

UNIVERSITE MOHAMMED V- RABAT  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE – RABAT

ANNEE: 2016

THESE: N°95

**LE FACTEUR V LEIDEN OU PHÉNOTYPE DE  
RÉSISTANCE À LA PROTÉINE C ACTIVÉE  
(RPCa)**

**THÈSE**

*Présentée et soutenue publiquement le :.....*

**PAR**  
**Mlle FARHANE Sana**  
Née le 08 Juillet 1990 à Rabat

*Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie*

**MOTS CLES** : Facteur V- Résistance à la protéine C activée -Facteur V Leiden -  
Thrombophilie - Thromboses veineuses

**JURY**

**Mr. A. BAITE**  
Professeur d'Anesthésie Réanimation

**PRESIDENT**

**Mme. N. MESSAOUDI**  
Professeur d'Hématologie Clinique

**RAPPORTEUR**

**Mme. S. TELLAL**  
Professeur de Biochimie

**Mme. S. AOUI**  
Professeur de Parasitologie

**JUGES**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا  
إننا أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 32

صَلِّ عَلَى اللَّهِ الْعَظِيمِ



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

**DOYENS HONORAIRES :**

1962 – 1969	: Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974	: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981	: Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989	: Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997	: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003	: Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013	: Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

**ADMINISTRATION :**

<b>Doyen</b>	: Professeur Mohamed ADNAOUI
<b>Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes</b>	Professeur Mohammed AHALLAT
<b>Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération</b>	Professeur Taoufiq DAKKA
<b>Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie</b>	Professeur Jamal TAOUFIK
<b>Secrétaire Général</b>	: Mr. El Hassane AHALLAT

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS  
ET  
PHARMACIENS**

**PROFESSEURS :**

**Mai et Octobre 1981**

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

**Mai et Novembre 1982**

Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
-------------------------	----------------------

**Novembre 1983**

Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie
-------------------------------	--------------

**Décembre 1984**

Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne – <i>Clinique Royale</i>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif	pathologie Chirurgicale

**Novembre et Décembre 1985**

Pr. BENJELLOUN Halima	Cardiologie
Pr. BENSALD Younes	Pathologie Chirurgicale
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa	Neurologie

### **Janvier, Février et Décembre 1987**

Pr. AJANA Ali  
Pr. CHAHED OUZZANI Houria  
Pr. EL YAACOUBI Moradh  
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah  
Pr. LACHKAR Hassan  
Pr. YAHYAOUI Mohamed

### **Décembre 1988**

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib  
Pr. DAFIRI Rachida  
Pr. HERMAS Mohamed

### **Décembre 1989**

Pr. ADNAOUI Mohamed  
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali\*  
Pr. CHAD Bouziane  
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

### **Janvier et Novembre 1990**

Pr. CHKOFF Rachid  
Pr. HACHIM Mohammed\*  
Pr. KHARBACH Aïcha  
Pr. MANSOURI Fatima  
Pr. TAZI Saoud Anas

### **Février Avril Juillet et Décembre 1991**

Pr. AL HAMANY Zaïtounia  
Pr. AZZOUZI Abderrahim  
Pr. BAYAHIA Rabéa  
Pr. BELKOUCHI Abdelkader  
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif  
Pr. BENSOUDA Yahia  
Pr. BERRAHO Amina  
Pr. BEZZAD Rachid  
Pr. CHABRAOUI Layachi  
Pr. CHERRAH Yahia  
Pr. CHOKAIRI Omar  
Pr. KHATTAB Mohamed  
Pr. SOULAYMANI Rachida  
Pr. TAOUFIK Jamal

Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Traumatologie Orthopédie  
Gastro-Entérologie  
Médecine Interne  
Neurologie

Chirurgie Pédiatrique  
Radiologie  
Traumatologie Orthopédie

Médecine Interne – **Doyen de la FMPR**  
Cardiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Neurologie

Pathologie Chirurgicale  
Médecine-Interne  
Gynécologie -Obstétrique  
Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation

Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation – **Doyen de la FMPO**  
Néphrologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pharmacie galénique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Biochimie et Chimie  
Pharmacologie  
Histologie Embryologie  
Pédiatrie  
Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**  
Chimie thérapeutique

### **Décembre 1992**

Pr. AHALLAT Mohamed  
Pr. BENSOUA Adil  
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib  
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza  
Pr. CHRAIBI Chafiq  
Pr. DAOUDI Rajae  
Pr. DEHAYNI Mohamed\*  
Pr. EL OUAHABI Abdessamad  
Pr. FELLAT Rokaya  
Pr. GHAFIR Driss\*  
Pr. JIDDANE Mohamed  
Pr. TAGHY Ahmed  
Pr. ZOUHDI Mimoun

### **Mars 1994**

Pr. BENJAAFAR Noureddine  
Pr. BEN RAIS Nozha  
Pr. CAOUI Malika  
Pr. CHRAIBI Abdelmjid  
Pr. EL AMRANI Sabah  
Pr. EL AOUAD Rajae  
Pr. EL BARDOUNI Ahmed  
Pr. EL HASSANI My Rachid  
Pr. ERROUGANI Abdelkader  
Pr. ESSAKALI Malika  
Pr. ETTAYEBI Fouad  
Pr. HADRI Larbi\*  
Pr. HASSAM Badredine  
Pr. IFRINE Lahssan  
Pr. JELTHI Ahmed  
Pr. MAHFOUD Mustapha  
Pr. MOUDENE Ahmed\*  
Pr. RHRAB Brahim  
Pr. SENOUCI Karima

### **Mars 1994**

Pr. ABBAR Mohamed\*  
Pr. ABDELHAK M'barek  
Pr. BELAIDI Halima  
Pr. BRAHMI Rida Slimane  
Pr. BENTAHILA Abdelali  
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali  
Pr. BERRADA Mohamed Saleh  
Pr. CHAMI Ilham

Chirurgie Générale  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Neurochirurgie  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Anatomie  
Chirurgie Générale  
Microbiologie

Radiothérapie  
Biophysique  
Biophysique  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Gynécologie Obstétrique  
Immunologie  
Traumato-Orthopédie  
Radiologie  
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**  
Immunologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Médecine Interne  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Anatomie Pathologique  
Traumatologie – Orthopédie  
Traumatologie- Orthopédie **Inspecteur du SS**  
Gynécologie –Obstétrique  
Dermatologie

Urologie  
Chirurgie – Pédiatrique  
Neurologie  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie  
Gynécologie – Obstétrique  
Traumatologie – Orthopédie  
Radiologie

Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae  
Pr. EL ABBADI Najia  
Pr. HANINE Ahmed\*  
Pr. JALIL Abdelouahed  
Pr. LAKHDAR Amina  
Pr. MOUANE Nezha

#### **Mars 1995**

Pr. ABOUQUAL Redouane  
Pr. AMRAOUI Mohamed  
Pr. BAIDADA Abdelaziz  
Pr. BARGACH Samir  
Pr. CHAARI Jilali\*  
Pr. DIMOU M'barek\*  
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine\*  
Pr. EL MESNAOUI Abbes  
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila  
Pr. HDA Abdelhamid\*  
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed  
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia  
Pr. SEFIANI Abdelaziz  
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

#### **Décembre 1996**

Pr. AMIL Touriya\*  
Pr. BELKACEM Rachid  
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim  
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan  
Pr. GAOUZI Ahmed  
Pr. MAHFOUDI M'barek\*  
Pr. MOHAMMADI Mohamed  
Pr. OUADGHIRI Mohamed  
Pr. OUZEDDOUN Naima  
Pr. ZBIR EL Mehdi\*

#### **Novembre 1997**

Pr. ALAMI Mohamed Hassan  
Pr. BEN SLIMANE Lounis  
Pr. BIROUK Nazha  
Pr. CHAOURI Souad\*  
Pr. ERREIMI Naima  
Pr. FELLAT Nadia  
Pr. HAIMEUR Charki\*  
Pr. KADDOURI Nouredine  
Pr. KOUTANI Abdellatif  
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid  
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ  
Pr. OUAHABI Hamid\*  
Pr. TAOUFIQ Jallal  
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Ophthalmologie  
Neurochirurgie  
Radiologie  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie

Réanimation Médicale  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Gynécologie Obstétrique  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation – **Dir. HMIM**  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Cardiologie - **Directeur ERSM**  
Urologie  
Ophthalmologie  
Génétique  
Réanimation Médicale

Radiologie  
Chirurgie Pédiatrie  
Ophthalmologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Radiologie  
Médecine Interne  
Traumatologie-Orthopédie  
Néphrologie  
Cardiologie

Gynécologie-Obstétrique  
Urologie  
Neurologie  
Radiologie  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Neurologie  
Psychiatrie  
Gynécologie Obstétrique

**Novembre 1998**

Pr. AFIFI RAJAA  
Pr. BENOMAR ALI  
Pr. BOUGTAB Abdesslam  
Pr. ER RIHANI Hassan  
Pr. EZZAITOUNI Fatima  
Pr. LAZRAK Khalid \*  
Pr. BENKIRANE Majid\*  
Pr. KHATOURI ALI\*  
Pr. LABRAIMI Ahmed\*

