G (gauge), sur citrate trisodique 0,109M (3,2%), dans un rapport de 9 volumes de sang pour un volume d'anticoagulant.

Patients et méthodes

Les examens d'hémostase sont réalisés sur du plasma citraté très pauvre en plaquettes (inférieur à 10 Giga/l), obtenu par double centrifugation à 2500 tours/minute pendant 15 minutes, dans un délai d'une heure, une décantation plasmatique est impérative entre les deux centrifugations, Le surnageant est recueilli à distance de l'interface avec l'air et le culot cellulaire, les aliquotes sont correctement identifiés puis congelés à -20°C pour une conservation de moins de 2 semaines.

Avant l'étape analytique l'aliquote est décongelé dans un bain Marie à 37°C jusqu'à la réalisation des analyses.

3. Analyse statistique

✚ Microsoft Office Excel 2007 : Saisie des données et insertion des graphes.

✚ IBM SPSS 17.0 (Statistical Package for the Social Sciences) : analyses statistiques

IBM® SPSS® Statistics 17.0 est un système complet d'analyse de données. SPSS Statistics peut utiliser les données de presque tout type de fichier pour générer des rapports mis en tableau, des diagrammes de distributions et de tendances, des statistiques descriptives et des analyses statistiques complexes.

On a utilisé test du khi-carré de PEARSON pour rechercher une relation significative définie par un degré de signification p inférieur à 0,05.

Patients et méthodes

II. Méthodes

1. Bilan d'hémostase de routine

Les mesures ont été accomplies sur coagulomètre STA Compact CT (Annexes 02) et Start 4 (Annexes 03), dont le principe de mesure en chronométrie est basé sur un mode de détection électromagnétique, qui met à profit l'augmentation de viscosité due à la formation progressive du caillot en détectant l'arrêt de rotation d'une bille d'acier placée dans le mélange plasma pauvre en plaquettes et réactif, une diminution de l'amplitude correspond à une augmentation de viscosité du milieu, soit au phénomène de coagulation. Un algorithme utilise cette variation d'amplitude pour déterminer le temps de coagulation.

1.1. Temps de Quick (TQ)

Le principe consiste à comparer les temps de coagulation à 37°C d'un plasma citraté à étudier, pauvre en plaquettes après addition de facteur tissulaire, de phospholipides et d'ions calcium par rapport à un témoin normal servant de référence.

Il explore les facteurs de la voie exogène d'activation du facteur X, FVII (proconvertine), FX (facteur Stuart), FII (prothrombine), FV (proaccéléline) et le fibrinogène. Le réactif utilisé est la thromboplastine calcique (STA Néoplastine CI) préparée à partir de tissu cérébral frais, il contient également un inhibiteur de l'héparine.

Les valeurs normales sont comprises entre 12 et 14 secondes. Un rapport TQM/TQT > 1.2 est pathologique.

Les résultats sont également exprimés en pourcentage de taux de prothrombine (TP). La conversion du TQ en TP grâce à la courbe de Thivolle. Les valeurs normales du Taux de prothrombine sont $\geq 70\%$.

1.2. Temps de céphaline et activateur (TCA)

Il s'agit du temps de coagulation à 37°C d'un plasma citraté pauvre en plaquettes (PPP) après addition de phospholipides, d'un activateur du système contact de la coagulation et d'ions calcium.

C'est un test semi analytique qui explore la voie endogène d'activation du facteur X, il explore donc les facteurs XII, XI, VIII, IX, X, II, V et le fibrinogène.

Patients et méthodes

Le réactif utilisé est constitué de céphaline et d'un activateur particulière non sédimentable du système contact de la coagulation (silice). L'activation du facteur XII est standardisée en milieu tamponné.

1.3. Temps de thrombine (TT)

Il s'agit du temps de coagulation à 37°C d'un plasma citraté pauvre en plaquettes auquel est ajouté de la thrombine exogène. Ce test explore la fibrinoformation, en présence d'héparine, qui est une antithrombine, ce temps s'allonge. Les résultats sont exprimés en secondes par rapport au temps d'un témoin.

Le temps est allongé lorsqu'il est allongé de 3 secondes par rapport au témoin. Les valeurs usuelles sont de 14 à 21 secondes.

1.4. Dosage du fibrinogène

La mesure est effectuée par méthode fonctionnelle chronométrique basée sur la mesure du temps de thrombine (TT). En présence d'un excès de thrombine, le temps de coagulation d'un plasma contenant une faible concentration de fibrinogène est proportionnel au taux de fibrinogène plasmatique. Le réactif est de la thrombine calcique titrée (100 unités NIH/ml) contenant un inhibiteur spécifique de l'héparine (fibriprest Automate). Les valeurs usuelles sont de 2 à 4 g/l.

1.5. Numération de plaquettes

Le taux de plaquettes a été déterminé sur automate de numération sanguine.

Souvent normal, à la recherche d'une Hyperplaquettose et polyglobulie dans le cadre d'un Syndrome myéloprolifératif, et de thrombopénie associée aux SAPL.

2. Bilan de thrombophilie

2.1. Dosage des inhibiteurs et de la résistance à la PC activée

2.1.1. Dosage de l'antithrombine

- **Principe**

Est un dosage photométrique de l'AT, utilise une méthode amidolytique sur substrat synthétique chromogène, Il mesure l'activité cofacteur de l'héparine. Nous avons utilisé en première intention la méthode de mesure de l'activité cofacteur de l'héparine.

L'antithrombine (AT) exerce une action anti-thrombinique puissante et immédiate en présence d'héparine, cette méthode chromogénique étudie l'inhibition de la thrombine par l'AT plasmatique en présence d'héparine. La thrombine (réactif 1) d'une quantité fixe est apportée en excès à la dilution du plasma à tester. L'AT neutralise une partie de la thrombine par formation de complexes inactifs. La quantité de thrombine résiduelle hydrolyse le substrat chromogène CBS 61.50 (Réactif 2). Le taux de pNA (molécule chromophore, paranitroaniline) libéré, mesuré à 405 nm est inversement proportionnel à la quantité d'AT plasmatique présente dans le milieu. Le dosage n'est pas influencé par l'héparine thérapeutique :

Phase d'inhibition	$\text{F IIa}_{(\text{excès})} + \text{AT} \xrightarrow{\text{héparine (plasma)}} \text{II-AT}_{(\text{inactive})} + \text{F IIa}_{(\text{résiduel})}$
Phase de détection	$\text{F IIa}_{(\text{résiduel})} + \text{Substrat chromogène} \longrightarrow \text{pNA}$

Patients et méthodes

- **Mode opératoire**

Kit commercial: STACHROM AT (Diagnostica STAGO).

Plasma standard: Thrombocalibrator (Diagnostica STAGO).

Cinq points sont réalisés pour la gamme d'étalonnage, dilution 1/30, 1/60, 1/120 et 1/240 en tampon tris, la dilution au 1/30 représente le 100% de la gamme.

Le 75% est obtenu en prenant 3 volumes de la dilution au 1/30 et un volume de tampon, les plasmas à tester sont dilués au 1/30.

200 µl de chaque dilution sont incubés pendant 120 secondes à 37 °C, puis 200 µl de thrombine bovine (33 unités NIH par flacon reconstitués par un solvant contenant de l'héparine) sont ajoutés au plasma, après exactement 60 secondes d'incubation, la thrombine résiduelle est mesurée en ajoutant 200 µl de chromothrombine. Puis après 60 secondes, la réaction est arrêtée en ajoutant 200 µl d'acide acétique pur.

Le point 0% est obtenu en mettant à la place de la dilution du plasma de référence 200µl de tampon. La lecture de la coloration, est réalisée à 405 nm par rapport à un blanc obtenu en mélangeant dans l'ordre et en utilisant les mêmes volumes décrits ci-dessus ; acide acétique, thrombine, chromthrombine et tampon.

La droite d'étalonnage est tracée sur papier millimétré en portant en abscisse le taux d'AT en pourcentage et en ordonnée les densités optique obtenues. Sur la droite ainsi obtenue, sont déduits les taux de l'AT des plasmas à tester.

Valeurs normales = 70 à 120%

2.1.2. Dosage de la Protéine C

2.1.2.1. Dosage Amidolytique (STA Stachrom protéine C)

- **Principe**

En présence de l'activateur spécifique le venin d'Agkistrodon contortrix (réactif 1), la protéine C du plasma est transformée en protéine C activée. La quantité d'enzyme ainsi formée est dosée par son activité amidolytique sur le substrat synthétique CBS 42.46 (thc-Pro-Arg-Pna, aCoh) (réactif 2). La libération de paranitroaniline est mesurée à 405 nm, est proportionnel à la concentration en protéine C dans le plasma du patient.

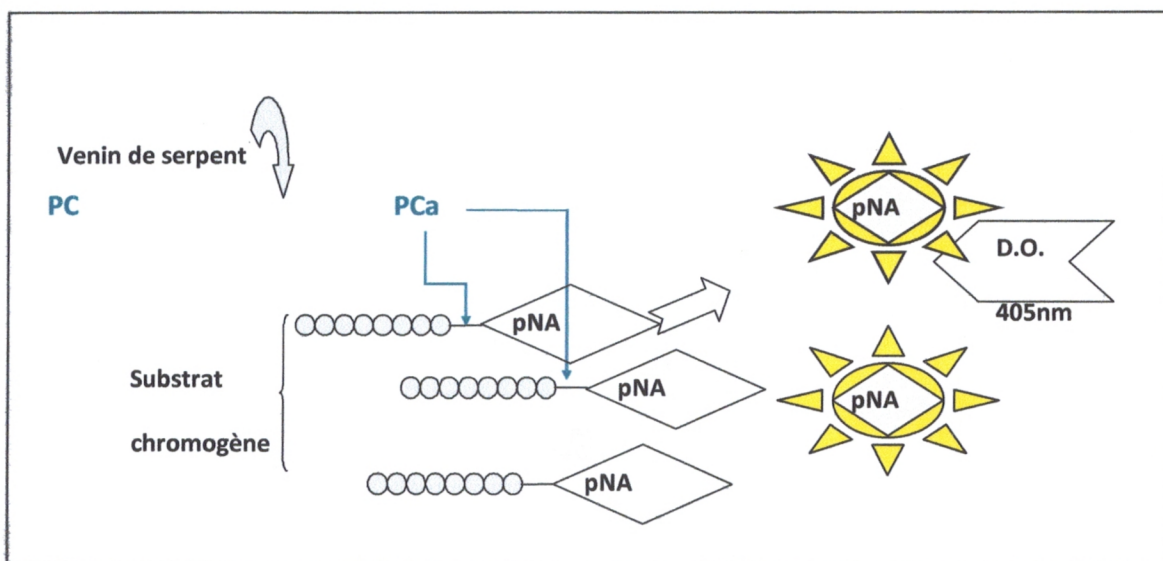


Figure 16: Dosage de l'activité PC sur automate STA compact par méthode amidolytique

Patients et méthodes

- **Mode opératoire**

Kit commercial: STACHROM PC (Diagnostica STAGO)

Plasma standard: Thrombocalibrator (Diagnostica STAGO) dilués au $\frac{1}{2}$ représente le 100%

Trois points sont réalisés pour la gamme d'étalonnage, dilution $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$ et $\frac{1}{16}$ dans du NaCl 0,15M, le 75% est obtenu en mettant 3 volumes de la dilution $\frac{1}{2}$ et un volume de NaCl 0,15M. Les plasmas à tester sont dilués au $\frac{1}{2}$

50 μ l de la dilution sont incubés en présence de 200 μ l de venin d'Agkistrodon contortrix (activateur de la PC). Après 5 minutes, 500 μ l de substrat (CBS 42-46) sont ajoutés au mélange puis après exactement 5 minutes, la réaction est arrêtée par adjonction de 200 μ l d'acide acétique pur, le 0% est obtenu en remplaçant le plasma de référence par 50 μ l de NaCl 0,15M. La lecture de la densité optique est réalisée à 405nm par rapport à un blanc obtenu en mélangeant dans l'ordre suivant; l'acide acétique, l'activateur de la PC, le substrat et le NaCl 0,15M.

La droite est tracée sur papier millimétré en portant en abscisse les taux de PC et en ordonnée les densités optiques obtenues. Sur la droite ainsi obtenu, sont déduits les taux de PC des plasmas à tester.

Patients et méthodes

2.1.2.2. Dosage Chronométrique (STA Staclot protéine C)

- **Principe**

En présence de l'activateur spécifique d'Agkistrodon contortrix (réactif 1), la protéine C du plasma est transformée en protéine C activée, capable de dégrader le facteur VIII et le facteur V et ce faisant de prolonger le TCA d'un système où tous les facteurs sont présents, constant et en excès (apportés par le réactif 2) à l'exception de la protéine C à doser apportée par le plasma du patient.

Valeurs normales = 70 à 140%.

- **Mode opératoire**

Tableau VI : Dosage Chronométrique de la protéine C

Dans un système STA-Compact à 37°C	Volume
-Dilution du plasma (étalon, patient ou contrôle) au 1/10	50 µl
-Réactif 1.	50 µl
-Réactif 2.	50 µl
-Mélanger et incuber à 37°C pendant 4 minutes.	
-Mesure du temps de coagulation en ajoutant le CaCl ₂ 0,025M pré-incubé à 37°C.	50 µl

Le temps de coagulation est reporté sur la droite d'étalonnage (calibrant au 1/10, 1/20, 1/40 et 1/80) afin de déduire le taux de protéine C en (%).

- **Réactifs**

Réactif 1 : fraction hautement purifiée de venin d'Agkistrodon contortrix, capable d'activer spécifiquement la PC lyophilisée.

Réactif 2 : plasma humain lyophilisé, dépourvu en protéine C.

Patients et méthodes

2.1.3. Dosage de la Protéine S

2.1.3.1. Dosage chromométrique de la PS totale

- **Principe**

Le principe du dosage chromométrique de la PS, repose sur l'activité cofacteur de la protéine S potentialisant l'effet anticoagulant de la protéine C activée, objectivée par l'allongement du temps de coagulation d'un système enrichi en facteur Va, substrat naturel de cet inhibiteur. L'ajout du facteur V permet de minimiser le rôle du facteur V apporté par le patient et donc de rendre le test moins sensible à une éventuelle résistance à la PCa.

- **Mode opératoire**

Tableau VII : Dosage Chromométrique de la protéine S totale

Protocole	volume
-Dilution du plasma (étalon, patient ou contrôle) au 1/10	50 µl
-Réactif 1	50 µl
-Réactif 2	50 µl
-Réactif 3	50 µl
-Mélanger et incuber à 37 °C pendant 4 minutes	
-Ajouter le CaCl ₂ 0,025M pré-incubé à 37°C	50 µl
Le temps de coagulation est reporté sur la droite d'étalonnage afin de déduire le taux de protéine S en (%).	

- **Réactifs**

Réactif 1 : plasma déficient en protéine S.

Réactif 2 : protéine C activée.

Réactif 3 : préparation enrichie en facteur Va.

Valeurs normales : 55-140 %

2.1.3.2. Dosage antigénique de la protéine S libre

- **Principe**

Le principe est basé sur l'augmentation de la turbidité d'une suspension de microparticules de latex mesurée par photométrie (immuno-turbidimétrie). Lorsque des microsphères de latex sur lesquelles sont fixés par covalence des anticorps monoclonaux spécifiques de la protéine S libre sont mises en présence de la protéine S libre du plasma à tester, la réaction antigène-anticorps entraîne une agglutination de ces microsphères. Ce phénomène induit une augmentation de la turbidité du mélange réactionnel et donc une élévation de l'absorbance du milieu.

L'amplitude de cette augmentation est fonction de la quantité de PS libre dans le plasma à tester.

- **Réactifs**

Réactif 1 : tampon HEPES.

Réactif 2 : suspension de microparticules de latex recouvertes de deux types d'Ac monoclonaux de souris anti-protéine S libre humaine.

Valeurs normales : 60-140%

Patients et méthodes

2.1.4. Résistance à la PC activée

- **Principe**

Le principe de la détection de la résistance à la PCa repose sur un allongement anormalement faible du temps de coagulation du plasma testé en présence de PCa et en milieu calcique dans le système STA Staclot RPCA, la coagulation de l'échantillon dilué est réalisée en présence de plasma déficient en facteur V et de venin de *Crotalus viridis helleri*. Ce venin agissant comme un activateur du facteur X, déclenche la coagulation à ce niveau et élimine l'interaction des facteurs situés en amont.

