

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB – BLIDA 1



FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

**DETERMINATION D'INTERVALLES DE REFERENCE
DU TQ, TCA ET DU FIBRINOGENE AU NIVEAU DU
LABORATOIRE DES URGENCES MEDICO-
CHIRURGICALES DU CHU FRANTZ FANON DE BLIDA**

Thèse d'exercice de fin d'étude

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie

Session : Juillet 2017

Présentée par :

- ABDELLATIF Younes
- BELKADI Amar
- BENLAKEHAL Abderahmane

Devant le jury :

- Dr.Hamel.H : Maitre assistante en Hémobiologie. CHU Blida. (Présidente)
- Dr.Bennouar. S :Maitre assistante en biochimie. CHU Blida. (Examinatrice 1)
- Dr.Ammour. W :Assistante en parasitologie. CHU Blida. (Examinatrice 2)
- Dr.Ammour. N : Assistante en Hémobiologie. CHU Blida. (Promotrice)

REMERCIEMENTS

Au terme de ce présent travail, nous tenons à exprimer nos remerciements :

*En premier lieu, nous remercions **DIEU** le tout puissant de nous avoir permis de mener à bien ce modeste travail.*

*Nous tenons d'abord à exprimer nos sincères remerciements à notre encadreur, Madame : **AMMOUR. N.** merci pour la qualité de votre encadrement, vos compétences scientifiques, mais aussi vos qualités humaines ont été des éléments précieux pour l'avancement de ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de toute notre reconnaissance et notre profond respect.*

*On désire remercier chaleureusement notre Chef de département Professeur **BELOUNI. R.**, et Dr **MAHFOUD.M.**, ainsi que toutes les personnes qui se sont rendues disponibles au cours de notre cursus.*

Nous adressons aussi nos vifs remerciements à tous les membres du jury à :

*Madame **HAMEL. H.** Vous nous faites l'honneur d'avoir bien voulu présider ce jury, cette occasion nous permet de vous présenter nos plus sincères remerciements pour la bienveillance que vous nous avez manifestée.*

*Un grand merci s'adresse à Madame **BENNOUAR. Set Mme AMMOUR. W.** Nous vous adressons nos plus vifs remerciements pour avoir accepté d'être nos examinatrices. Nous tenons également à profiter de l'occasion qui nous est offerte ici pour vous exprimer, notre profonde reconnaissance pour tout intérêt la bienveillance que vous témoignez à l'intérieur de ceux qui vous sollicitent.*

*Avec beaucoup de gratitude, on remercie **Mme HAMAIDI.Dj** pour sa générosité, sa simplicité et son accueil au niveau du laboratoire ainsi que le **Dr CHAIB** et toute l'équipe du CTS Blida et **Dr AMIMER. A** pour leur Collaboration.*

Que tous ceux qui ont contribué à l'enrichissement de ce travail, soient assurés de notre gratitude.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

A celui qui n'a jamais cessé de me soutenir, celui qui m'a guidé tout au long de ma vie, à mon pilier et ma plus grande source de fierté

A mon très cher père

A la plus belle créature que dieu a créée sur terre, à cette source de tendresse, de patience et de générosité

A ma très chère mère

A mes frères et mes sœurs avec tous mes vœux de bonheur, santé et de réussite

A mes deux collègues : Amar et Abderrahmane avec qui j'ai partagé les plus beaux moments.

A toute ma famille et tous mes amis pour leur soutien et leurs encouragements.

A tous ceux qui, par un mot ou un sourire, m'ont donné la force de continuer ...

YOUNES

DEDICACE

*Je dédie ce modeste travail réalisé grâce à Dieu le tout
puissant*

*A ma source de tendresse, l'être la plus chère dans le monde,
la femme la plus patiente, ma très chère mère*

A mes chers frères et sœurs et ma grande famille.

A Mes collègues : Younes et Abderrahmane

A tous mes amis et collègues

Hommage

*Ce travail est dédié à mon père, décédé, qui m'a toujours
poussé et motivé dans mes études. Cet humble geste est une
preuve de reconnaissance de la part d'un fils qui a toujours
prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant,
l'avoir en sa sainte miséricorde !*

*Que dieu vous préserve tous et vous procure sagesse et
bonheur...*

AMAR

DEDICACE

Que ce travail témoigne de mes respects :

A mes parents :

Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.

Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.

A mes frères à mes sœurs et toute ma famille

*A tous mes amis et mes collègues: **Younes, Amar***

A tous ceux ou celles qui me sont cher(e) et que j'ai omis involontairement de citer.

Abderrahmane

Table des matières

Table des matières.....	I
Liste des figures.....	VI
Liste des tableaux.....	VII
Liste des abréviations.....	VIII
<u>Première partie : étude bibliographique</u>	
I. Introduction.....	01
II. Rappel sur la coagulation plasmatique.....	02
II.1.Généralités sur l'hémostase.....	02
a. Hémostase primaire.....	02
b. Coagulation.....	03
c. Fibrinolyse.....	04
II.2 .La coagulation plasmatique.....	04
II.2 .1. Principaux acteurs de la coagulation.....	04
a. Activateurs de la coagulation	05
b. Le facteur tissulaire.....	05
c. Inhibiteurs de la coagulation.....	05
d. Les phospholipides.....	06
e. Le calcium.....	06
II.2 .2. Déroulement de la coagulation.....	06
a. Initiation de la coagulation par le facteur tissulaire	06
b. Formation de la thrombine et amplification du processus.....	07
c. Formation du caillot de fibrine.....	07
II.2.3. Régulation de la coagulation.....	08
III. Exploration de la coagulation plasmatique.....	09
III.1.Tests globaux.....	10

a. Temps de Quick.....	10
b. Temps de céphaline plus activateur.....	12
c. Fibrinogène.....	12
d. Le temps de thrombine.....	13
e. Le temps de reptilase.....	13
III.2. Tests spécifiques.....	14
a. Dosage des facteurs de la coagulation.....	14
b. Dosage des inhibiteurs de la coagulation.....	15
III.3. Indications d'un bilan de coagulation.....	15
IV. Variation des résultats.....	16
IV.1. Conditions pré-analytiques.....	16
IV.1.1.Le prélèvement.....	16
a. L'interrogatoire du patient.....	16
b. Les préconisations au patient.....	16
c. Le matériel de prélèvement.....	16
IV.1.2. Nature des tubes.....	17
IV.1.3. Nature et concentration de l'anticoagulant.....	17
IV.1.4.Le remplissage du tube citraté.....	18
IV.1.5. Ordre des tubes de prélèvement.....	18
IV.1.6.Acheminement des prélèvements.....	18
IV.1.7.La centrifugation.....	19
IV.1.8.La congélation/ décongélation.....	19
IV.2. Conditions analytiques.....	19
IV.2.1.Les techniques de mesure.....	19
a. Techniques manuelles.....	20
b. Techniques électromécaniques.....	20

c. Techniques optiques.....	20
d. Techniques fondées sur la viscoélasticité.....	21
IV.2.2.Les réactifs utilisés.....	21
a. Thromboplastine calcique.....	21
b. Réactif pour le TCA.....	24
c. La thrombine.....	27
IV.2.3.Matériels utilisés.....	29
V. Etablissement des intervalles de référence au laboratoire de biologie médicale.....	29
V.1. Nombre minimal des valeurs de référence pour établir un intervalle de référence...	30
a. Intervalle de référence fourni par un autre laboratoire ou par un fabricant.....	30
b. Changement de conditions pré analytiques ou analytiques.....	31
c. Nouvelle analyse ou nouvelle méthode d'analyse.....	31
V.2. Méthodes de calcul.....	31
a. La méthode non paramétrique.....	31
b. La méthode paramétrique.....	31

Deuxième partie : partie pratique.

I.Méthodologie.....	33
I.1. Sélection des sujets de la population de référence.....	33
I.2. Caractéristiques pré-analytiques.....	34
I.2.1. Le prélèvement.....	34
I.2.2. Le tube citraté.....	34
I.3. Caractéristiques analytiques.....	36
I.3.1.Matériels.....	36
a. Le coagulomètre.....	36
b. Autres matériels.....	37

I.3.2.Les réactifs.....	37
a. la néoplastine CL plus R Stago.....	37
b. C .K. Prest.....	38
c. fibri-prest R stago.....	38
d. Réactifs auxiliaires.....	39
I.3.3.Mode opératoire.....	41
a. Détermination du temps de quick (TQ).....	41
b. Détermination du TEMPS DE Céphaline – kaolin (TCK).....	43
c. Détermination du taux de fibrinogène selon la méthode de van Clauss.....	43
I.4. Traitement des données statistiques.....	46
II. Résultats	47
II.1. caractéristiques de la population de référence.....	47
II.1.1. Caractéristiques de la population étudiée selon l'âge.....	47
II.1.2. Caractéristiques de la population étudiée selon le sexe.....	48
II.2. Intervalles de référence.....	48
II.2.1.Intervalle de référence du Temps de quick en secondes.....	49
II.2.2Intervalle de référence du temps de céphaline –kaolin.....	51
II.2.3. Intervalle de référence du fibrinogène.....	52
II.3. Comparaison des intervalles de référence.....	54
II.3. 1. Avec les intervalles de référence fournis par le fabricant pour le même réactif.....	54
II.3. 2. Avec les intervalles des références fournis par les fabricants d'autres réactifs.	54
a. Temps de quick.....	54
b. Temps de céphaline kaolin.....	55
c. Fibrinogène.....	56

III. Discussion	56
III.1. Sélection des sujets de la population de référence.....	56
III.2. Les facteurs pré-analytiques.....	57
III.3. Les facteurs analytiques.....	57
III.4. Détermination des intervalles de référence.....	58
<u>Conclusion générale</u>	59
<u>Référence bibliographique</u>	61
<u>Annexes</u>	66
<u>Résumé</u>	72

Liste des figures

Partie théorique :

Numéro	Titre	Page
01	Les Étapes du temps plaquettaire	3
02	Les trois étapes de l'hémostase	4
03	Cascade des réactions conduisant à la production de thrombine et à la transformation de fibrinogène en fibrine	8
04	Régulation de la coagulation	9
05	Exploration in vitro de la coagulation. Le temps de céphaline activé (TCA) explore les facteurs de la voie endogène et de la voie commune ; le temps de Quick (TQ) explore le facteur VII activé par le facteur tissulaire et les facteurs de la voie commune.	10
06	droite de Thivolle	11

Partie pratique :

Numéro	Titre	Page
01	Poche de sang.	34
02	tube citraté vacutainer®.	35
03	Centrifugeuse.	35
04	Analyseur semi-automatique de paillasse stagostart®	36
05	courbe de thivolle.	42
06	courbe de fibrinogène.	45
07	Histogramme de la distribution de l'âge chez les 517 donneurs.	47
08	Distribution de la population selon le sexe	48
09	Histogramme de la distribution des valeurs de TQ chez les 517 donneurs.	49
10	Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution observée du temps de quick avec une loi normale.	49
11	Histogramme de la distribution des valeurs de TCK chez les 517 donneurs.	51
12	Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution observée du TCK avec une loi normale.	51
13	Histogramme de la distribution des valeurs de fibrinogène chez les 517 donneurs	52
14	Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution observée du Fibrinogène avec une loi normale	53

Liste des tableaux

Partie théorique :

Numéro	Titre	Page
01	Facteurs et protéines de la coagulation	6
02	Les valeurs normales des facteurs de coagulation	14
03	Les valeurs normales des inhibiteurs de la coagulation	15
04	Réactifs pour Temps de Quick	23
05	Réactivité de LA selon les réactifs	26
06	Réactifs disponibles sur le marché pour la mesure du temps de céphaline avec activateur	27
07	Réactifs disponibles pour le dosage du fibrinogène	28

Partie pratique :

Numéro	Titre	Page
1	le tableau d'étalonnage de courbe du Thivolle.	41
2	le tableau d'étalonnage de courbe du fibrinogène.	44
3	Caractéristiques de la population étudiée : âge	47
4	Caractéristiques de la population étudiée : sexe	48
5, 6,7	Résultats de l'analyse statistique des valeurs de temps de quick	50
8, 9,10	Résultats de l'analyse statistique des valeurs de TCK	52
11, 12,13	Résultats de l'analyse statistique des valeurs de fibrinogène	53
14	Tableau récapitulatif des résultats du TQ, TP, TCA, Fibrinogène.	54
15	Comparaison des intervalles de référence obtenus avec ceux fournis par le fabricant pour le même réactif :	54
16	Comparaison de l'intervalle de référence du TQ obtenu avec ceux fournis par les fabricants d'autres réactifs	54
17	Comparaison de l'intervalle de référence du TCK obtenu avec ceux fournis par les fabricants d'autres réactifs	55
18	Comparaison de l'intervalle de référence du fibrinogène obtenu avec ceux fournis par les fabricants d'autres réactifs	56

Liste des abréviations

TQ : Temps de Quick

TCA : Temps Céphaline – Activateur

UMC : Urgences Médico-Chirurgicales

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

VWF : Facteur Von Will brand

PDF : Produits de Dégradation de la Fibrine

KHPM : Kininogène de Haut Poids Moléculaire

F : Facteur

FT : Facteur Tissulaire

AT : Antithrombine

HCII : Cofacteur II de l'Héparine

EPCR : Récepteur Endothélial à la protéine C

TFPI: *tissue factor pathwayinhibitor*

PK:*Prékallikréine*

A α : alpha

B β : béta

γ : gamma

PCa : Protéine C activée

PS : Protéine S

PC : Protéine C

TM : thrombomoduline

GAGs :glycosaminoglycanes

ISO : Organisation Internationale de Standardisation

GEHT : Groupe d'Étude Hémostase et Thrombose

CTAD : Citrate, Théophylline, Adénosine, Dipyridamole

EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique

AVK : Anti Vitamine K

TP : Taux de Prothrombine

INR : International Normalized Ratio

ISI : Indice de Sensibilité International

TQM : Temps de Quick Malade

TQT : Temps de Quick Témoin

TCK: tempsde céphaline kaolin

TT : Temps de Thrombine

NFS : Numération-Formule Sanguine

TPA : Activateurs Tissulaire du Plasminogène

PAI : Inhibiteur de l'Activation du Plasminogène

TEG : Thromboélastogramme

PET : polyéthylène téréphtalate

CLSI : institut des standards cliniques et laboratoires

TEG:thromboélastographes

AC: Anti Corps

ACC : Anticoagulant Circulant

PL : phospholipides

APTT : Temps de Thromboplastine Partiel Activé

HNF : Héparine Non Fractionnée

PTT-LA : Partial Thromboplastin Time Lupus Anticoagulant

LA : Lupus Anticoagulant

Sec : secondes

ml : millilitres

g/l : gramme par litre

M : mol

Mg : milligramme

C° : degré Celsius

PH : potentiel d'hydrogène

CP : contrôle pathologique

CN : contrôle normal

µl : microlitres

Min : minutes

SPSS: Statistical Package for Social Sciences

m : moyenne

S : écart-type

Q-Q : quantile-quantile

Fib : fibrinogène

H/F : Homme /Femme

DNR : Donneur

Première partie

Etude bibliographique

I. Introduction

L'hémostase est l'ensemble des réactions physiologiques qui permettent l'arrêt du saignement et la prévention des hémorragies et des thromboses.

Le temps de quick (TQ), le temps de céphaline + activateur (TCA) et le dosage du fibrinogène sont trois tests de première intention en hémostase. Ils sont utilisés essentiellement dans quatre circonstances différentes : dans un bilan standard d'hémostase avant intervention chirurgicale, chez les patients avec manifestations hémorragiques personnelles et/ou familiales, congénitales ou acquises, chez des patients présentant une maladie connue susceptible d'entraîner des troubles de l'hémostase, enfin dans le cadre de la surveillance d'un traitement anticoagulant.

Ce sont des tests globaux ou semi-analytiques qui ont pour but essentiel de faire un tri, aussi efficace que possible, rapide et au moindre coût pour limiter les examens spécifiques longs, coûteux et complexes, qui ne sont donc habituellement réalisés que dans un deuxième temps si ce bilan se révèle anormal.

Avec les progrès technologiques, différents appareils, plusieurs méthodes et une panoplie de réactifs commerciaux sont disponibles pour effectuer ces tests de screening. Toutefois, les résultats sont influencés par les conditions pré-analytiques et analytiques et leur interprétation n'est envisageable qu'à condition de disposer des intervalles de référence pour ces analyses qui doivent être obtenus localement dans chaque laboratoire, afin de pallier aux mécanismes sous-jacents qui se répercutent sur leur qualité.

L'objectif de ce travail est de déterminer les intervalles de référence du temps de quick (TQ), temps de céphaline avec activateur (TCA) et du fibrinogène du laboratoire des Urgences Médico-Chirurgicales (UMC) du Centre Hospitalo-Universitaire de Blida (CHU Blida) et de les comparer aux intervalles de référence fournis par les fabricants.

II. Rappel sur la coagulation plasmatique:

II.1. Généralités sur l'hémostase :

L'hémostase est l'ensemble des mécanismes qui concourent à maintenir le sang à l'état fluide à l'intérieur des vaisseaux.

Le processus d'hémostase, qui vise donc à arrêter les hémorragies et empêcher les thromboses se déroule classiquement en trois temps :

- l'hémostase primaire qui ferme la brèche vasculaire par un "thrombus blanc" (clou plaquettaire),
- la coagulation qui consolide ce premier thrombus en formant un réseau de fibrine emprisonnant des globules rouges (thrombus rouge),
- la fibrinolyse, processus limitant, permettant la destruction des caillots, ou la limitation de leur extension.

Ces trois temps sont initiés simultanément.

a- Hémostase primaire :

L'hémostase primaire fait intervenir trois acteurs principaux : les vaisseaux et en particulier l'endothélium vasculaire, les plaquettes et le facteur VonWillebrand (VWF) ou facteur Willebrand. Le fibrinogène, à l'état de traces, est également nécessaire à l'hémostase primaire. [1]

Elle comprend deux temps :

- **Le temps vasculaire**

Dès qu'il ya une brèche vasculaire, la première réaction de l'organisme est une vasoconstriction localisée qui peut soit arrêter les hémorragies, soit au moins réduire le flux sanguin et modifier les conditions hémodynamiques, favorisant le processus d'hémostase. [2]

- **Temps plaquettaire**

Le bon déroulement de cette étape requiert l'intégralité des différentes fonctions Plaquettaires. Après la blessure vasculaire, les plaquettes viennent adhérer aux surfaces sous-endothéliales avant de sécréter leur contenu granulaire et d'agréger. L'adhésion est facilitée par la fixation du VWF plasmatique à la glycoprotéine Ib présente sur la membrane plaquettaire.

L'agrégation des plaquettes fait intervenir l'interaction entre le fibrinogène et le complexe glycoprotéique IIb/IIIa à la surface plaquettaire.

Simultanément, les plaquettes amplifient la génération de thrombine, en exposant des phospholipides anioniques membranaires, supports indispensables à l'activation des différents facteurs plasmatiques de la coagulation.

Les premières traces de thrombine transforment le fibrinogène soluble en fibrine insoluble contribuant à la formation des agrégats plaquettaires irréversibles. [1]

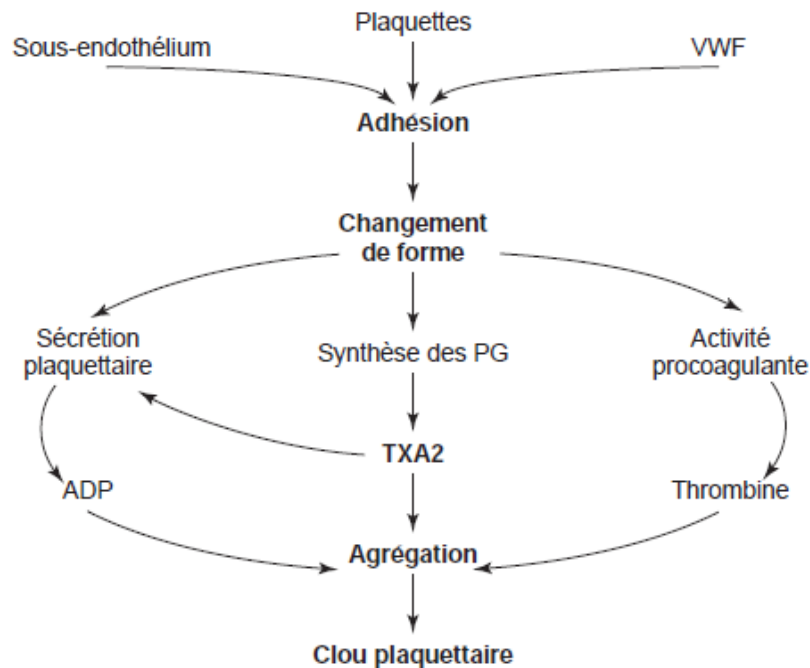


Figure 1 : Étapes du temps plaquettaire. [1]

b- Coagulation :

L'hémostase obtenue par le clou plaquettaire est fragile et temporaire, et doit être consolidée par la génération d'un réseau protéique qui réalise ainsi une hémostase permanente. Il s'agit du processus de coagulation du plasma sanguin aboutissant à la transformation du fibrinogène plasmatique circulant soluble en fibrine insoluble enserrant le clou plaquettaire par le biais d'une série de réactions enzymatiques dont le contrôle continu permet une restriction locale sans diffusion à distance de la zone lésionnelle.

Le processus central de la coagulation est la génération de la molécule de thrombine, enzyme clé de la coagulation, permettant la transformation du fibrinogène en fibrine et assurant la rétro activation et l'amplification des différentes étapes tant de la coagulation que de l'hémostase primaire. [2]

c- Fibrinolyse :

La fibrinolyse est un processus physiologique permettant la dissolution du caillot de fibrine. Elle est bâtie selon la même conception que le système de la coagulation comprenant des molécules à activité protéolytique, qui agissent sur un substrat, contrôlées par un système d'activateurs et d'inhibiteurs permettant une régulation physiologique très précise.

L'enzyme centrale de la fibrinolyse est la plasmine qui dérive d'un précurseur plasmatique inactif le plasminogène. La plasmine protéolyse le fibrinogène et la fibrine en divers fragments de tailles variables, identifiés comme les produits de dégradation de la fibrine, ou PDF, qui sont quantifiables dans le plasma. Le taux de PDF plasmatiques est ainsi un reflet de l'activité de la plasmine et donc de l'activation de la coagulation. [2]

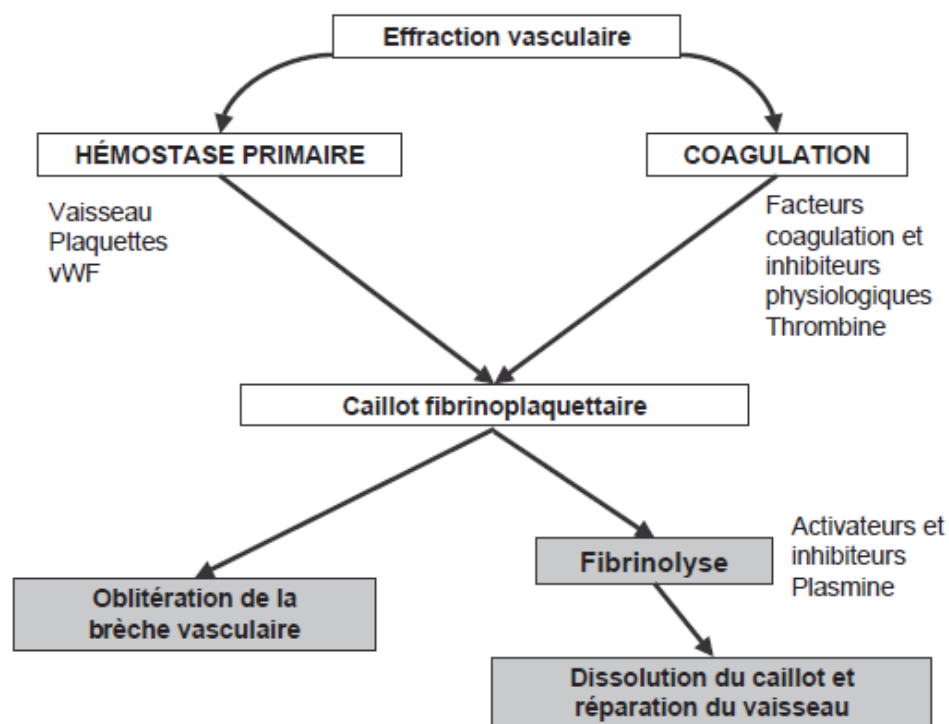


Figure 2 : Les trois étapes de l'hémostase. [1]

II.2. La coagulation plasmatique :

La coagulation plasmatique est la succession de réactions enzymatiques qui aboutissent à la formation du réseau de fibrine qui enserre l'amas de plaquettes fixées sur la brèche vasculaire.