**Janvier 2000**

Pr. ABID Ahmed\*  
Pr. AIT OUMAR Hassan  
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd  
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer  
Pr. ECHARRAB El Mahjoub  
Pr. EL FTOUH Mustapha  
Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*  
Pr. ISMAILI Hassane\*  
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\*  
Pr. TACHINANTE Rajac  
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

**Novembre 2000**

Pr. AIDI Saadia  
Pr. AIT OURHROUI Mohamed  
Pr. AJANA Fatima Zohra  
Pr. BENAMR Said  
Pr. CHERTI Mohammed  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma  
Pr. EL HASSANI Amine  
Pr. EL KHADER Khalid  
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah\*  
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan  
Pr. HSSAIDA Rachid\*  
Pr. LAHLOU Abdou  
Pr. MAFTAH Mohamed\*  
Pr. MAHASSINI Najat  
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae  
Pr. NASSIH Mohamed\*  
Pr. ROUIMI Abdelhadi\*

Gastro-Entérologie  
Neurologie – **Doyen Abulcassis**  
Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Néphrologie  
Traumatologie Orthopédie  
Hématologie  
Cardiologie  
Anatomie Pathologique

Pneumophtisiologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pneumo-phtisiologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pneumo-phtisiologie  
Neurochirurgie  
Traumatologie Orthopédie  
Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Interne

Neurologie  
Dermatologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Générale  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Pédiatrie  
Urologie  
Rhumatologie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Anesthésie-Réanimation  
Traumatologie Orthopédie  
Neurochirurgie  
Anatomie Pathologique  
Pédiatrie  
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale  
Neurologie

### **Décembre 2000**

Pr. ZOHAIR ABDELAH\*

ORL

### **Décembre 2001**

Pr. ABABOU Adil  
Pr. BALKHI Hicham\*  
Pr. BENABDELJLIL Maria  
Pr. BENAMAR Loubna  
Pr. BENAMOR Jouda  
Pr. BENELBARHDADI Imane  
Pr. BENNANI Rajae  
Pr. BENOACHANE Thami  
Pr. BEZZA Ahmed\*  
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi  
Pr. BOUMDIN El Hassane\*  
Pr. CHAT Latifa  
Pr. DAALI Mustapha\*  
Pr. DRISSI Sidi Mourad\*  
Pr. EL HIJRI Ahmed  
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid  
Pr. EL MADHI Tarik  
Pr. EL OUNANI Mohamed  
Pr. ETTAIR Said  
Pr. GAZZAZ Miloudi\*  
Pr. HRORA Abdelmalek  
Pr. KABBAJ Saad  
Pr. KABIRI EL Hassane\*  
Pr. LAMRANI Moulay Omar  
Pr. LEKEHAL Brahim  
Pr. MAHASSIN Fattouma\*  
Pr. MEDARHRI Jalil  
Pr. MIKDAME Mohammed\*  
Pr. MOHSINE Raouf  
Pr. NOUINI Yassine  
Pr. SABBAH Farid  
Pr. SEFIANI Yasser  
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Neurologie  
Néphrologie  
Pneumo-phtisiologie  
Gastro-Entérologie  
Cardiologie  
Pédiatrie  
Rhumatologie  
Anatomie  
Radiologie  
Radiologie  
Chirurgie Générale  
Radiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Neuro-Chirurgie  
Chirurgie-Pédiatrique  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Neuro-Chirurgie  
Chirurgie Générale  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Thoracique  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Médecine Interne  
Chirurgie Générale  
Hématologie Clinique  
Chirurgie Générale  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Pédiatrie

### **Décembre 2002**

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane\*  
Pr. AMEUR Ahmed \*  
Pr. AMRI Rachida  
Pr. AOURARH Aziz\*  
Pr. BAMOU Youssef\*  
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene\*  
Pr. BENZEKRI Laila

Anatomie Pathologique  
Urologie  
Cardiologie  
Gastro-Entérologie  
Biochimie-Chimie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Dermatologie

Pr. BENZZOUBEIR Nadia  
 Pr. BERNOUSSI Zakiya  
 Pr. BICHA Mohamed Zakariya\*  
 Pr. CHOHO Abdelkrim \*  
 Pr. CHKIRATE Bouchra  
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair  
 Pr. EL HAOURI Mohamed \*  
 Pr. EL MANSARI Omar\*  
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai  
 Pr. HAJJI Zakia  
 Pr. IKEN Ali  
 Pr. JAAFAR Abdeloihab\*  
 Pr. KRIOUILE Yamina  
 Pr. LAGHMARI Mina  
 Pr. MABROUK Hfid\*  
 Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss\*  
 Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid\*  
 Pr. NAITLHO Abdelhamid\*  
 Pr. OUJILAL Abdelilah  
 Pr. RACHID Khalid \*  
 Pr. RAISS Mohamed  
 Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha\*  
 Pr. RHOU Hakima  
 Pr. SIAH Samir \*  
 Pr. THIMOU Amal  
 Pr. ZENTAR Aziz\*

**Janvier 2004**

Pr. ABDELLAH El Hassan  
 Pr. AMRANI Mariam  
 Pr. BENBOUZID Mohammed Anas  
 Pr. BENKIRANE Ahmed\*  
 Pr. BOUGHALEM Mohamed\*  
 Pr. BOULAADAS Malik  
 Pr. BOURAZZA Ahmed\*  
 Pr. CHAGAR Belkacem\*  
 Pr. CHERRADI Nadia  
 Pr. EL FENNI Jamal\*  
 Pr. EL HANCHI ZAKI  
 Pr. EL KHORASSANI Mohamed  
 Pr. EL YOUNASSI Badreddine\*  
 Pr. HACHI Hafid  
 Pr. JABOUIRIK Fatima  
 Pr. KHABOUZE Samira  
 Pr. KHARMAZ Mohamed

Gastro-Entérologie  
 Anatomie Pathologique  
 Psychiatrie  
 Chirurgie Générale  
 Pédiatrie  
 Chirurgie Pédiatrique  
 Dermatologie  
 Chirurgie Générale  
 Gynécologie Obstétrique  
 Ophtalmologie  
 Urologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Pédiatrie  
 Ophtalmologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Cardiologie  
 Médecine Interne  
 Oto-Rhino-Laryngologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Chirurgie Générale  
 Pneumophtisiologie  
 Néphrologie  
 Anesthésie Réanimation  
 Pédiatrie  
 Chirurgie Générale

Ophtalmologie  
 Anatomie Pathologique  
 Oto-Rhino-Laryngologie  
 Gastro-Entérologie  
 Anesthésie Réanimation  
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
 Neurologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Anatomie Pathologique  
 Radiologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Pédiatrie  
 Cardiologie  
 Chirurgie Générale  
 Pédiatrie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Traumatologie Orthopédie

Pr. LEZREK Mohammed\*  
Pr. MOUGHIL Said  
Pr. OUBAAZ Abdelbarre\*  
Pr. TARIB Abdelilah\*  
Pr. TIJAMI Fouad  
Pr. ZARZUR Jamila

Urologie  
Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Ophtalmologie  
Pharmacie Clinique  
Chirurgie Générale  
Cardiologie

**Janvier 2005**

Pr. ABBASSI Abdellah  
Pr. AL KANDRY Sif Eddine\*  
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid  
Pr. ALLALI Fadoua  
Pr. AMAZOUZI Abdellah  
Pr. AZIZ Nouredine\*  
Pr. BAHIRI Rachid  
Pr. BARKAT Amina  
Pr. BENHALIMA Hanane  
Pr. BENYASS Aatif  
Pr. BERNOUSSI Abdelghani  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed  
Pr. DOUDOUH Abderrahim\*  
Pr. EL HAMZAQUI Sakina\*  
Pr. HAJJI Leila  
Pr. HESSISSEN Leila  
Pr. JIDAL Mohamed\*  
Pr. LAAROUSSI Mohamed  
Pr. LYAGOUBI Mohammed  
Pr. NIAMANE Radouane\*  
Pr. RAGALA Abdelhak  
Pr. SBIHI Souad  
Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Rhumatologie  
Ophtalmologie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Pédiatrie  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale  
Cardiologie  
Ophtalmologie  
Ophtalmologie  
Biophysique  
Microbiologie  
Cardiologie (*mise en disponibilité*)  
Pédiatrie  
Radiologie  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Parasitologie  
Rhumatologie  
Gynécologie Obstétrique  
Histo-Embryologie Cytogénétique  
Gynécologie Obstétrique

**Décembre 2005**

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

**Avril 2006**

Pr. ACHEMLAL Lahsen\*  
Pr. AKJOUJ Said\*  
Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
Pr. BENCHEIKH Razika  
Pr. BIYI Abdelhamid\*  
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
Pr. BOULAHYA Abdellatif\*  
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
Pr. DOGHMI Nawal  
Pr. ESSAMRI Wafaa