L'allongement du temps de coagulation d'un plasma normal en présence de PCa résulte de la capacité de la PCa apportée par le réactif, à inactiver le facteur Va du plasma testé.

Les plasmas, dont le temps de coagulation est supérieur ou égal à 120 secondes, sont considérés négatifs vis-à-vis de la résistance à la PCa (APC-R positifs).

- **Mode opératoire**

Tableau VIII : Dosage de la RPCa

Protocole	Volume
Dilution du plasma (étalon, patient ou contrôle) au 1/10.	50 µl
-Réactif 1.	50 µl
-Réactif 2.	50 µl
-Incubation à 37°C pendant 4 minutes.	
-Réactif 3	50 µl
-mesure du temps de coagulation	
Le temps de coagulation d'un plasma normal est sensé être fortement allongé	

- **Réactifs**

Réactif 1 : plasma humain immunodepleté en FV et enrichi en phospholipides, lyophilisé.

Réactif 2 : préparation lyophilisée contenant du venin de *crotalus viridis helleri*.

Réactif 3 : protéine C activée d'origine humaine en milieu calcique, lyophilisé.

Réactif 4 plasma humain normal, citraté, lyophilisé utilisé comme contrôle négatif.

Réactif 5 plasma humain citraté lyophilisé utilisé comme contrôle positif.

Valeurs normales : 120-300 secondes.

2.2. Recherche des antiphospholipides

Il existe deux populations distinctes d'anticorps qui peuvent être mises en évidence par deux catégories de tests, on a les tests de coagulation (phospholipides PL dépendant pour la détection des lupus anticoagulants LA) et les tests immuno-enzymatiques pour les anticorps anticardiolipines et les anticorps anti-bétagP1.

2.2.1. Lupus Anticoagulant : Les tests de coagulation

2.2.1.1. Etape de dépistage

Utilisant des tests sensibles où la concentration des PL mise en œuvre est basse permettant une meilleure détection de l'activité inhibitrice des APL, Certains LA de faible intensité ne sont détectés que par un seul test et il n'existe actuellement pas de test de coagulation utilisé isolément capable de détecter la totalité des LA, c'est pourquoi il est recommandé d'utiliser au moins deux tests phospholipides dépendants explorant des étapes différentes de la coagulation plasmatique dont la cascade était autrefois décomposée en voie intrinsèque, voie extrinsèque et voie commune.

PTT LA

Le principe est basé sur la détermination du temps de céphaline activateur (TCA) avec le réactif PTT sensibilisé constitué de céphaline extraite de tissu cérébral de lapin et un activateur particulière (silice micronisée) en milieu tamponné.

Les temps de coagulation sont plus allongés en cas de LA qui neutralisent les phospholipides du test.

Les résultats sont exprimés en ratio :

Le ratio (M)/(T) : $PTT_{LA} \frac{M}{T} = \frac{\text{temps malade}}{\text{temps témoin}}$ est calculé. Si ce ratio est supérieur à 1,2, le test est positif et doit entraîner la réalisation d'un test du mélange.

Réalisation du mélange : volume à volume

Valeurs normales : 28-40 secondes

Patients et méthodes

DRVVScreen

Temps de venin de vipère Russel dilué (dRVVT)

Ce test est basé sur l'utilisation d'un venin capable d'activer directement le facteur X en présence de phospholipides et n'est donc pas influencé par les déficits en facteurs VIIIc, IX ou en facteurs du système contact ou par les inhibiteurs dirigés contre ces facteurs.

$$\text{DRVV Screen} = \frac{\text{Screen malade}}{\text{Screen pool N}}$$

Valeurs normales : 28-40 secondes

2.2.1.2. Test de mélange

Le test de mélange permet la mise en évidence de l'effet inhibiteur du plasma par la présence d'un anticoagulant circulant.

On apprécie la correction de l'allongement du ou des test(s) (PTT LA) après mélange à parties égales, du plasma à tester et d'un pool de plasmas témoin.

Si le test du mélange est normal, on procède au même test après une incubation d'une heure à 37°C. La non correction de l'allongement initial du ou des tests (PTTLA) est évaluée par le calcul de l'indice de Rosner (IR).

$$IR = \frac{\text{temps du mélange (Malade + Témoin)} - \text{temps (Témoin)}}{\text{temps (Malade)}} \times 100$$

$$\text{"PTTLA"} : IR = \frac{0,5 \text{ PTTLA} - \text{PTTLA Témoin}}{\text{PTTLA Malade}} \times 100$$

Si IR est inférieur à 12 : le test est négatif.

Si IR est compris entre 12 et 15 : le test est douteux.

Si IR est supérieur ou égal à 15 : le test est positif.

La présence d'un inhibiteur se traduit par la non correction de l'allongement initial du test (test positif), au contraire la normalisation du temps de coagulation par l'ajout de plasma normal (test de mélange négatif) est en faveur d'un déficit de l'un des facteurs explorés par le test. En l'absence de correction totale après le mélange avec du plasma normal, on effectue un test de confirmation (StacLOT LA pour le PTTLA).

Patients et méthodes

2.2.1.3. Etape de confirmation de la dépendance en phospholipides

Cette étape permet le diagnostic différentiel entre les LA et les inhibiteurs dirigés contre un facteur de la coagulation.

Dans le cas des LA, la dépendance en phospholipides de l'inhibiteur est confirmée par la réalisation d'un test de neutralisation en présence de forte concentration de phospholipides. Un raccourcissement du test de coagulation de dépistage initialement allongé en présence de fortes concentrations de phospholipides confirme la présence d'un lupus anticoagulant.

Deux tests sont disponibles :

STACLOT LA : En solution aqueuse à 37°C les molécules de phosphatidyléthanolamine (PE) purifiées présentent des structures moléculaires hexagonales de phase HII. Ces structures sont reconnues par les anticorps antiphospholipides de type lupique. En système de temps de Céphaline + activateur sensibilisé, l'apport de PE de phase HII corrige l'allongement du TCA dû à la présence de LA.

Le test prévoit un apport de plasma normal (correction des déficits en facteurs) et contient un inhibiteur d'héparine (polybrène, efficace jusqu'à une 1U/ml).

$$\text{StacLOT LA} = (\text{Temps du Malade} - \text{Temps du Témoin})$$

Valeurs normales < 8 secondes

DRVV confirm : Réactif de confirmation basé sur le venin de vipère russe. C'est un réactif qui contient des concentrations élevées de phospholipides. Il n'y aurait pas de faux positif.

Après incubation quelques minutes à 37 °C, plasma à tester et réactif sont mélangés à volume égal et le temps de coagulation mesuré.

Un temps témoin (témoin « confirmation ») est déterminé dans chaque série de mesures sur un pool de plasmas normaux. Il est en général légèrement plus court (de 2 à 5 secondes) que le témoin mesuré à l'étape de dépistage.

Mais il n'y a pas de consensus sur la méthode de calcul de la correction des temps de la coagulation et les limites de positivité sont arbitraires.

$$\text{DRVV Confirm} = \frac{\text{Confirm malade}}{\text{Confirm pool N}}$$

$$\text{Ratio normalisé} = \frac{\text{DRVV Screen}}{\text{DRVV Confirm}}$$

Patients et méthodes

Interprétation

	Positif	Négatif
PTT-LA [M/T]	> 1,5	< 1,2
DRVV Screen	> 1,2	< 1,2
Indice Rosner (IR)	> 15	< 12
Staclot LA	≥ 8 sec	< 8 sec
Ratio normalisé : Screen/Confirm	> 1,2	< 1,2

Pour conclure sur la présence ou l'absence de lupus anticoagulant

- Si $1,3 < IR < 1,5$ Refaire le test du mélange de suite.
- Si le résultat est douteux : Contrôler une semaine après.

2.2.1.4. Exclusion d'une anomalie de la coagulation associée

Il est nécessaire d'éliminer la présence d'une anomalie de la coagulation associée pouvant être aussi responsable de l'allongement des tests de dépistage.

Devant un allongement important du TCA, un dosage des facteurs de la voie intrinsèque doit obligatoirement être effectué afin d'éliminer un éventuel inhibiteur spécifique (anti-VIIIc notamment en raison de son potentiel hémorragique) ou un déficit associé en l'un de ces facteurs.

La présence d'un LA peut interférer avec les dosages en méthodes chronométriques de ces facteurs VIIIc, IX, XI et XII entraînant un déficit apparent soit en un seul, mais le plus souvent en plusieurs voire la totalité des facteurs. Ceci doit conduire à la réalisation des dosages des facteurs sur des dilutions croissantes et, dans les LA, en appliquant la correction du facteur de dilution, on observe le plus souvent une normalisation du taux des facteurs. Si malgré la dilution de l'échantillon, le taux d'un des facteurs reste bas, ceci est plutôt en faveur d'un déficit ou d'un inhibiteur spécifique.

2.2.2. Anticorps antiphospholipides : Les techniques immuno-enzymatiques

Ces anticorps, sont recherchés par méthode immunologique indirecte en utilisant un test ELISA Sandwich (Enzym Linked Immunoassay-Sorbent Assay).

2.2.2.1. Dosage immuno-enzymatique et typage des anticorps antiphospholipides (Asserachrom aPA IgG, IgM)

- **Définition**

Dosage semi quantitatif des anticorps antiphospholipides (aPA) de classe IgG ou IgM par méthode ELISA.

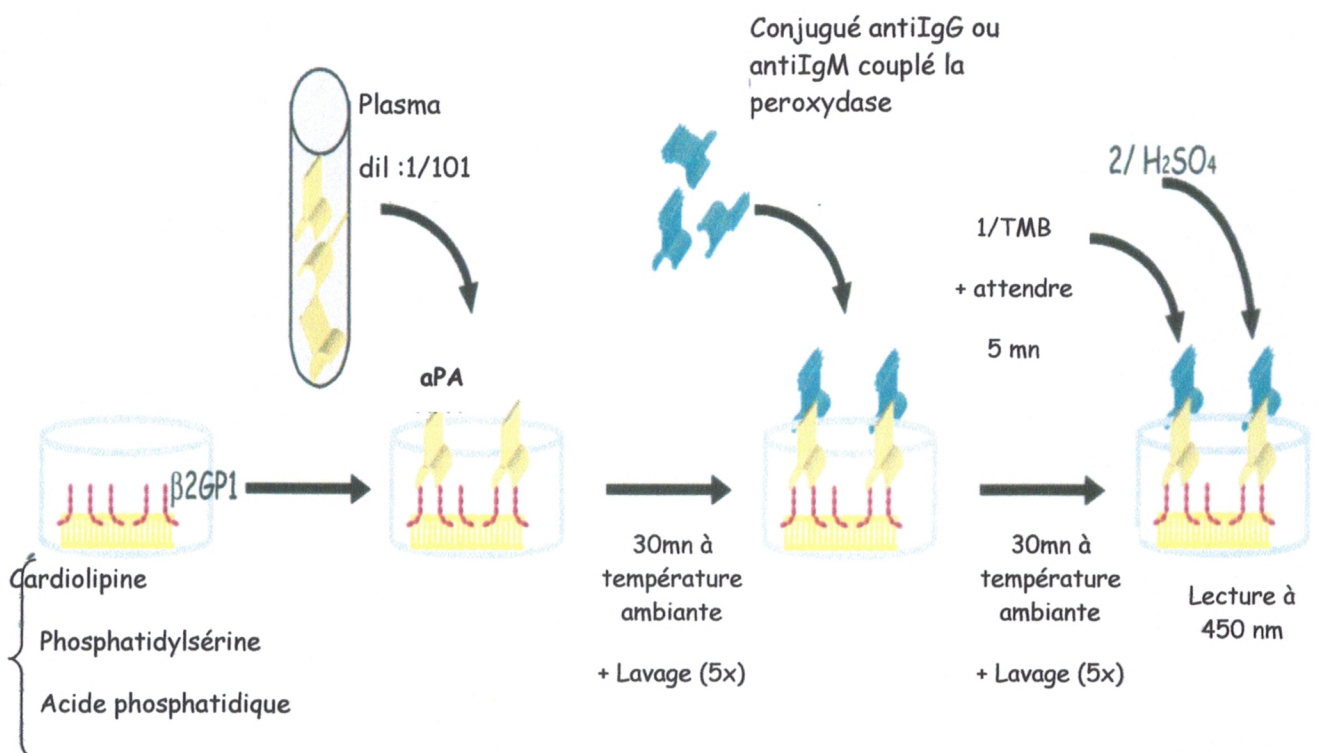


Figure 17 : Dosage immuno-enzymatique des aPA IgG ou IgM

Patients et méthodes

- **Principe**

Un support plastique recouvert de phospholipides (cardiolipine, acide phosphatidique et phosphatidylserine) est mis en contact avec une solution stabilisante contenant de la β 2GPI, cette dernière se fixe sur les anticorps anti-phospholipides éventuellement contenus dans le plasma à tester : les aPA fixés sont révélés à l'aide d'un immunoconjugué qui se fixe sur les déterminants antigéniques libres, le taux de peroxydase liée est mesuré par son activité sur un substrat, l'intensité de la coloration, après arrêt de la réaction par un acide fort, est fonction de la concentration initiale d'anticorps anti-phospholipides présente dans le milieu.

- **Mode opératoire**

Tableau IX : Dosage immuno-enzymatique des anticorps antiphospholipides IgG/M

Déposer dans les puits:		
FIXATION DES APA	ECHANTILLON (plasma dilué et dilution étalon)	200 μ l
	Couvrir les puits et maintenir 30 minutes à température ambiante (18-25°C)	
Laver 5 fois en solution de lavage puis ajouter immédiatement		
FIXATION DE L'IMMUNO CONJUGUE	* Soit Anti-IgG couplé à la peroxydase	200 μ l
	* Soit anti-IgM	200 μ l
	Couvrir les puits et maintenir 30 minutes à température ambiante (18-25°C)	
Laver 5 fois en solution de lavage puis ajouter immédiatement en déclenchant un chronomètre		
COLORATION	Tétra-méthyl-benzidine (TMB)	200 μ l
	Attendre très exactement 5 minutes à 18-25°C pour chaque échantillon puis ajouter	
	H ₂ SO ₄ 1 M	50 μ l
Après avoir distribué l'acide dans tous les puits, agiter la plaque		
15 minutes à 1 heure après l'arrêt de la réaction, mesurer l'absorbance à 450nm Ajuster le 0 sur le blanc réactif		

Patients et méthodes

L'antigène est adsorbé sur un support solide constitué de 12 barrettes de 8 micropuits en plastique dans un premier temps.

L'échantillon dilué est distribué dans un puits, s'il contient les anticorps recherchés, ceux-ci vont se fixer sur l'antigène. Après incubation, un premier lavage permet d'éliminer les éléments non fixés.

On ajoute ensuite un conjugué, un anticorps monoclonal de souris anti-IgG ou anti-IgM humaine couplé à la peroxydase qui se fixe au complexe antigène-anticorps précédemment formé. Après incubation, l'excès de conjugué est éliminé par un second lavage.

L'étape de chromogénèse est réalisée en déposant le substrat de l'enzyme TMB. Au cours de celle-ci, se développe une coloration proportionnelle à la quantité d'anticorps antiphospholipides présents dans l'échantillon.

L'addition de H_2SO_4 1M permet de bloquer la réaction enzymatique.

La lecture des densités optiques à 450 nm sur un spectrophotomètre constitue la dernière étape de réalisation du test.

Les échantillons, les contrôles et les étalons doivent être testés de façon simultanée, les échantillons sont dilués au $1/101^{ème}$, l'étalonnage est réalisé à l'aide d'un calibrant contenant une quantité connue d'anticorps anti- β 2GPI, Exprimée en GPL/ml et MPL/ml, sa concentration étant le point le plus élevé de la courbe, la gamme d'étalonnage est réalisée à l'aide de 5 points permet par interpolation, de définir le titre du sérum patient.

- **Expression des résultats et Interprétation**

Sur du papier bilogarirrhmique, porter en abscisse le taux d'anticorps anti phospholipides IgG des différents points de la gamme d'étalonnage et en ordonnée la valeur de l'absorbance correspondante, de même pour les IgM, les taux d'anticorps des échantillons testés sont lus directement sur les courbes d'étalonnage.