II.2.1. Principaux acteurs de la coagulation :

Elles incluent les facteurs de coagulation et les inhibiteurs physiologiques de la coagulation. Une protéine membranaire présente dans la tunique externe du vaisseau, le facteur tissulaire,

est l'élément déclenchant le processus de coagulation quand une lésion vasculaire l'amène au contact du sang.

a- activateurs de la coagulation :

Les facteurs de la coagulation sont des protéines plasmatiques synthétisées au niveau du foie, participant au processus de la coagulation.

Ils sont au nombre de 12 facteurs, ont des noms qui leur sont propres, et sont pour la majorité désignés par des chiffres romains. Une fois activés, les facteurs de coagulation portent leur nom suivi du suffixe « a ».

Ils sont regroupés en différentes catégories, selon leurs structures et leurs fonctions :

- **1. Les zymogènes de sérine protéases** : enzymes protéolytiques.
Les F. II, VII, IX, et X d'une part, les F. XI, XII et la prékallikréine d'autre part, font partie de ce groupe
- **2. Le zymogène d'une transglutaminase** : le facteur XIII : enzyme établissant des liaisons covalentes entre deux protéines.
- **3. Les cofacteurs** : F.V, le F.VIII (facteur anti-hémophilique A) et le kininogène de haut poids moléculaire (KHPM) n'ont pas d'activité enzymatique mais jouent le rôle de cofacteur. Pour acquérir cette fonction, les F. V et VIII doivent être au préalable activés par protéolyse.
- **4. Le fibrinogène** est le substrat final des réactions de coagulation : protéine soluble, il est transformé en fibrine insoluble par la thrombine.

b- Le facteur tissulaire (FT) :

Une protéine membranaire, synthétisée de façon constitutive par les fibroblastes présents dans la tunique externe (adventice) des vaisseaux. Le FT est à la fois l'initiateur de l'activation de la coagulation sanguine et un vrai récepteur dont la fixation du facteur VII sur le FT et son activation déclenchent des signaux intracellulaires et des réponses qui participent au remodelage de la paroi vasculaire.

c- Inhibiteurs de la coagulation :

Les inhibiteurs physiologiques de la coagulation appartiennent à 3 familles :

- 1) Les inhibiteurs de sérine protéases ou serpins forment des complexes irréversibles avec leur(s) enzyme(s) cible(s). Elles incluent l'antithrombine (AT), le cofacteur II de l'héparine (HCII), et plus accessoirement l' α 1-antitrypsine et le C1-inhibiteur

- 2) Le système de la protéine C fait intervenir deux récepteurs membranaires (thrombomoduline et EPCR) et deux protéines plasmatiques, la protéine C (zymogène d'une sérine protéase) et la protéine S (son cofacteur). Il régule la coagulation par protéolyse.
- 3) Le *tissue factor pathway inhibitor* (TFPI) appartient à la famille des inhibiteurs de type Kunitz, c'est-à-dire des inhibiteurs qui se présentent comme de faux substrats vis-à-vis de leurs enzymes ciblées. Il se fixe aux glycosaminoglycanes de la paroi vasculaire. [3]

Tableau 1: facteurs et protéines de la coagulation. [2]

Facteur	Nom	Fonction	Lieu de synthèse	Vitamine K dépendance
Facteurs de la coagulation				
I	Fibrinogène	Substrat	Foie	
II	Prothrombine	Zymogène	Foie	+
V	Proaccéléline	Cofacteur	Foie	
VII	Proconvertine	Zymogène	Foie	+
VIII	Facteur antihémophilique A	Cofacteur	Foie	
IX	Facteur antihémophilique B	Zymogène	Foie	+
X	Facteur Stuart	Zymogène	Foie	+
XI	Facteur Rosenthal	Zymogène	Foie	
XII	Facteur Hageman	Zymogène	Foie	
XIII	Facteur stabilisant la fibrine	Zymogène	Foie	
	Facteur tissulaire	Récepteur VIIa	Multicellulaire	
Facteurs inhibiteurs				
	Antithrombine	Inhibiteur	Foie	
	Protéine C	Zymogène	Foie	+
	Protéine S	Cofacteur	Foie	+
	Thrombomoduline	Récepteur IIa	Cellule endothéliale	

d- Les phospholipides :

Les phospholipides constituent une surface catalytique pour l'activation enzymatique des facteurs de la coagulation. Ces phospholipides proviennent de deux sources principales, plaquettaire et tissulaire.

e- Le calcium :

Le calcium est nécessaire à toutes les étapes d'activation enzymatique de la coagulation excepte celle du facteur contact (facteur XII). [4]

II.2.2. Déroulement de la coagulation :

a. Initiation de la coagulation par le facteur tissulaire :

Lors d'une lésion vasculaire, le FT présent dans l'adventice fixe à la fois le F. VII et les traces de F. VIIa du sang circulant, avec auto activation immédiate du F. VII. Le complexe binaire

FT/VIIa active ensuite simultanément les F. IX et X fixés sur les surfaces membranaires, initiant ainsi la voie exogène de la coagulation.

b. Formation de la thrombine et amplification du processus :

Les F. IXa et Xa activent leurs substrats respectifs (F. X et F. II) à la surface des membranes des plaquettes activées. Au terme de cet enchaînement de réactions, les premières molécules de thrombine sont formées

La Thrombine amplifie immédiatement sa propre formation :

- elle stimule les plaquettes qui passent à proximité, provoquant le recrutement et l'activation de nouvelles plaquettes, et l'accroissement du thrombus plaquettaire avec une exposition plus grande de phospholipides acides membranaires, c'est-à-dire de surfaces catalytiques;
- elle active les cofacteurs VIII et V, leur permettant de remplir leur fonction : le F. VIIIa accélère l'activation du F. X par le F. IXa; le F. Va accélère l'activation du F. II par le F. Xa;
- elle active le F. XI, renforçant les réactions qui mènent à sa propre production;
- la thrombine peut aussi activer d'autres types cellulaires que les plaquettes, en particulier les leucocytes et les cellules vasculaires. Elle participe ainsi aux événements qui suivent une lésion vasculaire : réaction inflammatoire, remodelage vasculaire et cicatrisation.

Le facteur XI n'est pas seulement activé de façon rétroactive par la thrombine mais peut l'être par contact de protéines plasmatiques : le facteur XII, prékallikréine PK, Kininogène de Haut Poids Moléculaire KHPM avec le sous- endothélium, c'est la voie intrinsèque. La conséquence des événements est la suivante :

- le F. XII et le KHPM (et par son intermédiaire, la PK et le F. XI) se fixent au sous- endothélium,
- la PK est alors transformé en kallikréine par une protéase de la paroi vasculaire,
- la kallikréine active à son tour le F. XII qui lui-même active le F. XI,
- le F. XIIa amplifie le processus en activant de façon rétroactive la PK.

Le rôle de cette voie d'activation de la coagulation (appelée voie endogène) est mineur, et les déficits même sévères en F. XII, PK ou KHPM n'entraînent pas d'augmentation du risque hémorragique.

c. Formation du caillot de fibrine :

Lorsque la concentration de thrombine formée atteint un certain seuil, la thrombine convertit le fibrinogène soluble en fibrine insoluble. La fibrine forme une solide enveloppe autour de l'agrégat de plaquettes pour réaliser le caillot.

Le fibrinogène est constitué de 3 paires de chaînes A α , B β et γ . La thrombine clive l'extrémité N-terminale des chaînes A α et B β et sépare ainsi les fibrinopeptides A et B des monomères de fibrine. Les nouvelles séquences N-terminales des chaînes α et β des monomères de fibrine s'apparient avec des séquences complémentaires sur les chaînes γ et β d'un monomère voisin : un polymère instable de fibrine se forme. Il va être stabilisé par le F. XIIIa. L'activation du F. XIII est réalisée par la thrombine et régulée par la présence de calcium et de fibrine qui sert de cofacteur. [3]

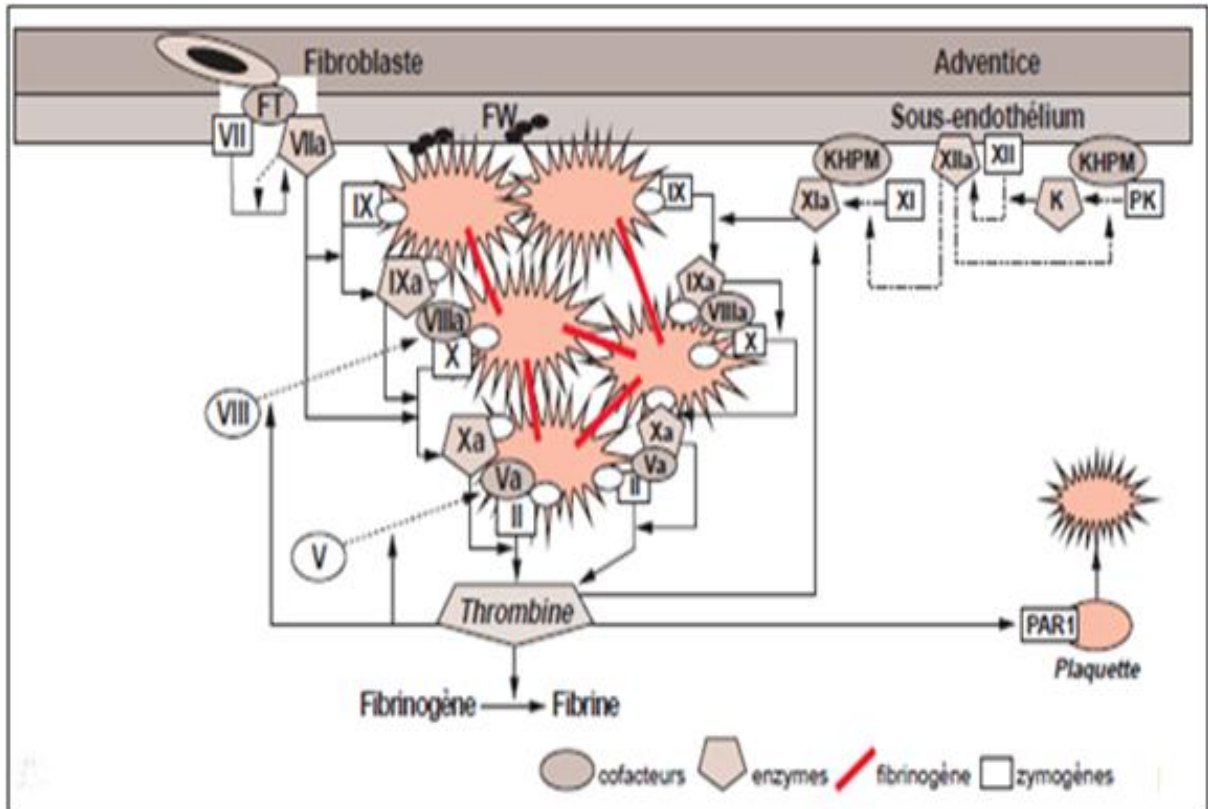


Figure 3 : Cascade des réactions conduisant à la production de thrombine et à la transformation de fibrinogène en fibrine.[5]

II.2.3. Régulation de la coagulation :

L'extension des réactions de l'hémostase à distance de la brèche vasculaire est limitée, d'une part, par le flux sanguin, qui permet la dilution des enzymes de la coagulation, d'autre part, par différents systèmes d'inhibiteurs physiologiques, qui sont tous sous le contrôle de la cellule endothéliale, et par la consommation des plaquettes et des facteurs de la coagulation par le processus de coagulation.

La coagulation est régulée par 3 principaux systèmes :

1. L'antithrombine (AT) se fixe aux héparane-sulfates de la paroi vasculaire et inhibe la thrombine, les F. Xa, IXa, XIa et XIIa lorsqu'ils diffusent à distance de l'amas plaquettaire. Elle forme avec ces enzymes des complexes irréversibles.
2. La protéine C activée (PCa), à l'aide de son cofacteur : la protéine S (PS) exerce son effet anticoagulant en inactivant par protéolyse les cofacteurs Va et VIIIa. L'activation de la Protéine C (PC) est régulé par la thrombomoduline (TM) : ce récepteur fixe la thrombine (IIa) et la transforme en activateur de la PC; un 2eme récepteur, l'EPCR, fixe la PC et accélère son activation par le complexe IIa-TM.
3. La voie du facteur tissulaire est régulée par le TFPI. Le TFPI fixé sur les glycosaminoglycanes (GAGs) de la paroi vasculaire forme un premier complexe avec le facteur Xa. Il se forme ensuite un complexe quaternaire Xa -TFPI-VIIIa- FT qui inhibe le facteur VIIa et bloque l'activité du facteur tissulaire. [3]

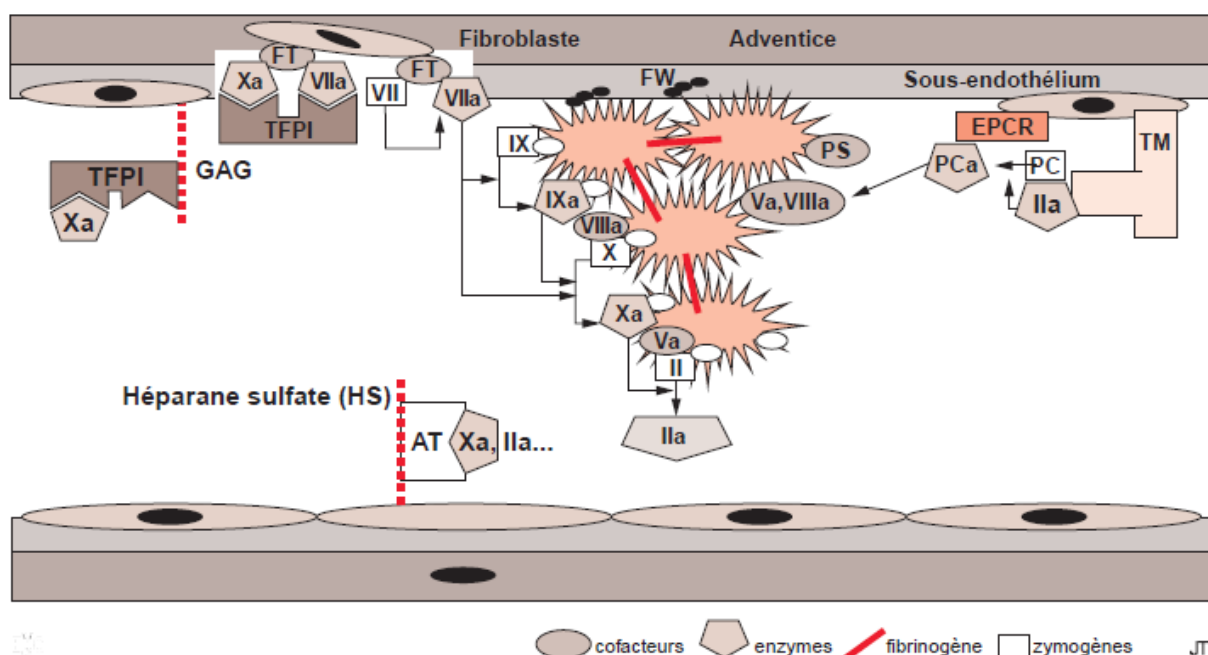


Figure 4 : Régulation de la coagulation. [5]

III. Exploration de la coagulation plasmatique

Le TCA et le temps de Quick (TQ) sont les deux tests de dépistage universellement utilisés pour explorer les différentes phases de la coagulation auxquels s'ajoute le dosage du fibrinogène plasmatique lorsqu'il ya lieu. Le dosage spécifique des facteurs de la coagulation, à la recherche d'un déficit isolé, est effectué en fonction des résultats des tests précédents.

Le TCA et le TQ explorent chacun la voie d'activation de la coagulation qui lui est spécifique. Le TCA explore donc la voie dite endogène et le TQ la voie extrinsèque, tous deux impliquant par ailleurs le tronc commun terminal (Fig.). [2]

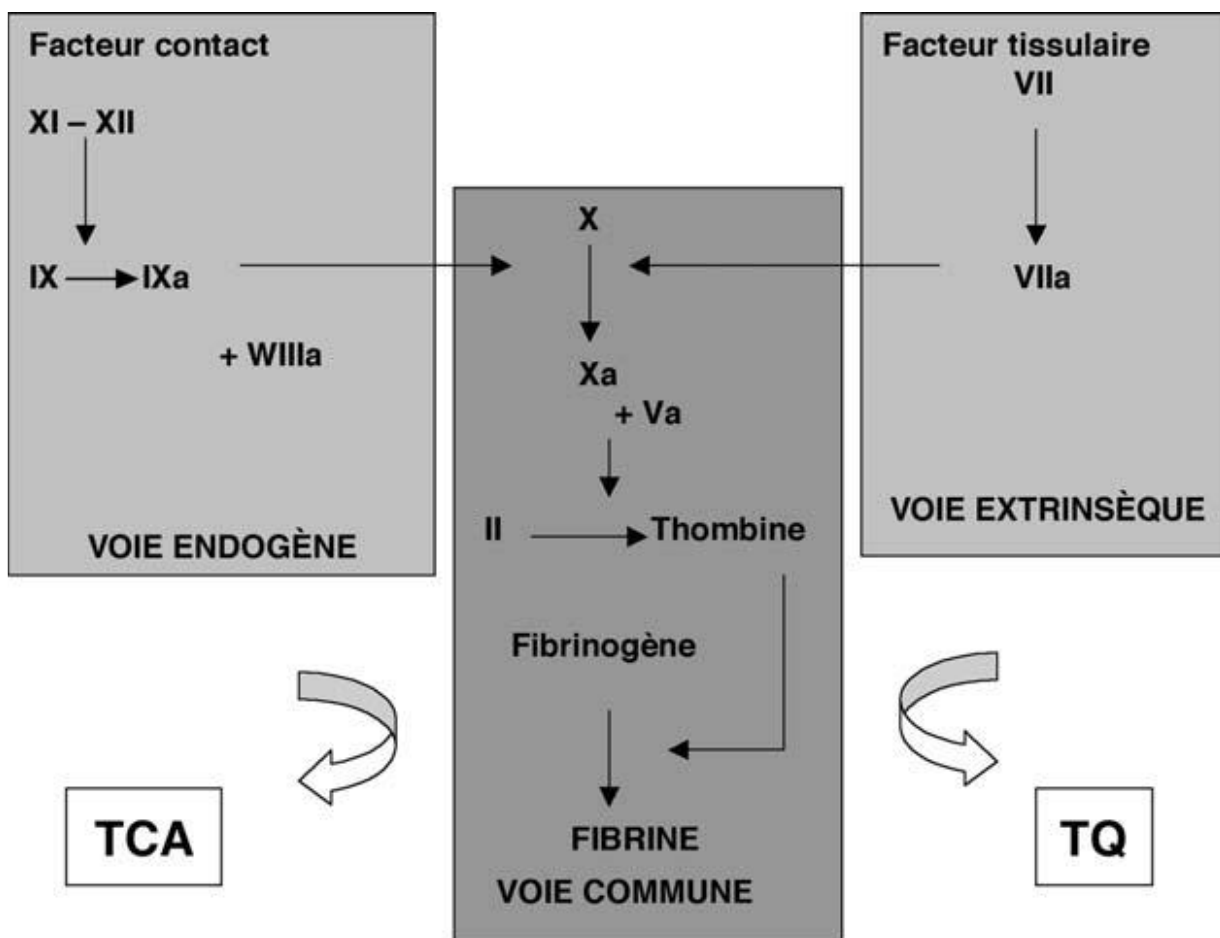


Figure 5 : Exploration in vitro de la coagulation. Le temps de céphaline activé (TCA) explore les facteurs de la voie endogène et de la voie commune, le temps de Quick (TQ) explore le facteur VII activé par le facteur tissulaire et les facteurs de la voie commune. [2]

III.1. Tests globaux :

Ce sont des tests chronométriques qui mesurent le temps nécessaire à un plasma pauvre en plaquette, obtenu après centrifugation du sang total prélevé sur l'anticoagulant citrate de sodium, de former un caillot en présence de réactifs spécifiques.

a. Temps de Quick TQ :

Le temps de Quick correspond au temps de coagulation d'un plasma citraté, décalcifié et déplaqueté, en présence de thromboplastine source de facteur tissulaire et de calcium. [2]

Intérêt :

Il explore le déficit congénital ou acquis en facteur de la voie extrinsèque et donc le facteur VII et des facteurs de la voie commune.

Il évalue l'insuffisance hépato-cellulaire. [6]

Il permet la surveillance des traitements anti vitamines K (AVK). [2]

Résultat :

Les résultats sont exprimés :

-Soit en secondes par rapport à un témoin: temps de Quick (TQ), (12 à 14 sec). [7]

-Soit en pourcentage du taux de prothrombine (TP) par rapport à la courbe d'étalonnage.

Cette «conversion» se fait grâce à une droite dite de « Thivolle».

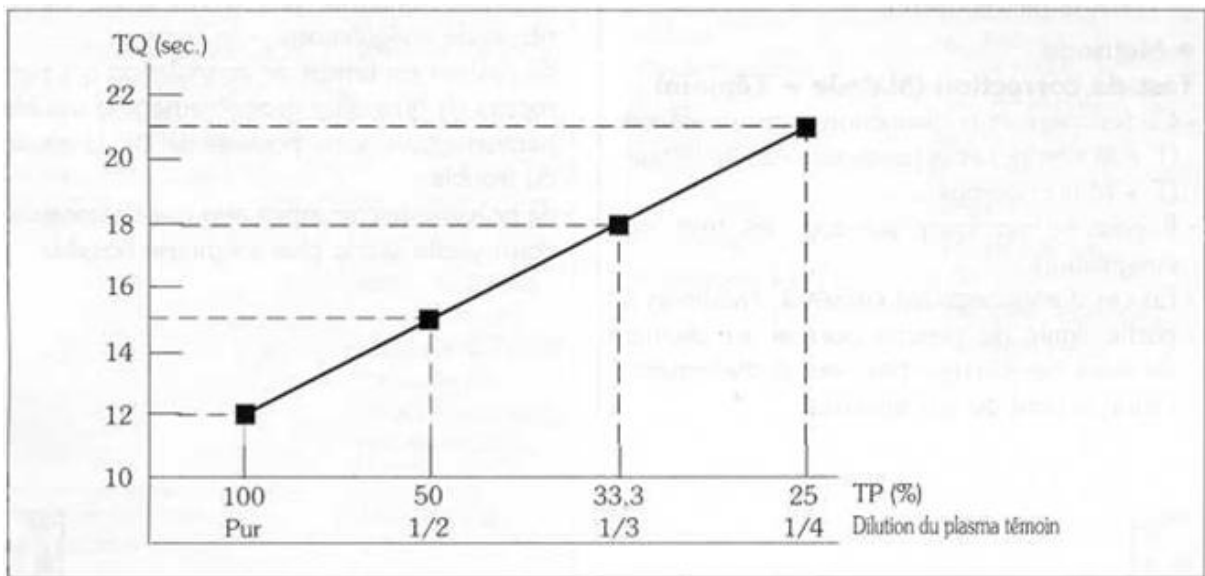


Figure 6 : Droite de Thivolle. [6]

-Soit en INR (International Normalized Ratio)

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

ISI : Indice de sensibilité internationale variable selon le réactif utilisé.