Rhumatologie  
Radiologie  
Hématologie  
O.R.L  
Biophysique  
Chirurgie - Pédiatrique  
Chirurgie Cardio - Vasculaire  
Gynécologie Obstétrique  
Cardiologie  
Gastro-entérologie

Pr. FELLAT Ibtissam  
Pr. FAROUDY Mamoun  
Pr. GHADOUANE Mohammed\*  
Pr. HARMOUCHE Hicham  
Pr. HANAFI Sidi Mohamed\*  
Pr. IDRIS LAHLOU Amine\*  
Pr. JROUNDI Laila  
Pr. KARMOUNI Tariq  
Pr. KILI Amina  
Pr. KISRA Hassan  
Pr. KISRA Mounir  
Pr. LAATIRIS Abdelkader\*  
Pr. LMIMOUNI Badreddine\*  
Pr. MANSOURI Hamid\*  
Pr. OUANASS Abderrazzak  
Pr. SAFI Soumaya\*  
Pr. SEKKAT Fatima Zahra  
Pr. SOUALHI Mouna  
Pr. TELLAL Saida\*  
Pr. ZAHRAOUI Rachida

**Octobre 2007**

Pr. ABIDI Khalid  
Pr. ACHACHI Leila  
Pr. ACHOUR Abdessamad\*  
Pr. AIT HOUSSA Mahdi\*  
Pr. AMHAJJI Larbi\*  
Pr. AMMAR Haddou\*  
Pr. AOUI Sarra  
Pr. BAITE Abdelouahed\*  
Pr. BALOUCH Lhousaine\*  
Pr. BENZIANE Hamid\*  
Pr. BOUTIMZINE Nourdine  
Pr. CHARKAOUI Naoual\*  
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader\*  
Pr. ELABSI Mohamed  
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid  
Pr. EL OMARI Fatima  
Pr. GANA Rachid  
Pr. GHARIB Nouredine  
Pr. HADADI Khalid\*  
Pr. ICHOU Mohamed\*  
Pr. ISMAILI Nadia  
Pr. KEBDANI Tayeb  
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar\*

Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Urologie  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation  
Microbiologie  
Radiologie  
Urologie  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Chirurgie – Pédiatrique  
Pharmacie Galénique  
Parasitologie  
Radiothérapie  
Psychiatrie  
Endocrinologie  
Psychiatrie  
Pneumo – Phtisiologie  
Biochimie  
Pneumo – Phtisiologie

Réanimation médicale  
Pneumo phtisiologie  
Chirurgie générale  
Chirurgie cardio vasculaire  
Traumatologie orthopédie  
ORL  
Parasitologie  
Anesthésie réanimation  
Biochimie-chimie  
Pharmacie clinique  
Ophtalmologie  
Pharmacie galénique  
Chirurgie générale  
Chirurgie générale  
Anesthésie réanimation  
Psychiatrie  
Neuro chirurgie  
Chirurgie plastique et réparatrice  
Radiothérapie  
Oncologie médicale  
Dermatologie  
Radiothérapie  
Anesthésie réanimation

Pr. LOUZI Lhoussain\*  
 Pr. MADANI Naoufel  
 Pr. MAHI Mohamed\*  
 Pr. MARC Karima  
 Pr. MASRAR Azlarab  
 Pr. MOUTAJ Redouane \*  
 Pr. MRABET Mustapha\*  
 Pr. MRANI Saad\*  
 Pr. OUZZIF Ez zohra\*  
 Pr. RABHI Monsef\*  
 Pr. RADOUANE Bouchaib\*  
 Pr. SEFFAR Myriame  
 Pr. SEKHSOKH Yessine\*  
 Pr. SIFAT Hassan\*  
 Pr. TABERKANET Mustafa\*  
 Pr. TACHFOUTI Samira  
 Pr. TAJDINE Mohammed Tariq\*  
 Pr. TANANE Mansour\*  
 Pr. TLIGUI Houssain  
 Pr. TOUATI Zakia

**Décembre 2007**

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

**Décembre 2008**

Pr ZOUBIR Mohamed\*  
 Pr TAHIRI My El Hassan\*

**Mars 2009**

Pr. ABOUZAHIR Ali\*  
 Pr. AGDR Aomar\*  
 Pr. AIT ALI Abdelmounaim\*  
 Pr. AIT BENHADDOU El hachmia  
 Pr. AKHADDAR Ali\*  
 Pr. ALLALI Nazik  
 Pr. AMAHZOUNE Brahim\*  
 Pr. AMINE Bouchra  
 Pr. ARKHA Yassir  
 Pr. AZENDOUR Hicham\*  
 Pr. BELYAMANI Lahcen\*  
 Pr. BJIJOU Younes  
 Pr. BOUHSAIN Sanae\*  
 Pr. BOUI Mohammed\*  
 Pr. BOUNAIM Ahmed\*  
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha\*  
 Pr. CHAKOUR Mohammed \*

Microbiologie  
 Réanimation médicale  
 Radiologie  
 Pneumo phtisiologie  
 Hématologique  
 Parasitologie  
 Médecine préventive santé publique et hygiène  
 Virologie  
 Biochimie-chimie  
 Médecine interne  
 Radiologie  
 Microbiologie  
 Microbiologie  
 Radiothérapie  
 Chirurgie vasculaire périphérique  
 Ophtalmologie  
 Chirurgie générale  
 Traumatologie orthopédie  
 Parasitologie  
 Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation  
 Chirurgie Générale

Médecine interne  
 Pédiatre  
 Chirurgie Générale  
 Neurologie  
 Neuro-chirurgie  
 Radiologie  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Rhumatologie  
 Neuro-chirurgie  
 Anesthésie Réanimation  
 Anesthésie Réanimation  
 Anatomie  
 Biochimie-chimie  
 Dermatologie  
 Chirurgie Générale  
 Traumatologie orthopédique  
 Hématologie biologique



Pr. CHTATA Hassan Toufik\*  
 Pr. DOGHMI Kamal\*  
 Pr. EL MALKI Hadj Omar  
 Pr. EL OUENNASS Mostapha\*  
 Pr. ENNIBI Khalid\*  
 Pr. FATHI Khalid  
 Pr. HASSIKOU Hasna \*  
 Pr. KABBAJ Nawal  
 Pr. KABIRI Meryem  
 Pr. KARBOUBI Lamya  
 Pr. L'KASSIMI Hachemi\*  
 Pr. LAMSAOURI Jamal\*  
 Pr. MARMADÉ Lahcen  
 Pr. MESKINI Toufik  
 Pr. MESSAOUDI Nezha \*  
 Pr. MSSROURI Rahal  
 Pr. NASSAR Ittimade  
 Pr. OUKERRAJ Latifa  
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani \*  
 Pr. ZOUHAIR Said\*

Chirurgie vasculaire périphérique  
 Hématologie clinique  
 Chirurgie Générale  
 Microbiologie  
 Médecine interne  
 Gynécologie obstétrique  
 Rhumatologie  
 Gastro-entérologie  
 Pédiatrie  
 Pédiatrie  
 Microbiologie  
 Chimie Thérapeutique  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Pédiatrie  
 Hématologie biologique  
 Chirurgie Générale  
 Radiologie  
 Cardiologie  
 Pneumo-phtisiologie  
 Microbiologie

**PROFESSEURS AGREGES :**

**Octobre 2010**

Pr. ALILOU Mustapha  
 Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
 Pr. BELAGUID Abdelaziz  
 Pr. BOUAITY Brahim\*  
 Pr. CHADLI Mariama\*  
 Pr. CHEMSI Mohamed\*  
 Pr. DAMI Abdellah\*  
 Pr. DARBI Abdellatif\*  
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar  
 Pr. EL HAFIDI Naima  
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser\*  
 Pr. EL MAZOUZ Samir  
 Pr. EL SAYEGH Hachem  
 Pr. ERRABIH Ikram  
 Pr. LAMALMI Najat  
 Pr. LEZREK Mounir  
 Pr. MALIH Mohamed\*  
 Pr. MOSADIK Ahlam  
 Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
 Pr. NAZIH Mouna\*  
 Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anesthésie réanimation  
 Médecine interne  
 Physiologie  
 ORL  
 Microbiologie  
 Médecine aéronautique  
 Biochimie chimie  
 Radiologie  
 Chirurgie pédiatrique  
 Pédiatrie  
 Radiologie  
 Chirurgie plastique et réparatrice  
 Urologie  
 Gastro entérologie  
 Anatomie pathologique  
 Ophtalmologie  
 Pédiatrie  
 Anesthésie Réanimation  
 Chirurgie générale  
 Hématologie  
 Anatomie pathologique

### Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed  
Pr. ABOUELALAA Khalil\*  
Pr. BELAIZI Mohamed\*  
Pr. BENCHEBBA Driss\*  
Pr. DRISSI Mohamed\*  
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna  
Pr. EL KHATTABI Abdessadek\*  
Pr. EL OUAZZANI Hanane\*  
Pr. ER-RAJI Mounir  
Pr. JAHID Ahmed  
Pr. MEHSSANI Jamal\*  
Pr. RAISSOUNI Maha\*