Le taux d'anticorps est normalement inférieur à la valeur du seuil de positivité, les valeurs seuil données par la littérature des aPA IgG et IgM sont respectivement de 23 unités GPL et 9 MPL /ml.

2.2.2.2. Dosage immuno-enzymatique des anticorps Anti β 2GPIgG et IgM : ELISA IgG/IgM

- Principe

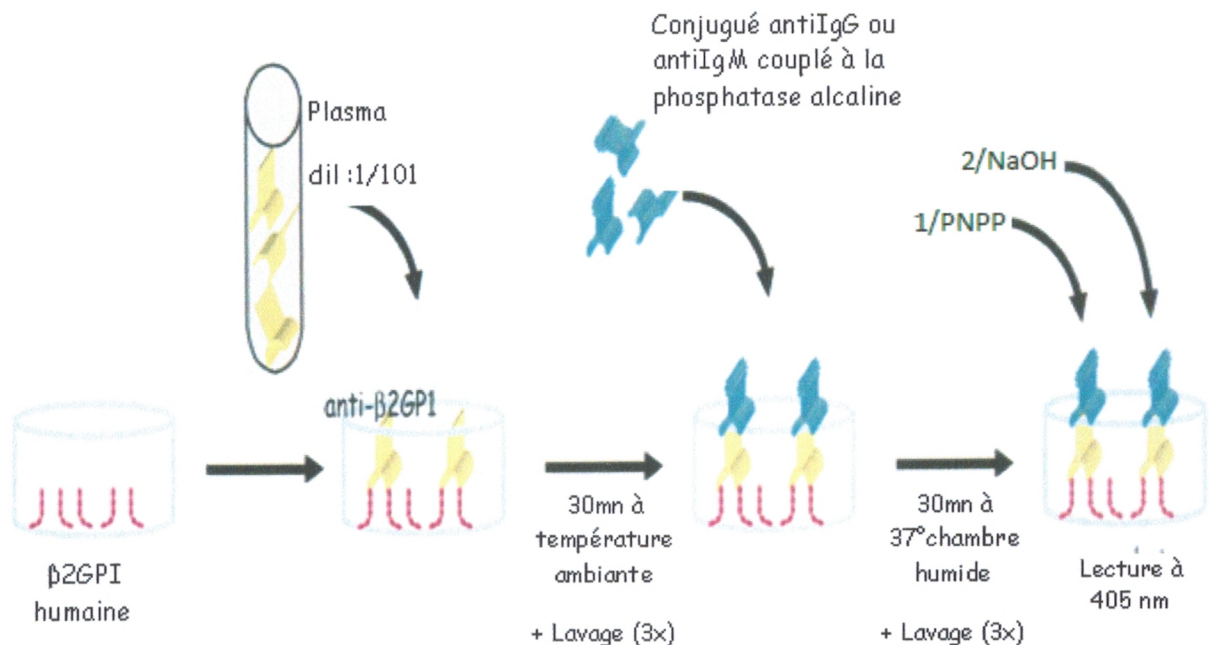


Figure 18 : Dosage immuno-enzymatique des α 2GPI IgG ou IgM

Le test permet la détection par méthode ELISA des anticorps dirigés contre la β 2-glycoprotéine I ou apolipoprotéine H, d'iso type IgG ou IgM.

L'antigène (β 2-GPI) est adsorbé sur un support solide constitué de 12 barrettes de 8 micropuits en plastique.

Dans un premier temps, l'échantillon dilué est distribué dans chacun des puits. S'il contient les auto-anticorps recherchés, ceux-ci vont se fixer à l'antigène, un premier lavage permet d'éliminer les éléments non fixés.

On ajoute ensuite un conjugué (anti-IgG ou anti-IgM) humain couplé à la phosphatase alcaline qui se fixe au complexe antigène-anticorps précédemment formé. Après incubation l'excès de conjugué est éliminé par un second lavage, l'étape de chromogénèse est réalisée en déposant un substrat de l'enzyme. Au cours de celle-ci, se développe une coloration proportionnelle à la quantité d'anticorps anti- β 2-GPI présents dans l'échantillon. L'addition de NaOH (soude) 1N permet de bloquer la réaction enzymatique.

Patients et méthodes

- **Mode opératoire**

Tableau X : Dosage immuno-enzymatique des anticorps anti-β2GPI IgG et IgM

Déposer dans les puits :		
FIXATION DES ANTI-β2GPI	ECHANTILLON Plasma dilués ou calibreur	100 µl
	Couvrir les puits et maintenir 30 minutes à température ambiante (18-25°C)	
Laver 3 fois en solution de lavage puis ajouter immédiatement		
FIXATION DEL'IMMUNOCONJUG UE	* Soit Anti-IgG	100 µl
	* Soit anti-IgM	100 µl
	Couvrir les puits et maintenir 30 minutes à température ambiante (18-25°C)	
Laver 3 fois en solution de lavage puis ajouter immédiatement en déclenchant un chronomètre		
COLORATION	PNPP (Para Nitro Phényl Phosphate)	100 µl
	Attendre très exactement 30 minutes à 37°C chambre humide pour chaque échantillon puis ajouter:	
	NaOH 1N	50 µl
Après avoir distribué la base dans tous les puits, agiter la plaque		
15 minutes à 1 heure après l'arrêt de la réaction, mesurer l'absorbance à 405 nm Ajuster le 0 sur le blanc réactif		

Les échantillons, les étalons et les contrôles doivent être testés de façon simultanée. Ils sont dilués au 1/101^{ème} en tampon TDL (tampon PBS- tween dilué) et 100µl sont versés dans les puits en double. Les déterminations des anticorps antiβ2GPI et IgM sont faites séparément et en double.

Après une incubation de 30 mn à température ambiante, la microplaque est lavée au moins 3 fois par 200µl en tampon TDL. On procède ensuite à l'addition de 100µl de conjugué anti-IgG humaine dans les puits correspondants aux étalons IgG, Aux contrôles et aux échantillons, puis 100 µl de conjugué anti-IgM humaines dans les puits correspondants aux

Patients et méthodes

étalons IgM, aux contrôles et aux échantillons, avec de nouvelles phases d'incubation et de lavage selon le même procédé. La révélation se fait par l'addition de 100 µl de substrat PNPP (Para Nitro Phényl Phosphate), avec une nouvelle incubation de 30 minutes. La lecture des densités optiques à 405 nm sur un spectrophotomètre constitue la dernière étape du test.

- **Résultats et interprétation**

Pour chaque iso type recherché, les résultats peuvent être calculés de la façon suivante :

Calculer la densité optique (DO) moyenne pour le calibrateur, le contrôle positif et les échantillons testés en double.

Calculer pour chaque iso type, le facteur de conversion égal à :

$$\text{Facteur de conversion} = \frac{\text{concentration de l'étalon en anti}\beta\text{2GPI (IgG ou IgM)}}{\text{Densité optique de l'étalon}}$$

La concentration des anticorps anti-β2GPI IgG ou IgM de l'échantillon est alors égale à :

$$\text{Concentration d'anticorps anti-}\beta\text{2GPI de l'échantillon} = \text{Facteur de conversion} \times \text{densité optique de l'échantillon}$$

Le facteur de conversion doit être calculé pour chacun des étalons à chaque série sous peine d'invalider les résultats.

Pour les anticorps antiphospholipides 3 réactifs ont été utilisés dont les valeurs normales sont :

Tableau XI : Valeurs normales des APL en fonction des réactifs utilisés

BIORAD	APA IGG	<23gpl/ml
	APA IGM	<9mpl/ml
	AB2GPI IGG	<20GAU/mL
STAGO	AB2GPI IGG	<1GAU/mL
EUROIMMUN	AC IGG	<12Ui/mL
	AC IGM	<12 Ui/mL
	AB2GPI IGG	<20Ru/mL
	AB2GPI IGM	<20Ru/mL

Résultats

III. Résultats

Parmi les 374 bilans de thrombophilie réalisés au laboratoire d'hémostase du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen entre le 1^{er} janvier 2009 et le 31 décembre 2013, 325 ont été inclus et 49 bilans n'ont pas été inclus dans l'étude pour de multiples raisons tels la prise d'un traitement anticoagulant, d'un contraceptif oral ou patient présentant divers pathologies hépatique. Et ceux pouvant modifier les taux de certains paramètres étudiés.

1. Données épidémiologiques

1.1. L'âge et le sexe

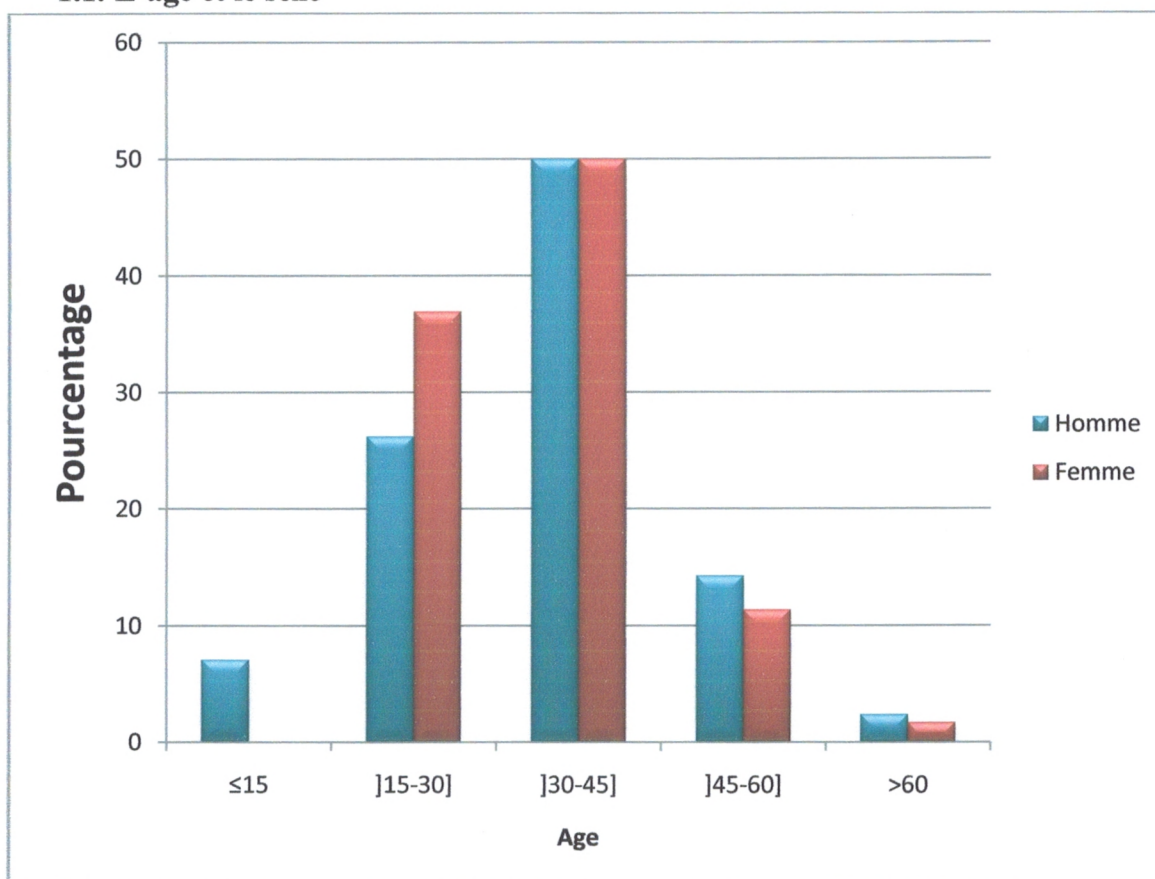


Figure 19 : Répartition de la population étudiée selon l'âge

La moyenne d'âge des 325 patients inclus dans la présente étude est de 34,78 +/- 10, 553 allant de 1 an à 72 ans. Cette répartition montre une nette prédominance de la tranche 30- 45 ans représentant 50 % de la population étudiée.

Les femmes étaient largement représentées par rapport aux hommes avec un Sex-ratio de 0,28 (21,8% hommes, 78,2% femmes), probablement due aux nombreuses pertes fœtales à répétition.

1.2. Particularités cliniques

1.2.1. Hommes

La tranche d'âge représentative des 71 patients varie entre 1 an et 65 ans avec une moyenne de 35,19 +/- 13,91.

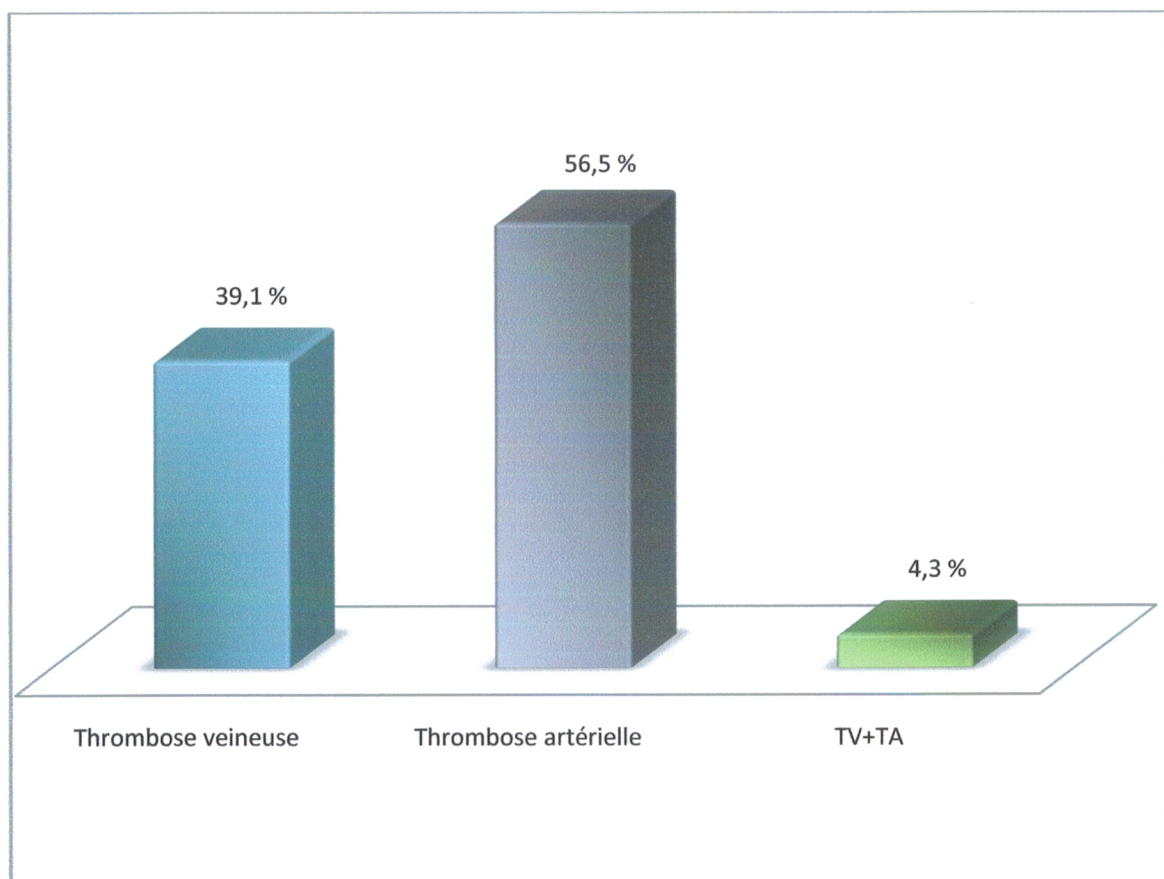


Figure 20 : Répartition des hommes selon la pathologie

Dans notre étude les hommes présentent beaucoup plus de thromboses artérielles (56,5%) que de thromboses veineuses (39,1%).

