

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière Sciences Biologiques

Option : Génétique

Thème

THROMBOSES ARTERIELLES POST-COVID

Présenté par :

- ABRICHE SARRA

- BOURKAIB GHIZLENE

Devant le jury :

| | Grade / Lieu | Qualité |
|-----------------|--------------|--------------|
| Mme BENCHABANE | USDB1 | Présidente |
| Mme ZERROUTI | USDB1 | Examinatrice |
| Mme GUESSAIBIA. | USDB1 | Promotrice |

Promotion : 2021-2022

Remerciements

Merci à Allah

Gloire et pureté à lui, le miséricordieux, le généreux, le tout exaltant, le créateur et maître des univers, le seul et unique dieu des univers qui nous a inspiré et aidé à compiler ce travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements avec un grand plaisir et un grand respect à notre promotrice Mme Guessaibia Nadia pour ses conseils, sa disponibilité et ses encouragements qui nous ont permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

Nos vifs remerciements vont aux membres de jury Mme Zerrouiti et Mme Benchabane pour avoir accepté de juger notre travail, nous exprimons de même notre gratitude envers tous ceux qui nous ont accordé leur soutien, tant par leur gentillesse que par leur dévouement.

Un grand merci à notre chef d'option Mr Remdane Mohamed Said professeur à l'université de Blida 1 en particulier ainsi que tous les autres enseignants de notre faculté.

Nous aimerions exprimer notre gratitude à tous les chercheurs et spécialistes du CHU Frantz Fanon (TOT service de chirurgie vasculaire), dont figure Mme Pr Ounas, le Pr AZZI, Mme Pr Ben allal, Mme Pr Chemllal, et sans oublier Dr Boudis celle qui nous a aidé en manipulation au laboratoire. Pour un grand merci à eux pour avoir pris de leur temps à nous aider dans notre recherche. Chacun de ces échanges nous ont aidés à faire avancer notre analyse.

Nous remercions évidemment nos familles, à savoir nos parents, nos sœurs, et nos frères qui nous ont soutenus tout au long de ce périple et auxquels on dédie ce travail, ainsi que tous nos amis.

Dédicace

Grâce à Dieu le tout puissant, j'ai achevé la
Réalisation de ce modeste travail que je tiens très
Chaleureusement à le dédier à :

✦ Mes chers parents qui m'ont toujours
Encouragée et soutenu tout au long de mes
Études et pour leurs patience que Dieu les
Protègent et les gardes à moi.

✦ A mon cher frère et à mon adorable sœur que j'aime tellement
Et à mes très chers amis et camarades dont figure Ahmed, Nesrine, Youcef, Khadîdja, Adlene,
Lilia ... la liste est tellement longue sans bien sur oublier les autres personnes tellement chères à
mon cœur pour tous les moments passés ensemble ainsi que nos moments d'échanges et de
débat un grand merci pour toutes ces personnes en or qui m'ont toujours soutenue.

Dédicace

Je dédie ce travail premièrement à mes parents pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leur encouragement et tout l'aide qu'ils m'ont toujours apporté durant mes études. Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien être.

À mes frères KHALIL et IBRAHIM pour tous vos encouragements et pour ma chère sœur
IBTISSEM.

À ma nièce AYA SOPHIA ma source de joie et le sourire.

À mes cousins RAZIK et DALEL qu'il étaient toujours à mes côtés.

À mon amie d'enfance NORHEN,

À tous mes collègues et mes amies

Résumé :

Alors que la COVID-19 était considérée comme une maladie infectieuse pulmonaire, les données se sont accumulées pour confirmer le caractère systémique et hypercoagulable de cette maladie, pouvant causer notamment une pathologie grave, la thrombose artérielle, cette dernière se définit essentiellement par l'obstruction d'une artère irriguant un organe.

Dans notre travail on se propose d'étudier les séquelles d'une infection antérieure à la COVID-19 notamment en ce qui concerne les thromboses artérielles.

Pour cela, nos objectifs ont été de déterminer les facteurs qui conduisent à l'apparition des thromboses artérielles post covid, que nos patients atteints de thromboses ne présentent pas une infection récente au SARS CoV-2 par la méthode RT-PCR, de déterminer les facteurs de risques qui conduisent à l'apparition des thromboses artérielles post-covid., et quel serait le variant SARS-CoV-2 qui serait le plus susceptible de provoquer une thrombose chez nos patients ?

Nos résultats démontrent une prédominance masculine (80% hommes, et 20 % femmes), les comorbidités sont 60% hypertendus, 10% obèses, 63.3% diabétiques, et 16.7% dyslipidémiques.

Une infection antérieure à la covid-19 aurait un impact important dans le développement des thromboses artérielles.

Mots clés : thrombose - covid-19 - variants - ischémie - obstruction - artères.

Abstract

While COVID-19 was considered an infectious lung disease, data has accumulated to confirm the systemic and hypercoagulable nature of this disease, which can cause in particular a serious pathology, arterial thrombosis, the latter is essentially defined by the obstruction of an artery supplying an organ.

In our work, we propose to study the sequelae of a previous infection with COVID-19, particularly with regard to arterial thrombosis.

For this, our objectives were to determine the factors that lead to the appearance of post covid arterial thrombosis, That our patients with thrombosis do not have a recent SARS coV2 infection by the RT-PCR method, To determine the risk factors which lead to the appearance of post-covid arterial thrombosis., Which SARS-coV2 variant would be most likely to cause thrombosis in our patients?

Our results demonstrate a male predominance (80% men, and 20% women), the comorbidities are 60% hypertensive, 10% obese, 63.3% diabetic, and 16.7% dyslipidemic.

A previous infection with covid-19 would have a significant impact in the development of arterial thrombosis.

Keywords: thrombosis - covid-19 - variants - ischemia - obstruction - arteries.

الملخص

بينما كان يعتبر 19-COVID مرضاً رئوياً معدياً ، فقد تراكمت البيانات لتأكيد الطبيعة الجهازية والمفرطة للتخثر لهذا المرض ، والتي يمكن أن تسبب بشكل خاص أمراضاً خطيرة ، تجلط الشرايين ، ويتم تعريف هذا الأخير بشكل أساسي من خلال انسداد الشريان الذي يغذي الجسم. عضو.

في عملنا ، نقترح دراسة عواقب الإصابة السابقة بـ 19-COVID ، لا سيما فيما يتعلق بتجلط الشرايين.

لهذا الغرض ، كانت أهدافنا هي تحديد العوامل التي تؤدي إلى ظهور تجلط الدم الشرياني التالي للفيروس ، وأن مرضانا الذين يعانون من تجلط الدم لا يعانون من عدوى السارس 2COV الحديثة بواسطة طريقة RT-PCR ، لتحديد عوامل الخطر التي تؤدي إلى ظهور تجلط الشرايين بعد كوفيد. ، ما هو متغير SARS-2coV الذي من المرجح أن يسبب تجلط الدم لدى مرضانا؟

تظهر نتائجنا غلبة للذكور (80% رجال ، و 20% نساء) ، والأمراض المصاحبة هي ارتفاع ضغط الدم بنسبة 60% ، و 10% بدناء ، و 63.3% سكري ، و 16.7% عسر شحميات.

سيكون للإصابة السابقة بـ 19-covid تأثير كبير في تطور تجلط الدم الشرياني.

الكلمات المفتاحية: جلطة - كوفيد - 19 - متغيرات - نقص تروية - انسداد - شرايين.

Liste des tableaux

- Tableau I**: Comparaison et analyse du virus SARS-CoV-2, SARS et MARS.(Faisal et al,2020).
- Tableau II**:tableau récapitulatif des principaux symptômes (aventis2021).
- Tableau III** : tableau récapitulatif de la programmation du thermocycleur.
- Tableau IV** :la repartition des paients selon le sexe.
- Tableau V** : Les comorbidités associées :
- Tableau VII**: Répartition des variants du SARS-CoV-2
- Tableau VIII** la répartition des patients selon la gravité d'une infection ancienne au SARS-CoV-2

Liste des figures

- Figure 01:**Taxonomie des CoVs.(Norma et Raúl,2020).
- Figure 02:**Structure du SARS-CoV-2.(Norma et Raúl,2020).
- Figure 03:**Organisation génomique du SARS-CoV-2(Lefevre *et al*,2020)
- Figure 04:**Modèle de structure secondaire du 5'-UTR de SARS-CoV-2.(Miao *et al*, 2021).
- Figure 05:**l'organisation et le traitement protéolytique des polyprotéines de la réplicase p1a et pp1ab,(Wilde *et al*,2017).
- Figure 06:**Interactions intermoléculaires putatives entre la protéine spike du coronavirus 2 du SRAS (SARS-CoV-2) et son récepteur cellulaire hôte, l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2).(Lippi *et al*,2020).
- Figure 07:**la réplication virale du SARS-CoV-2. (Kadam.*et al*,2021).
- Figure 08:** Schéma d'une thrombose artérielle (Shutter 2022).

- Figure 09:** étapes de formation de la thrombose artérielle

- Figure 10:**Déclenchement de l'hémostase par une lésion vasculaire. (Trzeciak *et al* .2009) -
- Figure 11:**schéma récapitulatif de l'hémostase primaire (Trzeciak *et al*,2009).

- Figure 12:**formation de l'hémostase secondaire (Trzeciak *et al*,2009).

- Figure 13** Répartition des patients inclus dans l'étude selon le sexe.

- Figure 14:** Diagramme des comorbidités associées .
- Figure 15** Répartition selon la consommation de drogues.

- Figure 16** la répartition des tests effectués pour prouver une infection ancienne au SARS-CoV-2.
- Figure 17** Diagramme exprime la répartition des variants dans notre étude.
- Figure 18** Diagramme exprime la répartition des patients selon la gravité d'une infection ancienne au SARS-CoV-2.
- Figure 19** Localisation des thromboses artérielles.
- Figure 20** la gravité de la thrombose.
- Figure 21** la durée de l'apparition des thromboses
- Figure 22** le traitement
- Figure 23** Les résultat des tests RT-PCR effectués

Liste des abreviation

- ❖ **ACC** : l'Acétyl-CoA Carboxylase.
- ❖ **ACE2**: enzyme de conversion de l'angiotensine 2.
- ❖ **ADP** : Adénosine diphosphate.
- ❖ **AOMI** : Artériopathie oblitérante des membres inférieurs.
- ❖ **ARN**: acide ribonucléique.
- ❖ **AVC** : Accident vasculaire cérébral.
- ❖ **COVID-19**: COronaVirus Disease.
- ❖ **ECG** : Un électrocardiogramme.
- ❖ **EP** : embolie pulmonaire.
- ❖ **FT** : facteur tissulaire.
- ❖ **FVII** : Facteur VII de la coagulation.
- ❖ **FVIII** : Facteur VIII de la coagulation.
- ❖ **FVIII** : Facteur VIII de la coagulation.
- ❖ **FVIIIa** : Facteur VIII activé.
- ❖ **FVW** : Facteur Von Willebrand.
- ❖ **FX** : Facteur X de la coagulation..
- ❖ **FXI** : Facteur XI de la coagulation..
- ❖ **FXIII** : Facteur XIII de la coagulation.
- ❖ **GP** : glycoprotéines.
- ❖ **HTA** : Hypertension artérielle.
- ❖ **HTA**: hypertension artérielle.
- ❖ **IDM** : Infarctus du myocarde.
- ❖ **kb** : kilobase.
- ❖ **LDL** : Les lipoprotéines de faible densité.
- ❖ **ORF** : open reading forch.
- ❖ **PL** : phospholipides.
- ❖ **RT-PCR** : real time pcr polymerase chaine reaction.
- ❖ **SARS-CoV-2**: (acronyme anglais de severe acute respiratory syndrome coronavirus 2),
- ❖ **SARS**: Severe Acute Respiratory Syndrome.
- ❖ **SS** : structure secondaire.
- ❖ **UTR** : UnTranslated Region.

Glossaire :

Anévrisme : Un anévrisme cérébral est un renflement ou une dilatation d'une artère du cerveau résultant d'une faiblesse de la paroi des vaisseaux sanguins.

Athérome : Dépôt lipidique sur la surface interne de la paroi des artères. La plaque d'athérome est visible sur la paroi de l'artère sous forme d'une simple tache jaunâtre ou blanchâtre.

Athérosclérose : est une maladie dans laquelle des dépôts de substance grasseuse se forment dans les parois des artères de moyen et gros calibre, provoquant une diminution ou un blocage du flux sanguin.

AVC : Un accident vasculaire cérébral (AVC), également souvent encore appelé « attaque », survient lorsque la circulation sanguine vers ou dans le cerveau est interrompue par un vaisseau sanguin bouché.

Coagulation : est un processus complexe aboutissant à la formation de caillots sanguins. C'est une partie importante de l'hémostase où la paroi endommagée d'un vaisseau sanguin est couverte d'un caillot de fibrine, ce qui a pour conséquence d'arrêter l'hémorragie.

Embolie : est la circulation d'un corps étranger (exogène ou endogène) dans le courant circulatoire et son arrêt dans un vaisseau trop petit pour lui livrer passage. Le corps étranger prend le nom d'embolie. Le point d'arrêt est déterminé par le lieu d'origine et par le diamètre de l'embolie.

Facteur de Von Willebrand : est un des éléments nécessaires à l'hémostase primaire, d'une part, il permet le transport du facteur VIII de la coagulation dans la circulation et assure la stabilité de son activité coagulante, très labile ; d'autre part, il participe à l'adhésion et à l'agrégation plaquettaires.

Fibrine : La fibrine est une protéine filamenteuse issue du fibrinogène sous l'action de la thrombine lors de la coagulation sanguine.

Fibrinolyse : La fibrinolyse est un processus de destruction normale qui rentre dans le système de coagulation et consiste en la dissolution des caillots de fibrine.

Hémostase : regroupe l'ensemble des phénomènes naturels qui permettent l'arrêt du saignement en cas de blessure.

Infarctus du myocarde : correspond à la destruction partielle du muscle cardiaque, due à l'obstruction d'une artère qui alimente le cœur en sang,

Ischémie : désigne une insuffisance d'alimentation du sang à un organe en raison d'une obstruction au passage du sang dans une artère.

Nécrose : se traduit par des altérations du noyau et du cytoplasme de la cellule, suivies, éventuellement, par des modifications des éléments extracellulaires (fibres collagènes, vaisseaux sanguins).

Plaquettes : sont de petites cellules dépourvues de noyau qui circulent dans le sang avec les globules rouges et les globules blancs. Elles ont un rôle majeur dans la coagulation sanguine.

Pontage : st une technique de chirurgie cardiaque consistant à contourner une artère coronaire rétrécie ou obstruée en implantant un autre vaisseau en aval de cette dernière.

Sténose : est un rétrécissement de l'artère, généralement dû à une athérosclérose (accumulation de graisse et calcium dans la paroi). Cette accumulation forme une plaque qui s'épaissit progressivement et réduit la circulation du sang.

Thromboaspiration : alors un moyen simple qui permet de réduire la quantité de thrombus au site de l'occlusion diminuant ainsi le risque de migration du caillot dans la microcirculation.

Thrombogène : Caractérisé par l'existence d'un ou plusieurs caillots dans la circulation sanguine susceptible de provoquer une embolie.

Thrombine : est l'enzyme centrale de la coagulation, c'est le plus puissant des activateurs des plaquettes.

Thrombolyse : C'est la destruction du thrombus par les enzymes fibrinolytiques du plasma

Thrombectomie : consiste à recanaliser une artère cérébrale occluse à la phase aiguë d'AVC ischémique, à l'aide d'un dispositif mécanique de retrait de caillot introduit par voie endovasculaire sous contrôle radioscopique.

Thrombus : Un thrombus est le produit final de la coagulation sanguine.

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

الملخص

Liste de tableau

Liste de figure

Glossaire

Introduction..... 01

Chapitre 1 synthèse bibliographique

1.Le virus SARS-CoV-204

1.1 Classification du SARS-CoV-204

1.2 la morphologie du virus05

1.3 La structure génomique du virus06

1.4 Structures secondaires (SS) des ARNg07

1.5 les protéines virales07

1.5.1 Protéines Non structurales : PNS07

1.5.2 les protéines structurales08

1.5.2.1 La protéine E08

1.5.2.2 Protéine M08

1.5.2.3 la Protéine N09

1.5.2.4 la protéine S09

| | |
|---|----|
| 1.5.2.5 Les protéines accessoires | 10 |
| 1.6 Infection cellulaire et cycle de réplication | 11 |
| 1.7 Voies de transmissions | 11 |
| 1.8 Gravité et facteur de risque de gravité | 12 |
| 1.9 Diagnostic | 12 |
| 2. Thromboses artérielles | 13 |
| 2.1-Définition | 13 |
| 2.2-Symptômes | 14 |
| 2.3 Les facteurs de risque | 14 |
| 2.4 le principe de formation des thromboses artérielles | 16 |
| 2-5 la coagulation sanguine | 18 |
| 2-5-2 : Hémostase secondaire :Coagulation | 18 |
| 2-5-5 : dernière étape | 20 |
| 2-5-6 : Physiologie de l'hémostase | 20 |
| 2-6 Les facteurs de coagulation | 21 |
| 2-7- Migration du thrombus (embolie) | 22 |
| 2-8- RECONNAÎTRE LE MÉCANISME DE L'OBSTRUCTION ARTÉRIELL ..22 | |
| 3. la thrombose et covid | 24 |

Chapitre 2 Materiels et methode

| | |
|-------------------------------------|----|
| 2.1-Matériels | 27 |
| 2.1 Matériel biologique..... | 27 |
| 2.2 Matériel non biologiques | 27 |
| 2.2.1 Matériel de protection | 27 |
| 2.2.2 Matériel du laboratoire | 27 |

| | |
|---|----|
| 2.2.3 Réactifs | 27 |
| 2.3 Méthode | 28 |
| 2.3.1 Le Principe de la RT-PCR | 29 |
| 2.2.2 Recherche du SARS COVID-19 par RT-PCR..... | 29 |
| 2.2.2.1 Prélèvement..... | 29 |
| 2.2.2.2 Mode d'emploi | 30 |
| 2.2.2.3 Extraction de l'ARN | 30 |
| 2.2.2.4 Programmation du thermocycleur | 32 |
| 2.2.2.5 Amplification | 32 |
| 2.2.2.5 Explication des étapes de la RT-PCR | 32 |

Chapitre 3 résultat et discussion

| | |
|--|----|
| 3.1.Facteurs de risque..... | 38 |
| 3.1.1. Le sexe et l'age..... | 38 |
| 3.1.2.1 Diabète..... | 39 |
| 3.1.1.2.2 HTA..... | 39 |
| 3.1.1.2.3 Dyslipidémie..... | 41 |
| 3.1.1.2.3 Obésité..... | 42 |
| 3.1.1.3 Consommation de drogue..... | 43 |
| 3.1.1.3.1 Tabac..... | 43 |
| 3.1.1.3.2 Alcool..... | 44 |
| 3.1.1.3.3 Cannabis..... | 45 |
| 3.1.2 La recherche une infection au SARS-CoV-2 anterieure..... | 46 |
| 3.1.2.1 Les types de variants du SARS-CoV-2..... | 47 |
| 3.1.2.2 La gravite de l'infection au SARS-CoV-2..... | 48 |

| | |
|--|-----------|
| 3.1.2.3 Localisation des thromboses artérielles..... | 49 |
| 3.1.2.4 La gravité de la thromboses artérielles..... | 50 |
| 3.1.2.6 Le traitement des thromboses..... | 51 |
| 3.2.1.7 Resultat de test RT-PC..... | 52 |
| 3.1.2.8 La relation entre le variant delta et la gravité de l'infection au SARS-CoV-2 et la gravité de la thrombose | 53 |
| 3.1.2.9 la durée de l'apparition des thromboses artérielles post-covid | 54 |

Introduction

La thrombose artérielle se définit essentiellement par l'obstruction d'une artère irriguant un organe, elle est essentiellement déclenchée par le facteur pariétal, c'est-à-dire l'altération de la paroi artérielle ayant pour conséquence de faire souffrir cet organe. (Christoph,*et al* 2021).