### Février 2013

Pr. AHID Samir  
Pr. AIT EL CADI Mina  
Pr. AMRANI HANCHI Laila  
Pr. AMOUR Mourad  
Pr. AWAB Almahdi  
Pr. BELAYACHI Jihane  
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain  
Pr. BENCHEKROUN Laila  
Pr. BENKIRANE Souad  
Pr. BENNANA Ahmed\*  
Pr. BENSEFFAJ Nadia  
Pr. BENSGHIR Mustapha\*  
Pr. BENYAHIA Mohammed\*  
Pr. BOUATIA Mustapha  
Pr. BOUABID Ahmed Salim\*  
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba  
Pr. CHAIB Ali\*  
Pr. DENDANE Tarek  
Pr. DINI Nouzha\*  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa  
Pr. ELFATEMI Nizare  
Pr. EL GUERROUJ Hasnae  
Pr. EL HARTI Jaouad  
Pr. EL JOUDI Rachid\*  
Pr. EL KABABRI Maria  
Pr. EL KHANNOUSSI Basma  
Pr. EL KHLOUFI Samir

Chirurgie Pédiatrique  
Anesthésie Réanimation  
Psychiatrie  
Traumatologie Orthopédique  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Médecine Interne  
Pneumophtisiologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Anatomie pathologique  
Psychiatrie  
Cardiologie

Pharmacologie – Chimie  
Toxicologie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Réanimation Médicale  
Anesthésie Réanimation  
Biochimie-Chimie  
Hématologie  
Informatique Pharmaceutique  
Immunologie  
Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chimie Analytique  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie  
Cardiologie  
Réanimation Médicale  
Pédiatrie  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Neuro-Chirurgie  
Médecine Nucléaire  
Chimie Thérapeutique  
Toxicologie  
Pédiatrie  
Anatomie Pathologie  
Anatomie



Pr. EL KORAICHI Alac	Anesthésie Réanimation
Pr. EN-NOUALI Hassane*	Radiologie
Pr. ERRGUIG Laila	Physiologie
Pr. FIKRI Meryim	Radiologie
Pr. GHANIMI Zineb	Pédiatrie
Pr. GHFIR Imade	Médecine Nucléaire
Pr. IMANE Zineb	Pédiatrie
Pr. IRAQI Hind	Endocrinologie et maladies métaboliques
Pr. KABBAJ Hakima	Microbiologie
Pr. KADIRI Mohamed*	Psychiatrie
Pr. LATIB Rachida	Radiologie
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra	Médecine Interne
Pr. MEDDAH Bouchra	Pharmacologie
Pr. MELHAOUT Adyl	Neuro-chirurgie
Pr. MRABTI Hind	Oncologie Médicale
Pr. NEJJARI Rachid	Pharmacognosie
Pr. OUBEJJA Houda	Chirurgie Pédiatrique
Pr. OUKABLI Mohamed*	Anatomie Pathologique
Pr. RAHALI Younes	Pharmacie Galénique
Pr. RATBI Ilham	Génétique
Pr. RAHMANI Mounia	Neurologie
Pr. REDA Karim*	Ophthalmologie
Pr. REGRAGUI Wafa	Neurologie
Pr. RKAIN Hanan	Physiologie
Pr. ROSTOM Samira	Rhumatologie
Pr. ROUAS Lamiaa	Anatomie Pathologique
Pr. ROUIBAA Fedoua*	Gastro-Entérologie
Pr. SALIHOUN Mouna	Gastro-Entérologie
Pr. SAYAH Rochde	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. SEDDIK Hassan*	Gastro-Entérologie
Pr. ZERHOUNI Hicham	Chirurgie Pédiatrique
Pr. ZINE Ali*	Traumatologie Orthopédie

#### **Avril 2013**

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Pr. GHOUNDALE Omar*	Urologie
Pr. ZYANI Mohammad*	Médecine Interne

**\*Enseignants Militaires**

## 2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

### PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. BARKYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootchnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 09/01/2015 par le  
Service des Ressources Humaines*

- 9 JAN 2015



# *Dédicaces*



*JE DEDIE CETTE THESE ...*

**A**

**Allah**

**Tout puissant**

**Qui m'a inspiré**

**Qui m'a guidé dans le bon chemin**

**Je Vous dois ce que je suis devenu**

**Louanges et remerciements**

**Pour Votre clémence et miséricorde**

## **A MON TRÈS CHER PÈRE :**

**Farhane Mohamed**

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

## **A MA TRÈS CHÈRE MÈRE :**

### **El Hami Touria**

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

**A ma très chère sœur ISLAH, Son époux WAEL et  
ma belle nièce OLAYA**

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

**A ma très chère sœur AICHA, et son époux NABIL**

Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous. Vos encouragements et votre soutien m'ont toujours été d'un grand secours. Puisse Dieu, le tout puissant vous préserver du mal, vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

**A ma très chère sœur RAJAA, son époux SABER et ma belle  
nièce GHITA**

Un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis. Vous avez toujours été présent. Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

**A ma très chère amie AINOU Hala**

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour t'exprimer mon affection et mes pensées, tu es pour moi, une sœur et une amie sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unie et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble . Je te dédie ce travail et je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

**A mes chères amies :**

**BOUHLALA Nadia, EL YASSINI Sara, EL AISSAOUI**

**Yousra**

J'ai le plaisir de dédier à chacun de vous ce modeste travail

J'espère que vous y trouverez l'expression de mes sentiments  
les plus sincères.

Merci pour votre présence, votre compréhension, votre  
patience et vos encouragements.

Permettez-moi néanmoins de saisir cette occasion pour vous  
exprimer mon profond respect et gratitude.

Puisse Dieu vous combler de bonheur, de santé et de réussite.

# *Remerciements*



**À notre Maître et président de thèse,**

**Monsieur A.BAITE**

**Professeur d'Anesthésie Réanimation à la Faculté  
de Médecine et de Pharmacie de Rabat.**

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de présider ce jury de  
thèse et de juger ce travail.

Je vous remercie pour votre disponibilité, et d'avoir accepté  
de passer cette épreuve avec moi.

Que ces quelques lignes puissent témoigner de mon respect et  
ma vive reconnaissance.

**À notre Maître et rapporteur de thèse,  
Madame N.MESSAOUDI  
Professeur d'hématologie biologique à la Faculté de  
Médecine et de Pharmacie de Rabat.**

Nous tenons à vous exprimer toute notre reconnaissance,  
pour l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de diriger ce  
travail.

Vos conseils et vos orientations nous ont été très précieux.

Nous espérons être dignes de votre confiance.

Veillez trouver ici, cher Maître, l'expression de nos vifs  
remerciements et de notre estime.

**À notre Maître et Membre du Jury,**  
**Madame S.TELLAL**  
**Professeur de Biochimie à la Faculté de**  
**Médecine et de Pharmacie de Rabat.**

Vous me faites un immense plaisir en acceptant de juger ma  
thèse.

Qu'elle me soit permis de témoigner à travers ces quelques  
lignes mon admiration à la valeur de vos compétences, votre  
rigueur ainsi que votre dynamisme qui demeurent pour moi le  
meilleur exemple.

Que ce travail soit une occasion de vous exprimer ma  
gratitude, et mes sincères respects.

**À notre Maître et Membre du Jury,**  
**Madame S.AOUFI**  
**Professeur de Parasitologie à la Faculté de**  
**Médecine et de Pharmacie de Rabat.**

Vous me faites honneur en acceptant de juger mon travail, j'ai toujours été marqué par vos qualités humaines, votre gentillesse, votre sympathie et vos compétences scientifiques.

Pour cela, je vous transmets mes sincères remerciements ainsi que l'expression de mon admiration.

Veillez recevoir l'expression de ma reconnaissance et de mon respect.