L'INR est le mode d'expression standardisée du temps de quick pour le suivi des patients traités par anti vitamines K (AVK) exclusivement afin de remédier aux variations dues aux différentes thromboplastines utilisées par les laboratoires d'analyses. [8]

Valeurs normales :

Temps de Quick (TQ) normal : 12-15 secondes. [2]

Le TQ du patient ne doit pas être supérieur à 2 secondes par rapport au témoin. [1]

Un rapport TQM/TQT > 1.2 est pathologique.

Taux de prothrombine (TP) : 70-100% chez l'adulte. Les valeurs supérieures à 100% n'ont pas de significations cliniques contrairement aux valeurs inférieures à 70% qui sont considérées comme pathologiques.

INR : l'INR cible est la valeur d'INR à atteindre pour une meilleur d'efficacité d'un traitement anti-vitaminique K. La zone thérapeutique dépend de la maladie pour laquelle le traitement est prescrit. Pour la plupart des indications, elle se situe entre 2 et 3. [9]

b. Temps de céphaline plus activateur TCA :

Principe :

C'est le temps de coagulation d'un plasma déplaqueté recalcifié en présence de phospholipides et d'un activateur du système contact de la coagulation. La céphaline, qui est un phospholipide, assure l'activation du facteur XII et facteur XI de la coagulation; l'activateur peut-être particulaire (célite, kaolin, silice) ou soluble (acide ellagique).

L'activateur le plus souvent employé est le kaolin : on parle alors de temps de céphaline-kaolin (TCK). [7]

Intérêt :

- Le TCA explore l'activité des facteurs de la voie endogène de la coagulation VIII, IX, XII, XI, et à moindre degré les déficits de la voie commune X, V, II et le fibrinogène.
- il explore aussi la prékalliréine (PK), le Kininogène de Haut Poids Moléculaire (KHMP),
- Il est utilisé également pour la surveillance du traitement héparinique.
- il permet de rechercher un anticoagulant circulant antiprothrombinase ou antifacteur. [2]

Résultat :

En pratique, le TCA du malade (M) est rendu en secondes par rapport à un témoin (T)
Pour une meilleure interprétation du TCA, on calcule le rapport TCA malade/ TCA témoin.

Valeurs normales :

Les valeurs normales se situent entre 24-41 secondes en fonction du réactif (des activateurs de la céphaline utilisés et de l'instrument par chaque laboratoire).

On considère qu'un TCA est pathologique pour une valeur supérieure de 6 à 10 secondes au-dessus du témoin. [2]

Le rapport TCA malade/ TCA témoin doit être inférieur à 1,2. [7]

c. Fibrinogène :

Principe :

La mesure est effectuée par méthode fonctionnelle chromométrique de van Clauss basée sur la mesure du temps de thrombine (TT). En présence d'un excès de thrombine, le temps de coagulation d'un plasma dilué est proportionnel au taux de fibrinogène plasmatique.

Il s'agit d'un dosage adapté sur tous les automates d'hémostase.

Il peut également être réalisé manuellement. [1]

Intérêt :

Rechercher un déficit en fibrinogène

Confirmer un syndrome inflammatoire

Rechercher une insuffisance hépatique (entraînant une diminution du taux de fibrinogène)

Surveillance d'un traitement dit fibrinolytique, destiné à dissoudre un caillot sanguin en cas de thrombose. [10]

Résultat :

Quelle que soit la technique utilisée, le taux de fibrinogène est habituellement exprimé en g/L.

Valeurs normales :

Les valeurs normales étant comprises entre 2 et 4 g/L.

Le taux minimum pour assurer l'hémostase est de 0,5 à 1 g/L. [11]

d. Le temps de thrombine :

Principe :

C'est le temps de coagulation du plasma citraté en présence de thrombine. Il explore les deux premières étapes de la fibrinoformation : action protéolytique de la thrombine et polymérisation, mais est indépendant du facteur XIII (facteur de stabilisation de la fibrine).

Il est sensible à l'héparine, à l'hirudine et aux inhibiteurs de synthèse anti-thrombiniques.

Résultat :

Les résultats sont exprimés en secondes par rapport au témoin. [7]

Valeurs normales :

Les valeurs usuelles sont de 14 à 21 secondes

Le temps est pathologique lorsqu'il est allongé de 3 secondes par rapport au témoin. [10]

e. Le temps de reptilase :

C'est le temps de coagulation du plasma citraté en présence de reptilase. Il est insensible à l'héparine et permet donc, s'il est normal, d'éliminer la présence d'héparine lorsque le temps de

thrombine est allongé. Il est par ailleurs utile au diagnostic des dysfibrinogénémies et des hypofibrinogénémies au cours desquelles il s'allonge. Il est également allongé en présence de produits de dégradation du fibrinogène et de la fibrine en cas de coagulation intra-vasculaire disséminée. [7]

III.2. Tests spécifiques :

a- Dosage des facteurs de la coagulation :

Les dosages des facteurs de coagulation ne sont effectués que lorsque les tests de dépistage (TCA ou TQ) sont anormaux. Tous les facteurs de coagulation peuvent être dosés individuellement. Le dosage est basé sur le pouvoir de correction par le plasma à tester du temps de coagulation d'un plasma dépourvu électivement du facteur de coagulation à mesurer. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la normale ou en UI/ml. [12]

Tableau 2 : les valeurs normales des facteurs de coagulation. [13] [14]

Facteur	Valeurs de référence
I	2 - 4 g/l
II	70-140%
V	70 -140 %
VII	70 -120%
VIII, IX	70 -120%
X	70-150%
XI	70 -120%
XII	52 -160 %
XIII	50 -140%
Pk	50 -150 %
KHPM	70-120 %

Interprétation :

- Une diminution (taux < 70 %) de tous ou plusieurs facteurs du complexe prothrombinique évoque une atteinte hépatique ou un syndrome de défibrination sévère.
- Une diminution des facteurs VII, X et II sans diminution du facteur V évoque une avitaminose K:(traitement AVK, malabsorption...).
- Un déficit acquis plus marqué du facteur V est observé en présence d'une splénomégalie ou d'une coagulopathie de consommation.

- Un déficit isolé en facteur X, en dehors d'une affection congénitale, évoque une amylose.
- Une diminution isolée de l'un des facteurs peut être constitutionnelle. [10]

b- Dosage des inhibiteurs de la coagulation :

L'exploration des systèmes de régulation de la coagulation est nécessaire pour dépister des facteurs de risque de thrombose. Il n'existe actuellement pas de test satisfaisant permettant d'apprécier de façon globale le fonctionnement des inhibiteurs de la coagulation (équivalent du TQ et du TCA pour l'exploration des facteurs de la coagulation) et chaque protéine plasmatique doit être dosée séparément : antithrombine, protéine C, protéine S, etc. Dans un premier temps, seul le dosage fonctionnel est réalisé. S'il est anormal, le dosage antigénique doit être fait de façon à déterminer si l'anomalie est quantitative ou qualitative. [12]

Tableau 3 : Les valeurs normales des inhibiteurs de la coagulation. [10] [14]

Inhibiteurs	Valeurs normales %
Antithrombine	80-120 %
Protéine C	70-130%
Protéine S	65-130%
TFPI	70-130%

III.3. Indications d'un bilan de coagulation :

- Une exploration de la coagulation, très souvent associée à une numération-formule sanguine (NFS) peut être demandée par le médecin dans diverses situations.
- Un bilan d'hémostase préopératoire permet également d'évaluer un risque hémorragique avant une intervention chirurgicale
- Un bilan de coagulation est requis avant la mise en route d'un traitement anticoagulant
- Il est prescrit pour la surveillance du traitement par AVK ou héparine, afin de dépister un risque hémorragique ou l'inefficacité thérapeutique.
- Un syndrome hémorragique doit faire l'objet d'une exploration dans le but de rechercher une anomalie de l'hémostase.
- Un bilan d'un syndrome thrombotique est effectué en cas d'antécédents thromboemboliques veineux personnel ou familial. [9]

IV. Variation des résultats:

La fiabilité des analyses en hémostase dépend étroitement des conditions pré analytiques et analytiques qui influencent largement sur :

- les normes des différents paramètres qui peuvent présenter des variations d'un laboratoire à un autre.
- la qualité des résultats des tests.
- l'interprétation finale. [15]

IV.1. Conditions pré-analytiques :

La phase pré analytique comprend différentes opérations qui vont du prélèvement jusqu'à l'analyse de l'échantillon dans le laboratoire. Cette phase est sous la responsabilité du biologiste qui doit mettre en place les procédures nécessaires à sa réalisation et sensibiliser le milieu médical et paramédical environnant sur l'importance capitale du respect des conditions pré analytiques et les facteurs d'influences et d'erreurs les plus importants qui conditionnent la fiabilité des résultats du laboratoire. [16] [17]

Les recommandations du GEHT (Groupe d'études sur l'hémostase et la thrombose) fixent un certain nombre de points sur cette phase pré-analytique. [18]

IV.1.1. Le prélèvement :

a. L'interrogatoire du patient :

Il s'agit d'un élément essentiel qui doit être conduit avant la ponction. Tous les facteurs pouvant influencé le résultat biologique doivent être précisés : sexe, âge, pathologie connue, prise médicamenteuse, éventuelle grossesse en cours... . [7]

b. Les préconisations au patient :

Les conditions idéales requièrent un patient au repos depuis plus de 15 minutes, le matin à jeun, voire après un petit déjeuner léger sans matière grasse. La caféine, le tabac sont déconseillés. L'émotion, l'exercice physique, le stress provoquent une élévation des globules blancs par démarginalisation et une augmentation également des plaquettes (mais inférieure à 600 000) qui peuvent entrainer des modifications notables de l'hémostase. [10] [18]

c. Le matériel de prélèvement :

Le prélèvement sera préférentiellement effectué au pli du coude, par ponction franche, garrot peu serré (moins d'une minute), afin d'éviter une stase prolongée et une activation de la coagulation. [10]

Le matériel de prélèvement recommandé par le groupe GEHT doit être Polymère inerte, stérile, apyrogène. L'utilisation d'une seringue en verre comme matériel de recueil est contre indiquée dans les prélèvements pour hémostase. Le prélèvement sur cathéter est parfois inévitable plusieurs évaluations ont été faites pour en apprécier la validité. [19]

Le diamètre d'aiguille est préférentiellement de 1 à 0,7 mm (22 à 19 G). [6]

Pour les patients avec des veines difficiles et pour les enfants, les aiguilles à ailettes type "épicrâniennes" sont utilisables à condition que la tubulure soit courte (longueur inférieure à 6 cm et volume mort inférieur à 150 µL). [18]

IV.1.2. Nature des tubes :

Le tube destiné aux prélèvements d'hémostase sera sous vide, en verre siliconé ou PET (polyéthylène téréphtalate) "étanchéifié".

En outre, on vérifiera toujours que la date de péremption du tube n'est pas dépassée. [7]

IV.1.3. Nature et concentration de l'anticoagulant :

- L'anticoagulant de référence préconisé et utilisé habituellement pour les examens d'hémostase est le citrate de sodium. [10]

Son action anticoagulante repose sur la chélation du calcium ionisé plasmatique avec lequel il forme un complexe diffusible. Le calcium ionisé est indispensable à la cascade de la coagulation. [20]

L'anticoagulant citrate de sodium existe sous deux concentrations : 3,2% (0,109 M) et 3,8% (0,129 M). Actuellement, le GEHT et les recommandations américaines sont en faveur de l'utilisation de la concentration la plus faible 0.109 M (3.2 %). [10]

Le citrate à 0.129 M (3.8%) est encore proposé par certains fabricants .Il vaudrait mieux ne pas l'utiliser .en effet la concentration de citrate influence la détermination de l'ISI des thromboplastines en plus des fabricants calibrent les thromboplastines avec des plasmas obtenus à partir de sang prélevé sur citrate 0.109 M .la concentration initiale du citrate affecte peu les résultats des tests de coagulation des sujets normaux ; en revanche une concentration élevée allonge de façon variable selon les réactifs ,les temps de coagulation des patients sous anticoagulants (héparine ou AVK). [21]

-Dans certains cas, il est recommandé le mélange CTAD (citrate, théophylline, adénosine, dipyridamole) pour l'étude des fonctions plaquettaires et pour le suivi des traitements par les héparines. [10]

Les autres anticoagulants (EDTA, héparine) ne sont pas recommandés pour les tests d'hémostase. [22]

La valeur de référence à déterminer est valable pour un seul type de tube. [23]

IV.1.4. Le remplissage du tube citraté :

Pour respecter la dilution finale, le tube doit être rempli en respectant le rapport 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang total. Un remplissage inférieur à 80 % modifie significativement les résultats des tests et doit faire refuser l'échantillon. [18]

En outre, il est sous la dépendance de l'hématocrite du patient. En pratique, le volume d'anticoagulant doit être adapté si l'hématocrite est très éloigné des valeurs habituelles (< 35 % ou > 55 %).

IV.1.5. Ordre des tubes de prélèvement :

En cas d'exploration isolée de l'hémostase, il est préférable de rejeter les premiers millilitres de sang pour éviter une contamination par la thromboplastine tissulaire. Si plusieurs tubes sont prélevés, il est recommandé de prélever le tube d'hémostase en seconde position. Il doit alors, dans la mesure du possible, être prélevé après un tube sec et non pas après un tube contenant un anticoagulant puissant type EDTA ou héparinate de lithium, ni même un tube sec contenant un gel.

Le tube prélevé sera agité avec précaution par 4 ou 5 retournements lents. L'heure du Prélèvement sera noté. [10]

IV.1.6. Acheminement des prélèvements :

Si les échantillons doivent être transportés jusqu'au laboratoire, ils doivent l'être en position verticale sans agitation afin d'éviter au maximum le contact du sang avec le bouchon (qui doit être inerte), à température ambiante maîtrisée. [24]

Une température inférieure à 10°C entraîne une activation du FVII, une activation des plaquettes et risque de formation d'un cryoprécipité, et une température supérieure à 25°C entraîne la dégradation du FVIII, PS. Un délai maximum de 4 h pour un bilan standard d'hémostase est accepté. Au-delà les tubes doivent être centrifugés, les plasmas décantés et congelés à -20°C pendant 3 mois et jusqu'à 6 mois à -70°C. [22] sinon les analyses peuvent donner des résultats d'interprétation difficile. [18]

IV.1.7.La centrifugation :

La centrifugation doit se faire au moins à 1500g pendant 15 minutes sans frein à 15-21°C selon les normes de CLSI afin d'obtenir du plasma pauvre en plaquette (taux de plaquette résiduel doit être inférieur à 10 G/L. Une centrifugation rapide à 4400 g pendant 2 minutes est validée seulement si l'analyse est faite immédiatement après centrifugation. Si l'analyse est différée, le plasma doit être congelé après une double centrifugation.

IV.1.8.La congélation/ décongélation :

Toute congélation est faite sous faible volume (500 à 1 200 µL) dans des tubes en matériau non mouillable et à bouchons à vis, le plus rapidement à -70 °C pendant 06 mois et à - 20 °C pendant 03 mois.

La décongélation doit également être rapide au bain-marie à 37 °C, et non à température ambiante sur la paillasse ou au four micro-onde.

Le plasma est décongelé est homogénéisé et le test réalisé immédiatement après. La recongélation est contre-indiquée. [22]

IV.2. Conditions analytiques :

IV.2.1. Les techniques de mesure :

Les examens chronométriques, les plus souvent utilisés, consistent à mesurer le temps de coagulation du sang in vitro, après addition d'inducteurs. Ces tests peuvent mesurer l'ensemble d'une étape de la coagulation, ou être spécifiques d'un facteur de coagulation donné.

La technique manuelle fondée sur l'agitation de tubes en verre a progressivement disparu au profit de méthodes de détection sophistiquées dont le but est d'éliminer ou de diminuer au maximum les causes d'erreurs liées à l'opérateur.

Les techniques utilisables pour détecter la formation du caillot sont fondées sur sa détection visuelle, électromécanique, viscoélastique, ou optique. Un nombre toujours croissant d'appareils met en œuvre un ou plusieurs de ces principes.

Il est important d'avoir à l'esprit que si le point final est le plus souvent la formation d'un caillot, les appareils diffèrent quant au moment où ce point est déterminé. Il est donc important de connaître le principe de chaque appareil avant de comparer les résultats obtenus sur plusieurs appareils. Aussi, chaque laboratoire doit-il impérativement déterminer les zones normales pour son propre système « instrument-réactif ».

a. Techniques manuelles :

Il est nécessaire de disposer d'un bain-marie thermostaté, de tubes, d'un système de pipetage, d'un chronomètre et surtout d'un technicien, son expérience et ses yeux. Le point final de la réaction (la formation du caillot) est déterminé visuellement en agitant délicatement le tube, ou en utilisant un crochet pour enlever les filaments de fibrine. De nombreux paramètres sont difficiles à contrôler, en particulier l'appréciation du moment correspondant à la formation du caillot.

b. Techniques électromécaniques :

Ces techniques sont fondées sur la détection d'une augmentation de la viscosité du plasma lors de la formation de filaments de fibrine qui réalisent un petit circuit électrique entre deux électrodes et arrêtent le chronomètre. Le mélange des réactifs et du spécimen ainsi que l'agitation du mélange sont assurés par des sondes, des barreaux aimantés, des billes, ou tous autres moyens. La détection du caillot est généralement plus précoce et plus précise qu'avec les techniques manuelles. Ces méthodes électromécaniques supplantent les yeux du technicien pour la détection du caillot ;

La détection du caillot peut reposer sur trois principes différents

- 1- La modification d'impédance dont le prototype est le Fibromètre (bioMérieux): la tête de détection comprend deux électrodes une fixe et une mobile; l'apparition de filaments de fibrine arrête le chronomètre qui avait été mis en marche par l'addition du réactif déclenchant;
- 2- La lame vibrante en matière plastique soumise à des vibrations qui cessent quand le caillot se forme;
- 3- Les billes métalliques dont le mouvement est modifié par la formation du caillot; il existe plusieurs variantes selon que la bille soit animée d'un mouvement rotatoire régulier grâce à un champ magnétique (exemple: série des KC, Amelung), soit animée d'un mouvement pendulaire régulier dû à un champ magnétique variable (série des STA, Stago), soit immobile grâce à la simple gravité (série des Coagtester).

c. Techniques optiques :

Ces techniques ont pour principe la dispersion de la lumière, sa réflexion ou son absorption après la conversion du fibrinogène en fibrine. La lumière, produite par une source monochromatique, traverse le mélange réactionnel et est captée par un détecteur optique. La lumière transmise diminue quand le caillot se forme, réduisant donc la quantité de lumière arrivée au détecteur. Le photodétecteur génère un signal qui est analysé grâce à des algorithmes spécifiques déterminant le point final de la réaction de coagulation.

Un chronomètre, déclenché par l'addition du dernier réactif, détermine le temps entre le début et la fin de la coagulation ainsi détectée. Les méthodes photo-optiques ne détectent plus la résistance du caillot de fibrine formé mais un phénomène physique habituellement associé dans le tube ou la cupule à l'apparition d'une fibrine normale.

Elles permettent en outre de contrôler la cinétique d'apparition des caillots mais posent des problèmes pour les plasmas lipémiques. Elles n'évaluent pas la qualité mécanique de la fibrine formée.

d. Techniques fondées sur la viscoélasticité :

La particularité des thromboélastographes (TEG) est de permettre le suivi en continu de la formation du caillot du début de sa formation jusqu'à la lyse complète si nécessaire. La formation du caillot est détectée par des sondes suspendues dans le plasma.

Les changements de viscosité du milieu et de son élasticité, qui surviennent au cours de la coagulation et de la fibrinolyse, sont transmis à un enregistreur graphique. [25]

IV.2.2. Les réactifs utilisés :

a. Thromboplastine calcique :

Réactif utilisé pour mesurer le temps quick (TQ) : La thromboplastine contient un excès de facteur tissulaire qui vient activer le facteur VII, ainsi que du calcium, et des phospholipides. [26]

Le réactif contient en plus du polybrène (inhibiteur de l'héparine), ce qui explique que le TQ n'est pas allongé par un traitement par héparine aux doses pharmacologiques. [27] Plusieurs thromboplastines commerciales existent, elles diffèrent par la composition en facteur tissulaire et en phospholipides anioniques qui influence considérablement les valeurs des TQ et des ISI. [23]

• **Facteur Tissulaire (FT) :**

Responsable du déclenchement de la coagulation, Selon l'origine et la concentration du facteur tissulaire, on distingue :

- la thromboplastine d'origine bovine : THROMBOTEST (STAGO)
- thromboplastine humaine (placenta) : THROMBOREL S (SIEMENS)
- thromboplastine d'origine lapine: NEOPLASTINE CI+ (STAGO) c'est une thromboplastine précalibrée lyophilisée, préparée à partir de tissu cérébral frais de lapin
- thromboplastine humaine recombinante : INNOVIN (SIEMENS), RECOMBIPLASTIN (IL)

Les nouvelles thromboplastines recombinantes sont composées du même facteur tissulaire obtenu par génie génétique, mais les phospholipides ajoutés aux préparations sont différents.

- **Les phospholipides:**

Le facteur tissulaire est incorporé dans des vésicules de phospholipides anioniques et en excès, pour une activité coagulante optimale.

Il existe plusieurs types de phospholipides et leur composition est variable d'une thromboplastine à une autre:

- Phosphatidylsérine
- Phosphatidylcholine
- Phosphatidyléthanolamine.

Choix de la thromboplastine :

Un même plasma aura des temps de coagulation différents en fonction de la thromboplastine utilisée

- **Détermination du TQ :**

-Les TQ déterminés par des réactifs contenant du facteur tissulaire humain peuvent différer de ceux obtenus avec des réactifs contenant du facteur tissulaire d'autres espèces, comme le lapin. Dans de tels cas, le résultat obtenu avec le réactif au facteur tissulaire humain peut être plus révélateur d'un risque de saignement

- La présence de facteur VII activé peut allonger le TQ, soit lors d'une thérapie avec le facteur VIIa recombinant ou lorsque le facteur VII endogène a été activé. Cet effet dépend du facteur tissulaire utilisé dans le réactif. Les réactifs contenant du facteur tissulaire bovin sont particulièrement sensibles à cet effet (Kitchen et al.. 1992).

***sensibilité variable aux déficits en facteurs (II, V, VII, X) :**

En fonction de l'origine du facteur tissulaire :

- la thromboplastine bovine surestime le taux de FVII
- la thromboplastine lapine sous-estime le taux de FVII

En pratique: Privilégier une thromboplastine recombinante humaine pour le dosage de FVII.

[28]

***Pour le suivi des malades sous AVK :**

Le biologiste est aujourd'hui confronté au choix de la thromboplastine qu'il va utiliser. En pratique, il peut choisir d'utiliser une thromboplastine « classique », obtenue par extraction

à partir de broyats de cerveau de lapin, d'ISI proche de 2 (> 1,5) ou unethromboplastine recombinante, d'ISI proche de 1.

Actuellement il est conseillé, pour minimiser tous les problèmes résiduels, d'utiliser des thromboplastines à ISI bas < 1,5 et, mieux encore, proches de 1. [25]

***Pour un ACC :**

L'excès de phospholipides neutralise une partie des anticorps antiphospholipides donc le TQ est peu sensible aux anticoagulants circulants (ACC) de type lupique.