La maladie à coronavirus de 2019 (COVID-19) se caractérise par une multitude d'anomalies cliniques, dont l'hypercoagulabilité. Bien que la thrombose soit courante dans le sepsis, l'hypercoagulabilité associée au COVID-19 peut être due à un état prothrombotique induit par la maladie elle-même. (Connors *et* Levy, 2020)

Alors que la COVID-19 était considérée comme une maladie infectieuse pulmonaire, les données se sont accumulées pour confirmer le caractère systémique et hypercoagulable de cette maladie.(De rosa,*et al* 2020).

Bien que la thrombose soit courante dans le sepsis, l'hypercoagulabilité associée au COVID19 peut être due à un état prothrombotique induit par la maladie.(DE rosa *et al* 2020).

La coagulopathie a été décrite dans des études qui documentent les changements cliniques et de laboratoire chez les patients COVID-19 chez jusqu'à 50 % de ceux présentant des manifestations graves, Plusieurs études confirment la pertinence des concentrations élevées de d-dimères dans le COVID-19(Zhou,*et al* 2020).

Outre la variabilité connue chez les volontaires sains et leur tendance à augmenter avec l'âge, il existe une association de niveaux élevés de d-dimères et de produits de dégradation de la fibrine dans toutes les conditions avec un système de coagulation activé, comme la thrombose, l'infection ou la malignité (Engelmann 2018).

La problématique :

Dans notre étude on veut savoir est ce qu'une infection antérieure au virus SARS-CoV-2 cause les thromboses artérielles.

L

es objectifs :

Nos objectifs sont de déterminer les facteurs qui conduisent à l'apparition des thromboses artérielles post covid :

-1- Que nos patients atteints de thromboses ne présentent pas une infection récente au SARS-CoV-2 par la méthode RT-PCR.

-2- Déterminer les facteurs de risques qui conduisent à l'apparition des thromboses artérielles post-covid.

-3- Quel serait le variant SARS-CoV-2 qui serait le plus susceptible de provoquer une thrombose chez nos patients ?

Chapitre 1
Synthèse
Bibliographique

1. Le virus SARS-CoV-2

Les CoVs sont connus depuis la fin des années 1930. Avant le premier isolement de la souche B814 du HCoV-229E à partir de l'écoulement nasal de patients ayant contracté un rhume..Au cours des dernières décennies, sept HCoV ont été identifiés. (Ye Zi et al,2020).Le SARS-CoV-2 est le troisième coronavirus humain (CoV) responsable d'un syndrome respiratoire sévère,(Faisal et al,2020).appelé COVID19 qui est une maladie hautement contagieuse et a un impact dévastateur sur la démographie mondiale (Rodriguez *et al*, 2022).

Nous avons réalisé un tableau qui exprime une comparaison entre SARS-CoV-2, SARS et MARS.

Tableau I: Comparaison et analyse du virus SARS-CoV-2, SARS et MARS. (Faisal *et al*,2020).

| virus | SARS-CoV-2 | MARS | SARS |
|---------------------------------|----------------------|-------------------------|--------------|
| années et ville de commencement | Wuhan, Chine 2019 | Arabie Saoudite 2012 | Asie 2003 |
| taux de mortalité | 160 835 | 858 | 813 |

1.1 Classification du SARS-CoV-2

Les coronavirus (CoV) sont des virus à ARN à brin positif qui, du point de vue taxonomique, appartiennent à la famille des Coronaviridae et à la sous-famille des Coronavirinae. Les coronavirus sont un groupe de virus à ARN apparentés. Les coronavirus constituent la sous-famille des Orthocoronavirinae, dans la famille des Coronaviridae, l'ordre des Nidovirales, et le royaume des Riboviria. (Faisal *et al*,2020).(Figure 1).

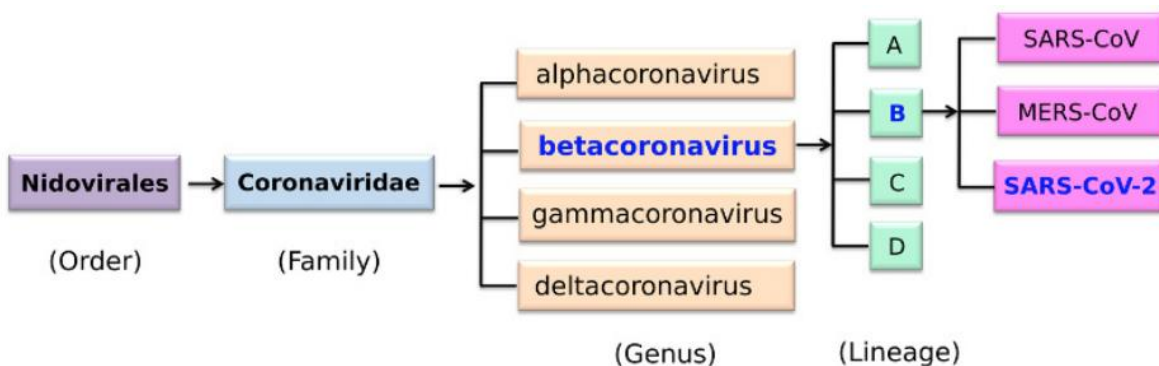


Figure 01: Taxonomie des CoVs.(Norma et Raúl,2020).

1.2 la morphologie du virus

Le SARS-CoV-2 mesure en moyenne 120 nanomètres (nm) de diamètre, il est sphérique ou pléomorphe se caractérise par des protubérances en forme de couronne qui formée par les protéines (S) observées à leur surface d'où l'origine de leur nom. (Wrap *et al*,2020).

La protéine (S) est la protéine qui se lie au récepteur cellulaire du SARS-CoV-2 (ACE2) et permet l'entrée dans la cellule. La nucléocapside, hélicoïdale, formée de la protéine de capsid (N) complexée à l'ARN viral, est protégée par une enveloppe phospholipidique dans laquelle sont enchâssées les glycoprotéines de surface (S, M et E). (Wrap *et al*,2020) (Figure 2).

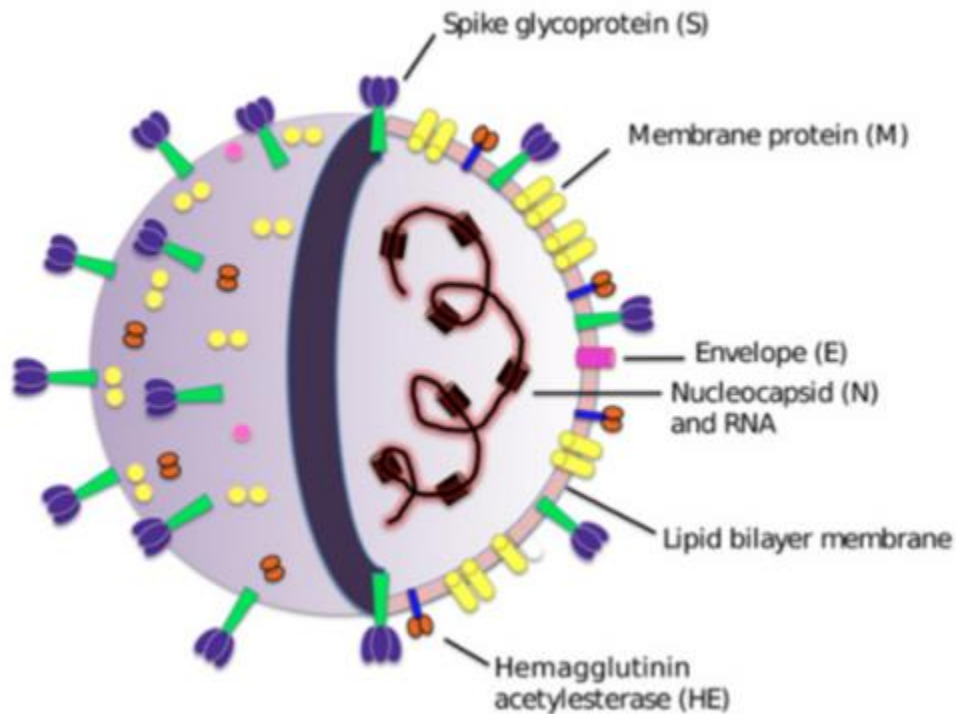


Figure 02 : Structure du SARS-CoV-2.(Norma et Raúl,2020).

1.3 La structure génomique du virus

Le SARS-CoV-2 est un virus enveloppé à ARN monocaténaire positivement polarisé de 29,9 kb (Wu,2020) il comprend deux régions non codantes en 5' et en 3'.(Kadam.*et al*,2021). Les deux tiers du génome codent pour un vaste gène réplicase (composé de ORF1a et ORF1b) qui sera traduit en deux polyprotéines, par la suite clivées en seize protéines non structurales indispensables à la réplication virale.(Wilde *et al*,2017).Le tiers restant du génome code essentiellement pour les protéines de structures du virus dont quatre glycoprotéines membranaires - la protéine Spike (S), l'Hémagglutinine-Esterase (HE) et les protéines de membrane (M) et d'enveloppe (E) ainsi que la protéine de capsid(N).(Jamai *et al*, 2020).(Figure 3).Le génome de

ce virus contient des suppressions des îlots CpG, L'ORF codant pour la protéine E a la plus haute teneur en motifs d'îlots CpG dans l'ensemble du génome. (Kadam.*et al*,2021).



Figure 03 : Organisation génomique du SARS-CoV-2(Lefevre *et al*,2020).

1.4 Structures secondaires (SS) des ARNg

La détection et la caractérisation de la structure secondaire de l'ARN à grande échelle dans le génome du SRAS-CoV-2 indiquent un degré extraordinaire et insoupçonné d'organisation structurale du génome. (Kadam.*et al*,2021). Ces structures jouent un rôle important dans les premiers stades de l'infection virale des cellules hôtes humaines. A ce stade, le virus détourne le mécanisme de traduction de la cellule pour favoriser la synthèse des protéines et produire des protéines virales aux dépens des protéines cellulaires.(Kadam.*et al*,2021).

Le fait de mieux connaître ces éléments de structures secondaires pourrait permettre de développer des études fonctionnelles plus ciblées pour mieux comprendre ce mécanisme de "piratage moléculaire" fondamental pour la propagation du virus, avec de nouvelles perspectives pour bloquer cette synthèse protéique virale. (Miao *et al*, 2021).

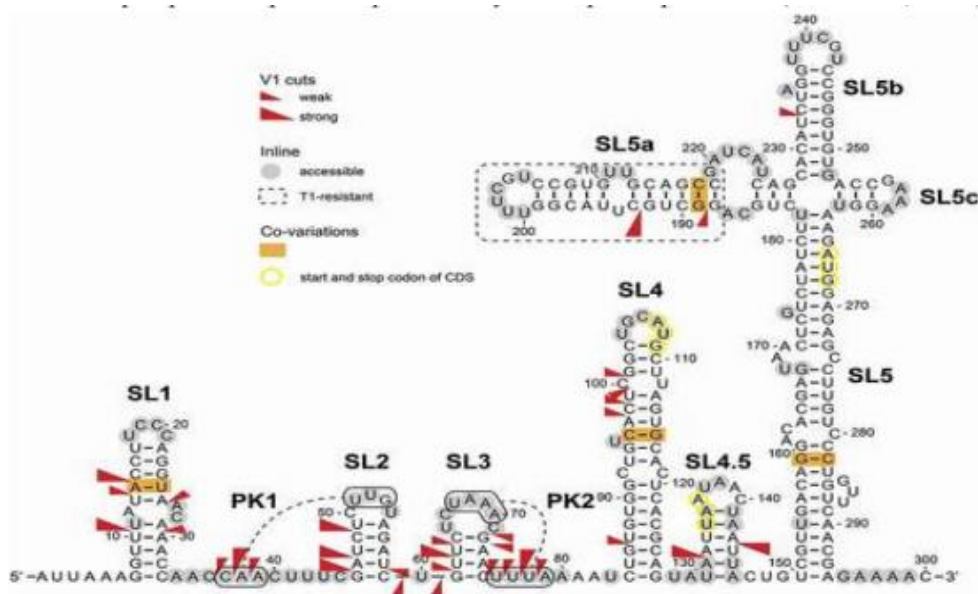


Figure 4: Modèle de structure secondaire du 5' UTR de SARS-CoV-2. (Miao *et al*, 2021).

1.5 les protéines virales:

1.5.1 Protéines Non structurales : PNS

Dans la cellule hôte, l'ORF1a et l'ORF1ab se traduisent par les polyprotéines pp1a et pp1a/b. À partir de ces polyprotéines, 16 PNS sont générées par des protéases. Ces derniers possèdent plusieurs activités et rôles. (Kadam *et al*, 2021).

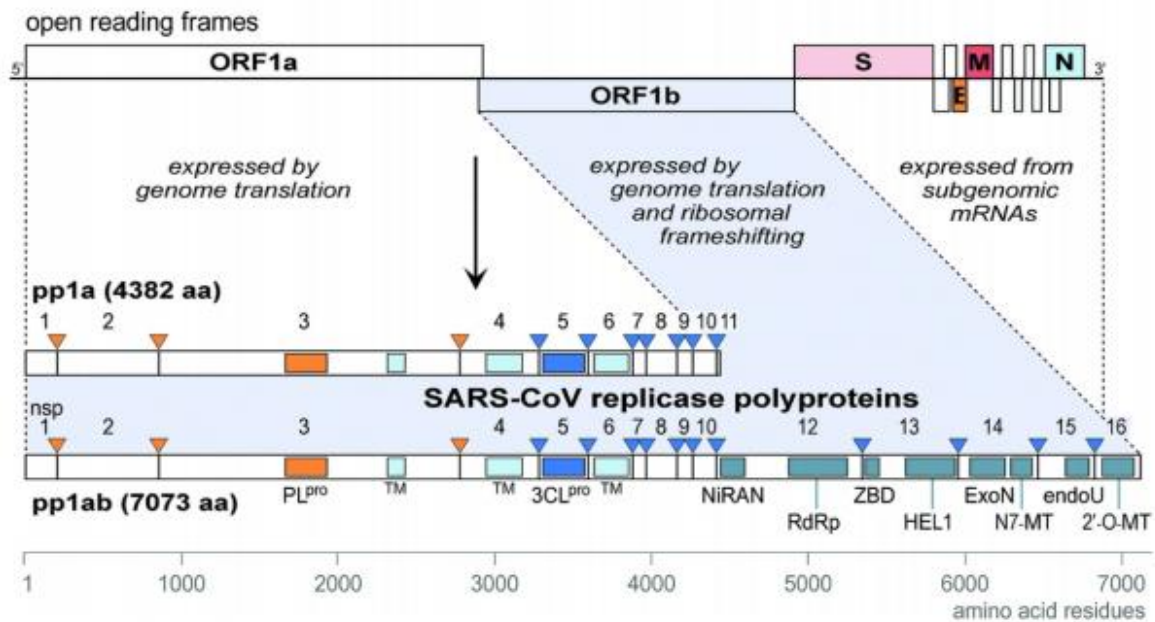


Figure 05 : l'organisation et le traitement protéolytique des polyprotéines de la réplicase p1a et pp1ab, (Wilde *et al*, 2017).

1.5.2 les protéines structurales

1.5.2.1 La protéine E

8,4 à 12 kDa, composé de deux domaines : un domaine transmembranaire hydrophobe et la queue cytoplasmique. C'est une protéine structurale qui contribue à former la bulle huileuse du virus et transporter sélectivement des ions comme le Ca²⁺, participent à l'assemblage et à la libération des particules virales des cellules hôtes aussi elle participe à l'augmentation de la charge de repliement des protéines sur le réticulum endoplasmique. (Kadam *et al*, 2021).

1.5.2.2 Protéine M

Elle est constituée de 222 acides aminés, elle est représentée comme une protéine membranaire à portée unique. (Yan et al, 2022). Elle est composée de trois domaines:

- Un domaine transmembranaire ayant une extrémité C-terminale à l'intérieur

- Une extrémité N-terminale à l'extérieur.

- Le troisième domaine transmembranaire contient une région amphipathique à son extrémité. Son extrémité N-terminale est transloquée à travers la membrane et l'extrémité C-terminale est exposée au côté cytoplasmique. Elle possède une forte immunogénicité et stimule la réponse humorale de l'hôte à la production d'anticorps neutralisants.

- La protéine M joue un rôle important dans la formation intracellulaire des particules virales (Kadam et al, 2021),

1.5.2.3 la Protéine N

Elle est constituée de 419 acides aminés et de 43 à 50 kDa. Elle se divise en trois domaines conservés, à savoir le bras N, le lieu central (CL) et la queue C. Le NTD et le CTD sont des domaines structurels et fonctionnels importants :

- NTD : la liaison à l'ARN.

- CTD : la médiation de la dimérisation de la protéine N par auto-association et elle joue un rôle important dans l'oligomérisation de la protéine de la nucléocapside et dans les interactions protéine-protéine N-M. (Yan et al, 2022). Elle s'implique dans de la réplication et la transcription de l'ARN viral et la régulation du cycle cellulaire de l'hôte et l'apoptose, aussi, la protéine N protège l'ARN du virus, le maintenant stable à l'intérieur du virus. Elle est induite dans une réponse immunitaire protectrice plus forte chez l'hôte et finalement elle participe à la formation et la maintenance du complexe ribonucléoprotéique (RNP).

(Kadam et al, 2021),

1.5.2.4 la protéine S

Elle est constituée de 1300 acides aminés, une protéine transmembranaire de classe 1 qui dépassent largement l'enveloppe, elle forme un trimère ancré à la membrane virale par une hélice transmembranaire C-terminale. (Yan et al, 2022). S est activé par clivage protéolytique pour générer deux sous-unités : S1 (approximativement la moitié N-terminale de S), et S2. La protéine spike (S) des coronavirus facilite l'entrée du virus dans les cellules cibles. (Intikhab et al, 2020).