# ILLUSTRATIONS



# Liste des abréviations

<b>Aa</b>	: acide aminé
<b>ADN</b>	: Acide désoxyribonucléique
<b>AFSSAPS</b>	: Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
<b>AG</b>	: Appareil de Golgi
<b>AHRQ</b>	: Agency for Healthcare Research and Quality
<b>Arg</b>	: Arginine
<b>ARNm</b>	: Acide ribonucleique messenger, ARN messenger
<b>Asp</b>	: Asparagine
<b>AT</b>	: Antithrombine
<b>BSCH</b>	: <i>British Committee for Standards in Haematology</i>
<b>Ca<sup>++</sup></b>	: calcium
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	: Chlorure de sodium
<b>CLSI</b>	: <i>Clinical and Laboratory Standard Institute</i>
<b>CO</b>	: Contraception orale
<b>COP I</b>	: Coat Protein Complex-I
<b>COP II</b>	: Coat Protein complex-II
<b>CTAD</b>	: citrate, théophylline, adénine, dipyridamole
<b>DEAE</b>	: Diethylaminoethyl
<b>ECTIM</b>	: Étude cas témoin de l'infarctus du myocarde
<b>EDTA</b>	: Éthylène Diamine Tétra-Acétique
<b>EP</b>	: Embolie pulmonaire
<b>ERGIC</b>	: Endoplasmic Reticulum Golgi Intremediate Compartment
<b>FDA</b>	: Food and Drug Administration
<b>FII</b>	: Facteur II = Prothrombine
<b>FRET</b>	: Fluorescence resonance energy transfer
<b>FT</b>	: Facteur tissulaire
<b>FV</b>	: Facteur V= Proaccéléline
<b>FVa</b>	: Facteur V activé = Accéléline
<b>FVaint</b>	: Facteur V active intermédiaire
<b>FVII</b>	: Facteur VII = Antihemophilique A
<b>FVIIIa</b>	: Facteur VIII activé
<b>FVL</b>	: Facteur V de Leiden
<b>FXa</b>	: Facteur X activé
<b>GEHT</b>	: Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose
<b>Gln</b>	: Glutamine

<b>HAS</b>	: Haute autorité de santé
<b>IC</b>	: Intervalle de confiance
<b>Kb</b>	: Kilobase
<b>kDa</b>	: Kilodalton
<b>KHPM</b>	: Kininogène de haut poids moléculaire
<b>LMAN</b>	: Lectin Mannose binding 1
<b>MCFD2</b>	: Multiple Coagulation Factor Deficiency 2
<b>MTEV</b>	: Maladie Thrombo-Embolique Veineuse
<b>MTHFR</b>	: 5,10-méthylène tétra hydrofolate réductase
<b>NIBSC</b>	: <i>National Institute for Biological Standards and Control</i>
<b>OR</b>	: Odd ratio
<b>PAI1</b>	: Pasminogen activator inhibitor 1
<b>PC</b>	: Protéine C
<b>PC</b>	: Protéine C
<b>PCa</b>	: Protéine C activée
<b>PCa</b>	: Protéine C activée
<b>PCR</b>	: Polymerase chain reaction
<b>PHS</b>	: Physician Health Study
<b>PK</b>	: Prékalllicréine
<b>PL</b>	: Phospholipides
<b>PS</b>	: Protéine S
<b>RE</b>	: Réticulum endoplasmique
<b>RFLP</b>	: Polymorphisme de longueur de fragments de restriction
<b>RPCa</b>	: Résistance à la protéine C activée
<b>RR</b>	: Risque relatif
<b>RVV</b>	: Venin de Vipère Russell
<b>SIGN</b>	: Scottish Intercollegiate Guidelines Network
<b>TCA</b>	: Temps de céphaline avec activateur
<b>TEAE</b>	: Triethylaminoethyl
<b>Thr</b>	: Thréonine
<b>T-PA</b>	: Tissue Plasminogen Activator
<b>TVP</b>	: Thrombose veineuse profonde

## Liste des tableaux

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
I	Tableau comparatif FVL/FV normal	18
II	Prévalence de la mutation FVL dans le monde	23
III	Thrombophilie et FVL	25
IV	Incidence de la MTEV avec FVL et contraception orale chez les femmes jeunes	27
V	Les indications de la recherche de la mutation FV Leiden	32
VI	Principaux tests de recherche de la résistance de la protéine C activée	39-40
VII	Sensibilité (Se) et spécificité (Sp) du test de résistance à la protéine C activée (RPCa) dans le cadre de la recherche d'une mutation du facteur V de Leiden	58-59

# Liste des figures

Numéro	Titre	Page
1	Protéine FV avec ses trois domaines A, B et C	5
2	Gène du facteur V avec ces 25 exons	6
3	Modèle de transport du FV entre le réticulum endoplasmique (RE) et l'appareil de Golgi, selon Zhang et Ginsburg	8
4	Rôle du facteur V dans la cascade de la coagulation.	9
5	Concept actuel de l'hémostase (in vivo)	10
6	La structure du FV avant et après activation.	11
7	Représentation schématique de la forme pro-coagulante (FVa) et anti-coagulante (Fvai) du facteur V	12
8	Les voies intriquées de l'activation (par la thrombine) et de l'inactivation (par la PCA) du facteur V.	13
9	Inactivation du facteur V activé normal et du facteur V Leiden par la protéine C activée	17
10	Facteur V activé normal et facteur V activé	19
11	Croisement entre une personne saine et une autre porteuse hétérozygote	20
12	Schéma de transmission autosomique dominante	21
13	carte des fréquences (en %) de l'allèle FVL, en Europe et en Moyen-Orient	21
14	Photo du coffret Staclot APC-R composé de 5 réactifs, utilisé au niveau du service d'Hématologie de l'Hôpital Militaire de Rabat	41
15	Principe de détection du FV Leiden par RFLP (Mnl1)	43
16	Schéma de la mise en évidence de la mutation Arg506Gln du facteur V Leiden	43
17	Electrophorèse sur gel d'agarose pour la détection du facteur V Leiden par RFLP	44
18	Principe de la technique hybridation spécifique d'allèle	45
19	Gel d'agarose de trois produits de PCR	46
20	Principe des sondes Light-cycler	47
21	Résultat de la technique Light-cycler	48
22	Principe des sondes TaqMan	49
23	Résultats de la technique TaqMan	50
24	Principe de la technique ligature des oligonucléotides (OLA)	51
25	Principe de la technique hybridation spécifique d'allèle	52
26	Principe de la technique extension d'amorces avec terminators	53
27	Principe de la technique extension d'amorces spécifique d'allèle	53
28	Principe de la technologie nanosphère	56

# Sommaire

Introduction .....	1
Chapitre I : le Facteur V de la coagulation.....	4
I. Structure du facteur V : .....	5
II. Gène du facteur V : .....	6
III. Lieu de synthèse, maturation et sécrétion du FV : .....	6
1. Lieu de synthèse : .....	6
2. Maturation du FV : .....	6
3. La sécrétion dans la circulation : .....	9
IV. Rôle du FV dans la coagulation plasmatique : .....	9
1. Activation du facteur V : .....	10
2. Inactivation du facteur V : .....	11
V. Les propriétés physico-chimiques du FV:.....	14
1. Stabilité : .....	14
2. Poids moléculaire : .....	14
3. Concentration et demi vie du facteur V : .....	14
Chapitre II :Facteur V Leiden .....	15
I. Historique : .....	16
II. Le FV Leiden : .....	16
1. Structure : .....	16
2. Comparaison FVL/ FV normal : .....	17
3. Mode d'action du FVL dans la cascade de coagulation : .....	18
4. Mode de transmission de la mutation FVL : .....	19
5. Distribution géographique et ethnique de la mutation FVL : .....	21
Chapitre III : FVL et Pathologies .....	24
I. Thrombophilie et FVL : .....	25
1. L'évaluation du risque thrombo-embolique veineux associé à la présence du FVL : .....	26
2. Concernant l'évaluation du risque thrombotique artériel associé à la présence du FVL : ....	28

3. FVL et Cancers :.....	29
4. FVL et thrombose des cathéters centraux : .....	29
Chapitre IV : Techniques de détermination de la mutation FVL .....	30
I. Les indications de la recherche de la mutation FVL : .....	31
II. Les recommandations pré-analytiques : .....	32
1. Le prélèvement : .....	33
2. Transport, mode de centrifugation et conservation : .....	33
3. Les Renseignements indispensables : .....	34
III. Les techniques de détermination : .....	35
1. Les tests de recherche d'une résistance à la protéine C activée RPCa : TEST DE DEPISTAGE – TEST PHENOTYPIQUE .....	35
2. La recherche du FV Leiden par biologie moléculaire : .....	41
TEST DE CONFIRMATION : .....	41
3. Performances des techniques de diagnostic : .....	56
CHAPITRE V : Conduite à tenir en présence d'une mutation FV Leiden .....	61
I. Chez un sujet qui a déjà thrombosé : .....	62
II. Chez un sujet asymptomatique : .....	62
III. L'hygiène de vie et mutation FVL : .....	64
Conclusion.....	65
Résumés .....	68
Références .....	72
Bibliographiques .....	72

# Introduction



Le facteur V Leiden (FVL) est une mutation unique sur le gène codant pour le facteur V de la coagulation ou la proaccéléline qui conduit au remplacement en position 506 d'une arginine par une glutamine (Arg 506 Gln ou R506Q). La mutation peut être hétérozygote ou homozygote.

Les fonctions pro-coagulantes du facteur V sont conservées. Cependant, la mutation modifie l'un des sites de clivage du facteur Va par la protéine C activée (PCa), ce qui induit une résistance à son inactivation par la protéine C activée (RPCa) et une hypercoagulabilité.

Le FVL est associé à un risque accru de thromboses veineuses récidivantes ou thrombophilie.

Le terme de «thrombophilie» désigne d'une part des situations cliniques caractérisées par la survenue de thromboses veineuses précoces ou récidivantes ou de siège inhabituel, et d'autre part des situations biologiques caractérisées par une hypercoagulabilité.