- Insensible: Thromborel S, Thrombotest
- peu sensible : thromboplastine bovine thromboteststagoCI+
- Modérément sensible: thromboplastine humaine recombinante Recombiplastine
- Très sensible : thromboplastine humaine recombinante : Innovin. [29]

Tableau 4:Réactifs pour le Temps de Quick. [10]

Fabricant	Test	Origine de la thromboplastine	ISI
BioMERIEUX	Thromboplastine calcique	Animale lapin	# 2
	Thrombomat	Animale lapin	# 2
	Hemolab Thrombomat	Animale lapin	# 2
	Isimat 1	Humaine (placenta)	1
	Hemolab Isimat 1	Humaine (placenta)	1
BIOPOOL	Thromboplastine ISI 2	Animale lapin	2
DADE BEHRING	Thromborel S lyophilisé	Humaine (placenta)	# 1
	Innovin	Recombinante	1
DIAGNOSTICA STAGO	Néoplastine CI	Animale lapin	# 2
	Néoplastine CI Plus	Animale lapin	# 1
	STA-Néoplastine CI	Animale lapin	# 2
	STA-Néoplastine CI Plus	Animale lapin	# 1
HELENA FRANCE	Thromboplastine MI	Animale lapin	1,8
INSTRUMENTATION LABORATORY	TP-FIB, Mesure simultanée du Fg sur ACL	Animale lapin	# 2
	TP-FIB HS, Mesure simultanée du Fg sur ACL	Animale lapin	# 1,4
	TP-FIB HS PLUS, Mesure simultanée du Fg/ACL	Animale lapin	# 1,2
	TP-FIB Recombinante, Mesure simult du Fg/ACL	Facteur tissulaire recombinant	1
	Recombi Plastin (Ortho)	Facteur tissulaire recombinant	# 1
ORGANON TEKNIKA	Simplastin EXCEL	Animale lapin	# 2
	Simplastin EXCEL S	Animale lapin	# 1,2
	Thromboplastine BIOPOOL	Animale lapin	# 2
	MDA Simplastin EXCEL S	Animale lapin	# 1,2
SIGMA DIAGNOSTICS	Thromboplastine HS calcique	Animale lapin	# 1,2
	ThromboMax calcique	Animale lapin	1,7 à 2,1

b. Réactif pour le TCA :

Pour la réalisation du Temps de Céphaline avec Activateur deux éléments sont nécessaires : la céphaline et un activateur

Tous les réactifs n'ont pas la même sensibilité, elle est variable et dépend de :

- La céphaline : concentration et nature des phospholipides
- L'agent activateur : cérite, silice, acide ellagique, kaolin
-

1. La céphaline :

La céphaline joue le rôle de substitut des phospholipides procoagulants des plaquettes activées

- Elle peut être d'origine variable : soit par extraction d'organes humains ou animaux (à partir de tissu cérébral de lapin) ou d'origine végétale (soja). [30]
- La nature chimique ainsi que la concentration en PL (beaucoup plus faible que dans la thromboplastine, elle est apportée à une concentration optimale et non en excès) est variée d'une céphaline à l'autre ce qui explique la différence de sensibilité des tests en particulier aux anticoagulants circulants de type lupique. [6]

2. L'activateur :

L'activateur de la phase contact est soit :

- solide (cérite, kaolin, silice),
- soit soluble (acide ellagique). [30]

• Le kaolin :

En contact avec le plasma peut conduire à l'activation de la cascade intrinsèque de la coagulation du sang donc utilisé comme activateur lors de la réalisation de TCA (TCK)

La charge négative nette du kaolin est impliquée dans le déclenchement de la voie intrinsèque de la cascade de coagulation sanguine par l'activation auto-catalytique des facteurs de coagulation XII et XI avec la prékallikréine et le cofacteur kininogène de haut poids moléculaire. Le principe de ces phénomènes est que le facteur XII se lie par des acides aminés chargés positivement dans sa chaîne lourde à une surface chargée négativement du kaolin. Cette liaison supposerait des changements de conformation subtile dont le FXII entraînant la formation de FXIIa active par auto-activation. [31]

Le kaolin n'est pas adapté à la recherche de LA, ni au suivi des traitements par HNF (Les réactifs contenant du kaolin comme activateur ne sont pas sensibles à l'héparine). [6]

- **La céélite :**

C'est un activateur de la voie intrinsèque et utilisé conjointement avec la céphaline comme réactif pour le test APTT. [32]

C'est un activateur minéral du facteur XII(XIIa), aussi bien en milieu purifié qu'en milieu plasmatique via la voie de la kallikréine. [33]

- **Acide ellagique :**

Activateur soluble puissant direct du FXII, utilisé comme réactif dans le Temps de Thromboplastine Partiel activé, [34] il paraît moins efficace que le kaolin [35] et semble utiliser un mécanisme différent [36] nécessitant un temps d'incubation prolongé. [37] Utilisé particulièrement pour la surveillance d'un traitement par HNF. Comme il active directement le facteur XII, il est insensible au déficit en prékallikréine. [34]

- **La silice :**

C'est le dioxyde de silicium, utilisée comme activateur dans les tests de la voie intrinsèque des facteurs XI et XII en raison de sa charge négative superficielle électrique, via la voie kallikréine. Pour adapter un traitement à l'héparine, un activateur Silice est recommandé. [22]

Choix du la céphaline:

Le choix d'un réactif (TCA) dépend de l'objectif fixé

1-Selon les performances (praticabilité, conservation, cout.....)

2-Selon l'environnement clinique :

*Cardiologie : bonne sensibilité pour le traitement par HNF

* hémostase et bilan préopératoire : bonne sensibilité aux déficits en facteurs avec une faible sensibilité aux LA.

- **Sensibilité aux déficits en facteur :**

-elle dépend de la composition de l'activateur : Acide ellagique> silice>kaolin ou celite

-elle est variable en fonction du déficit isolé ou combiné. [28]

Remarque : un TCA normal n'exclue pas un déficit en facteur. Pour dépister un déficit en facteur, le réactif le plus sensible reste le CK Prest. [21]

- **surveillance d'un traitement par héparine :**

L'héparine non fractionnée allonge le TCA. La détermination de la zone thérapeutique du traitement curatif est variable d'un laboratoire à un autre, elle est activée et l'automate dépendant, elle se fait par l'étude de la corrélation entre le TCA et l'activité anti-Xa. [38]

- **Sensibilité aux anticoagulants lupiques LA :**

Les LA neutralisent les PL présents dans le réactif ce qui entraîne un allongement du TCa.

La sensibilité du réactif dépend de sa concentration en phospholipides, pour dépister un ACC (Ac anti-phospholipide), le réactif PTT-LA (Partial Thromboplastin Time Lupus Anticoagulant) mérite d'être utilisé en première intention. [21]

Tableau 5: Réactivité de LA selon les réactifs. [39]

Réactivité de LA	Exemples de réactifs
Elevée	Siemens [®] , Actin FSL [®] Beckman-coulterhemosILAptt-SP [®]
Intermédiaire	Stago STA [®] -PTT-LA Beckman-coulterhemosILSynthASil [®]
Faible	Siemens [®] Actin FS [®] Stago C.K, PREST [®]

Remarque :

Chaque fois que le même et unique réactif sera utilisé dans ces indications, le choix de ce réactif ne pourra pas être satisfaisant pour les trois. On raccourcira les zones de normalité d'un réactif Silice pour éviter de méconnaître des déficits en facteur de la voie endogène. [21]

Tableau 6 : Réactifs disponibles sur le marché pour la mesure du temps de céphaline avec activateur. [10]

Fabricant	Test	Activateur - caractéristiques du test
BioMERIEUX	Actimat Céphalite Silimat Hemolab Silimat	Acide ellagique Célite adaptée à la détermination manuelle Silice micronisée Silice micronisée
BIOPOOL	APTT-EA	Acide ellagique
DADE BEHRING	Actin Actin FS Actin FSL Pathromtin SL	Acide ellagique Acide ellagique Acide ellagique Silice micronisée
DIAGNOSTICA STAGO	CK Prest PTT Automate STA-CK Prest STA-PTT Automate	Kaolin Silice Kaolin Silice
HELENA FRANCE	APTT-SA APTT-ES	Acide ellagique (CaCl2 inclus) Acide ellagique (CaCl2 inclus), réactif sensibilisé
INSTRUMENTATION LABORATORY	IL TCA Acide ellagique IL TCA Silice liquide IL TCA Silice lyophilisée Thrombosil (Ortho) IL TCA-PS Synthasil (Ortho)	Acide ellagique (CaCl2 inclus) Silice micronisée prête à l'emploi (CaCl2 inclus) Silice micronisée (CaCl2 inclus) Silice colloïdale Phospholipides synthétiques prêts à l'emploi (CaCl2 inclus) Phospholipides synthétiques prêts à l'emploi
ORGANON TEKNIKA	Automated APTT Platelin LS MDA Platelin LS MDA Platelin L	Silice micronisée Silice micronisée (réactif liquide) Silice micronisée (réactif liquide, CaCl2 inclus) Silice micronisée (réactif liquide, CaCl2 inclus)
SIGMA DIAGNOSTICS	APTT APTT-FS APTT-FSL	Acide ellagique Acide ellagique Acide ellagique (TCA sensibilisé aux LA)

c. La thrombine :

C'est le réactifs utilise pour le dosage du fibrinogène, La thrombine calcique titrée se présente sous forme lyophilisée, elle est d'origine animale et contient un inhibiteur spécifique de l'héparine permettant le dosage du fibrinogène sur le plasma des patients traités par cet anticoagulant. [11]

Il existe divers réactifs sur le marché, différent par la concentration et l'origine de la thrombine.

Choix des réactifs pour le dosage du fibrinogène selon Clauss

- Nombreuses variables liées à la méthode de Clauss:
 - Concentration en thrombine m
 - Sources de thrombine
 - Concentration en stabilisateurs, inhibiteurs (héparine, PDFs), tampon
 - Type de calibrateurs. [29]

Les principaux réactifs disponibles sur le marché sont mentionnés (tableau)

Tableau 7: Réactifs disponibles pour le dosage du fibrinogène. [10]

Fabricant	Test	Thrombine
BioMERIEUX:	Fibrinogène-kit Fibrinomat Hemolab Fibrinomat (détermination optique (réactif code-barre))	Bovine 100u. NIH/ml Bovine 100u. NIH/ml Bovine 100 u. NIH/ml
DADE BEHRING	Fibrinogène Thrombine pour mesure du fibrinogène Multifibren U	Bovine 90 u. NIH/ml Bovine 90 u. NIH/ml Bovine
DIAGNOSTICA STAGO	Fibri-Prest Fibri-Prest Automate STA-Fibrinogen	Animale 15 u. NIH/ml Humaine calcique 100 u. NIH/ml Humaine calcique 100 u. NIH/ml
HELENA FRANCE	Fibrinogène Thrombine Hélène	Bovine 100 u. NIH/ml
INSTRUMENTATION LABORATORY	IL Fibrinogène C	Thrombine 35 UI/ml
ORGANON TEKNIKA	Fibriquick MDA Fibriquick	Bovine 100 u. NIH/ml Bovine 100 u. NIH/ml
SIGMA DIAGNOSTICS	Fibrinogène	Bovine 75 u. NIH/ml

IV.2.3 Matériels utilisés :

La précision des micropipettes et des embouts influence les résultats des différents paramètres.

La micropipette est un instrument volumétrique qui permet d'aspirer ou de chasser des volumes de liquides avec une grande précision.

Il existe généralement une gamme de modèles selon le volume à pipeter et la précision du prélèvement à effectuer, pouvant influencer sur l'exactitude du résultat à réaliser :

- dans le cas de reconstitution de réactif.
- de matériaux de contrôle ou d'étalons (calibrant).
- prise d'essai d'échantillon dans le cas d'une analyse manuelle ou encore dans le cas de la dilution en manuelle.

Il est nécessaire d'avoir des embouts (cônes de pipettes) qui soient adaptés à la micropipette utilisée. Ces embouts doivent être les plus effilés possibles, notamment pour les petits volumes, afin de mieux voir le volume prélevé. [40]

V. Etablissement des intervalles de référence au laboratoire de biologie médicale :

Le terme « valeur de référence » doit être distingué de « valeur normale » ou valeurs usuelles qui sont établies sans définition de critères et correspondent à des valeurs observées dans la population générale.

Les valeurs de référence correspondent à des valeurs obtenues à partir d'une population sélectionnée suivant des critères définis, nécessitant l'exclusion de sujets à risque d'anomalie. [41]

Un intervalle de référence est l'intervalle entre deux valeurs, soit entre une limite inférieure et une limite supérieure de référence, qui représente le pourcentage défini des valeurs d'une population donnée (habituellement 95 % de la population). Les limites inférieure et supérieure déterminent les 2,5^{ème} et 97,5^{ème} percentiles de la distribution des valeurs de référence. Dans certains cas, seule la limite supérieure de référence est cliniquement importante.

Les valeurs de référence doivent être obtenues localement dans chaque laboratoire car il existe des variations qui peuvent résulter de différents facteurs pré-analytiques ou analytiques

Les critères les plus importants pour déterminer un intervalle de référence fiable sont :

- une sélection appropriée des individus de référence; sélectionner des donneurs sains dans une population « saine », c'est à dire de sujets en « bonne santé », sans signe de pathologie sous-jacente : les individus ne doivent pas être des patients hospitalisés
- l'analyse d'un nombre adéquat d'individus de référence;
- l'élimination de sources d'erreurs pré analytiques et analytiques.
- Prélever, traiter et analyser les échantillons dans les mêmes conditions que celles existant pour les patients à analyser.
- collecter les valeurs de référence : analyser les spécimens suivant des méthodes bien définies et décrites ;
- contrôler les valeurs de référence. : établir un histogramme pour évaluer la distribution des données ;
- identifier de possible erreurs et/ou des valeurs aberrantes
- analyser les valeurs de référence : sélectionner une méthode statistique puis calculer les limites de référence et l'intervalle de référence ;
- documenter l'ensemble des étapes et des procédures suivies.

V.1.Nombre minimal des valeurs de référence pour établir un intervalle de référence :

a. Intervalle de référence fourni par un autre laboratoire ou par un fabricant :

Dans le cas d'un système analytique identique (méthode et instrument) et présumant que l'étude originale des valeurs de référence fut réalisée selon les normes : [22]

Au moins 120 sujets normaux sont exigés, pour des raisons statistiques, afin d'établir un intervalle de référence valide complet, mais pour des raisons pratiques, une approximation étroite peut être obtenue en testant un nombre plus restreint de sujets (CLSI, 2008 Clinical and Laboratory Standards Institute

Le nombre de sujets normaux sélectionnés pour analyse ne doit pas être inférieur à 30 pour les tests d'hémostase relatifs à l'investigation des diathèses hémorragiques. [42]

La fiabilité et l'efficacité de la méthode augmentent en analysant plus d'échantillons pendant une plus longue période. Il est souhaitable d'élargir la taille de l'échantillon de référence pour atteindre une meilleure précision de l'intervalle de référence.

Le laboratoire doit calculer son propre intervalle de référence et le comparer à l'intervalle proposé par l'autre laboratoire ou par le fabricant.

b. Changement de conditions pré analytiques ou analytiques :

Le laboratoire doit utiliser une méthode d'analyse comparative et d'estimation du biais sur un minimum de 40 échantillons de patients pendant une période d'au moins cinq jours pour valider l'intervalle de référence déjà établi.

c. Nouvelle analyse ou nouvelle méthode d'analyse :

Bien qu'un minimum de 40 valeurs puisse permettre d'estimer les 2,5^e et 97,5^e percentiles de la population, un minimum de 120 valeurs de référence est recommandé pour obtenir une valeur suffisamment précise du 2,5^e et des 97,5^e percentiles.

V.2.Méthodes de calcul :

La détermination de l'intervalle de référence repose sur des calculs statistiques. Il est purement descriptif d'une population donnée.

Il existe deux méthodes statistiques pour déterminer un intervalle de référence : non paramétrique et paramétrique.

a. La méthode non paramétrique :

La méthode non paramétrique emploie les rangs des valeurs de référence disposées dans l'ordre croissant. Elle ne requiert aucune hypothèse sur la forme de distribution des valeurs de référence. L'intervalle de référence correspond à 95 % de la population, les limites étant de 2,5 et de 97,5 %.

b. La méthode paramétrique :

La méthode paramétrique présume que la distribution des valeurs de référence est normale ou Gaussienne et exige une transformation de ces valeurs lorsque la distribution n'est pas normale. L'intervalle de référence correspond aux limites obtenues en calculant plus ou moins deux écarts-types de la moyenne des valeurs de référence. [22]

(Les formules sont calculées à l'aide du logiciel SPSS)

Deuxième partie

Partie pratique

I. Matériels et méthodes :

Il s'agit d'une étude série de cas prospective effectuée au niveau du laboratoire des urgences médicochirurgicales (UMC) du Centre Hospitalo-universitaire de Blida (CHU Blida), s'étalant sur une durée de 4 mois allant de décembre 2016 à mars 2017, portant sur une population de donneurs de sang pour laquelle on a déterminé les valeurs du Temps de quick (TQ), Temps de céphaline avec activateur (TCa) et du fibrinogène afin de calculer les intervalles de référence de chaque paramètre.

Le protocole expérimental a été élaboré en suivant les recommandations (CLSI) pour la production d'intervalles de référence de chaque laboratoire et leur validation par comparaison à l'intervalle fourni par un autre laboratoire ou par un fabricant. [8]

I.1. Sélection des sujets de la population de référence :

La principale difficulté dans la détermination d'un intervalle de référence réside dans la sélection de la population de référence, qui ne doit être composée que de sujets sains. C'est pour cela qu'on a choisi des donneurs de sang en bonne santé, sans antécédents hémorragiques personnels et/ou familiaux et ne prenant pas de médicament interfèrent avec la coagulation (exemple : anti vitamine K, antibiotiques....). Ces donneurs ont été sélectionnés après un entretien médical rigoureux qui a permis d'exclure de l'échantillon les individus malades ou présentant des facteurs de risques.

Un certain nombre d'éléments qu'il est important de considérer en ce qui concerne l'intervalle de référence a été respecté, à savoir :

L'état des sujets normaux au moment du prélèvement sanguin peut influencer les résultats obtenus.

S'abstenir de manger des aliments gras et de fumer le matin de la prise de sang.

Obtenir les prélèvements tôt le matin (entre 8 et 10 h), après que le sujet soit resté assis et détendu pendant 10 minutes.

Un objectif de plus de 500 échantillons sanguins (517 prélèvements recueillis) a été fixé afin de prétendre à des intervalles de confiance à 95% des limites des intervalles de référence.

I.2. Caractéristiques pré-analytiques :

Les caractéristiques pré-analytiques ont été réalisées en accord avec les recommandations du GEHT pour les tests d'hémostase.

I.2.1. Le prélèvement :

Les prélèvements sont réalisés le matin, au niveau du centre de transfusion sanguine de Blida par des infirmiers qualifiés sur des donneurs de sang au repos de plus de 10 minutes, qui ont pris un petit déjeuner léger sans matière grasse.

L'échantillon sanguin est obtenu par ponction veineuse franche sans garrot au pli du coude d'une veine par l'aiguille du dispositif de prélèvement de la poche de sang qui permet de remplir directement et en premier lieu une petite poche annexe. à partir de cette poche accessoire, un tube citrate est remplie en première position pour les besoins de notre étude, puis un tube EDTA+ un tube héparine pour les analyses spécifiques au don de sang.



Figure 01 : poche de sang.

I.2.2. Le tube citaté :

C'est un tube type vacutainer® de 4,5 ml, sous vide stérile et à bouchon inert, avec un volume résiduel d'air inférieur à 20%, en verre siliconé contenant l'anticoagulant citrate tri sodique dihydraté à 3,2% (0,109 M) sous forme liquide. Cet anticoagulant se lie aux ions calcium afin de maintenir le sang fluide.

Les tubes sont remplis dans un rapport de 9 volumes de sang pour un volume d'anticoagulant et homogénéisés immédiatement après récolte par plusieurs retournements.



Figure 02: tube citraté vacutainer®.

En moyenne, chaque jour, une quinzaine de prélèvements sont réalisés.

Les échantillons sont acheminés rapidement en position verticale afin d'éviter au maximum le contact entre le sang et le bouchon, à température ambiante (18-25°C) au laboratoire des Urgences Médicochirurgicales du centre hospitalier universitaire de Blida dans un délai maximum de 2 heures.

Par manque de réactif en cette période-là, les plasmas ont été décantés dans des tubes non mouillables et à bouchon à vis, après une double centrifugation du sang total à 2500 g (4000 tours/ minutes) pendant 15 minutes afin d'obtenir un plasma pauvre en plaquette et congelé rapidement à -4°C en vue d'une analyse différée.

Les plasmas lipidiques, les plasmas présentant une couleur anormale et les plasmas hémolysés sont exclus de l'étude.

La décongélation est faite rapidement au bain-marie à 37°C. Les plasmas décongelés sont homogénéisés et les tests réalisés immédiatement après.



Figure 03 : Centrifugeuse.

I.3. Matériels du laboratoire :

a. Le coagulomètre :

Les tests sont réalisés sur l'appareil STAGO START® qu'est un analyseur de paillasse semi-automatique, intégré avec méthode brevetée Stago® de détection électromécanique du caillot (viscosité-based system détection) 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 de courbe spécifique pour chaque paramètre et pour chaque lot de réactif.

L'appareil est composé de :

- quatre stations d'incubation pour les plasmas à tester indépendamment temporisées,
- deux puits pour l'incubation du réactif,
- une station de lecture reliée électroniquement à une pipette multiple qui fonctionne selon le mode connecté ou déconnecté,
- un clavier,
- un système de distribution de billes
- un écran à 4 caractères d'affichage à cristaux liquides
- une imprimante thermique interne.

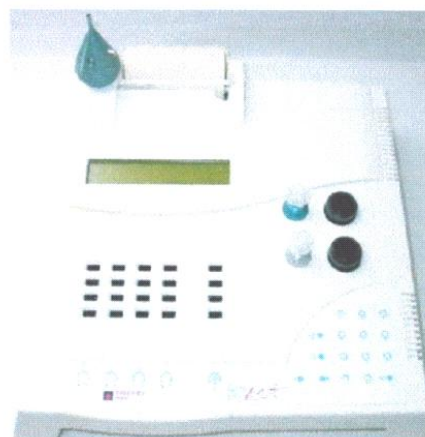


Figure 04 : Analyseur semi-automatique de paillassestagostart®.

- cupules à usage unique
- Billes magnétiques
- Micropipette
- un portoir
- Embouts
- Tubes à essai en plastique
- Papier semi-log et papier bi-log
- bac pour éliminer les déchets

I.3.1.Les réactifs :

a. la néoplastine CL plus R Stago :

Pour la réalisation du TQ de la population de notre étude, on a utilisé La thromboplastine de stago® :Neoplastine cl plus®_ (lot N : 112098).

❖ Composition :

Il se présente sous forme de deux réactifs contenus dans deux flacons différents : une forme lyophilisée (R1, flacon 1) et son solvant (R2, flacon 2)

- **Réactif 1** :Neoplastine cl plus® : thromboplastine lyophilisée, contient les phospholipides et le facteur tissulaire qui sont préparés à partir de tissu cérébral frais de lapin et un inhibiteur de l'héparine.
- **Réactif 2** : solvant contenant du calcium et des conservateurs : sulfate de nickel et de l'azide de sodium.

❖ Préparation du réactif :

Le contenu d'un flacon de réactif 2 est transvasé dans le flacon de réactif 1 lyophilisé inclus dans le même coffret .On laisse la solution se stabiliser pendant 30minutes à température ambiante (18-25°C) puis on agite doucement le flacon pour obtenir une suspension homogène

❖ Conservation du réactif :

Le réactif lyophilisé est conservé entre 2-8°C, jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret

Le réactif reconstitué se conserve 8 heures à 37°C, 48 heures à 20± 5°Cou 8 jour à 2-8°C.

Le réactif ne doit jamais être congelé

b. C.K. Prest R stago:

Est utilisé pour la détermination de temps de céphaline kaolin (TCK)

❖ Composition :

Il se présente sous forme de deux réactifs contenus dans deux flacons différents : une forme lyophilisée (R1, flacon 1) et son solvant (R2, flacon 2)

- **Réactif 1** : céphaline (substitut plaquettaire) préparée à partir de tissu cérébral de lapin, lyophilisée.
- **Réactif 2** : contient 5ml de suspension tamponnée de l'activateur kaolin à 5mg/ ml et contient aussi de l'azide de sodium comme conservateur.