- La sous-unité S1 contient un domaine RBD (receptor binding domain) qui se fixe au récepteur ACE2 sur la membrane de la cellule hôte.

- La sous-unité S2 est activée par la liaison entre S1 et le récepteur ACE2 et contient les éléments nécessaires à la fusion membranaire. (Lippi et al, 2020).

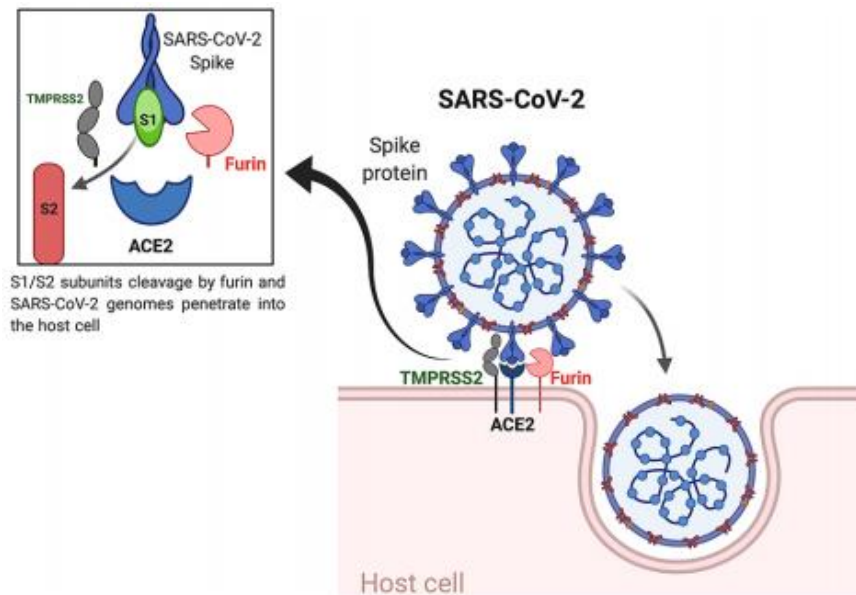


Figure 06: Interactions intermoléculaires putatives entre la protéine spike du coronavirus 2 du SRAS (SARS-CoV-2) et son récepteur cellulaire hôte, l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2). (Lippi *et al*, 2020).

1.5.2.5 Les protéines accessoires

Nous avons trouvé cinq groupes de gènes accessoires (15 % du génome accessoire du genre Betacoronavirus) communs aux coronavirus semblables au SRAS, y compris SARS-CoV-2, sur un total de 33 groupes de gènes accessoires. (Intikhab *et al*, 2020). Les fonctions spécifiques de certaines protéines accessoires sont rapportées expérimentalement et leur rôle possible pour contrer la réponse immunitaire de l'hôte est de plus en plus accepté. La plupart des CoVs contiennent huit protéines accessoires parmi lesquelles certaines sont exprimées seulement dans quelques CoVs seulement. Au moins six ORF codant pour des protéines accessoires ont été annotés dans le SARS-CoV-2, notamment 3a, 6, 7a, 7b, 8 (8b) et 9b. (Kadam *et al*, 2021).

1.6 Infection cellulaire et cycle de réplication

Le cycle de multiplication de Sars-CoV-2 dans la cellule comporte les étapes d'attachement, de pénétration et décapsidation puis les synthèses des macromolécules (acides nucléiques et protéines). (Kadam *et al*, 2021).

La protéine S du SARS-CoV-2 utilise le récepteur cellulaire ACE2 pour entrer dans la cellule hôte. La sous-unité S1 permet la liaison du virus au récepteur de la cellule hôte et la sous-unité S2 assure la fusion de l'enveloppe virale et la membrane cellulaire. Le clivage de la protéine S par les protéases de la cellule hôte active la fusion au niveau de deux sites en tandem, heptad repeat 1 (HR1) et HR2 (Yu *et al*, 2020).

Après la fusion et le largage de la nucléocapside dans le cytosol de la cellule hôte, la machinerie cellulaire traduit le gène de la réplicase en deux polyprotéines (pp1a et pp1ab) clivées en nombreuses protéines indispensables au cycle viral (notamment deux protéases virales et une ARN-polymérase ARN-dépendant) s'assemblant en un large complexe de transcription et de réplication. (de Wit *et al*, 2016). (Tripp *et al*, 2017). Ce complexe permet d'une part de reproduire l'ARN viral et d'autre part, par le biais de la formation de petits brins d'ARN anti-sens appelés ARN sous-génomiques, la production de protéines de structure des nouveaux virions. Finalement les brins d'ARN synthétisés sont combinés avec la protéine N pour former la nucléocapside et l'assemblage avec les glycoprotéines d'enveloppe permet le bourgeonnement de nouvelles particules virales. (Tsan-Yuk *et al*, 2020).

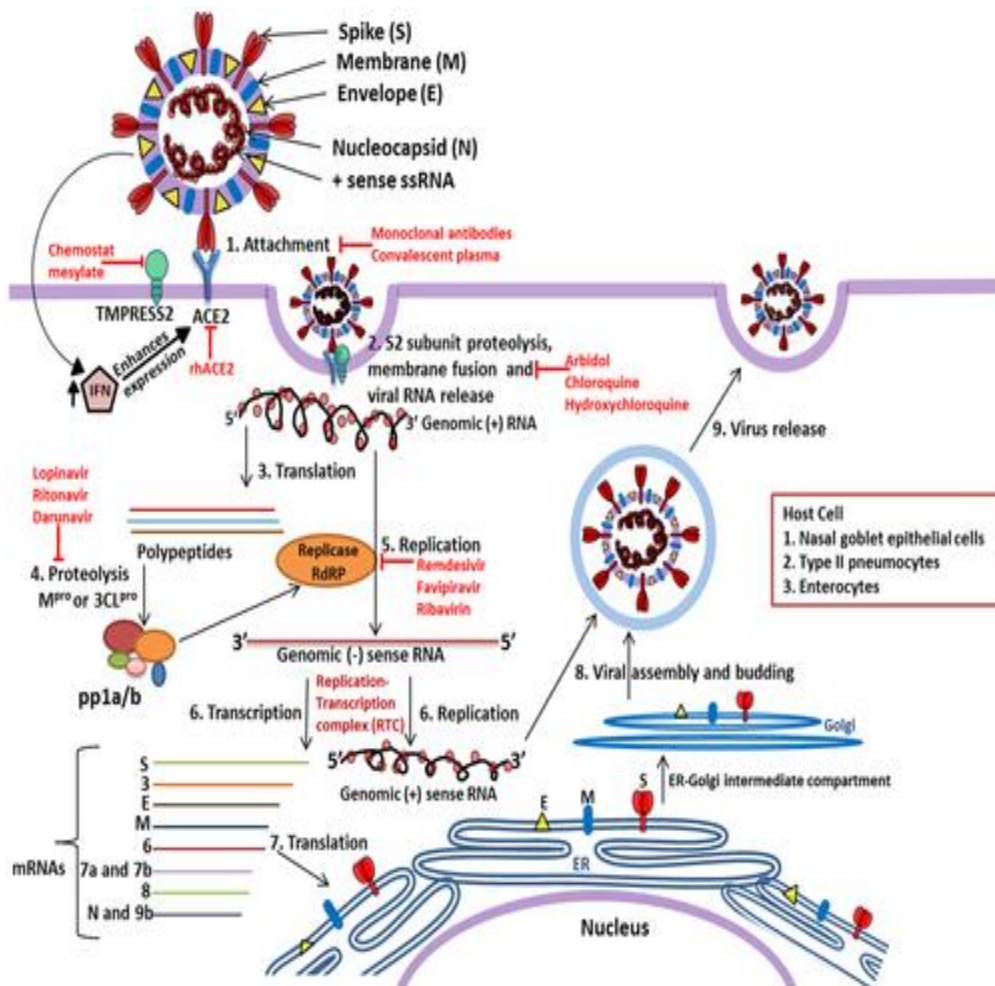


Figure 07 la réplication virale du SARS-CoV-2. (Kadam *et al*, 2021).

1.7 Voies de transmissions

Actuellement, il est admis que la transmission interhumaine est la principale voie de transmission. (Lescure *et al*, 2020).

Le SARS-CoV-2 se transmet essentiellement par l'émission de gouttelettes respiratoires. Ces gouttelettes chargées de particules virales pourraient infecter un sujet susceptible soit par contact direct avec une muqueuse (transmission directe) soit par contact avec une surface infectée par les muqueuses nasales, buccales ou conjonctivales (transmission indirecte). Elles peuvent être projetées à plusieurs mètres de distance mais ne persistent pas dans l'air. Le virus peut survivre plusieurs jours sur des surfaces inertes (Doremalen *et al*,2020).

1.8 Gravité et facteur de risque de gravité

On estime que les infections asymptomatiques, ou avec des signes cliniques modérés sont de loin les plus fréquentes (80 %). Environ 15 % des patients ont une forme clinique qui justifie une hospitalisation et chez un peu moins de 5 % des patients, une forme « critique » (détresse respiratoire, choc, défaillance multiviscérale) survient, ce qui justifie dans certains cas une admission en réanimation .(Wu *et al*,2020).

Une partie des patients admis en réanimation doit être intubée pour conserver une chance de guérison. Comme pour la grippe, les formes graves peuvent survenir chez des personnes jeunes et sans comorbidité, mais ceci est rare. Des facteurs de risque des formes graves ont été identifiés, tels que l'âge et les comorbidités. Alors que l'âge médian des patients hospitalisés se situe entre 50 et 55 ans, 80 % des décès sont observés chez les plus de 65 ans.

Les comorbidités sont les pathologies cardiovasculaires et leurs facteurs de risque (obésité, hypertension artérielle, diabète, tabac), les maladies pulmonaires et rénales chroniques, et les néoplasies. L'effet cumulatif des comorbidités sur le risque léthal est très probable, comme l'illustre une série de cas en Italie, dans laquelle le nombre moyen de comorbidités est compris entre deux et trois (Onder *et al*,2020).

1.9 Diagnostic

La démarche diagnostique repose sur un faisceau d'arguments basés sur :

- Des critères épidémiologiques qu'il importe de rechercher systématiquement, un contact direct avec un cas confirmé ou suspecté de Covid-19.
- Des critères cliniques (décrites ci-dessus).
- Des critères biologiques se traduisant par une leucopénie et / ou une lymphopénie, une CRP élevé, une VS accélérée. Élévation de LDH et des D-Dimères.A ce faisceau d'arguments s'associe un critère radiologique de forte présomption basé sur les images typiques du scanner thoracique. L'absence d'anomalies parenchymateuses, n'exclut pas une infection COVID-19 dans les 3 premiers jours d'apparition des symptômes.La certitude du diagnostic est apportée par la positivité :
- De la RT-PCR qui reste l'examen de référence.
- Des tests sérologiques (anticorps). Validés à partir du 7 jours du début des symptômes.(MINISTÈRE DE LA SANTÉ 2019).

2. Thromboses artérielles

2-1- Définition

La thrombose artérielle se définit essentiellement par l'obstruction d'une artère irriguant un organe par exemple (le cœur, le cerveau, les jambes). Elle est essentiellement déclenchée par le facteur pariétal, c'est-à-dire l'altération de la paroi artérielle (exp : au minimum l'altération du seul endothélium ayant pour conséquence de faire souffrir cet organe. Si ce phénomène peut se produire dans toutes les artères du corps, les localisations les plus fréquentes sont

- Les artères des jambes avec apparition d'une artériopathie au niveau des jambes.
- Les artères coronaires irriguent le muscle cardiaque : en cas d'obstruction, un infarctus du myocarde ou une angine de poitrine surviennent.
- Les artères du cerveau : une obstruction de celles-ci entraîne un AVC.

(Raskob GE *et al* 2014).

2-2- Symptômes

Tableau II : Les principaux symptômes sont résumés dans le tableau suivant (Blanchette, V. *et coll.*, 2013)

| | Artères coronaires | Artères du cerveau | Artères des membres inférieurs |
|--|---|--|--|
| Symptômes | Douleurs et sensation d'oppression dans la poitrine, dyspnée (gêne pour respirer) | Paralysies transitoires Troubles de la vision Trouble de la parole Vertiges | Douleurs à la marche |
| Complication en cas d'obstruction complète de l'artère | Infarctus du myocarde (IDM) | Accident vasculaire cérébral (AVC) | Ischémie aigüe des membres inférieurs avec risque d'amputation |

2.3 Les facteurs de risque

Un facteur très important de survenue de thrombose artérielle est la présence d'athérome, ou athérosclérose, qui a pour but d'altérer les parois artérielles. Pour mieux comprendre L'athérome désigne un dépôt de substances grasses (lipides) à l'intérieur des artères gênant la circulation sanguine. (Oury 2015).

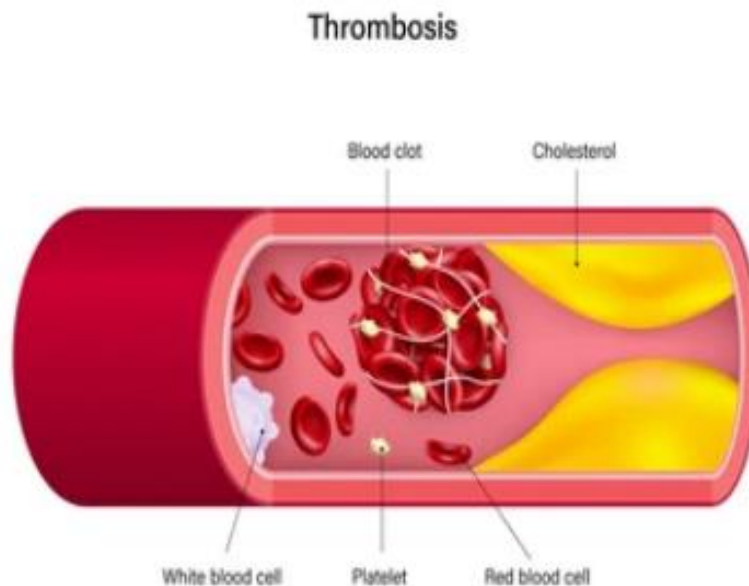


Figure 08: Schéma d'une thrombose artérielle (Shutter 2022).

Au fur et à mesure de la progression de l'athérome, des dépôts de calcium se forment, ainsi que du tissu cicatriciel, de sorte que le vaisseau s'obstrue progressivement et que les parois vasculaires commencent tout doucement à perdre toute leur élasticité. Des anévrismes peuvent alors se former ; il s'agit d'élargissements localisés d'une artère.(Oury 2015).

Plusieurs facteurs de risque participent au développement de l'athérome les plus importants sont :

- Facteurs non modifiables :

- Âge

- Sexe masculin

- Facteurs héréditaires

- Facteurs modifiables :

- o Principaux facteurs de risque :

- Hypercholestérolémie (augmentation du taux de cholestérol dans le

sang) (principalement LDL et le cholestérol).

- Diabète (augmentation du taux de sucre dans le sang)

-Hypertension artérielle (HTA).

o Facteurs comportementaux et environnementaux :

-Salurimentation / obésité.

-Tabagisme .

-Sédentarité.

-Stress émotionnels répétés.

-Stress psycho-social (au travail, en famille, problèmes financiers.

problèmes de santé) (Oury 2015)

2-4 le principe de formation des thromboses artérielles

Antonio Scarpa (1752-1832), dans son travail sur l'anévrisme artériel (1804), est le premier à décrire une maladie de la couche interne des grosses artères que l'on nomme aujourd'hui athérosclérose (Ruffer,MA.2003)Les thromboses artérielles surviennent à la suite d'une lésion de la paroi du vaisseau, rupture d'une plaque d'athérosclérose riche en lipides, protéines adhésives et facteur tissulaire ou après une angioplastie qui expose la matrice sous-endothéliale thrombogène. Les plaquettes jouent un rôle capital dans la formation du thrombus artériel par l'intermédiaire de l'ADP qu'elles sécrètent et de la thrombine qui se forme à leur surface activée. Les thromboses artérielles qui compliquent fréquemment les lésions d'athérosclérose entraînent des événements ischémiques aigus qui sont des urgences thérapeutiques nécessitant l'administration de médicaments antithrombotiques inhibant les fonctions plaquettaires et la thrombine. (Jean-Pierre CAZENAVE et al 2015)Des dépôts de cholestérol LDL, de cellules inflammatoires et de calcium s'accumulent dans la partie interne de la paroi des artères (intima). Ces dépôts forment des plaques appelées plaques d'athérome qui rétrécissent le passage du flux sanguin ; on parle de sténose artérielle. De ce fait, les tissus et organes situés en aval ne sont plus suffisamment approvisionnés en oxygène et nutriments. Si ces plaques se brisent, un caillot se forme au niveau de la rupture et peut bloquer entièrement la circulation sanguine. (Mermoz.2022)En investiguant les facteurs susceptibles de déclencher l'agrégation des plaquettes sanguines, l'étude a révélé l'importance des lipides dans la structure et la fonction des plaquettes. Une enzyme spécifique, l'Acétyl-CoA Carboxylase (ACC), permet en effet aux plaquettes sanguines de synthétiser les lipides. Toute modification sur cette enzyme influe au niveau des lipides plaquettaires et de leur fonction d'agrégation L'athérosclérose débute par de simples stries lipidiques à la surface de l'intima. Les véritables plaques d'athérome apparaissent sur l'aorte, les artères cérébrales et coronaires. En forme de croissant dans l'épaisseur de la paroi artérielle, elles contiennent un noyau riche en lipides (athérome) recouvert d'une chape fibreuse riche en collagène

(sclérose). Toutes les altérations de l'endothélium qui recouvrent l'intima favorisent la pénétration des lipoprotéines LDL dans la paroi artérielle. Ces lipoprotéines, combinaisons de graisses et de protéines circulant dans le sang, sont alors captées par des cellules sanguines, appelées monocytes macrophages, qui ont elles aussi traversé l'endothélium. Ces monocytes sont transformés en cellules spumeuses, leur nécrose provoquant la libération de leur contenu lipidique qui va former le cœur de la plaque. Des cellules musculaires lisses de la média, tunique intermédiaire de l'artère, migrent vers l'intima et se multiplient autour de la plaque athéroscléreuse ainsi formée. Celle-ci augmente d'épaisseur comme une véritable tumeur conduisant à la réduction progressive de la lumière de l'artère et créant une sténose qui diminue le débit sanguin et compromet l'oxygénation des tissus irrigués par l'artère malade. L'accumulation progressive des lipides extracellulaires et le ramollissement de la chape fibreuse prédisposent la plaque à la rupture. Celle-ci entraîne habituellement la formation d'un thrombus (caillot) qui peut achever d'obstruer la lumière artérielle (provoquer un infarctus du myocarde s'il s'agit d'une coronaire). Les plaques athéromateuses peuvent également se ramollir (former des sortes de pustules remplies de bouillie athéromateuse), s'ulcérer, se recouvrir de thrombus, sources d'embolies périphériques (thrombus qui migrent dans un vaisseau). Dans d'autres cas, le contenu lipidique et cellulaire est remplacé progressivement par du phosphate de calcium et des cristaux d'apatite : la lésion se calcifie. (Sophie Leprore 2018)