Le caractère constitutionnel d'une thrombophilie clinique peut être suspecté sur la notion d'antécédents familiaux de pathologie thrombotique veineuse. La biologie a permis dans un certain nombre de cas de démontrer le mécanisme de cette hypercoagulabilité constitutionnelle, en identifiant le déficit ou l'anomalie moléculaire de facteurs ou d'inhibiteurs de la coagulation responsable de la tendance thrombotique.

Parmi les anomalies constitutionnelles les plus fréquentes : le facteur V Leiden ou leyden (FVL) et la transition G20210A dans le gène du facteur II. Des mutations rares ont été identifiées tels les déficits en inhibiteurs physiologiques de la coagulation : l'antithrombine, protéine C, protéine S.

La pathologie thrombotique est essentiellement de localisation veineuse et multifactorielle. Elle est favorisée par des situations cliniques ou pharmacologiques (âge avancé, chirurgie, immobilisation, obésité, insuffisance veineuse, cancer, prise d'estrogènes...).

Actuellement, la recherche d'anomalies de l'hémostase dans un contexte de phlébites précoces ou récidivantes ou à caractère familial, permet d'identifier une ou plusieurs anomalies dans environ la moitié des cas.

Le but de notre travail est :

- de présenter la structure du facteur V normal de la coagulation et du FVL
- de décrire les techniques de recherche de cette mutation
- de rapporter les pathologies liées à la mutation FVL
- de terminer par une conduite à tenir en présence de la mutation FVL.

# **Chapitre I : le Facteur V de la coagulation**



La découverte initiale du facteur V est due à Paul Owren en 1947, utilisant une technologie relativement primitive, il a pu déduire l'existence d'un cinquième composant exigé pour la formation de fibrine qu'il a nommé « le facteur V » [1]. Mais son existence avait déjà été soupçonnée dès 1943 par Quick, qui lui avait donné le nom de « facteur labile » [2].

## I. Structure du facteur V :

Le FV est composé de plusieurs domaines (trois domaines A, un domaine B et deux domaines C) [3, 4] (figure 1). La structure des domaines peut être représentée par :

A1-A2-(a2)-B-(a3)-A3-C1-C2 (Figure 4) [5].

Les domaines A du facteur V sont :

A1 (1-303), A2 (317-656), A3 (1546-1877) [6].

Le domaine B a une structure complexe et unique est entièrement codé par l'exon 13.

Il est composé de 835 acides aminés (aa) : B (710-1545). Il contient deux répétitions de 17 aa, et 31 répétitions de 9 aa. Il est abondamment glycosylé, et renferme les sites de glycosylation (25 sites de glycosylation) et les sites de clivage par la thrombine [7, 8].

Les études biochimiques récentes ont démontré qu'à la différence des domaines A et C, le domaine B n'était pas nécessaire pour l'activité coagulante.

Les domaines C sont homologues à plusieurs protéines discoïdines, comme la galactose oxydase, suggérant un rôle de ces domaines dans l'interaction avec les phospholipides [9-10].

Les domaines C sont constitués par la répétition de deux séquences :

C1 (1878-2036), C2 (2037-2196) [6].

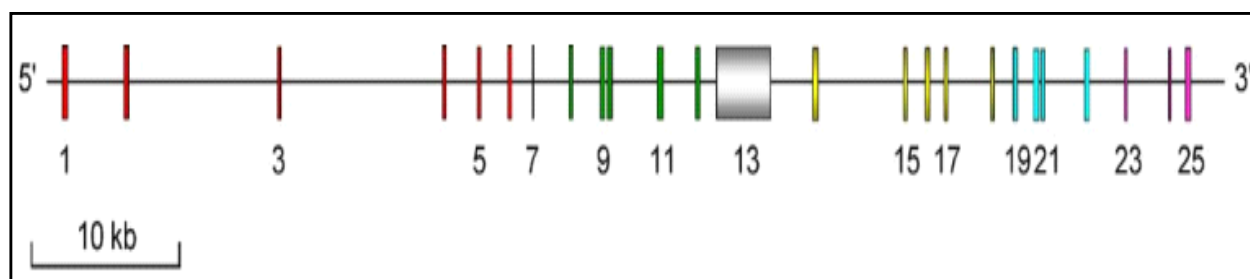


**Figure 1 :** Protéine FV avec ses trois domaines A, B et C [11].

## II. Gène du facteur V :

Le FV est un polypeptide monocaténaire de 330 kDa, codé par un gène de plus de 80 Kb localisé sur le bras long du **chromosome 1** dans la région 1q 21-25. Il comprend 25 exons [6, 12] (Figure 2).

Ce gène est transcrit en ARNm de 6,8 Kb traduit en un pro-peptide contenant 2224 acides aminés (aa). La protéine mature est formée de 2196 aa organisés en plusieurs types de domaines [11].



**Figure 2 :** Gène du facteur V avec ces 25 exons [11].

## III. Lieu de synthèse, maturation et sécrétion du FV :

Le FV est synthétisé par le système réticulo-endothélial hépatique et également d'origine plaquettaire (20 % du pool circulant) [13].

### 1. Lieu de synthèse :

Le FV plasmatique est synthétisé dans l'hépatocyte et dans la cellule endothéliale. Le FV plaquettaire dans le mégacaryocyte [6, 8]. C'est un facteur non vitamine K dépendant.

### 2. Maturation du FV :

Les protéines de coagulation nouvellement synthétisées passent à travers une série d'organites intracellulaires où elles subissent des modifications post traductionnelles avant leur sécrétion y compris le réticulum endoplasmique (RE), l'appareil de Golgi (AG), et les granules de sécrétion, avant de gagner l'espace extracellulaire [14] (figure 3).

### ➤ **Au niveau du Réticulum Endoplasmique :**

Le clivage du peptide signal du FV (28 aa) se fait au niveau du RE [8, 15]. Le FV subit aussi une initiation à la N-glycosylation (liaison par une  $\beta$  N acétylglucoseamine à des résidus asparagines de la protéine) essentiellement au niveau des domaines B du FV (25 résidus Asp sites potentiels de fixation des chaînes oligosaccharidiques) [16, 17, 18].

Une protéine, la calnexine fonctionne comme chaperonne pour assurer la sélection des protéines correctement pliées qui vont ensuite être transportés vers l'AG [16, 18, 19]

Les deux protéines LMAN1 (Lectin Mannose binding 1) et MCFD2 (Multiple Coagulation Factor Deficiency 2) forment un complexe, mannose et calcium dépendant, équimolaire. Ce complexe prend en charge les protéines correctement glycosylées et ayant une bonne conformation spatiale [20- 24].

Le motif térapeptidique Lys-Lys-Phe-Phe (KKFF) semble fonctionner comme un signal de circulation du complexe LMAN1/MCFD2 entre le RE et ERGIC (Endoplasmic Reticulum Golgi Intremediate Compartment) [25- 27].

Le motif diphenyle (EE) interagit avec des protéines recouvrant des vésicules de transport de type COP II (Coat Protein complex-II) qui assure le transport antérograde (du RE vers l'AG) du complexe LMAN1-MCFD2 / FV vers le compartiment intermédiaire [25- 27].

### ➤ **Au niveau du compartiment intermédiaire:**

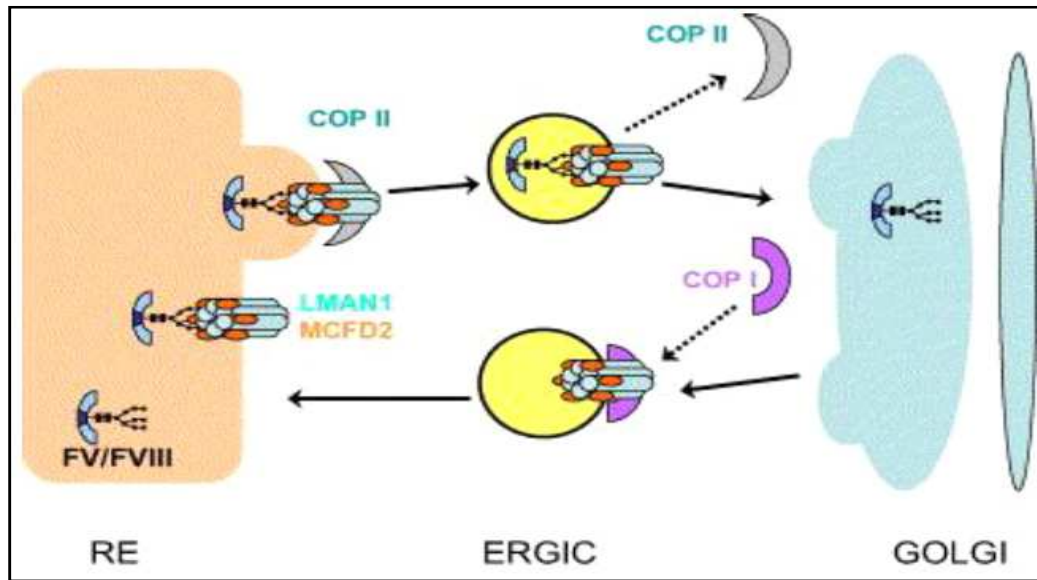
Les vésicules COP II se lient les unes aux autres à fin de constituer le compartiment intermédiaire ERGIC [20, 23].