❖ Préparation :

Transvaser, après on a agité, le contenu d'un flacon de réactif 2 dans flacon de réactif 1 inclus dans le même coffret .on a laissé la solution se stabiliser pendant 30minutes à température ambiante (18-25°C).puis on a agité doucement le flacon pour obtenir une suspension homogène. On a mis un barreau aimant, puis la capsule plastique operculée. Après 20 minutes supplémentaire de stabilisation / agitation, le réactif est prêt à l'emploi.

❖ Conservation :

Il se conservés entre 2-8°C sous leur état d'origine lyophilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur leur coffret

Une fois reconstitué : il se conserve 2 jours 20±5°C et 7 jours à 2-8°C

Comme pour la thromboplastine, le CK prest ne doit jamais être congelé.

c. fibri-prest R stago :

Est utilisé pour le dosage du fibrinogène

❖ Composition :

Le fibri-prest® contient de la thrombine calcique titrée (environ.80 unités NIH/ml), lyophilisée, d'origine humaine contenant un inhibiteur spécifique de l'héparine permettant le dosage du fibrinogène sur le plasma des patients traités par cet anticoagulant.

❖ **Préparation :**

Pour la reconstitution du réactif FIBRI-PREST® lyophilisé, on a ajouté 2ml (ou 5ml selon la présentation du flacon) d'eau distillée et on a laissé la solution se stabiliser 30 minutes à température ambiante (18-25°C) puis on a homogénéisé avant l'emploi

❖ **Conservation :**

Lyophilisée, le fibri-prest® se conserve entre 2-8°C, jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffre, reconstitué il est stable pendant 7 jours à 20±5°C ou 14 jours à 2-8°C dans son flacon d'origine ou en tube plastique si conserve en aliquotes. En cas de conservation à 2-8°C, laisser le réactif à température ambiante (18-25°C) pendant 30 minutes avant l'utilisation.

d. Réactifs auxiliaires :

1-Owren koller :

❖ **Composition :**

Solution prête à l'emploi, tamponnée présentant un PH de 7,35 environ, il contient de l'azide de sodium comme conservateur. Il est utilisé comme solvant de dilution.

❖ **Conservation :**

Conservé à 2-8 °C sous son état d'origine, le réactif est stable jusqu' à la date de péremption indique sur le coffre.

Après ouverture, le réactif est stable

En cas d'utilisation fractionnée, la solution restante de STA®- Owren-koller maintenue à 2-8 °C dans son flacon d'origine bouché, est stable, si non contaminée, jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon.

2-Unicalibrateur :

❖ **Composition :**

Plasma humain normal, citrate, lyophilisé. Chaque coffre d'unicalibrateur contient un papillon avec code-barre. Ce code -barre renferme les informations suivantes : numéro de lot, référence du coffret, référence du réactif, date de péremption et valeurs du taux des différents paramètres testés déterminées pour le lot considéré sur les appareils de la ligne start.

❖ **Préparation :**

Ajouter très exactement 1 ml d'eau distillée dans chaque flacon. Laisser la solution se stabiliser pendant 30 minutes à température ambiante (18-25°C) puis, homogénéiser avant l'emploi

❖ **Conservation :**

Lyophilisé, à 2-8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret

Reconstitué, 4 heures sur STA-R®, ne pas congelé.

3-system control N+P® ou Coagcontrol N+P:

❖ **Composition :** il se présente sous formes de deux réactifs :

➤ Réactif 1 : STA- coag Control N : plasma humain normal citraté lyophilisé

➤ Réactif 2 : STA- coag Control P : plasma humain anormal citraté lyophilisé

Chaque coffret de STA-Coag Control N+P contient aussi un papillon qui contient les mêmes informations citées auparavant

❖ **Préparation :** pour chacun des réactifs 1 et 2, ajouter très exactement 1 ml d'eau distillée. Laisser la solution se stabiliser pendant 30 minutes à température ambiante (18-25°C). Puis, homogénéiser en agitant doucement avant emploi.

❖ **Conservation :**

Lyophilisé, à 2-8°C, jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret

Reconstitué, 8 heures sur STA-R®.

4- le calcium : CACL2 0,025M :

Il se présente sous forme d'un seul flacon prêt à l'emploi contenant du calcium à 0,025 M dans une solution de conservation

❖ **Conservation :**

Conservé à 2-5 °C sous son état d'origine, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret

Après ouverture, le réactif est stable :

- 24 heures à 37°C

- 3 jours sur les appareils de la ligne STA® (15-20°C)

I.3.2. Méthodes :

a. Détermination du temps de quick (TQ) :

❖ Protocole :

- on aPréparé la néoplastine et la laisser se stabiliser pendant 30 minutes
- on aAllumé l'appareil et laisser la température se stabiliser à 37°C
- on a incubé le réactif
- on aChoisis le mode d'analyse pour le TQ.
- on adéposé les barrettes dans la zone d'incubation
- on adistribué une bille dans chaque cupule
- on amis 50µL de plasma citraté dans chaque cupule
- on adéclenché la station d'incubation pendant 1 mn
- on a transféré dans la zone de lecture.
- on adéclenché la coagulation en distribuant 100µL de néoplastine calcique (pré incubée à 37°C) dans chaque cupule

Le temps de coagulation se mesure par l'arrêt du mouvement de billes.

La conversion du temps de quick TQ en taux de prothrombine TP se fait à l'aide d'une droite d'étalonnage ou droite de « Thivolle » :

❖ Courbe de Thivolle :

- Régénérer l'unicalibrateur (plasma témoin dont la valeur du TP est connue, pour ce lot le TP=96%) et le laisser se stabiliser 30 minutes
- L'unicalibrateur est dilué au 1/2, 1/3, 1/4,1/5, dans le tampon owrenkoller.

Tableau 01 : le tableau d'étalonnage de courbe de thivolle.

Tubes	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	CN	CP
Dilutions de l'unicalibrateur	Unicalibrateur pur	1/2	1/3	1/4		
Volume unicalibrateur en µl	100µL	100µL	100µL	100µL		
Owrenkoller en µL	0 µL	100µL	200µL	300µL		
Taux de prothrombine	96%	48%	32%	24%	90%	39%
Temps de quick	12,5 sec	19,7 sec	27 sec	32,2 sec	13sec	23,2sec

-déterminer le temps de quick de chaque dilution sur le stagostart ® selon le protocole décrit auparavant.

-Porter les temps de coagulation en ordonnée sur un papier millimétré semi-logarithmique et les inverses de dilutions en abscisse.

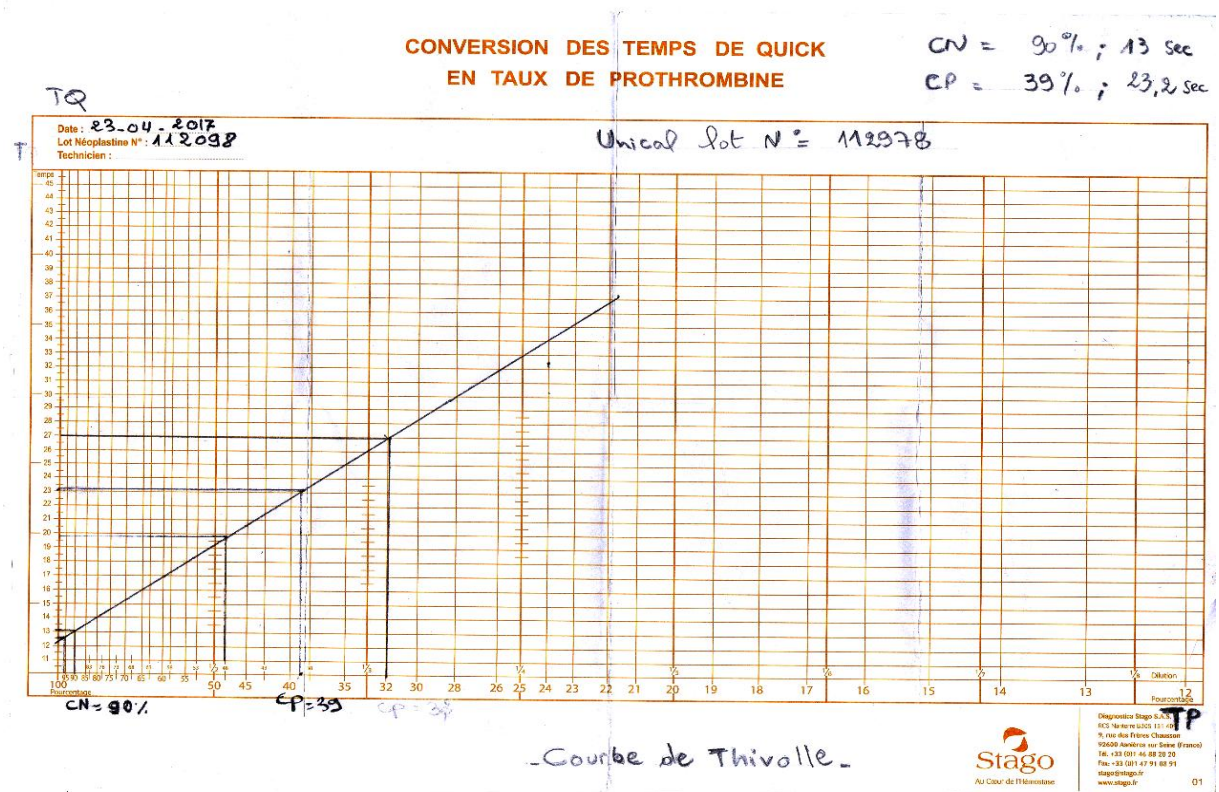


Figure 05 : Courbe de thivolle.

-on considère que le temps de quick fait sur l'unicalibrateur pur non dilué correspond à 96% de taux de prothrombine (selon les recommandations du fabricant pour ce lot), donc la dilution au 1/2 correspond à 48%.

- si on joint les points on obtient une droite d'étalonnage ; par extrapolation du temps du plasma à tester, on obtient le pourcentage correspondant.

-en pratique courante, on établit cette droite d'étalonnage à chaque nouveau lot de thromboplastine.

-les résultats sont exprimés à la fois en temps de quick et en taux de prothrombine.

-afin de valider la courbe de thivolle, les contrôles sont nécessaires

* on détermine les temps de quick des contrôle normal et pathologique selon le même protocole d'un plasma test, après les avoir régénérer et laisser se stabiliser.

*on détermine leur taux de prothrombine TP par extrapolation sur la droite d'étalonnage.
(CN=90%, CP=39%)

* on vérifie que les valeurs du TP déterminés, sont comprises dans l'intervalle porté sur le papillon, fourni par le fabricant. [6]

b. Détermination du TEMPS DE Céphaline – kaolin (TCK) :

❖ **PROTOCOLE :**

- Préparer la céphaline kaolin et la laisser se stabiliser pendant 30 minutes
- Allumer l'appareil et laisser la température se stabiliser à 37°C
- incuber le calcium CaCl_2 0,025 M.
- Choisir le mode d'analyse pour le TCA.
- déposer les barrettes dans la zone d'incubation
- distribuer une bille dans chaque cupule
- mettre 50µL de plasma pauvre en plaquettes dans chaque cupule
- ajouter 50µl de céphaline kaolin.
- déclencher la station d'incubation pendant 2mn
- transférer dans la zone de lecture.
- déclencher la coagulation en distribuant 50µL de calcium (pré incubée à 37°C) dans chaque cupule

Le TCK correspond au temps de coagulation qui se mesure par l'arrêt du mouvement de billes.

c. Détermination du taux de fibrinogène selon la méthode de van Clauss :

❖ **Protocole :**

- régénérer la thrombine calcique et la laisser se stabiliser pendant 30 minutes.
- Allumer l'appareil et laisser la température se stabiliser à 37°C
- incuber le réactif stabilisé.
- Choisir le mode d'analyse pour le fibrinogène.
- déposer les barrettes dans la zone d'incubation
- distribuer une bille dans chaque cupule
- réaliser une dilution du plasma à tester au 1/20 dans le tampon owrenkoller
- mettre 100µL de la dilution dans les cupules placées en zone d'incubation et contenant des billes
- incuber 1mn.
- Transférer la barrette en zone de mesure et déclencher la coagulation en ajoutant 50µL de solution de thrombine calcique.

- on obtient un temps de coagulation qui doit être converti en taux en g/l grâce à une droite d'étalonnage.

❖ **Étalonnage :**

- Régénérer l'unicalibrateur (plasma témoin dont la valeur du fibrinogène est connue, pour ce lot le taux de fibrinogène=3,10g/l et elle correspond à la dilution 1/20 selon les recommandations du fabricant) et le laisser se stabiliser 30 minutes

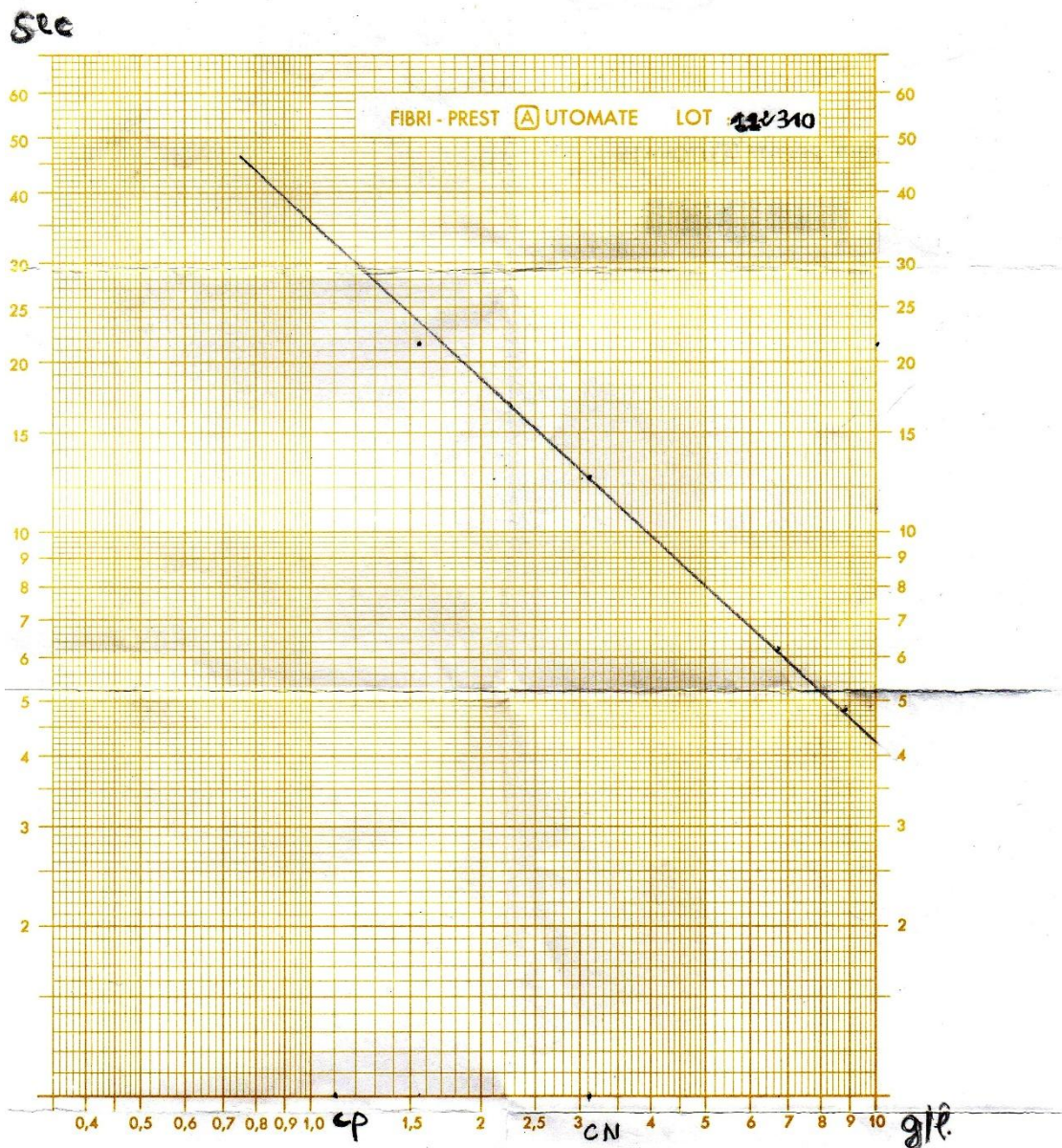
- L'unicalibrateur est dilué au 1/7, 1/10, 1/20, 1/40, dans le tampon owrenkoller.

- on détermine les temps de coagulation de ces dilutions selon le protocole décrit auparavant.

Tableau 2 : le tableau d'étalonnage de courbe du fibrinogène.

Tubes	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	CN	CP
Dilutions de l'unicalibrateur	1/7	1/10	1/20	1/40		
Volume unicalibrateur en µl	100µL	100µL	10µL	10µL		
Owrenkoller en µL	600 µL	900µL	190µL	390µL		
Taux de fibrinogène en g/l	8,85g/l	6,20 g/L	3,10g/l	1,55 g/l	3,10 g/l	1,10 g/L
Temps de quick en sec	12,5 sec	19,7 sec	27 sec	32,2 sec	13 sec	23,2 sec

Courbe du Fibrinogène.



Diagnostica Stago S.A.S.
RCS Nanterre B305 151 409
9, rue des Frères Chausson
92600 Asnières sur Seine (France)
Tél. +33 (0)1 46 88 20 20
Fax : +33 (0)1 47 91 08 91
stago@stago.fr
www.stago.fr

FIBRINOGENE/FIBRINOGEN in g/l

CN = 3,1 g/l ; 12,6 Sec

CP = 1,1 g/l ; 31,1 Sec

Unical : bkn = 112978

Figure 06 : Courbe de fibrinogène.

-La droite d'étalonnage est obtenue en portant les temps de coagulation en ordonnée et les concentrations correspondant aux dilutions de l'unicalibrateur en abscisse d'une feuille bilogarithmique.

- La concentration du fibrinogène du plasma à tester est obtenue par extrapolation sur la droite d'étalonnage, après avoir placé le temps de coagulation de ce plasma sur l'axe des ordonnées et mené de là la parallèle à l'axe des abscisses, le point d'intersection avec la droite d'étalonnage donne la concentration du fibrinogène.

- Afin de valider la courbe d'étalonnage, on détermine les temps de coagulation des contrôles normal et pathologique selon le même protocole d'un plasma test, après les avoir régénérés et laisser se stabiliser puis dilués au 1/20. Le taux de fibrinogène est déduit par extrapolation sur la droite d'étalonnage et doit être compris dans l'intervalle porté sur le papillon, fourni par le fabricant. CN= 3,1g/l, CP= 1,1 g/l

Remarque :

Deux niveaux de contrôle (normal et pathologique) sont utilisés pour chaque paramètre et à chaque série de dosage des échantillons dans le but de vérifier l'exactitude et la reproductibilité des résultats.

I.4. Traitement des données statistiques :

Le traitement des résultats obtenus de chaque paramètre d'analyse (temps quick, temps de céphaline –kaolin, fibrinogène) a été effectué à l'aide du logiciel d'épidémiologie SPSS.

SPSS : «Statistical Package for Social Sciences » : est un logiciel spécialisé de traitement statistique des données qui a été créé, au tout début, pour les besoins des psychologues en 1965 et qui est spécialement conçu pour les analyses statistiques en sciences sociales.

Ce logiciel nous a permis d'explorer les résultats collectés par :

*la saisie des données et la gestion de la base de données,

* Le traitement des données

*L'analyse des données en calculant les différents paramètres statistiques nécessaires pour notre étude tel que (moyenne, écart-type, variance, les percentiles, le maximum, minimum...)

*Traitement graphique des résultats : histogrammes, courbes, camemberts représentatives et comparatives avec la courbe gaussienne de la normale.

La convention selon laquelle l'intervalle de référence doit inclure les 95 % des données centrales est appliquée. Il est pratique d'exclure les 2,5 % des valeurs se situant aux extrémités, laissant ainsi les 95 % des valeurs centrales.

Comme la distribution est normale, il est approprié de calculer la moyenne et l'écart type des valeurs, et d'utiliser la moyenne plus ou moins deux écarts types pour établir respectivement les limites supérieure et inférieure de l'intervalle de référence.

Le test- t de student avec un seuil de signification $p < 0,05$ a été utilisé pour déterminer la signification statistique des résultats.

II. Résultats :

II.1. caractéristiques de la population de référence :

Les intervalles de référence sont déterminés à l'aide d'un échantillon de référence composé de 517 donneurs de sang prélevés sur une période de quatre mois au niveau du centre de transfusion sanguine du Centre hospitalo-universitaire de Blida.

Pour les besoins de cette étude, un tube citrate, prélevé en plus pour chaque donneur, est acheminé rapidement au laboratoire des urgences médicochirurgicales du CHU Blida afin de déterminer les valeurs du TQ, TCK et du fibrinogène qui ont contribué à la détermination des intervalles de références.

II.1.1. Caractéristiques de la population étudiée selon l'âge :

Tableau 3 : Caractéristiques de la population étudiée selon l'âge.

	N	MINIMUM	MAXIMUM	MOYENNE	écart-type
Âge	517	18	65	33,28	8,664

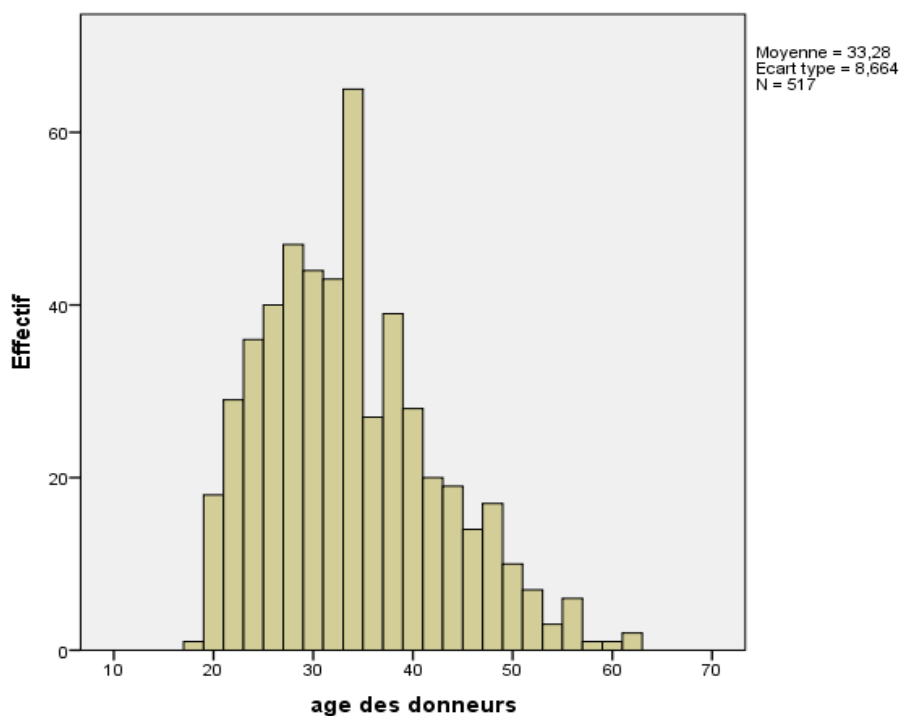


Figure 7 : Histogramme de la distribution De l'âge chez les 517 donneurs.