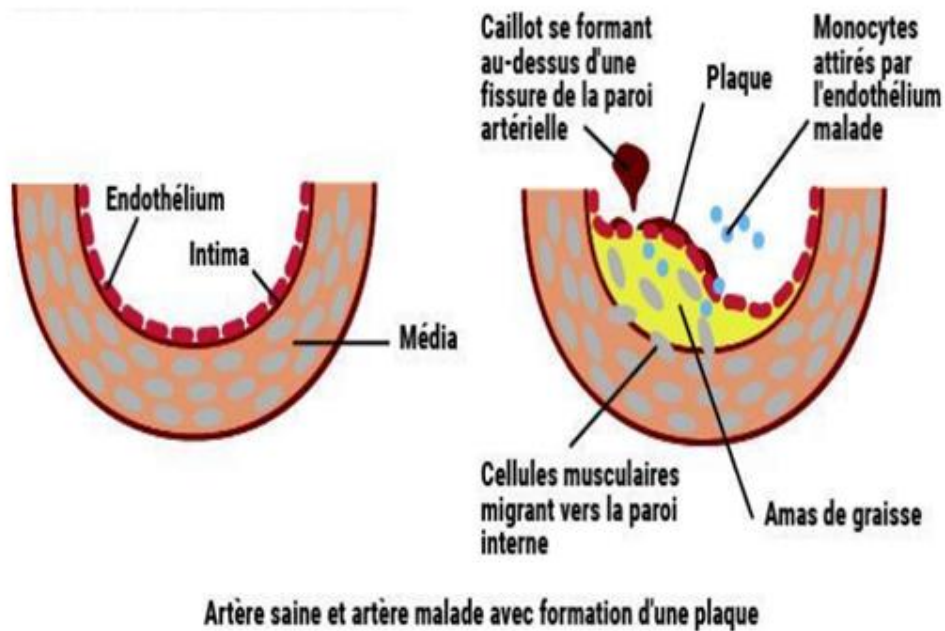


Figure 09: étapes de formation de la thrombose artérielle (Mermoz.2022)

2-5 la coagulation sanguine

Physiologie de l'hémostase Déclenchement de l'hémostase par une lésion vasculaire Contraction réflexe des vaisseaux sanguins : vasoconstriction

- Hémostase primaire : agrégation plaquettaire (clou plaquettaire)
- Hémostase secondaire : coagulation, formation du clou de fibrine
- Fibrinolyse : dissolution du caillot et reperméabilisation du vaisseau (Marie-Christine Trzeciak *et al*,2009)

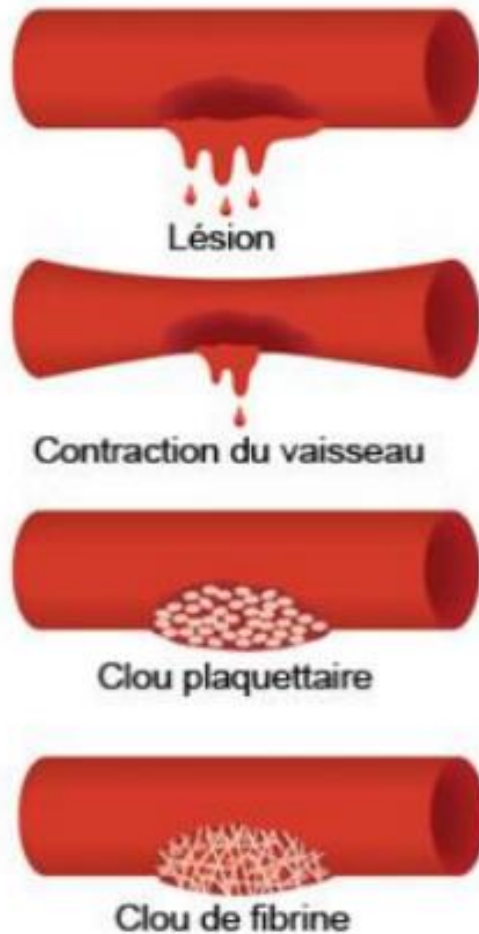


Figure 10: Déclenchement de l'hémostase par une lésion vasculaire. (Trzeciak *et al* .2009)

2-5-1 La première étape : la lésion vasculaire (Dr Lucas MEYER 2018)

En récapitulant : (Marie-Christine Trzeciak et AL.2009)

- 1- la première étape : la lésion vasculaire : contact des éléments sanguins avec sous endothélium, vasoconstriction.
- 2- la deuxième étape : la fixation du vWF sanguin au niveau de la lésion.

-3- la troisième étape : l'adhésion des plaquettes au complexe collagène vWF, activation et agrégation plaquettaire.

HÉMOSTASE PRIMAIRE : RÉSUMÉ

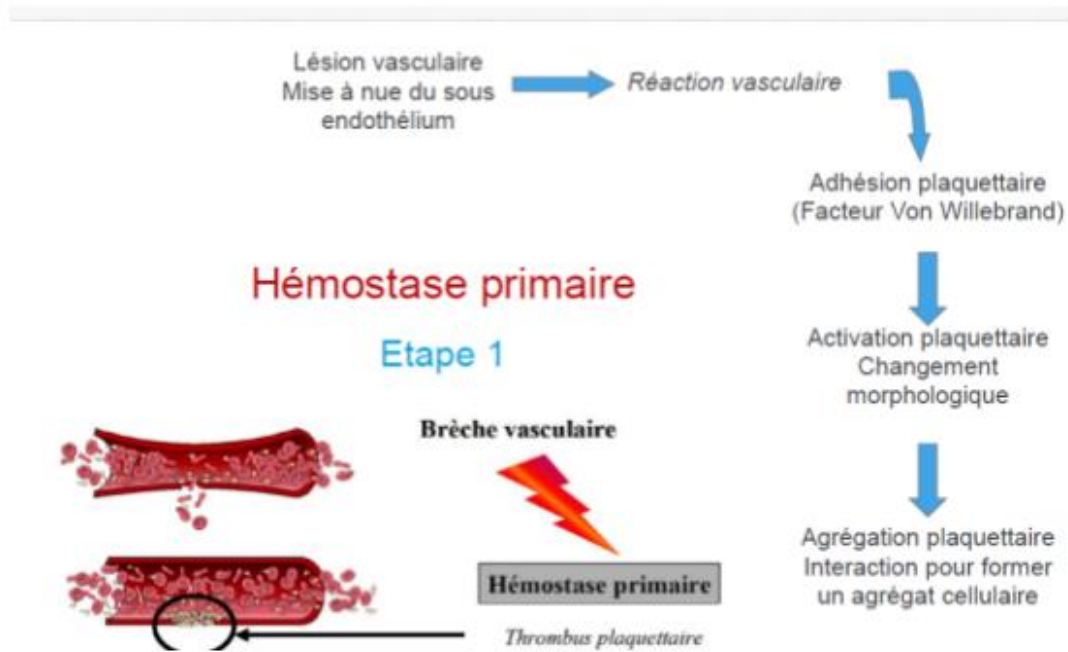


Figure 11 : schéma récapitulatif de l'hémostase primaire.

2-5-2 : Hémostase secondaire : Coagulation :

2-5-2-1 Définition

Cascade de réactions enzymatiques de protéolyse (= activation protéines circulantes) entraînant la formation d'un caillot de fibrine (MEYER 2018)

-Déclenchement Contact entre les protéines de la coagulation

- facteur tissulaire (FT) exprimé par de nombreuses cellules humaines (si lésion vasculaire : contact entre FT et protéines de la coagulation ++),

- Les plaquettes activées formant le clou plaquettaire.

(Trzeciak *et al* 2009).

HÉMOSTASE SECONDAIRE : COAGULATION

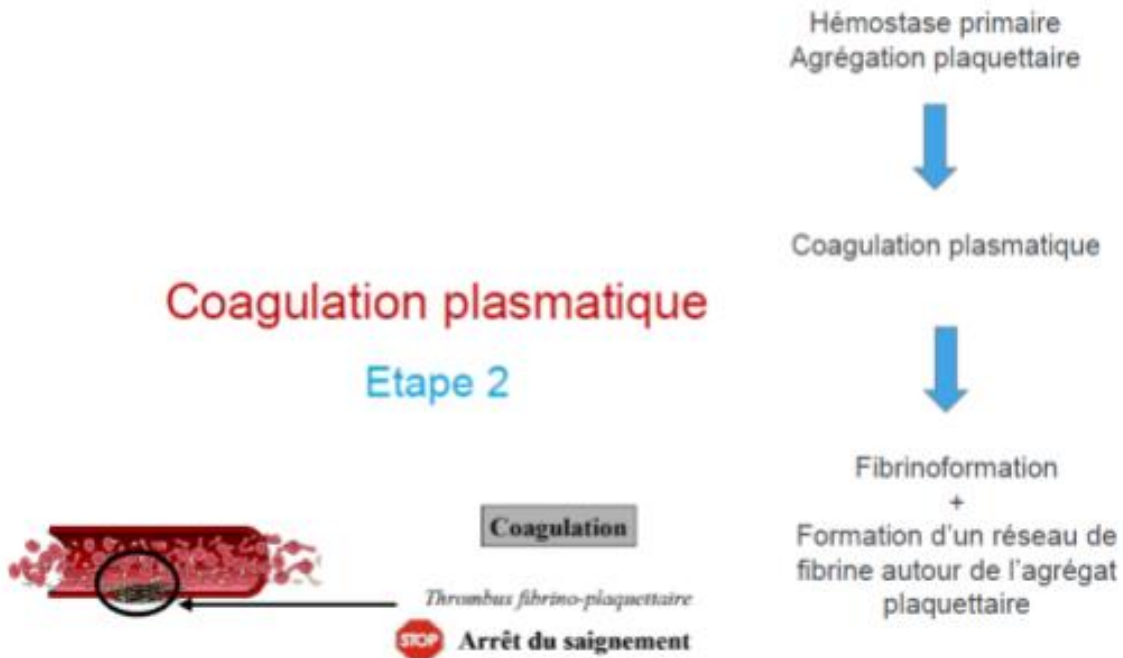


Figure 12 : formation de l'hémostase secondaire (Trzeciak *et al*,2009)

La cascade de la coagulation aboutit à la transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble : les monomères de fibrine se polymérisent ensuite spontanément pour constituer le caillot (Trzeciak *et al*,2009)

2-5-5 : dernière étape

La fibrinolyse : dégradation du caillot de fibrine ◇ éviter une coagulation incontrôlée et reperméabiliser le vaisseau..

2-5-6 : Physiologie de l'hémostase : (Trzeciak *et al*,2009)

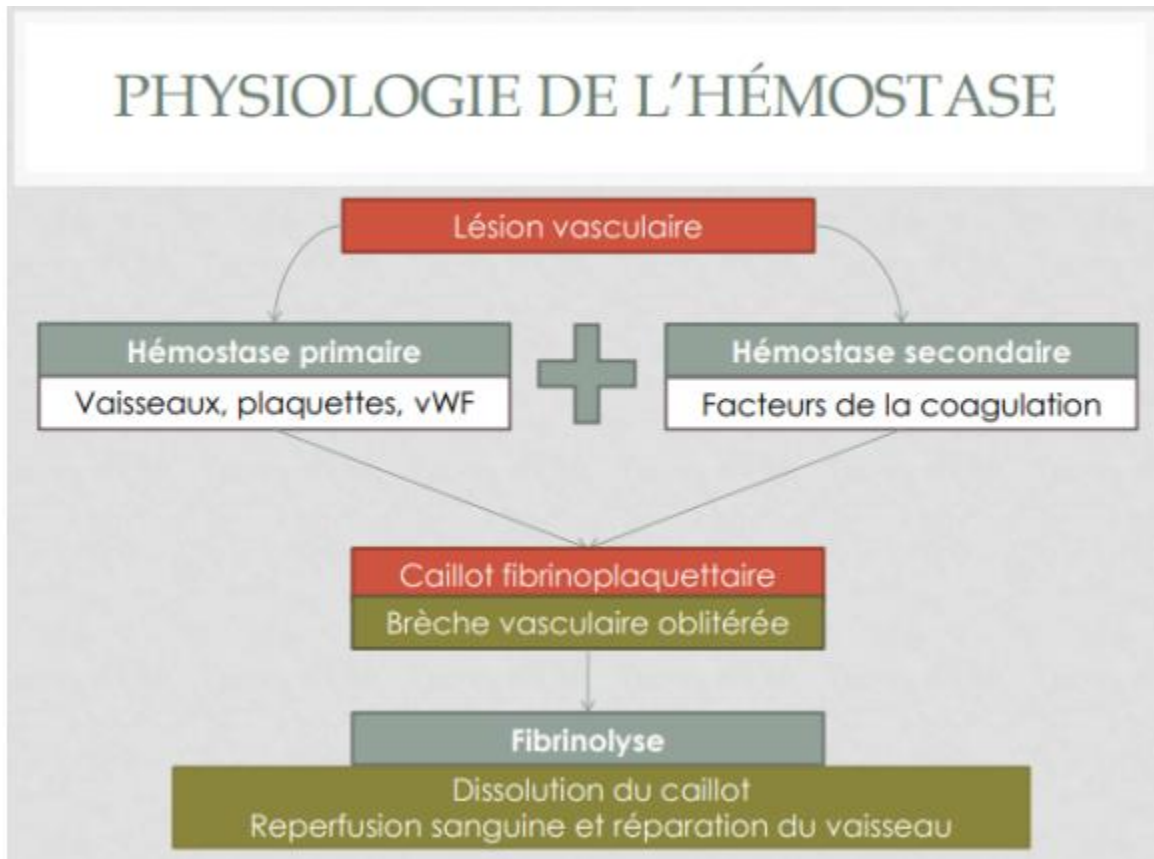


Figure 13 la physiologie générale de l'hémostase. (Trzeciak *et al*,2009)

Il faut noter que L'hémostase est un mécanisme régulé certaines situations peuvent conduire à des déséquilibres entraînant différents types de pathologies :

- Hémostase déficiente = pathologies hémorragiques

-Activation inappropriée et/ou excessive de l'hémostase = pathologies thrombotiques (Trzeciak *et al*,2009)

2-6 Les facteurs de coagulation

Le facteur de coagulation XIII (FXIII) réticule les fibres de fibrine et stabilise le caillot insoluble contre le délogement par une contrainte de cisaillement élevée. Il diminue également la taille des pores de fibrine, réduisant la capacité des molécules fibrinolytiques (telles que l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA)) à diffuser dans le caillot. De plus, FXIII assure la médiation

de la réticulation de diverses protéines antifibrinolytiques dans la structure du caillot de fibrine elle-même, inhibant davantage la dissolution du caillot. Les principaux régulateurs de la fibrinolyse comprennent l'a2-antiplasmine (A2AP), l'inhibiteur de la fibrinolyse activable par la thrombine (TAFI) et l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène (PAI-1). (Muszbek 2011)

2-7- Migration du thrombus (embolie)

Il s'agit de la rupture de tout ou partie du thrombus (surtout de la queue, non adhérente) avec migration dans le courant sanguin constituant un embolie. Ce phénomène constitue le risque évolutif principal des thromboses, notamment des thromboses veineuses profondes, ainsi que des thromboses des artères de gros calibre comme l'aorte ou des thromboses intracardiaques. La rupture est surtout précoce, dans les heures suivant la formation du thrombus, avant le stade d'organisation fibreuse qui fixe plus solidement le thrombus à la paroi. (Ernewein 2011)

2-8- RECONNAÎTRE LE MÉCANISME DE L'OBSTRUCTION ARTÉRIELLE :

L'ischémie aiguë de membre inférieur est l'urgence la plus fréquente en chirurgie vasculaire. Elle correspond à la diminution brutale de la perfusion du membre inférieur. Sa prise en charge vise à préserver l'intégrité fonctionnelle du membre et à traiter les conséquences systémiques du phénomène d'ischémie-reperfusion. La rapidité de l'instauration du traitement anticoagulant et de la revascularisation conditionne le pronostic local et général. L'évaluation clinique initiale est fondamentale ; elle doit rapidement permettre d'établir le diagnostic, d'orienter vers une étiologie embolique ou thrombotique, survenant sur artères saines ou pathologiques, d'évaluer la sévérité de l'ischémie et de rechercher des comorbidités susceptibles de se décompenser. L'ensemble de cette évaluation initiale guide la prise en charge thérapeutique et permet de décider de réaliser ou non des examens complémentaires avant la chirurgie. La revascularisation utilise les techniques de chirurgie vasculaire conventionnelle (thrombectomie, pontage) et endovasculaire (thrombolyse, thromboaspiration, thrombectomie mécanique). La surveillance lors de la période postopératoire immédiate vise à diagnostiquer et à traiter précocement les complications locales, essentiellement le syndrome de loge, et générales (rénales, cardiaques, pulmonaires, troubles hydroélectrolytiques). Malgré une prise en charge adaptée, 13 % d'amputations majeures sont réalisées au cours de l'hospitalisation et le taux de mortalité précoce est de 10 % dans les séries récentes (Masson 2014).

L'ischémie des membres inférieurs est une urgence médicochirurgicale. Les signes cliniques d'ischémie aiguë associent pâleur cutanée, absence de pouls, diminution de la température du membre et douleurs. L'apparition de signes neurologiques périphériques est un critère de gravité. Le pronostic dépend de la circulation collatérale préexistante, de la nature de l'occlusion (embolie versus thrombose), de la durée de l'ischémie, de la topographie des lésions (gravité des occlusions proximales telles que les occlusions aortiques aiguës) et des comorbidités associées. En cas d'occlusion aiguë d'un membre inférieur, l'avis d'un chirurgien vasculaire est demandé en urgence (Masson 2008).