Résultats

1.2.2. Femmes

La tranche d'âge représentative des 254 patientes varie entre 17 ans et 72 ans avec une moyenne de 34,68 +/- 9,629

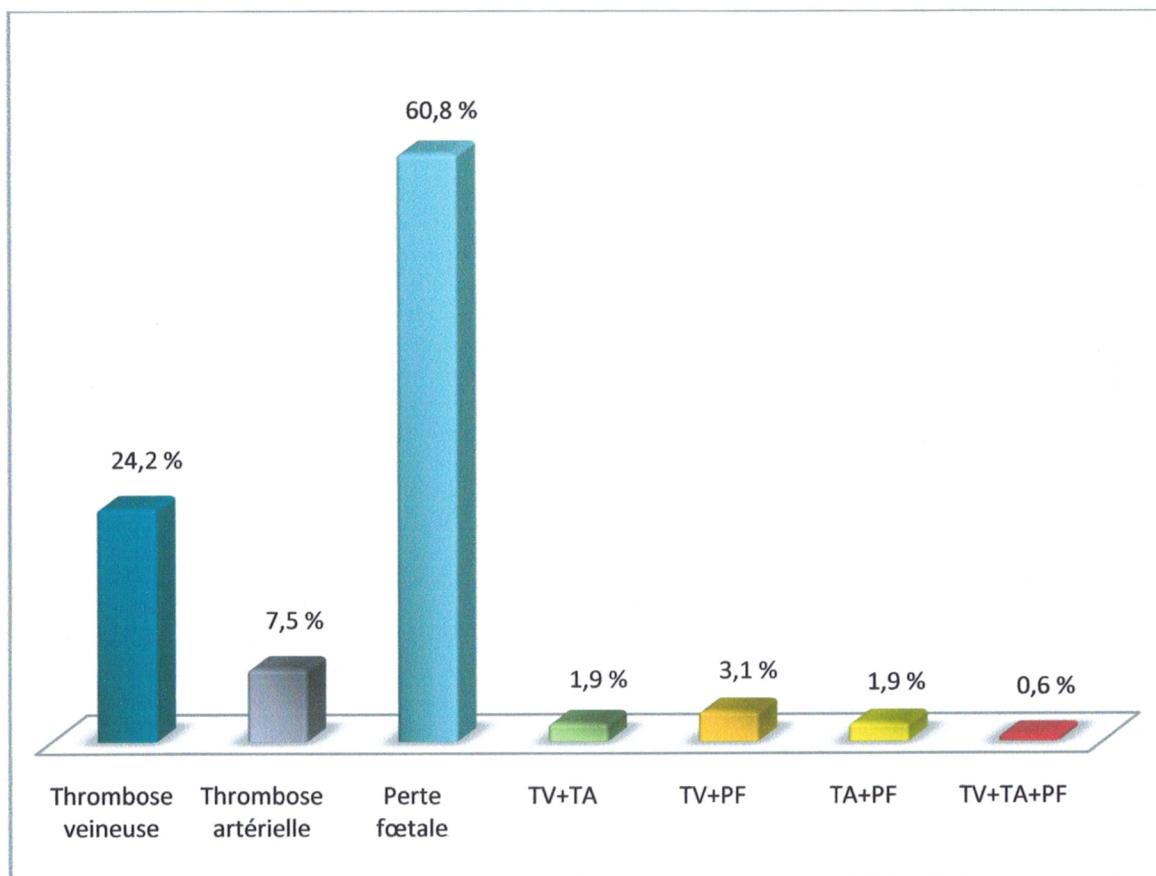


Figure 21 : Répartition des femmes selon la pathologie

La majorité des femmes présentent des pertes fœtales avec plus de 60%, la thrombose veineuse représente 24,2 % alors que la thrombose artérielle est de 7,5 %.

1.3. Services

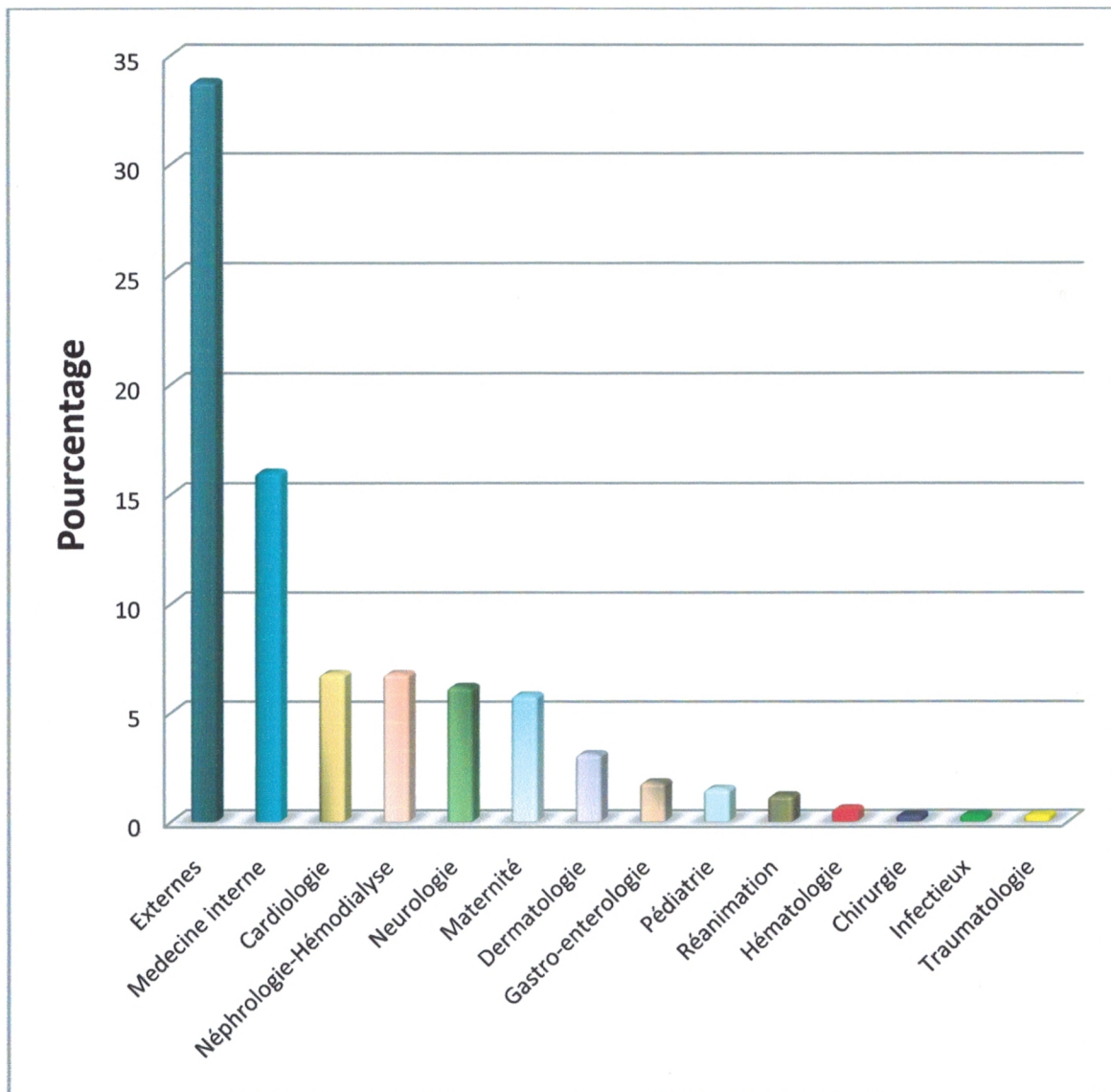


Figure 22 : Répartition de la population étudiée selon les services

Les différents patients étaient adressés à partir de nombreux services notamment de la médecine interne (16%), de la cardiologie (6,8%) et de la néphrologie (6,8%). Mais la majorité était adressée à partir de consultations de gynécologie et de cardiologie en dehors du centre hospitalo-universitaire (33,8%).

Résultats

2. Etude des prévalences

Tableau XII : Tableau des prévalences des paramètres biologiques

Paramètres biologiques	Effectif	Nombre Total dosé	Pourcentage
Déficit en AT	18	185	9,7
Déficit en PC	11	171	6,4
Déficit en PS	16	108	14,8
Résistance a la protéine C activée	10	124	8,1
Lupus anticoagulant	18	247	16,3
Anticorps anticardiolipines IgG	1	45	2,2
Anticorps anticardiolipines IgM	1	45	2,2
Anticorps anti-béata 2 glycoprotéine 1 IgG	7	168	4,2
Anticorps anti-béata 2 glycoprotéine 1 IgM	11	45	24,4
APL	33	286	11,5
Thrombophilie	81	300	27

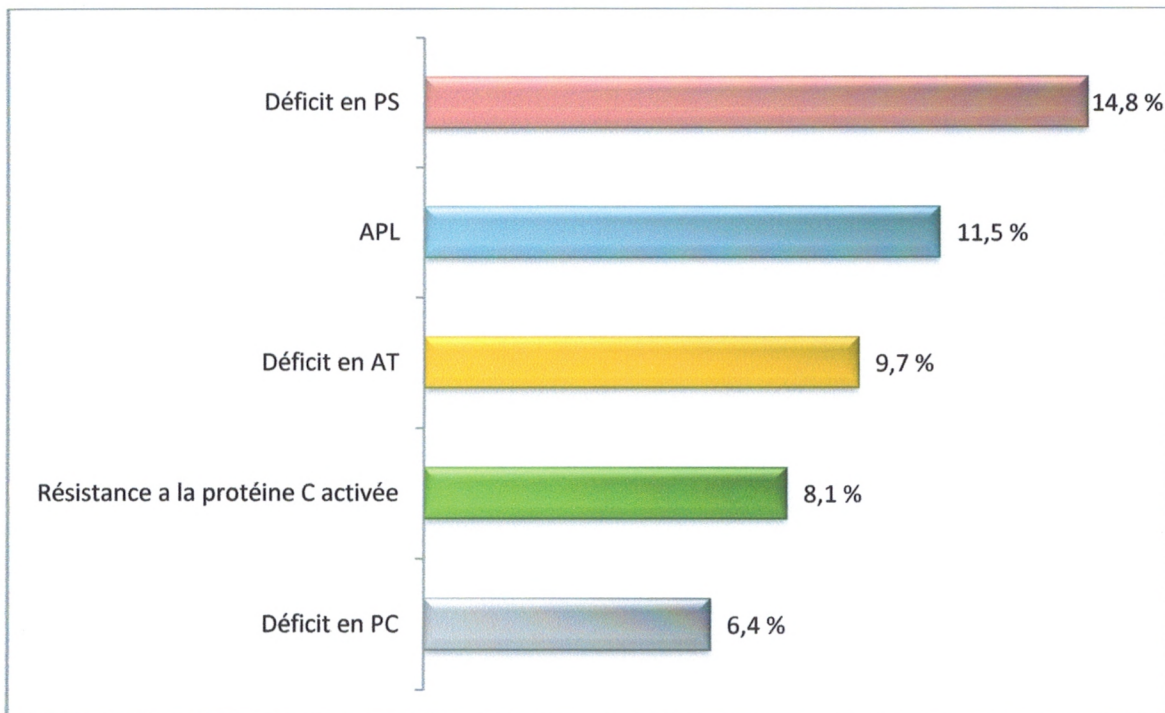


Figure 23 : Prévalence des différentes anomalies biologiques

On note 14,8% de déficit en protéine S, 11,5% de l'ensemble des anticorps antiphospholipides, 9,7% de déficit en antithrombine, 8,1% résistance à la protéine C activée et 6,4% de déficit en protéine C.

Parmi les patients on remarque 27% de thrombophilie, c'est-à-dire la présence d'au moins d'une anomalie biologique prédisposant aux thromboses.

3. Analyse par type de pathologie

3.1. Thrombose veineuse

Parmi les 325 patients inclus, 58 présentaient une thrombose veineuse.

➤ L'âge et le sexe

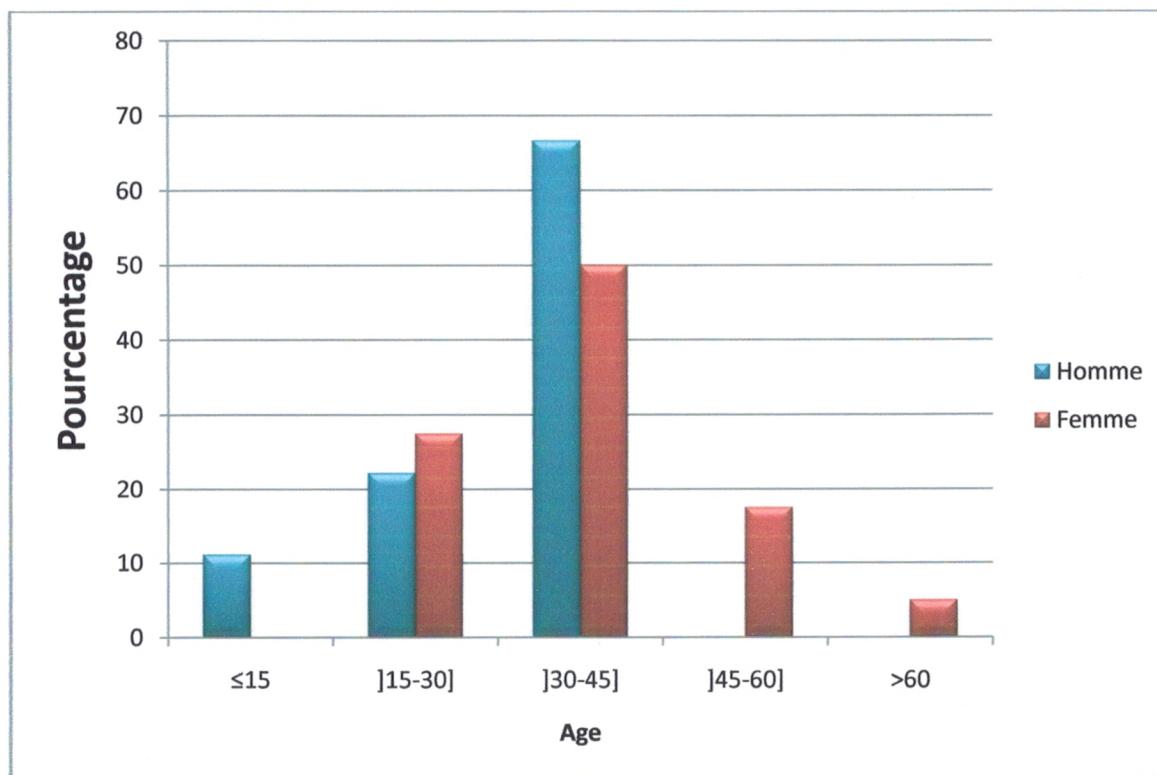


Figure 24 : Répartition selon l'âge des patients ayant eu une thrombose veineuse

La moyenne d'âge des 58 patients ayant eu une thrombose veineuse est de 36,76 +/- 11,043 variant entre 1 an et 65 ans. Et que les femmes également largement représentées par rapport aux hommes avec un Sex-ratio de 0,21 (17,2% hommes, 82,8% femmes).