LMAN1 se détache du FV, et le mécanisme de sa libération au niveau de l'ERGIC reste peu clair mais il serait lié à l'action de MCFD2, à la dissociation de COP-II et à la diminution du pH et du calcium dans l'ERGIC [27].

Le complexe LMAN1-MCFD2 va se fixer sur d'autres protéines de surface des vésicules COP-I (Coat Protein Complex-I) de transport rétrograde (de l'AG vers RE) à l'aide d'un motif C- terminal de type lyslys (KK) et le FV va poursuivre son chemin dans les microtubules de Golgi [28].

### ➤ Au niveau de l'Appareil de Golgi :

Les modifications post traductionnelles au niveau de l'AG sont représentées par une O-glycosylation (liaison par une  $\alpha$  N acétylglucosamine à une serine ou à une thréonine), poursuite des N-glycosylations, sulfatation, ainsi que la phosphorylation [1,11, 17].



**Figure 3 :** Modèle de transport du FV entre le réticulum endoplasmique (RE) et l'appareil de Golgi, selon Zhang et Ginsburg [29].

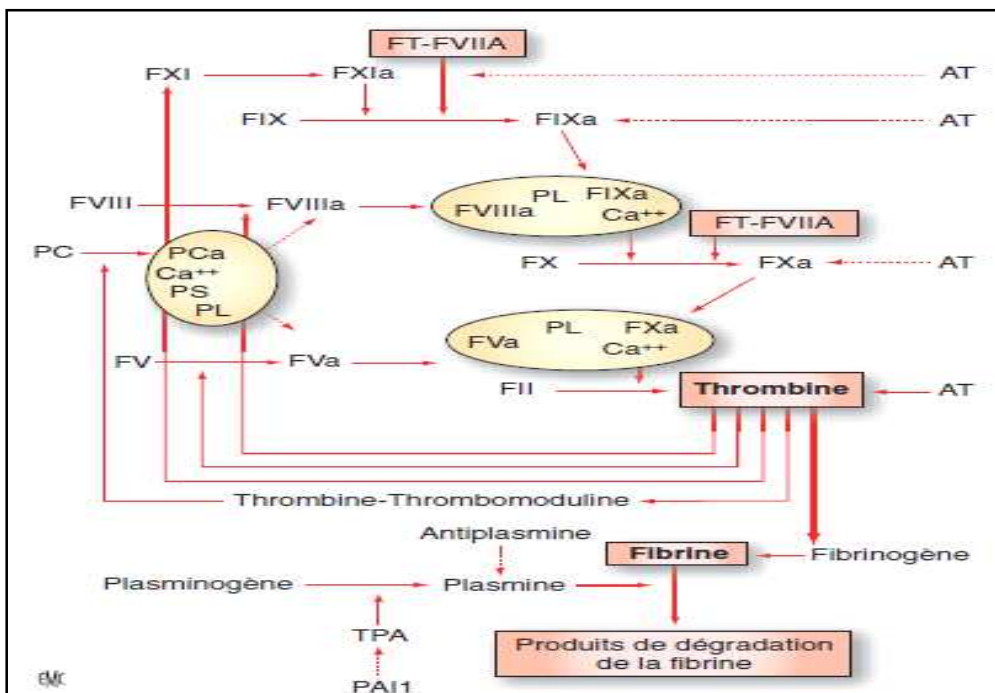
Le FV se fixe au complexe LMAN1–MCFD2 (transporteur) par l'intermédiaire de leurs résidus mannose. Ce complexe LMAN1–MCFD2 +FV est orienté vers les vésicules de transport par les protéines COP-II. Ces vésicules arrivent au niveau de l'appareil de Golgi et relâche le FV dans l'appareil de Golgi, à partir duquel son métabolisme intracellulaire se poursuivra jusqu'au phénomène de sécrétion. Le complexe LMAN1–MCFD2 est lui recyclé grâce à la prise en charge par les protéines COP-I qui dirigent le complexe transporteur dans des vésicules de transport antérogrades, d'où son retour vers le RE.

### 3. La sécrétion dans la circulation :

Le FV est sécrété hors des cellules sous forme d'une seule chaîne d'acides aminés riches en groupements hydrophobes. 20 à 25% de cette quantité est stocké dans les granules alpha des mégacaryocytes où le FV est complexé à la multimèrine [8, 25].

### IV. Rôle du FV dans la coagulation plasmatique :

Le FV joue un rôle crucial dans la cascade de la coagulation plasmatique. Il intervient comme un cofacteur, qui accélère considérablement les réactions enzymatiques des sérines protéases. Il accélère la transformation de la prothrombine en thrombine par le FXa en présence de phospholipides et d'ions calcium. Il se forme ainsi un complexe FXa-FV appelé complexe « prothrombinase » adsorbé sur une micelle phospholipidique en présence de calcium. Le FV agit comme cofacteur du facteur FXa. Ni le FV, ni les phospholipides seuls ne sont en effet capables d'activer la prothrombine. Mais leur présence augmente la vitesse de la réaction (Figure 4 et 5).



**Figure 4:** Rôle du facteur V dans la cascade de la coagulation [30].

AT : Antithrombine ; PC : Protéine C ; PCa : Protéine C activée ; PS : Protéine S ;  
 PL : Phospholipides ; FT : Facteur Tissulaire ; PAI1 : Plasminogen Activator Inhibitor 1 ;  
 T-PA : Tissue Plasminogen Activator ; Ca<sup>++</sup> : Calcium.

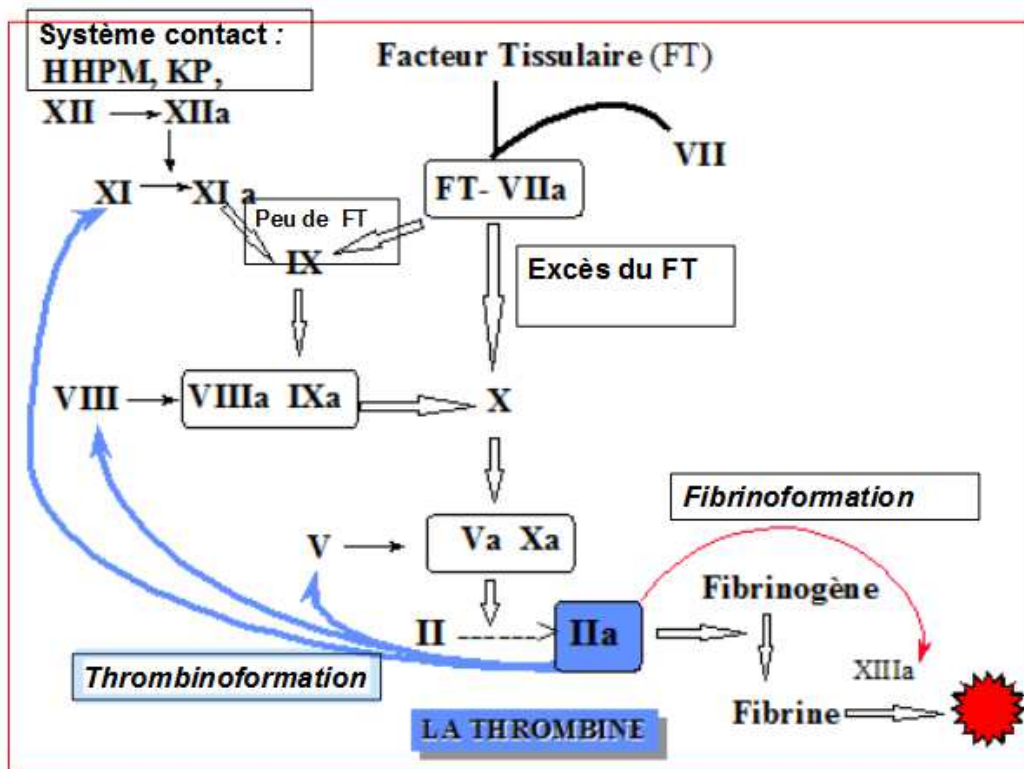


Figure 5: Concept actuel de l'hémostase (in vivo) [31].

KHPM : Kininogène haut poids moléculaire ; PK : Pré-Kallikréine.

## 1. Activation du facteur V :

Le FV est indispensable au bon déroulement de la cascade de la coagulation. Il est activé par de nombreuses protéases, notamment la thrombine, le FXa et de manière transitoire par le plasmine [6].

Le clivage se fait à trois niveaux : Arg709, Arg1018 et Arg1545, éliminant le domaine B qui ensuite subit un clivage entre Arg 1018 et Thr 1019 donnant naissance à deux peptides de 71 kDa et 150 kDa [6].

Le FV activé (FVa) ou l'accélélerine a une chaîne lourde de 105 kD constituée de deux domaines A, et une chaîne légère de 71 ou 74 kDa composée d'un domaine A et deux domaines C.

Ces deux chaînes sont associées de manière non covalente à l'ion de calcium [6] (Figure 6).