ISCHEMIE DES MEMBRES INFÉRIEURS

Occlusion d'une artère des membres inférieurs

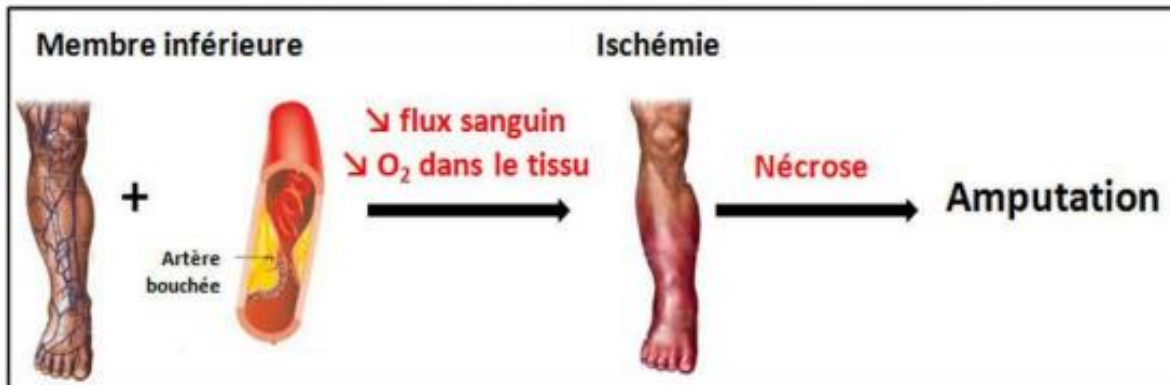


Figure 14 ischémie des membres inférieurs (Masson 2008).

3. la thrombose et covid :

La maladie à coronavirus de 2019 (COVID-19) se caractérise par une multitude d'anomalies cliniques, dont l'hypercoagulabilité . Bien que la thrombose soit courante dans le sepsis, l'hypercoagulabilité associée au COVID-19 peut être due à un état prothrombotique induit par la maladie elle-même. (Connors *et Haemost.* 2020).

La fréquence des embolies artérielles, proprement dite, n'est pas connue mais elle peut être extrapolée, à partir de l'épidémiologie de l'ischémie aiguë de membre. Aux États-Unis, dans les registres datant des années 2000 , l'incidence de l'ischémie aiguë s'élève à 140 cas par million d'habitants/an, le mécanisme embolique étant retrouvé dans près de la moitié des étiologies de ces ischémies aiguës. En outre, cette incidence se majore nettement avec l'âge de la population Les signes cliniques occasionnés par une embolie artérielle sont très variables. Ceux-ci dépendent du terrain sur lequel survient cette embolie, du territoire vasculaire atteint et de la rapidité d'installation de l'ischémie. Tous les intermédiaires entre les formes asymptomatiques (Bonnet 2018).

Alors que la COVID-19 était considérée comme une maladie infectieuse pulmonaire, les données se sont accumulées pour confirmer le caractère systémique et hypercoagulable de cette maladie. Malgré l'élan incroyable en recherche, de nombreuses questions demeurent non résolues comme l'algorithme diagnostique d'un ETEV au cours du COVID-19 ou la meilleure stratégie d'anticoagulation chez les patients hospitalisés. Suite au ralentissement récent des capacités d'inclusion dans les essais et afin de répondre rapidement aux questions de recherche dont celle de la thromboprophylaxie hospitalière par exemple, deux programmes collaboratifs internationaux sont en cours pour mettre en commun les données des essais thérapeutiques sous l'égide du réseau de recherche en thrombose INVENT et de l'OMS. Pour ce qui est de la prise en charge des patients ayant présenté une thrombose au cours du COVID-19, il sera important qu'ils puissent bénéficier d'un suivi spécifique afin de statuer sur les modalités du traitement

antithrombotique (arrêt ou poursuite, modifications) et l'identification d'éventuelles séquelles (fibrose pulmonaire, hypertension pulmonaire suite à une EP, insuffisance cardiaque...). (.Basso, *et al.*2020)..

L'atteinte myocardique confirmée par l'élévation des troponines ou un ECG/échocardiographie anormaux est associée aux formes sévères de COVID-19. Elle peut être due à des myocardites ou par des thromboses coronaires ou ruptures de plaques. (Jimenez, *et al.*2020)

La coagulopathie a été décrite dans des études qui documentent les changements cliniques et de laboratoire chez les patients COVID-19 chez jusqu'à 50 % de ceux présentant des manifestations graves. (Zhou,*et fin* 2020).

Plusieurs études confirment la pertinence des concentrations élevées de d-dimères dans le COVID-19. Outre la variabilité connue chez les volontaires sains et leur tendance à augmenter avec l'âge, il existe une association de niveaux élevés de d-dimères et de produits de dégradation de la fibrine dans toutes les conditions avec un système de coagulation activé, comme la thrombose, l'infection ou la malignité (Massberg, 2018).

Chapitre

02

Notre travail a été réalisé au centre de Transplantation d'Organes et de Tissus (TOT) de Blida, au niveau du laboratoire d'analyse PCR ainsi qu'au sein du service de chirurgie cardiovasculaire du CHU Frantz Fanon pendant une durée de 03 mois : de Mars à Mai 2022.

Notre objectif principale était d'étudier l'impact d'une infection antérieure au virus SARS-CoV-2 sur les thromboses artérielles

2.1- Matériels

2.1 Matériel biologique

- La population étudiée présentait comme motifs :

Notre étude a porté sur 30 patients atteints des thromboses artérielles post COVID adressés au service de chirurgie vasculaire du centre de transplantation d'organe et de tissu de Blida, 100% de notre population ont été diagnostiqués par une ou plusieurs occlusions des artères et ils ont été touchés par le virus SARS-CoV-2 antérieurement.

- 10 patients diagnostiqués par AVC ischémique
- 16 patients diagnostiqués ischémie critique des membres inférieurs
- 01 patient diagnostiqué par une occlusion de la carotide
- 01 patient diagnostiqué par occlusion complète et aiguë de l'une ou des deux artères rénales.
- 02 patients diagnostiqués par une occlusion de l'Aorte

-Critères d'inclusion et d'exclusion

-Tous les patients incluses devaient

- Être dépisté par un test sérologique ou antigénique qui prouve une infection ancienne au COVID 19.
- Avant l'hospitalisation dans le service, le patient doit réaliser un test RT-PCR et le texte doit être négatif (-) pour éliminer une infection récente.
- l'identification des thromboses artérielles par une écho doppler.

-Des patients étaient exclus pour raison

-Absence d'un test sérologique, TDM thoracique, antigéniques ou RT-PCR qui prouve une infection antérieure au COVID 19.

2.2 Matériel non biologiques

2.2.1 Matériel de protection (voir annexe 01)

2.2.2 Matériel du laboratoire (voir annexe 02)

2.2.3 Réactifs (voir annexe 03)

2.3 Méthode

Dans notre étude on a reçu des patients au niveau le service de chirurgie cardiovasculaire du CHU de Blida qui ont été diagnostiqué par des complications des occlusions des artères (AVC ischémique, ischémie critique, AOMI, AOC...) qui doivent ramener un dossier complet qui comporte tous les analyses biochimiques et sérologiques et antigéniques et RT-PCR antérieures aussi tous les ordonnances administrées par les médecins accompagnés par des radios et des échos dopplers et angioscanners.

L'interrogatoire du patient, nous a permis de rechercher les signes cliniques en rapport avec la COVID 19 et les thromboses artérielles les facteurs de risque , leurs date d'apparition,ainsi que les antécédents et les comorbidités,et leurs localisation,leurs gravités et leurs traitements.

Dans le but d'éliminer une infection récente au COVID-19,nous allons procéder à la réaction de polymérisation en chaîne RT-PCR.

- Le kit utilisé pour l'extraction de l'ARN du virus est : «QIAamp Viral RNA Mini Kit (50) » de référence 56001612 commercialisé par QIAGEN
- Le kit d'amplification utilisé est : « Molecision™ SARS-CoV-2 RT-PCR Assay » de référence 132101008HB:50, commercialisé par Snibe.

2.3.1 Le Principe de la RT-PCR

Le kit PCR est destiné à la détection du SARS-CoV-2, par la méthode PCR de transcription inverse, et de réaction en chaîne par polymérase en temps réel. (Chaimayo *et al*,2020).

La PCR en temps réel utilise le principe de base de la PCR classique (amplification cyclique d'un fragment d'ADN en 3 étapes : dénaturation, hybridation et élongation), avec pour différence une amplification mesurée non pas en final mais tout au long de la réaction, donc en temps réel. (van Kasteren *et al*,2020).

La RT-PCR est basée sur 2 étapes principales sont l'extraction de l'ARN à partir du virus et convertir ARN en ADNc, cloner simultanément ADNc avec des amorces spécifiques au virus SARS-CoV-2 et recevoir des signaux de fluorescence en temps réel. (Wu *et al*,2020).

2.2.2 Recherche du SARS COVID-19 par RT-PCR.

2.2.2.1 Prélèvement

- Inclinez la tête du patient en arrière d'environ 45°- 70° pour redresser le passage de l'avant du nez, et insérer l'écouvillon dans la narine.
- Insérer l'écouvillon avec une tige flexible dans la narine parallèlement au palais.
- utiliser un écouvillon nasopharyngé dédié pour le prélèvement des échantillons.

-l'écouvillon doit atteindre une profondeur égale à la distance entre les narines et l'ouverture externe de l'oreille.

-En cas de résistance lors de l'insertion de l'écouvillon, retirez-le et essayez de l'insérer dans la narine opposée.

-Frottez et roulez doucement l'écouvillon ,3 à 4 fois. Laissez l'écouvillon en place pendant plusieurs secondes pour absorber les sécrétions.

- Retirez lentement l'écouvillon tout en faisant tourner.

- Le prélèvement doit être fait correctement sinon cela risque de fausser les résultats.

2.2.2.2 Mode d'emploi

Après le prélèvement nasopharyngé, l'échantillon sur écouvillon est mis dans une solution de conservation propre à la RT-PCR

2.2.2.3 Extraction de l'ARN

Les échantillons sont congelés à -20°C.

a- Phase pré-analytique :

- Décongélation des échantillons.

- Préparation de l'ARN carrière selon les instructions du fournisseur :

L'ARN carrier a pour rôle d'aider l'ARN à se fixer sur la colonne de silice mais également d'éviter la dégradation de l'ARN.

-Pipeter 310 µl de buffer AVE et les déposer dans un tube contenant l'ARN carrier. lyophilisé pour obtenir une concentration de 1 µg/µl.

-Distribuer 5.6 µl d'ARN carrier reconstitué sur 50 tubes de 1.5 ml.

-Les congeler à -20°C dans un congélateur RFC4 pour une utilisation directe

- Préparation de la solution de lavage AW1

-Ajouter 25 ml d'éthanol aux 19 mL de tampon AW1 présent dans le flacon ce qui donne un volume final de 44 mL de AW1.

-La solution est stable une année à une température située entre 15-25°C.

- Préparation de la solution de lavage AW2

-Ajouter 30 ml d'éthanol aux 13 ml de tampon AW2 présent dans le flacon ce qui donne un volume final de 43 mL d'AW2.

-La solution est stable une année à une température située entre 15-25°C.

- Phase analytique

- La lyse

- Préparer et identifier les microtubes de 1,5 ml pour chaque échantillon.
- Pipeter 560 µl du tampon AVL et les déposer dans le microtube de 1.5 ml contenant 5.6 µl de l'ARN carrier. Ce tampon détruit les cellules, dénature les protéines et inactive les RNase ce qui crée des liens qui permettent une bonne adsorption de l'ARN sur la colonne de silice.
- Mélanger l'échantillon sur le vortex.
- Pipeter 140 µl de l'échantillon et l'ajouter dans le microtube contenant l'ARN carrier et l'AVL.
- Agitation pendant 15 secondes environ sur Vortex, pour homogénéiser les réactifs et éviter la formation d'un précipité au fond du tube.
- Incuber 10 minutes à température ambiante (15-25°C).
- Centrifuger brièvement dans la centrifugeuse Minispin pour faire descendre les gouttes au fond du tube.
- Ajouter au lysat 560 µl d'éthanol (96-100%), pour ajuster les conditions de fixation de l'ARN.
- Agitation pendant 15 secondes sur le vortex.
- Centrifuger brièvement dans la centrifugeuse Minispin pour faire descendre les gouttes au fond du tube.

- Fixation de l'ARN :

- Délicatement, pipeter 630 µl du lysat (il restera 630 µl) et les transférer dans la colonne de silice, elle-même mise dans un tube collecteur de 2 ml . La membrane de silice permet l'absorption de l'ARN.
- Fermer le tube de 1.5 ml et la colonne, et centrifuger à 8000 rotations par minute (rpm) pendant 1 minute.
- Après centrifugation, placer la colonne dans un nouveau tube collecteur de 2 ml et jeter celui contenant le filtrat.
- Pipeter les 630 µl de lysat restant dans le microtube de 1.5 ml, et les déposer dans la colonne de silice.
- Fermer le tube de 1.5 ml et la colonne, et centrifuger à 8000 rpm pendant 1 minute.
- Après centrifugation, placer la colonne dans un nouveau tube collecteur de 2 ml, et jeter celui contenant le filtrat.

-Lavage et élimination des débris cellulaires :

- Ouvrir délicatement la colonne y ajouter 500 µl de solution de lavage, refermer et centrifuger à vitesse maximale (20 000 g ;14 000 rpm) pendant 3 minutes dans la centrifugeuse, pour éliminer les métabolites et composant macromoléculaire, contenu dans les échantillons testés.
- Après centrifugation, placer la colonne dans un nouveau tube collecteur de 2ml et jeter celui contenant le filtrat centrifuger à vitesse maximal (20 000 g ;14 000) pendant 1 minute pour éliminer tous les résidus de l'éthanol.
- Placer la colonne de silice dans le microtubule libellé, et jeter le tube collecteur contenant le filtrat.
- Ouvrir délicatement la colonne y ajouter 50 µl de l'AVL bien au centre de la colonne.
- Incuber 1 minute à température ambiante.
- Centrifugé à (6000 ;8000 rpm) pendant 1 minute.
- Jeter la colonne de silice et garder le microtube contenant l'extrait.
- Nettoyer correctement la hotte ainsi que le matériel utilisé.

2.2.2.4 Programmation du thermocycleur

Le thermocycleur peut varier la température de l'échantillon de façon très précise pendant des durées différentes. Selon les indications du fabricant, il faut ajuster la température, le temps, et le nombres de cycles pour chaque étape de la RT-PCR comme suite :

- La PRÉ PCR 1 : la transcription inverse
- LA PRÉ PCR 2 :
- La première étape de la PCR « la dénaturation » :
- La deuxième étape de la PCR « l'hybridation »
- La troisième étape de la PCR « la polymérisation »
- Programmer le nombre de cycles de la PCR a 45 cycles.

Tableau III : tableau récapitulatif de la programmation du thermocycleur

| | Température | Temps | Cycle |
|-------|-------------|-------|-------|
| PRE 1 | 42°C | 15min | 1 |
| PRE 2 | 95°C | 10min | 1 |
| PCR | 95°C | 5s | 45 |
| | 60°C | 40s | |
| | 72°C | 20s | |

2.2.2.5 Amplification

- Préparer le plan selon l'ordre suivant : le témoin, les malades, le control positif, et les mentionnée dans la feuille de lecture.

- Mettre les Strips dans la plaque a Strips selon le nombre des malades (Figure 28).
- Pipeter 15ul du Mastermix, et les déposer dans tous les puits. Le master mix contient l'ADN polymérase, le tampon mgcl2 qui permet de neutraliser les charges négatives du phosphate de l'ADN, les amorces « oligonucléotides », et les désoxynucléotide triphosphate.
- Pipetter 10ul du témoin, de chaque extrait et du control positif, et les déposer dans leur puits correspondant contenant le Mastermix.
- Fermer les puits avec les bouchons et centrifuger. - Mettre la plaque dans le Thermocycleur

2.2.2.5 Explication des étapes de la RT-PCR

- La transcription inverse

Dans cette étape l'ARN est rétro transcrit par la transcriptase inverse, une enzyme qui permet la synthèse de l'ADN complémentaire ADNc à partir de l'ARN. La Température optimale à l'activité de cette enzyme est 42°C .Cette étape est réalisée en un seul cycle, ensuite, on procède à la dénaturation du complexe ARN : ADNc, en augmentant la température à 95°C pendant 10 minutes .Cette étape se réalise en un seul cycle.

- La PCR

Dans un premier temps, l'ADN polymérase catalyse la synthèse du second brin d'ADNc en utilisant le premier brin comme matrice. Dans un deuxième temps, la PCR permet d'amplifier le fragment d'ADNc.

- La dénaturation

Dénaturer les doubles brins d'ADN complémentaire en matrice simple brin, en chauffant à une température de 95°C pendant 5 secondes ce qui détruit les liaisons qui relie les bases nucléotidiques entre elle

- L'hybridation

Les amorces « oligonucléotide » vont s'associer à leur brin correspondant, « une se fixe à l'extrémité du brin sens 5' 3', et une deuxième se fixe à l'extrémité du brin anti sens 3' 5'».La température permettant l'hybridation des amorces sur leur matrice est 60°C

- La polymérisation

Un nouveau brin fils va être synthétisé, à partir de l'amorce à l'aide de l'ADN polymérase, qui permettra l'élongation du nouveau brin, en utilisant les désoxynucléotides

triphosphate. La température optimale à l'activité de la polymérase est 72°C .Les trois étapes, dénaturation, hybridation, et polymérisation sont répétées 45 fois (cycles de PCR) doublant à chaque cycle la quantité d'ADN. La quantité d'ADN évolue de façon exponentielle puis linéaire pour finalement atteindre un plateau.