➤ Type des thromboses veineuses

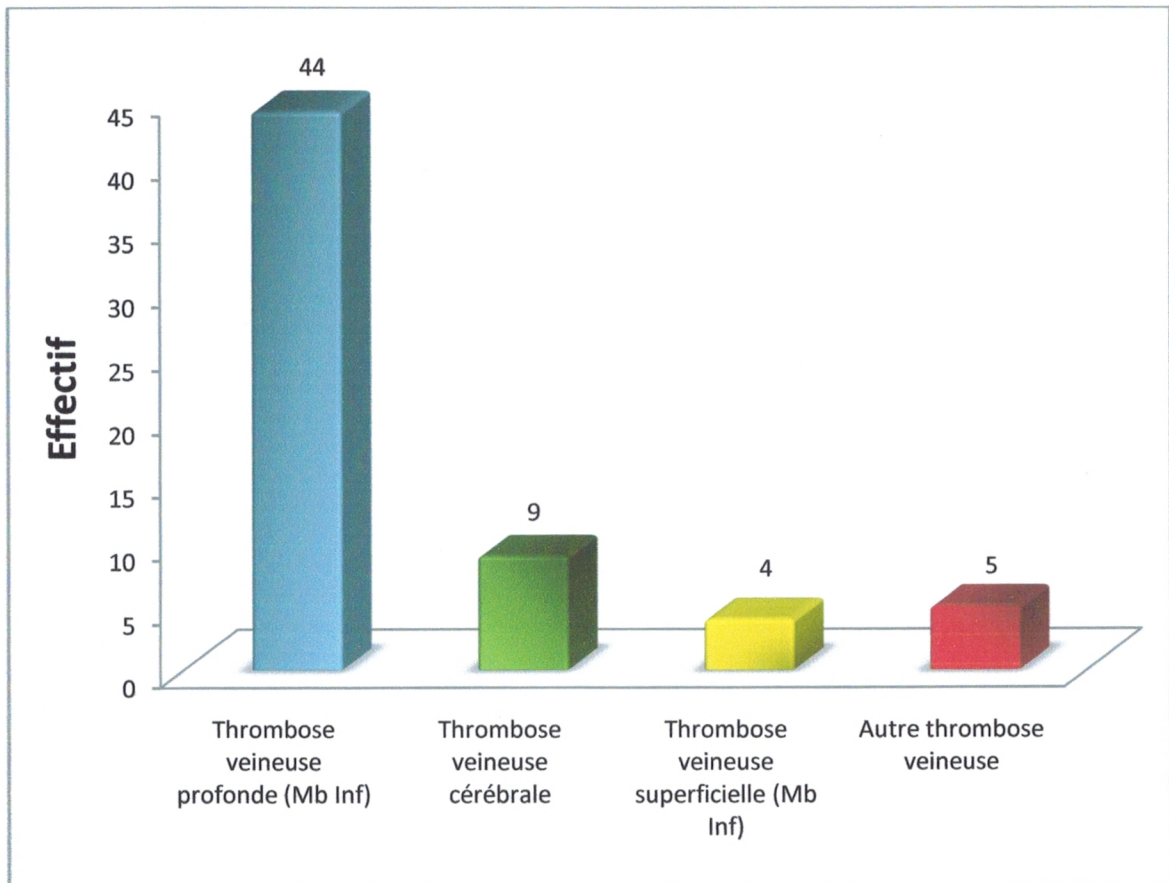


Figure 25 : Répartition par type de thrombose veineuse

Autres thrombose veineuse :

- ✓ Thrombose de la veine porte.
- ✓ Thrombose jugulaire.
- ✓ Thrombose de la veine cave.
- ✓ Thrombose de la veine rétinienne.

On remarque que la majorité des patients ayant été adressé pour faire un bilan de thrombophilie avec thrombose veineuse comme antécédent, avaient une thrombose veineuse profonde des membres inférieurs.

Résultats

➤ Etude des prévalences dans les thromboses veineuses

Tableau XIII : Tableau des prévalences des paramètres biologiques dans la thrombose veineuse

Paramètres biologiques	Effectif	Nombre Total dosé	Pourcentage
Déficit en AT	5	41	12,2
Déficit en PC	3	45	6,7
Déficit en PS	7	33	21,2
Résistance a la protéine C activée	7	35	20
APL	6	52	11,5
Thrombophilie	25	56	44,6

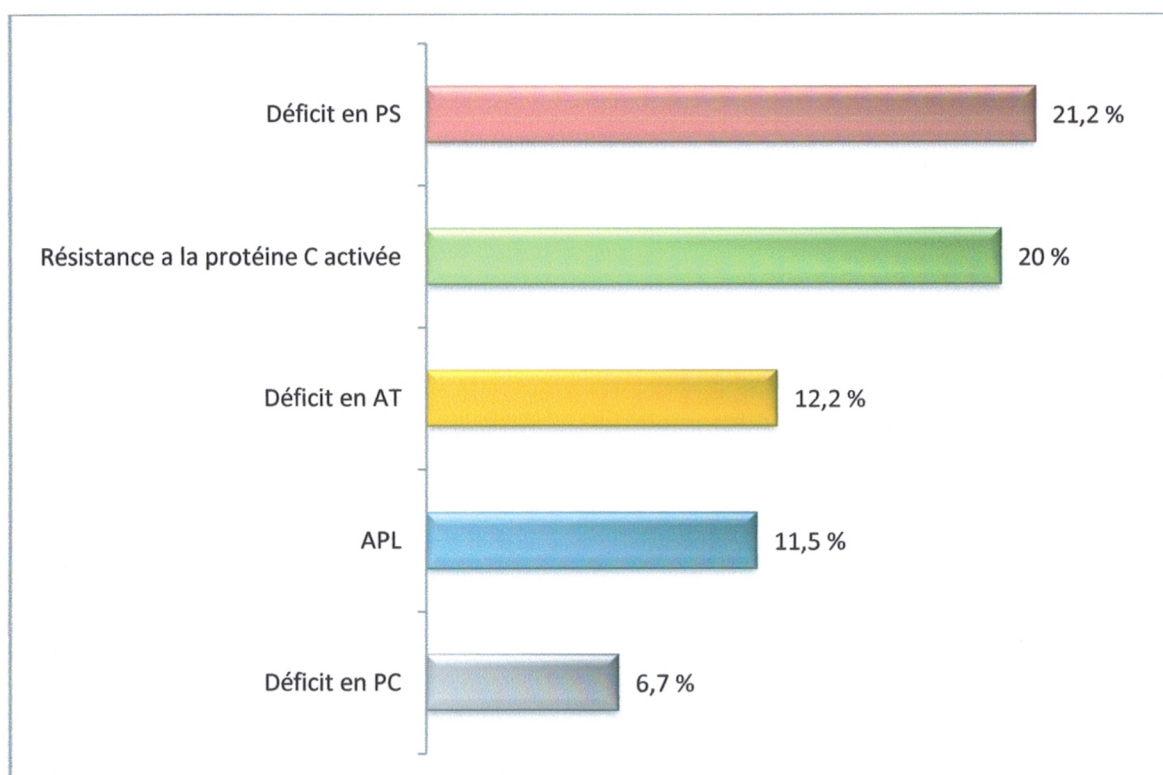


Figure 26 : Prévalence de différentes anomalies biologiques dans la thrombose veineuse

Dans la thrombose veineuse, les principales anomalies biologiques retrouvées sont le déficit en protéine S (21,2%), la résistance à la protéine C activée (20%), et en 3^{ème} position le déficit en antithrombine (12,2%).

Parmi les patients on remarque 44,6% de thrombophilie, c'est-à-dire la présence d'au moins d'une anomalie biologique prédisposant aux thromboses.

3.2. Thrombose artérielle

Parmi les 325 patients inclus, 33 patients présentaient une thrombose artérielle.

➤ L'âge et le sexe

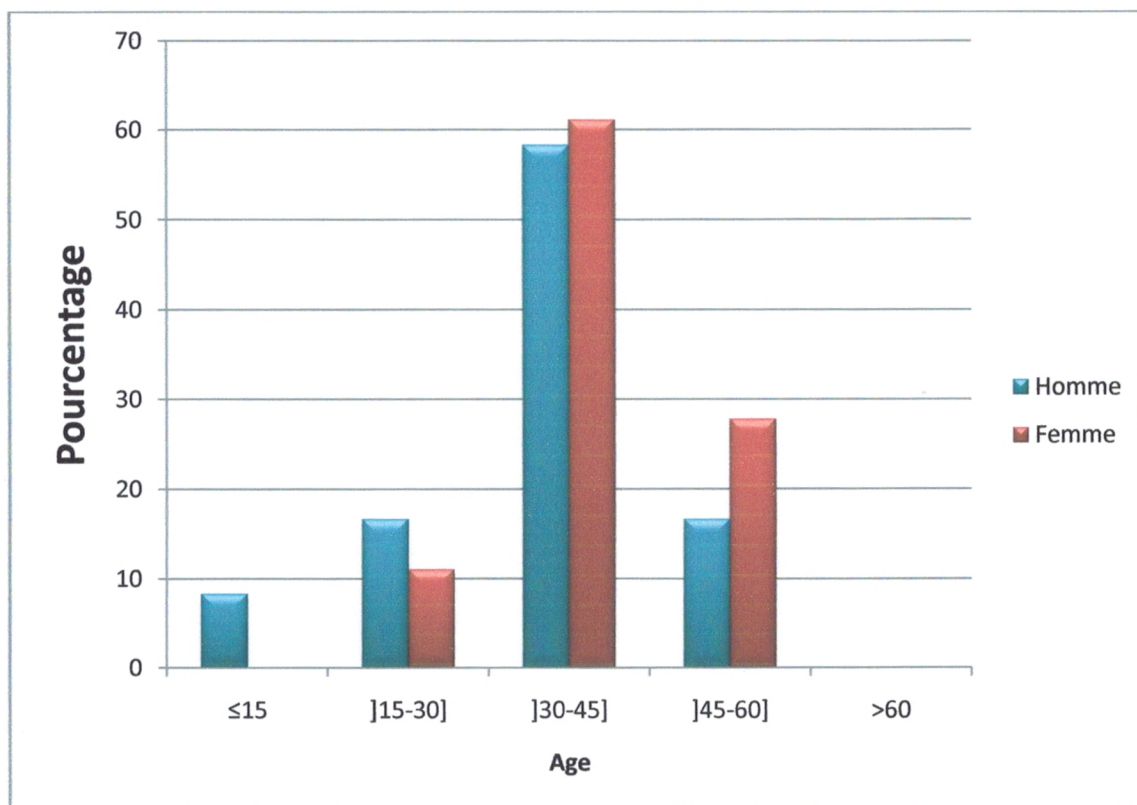


Figure 27 : Répartition selon l'âge des patients ayant eu une thrombose artérielle

La moyenne d'âge des 33 patients ayant eu une thrombose artérielle est de 38,71 +/-10,64 variant entre 1 an et 58 ans. Notons que même si les femmes étaient là aussi largement représentées par rapport aux hommes avec un Sex-ratio de 0,74 (42,4% hommes, 57,6% femmes) ceci montre une nette augmentation de la de thrombose artérielle chez les hommes vue le Sex-ratio de 0,28 seulement de la population recrutée au départ.

➤ Type des thromboses artérielles

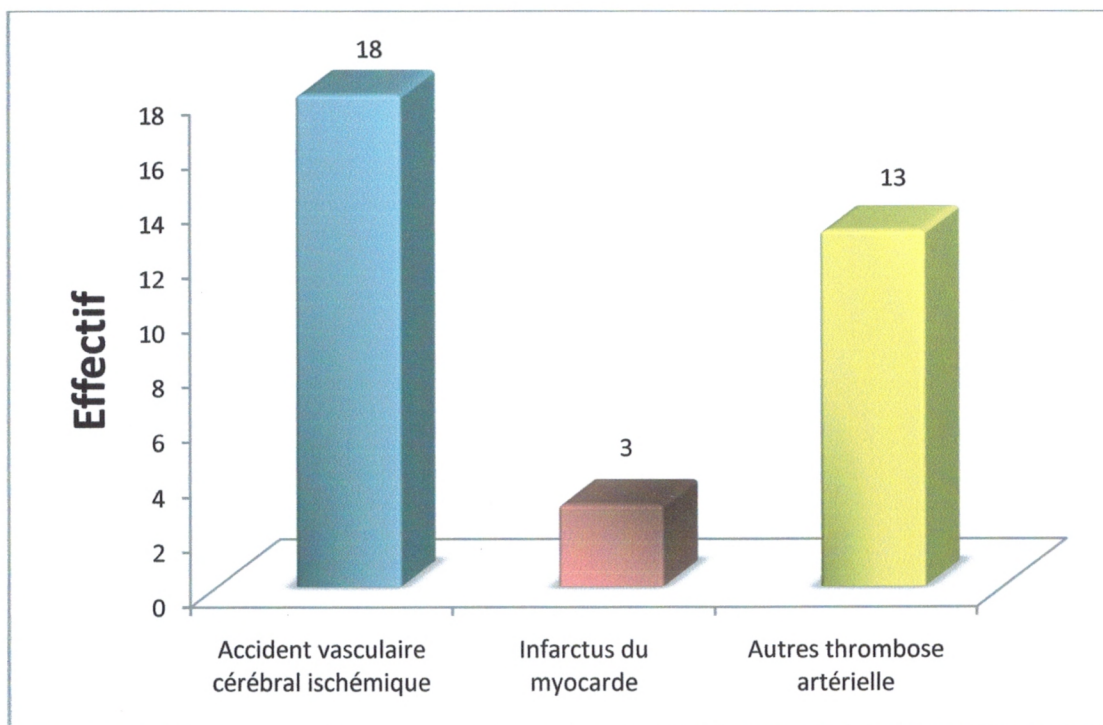


Figure 28 : Répartition par type de thrombose artérielle

Autres thrombose artérielle :

- ✓ Accident ischémique transitoire.
- ✓ Thrombose de la carotide.
- ✓ Thrombose artérielle du membre supérieur.

La thrombose artérielle été majoritairement représentait par les accidents vasculaires cérébraux ischémiques.

➤ Etude des prévalences dans la thrombose artérielle

Tableau XIV : Tableau des prévalences des paramètres étudiés

Paramètres biologiques	Effectif	Nombre Total dosé	Pourcentage
APL	6	26	23,1
Thrombophilie	9	30	30

Vu le nombre réduit des échantillons pour les dosages des inhibiteurs et de la RPCa on ne peut calculer différentes prévalence. Néanmoins, pour les anticorps antiphospholipides elle est de 23,1%.

Parmi les patients on remarque 30% de thrombophilie, c'est-à-dire la présence d'au moins d'une anomalie biologique prédisposant aux thromboses.

3.3. Pertes fœtales

Parmi les 325 patients inclus, 107 présentaient une perte fœtale.

➤ L'âge

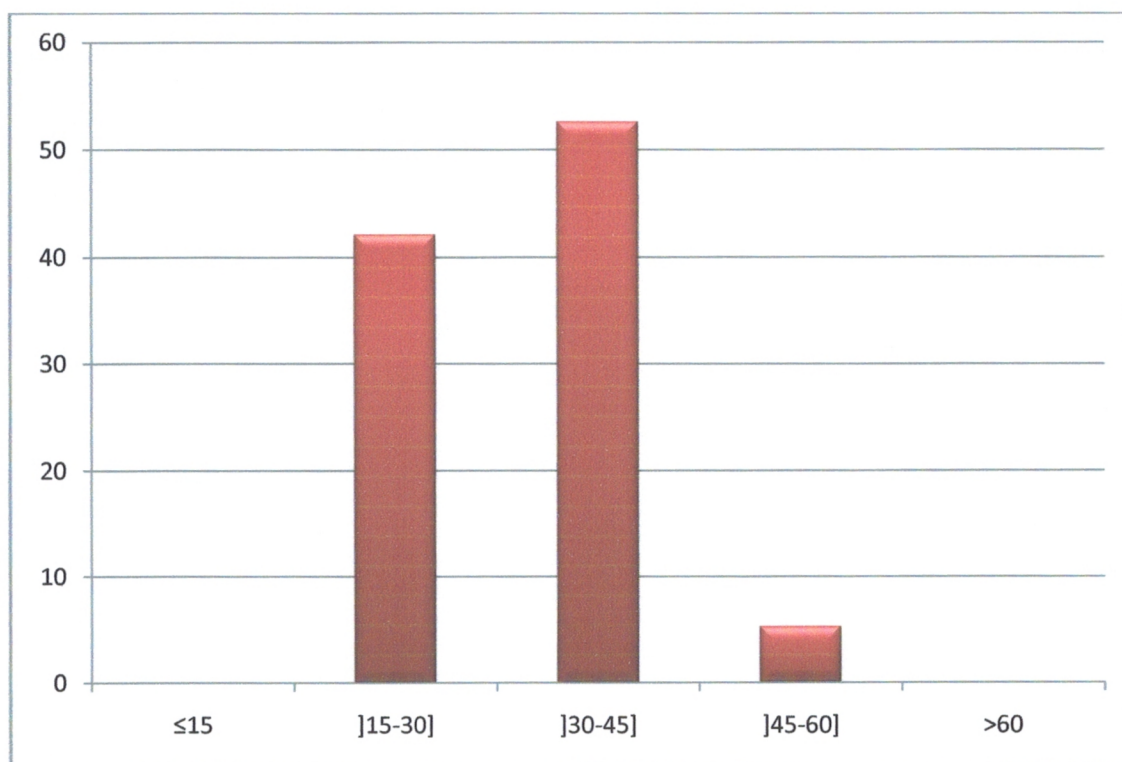


Figure 29 : Répartition selon l'âge des patientes ayant eu des pertes fœtales

La tranche d'âge représentative des 107 cas de pertes fœtales varie entre 20 ans et 53 ans avec une moyenne de $32,53 \pm 6,891$.