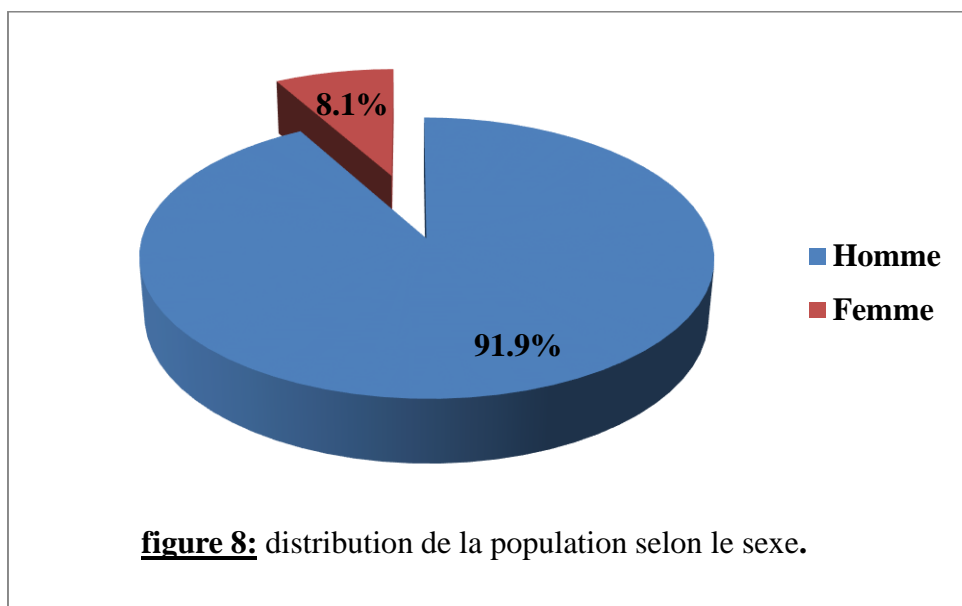
II.1.2. Caractéristiques de la population étudiée selon le sexe :

Tableau 4 : Caractéristiques de la population étudiée : sexe

Sexe	Effectifs	Pourcentage (%)	Sexe ratio
Masculin	475	91,9 %	11,31
Féminin	42	8,1 %	
Total	517	100 %	

Sexe ratio= effectif homme/ effectif femme

Sexe ratio= 11,31



II.2. Intervalles de référence :

Les données brutes pour chaque paramètre sont retranscrites en [Annexe 1].

Les résultats graphiques pour chaque paramètre sont rapportés dans les paragraphes suivants [Figures 9 à Figure 14], suivis des résultats chiffres de l'analyse statistique [Tableaux 5 à Tableau14].

- La distribution sous la forme d'un histogramme, associée à la courbe de distribution Gaussienne, permet une appréciation visuelle des valeurs aberrantes et de la normalité [Figures 9 à Figure14].

II.2.1. Intervalle de référence du Temps de quick en secondes :

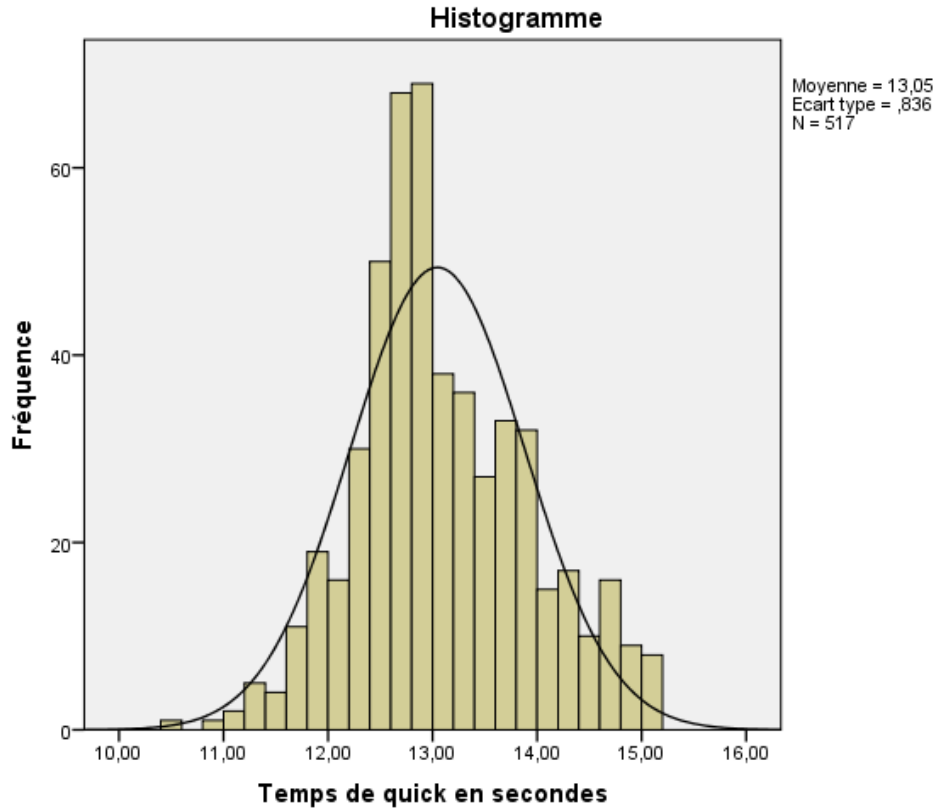


Figure 9 : Histogramme de la distribution des valeurs de TQ chez les 517 donneurs

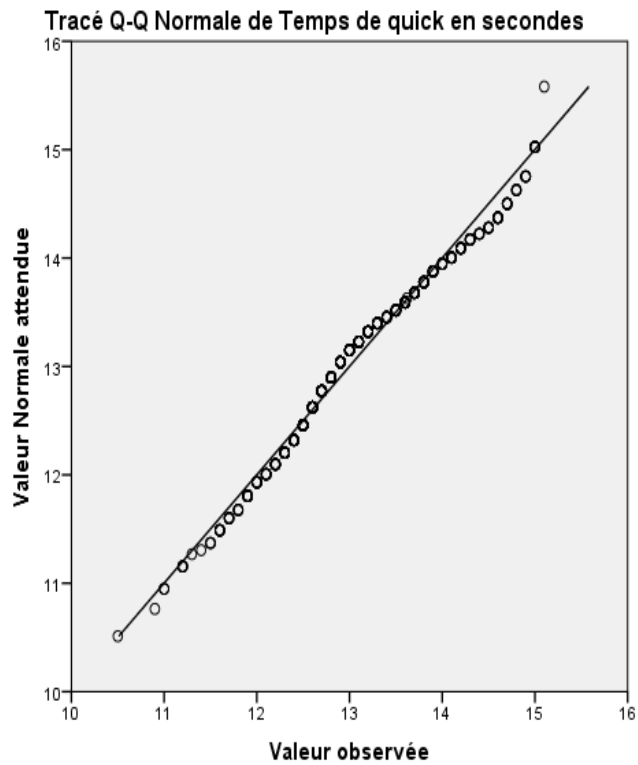


Figure 10: Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution observée du temps de quick avec une loi normale.

Tableau 5,6,7 :Résultats de l'analyse statistique des valeurs de temps de quick

Paramètres	Valeurs
N	517
Écart-type (s)	0,83553
Variance	0,698

(5)

Paramètres	Valeurs en secondes(TQ)	Valeurs en %(TP)
Moyenne (m)	13,0463	90,04 %
Médiane	12,90	92 %
Mode	12,60	95 %
Minimum	10,50	100 %
Maximum	15,10	72,2 %

(6)

Paramètre	m-2s	m+2s	Intervalle Obtenu
TQ (sec)	11,38	14,70	11,38-14,70 sec
TP (%)	100%	74,2%	74,2%-100%

(7)

II.2.2 Intervalle de référence du temps de céphaline –kaolin :

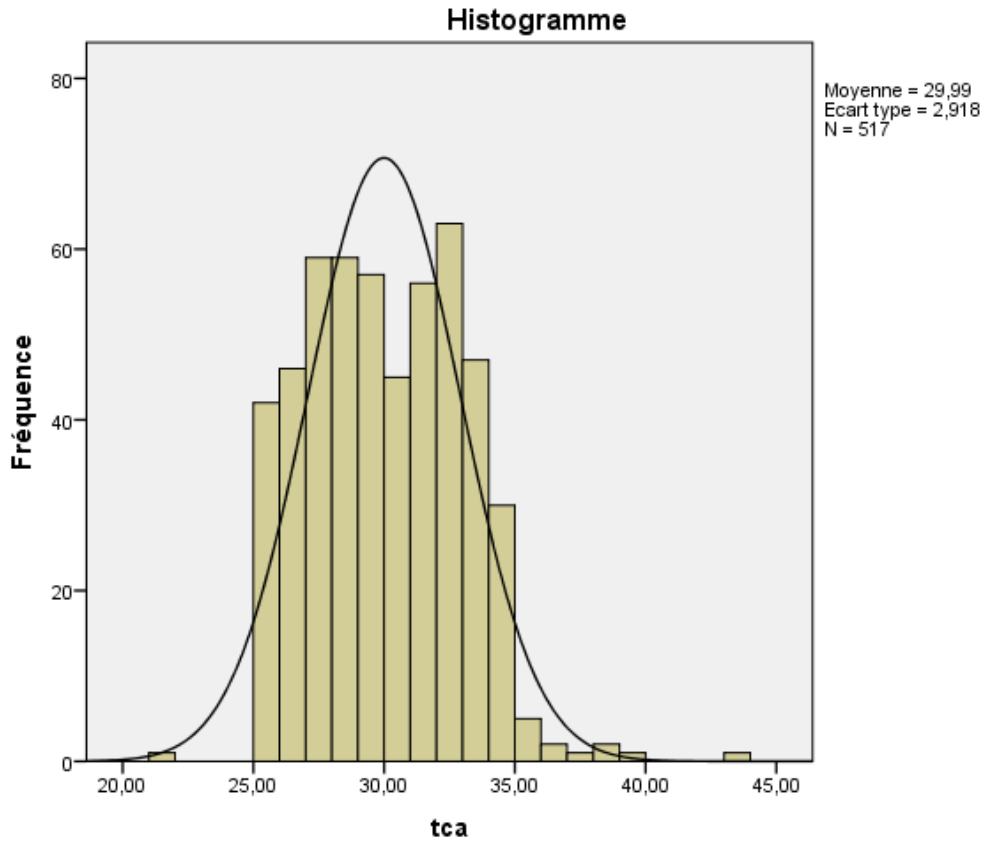


Figure 11 : Histogramme de la distribution des valeurs de TCK chez les 517 donneurs

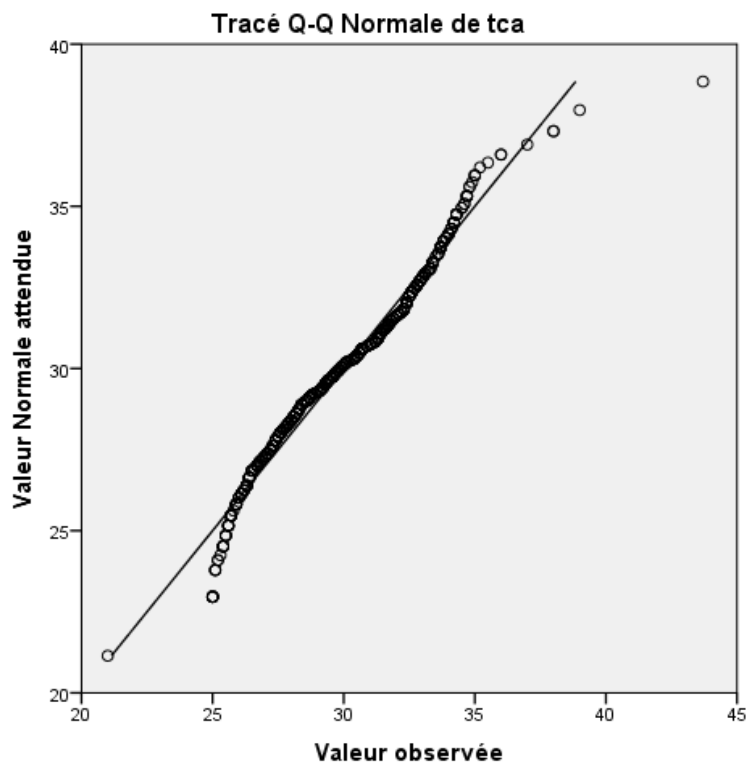


Figure 12 : Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution observée du TCK avec une loi normale

Tableau 8, 9,10:Résultats de l'analyse statistique des valeurs de TCK.

Paramètres	Valeurs
N	517
Écart-type	2,91
Variance	8,51

(8)

Paramètres	Valeurs en secondes(TCK)
Moyenne	29,99
Médiane	29,90
Mode	32,40
Minimum	21
Maximum	43,70

(9)

Paramètre	m-2s	m+2s	Intervalle Obtenu (sec)
TCK (sec)	24,17	35,81	24,17 - 35,81

(10)

II.2.3. Intervalle de référence du fibrinogène :

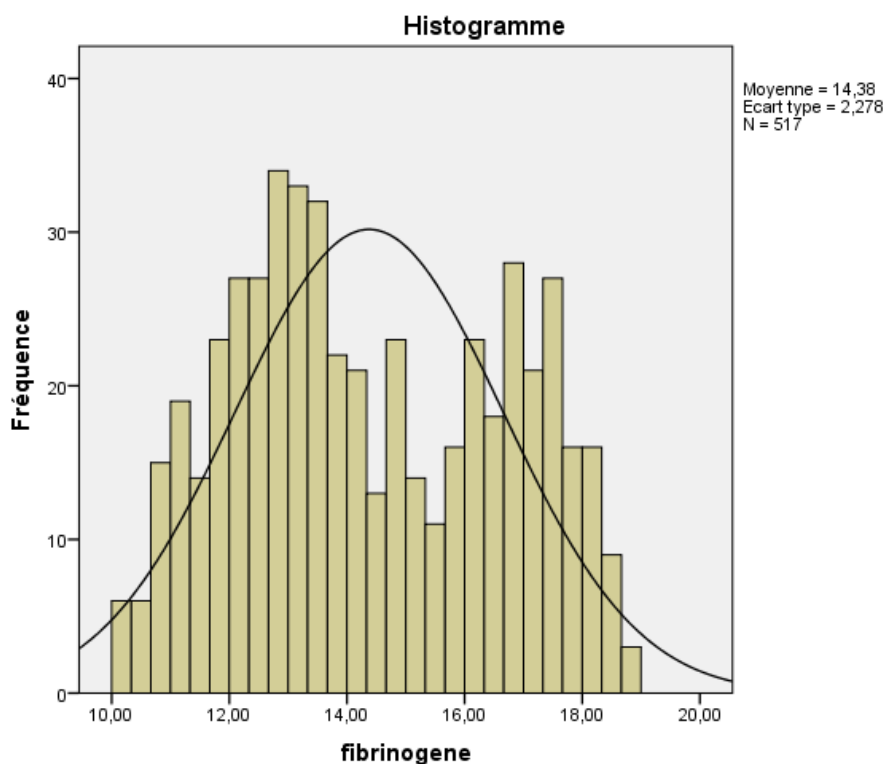


Figure 13: Histogramme de la distribution des valeurs de fibrinogène chez les 517 donneurs.

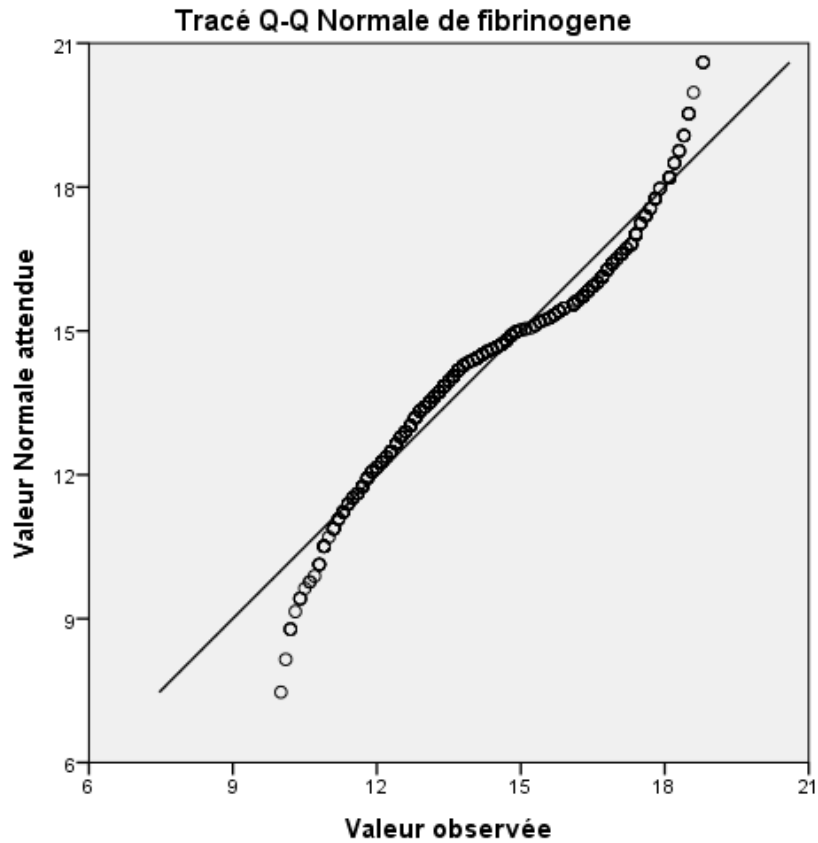


Figure 14 :Diagramme quantile-quantile de comparaison de la distribution observée du Fibrinogène avec une loi normale.

Tableau 11,12 ,13:Résultats de l’analyse statistique des valeurs de fibrinogène.

Paramètres	Valeurs
N	517
Écart-type (s)	2,27
Variance	5,18

(11)

Paramètres	Valeurs en secondes	Valeurs en g/l
Moyenne (m)	14,38	2,73
Médiane	14	2,80
Mode	17,40	2,16
Minimum	10	4
Maximum	18,80	2,02

(12)

Paramètre	m-2s	m+2s	Intervalle Obtenu
fibrinogène (sec)	9,83	18,93	9,83 – 18,93(sec)
fibrinogène (g/l)	4,03	2,01	4,03 – 2,01 (g/l)

(13)

Tableau récapitulatif :

Tableau 14 : tableau récapitulatif des résultats du TQ, TP, TCA, Fibrinogène.

Paramètre	Moyenne	Écart-type	M-2S	M+2S	Intervalle obtenu
TQ	13,05	0,836	11,38sec	14,70 sec	11,38-14,70 sec
TP	87,1	6,45	74,2%	100%	74,2-100%
TCK	29,99	2,91	24,17sec	35,81 sec	24,17-35,81 sec
Fib	3,02	0,505	2,01g/l	4 ,03g/l	2,01-4 ,03g/l

II.3. Comparaison des intervalles de référence :

II.3. 1. Avec les intervalles de référence fournis par le fabricant pour le même réactif :

Tableau 15: Comparaison des intervalles de référence obtenus avec ceux fournis par le fabricant pour le même réactif. [43] [45] [44]

Réactifs	Paramètre	Intervalle de référence retrouvé	Intervalle de référence du fabricant	P
Néoplastine Cl+®	Temps de quick (TQ)	11,38-14,70 sec	11- 15 sec	0 .38
Cephaline kaolin®	Temps de céphaline Kaolin (TCK)	24,17-35,81 sec	24,8- 34,4 sec	0,01891
Fibri-prest®	Taux de fibrinogène	2,01- 4,03g/l	2- 4 g/l	0.5224

II.3. 2. Avec les intervalles des références fournis par les fabricants d'autres réactifs :

a. Temps de quick :

Tableau 16 : Comparaison de l'intervalle de référence du TQ obtenu avec ceux fournis par les fabricants d'autres réactifs. [46] [47] [48] [49] [50] [51] [52]

Thromboplastin®	Temps de quick des autres réactifs (2)	Temps de quick de Neoplastine cl+ (1)	M1	S1	M2	S2	P
Thromborel S®	9,8- 12,7 sec	11,38-14,70sec	13,05	0,836	11,25	0,725	<0,0000001
Recombiplastin 2G®	9,9-12,9 sec	11,38-14,70sec	13,05	0,836	11,4	0,75	<0,0000001
Biolabo®	11-16 sec	11,38-14,70sec	13,05	0,836	13,5	1,25	<0,0000001

T coag®	11,1- 13,2 sec	11,38- 14,70sec	13,05	0,836	12,15	05,25	0.0001257
Spinreact®	11- 14,3sec	11,38-14,70sec	13,05	0,836	12,7	0,8	<0,0000001
Abliance®	11- 16 sec	11,38- 14,70sec	13,05	0,836	13,5	1,25	<0,0000001

b. Temps de céphaline kaolin

Tableau 17: Comparaison de l'intervalle de référence du TCK obtenu avec ceux fournis par les fabricants d'autres réactifs. [53] [54] [55] [56] [57] [58] [59] [60] [61]

Réactif	Temps de cephaline Activateur des autres réactifs (1)	Temps de cephaline Activateur de CK-prest (2)	M1	S1	M2	S2	P
Cypressdignostics®	25- 43sec	24,17- 35,81 sec	34	4,5	29,99	2,918	<0,0000001
Spinreact®	24-36 sec	24,17- 35,81 sec	30	3	29,99	2,918	0,95
Actin° FS®	25-33 sec	24,17- 35,81 sec	29	2	29,99	2,918	<0,0000001
Pathromtin°SL®	26-36 sec	24,17- 35,81 sec	31	2,5	29,99	2,918	<0,0000001
Biolabo®	30,8 – 35,4 sec	24,17- 35,81 sec	33,1	1,15	29,99	2,918	<0,0000001
Actin®	25-35 sec	24,17- 35,81 sec	30	2,5	29,99	2,918	0,95
LIQUICELIN-E®	22-35 sec	24,17- 35,81 sec	28,5	3,25	29,99	2,918	<0,0000001
PTT-A Stago®	28.6-38.1 sec	24,17- 35,81 sec	33,3 5	2,37 5	29,99	2,918	<0,0000001
Cephascreen Stago®	23.6-34.8 sec	24,17- 35,81 sec	29,2	2,28	29,99	2,918	0,000001420
T caog®	27- 39 sec	24,17- 35,81 sec	33	3	29,99	2,918	<0,0000001
HELENA®	20.7 - 32.7 sec	24,17- 35,81 sec	26,7	3	29,99	2,918	<0,0000001

c. Fibrinogène :

Tableau 18 : Comparaison de l'intervalle de référence du fibrinogène obtenu avec ceux Fournis par les fabricants d'autres réactifs. [62] [63] [64] [65] [66] [67] [68]

Réactif	Taux de fibrinogène des autres réactifs (1)	Taux de fibrinogène de fibri – prest(2)	M1	S1	M2	S2	P
Spinreact®	2- 4 g/l	2,01-4,03g/l	3,02	0,505	3	0,5	0,5
Innovin®	2-4 g/	2,01-4,03g/l	3,02	0,505	3	0,5	0,5
Dade°Innovin®	2-4,2g/	2,01-4,03g/l	3,02	0,505	3,1	0,55	0,015
Biolabo®	1,5-4 g/l	2,01-4,03g/l	3,02	0,505	2,75	0,625	<0,0000001
Thromborel S®	1,9-4 g/l	2,01-4,03g/l	3,02	0,505	2,95	0,525	0,02912
Bio-Med®	1,5-4 g/l	2,01-4,03g/l	3,02	0,505	2,75	0,625	<0,0000001
RecombiPlasTin 2G®	2,22-3,40 g/l	2,01-4,03g/l	3,02	0,505	2,81	0,295	<0,0000001
Dade®	1,8- 3,5 g/l	2,01-4,03g/l	3,02	0,505	2,65	0,425	<0,0000001

III. Discussion :

Sélectionner un groupe de référence composé d'individus sains conformément à des critères bien définis est la tâche la plus difficile lors de l'établissement des intervalles de référence. La sélection d'un échantillon consiste à choisir des individus de référence aussi comparables que possible aux patients, mis à part leur maladie (donc pour l'âge, le sexe, les conditions de vie, ...). C'est pour cela qu'on a choisi de faire cette étude sur les donneurs de sang recrutés après une sélection médicale

On déplore toutefois deux biais :

- *Le premier vient du fait que seuls les adultes ont été échantillonnés dans cette étude prospective. Ce choix a été forcé par la population choisie, car un donneur de sang doit avoir un âge compris entre 18 et 65ans. De ce fait on a pu déterminer les intervalles de référence du TQ, TCK et du fibrinogène seulement chez les adultes.

*Le second biais est le ratio femme /homme proche de 0 (sexe ratio H/F= 11,31) dans le groupe de référence.

Cette constatation résulte du fait que les hommes donnent leur sang plus que les femmes, cependant aucune partition des intervalles de référence du TQ, TCK et du fibrinogène en fonction du sexe n'a été signalée auparavant.