Tableau IV : tableau des primers

| Sequence | Primer name |
|---|---------------|
| GTGTTAATCTTACAACCAGAACTCAATTAC | S_preamp_for |
| CACAGACTTTAATAACAACATTAGTAGCG | S_preamp_rev |
| TGTA AAACGACGGCCAGTTCGTGGTGTTTATTACCCTGACAAAG | S.1.1538-M13F |
| CAGGAAACAGCTATGACCTCAGTGGAAGCAAATAAACACCAT | S.1.1538-M13R |

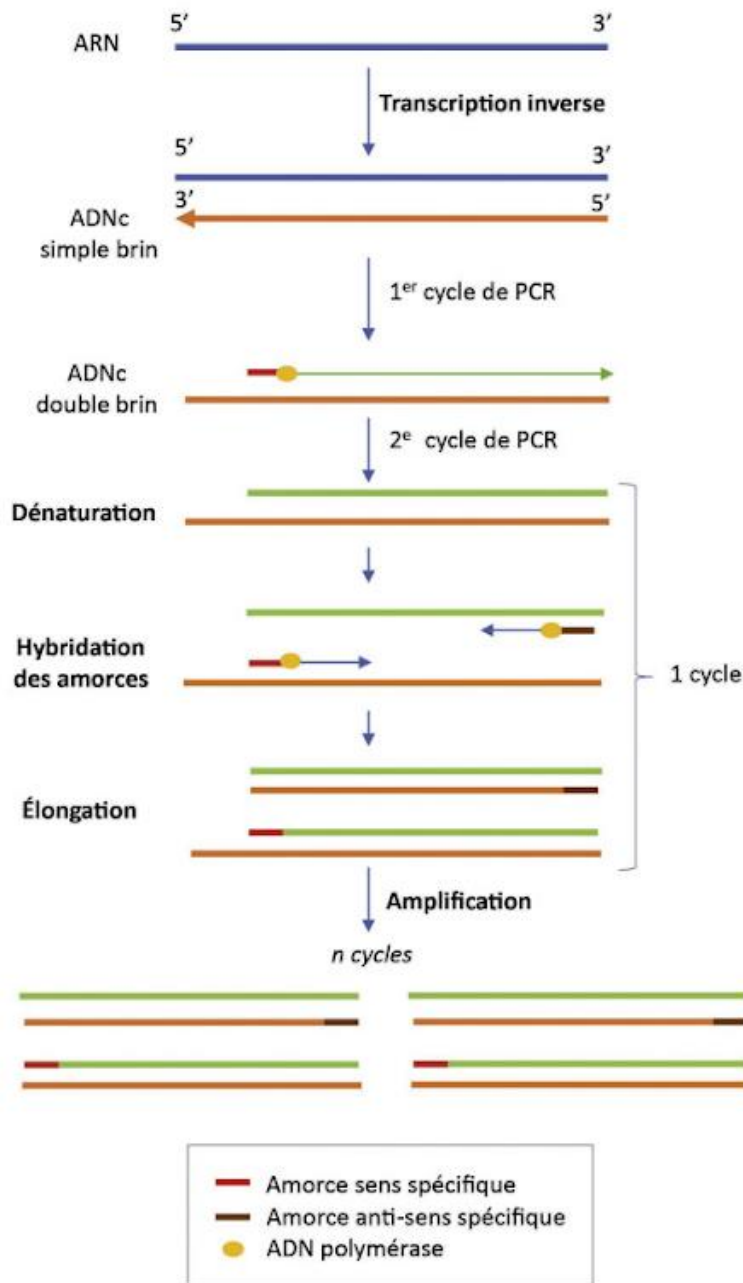


Figure 15 ; Principe de la RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction)
(Lefevre *et al*,2020)

- L'analyse des données :

Le cycle seuil ou CT (Cycle threshold) est défini par le nombre de cycles de la PCR requis pour atteindre un signal d'émission de fluorescence plus élevé que le bruit de fond. Il est d'autant plus petit que la matrice initiale à amplifier est abondante. Il apparaît toujours au cours de la phase exponentielle de la PCR. Le Ct est égal à 30 cycles Le bruit

de fond est un signal de faible intensité présent dans l'essai, que la cible soit présente ou non.(Lefevre *et al*,2020).

les valeurs de Ct du contrôle négatif dans les canaux FAM, ROX, HEXWIC doivent être inférieures à 40 et non supérieure ou égale à 35.

Le résultat du test est considéré comme valide si toutes les conditions mentionnées ci-dessus sont remplies pour le même test, sinon le résultat du test est considéré comme invalide et doit être retesté

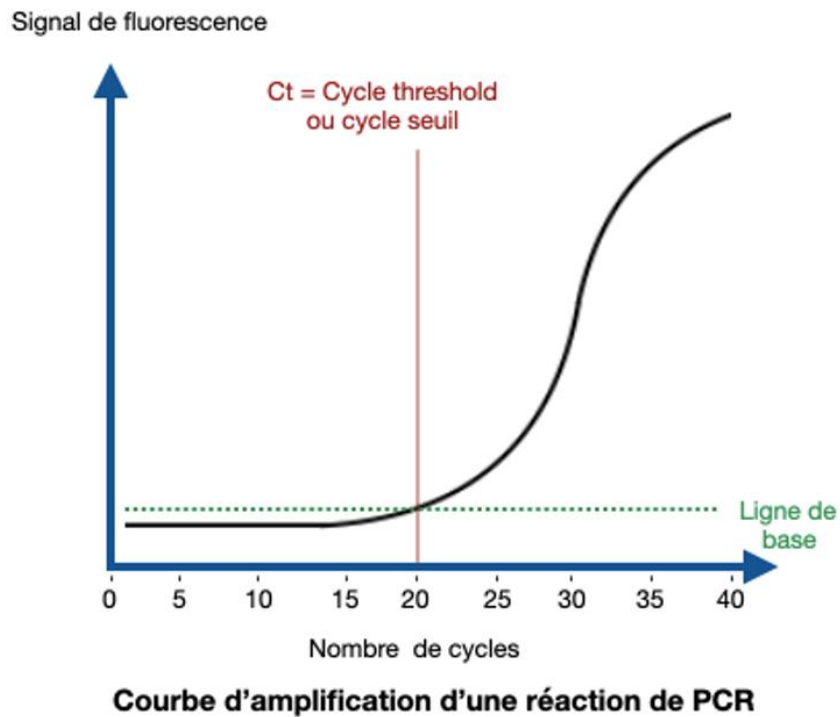


Figure 16 : Courbe d'échantillon positif.

- Archivage

Archivé les résultats dans la plateforme suivante : <https://covid.bmlabserver.com/> .

Chapitre 03

Résultats et discussion

3. Résultats et discussion

L'objectif de cette étude est de maximiser la collecte de haute qualité des données sur les thromboses artérielles liées à COVID-19.

3.1.Facteurs de risque

3.1.1. Le sexe et l'âge

La population étudiée est composée de 30 patients répartie entre 24 hommes et 6 femmes, l'âge moyen est 60ans, présentés dans le tableau IV

Tableau IV :la repartition des paients selon le sexe.

| Le sexe | Femme | Homme |
|--------------------------|-------|-------|
| Répartition des patients | 40 % | 60 % |

Répartition du sexe

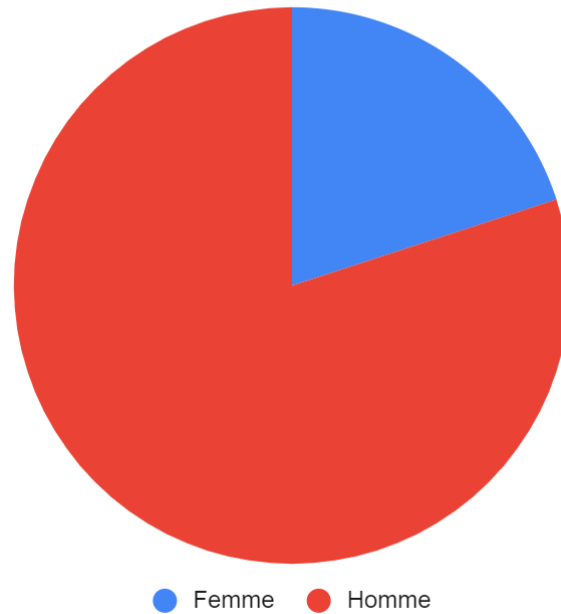


Figure 13 Répartition des patients inclus dans l'étude selon le sexe.

D'après la figure on constate que l'atteinte artérielle prédominante d'une manière significative chez les patients de sexe masculin.

3.1.2 Comorbidités

Chez nos patients ,les maladies chroniques associées aux thromboses artérielles sont présentes dans ce tableau illustrés dans des diagrammes circulaires suivantes; elles concernent :

- A- Diabète.
- B- HTA.
- C- Dyslipidémie.
- D- Obésité.

TABLEAU V : Les comorbidités associées :

| | Oui | Non |
|---|--------|--------|
| A | 36.3 % | 63.3 % |
| B | 60 % | 40 % |
| C | 16.7 % | 83.3 % |

| | | |
|---|------|------|
| D | 10 % | 90 % |
|---|------|------|

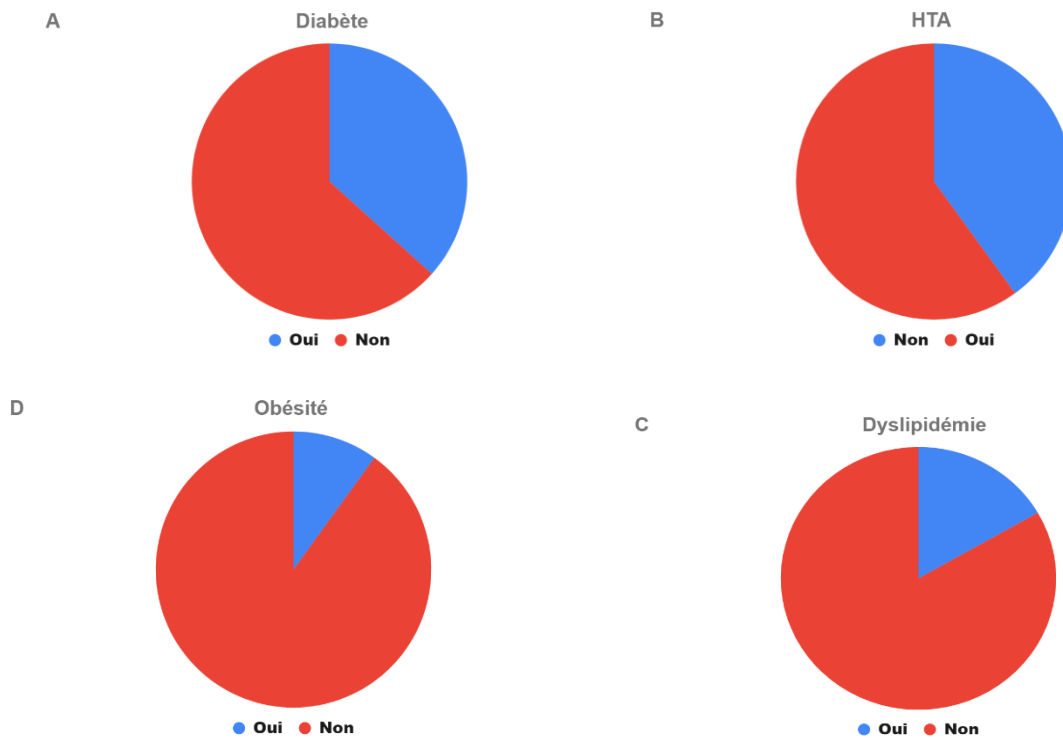


Figure 14: Diagramme des comorbidités associées .

3.1.2.1 Diabète

36.7 % de nos patients ont le diabète cette maladie a été identifié comme facteur associé aux formes graves de COVID, et facteur pronostique. Les premières données qui ont émergé de Wuhan, en Chine, mettaient en évidence une prévalence du diabète de 12 à 22 % chez les patients hospitalisés pour la COVID-19 (Yang et al,2020), diabète était donc associée aux formes graves et aux complications de la COVID-19.(Zhou et al,2020).le stress inflammatoire causé par le COVID-19 pourrait être un

déclencheur de ce diabète d'apparition récente ou préexistant et donc l'infection COVID induit aussi une résistance aiguë à l'insuline, favorisant un mécanisme sous-jacent conduisant au diabète. C'est pourquoi, la plupart de ces patients n'ont pas besoin d'insuline à long terme.(Sultan Ariane et Halimi Serge,2021) .

Il arrive donc avec le diabète que des graisses se déposent au niveau des artères. Un régime alimentaire riche en graisses couplé à de l'hypertension artérielle augmentent fortement le rythme de prolifération du dépôt graisseux, qui s'étend en conséquent. Au fur et à mesure les dépôts de graisse (ou plaques d'athérome) se solidifient et prennent une consistance fibreuse en se calcifiant, 2'est l'athérosclérose.

Les formations graisseuses peuvent se briser et boucher les artères en formant des caillots. donc la thrombose. Quand l'artère qui irrigue le cœur est bloquée, il s'agit d'une thrombose coronaire. Ce symptôme est grave puisque la conséquence directe de l'obstruction de l'artère coronaire est l'infarctus du myocarde.(Chekroun et al,2020).

3.1.1.2.2 HTA

Dans notre étude on a remarqué que 60 % des patients sont atteints d' HTA,on peut expliquer ce résultat par le facteur de l'âge qui apparaît comme l'un des facteurs prédictifs les plus forts de décès liés au COVID-19 (Zhou *et al*,2020).

L'hypertension est la comorbidité la plus courante observée chez les patients atteints de COVID-19, allant de 15 % à plus de 30 % (Guan *et al*,2020). Guan a démontré que parmi 1099 patients hospitalisés présentant une infection COVID 165 (~15 %) présentaient une hypertension artérielle (Guan *et al*,2020) .

Selon Hollander,il existe une relation étroite entre COVID 19 , HTA et le développement des thromboses artérielles.

L'hypertension artérielle est un facteur de risque majeur d'athérome. Il existe une relation étroite entre les chiffres de pression artérielle et le risque d'événement cardiovasculaire, en particulier d'infarctus. Plus la pression est élevée, plus le risque est élevé.Cela est dû à principalement au stress mécanique imposé au cœur et aux vaisseaux sanguins. Des facteurs humoraux et des hormones vasoactives comme l'angiotensine, les catécholamines et les prostaglandines peuvent jouer un rôle dans la pathogenèse de la maladie cardiovasculaire hypertensive, mais ce rôle n'a pas encore été défini et est

probablement secondaire. L'hypertension et l'augmentation de la tension tangentielle sur les parois du myocarde et des artères qui en résulte entraînent le développement d'une cardiopathie hypertensive et d'une insuffisance cardiaque congestive ainsi que d'une maladie vasculaire hypertensive qui affecte non seulement les reins mais aussi le cœur et le cerveau.

La maladie vasculaire hypertensive concerne à la fois les grandes et les petites artères ainsi que les artérioles et se caractérise par un épaissement fibromusculaire de l'intima et de la media avec un rétrécissement luminal des petites artères et des artérioles. Le stress physique de l'hypertension sur la paroi artérielle entraîne également l'aggravation et l'accélération de l'athérosclérose, notamment des vaisseaux coronaires et cérébraux.

De plus, l'hypertension semble augmenter la sensibilité des petites et des grandes artères à l'athérosclérose. Ainsi, le patient hypertendu est un candidat à la fois à la maladie vasculaire hypertensive et à l'athérosclérose des vaisseaux coronaires et cérébraux, ce qui entraîne une maladie occlusive des petites et des grosses artères et provoque un infarctus du myocarde et un accident vasculaire cérébral. Les autres complications majeures de la maladie vasculaire hypertensive sont la rupture et l'occlusion thrombotique des vaisseaux sanguins, en particulier dans le cerveau. La maladie de la média artérielle, qui commence dans l'enfance avec le dépôt de calcium dans les vaisseaux, peut être une cause importante d'hypertension artérielle. Cette forme d'hypertension peut se manifester à l'âge adulte sous la forme d'une hypertension athérosclérotique et entraîner des complications cardiovasculaires très similaires à celles de l'hypertension essentielle. La relation entre l'hypertension artériosclérotique et les facteurs nutritionnels, notamment la consommation de sel alimentaire, mérite d'être étudiée. (Hollander 2020).

3.1.1.2.3 Dyslipidémie

Dans nos résultats les patients atteints la dyslipidémie sont environ 16.7 % ,l'infectiosité des Coronavirus est aussi sous la dépendance du cholestérol membranaire des cellules cibles, en particulier pour ce qui est de son étape d'entrée (principalement par fusion membranaire, mais aussi par endocytose) (Kadam *et al*,2021) qui nécessite l'intégrité des microdomaines membranaires riches en cholestérol (radeaux lipidiques, cavéoles, domaines à tétraspanines...) de la membrane plasmique

des cellules infectées (Li *et al*,2007). Ces microdomaines membranaires riches en cholestérol, essentiels pour la physiologie cellulaire (endocytose, signalisation, ...), peuvent être modifiés in-vitro par traitement de cellules en culture avec différentes statines(O’Leary *et al*.2008).

L'athérosclérose est une réponse inflammatoire chronique de la paroi artérielle à une lésion endothéliale, quelle qu'en soit la nature. Le risque d'athérosclérose dépend de l'élévation du taux de cholestérol LDL et/ou de la diminution du taux du cholestérol HDL,les LDL oxydées induisent l'activation de facteurs de l'inflammation et thrombogènes : protéine C réactive, fibrinogène, lipoprotéine(a), molécules d'adhésion, cytokines.... (Mammeri *et al* ,2015).

3.1.1.2.3 Obésité

Seul 10 % de nos patients sont obèses, L’obésité représente un risque accru d’infection COVID-19 sévère, amenant les patients en soins intensifs pour une assistance respiratoire avec risque de décès (Lighter *et al*,2020),ce risque est causée par la perturbation les réponses immunitaires car l’obésité est caractérisée par une augmentation de la masse grasse. Les sujets les plus risqués sur le plan métabolique ont une adiposité abdominale, avec une accumulation de graisse péri-viscérale, dont les caractéristiques pro-inflammatoires sont à présent bien reconnues (Scheen André J.2020).Il existe des interactions complexes entre le tissu adipeux et le système immunitaire (Petrakis *et al*,2020),il a été suggéré que le tissu adipeux des patients obèses représentait un réservoir accru pour la dissémination du coronavirus, une activation immunitaire et une amplification de la réaction liée aux cytokines.(Ryan *et al*.2020).

L’obésité augmente le risque de thrombose. Les différents mécanismes par lesquels l'obésité peut provoquer une thrombose comprennent (Darvall *et al*.2007) :

- L'action de ce que l'on appelle les adipocytokines du tissu adipeux, par exemple la leptine et l'adiponectine
- L'augmentation de l'activité de la cascade de coagulation et la diminution de l'activité de la cascade fibrinolytique ; l'augmentation de l'inflammation.
- L'augmentation du stress oxydatif et du dysfonctionnement endothélial.
- Perturbations des lipides et de la tolérance au glucose associées au syndrome métabolique.(Darvall *et al*.2007)

3.1.1.3 Consommation de drogue

Nous avons testé la consommation de trois substances exprimées dans le tableau suivant :

A- Tabac.

B-Alcool.

C-Cannabis.

Tableau VI : Répartition selon la consommation de drogues.

| | Oui | Non |
|---|--------|--------|
| A | 53.3 % | 46.7 % |
| B | 3.3 % | 96.7 % |
| C | 3.2 % | 96.8 % |

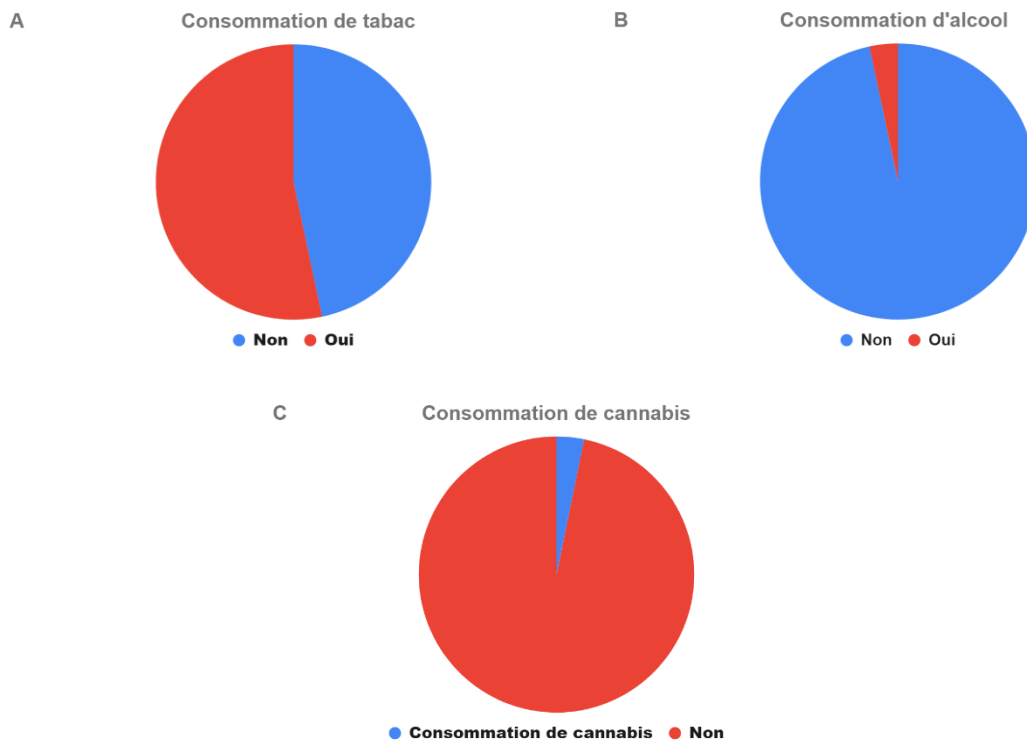


Figure 15 : Répartition selon la consommation de drogues.