➤ Type des pertes fœtales

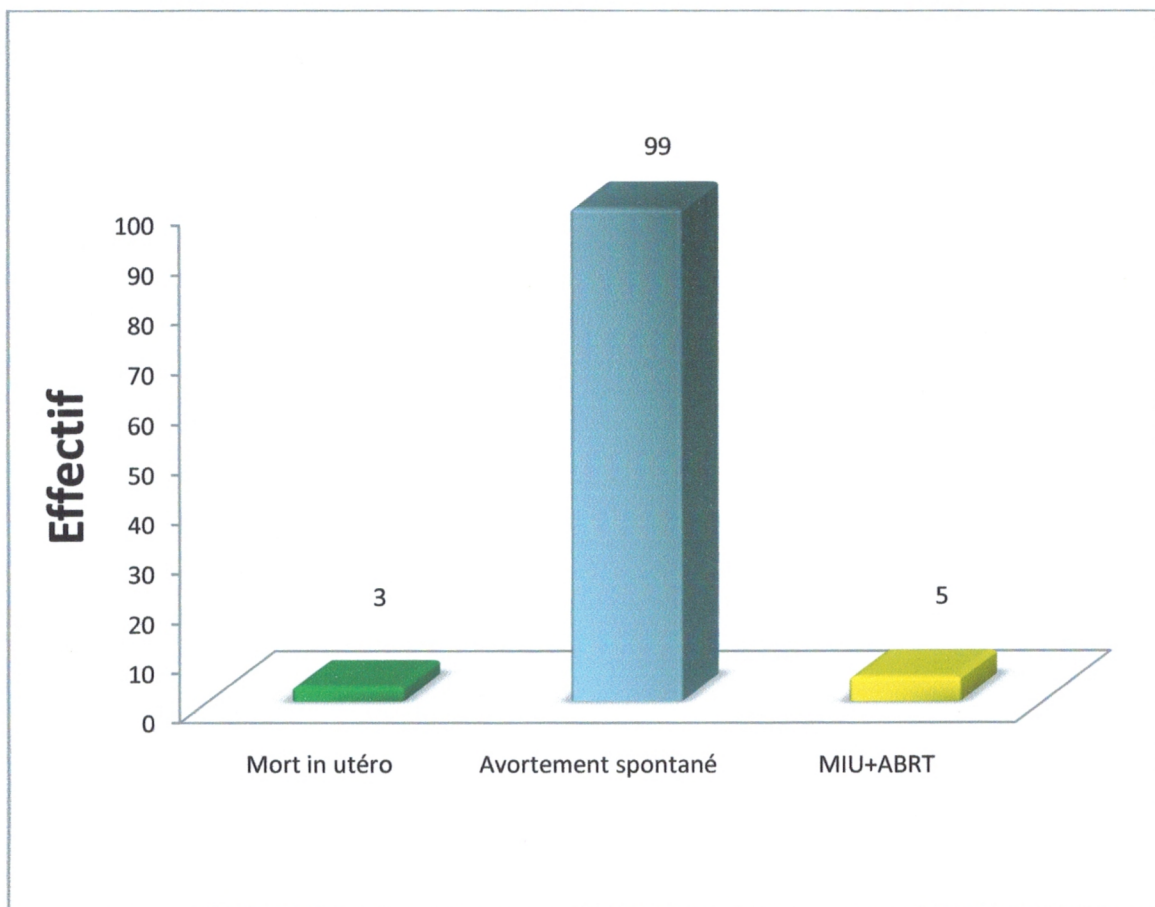


Figure 30 : Répartition par type de pertes fœtales

La quasi-totalité des pertes fœtales étaient des avortements spontanés à répétition.

Résultats

➤ Etude des prévalences dans les pertes fœtales

Tableau XV : Tableau des prévalences des paramètres étudiés dans les pertes fœtales

	Effectif	Nombre Total dosé	Pourcentage
Déficit en AT	7	77	9,1
Déficit en PC	5	72	6,9
Déficit en PS	2	39	5,1
Résistance a la protéine C activée	2	55	3,6
Lupus anticoagulant	3	87	3,4
Anticorps anti cardiolipines IgG	0	21	0
Anticorps anti cardiolipines IgM	1	21	4,8
Anticorps anti-béta 2 glycoprotéine 1 IgG	3	57	5,3
Anticorps anti-béta 2 glycoprotéine 1 IgM	5	21	23,8
APL	9	97	9,3
Thrombophilie	24	99	24,2

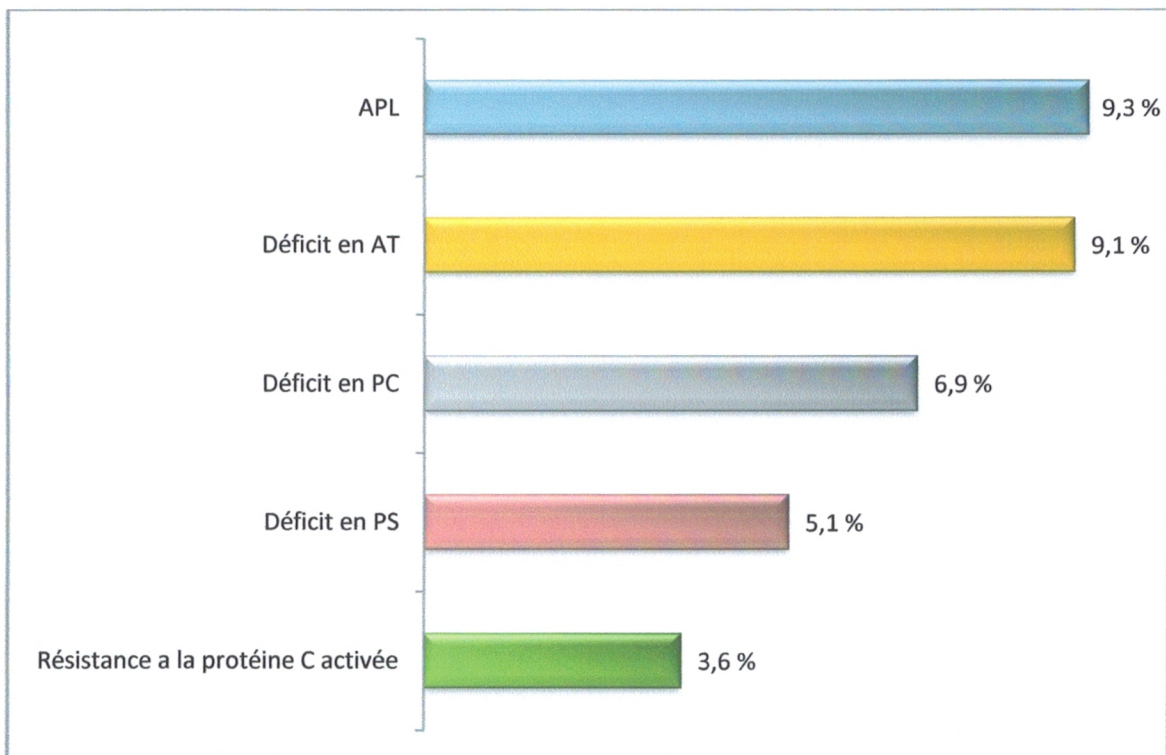


Figure 31 : Prévalence de différentes anomalies biologiques dans les pertes fœtales

En ce qui concerne les pertes fœtales, on note que les anticorps antiphospholipides (9,3%) et le déficit en antithrombine (9,1%) sont les plus représentés. Puis 6,9% de déficit en protéine C, 5,1% de déficit en protéine S et 3,6% seulement pour la résistance à la protéine C activée.

Résultats

4. Analyse uni-variée : Le test d'indépendance du Khi-carré de PEARSON

4.1. Etude de la corrélation entre la thrombose veineuse et les paramètres biologiques

Tableau XVI : Tableau de la corrélation entre la thrombose veineuse et les paramètres biologiques

Thrombose veineuse	Khi-carré de PEARSON	p	
Déficit en antithrombine	0,661	0,416	NS
Déficit en protéine C	0,037	0,847	NS
Déficit en protéine S	2,512	0,113	NS
RPCA	9,995	0,002	S
APL	0,046	0,830	NS

L'intervalle de confiance est de 95%

S : Significative ($p < 0,05$)

NS : Non significative ($p > 0,05$)

Le test de Khi-carré de PEARSON a révélé une relation significative entre la thrombose veineuse et la RPCa ($p < 0,05$).

Par contre il n'a révélé aucune relation significative entre la thrombose veineuse et les déficits en inhibiteurs physiologique de la coagulation ou en APL ($p > 0,05$).

Résultats

4.2. Etude de la corrélation entre la thrombose artérielle et les paramètres biologiques

Tableau XVII : Tableau de la corrélation entre la thrombose artérielle et les paramètres biologiques

Thrombose artérielle	Khi-carré de PEARSON	p	
APL	3,296	0,069	NS

L'intervalle de confiance est de 95%

NS : Non significative ($p > 0,05$)

Le test de Khi-carré de PEARSON n'a révélé aucune relation significative entre la thrombose artérielle et les APL ($p > 0,05$). Notant que le nombre réduit des APL (26 cas) et le p proche de 0,05 ne nous permet pas d'exclure une probable relation entre les deux si le nombre d'échantillon été plus représentatif.

4.3. Etude de la corrélation entre la perte fœtale et les paramètres biologiques

Tableau XVIII : Tableau de la corrélation entre les pertes fœtales et les paramètres biologiques

Perte fœtale	Khi-carré de PEARSON	p	
Déficit en antithrombine	0,046	0,830	NS
Déficit en protéine C	1,108	0,293	NS
Déficit en protéine S	6,348	0,012	S
RPCA	6,097	0,014	S
Lupus Anticoagulant	0,081	0,776	NS
ACL IgM	0,638	0,425	NS
Anti B2 IgG	0,038	0,846	NS
Anti B2 IgM	0,83	0,362	NS
APL	2,107	0,147	NS

L'intervalle de confiance est de 95%

S : Significative ($p < 0,05$)

NS : Non significative ($p > 0,05$)

Le test de Khi-carré de PEARSON a révélé une relation significative entre les pertes fœtales et la RPCa ($p < 0,05$), de même que pour le déficit en PS.

Discussion

IV. Discussion

Parmi les 374 bilans de thrombophilie analysés au laboratoire hémobiologie du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen entre le 1^{er} janvier 2009 et le 31 décembre 2013, 325 ont été inclus et 49 bilans n'ont pas été inclus dans l'étude pour de multiples raisons tels la prise d'un traitement anticoagulant, d'un contraceptif oral ou patient présentant divers pathologies hépatiques. Et ceux pouvant modifier les taux de certains paramètres étudiés.

L'âge moyen était de 34,78 +/- 10,55 ans avec un sexe ratio de 0,28 (21,8 % hommes et 78,2% femmes).

Nous avons cherché le déficit en AT chez 185 qui été de 18 cas avec un pourcentage de 9,7%. D'autres études portant sur ce déficit réalisé en Allemagne de l'ouest en 1988 portant sur 141 patients ont découvert 3%, en Italie en 1987 sur 95 patients 7,5% de déficit[56], en Algérie en 1993 sur 93 patients 6.5% de déficit.[19]

Le déficit en protéine C a été recherché chez 171 patients, 11 cas de déficit avec un pourcentage de 6,4%. Les autres études cité au-dessus ont trouvé 4% en Allemagne de l'ouest, 7,5% en Italie[56], 6,5% en Algérie[19].

On a dosé la protéine S chez 108 individus, on a constaté 16 déficits avec un pourcentage de 14,8%. Les autres études cité au-dessus ont trouvé 5 % en Allemagne de l'ouest, 5% en Italie [56], 3,2% en Algérie[19].

La résistance de la protéine C activée a été décelé chez 10 cas parmi les 124 recherchés ainsi le pourcentage est de 8,1%, ces résultats sont similaires a une étude réalisée en 1995 par Aillaud qui a trouvé 9%[57] ou celle réalisée en 1996 par Taouli et Douzi qui retrouvent 9,3%[56].

La fréquence des lupus anticoagulants dans notre étude est de 16,3% ce qui correspond a 18 cas sur les 247 analysé, dans la littérature, celle-ci varie entre 15 et 34% par Cervera en 1993[58], Love en 1990[59] et Levine en 2002[60]ainsi 23% ont été rapporté dans une étude réaliser sur 60 malades à Tlemcen par Dr Taouli en 2004[61].

Discussion

La fréquence dans la présente étude de l'anticorps anti-cardiolipines est de 2,2% IgG (1/45) et de 2,2% IgM (1/45). Par contre elle est de 4,2% (7/168) et 24,4% (11/45) pour les anticorps anti-béata 2 glycoprotéine 1 IgG et IgM respectivement.

En ce qui concerne les manifestations cliniques, chez les 71 hommes avec une moyenne d'âge de 35,19 ans, 56,5% présentaient une thrombose artérielle, 39,1% une thrombose veineuse et 4,3% l'association des deux. Alors que chez les 254 patientes avec une moyenne d'âge de 34,68 ans, 60,8% présentaient des pertes fœtales, 24,2% une thrombose veineuse et 7,5% une thrombose artérielle sans oublier les différents associations possibles.

L'analyse en fonction de la pathologie des 184 patients avec renseignement clinique révèle 58 cas de thrombose veineuse, 33 cas de thrombose artérielle et 107 cas de pertes fœtal, notant que différentes associations sont possibles. Alors que 141 patients sont adressés au service pour un bilan de thrombophilie sans précision du type de pathologie présentée.

La moyenne d'âge des 58 cas de thromboses veineuses est de 36,76 +/- 11,04 avec un sexe ratio de 0,20 (17,2% hommes et 82,8% femmes). Représenté majoritairement par les 44 cas (75,9%) de thromboses veineuses profondes des membres inférieurs, 9 cas de thromboses veineuses cérébrales et 9 cas d'autres thromboses veineuses telles que la thrombose veineuse superficielle du membre inférieur, thrombose jugulaire, thrombose de la veine porte, thrombose de la veine cave, thrombose des veines sus-hépatique, thrombose du membre supérieur gauche et thrombose de la veine rétinienne.

L'analyse des paramètres biologiques a permis de mettre en évidence 5 cas de déficits en AT et 3 en protéine C, correspondant à 9,1% et 6,9% respectivement. 7 déficits en protéine S, 7 cas de résistance à la protéine C activée et 6 patients présentent des APL (2 cas de lupus anticoagulant, 2 cas d'anticorps anti béta 2 glycoprotéine 1 IgG et 2 cas de d'anticorps anti béta 2 glycoprotéine 1 IgM). Sachant qu'une publication faisait état de déficit en AT variant entre 1 à 2 % des patients atteints de maladie thromboembolique veineuse et 3 % de déficits héréditaires en protéine C[8].

Le test du Khi-carré de PEARSON a révélé une relation significative entre la thrombose veineuse et la RPCa ($p=0.002$).

Discussion

La moyenne d'âge des 33 cas de thrombose artérielle est de 38,71 +/- 10,64 avec un sexe ratio de 0,78(42,4% homme et 57,6% femmes). Représenter majoritairement par les 18 cas d'accidents vasculaires cérébraux ischémiques, 3 cas d'infarctus du myocarde et d'autres thromboses artérielles telles que les accidents ischémiques transitoires, thromboses artérielles du membre supérieur et thromboses de la carotide.

L'analyse des paramètres biologiques a révélé 6 patients présentant des APL(1 cas de lupus anticoagulant et 5 cas de présence d'anticorps anti bêta 2 glycoprotéine 1 IgM). Par contre vu le nombre très réduit chez qui on a recherché les inhibiteurs et la RPCa, on ne peut exploiter leurs résultats.

L'analyse statistique par le test du Khi-carré de PEARSON n'a révélé aucune relation significative entre la thrombose artérielle et les APL ($p > 0,05$).

La notion de thrombophilie en obstétrique se pose sous forme de maladie thromboembolique veineuse, le risque de fausses couches spontanées à répétition ainsi que le risque de pathologies vasculaires.

La moyenne d'âge représentative des 107 cas de perte fœtal est de 32,53 +/- 6,89. Sachant qu'une étude faite à l'hôpital Saint Antoine en 2009 portant sur 64 patientes l'âgemoyen était de 28,5[62]. Plusieurs études ont montré que l'âge maternel supérieur à 35 ans pourrait être un facteur de risque de mort fœtale in utero[63].