*Les intervalles de confiance à 90% des limites de référence par une méthode paramétrique se déterminent à l'aide de 120 sujets. 517 donneurs ont été inclus dans cette étude, soit 397 prélèvements supplémentaires aux prévisions initiales du protocole afin d'atteindre une meilleure précision de l'intervalle de référence associée à des intervalles de confiance à 95%. Nos résultats sont toutefois particulièrement satisfaisants, en comparaison avec d'autres études publiées. [69]

Le contrôle des facteurs pré-analytiques est essentiel pour minimiser leur effet éventuel sur les résultats chiffrés et donc sur l'interprétation clinique.

Les conditions pré-analytiques de cette étude ont été choisies selon les recommandations établies par le GEHT en biologie clinique pour toutes les étapes concernant le prélèvement sanguin. [18]

Les prélèvements ont été effectués sur des tubes citratés en verre type vacutainer® contenant du citrate à 3,2%, au niveau du Centre de transfusion sanguine puis acheminés au laboratoire des urgences médico-chirurgicales du CHU de Blida. Le temps de trajet des échantillons pour rejoindre le laboratoire et leur analyse a été pris en compte et les intervalles de référence déterminés sont spécifiques de ce type de tube.

Les plasmas ont été congelés après une double centrifugation. Par manque de réactif. Or la détermination du bilan standard d'hémostase des patients analysés au laboratoire se fait immédiatement après l'acheminement des prélèvements. Néanmoins, le respect des conditions de centrifugation et de congélation à minimiser le risque d'erreur.

Dans notre étude, les conditions de prélèvements ne sont pas exactement celles rencontrées en pratique (prélèvement sans garrot à l'aide de l'aiguille du dispositif de prélèvement de la poche, remplissage du tube citraté à partir de la poche annexe) mais il n'aurait pas été possible de trouver un échantillon en bonne santé, en si peu de temps, dans un unique centre hospitalier.

D'après la littérature, les valeurs du TQ, TCA et du fibrinogène varient selon les réactifs utilisés et selon le principe de la technique de mesure du temps de coagulation utilisé.

Cette étude a été réalisée avec les réactifs stago (Néoplastine Cl plus®, CK prest® et fibri-prest®) sur le semi-automate startstago®. Ces conditions correspondent à ce qui se fait en routine au niveau du laboratoire des urgences médico-chirurgicales.

L'interprétation des résultats se fait en tenant compte du processus de validation du processus analytique par un contrôle de qualité qui a pour objectif de détecter une anomalie pouvant impacter la fiabilité du résultat final. Pour cela deux niveaux de contrôle (contrôle normal et pathologique) ont été utilisés pour chaque paramètre et à chaque série de dosage afin de garantir l'exactitude et la justesse des résultats.

La détermination des intervalles de référence a été réalisée, selon les recommandations de l'IFCC-CLSI. [8] par une méthode paramétrique. [22] Celle-ci est réalisable dans la mesure où le nombre total d'individus de référence est supérieur à 120 et que seul un très faible nombre de valeurs aberrantes est mis en évidence sur les distributions initiales ou transformées. Une détermination complète des intervalles de référence aurait dû être réalisée en groupant les individus selon l'âge, mais cela implique que 120 individus au minimum pour chaque groupe de partition auraient dû être recrutés, ce qui aurait représenté un travail énorme et coûteux.

Les distributions de référence des trois paramètres étudiés sont statistiquement identiques à une distribution gaussienne.

Les intervalles de référence déterminés dans cette étude pour le TQ et le fibrinogène sont relativement proches de ceux décrits par le fabricant. En revanche, il existe une différence statistiquement significative en ce qui concerne l'intervalle de référence du TCK.

Dans les tableaux (16, 17,18) on a fait une comparaison pour chaque paramètre, entre les intervalles de référence établis dans notre étude et les intervalles de référence fournis par les fabricants de réactifs d'autres marques. On a retrouvé une différence statistiquement significative pour l'ensemble des paramètres avec la majorité des réactifs. Ceci est en accord avec la littérature qui décrit des différences significatives dans les résultats des tests de coagulation qui pourraient être imputables à l'utilisation de réactifs différents. [70]

Cela renforce l'idée que chaque laboratoire devrait déterminer ses propres intervalles de référence dans les conditions qui lui sont spécifiques.

Il a été rapporté que la sensibilité des tests de coagulation est en relation avec la composition du réactif.

La constitution des thromboplastines en phospholipide influence le temps de quick en affectant différemment les efficacités catalytiques du FT-FVIIa et le complexe prothrombinase (Xa-Va). Le temps de coagulation dépend de l'assemblage séquentiel des deux complexes de facteurs sur les phospholipides ; FT- FVIIa et la prothrombinase qui n'ont pas la même exigence optimale en phospholipide.

Pour le dosage des facteurs de la coagulation, le taux de phosphatidyl sérine modifie la réponse de la thromboplastine au FVII et au FII (plus la composition en PS est élevée plus la

thromboplastine présente une sensibilité moyenne au FVII et une sensibilité faible au facteur II). Les thromboplastines dépourvues de phosphatidyl éthanolamine ont une sensibilité élevée au FVII, moyenne au FX, faible aux facteurs V et II.

Les thromboplastines contenant du facteur tissulaire recombinant (recombiplastin et innovin) sont plus sensibles à la carence en FVII que les thromboplastines à base de tissu (néoplastine Cl+, thromborel). [71]

Pour le Temps de Céphaline activateur, le ratio TCA de l'activité anti-Xa des malades sous héparine est variable selon le type de céphaline. [72]

La réactivité des céphalines aux facteurs de la voie endogène est variable selon le réactif utilisé. [73]

La sensibilité de la céphaline aux anticoagulants type lupique dépend de sa concentration en PL (réactifs faiblement concentrés en PL (ActinFSL, PTT-LA) sensibles aux LA).[74]

L'objectif de la détermination de valeurs de référence est de fournir une base solide pour l'interprétation des résultats de laboratoire obtenus en routine pour des examens complémentaires inclus dans une démarche diagnostique. Chaque laboratoire doit déterminer les intervalles de référence des réactifs qui assurent une sensibilité optimale pour les besoins du dépistage des déficiences en facteurs et des anticoagulants de type lupique ainsi que du suivi de l'anticoagulothérapie.

Conclusion :

Le temps de quick, le temps de céphaline avec activateur et le dosage de fibrinogène regroupés dans le bilan standard de l'hémostase sont des tests de routine très demandé dans le cadre de l'exploration de la coagulation.

Leur réalisation est facile grâce aux matériels et réactifs disponibles.

Cependant un résultat fiable, nécessite la maîtrise des différents facteurs pouvant influencer la qualité de ces tests

De ce fait, le respect des recommandations du GEHT des différentes étapes allant du prélèvement de sang jusqu'à l'analyse biologique s'impose.

L'interprétation correcte du bilan de coagulation, se fait en tenant compte des réactifs que l'on a utilisés et des valeurs de références qu'on doit déterminé.

Alternative au concept ambigu qu'est la valeur normale, les intervalles de référence ont été définis pour décrire les variations de mesures de concentration d'analytes sanguins dans un groupe d'individus bien caractérisés et selon des conditions pré-analytique et analytique bien définies en suivant les recommandations internationales de CLSI.

Cette étude effectuée sur 517 donneurs de sang en bonne santé, détermine les intervalles de référence du TQ, TCA et du FIB chez l'adulte, par une méthode paramétrique selon les recommandations de l'IFCC-CLSI.

Elle démontre l'importance de réaliser les intervalles de référence des différents paramètres dans les mêmes conditions, localement au niveau de chaque laboratoire.

Références Bibliographiques

- [1] : SAMAMA M.M., ELALAMY I., CONARD J., ACHKAR A., HORELLOU M.-H., Hémorragies et Thrombose: du diagnostic aux traitements, 2ème édition Elsevier Masson 2009.
- [2] : T. de Revel, K. Doghmi. Physiologie de l'hémostase, EMC-Dentisterie 1 (2004), ElsevierSAS, p
- [3] : Jean-Paul LÉVY, Bruno VARET, Jean-Pierre CLAUVEL, François LEFRÈRE, Annie BEZEAUD, Marie-Claude GUILLIN. Hématologie et transfusion. ELSEVIER MASSON S.A.S. Masson, Paris, 2001
- [4] : JP Cambus, PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE. Module Cardiovasculaire PCEM II Ranguel 2002
- [5] : A. Bezeaud, MC .Guillin .Physiologie de la coagulation .EMC (editions scientifiques et medicaleseelseiversas, Paris) 13-019-A-20 HEMATOLOGIE 2001 p
- [6] : Sébastien Lachot, ClaireEspanel, Claire Pouplard. Coagulation plasmatique: Méthodes d'exploration, Revu en août 2006.
- [7] : J.-F. SCHVED, C. SARLAT et J.-C. GRIS : Recommandations pratiques pour la réalisation des tests d'hémostase : du prélèvement au contrôle de qualité. n°272, Revuefrancais des laboratoires, janvier 1995.
- [8] : Recommandation pour le prélèvement de l'hémostase : recommandation CLSI(NCCLS) decembre 2003, doc. H1-A5, vol 23, N°33 et GEHT 2007.
- [9] : Stéphane BERTHÉLÉMY Le bilan d'hémostase et de coagulation, Actualités pharmaceutiques, Elsevier Masson SAS. 2014.
- [10] : Meyer Michel Samama, Carole émile : les conditions pré analytiques en hémostase. Hémostase et thrombose, cahier de formation biologie médicale n°20 septembre 2000.
- [11] : Brigitte BoutièreAlbanèse. Fibrinogène, Biologie médicale, Fibrinogène EM, Elsevier SAS.2003, p-, [90200085].
- [12] : Bezeaud A et Guillin MC. Exploration de la coagulation. EncyclMédChir(Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Hématologie, 13-019-A-25,2001, 3.
- [13] : Carole Emile, d'après une communication de Laurence Pellegrina, Biomnis Lyon. <http://www.biomnis.com/specialites/hematologie/>
- [14] : <https://www.recherche-pdf.com/>
- [15] : Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalyticalvariability the darkside of the moon in laboratorytesting. ClinChemLab Med 2006;44: 358-65.

- [16] : Lippi G, Franchini M, Montagnana M, Salvagno GL, Poli G, Guidi GC. Quality and reliability of routine coagulation testing: can we trust that sample? *Blood, CoagulFibrinolysis* 2006;17: 513-9.
- [17] : (www.gbo.com/préanalytiques)
- [18] : LEBLANC ROSE-MARIE, Le pré-analytique en hémostase et les recommandations du Groupe d'Étude sur l'Hémostase et la Thrombose (GEHT), 20 avril 2009, N° 417.
- [19] : J.-F.Schved. Les Variables preanalytiques en Hémostase : Recommandations du GEHT. STV n°10 .10 février 1998. 50 F-ISSN n°0999-7385
- [20] : Kozik-Jaromin J, Nier V, Heemann U, Kreyman B, Böhrer J: Citrate pharmacokinetics and calcium levels during high-flux dialysis with regional citrate anticoagulation *Nephrology Dialysis Transplantation* 2009, 24:2244–2251.
- [21] : Alain F. GOGUEL, Cahier de formation de biologie médicale, n°1 février 1995, bioforma 230 bd Raspail 75014 Paris.
- [22] : Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec .HEMOSTASE, REGLES DE PRATIQUES, Deuxième édition, Montréal (Québec) H2T 1G2. Mai 2008.
- [23] : S.Kitchen, JD Olson, E.Preston. Wiley-Blackwell Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis. 2009
- [24] : J.-C. Gris. Étapes préanalytiques en hémostase. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Biologie clinique, 2011.p 3- 4, 90-20-0033.
- [25] : FREYBURGER G., LABROUCHE S., L'automatisation en hémostase, *Revue Française des Laboratoires*, novembre 1996, N°288
- [26] : <http://www.orbio.fr/canides-felides/analyses/hemostase/134-temps-de-quick.html>
- [27] : <http://www.stago.fr/1-hemostase/tests-clinique/bilan-pre-operatoire/comment-interpreter-les-resultats-du-bilan-dhemostase-preoperatoire/>
- [28] : Christophe NOUGIER, Bilan de coagulation standard principes, pièges techniques, points pratiques et interprétation critique des résultats, Laboratoire d'Hématologie Hôpital E.Herriot, Lyon Centre de Biologie Pathologique Est, Bron, DIU BIOCHIMIE ET TECHNIQUES d'EXPLORATION DE L'HEMOSTASE 2015
- [29] : Pr François Mullier, Pr Bernard Chatelain. Choix des réactifs et de l'instrumentation en hémostase, Formation continue des technologues de laboratoire « Coagulation et hémostase » NTHC, HELHaFleurus, avril 2015
- [30] : Brigitte Boutière-Albanèse. Temps de céphaline plus activateur. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Biologie médicale [90-20-0170], 2003.
- [31] : Sara Pourshahrestani, Ehsan Zeimaran, Ivan Djordjevic, Nahrizul Adib Kadri, Mark R. Towler *Inorganic hemostats: The state-of-the-art and recent advances* 0928-4931/© 2015

Elsevier B.V. All rights reserved. S. Pourshahrestani et al. / Materials Science and Engineering C 58 (2016) 1255–1268

[32] : E. Finotto A. Lombardi L. Preda G. Semprini Glossaire coagulation Partie. No 98083-65 - Rev. 1.1

[33] : Susan M. Cotter Comparative Transfusion Medicine International Standard book number : 0-12-039236-4

[34] : <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0074043>

[35] : Ratnoff O.D. and Crun J.D : Activation of Hageman Factor by solution of ellagic acid, J. Lab. Clin. Med. 1964, 63(3), 359-377

[36] : Espana F. and Ratnoff O.D : The role of Prekallikrein and high-molecular weight kininogen in the contact activation of Hageman Factor (factor XII) by sulfatides and other agents, J. Lab. Clin. Med., 1983, 102 (4), 487-499

[37] : Ratnoff O.D. and Saito H. : The evolution of clot-promoting and amidolytic activities in mixtures of Hageman factor (factor XII) and ellagic acid, J. Lab. Clin. Med. 1982, 100 (2), 248-260

[38] : Gouin-Thibaut et al. Thrombosis Research 129 (2012) 666-667.

[39] : Fritsma GA et al. Recommendations for appropriate Activated Partial Thromboplastin Time Reagent Selection and Utilization. Am J Clin Pathol 2012; 137:904-908.

[40] : GUIDE TECHNIQUE D'ACCREDITATION EN BIOLOGIE MEDICALE, Document SH GTA 0,1 Révision 01, Section Santé humaine

[41] : <https://www.vidal.fr/infos-pratiques/id10442.htm>.

[42] : S. Kitchen, A. McCraw, M. Echenagucia. Le diagnostic de l'hémophilie et des autres troubles de coagulation, MANUEL DE LABORATOIRE, Deuxième édition, FÉDÉRATION MONDIALE DE L'HÉMOPHILIE 1425 Boulevard René Lévesque Ouest, Suite 1010 Montréal (Québec) H3G 1T7 CANADA (2010)

[43] : SAMPOL J., ARNOUX D., BOUTIERE B.: "Manuel d'hémostase". Paris: Editions Scientifiques et médicales Elsevier, 147-163, 1995.

[44] : SAMAMA M., CONARD J., HORELLOU M.H., LECOMPTE T.: "Physiologie et exploration de l'hémostase". Paris: Doin, 123-137, 153-155, 1990.

[45] : LEVIN HILLMAN C.R., LUSHER J.M.: "Determining the sensitivity of coagulation screening reagents: a simplified method". Lab. Med., 13, 3, 162-165, 1982.

[46] : J. Hirsh, J.E. Dalen, D. Deykin, L. Poller: Oral anticoagulants: mechanism of action, clinical effectiveness, and optimal therapeutic range. Chest 102, 1992, 312S-326S

- [47] : Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline, Document C28-A3; Vol. 28 No. 3.
- [48] : Clinical guide to laboratory Test, 4 th Ed. N.W. TIETZ (2006) p.928-929
- [49] : Loeliger EA, et al: Questions and answers on prothrombin time standardization in oral anticoagulant control. ThrombHaemostas 1985; 54:515-517.
- [50] : Poller L. The Prothrombin Time. WHO/LAB/98.3. 1998.
- [51] : Clinical Guide to Laboratory Test, 3rd Ed., N.W. TIETZ (1995) p.526-529
- [52] : Neofotistos D, Oropeza M., Ts'ao C-H : « Stability of plasma for add-on PT and PTT tests » Am. J. Clin. Pathol. 109, 6, 758-763, (1998)
- [53] : Angell RD et al .J. Lab Clin Med ; 41 :637 ;1953
- [54] : Bell W.et al .Nature ; 174 ; 880 ; 1954
- [55] : Wujastyk,J., Triplett D.A.:Selecting Instrumentation and Reagents for the Coagulation Laboratory. Pathologist 37:398 (1983).
- [56] : Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p.46-47
- [57] : Cawkwell R.D."Patient's age and APTT" Thromb. Haemostasis, 39, 780- 781, 1978
- [58] : CRC, Handbook Series in Clinical Laboratory, Science, Section 1:Haematology, Volume III, 1980. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- [59] : STA PTT-A. Determination of Activated Partial Thromboplastin Time", Package Insert for use in APTT determinations, revised February 2007.
- [60] : Brandt, J.T. and Triplett, D.A.: Laboratory monitoring of heparin. Effect of reagents and instruments on the activated partial thromboplastin time. Am. J. Clin. Pathol. 76 (suppl), 530 (1981).
- [61] : NCCLS, How to Define, Determine, and Utilize Reference Intervals in the Clinical Laboratory Proposed Guideline - C28P, 1992.
- [62] : Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- [63] : TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Curtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p.1133, 1145, 1740-41, 1813, 1846.
- [64] : Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p.404-405
- [65] : TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Curtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p.1133, 1145, 1740-41, 1813, 1846.
- [66] : Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p.404-405
- [67] : Thomas, L.: Labor und Diagnose (5. erw. Auflage), TH Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/ Main, 1998, 624 - 627

- [68] : Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline, Document C28-A3; Vol. 28 No. 3.
- [69] : étude de LEVIN HILLMAN C.R., LUSHER J.M.: “Determining the sensitivity of coagulation screening reagents: à simplified method”. Lab. Med., 13, 3, 162-165, 1982. 6.
- [70] : Testa S, Morstabilini G, Fattorini A, Galli L, Denti N, D’Angelo A. Discrepant sensitivity of thromboplastin reagents to clotting factor levels explored by the prothrombin time in patients on stable oral anticoagulant treatment: impact on the international normalized ratio system. Haematologica 2002; 87: 1265–73.
- [71] : Smith SA. Et al. Phospholipid composition controls sensitivity to individual clotting factors. J Thromb Haemost 2006; 4:820-7
- [72] : Gouin-Thibaut et al. Thrombosis Research 129 (2012) 666-667
- [73] : Bowyer AE Int. Jnl. Lab. Hem. 2011, 33, 154-158 ET autre reference Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis ». S.Kitchen, JD Olson, E.Preston. Wiley-Blackwell 2009
- [74] : Fritsma GA et al. Recommendations for appropriate Activated Partial Thromboplastin Time Reagent Selection and Utilization. Am J Clin Pathol 2012; 137:904-908.

Annexe

Résultats brutes d'analyse

DNR : Donneur

DNR	TQ (sec)	TP%	TCA (sec)	FIB (sec)	FIB (g/l)	DNR	TQ (sec)	TP%	TCA (sec)	FIB (sec)	FIB (g/l)
1	12,6	95	35,2	10,2	3,92	260	12,8	93	25,9	10,7	3,72
2	14,2	78	34,3	14,1	2,78	261	12,9	92	33,7	12,3	3,18
3	12,6	95	32,9	12,1	3,26	262	12,9	92	25,8	14,9	2,62
4	12,5	96	31,6	15,3	2,54	263	12,6	95	25,9	11,8	3,36
5	13,9	81	32,3	15,8	2,44	264	12,5	96	26,1	13,4	2,92
6	12,8	93	32,4	31,4	2,94	265	13,4	86,2	27,2	17,8	2,12
7	12,5	96	27,9	14,6	2,68	266	14,2	78	27,2	13,6	2,88
8	13,3	87,4	25,4	10,4	3,84	267	14,1	79	26,6	12,5	3,1
9	13,6	84	30,1	15,7	2,46	268	12,9	92	25,1	13,2	2,92
10	12,1	100	33,6	14,8	2,64	269	13,1	89,8	28,3	14,4	2,72
11	11,5	100	26,7	18,8	2,02	270	12,7	94	29,6	13,2	2,92
12	13,2	88,6	31,2	11,3	3,51	271	13,6	84	30,7	13,9	2,82
13	12,4	100	33,2	10,8	3,68	272	12,6	95	32,6	16,5	2,30
14	14,5	75	34	15	2,60	273	12,9	92	33,4	13,6	2,88
15	13,9	81	34,5	12,5	3,10	274	12,9	92	30,3	13,6	2,88
16	13,6	84	28,3	13,7	2,68	275	12,1	100	29,6	16,3	2,34
17	12,9	92	29,4	14,7	2,66	276	12,5	96	27,4	11,1	3,52
18	12,2	100	27,8	15,3	2,54	277	12,2	100	28,6	12,7	3,06
19	12,6	95	30,1	16,1	2,38	278	12,6	95	34,2	10,5	3,80
20	14,9	73,4	33,2	12,8	3,04	279	12,5	96	26,3	12,7	3,06
21	11,8	100	26,9	11,9	3,33	280	12,6	95	32,4	10,8	3,68
22	12,2	100	28,3	14,3	2,74	281	12,6	95	31,3	11,2	3,54
23	13,7	83	32,1	17,6	2,14	282	13	91	30,4	13,8	2,84
24	12,8	93	31,7	16,3	2,34	283	13,1	89,8	28,4	12,3	3,18
25	12	100	30,6	15,4	2,52	284	14,3	77	29,4	10,9	3,64
26	10,5	100	30	12	3,3	285	14,5	75	30,1	17,6	2,14
27	11,2	100	34,5	11,5	3,45	286	12,7	94	30,7	18,1	2,09
28	13,8	82	35	14,4	2,72	287	12,4	100	30,9	17,7	2,13
29	12,4	100	32,8	13,4	2,92	288	13,6	84	31,3	16,7	2,26
30	12,7	94	32,7	10	4	289	12,4	100	32,4	15,8	2,44
31	11,3	100	33,9	13,7	2,86	290	12,9	92	33,4	16,2	2,36
32	11,6	100	34,4	16,6	2,28	291	13,1	89,8	32,7	12,7	3,06
33	12,8	93	31,7	18,2	2,08	292	12,8	93	27,6	12,8	3,08
34	11,7	100	34,7	13	3	293	12,5	96	27,8	13,3	2,94
35	13,2	88,6	29,7	11,7	3,39	294	12,6	95	28,4	18,8	3,68
36	12,8	93	33,1	11,8	3,36	295	12,8	93	29,1	12,3	3,18
37	14,6	74,6	28,6	15,1	2,58	296	12,9	92	30,5	15,6	2,48
38	15	73	32,4	11	2,60	297	13	91	31,7	14,9	2,62
39	12,5	96	34	12,4	3,14	298	12,6	95	33,6	17,3	2,17
40	12,2	100	26,4	18,2	2,08	299	12,7	94	32,4	13,3	2,94
41	11,8	100	33	13	3	300	12,8	93,	26,7	13	3
42	13	91	34	13,5	2,90	301	13,6	84	25	17,8	2,12
43	12,8	93	25,6	12,8	3,04	302	12,9	92	29,3	12,9	3,02
44	14,7	74,2	32,4	15,6	2,48	303	13,9	81	28,2	13,9	2,82