3.1.1.3.1 Tabac

On voit que 53.3 % de nos patients consomment le tabac et sont tous des hommes. Le tabac altère la fonction pulmonaire et la COVID-19 s'attaque principalement aux poumons. (van Zyl-Smit *et al.*2020).

Les fumeurs risquent davantage de contracter une forme plus grave de la COVID-19, d'être hospitalisés dans une unité de soins intensifs ou d'en mourir, par rapport aux personnes qui n'ont jamais fumé. Des études mécanistes postulent que la sensibilité accrue à l'infection pourrait être due à une régulation positive du récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2). Les fumeurs actuels ont une expression génétique de l'ACE2 plus élevée par rapport aux anciens fumeurs et les non-fumeurs. En outre, il existe une association entre le VEMS et l'expression génétique de l'ACE2. Malgré cette association, on ne sait pas si la modification de la fréquence ou de la disponibilité des récepteurs de l'ECA2 a un effet sur la mortalité. En tout cas, les patients sous inhibiteurs de l'ECA (IEC) et sous antagonistes. (Kerr *et al.*,2019)

Une proportion considérable des décès liés au tabagisme est attribuable à la maladie coronarienne (MC). Les effets néfastes du tabagisme se manifestent à tous les stades du développement de la coronaropathie, depuis les premières altérations fonctionnelles de l'endothélium et de la microcirculation jusqu'aux manifestations clinicopathologiques tardives des plaques d'athérome. Le tabagisme entraîne la génération de radicaux libres et une augmentation du stress oxydatif qui joue un rôle central dans les mécanismes pathogéniques conduisant à la maladie athérosclérotique. Il réduit la biodisponibilité de l'oxyde nitrique et la peroxydation des lipides, qui sont des étapes initiales cruciales de la formation des plaques. En outre, le tabagisme augmente l'activation des leucocytes et des plaquettes et favorise l'inflammation locale et systémique, ce qui contribue à la progression et à la maturation des plaques. Enfin, les altérations des facteurs fibrinolytiques et prothrombotiques créent un environnement pro-thrombogène qui abrite le risque de rupture de plaque et de thrombose.(Gaemperli *et al.*2010).

L'arrêt du tabac est l'intervention la plus importante pour réduire le risque cardiovasculaire. La mortalité totale peut être réduite de 36 %..(Gaemperli *et al.*2010).

3.1.1.3.2 Alcool

Dans nos résultats, on a remarqué que seulement 3.3 %. Les sujets dont la consommation d'alcool était deux fois supérieure aux recommandations avaient un risque plus élevé de COVID-19.

On entend souvent qu'une très faible consommation d'alcool aurait des effets bénéfiques sur le système cardio-vasculaire. A l'inverse, il est notoire que l'abus chronique est néfaste pour le cœur. De plus, une récente étude hollandaise a démontré qu'un excès ponctuel d'alcool peut causer de graves lésions; en effet, l'alcool diminue la capacité du corps à dissoudre les caillots de sang, ce qui accroît donc le risque de thrombose, comme l'indique l'Institut suisse de prévention de l'alcoolisme et autres toxicomanies (ISPA), à Lausanne..(Ryan *et al.*2020).

3.1.1.3.3 Cannabis

Quoique 3.6 % seulement de nos patients consommaient du cannabis, il ne faut pas oublier que cette substance pourrait être plus vulnérable à l'infection par le COVID-19.

Il existe certaines similitudes entre les effets cardiovasculaires et respiratoires nocifs de la consommation de cannabis et ceux du tabagisme malgré la différence de principes actifs (tétrahydrocannabinol contre nicotine),(Downer Eric J.2011)

Des études antérieures ont indiqué que la consommation de cannabis à long terme est associée à des taux de mortalité élevés, à des maladies cardiaques (Lee *et al.*2018) à des syndromes métaboliques et à des modifications du système immunitaire (Drummer *et al.*,2019),en plus la consommation de cannabis peut générer ou augmenter les troubles psychiatriques (principalement les symptômes psychotiques) (Dervaux Alain,2018).

Dans les recommandations du gouvernement français concernant le COVID-19, la consommation de produits à base de cannabis inhalé a été mentionnée comme pouvant favoriser l'apparition de la toux et donc augmenter la transmission du virus, notamment dans le cas d'infections asymptomatiques, ainsi que dans l'intensification des symptômes respiratoires du COVID-19. En outre, le cannabis peut altérer le niveau de vigilance et donc aggraver les symptômes centraux du COVID-19, tels que la fatigue et la confusion. (Javelot *et al.*,2020).

L'artérite au cannabis est une condition médicale rarissime et peu étudiée qui se manifeste par une coagulation sanguine et une thrombose dans les membres périphériques.Malgré les preuves suggérant que cette pathologie a un lien avec le tabagisme, certains considèrent que l'effet du cannabis joue un rôle unique.(Bouissar *et al.*,2015).

Une artériopathie inhabituelle chez le sujet jeune doit faire rechercher une intoxication chronique au cannabis. Cette drogue réputée douce, peut entraîner des manifestations vasculaires de pronostic fonctionnel péjoratif.(Bouissar *et al.*,2015).

3.1.2 La recherche une infection au SARS-CoV-2 anterieure

Tous les patients ont marqué une infection antérieure au virus SARS-CoV-2, le types de tests trouvés dans les dossiers sont :

- TDM thoracique
- RT-PCR
- Test antigénique
- Test sérologique

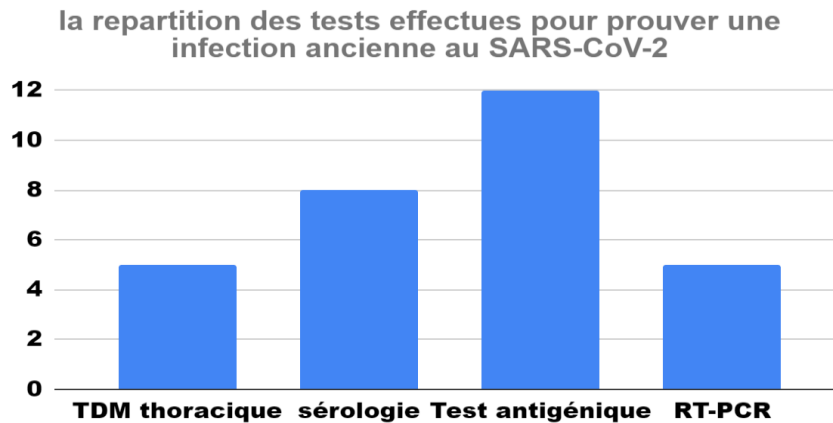


Figure 16 la répartition des tests effectués pour prouver une infection ancienne au SARS-CoV-2.

3.1.2.1 Les types de variants du SARS-CoV-2

on a classé les patients selon le type de variants :

Tableau VII: Répartition des variants du SARS-CoV-2

| Variants | Pourcentage |
|----------|-------------|
| Alpha | 3.3 % |
| Beta | 10 % |
| Gamma | 16.7 % |
| Delta | 63.3 % |
| Omicron | 6.7 % |

Type des variants

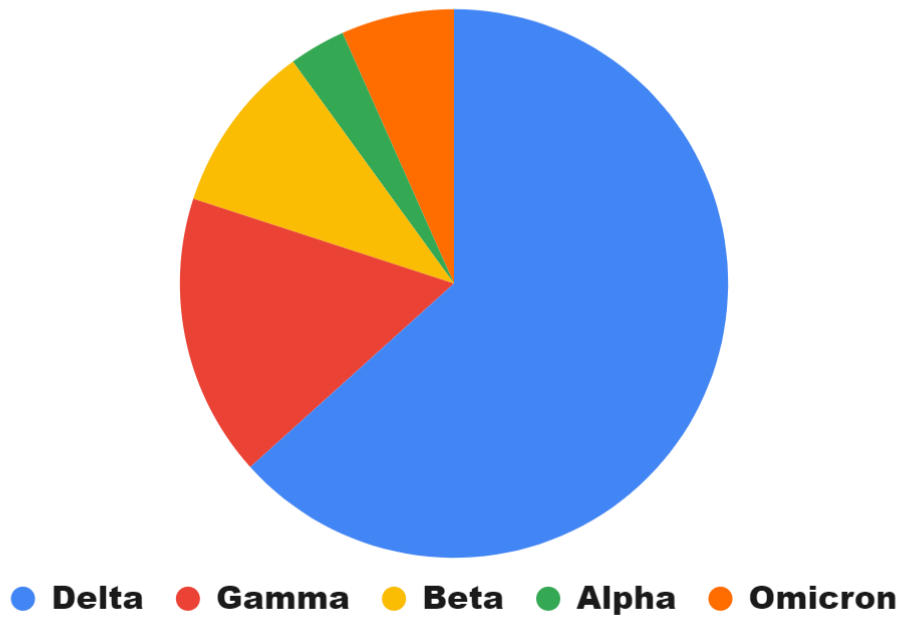


Figure 17 Diagramme exprime la répartition des variants dans notre étude.

3.1.2.2 La gravité de l'infection au SARS-CoV-2

Dans notre étude on a trouvé :

Tableau VIII la répartition des patients selon la gravité d'une infection ancienne au SARS-CoV-2

| Gravité | % |
|---------|--------|
| Légère | 53.3 % |
| Moyenne | 43.3 % |
| Grave | 3.3 % |

Gravité de l'infection au SARS-CoV-2

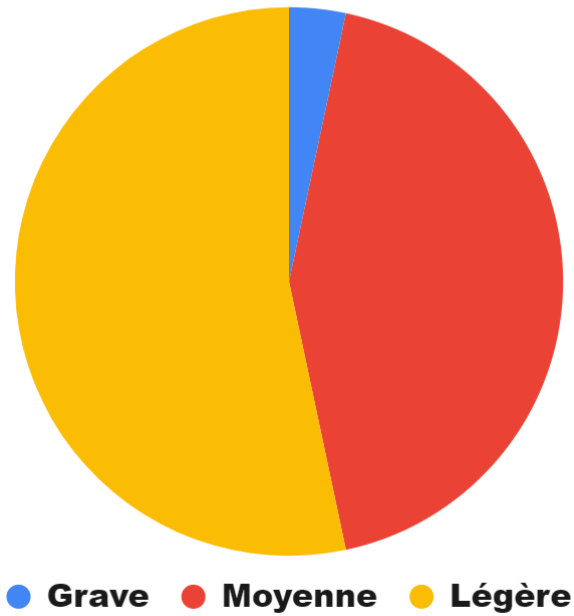


Figure 18 Diagramme exprime la répartition des patients selon la gravité d'une infection ancienne au SARS-CoV-2

3.1.2.3 Localisation des thromboses artérielles

100% de notre population ont été diagnostiqués par une ou plusieurs occlusions des artères, la localisation des thromboses est répartie comme suite :

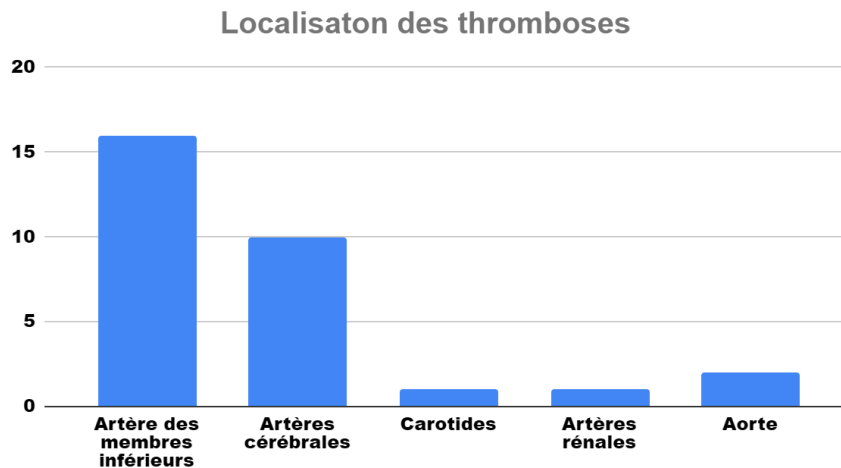


Figure 19 Localisation des thromboses artérielles

3.1.2.4 La gravité de la thromboses artérielles

Dans notre étude on a remarqué que la moitié des patients ont développé une forme bénigne. la répartition de la gravité de la thrombose est exprimé dans un diagramme à colonnes :

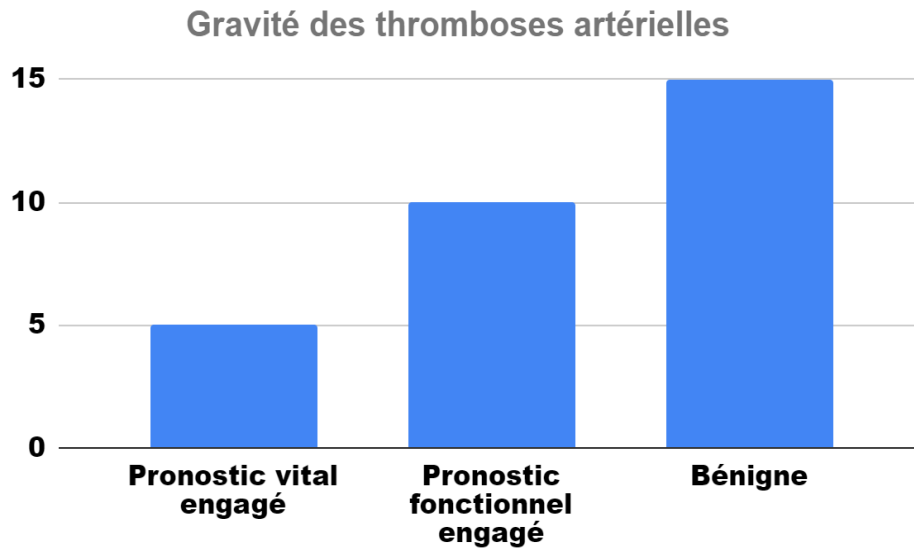


Figure 20 la gravité de la thrombose

3.1.2.5 La durée de l'apparition des thromboses

Chez nos patients, on a constaté que :

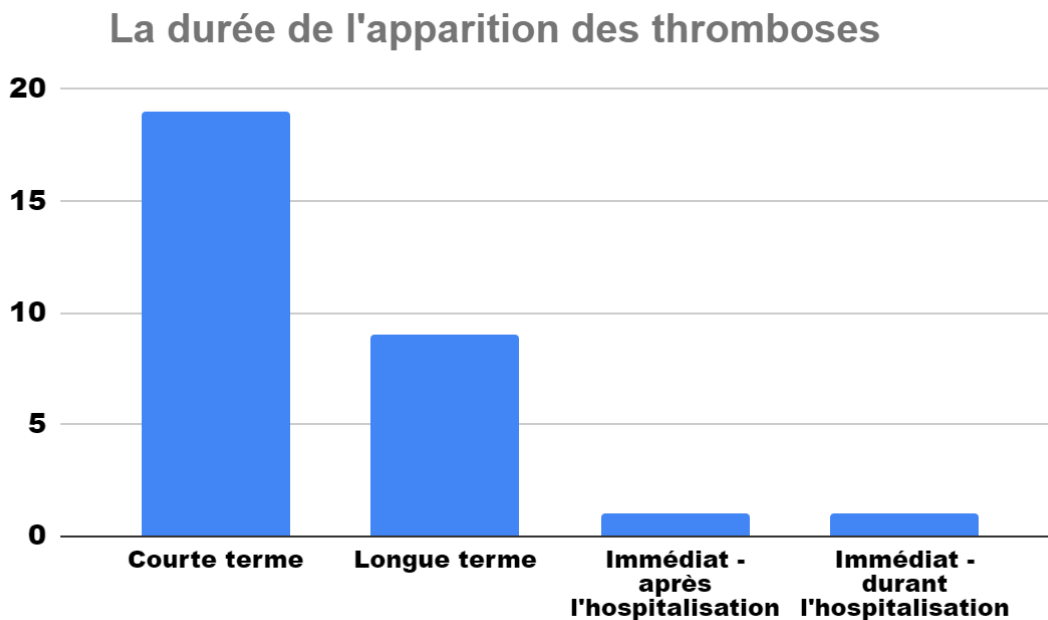


Figure 21 la durée de l'apparition des thromboses

3.1.2.6 Le traitement des thromboses

Les patients ont été traités en 2 manières soit chirurgical ou médicale



Figure 22 le traitement

3.2.1.7 Resultat de test RT-PC

Tous les tests effectués étaient négatifs

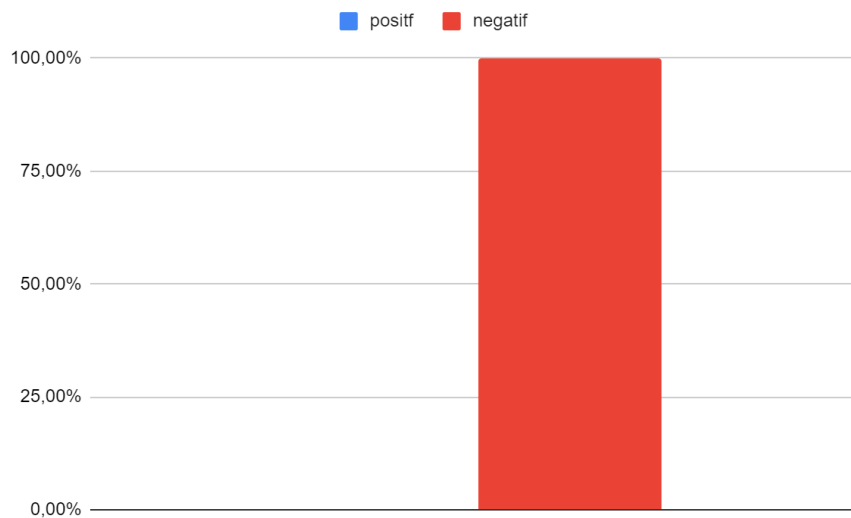


Figure 23 Les résultats des tests RT-PCR effectués

3.1.2.8 La relation entre le variant delta et la gravité de l'infection au SARS-CoV-2 et la gravité de la thrombose

Dans notre étude on a remarqué que 63.3% de nos patients étaient infectés par le variant delta, sachant que ce variant présente la forme la plus sévère (Tao *et al*,2021). représentant plus de 99 % des cas de COVID-19 (à l'époque) et entraînant une augmentation écrasante des hospitalisations dans certains États.(Frija-Masson *et al*,2021)

Dans notre étude,on a constaté que l'apparition des thromboses post-covid peut se développer et entraîner des complications cardiovasculaires à court terme expliquant 63.3 % des cas traités.