Fretts a comparé le taux de mort fœtale chez un groupe de patientes de plus de 35 ans par rapport au taux dans un groupe de patientes d'âge inférieur à 35 ans [63]. Il trouve un risque de 1/1000 chez les patientes de moins de 35 ans contre un taux de 1/440 chez les patientes de plus de 35 ans.

Les pertes fœtales sont représentées principalement par les avortements spontanés avec 99 cas (92,5%) et seulement 3 cas (2,8%) de MFIU. La fréquence de celle-ci varie selon les études de 0 à 7% mais la majorité des auteurs l'évalue actuellement entre 1 à 2%[64].

Après analyse, les résultats biologiques ont démontré 7 déficits en AT, 5 en protéine C et 2 en protéine S, 2 cas de résistance à la protéine C activée, 3 lupus anticoagulant, 1 cas de présence d'un anticorps anti-cardiolipines IgM, 3 cas de présence d'anticorps anti bêta 2 glycoprotéine 1 IgG et 5 cas de présence d'anticorps anti bêta 2 glycoprotéine 1 IgM.

Discussion

Ce qui fait 21,1% pour les 3 inhibiteurs physiologiques de la coagulation AT, protéine C et protéine S. Et qui été de l'ordre de 6,8% dans une étude réalisée en 2010 par Goranna M [65] et 14,3% dans l'étude de M Bornes[36]. Et 12% pour le déficit en protéine C ou S assez comparable avec le 9,37% de l'étude réalisée à l'hôpital Saint Antoine [62].

On a détecté 12 patientes présentant le syndrome des phospholipides parmi les 107 alors qu'il été de 14 cas parmi 64 patientes de l'étude précédemment citée.

Le test du Khi-carré de PEARSON a révélé une relation significative entre la perte fœtale et le déficit en protéine S ($p=0,012$). Mais aussi avec la RPCa ($p=0.014$).

Notre étude a révélé 24,9% d'association entre la thrombophilie et la survenue de pertes fœtales. Sachant que cette association été de 60% au niveau de l'hôpital Saint Antoine[62], alors qu'elle été de 52,94% dans une étude réalisée en 2001 par Zarko [66] sur 102 patientes, et 45,5% dans une autre étude faite par Kovac en 2010[67].

L'augmentation du risque de pertes fœtales (fausse couche et mort fœtale) a été prouvé chez les patientes présentant une thrombophilie. En 2003, une méta-analyse de Rey a regroupé 21 de ces études évaluant le lien entre pertes fœtales et thrombophilie[68]. Malgré une hétérogénéité parfois importante entre les études, il a retrouvé une augmentation du risque de perte fœtale associée aux thrombophilies. Lors d'une étude cas-témoin sur 1384 patientes, Preston trouve un taux significativement plus élevé de perte fœtale chez les patientes ayant une thrombophilie[52]. Par ailleurs, dans une étude rétrospective à propos de patientes ayant eu une mort fœtale Many met en évidence un taux de thrombophilie héréditaire de 45% contre 15 % dans le groupe témoin[69]. De même, Martinelli retrouve un taux 3 fois plus élevé de thrombophilie héréditaire chez des patientes ayant eu une mort fœtale[70].

Conclusion

Conclusion

La thrombophilie, pathologie de connaissance relativement récente, constitue une pathologie multifactorielle associée à une expression clinique hétérogène.

L'étude des prévalences des facteurs biologiques de la thrombophilie au sein du laboratoire hématologie du CHU Tlemcen a permis de révéler la présence de certains caractères prédisposant au risque thrombotique au même titre que dans la littérature avec une légère augmentation du déficit en protéine S qui nécessite, sans aucun doute, une analyse plus ciblée de celle-ci en vue d'expliquer cette augmentation.

A l'évidence la reconnaissance des facteurs déclenchants est primordial chez le propositus et parfois même chez les membres de sa famille, car elle permet d'envisager une prophylaxie antithrombotique adéquate chez les sujets porteurs d'anomalie biologique qu'ils soient symptomatiques ou non.

Beaucoup de patients ont plusieurs facteurs de risque mais ne développent jamais de thrombose, Bien que certains, sans avoir de facteur de risque connu, développent des thromboses inexplicables. Ainsi l'étude de la thrombophilie permettra d'élargir le spectre des étiologies des thromboses, expliquant ainsi plusieurs bilans négatifs. Néanmoins elle ne doit en aucun cas masquer l'importance de rechercher les autres facteurs favorisants plus fréquents (néoplasie, syndrome myéloprolifératif, syndrome néphrotique) aux conséquences autrement plus importantes.

Sur le plan pratique, il faut rappeler qu'un bilan à la phase aiguë d'un événement thrombotique n'est pas souhaitable, en particulier pour les dosages de la protéine S. Le dosage de l'antithrombine peut être modifié sous héparine et le dosage des protéines C et S est fortement déconseillé lorsqu'un patient est sous antagoniste de la vitamine K. Il faut aussi rappeler que le dosage de la protéine S ne doit pas être effectué chez une femme enceinte, la protéine S s'abaissant physiologiquement pendant la grossesse.

Les tests (antithrombine, protéines C et S) devaient être répétés au moins deux fois avant de conclure à un déficit. En ce qui concerne le syndrome des antiphospholipides, ce diagnostic ne peut être retenu que si des anticorps antiphospholipides sont mis en évidence à deux reprises et cela à 12 semaines d'intervalle.

Conclusion

Le bon usage du laboratoire d'hémostase implique une étroite collaboration entre cliniciens et biologistes, le but de l'ensemble des partenaires étant de diagnostiquer un maximum d'anomalies sans excès d'investigations.

Il est important de ne réaliser ces tests que si la personne ou les membres de sa famille peuvent réellement en tirer bénéfice. Hormis le coût non négligeable de ces tests, il faut tenir compte des aspects psychologiques liés à la découverte de certaines anomalies. Si pour certains la découverte d'un facteur de risque génétique apporte une explication satisfaisante à leur problème clinique, pour d'autres le stress psychologique peut s'avérer délétère.

Les outils de la biologie moléculaire et le dépistage élargi des facteurs environnementaux devraient apporter des éléments facilitant la compréhension de l'hétérogénéité clinique de la thrombophilie familiale et l'optimisation appropriée de sa prise en charge. Il paraît légitime d'espérer la découverte de nouvelles altérations pour réduire la proportion d'événements thrombotiques inexpliqués.

L'hétérogénéité et le caractère multifactoriel de la maladie thrombotique explique la difficulté à tirer des conclusions définitives en termes de diagnostique. En effet la thrombophilie reste plus que jamais l'un des domaines de recherche en hémostase les plus dynamiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Claude Martin, Bruno Riou, Benoût Vallet.** Physiologie humaine appliquée. Arnette, 2006. p 169-170.
2. **Ismail ELALAMY, François DEPASSE, Gregoris GEROTZIFAS, Meyer-Michel SAMAMA.** Rappels de la physiopathologie et de la sémiologie clinicobiologique. Samama M. *hémorragies et thromboses du diagnostic aux traitements.* ELSEVIER MASSON, 2009.
3. **Levy JP, Varet Bet coll.** Physiologie de l'hémostase primaire. *Hématologie et transfusion.* Paris : Collection Abrégés Masson, 2001. 297-300.
4. **Bellucci, Sylvia.** Physiologie de l'hémostase primaire. EMC - Hématologie, 2005. 1-9. [13-019-A-05].
5. **Annie Bezeaud, Marie-Claude Guillin.** Physiologie de la coagulation. *EMC - Hématologie.* 2001. 1-7. [13-019-A-20].
6. **J. POLGAR, J. MATUSKOVA and D. D. WAGNER.** The P-Selectin, tissue factor, coagulation triad. *Journal of thrombosis and haemostasis*, August 2005. Vol. 3, Issue 8, 1590-1596.
7. **HUNTINGTON, J. A.** Molecular recognition mechanisms of thrombin. *Journal of thrombosis and haemostasis*, August 2005. Vol. 3 Issue 8, 1861-1872.
8. **M. Alhenc-Gelas, M. Aillaud, B. Delahousse, G. Freyburger, A. Le Querrec, G. Reber.** La recherche des facteurs biologiques de risque établis de maladie thromboembolique veineuse : état des connaissances et conséquences pour la pratique en biologie clinique. *Sang Thrombose Vaisseaux*, 2009. Vol. 21, 12-39.
9. **M. Alhenc-Gelas, M. Aiach.** Anomalies constitutionnelles de la coagulation prédisposant à la thrombose. *EMC - Hématologie*, 2007. 1-18. [13-022-B-60].
10. **Martinelli I, De Stefano V, Mannucci PM.** Inherited risk factors for venous thromboembolism. *Nature Reviews Cardiology*, January 2014 . Vol. 11, 140-156.
11. **Dahlbäck B, Villoutreix B.** Regulation of blood coagulation by the protein C anticoagulant pathway : novel insights into structure-function relationships and molecular recognition. *Arterioscler Thromb Vasc Bio*, 2005. Vol. 25(7), 1311-20.
12. **Castoldi E, Hackeng TM.** Regulation of coagulation by protein S. *Curr Opin Hematol* , 2008. Vol. 15(5), 529-36.
13. **Alessi, M.C.** Le système fibrinolytique : activation et inhibition. Ses modifications en cas de CIVD. Décembre 2002. Vol. 11, Issue 8, Pages 565-689.
14. **J Lebrazi, Michel-Meyer Samama, Fedor Bachmann.** Système du plasminogène et son exploration. *EMC - Hématologie*, 2003. 11-18. [13-019-A-30].
15. **Schved, J.F.** Définition de la thrombophilie. *Ann Med Interne (Paris)*. 2003, Vol. 154(5-6), 279-82.
16. **HEIT, J. A.** Venous thromboembolism: disease burden, outcomes and risk factors. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. August 2005, Vol. 3, Issue 8, pages 1611-1617.
17. **Lowe, Gordon D.O.** Facteurs de risque communs aux thromboses artérielles et veineuses. *Sang Thrombose Vaisseaux*, 2009. Vol. 21, 31-8.

Références bibliographiques

18. **Mme Laurence, Giraud-Saveur.** Thrombophilie biologique et récurrence de pathologie vasculaire placentaire. *Thèse de doctorat en médecine Paris*. Université Paris V, 2008. p17-18.
19. **Chafa O, Fischer A M, Sternberg C, Meriane F, Millien C, Benabadji M.** The relative frequency of inherited inhibitor deficiency among 93 young patients with thrombophilia in Algeria. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, August 1993. Vol. 4, 639-640.
20. **Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, et al.** Inherited thrombophilia. *Thromb Haemost*, 1996 . Vol. 76, 824-34.
21. **Lane DA, Bayston T, Olds RJ, et al.** Antithrombin mutation database. *Thromb Haemost*, 1997. Vol. 77, 197-211.
22. **Picard V, Nowak-Göttl U, Biron-Andreani C, et al.** Molecular bases of antithrombin deficiency : twenty-two novel mutations in the antithrombin gene. *Hum Mutat*, 2006. Vol. 27, 600.
23. **Picard V, Dautzenberg MD, Villoutreix BO, Orliaguet G, Alhenc GM, Aiach M.** Antithrombin Phe229Leu : a new homozygous variant leading to spontaneous antithrombin polymerization in vivo associated with severe childhood thrombosis. *Blood*, 2003. Vol. 102, 919-25.
24. **Gandrille S, Borgel D, Sala N, et al.** Protein S deficiency: a database of mutations--summary of the first update. *Thromb Haemost*, 2000. Vol. 84, 918.
25. **Garcia de Frutos P, Fuentes-Prior P, Hurtado B, Sala N.** Molecular basis of protein S deficiency. *Thromb Haemost*, 2007. Vol. 98, 543-56.
26. **P C Comp, R R Nixon, M R Cooper.** Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *The journal of clinical investigation*, Dec 1984. Vol. 74(6), 2082-2088.
27. **Nicolaes GA, Dahlbäck B.** Factor V and thrombotic disease : description of a Janus-faced protein. *ArteriosclerThromb Vasc Biol* , 2002. Vol. 22, 530-8.
28. **De Visser MC, Rosendaal FR, Bertina RM.** A reduced sensitivity for activated protein C in the absence of factor V Leiden increases the risk of venous thrombosis. *Blood* , 1999. Vol. 93, 1271-6.
29. **Rodeghiero F, Tosetto A.** Activated protein C resistance and factor V Leiden mutation are independent risk factors for venous thromboembolism. *Ann Intern Med*, 1999. Vol. 130, 643-50.
30. **JF. SCHVED, P. EDELMAN, P. CARPENTIER.**Conférence de consensus THROMBOPHILIE ET GROSSESSE. PRÉVENTION DES RISQUES THROMBOTIQUES MATERNELS ET PLACENTAIRES. Paris mars 2003. 876-885.
31. **Felix JM, Van der Meer, T Koster, JP Vandenbroucke, E Briet.**The Leiden Thrombophilia Study (LETS). Stuttgart : *Thrombosis and Haemostasis*, 1997. Vol. 78(1), 631-635.
32. **Robert A, Eschwège V.** Système de groupe sanguin ABO et thrombose veineuse profonde. *Sang Thrombose vaisseaux* , 2004. Vol. 16(2), 96-100.
33. **Myiakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al.**International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Thromb Haemost*, 2006. Vol. 4, 295-306.
34. **Reber G, Tincani A, Sanmarco M, de Moerloose P, Boffa MC.**Standardization group of the European Forum on antiphospholipid antibodies proposals for the measurement of anti-beta-2-glycoprotein I antibodies. *Thromb Haemost*, 2004. 2. 1860-2.

Références bibliographiques

35. **Galli M, Finazzi G, Bevers EM, Barbui T.** Kaolin clotting time and dilute Russel's viper venom time distinguish between prothrombin dependent and β 2GPI dependent antiphospholipid antibodies. *Blood*, 1995. Vol. 86, 617-23.
36. **BORNES, Marie.** Récidive d accident vasculaire placentaire et thrombophilie. Paris octobre 2008 . 45-46.
37. **M.Samama.** exploration biologique du syndrome des antiphospholipides. Hôpital la conception laboratoire d'immunologie Marseille : La lettre au rhumatologie, juin 2002. 283.
38. **Meyer-Michel SAMAMA, Gregoris T. GEROTZIAFAS, Marie-Hélène HORELLOU.** MALADIE THROMBOEMBOLIQUE VEINEUSE. M.Samama. *hémorragies et thromboses du diagnostic aux traitements* .ELSEVIER MASSON, 2009 .
39. **Abildstrom SZ, Rasmussen S, Rosen M, Madsen M.** Trends in incidence and cas fatality rates of acute myocardial infarction in Denmark and sweden. *Heart (British Cardiac Society)*, 2003. Vol. 89(5), 507-11.
40. **Virchow, Rudolf.** *Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medicin*. 1856.
41. **Valérie OLIE** la maladie veineuse thromboembolique : Etude des facteurs de risque de recidive 2011 Université Paris-Sud.
42. **Mackman, Nigel.** Triggers targets and treatments for thrombosis. *Nature*, 2008. Vol. 451(7181), 914–918.
43. **R. Ahdab, H. Hossein.** Thromboses veineuses cérébrales. EMC - Cardiologie, 2009. 1-7 . [11-730-A-20].
44. **Weih M., Vetter B., Castel S., Ziemer S., Kulozik A.E., Einhaupl K.M.** Hereditary thrombophilia in cerebral venous thrombosis. *Cerebrovascular Diseases*, 2000. Vol. 10, 161-162.
45. **Le Cam-Duchez V., Bagan-Triquenot A., Menard J.F., Mihout B., Borg J.Y.** Association of the proteine C promoter CG haplotype and the factor II G20210A mutation is a risk factor for cerebral venous thrombosis . *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 2005. Vol. 16, 495-500.
46. **Carhuapoma J.R, Mitsias P, Levine S.R.** Cerebral venous thrombosis and anticardiolipin antibodies . *Stroke* , 1997. Vol. 28, 2363-2369.
47. **Moerloose, H. Robert-Ebadi F. Boehlen P. de.** Thrombophilies héréditaires : rôle dans la pathologie artérielle. *Revue Médicale Suisse*, février 2007. Vol. 97, 31991.
48. **Gérard HELFT, Meyer-Michel SAMAMA.** THROMBOSES EN CARDIOLOGIE. [auteur du livre] M.Samama. *hémorragies et thromboses du diagnostic aux traitements*. ELSEVIER MASSON, 2009 .
49. **ZHOU, Zhou.** Accidents Vasculaires Cérébraux (AVC) : Conséquences Fonctionnelles et Dysphagie Associée. LIMOGES juin 2009. p17.
50. **Cadry Y, Grandjean H, Pichon J.** Evaluation of six markers of haemostatic system in normal pregnancy and pregnancy complicated by hypertension or pre-eclampsia. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* , 1996. Vol. 10, 416-25.
51. **Halligan A, Brenner J, Sheppard B, Darling M, Walshe J.** Hemostatic fibrinolytic and endothelial variables in normal pregnancies and preeclampsia. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1994. Vol. 101, 488 - 912.