45	13,5	85	31,5	17,5	2,15	304	13,5	85	29,3	15,4	2,52
46	12,4	100	30,2	12,3	3,18	305	12,5	96	31,7	11,5	3,45
47	12,6	95	28,2	12,7	3,06	306	12,3	100	32,4	13,7	2,86
48	13,5	85	30,4	11,1	3,57	307	12,4	100	33,4	14,2	2,76
49	11,9	100	30,1	12,1	3,26	308	12,9	92	34,1	15	2,60
50	12,1	100	30,4	10,1	3,96	309	12,7	94	30,4	13,1	2,98
51	12,6	95	25,9	13,6	2,88	310	12,3	100	32,5	11,7	3,39
52	13,8	82	32	12,8	3,04	311	12,2	100	32,5	11,7	3,39
53	13,2	88,6	30,9	11,2	3,54	312	12,4	100	26	10,6	3,76
54	12,1	100	33,6	17,1	2,19	313	12,8	93	27,3	15,3	2,54
55	13,7	83	32,7	12,6	3,08	314	12,8	93	26,4	13,2	2,96
56	14	80	33,9	13,7	2,86	315	12,5	96	25	12,9	3,02
57	13,7	83	27,3	11,8	3,36	316	12,3	100	33	16,5	2,30
58	12,5	96	32,8	11,4	3,48	317	12,3	100	31,8	12,8	3,04
59	13,9	81	28,4	14,8	2,64	318	12,9	92	34,4	12,9	3,02
60	14,4	76	30,6	15,7	2,46	319	13,8	82	30,3	10,8	3,68
61	13,5	85	29,4	12,7	3,06	320	11,9	100	27,5	11,9	3,33
62	14,	80	30,7	16,8	2,24	321	12,3	100	29,6	14,1	2,78
63	11,9	100	29,8	17,4	2,16	322	12,6	95	31,2	17,6	2,14
64	13,2	88,6	26,1	16,9	2,42	323	12,6	95	27,9	13,3	2,94
65	12,2	100	29,9	13,3	2,94	324	14,6	74,6	34,6	10,8	3,68
66	13,1	89,8	31,5	14,8	2,64	325	12,8	93	29,5	10,9	3,64
67	12,8	93	31,9	12,7	3,06	326	13,5	85	35	12,7	3,06
68	14,1	79	30,8	13,5	2,90	327	12	100	33,4	12,4	3,14
69	11,8	100	34,1	16,7	2,26	328	14,9	73,4	29,2	11,1	3,57
70	12,9	92	32,2	16,3	2,34	329	12,2	100	29,2	16,7	2,26
71	13,9	81	28	11,3	3,51	330	14	80	33,4	13,8	2,84
72	13,1	89,8	30,9	12,9	3,02	331	13,4	68,2	29	15,9	2,42
73	13,9	81	29,4	13,4	2,02	332	12,9	92	28,9	18,4	2,06
74	13,7	83	32,3	13,8	2,84	333	13,2	88,6	28,1	13,3	2,94
75	13	91	29,2	14,4	2,72	334	13,5	85	31,4	15,7	2,46
76	14,8	73,8	28,4	12,4	3,14	335	14,1	79	26,2	13	3
77	12,9	92	33,4	11,1	3,57	336	15	73	33,6	14	2,80
78	12,9	92	29,2	16,7	2,26	337	15	73	34,6	11,6	3,76
79	11,2	100	28,7	17,1	2,19	338	13,8	82	25,9	13,1	2,98
80	14,2	78	34,2	11,9	3,33	339	14,5	75	25,7	12	3,30
81	12,7	94	30,1	13,6	2,88	340	13,7	83	33,7	11,6	3,42
82	14,7	74,2	31,4	14,6	2,68	341	14,3	77	34,2	18,1	2,09
83	12,3	100	30,5	10,2	3,92	342	13,1	89,9	31	13,7	2,86
84	12,4	100	32,6	13,6	2,88	343	13,7	83	25,6	12,9	3,02
85	12,9	92	25	11,7	3,39	344	13,4	86,2	33,1	15,3	2,54
86	11,9	100	27,6	16,4	2,32	345	13,2	88,6	31,8	14,2	2,76
87	14,6	74,6	30,6	12,8	3,04	346	14,3	77	25	14,8	2,64
88	14,6	74,6	25	12,2	3,22	347	13,5	85	34,7	10,9	3,64
89	12,4	100	26,1	15,3	2,54	348	13,8	82	25,7	12,6	3,08
90	13,3	87,4	27,2	12,2	3,22	349	13,7	83	26,4	13,7	2,86
91	12	100	25	12,6	3,08	350	11,9,	100	28,6	17,4	2,16
92	12,8	93	27,4	12,4	3,14	351	12,3	100	27,3	16,7	2,26
93	13,2	88,6	31,4	18,3	2,07	352	14,2	78	32,3	12,8	3,04
94	13,5	85	29,6	16,8	2,24	353	12,5	96	34,8	13,7	2,86
95	12,2	100	30,6	15,2	2,56	354	13,5	85	29,6	11,1	2,57
96	12,6	95	32,4	14,7	2,66	355	12,6	95	25,6	17,4	2,16

97	11,7	100	29,6	17,7	2,13	356	13	91	29,8	18,4	2,06
98	11,2	100	26,1	12,1	3,26	357	13	91	31,6	17,6	2,14
99	11,5	100	32,2	10,9	3,64	358	12,6	95	27,6	17,4	2,16
100	11	100	31,9	11,2	3,54	359	12,5	96	26,3	16,3	2,34
101	12,1	100	28,2	18,1	2,09	360	13,7	83	30,6	17,3	2,17
102	12,6	95	25,6	16,9	2,22	361	13,8	82	27,2	18,6	2,04
103	12,6	95	32,4	12,00	3,3	362	12,2	100	27,5	17,4	2,16
104	11,7	100	31,1	13,6	2,88	363	13,8	88	27,5	13,4	2,92
105	14,7	74,2	30,7	17,1	2,19	364	13,6	84	31	16,5	2,30
106	12,7	94	29,8	14,3	2,74	365	12,2	100	34,2	17,3	2,17
107	13,6	84	27,9	14,8	2,64	366	11,4	100	26,5	17,4	2,16
108	15,0	73	34,3	16,1	2,38	367	12,6	95	32,4	13,8	2,84
109	14,8	73,8	26,8	11,1	3,57	368	13,3	87,4	26,5	17,5	2,15
110	13,7	83	28,8	14,7	2,66	369	13,9	81	33,1	17,6	2,68
111	12,8	93	28,7	11,4	3,48	370	13,4	86,2	27,3	14,3	2,74
112	14,2	78	32	13,2	2,96	371	14,7	74,2	29,8	14,3	2,74
113	13	91	25,9	13	3	372	13,7	83	30	12,1	3,26
114	11,2	100	26,2	16,1	2,38	373	13,4	86,2	31,1	16,7	2,26
115	12,8	93	25,7	13,6	2,88	374	13,3	87,4	27,4	18,5	2,05
116	13,3	87,4	25,5	15,6	2,48	375	14,1	79	27,7	11,4	3,48
117	12,4	100	26,5	10,9	3,64	376	14,5	75	30,9	16,4	2,32
118	13,6	84	27,8	12,4	3,14	377	13,8	82	28,7	17,5	2,15
119	13,9	81	27	18,1	2,09	378	11,6	100	25,7	14,5	2,70
120	12,5	96	30,1	16,7	2,26	379	14,4	76	29,1	17,8	2,12
121	13,7	83	29,1	12,1	3,26	380	12,4	100	30,6	13	3
122	13,3	87,4	28	12,8	3,04	381	12	100	32,6	17,8	2,12
123	13	91	27,7	13,5	2,90	382	13,8	82	31,6	16,4	2,32
124	13,1	89,8	25,7	13,3	2,94	383	12,4	100	31	14	2,80
125	13	91	27,8	12,7	3,06	384	13,9	81	28,2	18,3	2,07
126	12,5	96	27,2	12,8	3,04	385	14	80	28,5	12,6	3,42
127	12,3	100	33,3	12,1	3,26	386	11,9	100	29,7	16,9	2,22
128	11,6	100	34,7	17,4	2,16	387	12,6	95	30,7	16,9	2,22
129	11,9	100	33,3	16,8	2,24	388	12,7	94	32,5	14,1	2,78
130	13,5	85	33,8	17,5	2,15	389	13,8	82	31,8	11,1	3,57
131	13,9	81	34,3	13,5	2,90	390	13,6	84	31,6	13,3	2,94
132	12,6	95	31,4	15,8	2,44	391	14,5	75	27,3	11,3	3,51
133	13,6	84	30,5	16,7	2,26	392	13	91	30	15,8	2,44
134	12	100	32,5	15,4	2,52	393	11	100	32,3	17,8	2,12
135	12,6	95	32,6	17,8	2,12	394	12,5	96	27,1	12,8	3,04
136	12,8	93	34,1	18,4	2,06	395	12,6	95	30,5	17,4	2,16
137	11,6	100	31,3	14	2,80	396	13,6	84	27,4	18,4	2,06
138	13,1	89,8	25,4	13,2	2,96	397	13	91	27,7	12,5	3,10
139	14,1	79	28,4	16,3	2,34	398	13,1	89,8	29,2	17,5	2,30
140	11,9	100	33,8	14,2	2,76	399	12,9	92	29,3	13,7	2,86
141	13,4	86,2	28	14,7	2,66	400	14,3	77	28,3	16,5	2,30
142	13	91	27	13,8	2,84	401	13,6	84	28,8	12,1	3,26
143	12,8	93	28,7	15,1	2,58	402	12,8	93	26,7	17,4	2,16
144	12,5	96	28,7	14,3	2,74	403	13,7	83	26	13,5	2,80
145	12,6	95	29,2	16,3	2,43	404	13,7	83	31,4	15,8	2,44
146	12,6	95	33,1	12,8	3,04	405	12,7	94	32	13,4	2,92
147	13,3	87,4	33,3	17,9	2,11	406	12,4	100	33	17,6	2,14
148	11,6	100	32,1	14,7	2,66	407	12,6	95	32,4	16,7	2,26

149	13	91	28,3	15,3	2,54	408	13,2	88,6	32,7	13,2	2,96
150	13,4	86,2	29,9	16,7	2,26	409	13,3	87,4	33,6	17,2	2,18
151	11,9	100	25,1	13,9	2,82	410	12,9	92	26,4	12,2	3,22
152	12,9	92	26,4	16,9	2,22	411	13,7	83	29,4	16,9	2,22
153	13,4	86,2	29,4	14,1	2,78	412	13,5	85	27,8	12,8	3,04
154	12,6	95	28,7	17,3	2,17	413	13,4	86,2	33,8	17,3	2,17
155	12,3	100	28,1	16,9	2,22	414	13,2	88,6	31,3	16,9	2,22
156	14,4	76	28,1	15,9	2,42	415	13,8	82	29,2	11,5	3,45
157	15,1	72,2	34,7	13,1	2,98	416	14,9	73,4	25,6	17	2,2
158	12,4	100	26	12,7	3,06	417	12,9	92	31,8	12,4	3,14
159	12,7	94	27,6	16,8	2,24	418	15	73	26,9	12,5	3,12
160	14,7	74,2	33,1	17,8	2,12	419	11,6	100	25,5	16,7	2,26
161	13,8	82	34,7	14,7	2,26	420	13,3	87,4	26,8	14,8	2,64
162	12,7	92	32,3	18,8	2,02	421	13,5	85	28,3	16,1	2,38
163	13,1	89,8	28,2	16,1	2,38	422	12,8	93	32,2	16,6	2,28
164	11,7	100	29	13,4	2,92	423	11,9	100	31,3	11,4	3,48
165	12	100	30,5	12,9	3,02	424	12,9	92	33	17,4	2,16
166	14,5	75	33,8	16,1	2,38	425	12,6	95	31,2	18,1	2,09
167	12	100	52,9	13,4	2,92	426	12,3	100	32,3	18,5	2,05
168	11,9	100	32,5	16,2	2,36	427	12,7	94	33,7	12,4	3,14
169	12	100	29,8	13,4	2,92	428	13,3	87,4	29,9	13,1	2,98
170	12,7	94	32,5	17,4	2,16	429	13,4	86,2	29,5	14,5	2,70
171	12,9	92	26,3	16,3	2,34	430	13,1	89,8	27	13,6	2,88
172	13,1	89,8	31,8	11,3	3,51	431	12,9	92	28,7	17,4	2,16
173	11,9	100	25,5	12,5	3,1	432	12,2	100	28	17,8	2,12
174	13	91	25,6	13,4	2,92	433	13,2	88,6	28	17,9	2,11
175	10,9	100	32,5	17,7	2,13	434	13,5	85	27,6	16,3	2,34
176	12,1	100	35	18,3	2,07	435	12,7	94	26,2	15,9	2,42
177	12,3	100	32,6	18,5	2,05	436	12,9	92	28,2	12,3	3,18
178	12,4	100	34,8	17,4	2,16	437	12,5	96	25,4	16,1	2,38
179	12,5	96	29,9	14,9	2,62	438	11,7	100	26,9	12,4	3,14
180	12,7	94	31,2	12,3	3,18	439	13,2	88,6	30,6	12,6	3,08
181	12,5	96	29,7	16,1	2,38	440	13	91	28,3	13,4	2,92
182	14,1	79	33,7	18,2	2,08	441	12,6	95	25,5	12,4	3,4
183	13,2	88,6	33,4	15,4	2,52	442	13,7	83	27,9	17,6	2,14
184	13,2	88,6	27,6	13,6	2,88	443	13,5	85	28,9	18,2	2,08
185	12,9	92	27,4	12,7	3,06	444	12,5	96	25,1	16,4	2,32
186	12,2	100	27,1	14,9	2,62	445	13,4	86,2	25,7	13,2	2,96
187	12,4	100	29,8	10,6	3,76	446	13,8	88	29,4	17,2	2,18
188	14,6	74,6	27	10,04	3,84	447	14	80	28,3	18,1	2,09
189	12,3	100	26,4	12,6	3,08	448	14,7	74,2	29,9	16,5	2,30
190	12,4	100	30,7	11,7	3,39	449	12,3	100	31,4	15,3	2,54
191	12,2	100	25,4	17,3	2,17	450	13,2	88,6	28,2	11,9	3,33
192	14,9	73,4	26,7	14,1	2,78	451	12,4	100	31,1	13,1	2,98
193	13,2	88,6	30,2	11,4	3,48	452	12,9	92	28,7	15,3	2,54
194	12,5	96	34	17,7	2,13	453	12,8	93	27	14,9	2,62
195	12,7	94	32,2	11,2	3,54	454	12,9	92	31,4	13,2	2,96
196	14,4	76	29,2	16,2	2,36	455	14,2	78	30,7	14,7	2,66
197	12,9	92	30,5	17,1	2,19	456	13,3	87,4	31,3	12,8	3,04
198	12,6	95	32,5	16,9	2,22	457	12,6	95	31,7	16,1	2,38
199	15	73	31,7	11,9	3,33	458	13,9	81	26,4	13,1	2,98
200	12,7	94	28	11,4	3,48	459	13,9	81	28,3	16,4	2,32

201	12,5	96	30	13,9	2,82	460	13,6	84	27,1	11,8	3,36
202	13,5	85	33,7	11,7	3,39	461	14,6	74,6	26,4	12,4	3,14
203	12,3	100	30	14,6	2,68	462	14,7	74,2	29,3	11,5	3,45
204	12,6	95	27,9	15,6	2,48	463	13,7	83	28,1	17,8	2,12
205	14,3	77	30,7	14,5	2,7	464	13,9	81	27,3	16,9	2,22
206	14,6,	74,6	32,4	14,1	2,78	465	11,9	100	26,4	13,2	2,96
207	12,7	94	32,8	11,2	3,54	466	12,6	95	29,1	17,4	2,16
208	12,8	93	26,3	11,6	3,42	467	12,8	93	28,2	16,4	2,32
209	13	91	32,8	12,3	3,18	468	13,3	87,4	26,7	12,4	3,14
210	13,2	88,6	27,4	13,1	2,98	469	14,1	79	25,3	13,6	2,88
211	13,7	83	28,1	14,6	2,68	470	11,9	100	27,8	15,7	2,46
212	14,2	78	29,6	13,1	2,98	471	12,7	94	32,6	16,8	2,24
213	13,1	89,8	27,4	18,8	2,02	472	13,1	89,8	30,7	14,8	2,64
214	13,2	88,6	29,1	15,7	2,46	473	14,2	78	31,8	17,1	2,19
215	12,7	94	34,7	13,6	2,88	474	12,8	93	25,4	11,7	3,39
216	12,8	93	25,9	12,7	3,06	475	12,6	95	29,3	12,3	3,18
217	15	73	31,7	14,7	2,66	476	13,1	89,8	28,4	12,5	3,10
218	14,2	78	33,3	13,8	2,84	477	12,9	92	31,3	16,3	2,34
219	12,7	94	26,5	12,2	3,22	478	13,8	82	33,4	15,7	2,46
220	13,8	82	27,8	11,8	3,36	479	14,2	78	34,1	14,1	2,78
221	12,1	100	26,3	13,4	2,92	480	12,6	95	26,7	11,8	3,36
222	12,7	94	32,8	14,2	2,76	481	12,7	74	29,3	13,1	2,98
223	12,9	92	29,6	16,5	2,30	482	12,8	93	27,4	12,7	3,06
224	12,5	96	25,2	16,6	2,28	483	13,3	87,4	28,4	17,2	2,18
225	12,5	96	31,4	15,6	2,48	484	13,7	83	30,6	18,1	2,09
226	12,2	100	27,2	11,7	3,39	485	12,8	93	31,3	10,9	3,64
227	12,7	94	27,6	16,6	2,28	486	14,2	78	32,4	12,3	3,18
228	12,9	92	33,7	12,1	3,26	487	14,7	74,6	33,4	17,1	2,19
229	14,8	73,8	31,9	18,3	2,07	488	14,8	73,8	32,8	15,5	2,50
230	13,2	88,6	34,9	15,8	2,44	489	12,3	100	27,4	16,5	2,30
231	12,4	100	32,3	11,8	3,36	490	11,9	100	26,3	10,3	3,88
232	11,8	100	32,9	13,2	2,96	491	13,1	89,8	29,7	17,6	2,14
233	12,4	100	32,1	16,8	2,24	492	13,1	89,8	31,3	12,5	3,1
234	12,3	100	31,5	16,3	2,34	493	12,9	92	27,3	13,7	2,86
235	12,6	95	25,9	11,3	3,51	494	12,8	93	26,4	14,5	2,70
236	12,8	93	30,5	17,4	2,16	495	14,1	79	32,4	10,2	3,82
237	12,9	92	31	13,6	2,88	496	12,7	94	28,3	17,1	2,19
238	13,2	88,6	33,4	14,7	2,66	497	13,1	89,8	30,4	16,3	2,34
239	12,9	92	33,6	13,9	2,82	498	13,2	88,6	31,6	14,9	2,62
240	12,5	96	29,6	14,7	2,66	499	14,1	79	33,7	13,1	2,98
241	12,9	92	33	11,6	3,42	500	13,9	81	32,6	12,9	3,02
242	13,5	85	34,2	13,8	2,84	501	12,8	93	26,4	11,3	3,51
243	12,4	100	31,3	13,4	2,92	502	13,9	81	28,9	16,7	2,26
244	12,1	100	29,8	12,5	3,1	503	14,1	79	31,7	17,1	2,19
245	13,1	89,8	26,8	11,8	3,36	504	14,6	74,6	33,4	18,1	2,09
246	12,7	94	28	17	2,20	505	12,7	94	27,6	13,4	2,92
247	13,1	89,8	30,7	18,5	2,05	506	13,6	84	31,4	12,1	3,26
248	12,5	96	29,3	10,4	3,84	507	12,9	92	28,4	11,7	3,39
249	12,6	95	27,3	10,9	3,64	508	11,5	100	26,5	17,1	2,19
250	12,5	96	29,7	14,3	2,74	509	13,8	82	32,4	10,8	3,68
251	12,5	96	28,6	10,9	3,64	510	12,7	94	27,5	11,7	3,39
252	12,6	95	27,8	11,9	3,33	511	12,9	92	28,5	12,5	3,10

253	13,3	87,4	32	16,9	2,22	512	13,8	82	31,5	12,8	3,04
254	13,1	80,8	28,1	12	3,30	513	14,3	77	33,5	12,9	3,02
255	13,2	88,6	30,8	16,8	2,24	514	14,9	73,4	32,9	14,5	2,70
256	12,8	93	32,9	17,9	2,11	515	13,6	84	31,9	15,3	2,54
257	12,9	92	27,7	13,7	2,86	516	13,2	88,6	32,9	16,7	2,26
258	12,7	94	27,1	12,6	3,08	517	13,1	89,8	30,7	15,5	2,50
259	12,5	96	27,4	14,3	2,74						

Résumé :

Le temps de quick, le temps de céphaline-activateur et le dosage du fibrinogène regroupés dans le bilan standard de l'hémostase, sont des tests de routine demandés dans le cadre de l'exploration de la coagulation. Cependant leur interprétation correcte se fait en tenant compte des intervalles de référence.

L'objectif de ce travail, est de déterminer les intervalles de référence du TQ, TCK et du fibrinogène au niveau du laboratoire des urgences médicochirurgicales du CHU Frantz Fanon de Blida.

Cette étude effectuée sur 517 échantillons, détermine les intervalles de référence de ces paramètres par une méthode paramétrique selon les recommandations du CLSI.

Elle démontre l'importance de réaliser les intervalles de référence des différents paramètres localement au niveau de chaque laboratoire.

Mots clés : Hémostase, Coagulation, Temps de Quick, Taux de prothrombine, Temps de céphaline Kaolin, Fibrinogène, Intervalle de référence

Abstract:

The prothrombin time, the partial thromboplastin time (activated partial thromboplastin time) and the determination of fibrinogen grouped together in the standard haemostasis assessment are routine tests required in the context of exploring coagulation. However, their correct interpretation is done taking into account the reference intervals.

The objective of this work is to determine the reference intervals for PT, aPTT and fibrinogen in the medical and surgical emergencies laboratory of the Frantz Fanon University Hospital of Blida.

This study, carried out on 517 samples, determines the reference intervals of these parameters by a parametric method according to CLSI recommendations.

It demonstrates the importance of carrying out the reference intervals of the different parameters locally at the level of each laboratory.

Keywords: Haemostasis, coagulation, prothrombin time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen, and reference interval.

ABDELLATIF Younes	BELKADI Amar	BENLAKEHAL Abderahmane
Younes90098@gmail.com	Amarbelkadi082@gmail.com	Abdou.bkl41@gmail.com

<p><u>Résumé :</u></p> <p>Le temps de quick, le temps de céphaline-activateur et le dosage du fibrinogène regroupés dans le bilan standard de l'hémostase, sont des tests de routine demandés dans le cadre de l'exploration de la coagulation. Cependant leur interprétation correcte se fait en tenant compte des intervalles de référence.</p> <p>L'objectif de ce travail, est de déterminer les intervalles de référence du TQ, TCK et du fibrinogène au niveau du laboratoire des urgences médicochirurgicales du CHU Frantz Fanon de Blida.</p> <p>Cette étude effectuée sur 517 échantillons, détermine les intervalles de référence de ces paramètres par une méthode paramétrique selon les recommandations du CLSI.</p> <p>Elle démontre l'importance de réaliser les intervalles de référence des différents paramètres localement au niveau de chaque laboratoire.</p>	<p><u>Abstract:</u></p> <p>The prothrombin time, the partial thromboplastin time (activated partial thromboplastin time) and the determination of fibrinogen grouped together in the standard haemostasis assessment are routine tests required in the context of exploring coagulation. However, their correct interpretation is done taking into account the reference intervals.</p> <p>The objective of this work is to determine the reference intervals for PT, aPTT and fibrinogen in the medical and surgical emergencies laboratory of the Frantz Fanon University Hospital of Blida.</p> <p>This study, carried out on 517 samples, determines the reference intervals of these parameters by a parametric method according to CLSI recommendations.</p> <p>It demonstrates the importance of carrying out the reference intervals of the different parameters locally at the level of each laboratory.</p>
<p>Mots clés : Hémostase, Coagulation, Temps de Quick, Taux de prothrombine, Temps de céphaline Kaolin, Fibrinogène, Intervalle de référence</p>	<p>Keywords: Haemostasis, coagulation, prothrombin time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen, and reference interval.</p>