Ces résultats sont confirmés par rapport la recherche de Yan Xie qui montre que au-delà des 30 jours suivant l'infection, les personnes atteintes de COVID-19 sévère présentent un risque accru de maladies cardiovasculaires incidentes dans plusieurs catégories, notamment les troubles cérébrovasculaires, les dysrythmies, les cardiopathies ischémiques et non ischémiques, les péricardites, les myocardites, les insuffisances cardiaques et les maladies thromboemboliques.

(Yan *et al*,2022).

Le récepteur clé de l'entrée du SRAS-CoV-2, l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)-2, est exprimé sur les pneumocytes et les macrophages, ainsi qu'à la surface des cellules endothéliales et musculaires lisses artérielles des poumons (Hamming *et al.*, 2004). Le dysfonctionnement endothélial induit par le SRAS-CoV-2 crée un environnement favorable à la thrombose (Evans *et al.*, 2020), qui peut à son tour favoriser l'inflammation, ce qui représente le modèle d'immunothrombose (Gaertner *et Massberg*,2020).

3.1.2.9 la durée de l'apparition des thromboses artérielles post-covid

Dans notre étude,on a constaté que l'apparition des thromboses post-covid peut se développer et entraîner des complications cardiovasculaires à court terme expliquant 63.3 % des cas traités.

Ces résultats sont confirmés par rapport la recherche de Yan Xie qui montre que au-delà des 30 jours suivant l'infection, les personnes atteintes de COVID-19 présentent un risque accru de maladies cardiovasculaires incidentes dans plusieurs catégories, notamment les troubles cérébrovasculaires, les dysrythmies, les cardiopathies ischémiques et non ischémiques, les péricardites, les myocardites, les insuffisances cardiaques et les maladies thromboemboliques. (Yan *et al*,2022).

Conclusion

Conclusion

Bien que la thrombose soit courante dans le sepsis, l'hypercoagulabilité associée au Covid-19 peut être due à un état prothrombotique induit par la maladie elle-même.

La meilleure stratégie d'anticoagulation chez les patients hospitalisés, pour ce qui est de la prise en charge des patients ayant présenté une thrombose au cours du Covid19 , il sera important qu'ils puissent bénéficier d'un suivi spécifique afin de statuer sur les modalités du traitement antithrombotique et l'identification d'éventuelles séquelles.

Dans le but de l'étude de ces dernières, nous nous sommes proposé d'investiguer les facteurs qui conduisent à l'apparition des thromboses artérielles post-Covid.

Nous avons d'abord éliminé une infection récente au SARS-CoV-2 par la RT-PCR , puis déterminé les facteurs de risques qui conduisent à l'apparition des thromboses artérielles post-Covid , et en dernier lieu quel serait le variant SARS-CoV-2 qui serait le plus susceptible de provoquer une thrombose chez nos patients ?

Nos résultats démontrent une prédominance masculine (80% hommes, et 20 % femmes), les comorbidités sont 60% hypertendues, 10% obèses, 63.3% diabétiques, et 16.7% dyslipidémiques.

Une infection antérieure à la Covid-19 aurait un impact important dans le développement des thromboses artérielles.

En perspective ,il serait judicieux de promouvoir une prévention contre les thromboses artérielles post-Covid en mettant en place une stratégie thérapeutique adéquate.

Référence

1. Alam Intikhab, Kamau Allan A., Kulmanov Maxat, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* Functional Pangenome Analysis Shows Key Features of E Protein Are Preserved in SARS and SARS-CoV-2 ,2020,10.3389/fcimb.2020.00405.
2. Alexandre Cinaud, Emmanuel Sorbets, Vincent Blachier, Alexandre Vallee, Sandrine Kretz Hélène Lelong, *Hypertension artérielle et COVID-19* High blood pressure and COVID-19.10.1016/j.lpmfor.2020.08.006.
3. B. Vidhya, S. Rajesh, A. Sakunthala, *Journal of Virological Methods*, COVID-19: Invasion, pathogenesis and possible cure – A review, 02/2022, 10.1016/j.jviromet.2021.114434.
4. vBlache Jacques, Halimi Jean-Michel, *Sang thrombose vaisseaux*, Management of arterial hypertension in adults: 2013 guidelines of the French Society of Arterial Hypertension, 2013, 10.1684/stv.2013.0798
5. Blanchette, V. ET coll. (2013) *SicKids Handbook of Pediatric Thrombosis and Hemostasis*, Karger
6. *Blood*. 2020. Apr 27. pii: blood.2020006000. doi: 10.1182/blood.2020006000 Bouissar. W. Khaddi. S., *La Revue de Médecine Interne*, L'artérite au cannabis : un nouveau cas, 2015, 10.1016/j.revmed.2015.03.146.
7. Raskob GE, Angchaisuksiri P, Blanco AN, et al. Thrombosis: a major contributor to global disease burden. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2014;40:724-35
8. Cazenave, F. Lanza and C. Gachet (2010). "Arterial thrombosis: relevance of a model with two levels of severity assessed by histologic, ultrastructural and functional characterization." *J Thromb Haemost* 8(1) : 173-184.
9. Cerquozzi. S, Barraco. D. *Blood Cancer Journal*. Risk factors for arterial versus venous thrombosis in polycythemia vera: a single center experience in 587 patients. 2017 10.1038/s41408-017-0035-6.
10. Cécile oury (2015) *Platelet Activation and Arterial Thrombosis*

11. Chaimayo Chutikarn, Kaewnaphan Bualan, Virology Journal, Rapid SARS-CoV-2 antigen detection assay in comparison with real-time RT-PCR assay for laboratory diagnosis of COVID-19 in Thailand, 2020, 10.1186/s12985-020-01452-5.
12. Connors JM, Levy JH. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation.
13. COVID-19 and Thrombotic or Thromboembolic Disease: Implications for Prevention, Antithrombotic Therapy, and Follow-Up: JACC State-of-the-Art Review 2014 Publié par Elsevier Masson SAS. Doi : 10.1016/j.neurad.2014.01.049.
14. Engelmann B., Massberg S. Thrombosis as an intravascular effect or of innate immunity. Nat Rev Immunol. 2013;13(1):34–45
15. Elsevier Masson 2008 Prise en charge en urgence d'un patient en ischémie aiguë des membres inférieurs 25-190-A-20] - Doi : 10.1016/S0000-0000(07)45749-7
16. Ernewein Collège Français des Pathologistes - Anatomie Pathologique'Campus d 2017 Université Médicale Virtuelle Francophone - UMVF 2011_2010 (CoPath)
17. Embolie Artérielle - 30/03/12 Doi : 10.1016/B978-2-294-70917-3.50012-5 V. Bonnet.
18. J Am Coll Cardiol. 2020 Jun 16;75(23):2950-2973. doi: 10.1016/j.jacc.2020.04.031. Epub 2020 Apr 17.
19. Jean Mermoz. 2022 Fédération Française de Cardiologie 2022.
20. Jacques Blacher, Jean-Michel Halimi, Olivier Hanon, Jean-Jacques Mourad, Atul Pathak, Bruno Schnebert, Xavier Girerd. Prise en charge de l'hypertension artérielle de l'adulte. Sang Thrombose Vaisseaux. 2013;25(5):297-305. doi:10.1684/stv.2013.0798.

21. Giovanni de Gaetano, Augusto Di Castelnuovo, Maria B. Donati, Licia Iacoviello. The Mediterranean Lecture: Wine and Thrombosis From Epidemiology to Physiology and Back. doi 10.1684/stv.2013.0798.
22. Mousavizadeh Leila et Ghasemi Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 04/2021, Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis, 10.1016/j.jmii.2020.03.022.
23. Marie-Christine Trzeciak - Marie-Hélène Denninger, éditions Biomérieux, 13/02/2004 •
24. Hao Cheng , Yan Wang , Gui-Qiang Wang. Organ-protective effect of angiotensin-converting enzyme 2 and its effect on the prognosis of COVID-19. 2020 Jul;92(7):726-730. doi: 10.1002/jmv.25785. Epub 2020 Apr 5.
25. Hémorragies et thromboses : du diagnostic au traitement M-M Samama et coll, Elsevier Masson, 2e édition
26. Muszbek L, Berczky S, Bagoly Z, Komáromi I, Katona E. Factor XIII : a coagulation factor with multiple plasmatic and cellular functions. *Physiol Rev* 2011;91:931-972.
27. nRuffer MA. - On arterial lesions found in Egyptian mummies. *J Pathol Bacteriol*, 1911 :15 : 453.
28. Sofia Dalkou, Carole Clair. Tabagisme, vapotage et risque cardiovasculaire : mise au point. 10.53738/REVMED.2017.13.566.1186.
29. Sophie Leprope. 2018 Sep 13;132(11):1180-1192. doi: 10.1182/blood-2018-02-831503 blood Epub 2018 Jul 17.
30. S. Cerquozzi¹, D. Barraco, T. Lasho², C. Finke, C. A. Hanson³, R. P. Ketterling, A. Pardanani, N. Gangatand A. Tefferi. Risk factors for arterial versus venous thrombosis in polycythemia vera: a single center experience in 587 patients. DOI 10.1038/s41408-017-0035-6.

31. The Role of Anticoagulation in COVID-19-Induced Hypercoagulability Juan Simon Rico-Mesa, Daniel Rosas, Ashkan Ahmadian-Tehrani, Averi White, Allen S. Anderson & Robert Chilton 2020 Jun 27. doi: 10.7759/cureus.8872
32. W.Bouissar.S.KhaddiM.Moudatir.K.EchchilaliF.Z.AlaouiH.El Kabli.L'artérite au cannabis : un nouveau cas.10.1016/j.revmed.2015.03.146.
33. Yan Weizhu,ZhengYanhui,Xiaotao,Signal Transduction and Targeted Therapy,Structural biology of SARS-CoV-2: open the door for novel therapies,12/2022,10.1038/s41392-022-00884-5
34. Zhou F, Yu T, Du R, et al (2020) Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. Lancet. 395: 1054-62

Annexes

Annexe 1

Annexe 2

Matériel de protection.

- Gang stérile.
- Surblouse.
- Masque FFP2.
- Masque chirurgical.
- Charlotte.
- Visière de protection.
- Combinaison de protection.
- Lunette de protection.
- Surchaussure jetable.



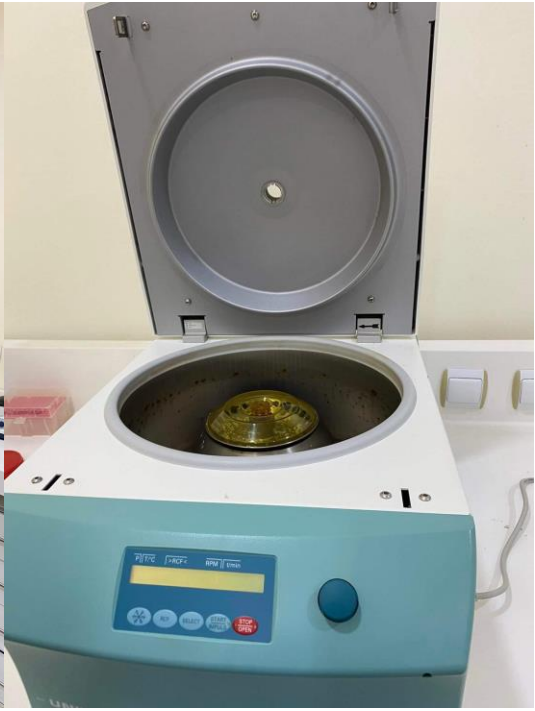
Matériel du laboratoire

- 25 appareils de test avec dessiccateur dans une pochette individuelle en Aluminium.
- tubes d'extraction.
- bouchons pour tubes d'extraction.
- écouvillons nasopharyngés stérilisés pour le prélèvement.
- Embout filtrant stérile.
- Micropipette.

- Microtubes de 1.5 ml.
- Portoirs à microtubes.
- Hotte avec stérilisation U.V et ventilation.
- Centrifugeuse à vitesse maximum de 15 000 rotations par minute (rpm).
- Minispin.
- Vortex.
- Réfrigérateur à -20 C°.
- Plaque de Micro embout à 96 puits.
- Strips.
- Plaque à Strips.
- Bouchons des Strips.
- Micropipette.
- Thermocycleur.
- Matériels informatiques (ordinateur et logiciel).
- Minuterie.
- Conteneur à déchets « bidon jaune »





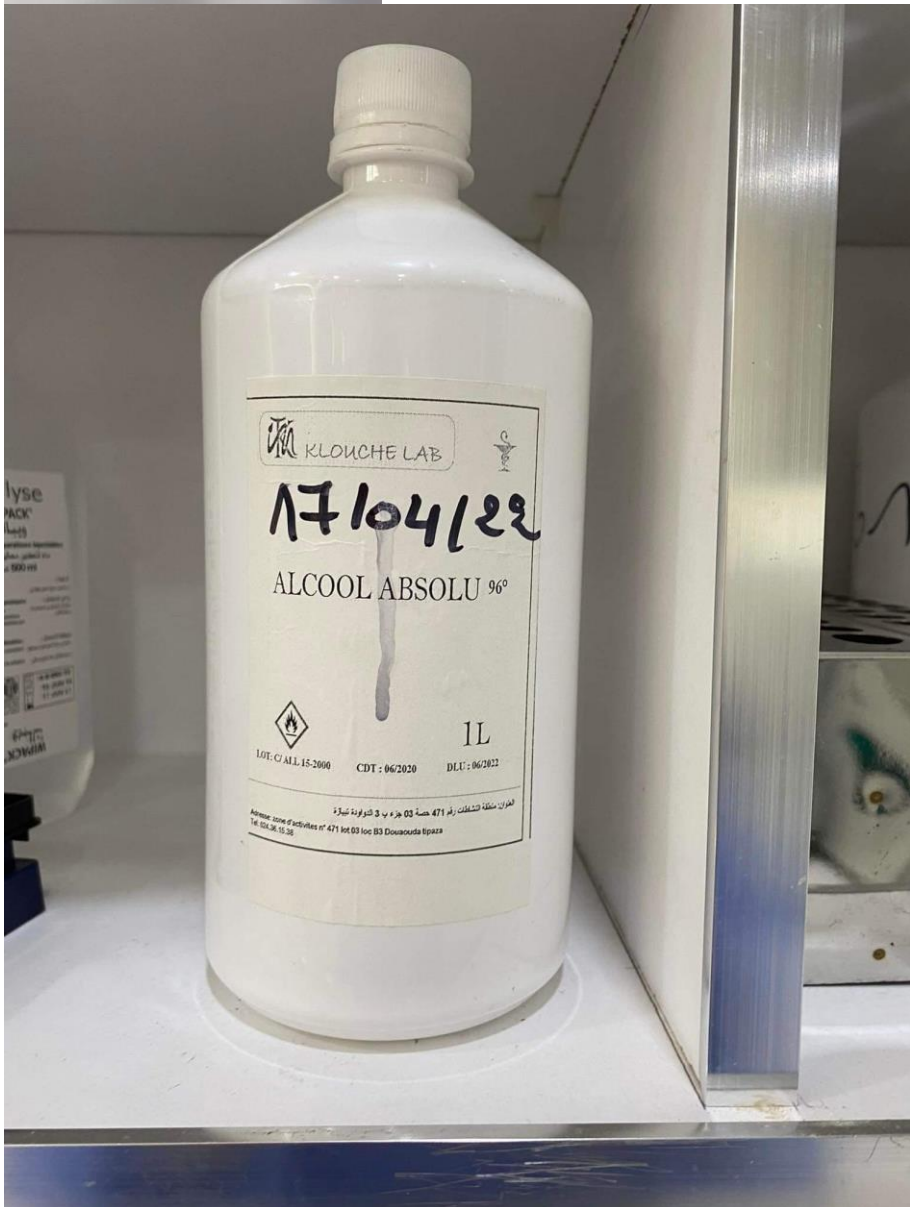




-Réactifs

- Solution tampon (1*9 ml /flacon).
- Buffer AVL.
- Buffer AW1.
- Buffer AW2.
- ARN carrier.
- Master Mix.
- Control positif.
- Control interne.
- Alcool absolu 96°.
- Nucléase free water.





Certificate of Analysis

applied biosystems
by Thermo Fisher Scientific

Applied Biosystems StepOnePlus™ Real-Time PCR System Thermal Cycling Block

S/N : **2720010649**

Temperature Non-Uniformity Across All Zones

DOWNRAMP TNU

(95°C - 60°C) @ 30 sec

0.34 °C

UPRAMP TNU

(60°C - 95°C) @ 30 sec

0.22 °C

The block was tested and the results showed that the block performed in accordance with the specifications set forth in the Life Technologies Holdings Pte Ltd Final Assembly and Test Specifications.

The equipment and standards used to perform the above test are calibrated/adjusted/measured against certified equipment traceable to National Institute for Standards and Technology, USA.

The parts and supplies used to manufacture the block conform in all respects to Life Technologies Holdings Pte Ltd product requirements, including specification, drawings, preservation, packaging, packing, marking requirements and physical item identification (part number).

This product was found to meet its functional and performance specifications set forth in Final Assembly and Test Specifications at release to shipment. To support this certification, Assembly and Test Records are available for reference through Life Technologies Holdings Pte Ltd.

Life Technologies Holdings Pte Ltd maintains possession of test and assembly records. Life Technologies Holdings Pte Ltd may require customer to execute a nondisclosure agreement prior to Life Technologies Holdings Pte Ltd providing customer access to such records. Life Technologies Holdings Pte Ltd maintains these documents as part of Life Technologies Holdings Pte Ltd Quality System.

The integrity of this quality system is routinely audited and is certified by the British Standards Institution as meeting all the applicable requirements of the ISO 9001 & ISO 13485 standards.

JOSEPH SEOW

Name & Signature & Date

28 DEC 2015

4393848 Rev. F

Page 1 of 1

Printed in Singapore