Références bibliographiques

52. **PRESTON FE, ROSENDAAL FR, WALKER ID, BRIËT E, BERNTORP E.** Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *The lancet*, 1996. Vol. 348, 913-16.
53. **Brenner, Benjamin.** Haemostatic changes in pregnancy. *Thrombosis Research*, 2004. Vol. 114, Issue 5, 409-414.
54. **Kupferminc M.J, Rimon E, Asher-Landsberg J, Lessing J.B, Many A.** Perinatal outcome in women with severe pregnancy complications and multiple thrombophilias. *Journal of Perinatal Medicine*, 2004. Vol. 32, 225-227.
55. **Brenner B., Hoffman R., Blumenfeld Z., Weiner Z., Younis J.S.** Gestational outcome in thrombophilic women with recurrent pregnancy loss treated by enoxaparin . *Thrombosis and Haemostasis*, 2000. Vol. 83, 693-697.
56. **K.M.TAOULI, K.DOUZI.** Etude biologique des inhibiteurs physiologique de la coagulation et de la résistance a la protéine C activée dans une population qui thrombose. C.H.U alger centre 1996.
57. **Aillaud MF, Succoe, Alessi MC, Guandois JM, Gallian P, Morange P, Juhanvague I.** Résistance to activated protein C : Diagnostic strategy in laboratory of haemostasis. *Thromb Haemost*, 1995. Vol. 74, 1194-1207.
58. **CERVERA R, KHAMASHTA MA, FONT J.** Systemic lupus erythematosus : Clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Medicine (Baltimore)* 1993. 72. 113-24.
59. **SA, LOVE PE ET SANTORO.** Antiphospholipid antibodies : anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non —SLE disorders: prevalence and clinical significance. *Ann Intern Med*, 1990. 112. 682-98.
60. **LEVINE JS, BRANCH WD ET RAUCH J.** The antiphospholipid syndrome. *The new England journal of Medicine*, Mars 2002. Vol. 346, 10. 752-753.
61. **Taouli, K.** PROFILS BIOLOGIQUES DU SYNDROME DES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES AU COURS DU LUPUS ERYTHEMATEUX SYSTEMIQUE DANS L'OUEST ALGERIEN. Tlemcen : UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMEN, Faculté de medecine , 2006. 81.
62. **NGUYEN, Amélie.** Pronostic des grossesses après antécédent de mort fœtale in utéro. UNIVERSITE PARIS VAL-DE-MARNE FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL, juin 2009. 104-105.
63. **FRETTS RC, SCMITTDIEL J, MCLEAN FH.** Increased maternal age and the risk of fetal death. 1995 : *N Engl J Med*. Vol. 333, 953-957.
64. **RIOSECO AJ, IVANKOVIC MB, MANZUR A, HAMED F, KATO SR, PARER JT.** a retrospective case-control study of perinatal outcome : Intrahepatic cholestasis of pregnancy. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 1994. Vol. 170, 890-895.
65. **Gorana mitic, MD, PHD.Mirjana Kovac, MD, PHD et al.** Inherited Thrombophilia is Associated With Pregnancy losses that occur after 12th Gestational Week in Serbian Population. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2010. Vol. 16, 435-439. 4.
66. **Zarko alfirevic MD, et al.** Postnatal screening for thrombophilia in women with severe pregnancy complications. *Obstetrics & Gynecology*, May 2001. Vol. 97 issue 5, P753-759.

Références bibliographiques

67. **Kovac M, Mitic G, Mikovic Z, Djordjevic V, Savic O, Mandic V, Rakicevic LJ, Antonijevic N, Radojkovic D.** Thrombophilia in Women with Pregnancy-Associated Complications: Fetal Loss and Pregnancy-Related Venous Thromboembolism. *Gynecol Obstet Invest*, June 2010. Vol. 69, 233–238.

68. **REY E, KAHN S, DAVID M, SHRIER I.** Thrombophilic disorders and fetal loss:a meta-analysis. *The lancet*, 2003. Vol. 361, 901-08.

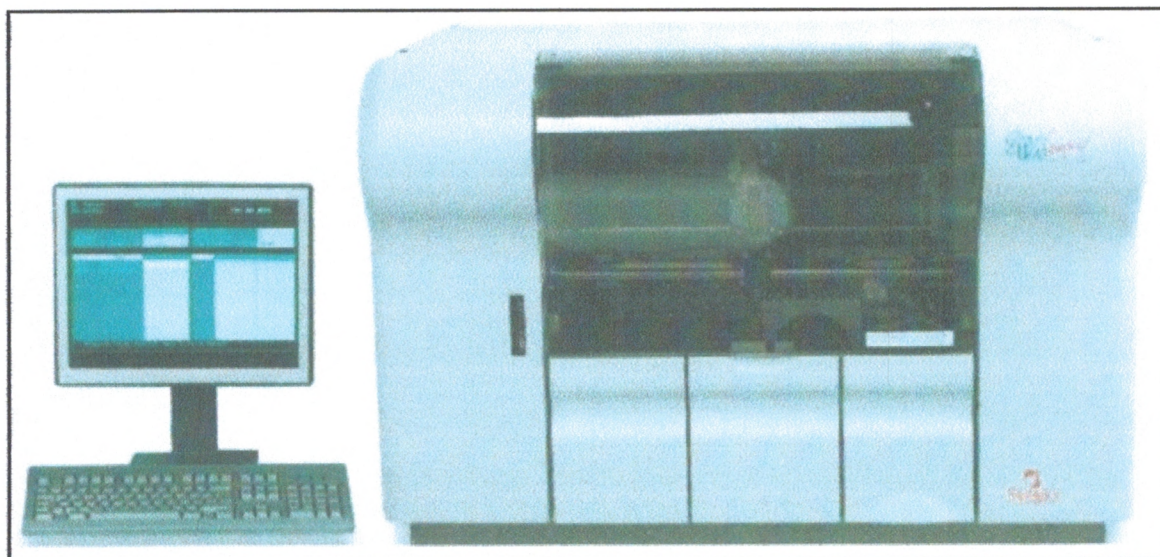
69. **MANY A, ELAD R, YARON Y, ELDOR A, LESSING JB.** Third-trimester unexpanded intrauterine fetal death is associated with inherited thrombophilia. *The american college of obstetricians and gynecologists*, may 2002. Vol. 99(5), 684-7.

70. **MARTINELLI I, TAIOLI E, CETIN I, MARINONI A, GEROSA S.** Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss. *The new England journal of medicine*, 2000. Vol. 343, 1015-8.

Annexes

Annexe 02 : STA compact

Le STA compact est un système entièrement automatisé, capable de réaliser simultanément tous les tests d'hémostase ou de coagulation qu'ils soient en tests immunologiques, photométriques ou chromogéniques en mode d'accès aléatoire (chargement aléatoire des échantillons). Le système de gestion des échantillons offre un haut débit de travail et un traitement modéré et rapide des échantillons d'urgence sans avoir besoin d'interrompre les tests en cours d'analyse. Tous les étalonnages et les dilutions sont réalisés automatiquement, en augmentant la productivité du personnel pour les laboratoires effectuant des volumes modérés et des tests de coagulation spécialisés. Il répond aux exigences d'une grande variété de laboratoires de coagulation à travers le monde.



STA compact

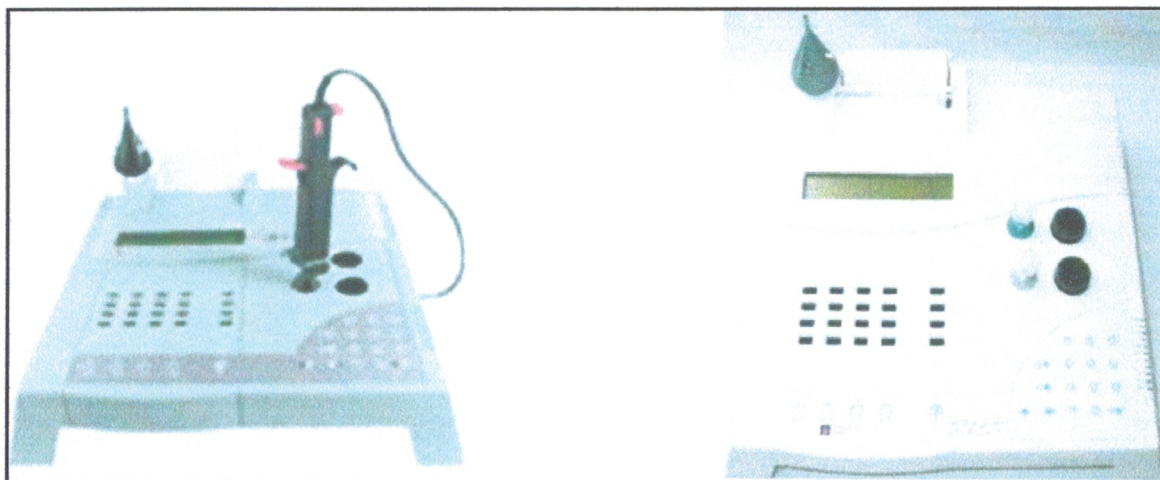
Annexe 03 : Start 4

Start est un analyseur de paillasse semi-automatique efficace, intégré avec méthode brevetée Stago de détection électromécanique du caillot (viscosité-based system detection) qui effectue des méthodes de coagulation, chromogènes et des dosages immunologique en mode d'accès aléatoire.

Cette méthode élimine les interférences lipidiques, ictériques ou d'autres échantillons ou réactifs optiquement denses.

L'analyseur offre des dosages programmables et préprogrammés avec stockage courbe, 4stations d'incubation indépendamment temporisés, relié électroniquement à pipette multiple, de 40 caractères d'affichage à cristaux liquides et une imprimante thermique interne.

Sa légèreté, sa taille compacte le rend idéal pour les tests à faible volume de charge moyenne ou en tant que soutien pour une systématisation de détection du caillot optique.



Start 4

Annexes

Annexe 04 : Comparaison avec la littérature

		Références	Nombre de patients	Moyenne d'âge	AT	PC	PS	RPCa	LA	APL
Notre étude			325	34,78	9,7	6,4	14,8	8,1	16,3	11,5
Italie	1987	56	95	<45	7,5	7,5	5	-	-	-
Allemagne de l'ouest	1988		141	<45	3	4	5	-	-	-
O CHAFAA	Alger 1993	19	93	<45	6,5	6,5	3,2	-	-	-
AILLAUD	Marseille 1995	57	-	-	-	-	-	9	-	-
K TAOULI	Alger 1996	56	66	<45	1,5	1,5	1,5	9,3	-	-
K TAOULI	Tlemcen 2004	61	60	32	-	-	-	-	23	-
M BORNES	Paris 2008	36	76	28	0	1,3	5,2	14	-	27,6
A NGUYEN	Paris 2009	62	64	28,5	0	9,4		1,6	-	21,9
V OLIE	Paris 2011	41	1023	57,9	3,2		14,4		-	-

المخلص

المقدمة: أهبة التخثر مرض متعدد الأسباب يتميز بتعرض المريض إلى جلطات دموية بشكل كبير قد تكون مميتة بالانسداد الرئوي. هدفنا دراسة مختلف الشدود البيولوجية المسببة لهذا المرض و العلاقة بينهما. تميزت السنوات الأخيرة بتطورات علمية كبيرة في المجال الطبي لكن بقي مرض الجلطات الدموية مستمرا و بشكل كبير خاصة الانسداد الرئوي اللذي يعتبر السبب الثالث للوفاة في البلدان الصناعية و من هنا جاءت الحاجة إلى البحث عن شذوذ البيولوجية المختلفة التي قد تفسر هذا المرض.

المواد و الأساليب : لقد قمنا بدراسة وصفية بأثر رجعي تمخضها تحليل 324 سجل أهبة التخثر التي اجريت على مستوى مخبر الهيموبولوجيا بمستشفى تلمسان الجامعي بين عامي 2009 و 2013.

النتائج: تم تحديد 58 شخص لديهم تخثر وريدي 33 تخثر الشرايين و 107 فقدان جنين. مختلف النسب فيما يتعلق بالنقص في *انتيتيرومبين* (9,7%) *بروتين سي* (6,4%) *بروتين إس* (14,8%) *مقاومة البروتين سي المنشط* (8,1%), متلازمة مضاد *الفوسفوليبيد* (11,5%). الدراسة أوضحت علاقة بين *مقاومة البروتين سي المنشط* و التخثر الوريدي ($p=0,002$) من جهة و فقدان الجنين من جهة أخرى ($p=0,012$) كذلك بنقص في البروتين إس و فقدان الجنين ($p=0,014$).

الاستنتاج: الدراسة التي قمنا بها جمعت مختلف أعراض المرض و مجموع الشدود البيولوجية. قد يكون من الأحسن متابعة الأبحاث بشكل خاص لإعطاء توضيحات دقيقة.

الكلمات المفتاحية: أهبة التخثر، تخثر وريدي، تخثر الشرايين، فقدان الجنين.

Résumé

Introduction: La thrombophilie est une pathologie multifactorielle caractérisée par une prédisposition aux thromboses potentiellement graves pouvant se compliquer vers des embolies pulmonaires fatales. Notre objectif étant d'étudier différentes anomalies biologiques à l'origine de cette pathologie, nous avons calculé les différentes prévalences et les corrélations correspondantes.

Patients et méthodes: C'est une étude descriptive rétrospective qui comporte 324 bilans de thrombophilie réalisés entre 2009 et 2013 au laboratoire hémobiologie du CHU Tlemcen.

Résultats: 58 patients présentent une thrombose veineuse, 33 thromboses artérielles et 107 pertes fœtales. Les différentes prévalences sont pour les déficits en inhibiteurs (antithrombine 9,7%, protéine C 6,4 %, protéine S 14,8%), la résistance à la protéine C activée (8,1%) et le syndrome des antiphospholipides (11,5%). L'étude a révélé une corrélation entre la résistance à la protéine C activée et la thrombose veineuse ($p=0,002$) d'une part et des pertes fœtales d'autre part ($p=0,012$). Ainsi que le déficit en protéine S avec les pertes fœtales ($p=0,014$).

Conclusion: L'étude que nous avons menée regroupe différentes pathologies thrombotiques et diverses anomalies biologiques, il serait judicieux de la compléter par des recherches plus ciblées afin d'apporter toutes les explications nécessaires.

Mots clés: Thrombophilie, Thrombose veineuse, Thrombose artérielle, Pertes fœtales.

Abstract

Introduction: The thrombophilie is a multifactoriel pathology characterized by a potentially serious predisposition to thromboses because of its ability to become complicated to a fatal pulmonary embolism. Our objective is to study various biological anomalies wish are in the origin of this pathology, we calculated various prevalences and the corresponding correlations.

Patients and methods: It is a retrospective descriptive study including 324 cases of thrombophilia realized between 2009 and 2013 at the laboratory of Hemobiology of CHU Tlemcen.

Results: 58 patients present a venous thrombosis, 33 arterial thromboses and 107 fetallosses. The different prevalences calculated for the deficits in inhibitors are (antithrombine 9.7%, protein C 6.4%, protein S 14.8%), resistance to the activated proteinC (8.1%) and the syndrome of the antiphospholipides (11.5%). The study has revealed a correlation between the resistance to the activated protein C and the venous thrombosis ($p=0,002$) on the one hand and of the fetallosses on the other hand ($p=0,012$), also that the deficit of the protein S is considered as a remarkable result of the fetallosses ($p=0,014$).

Conclusion: The study that we did gathers various thrombotic pathologies and various biological anomalies, it would be judicious to complete it by more targeted research in order to bring in all the necessary explanations.

Keywords: Thrombophilia, Venous thrombosis, Arterial thrombosis, Fetal losses.