Cette différence de poids moléculaire de la chaîne légère est due à la présence de deux isomères nommés FV1 et FV2 à une ration molaire de 33 : 67 (V1 :V2), résultant de la différence de glycosylation au niveau du domaine C2. Ces deux isoformes présentent des propriétés différentes : le FV2 a une grande affinité aux phospholipides anioniques que le FV1 alors que ce dernier produit plus de thrombine que FV2 [11, 8].

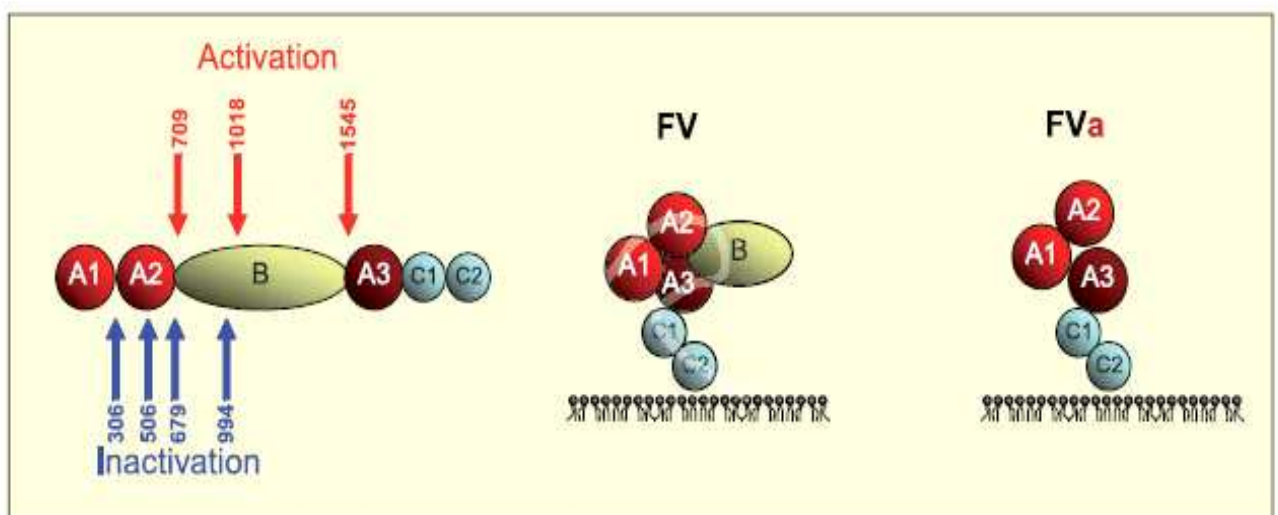


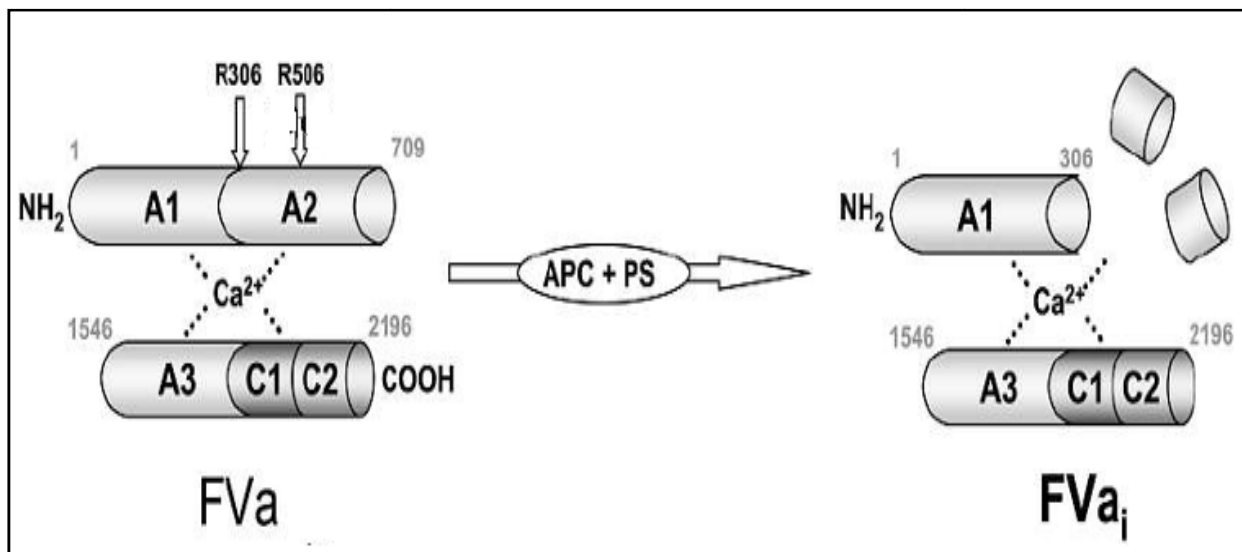
Figure 6 : La structure du FV avant et après activation [32].

## 2. Inactivation du facteur V :

La protéine C (PC) est une protéine de synthèse hépatique, vitamine K dépendante et zymogène d'une sérine protéase. Elle est dotée d'un potentiel anticoagulant et anti-inflammatoire, circule sous forme inactive, son activation par la thrombine en protéine C activée (PCa) nécessite la fixation de la thrombine sur un récepteur appelé la thrombomoduline (protéine intégrante des cellules endothéliales vasculaire).

La PCa est un inhibiteur très puissant du facteur Va et son action est augmentée par son cofacteur, la protéine S (PS).

La PC clive le FVa après les Arg 306,506 et 679. Le premier clivage au niveau de l'Arg 506 réduit l'activité du cofacteur et son affinité au FXa de 25 à 40 %. Le deuxième clivage après 306 donne une inhibition totale du cofacteur, alors que le dernier clivage après l'Arg 679 est le plus lent et n'apparaît pas important pour l'inactivation du FV. Une alternative d'inactivation du FV faisant appel à la thrombine a été décrite, la thrombine clive après l'Arg 643, réduisant ainsi l'affinité entre la chaîne lourde et la chaîne légère [6, 8, 32] (figure 7).

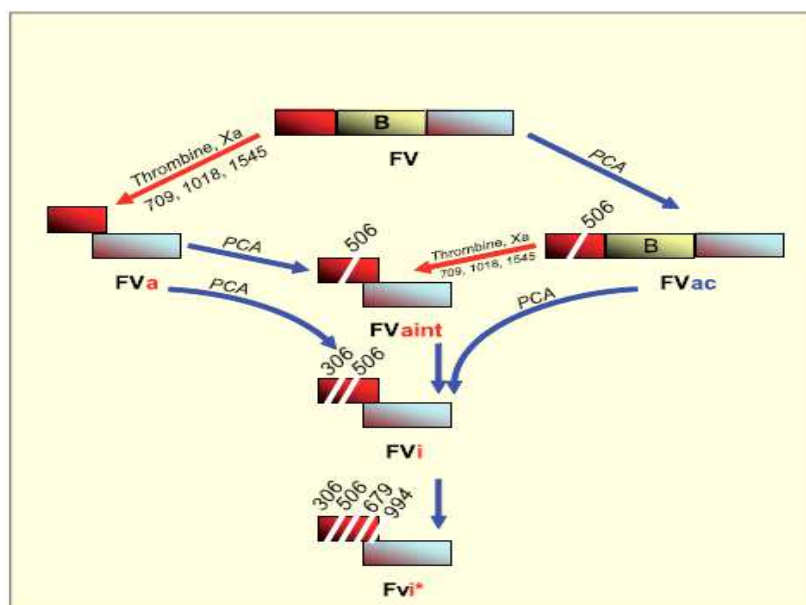


**Figure 7 :** Représentation schématique de la forme pro-coagulante (FVa) et la forme inhibée (FVai) du facteur V [8].

L'activité anti-coagulante du FV ou forme inhibée, cofacteur de la PCa pour la dégradation du FVIIIa est liée à la partie C terminale du domaine B. Elle nécessite la coupure de l'arginine 506 par la PCa. Les états du FV ne se limitent donc pas aux formes basales, activée et inactivée, mais comprennent aussi d'autres états intermédiaires de la molécule. La course de vitesse entre l'action de la PCa et des sérines protéases activatrices (IIa et Xa) peut suivre une autre séquence que le schéma activation/inactivation, et induire l'apparition de

molécules partiellement inactivées qui acquièrent une fonction anti-coagulante en tant que cofacteur de la PCa dans sa dégradation du VIIIa.

Ce FV anti-coagulant peut alors soit subir l'action de la PCa et devenir totalement inactive par clivage de l'arginine 306, soit rejoindre un état partiellement pro-coagulant par clivage des arginines 709, 1018 et surtout 1545 (Facteur V active intermédiaire, Vaint). De même, le FVa (activé par la thrombine ou le FXa sur les arginines 709, 1018 et 1545), peut soit subir une dégradation partielle par la PCa au niveau de l'arginine 506 qui donnera un FV partiellement pro-coagulant comme précédemment, soit être totalement dégradé dès que la PCA s'attaque à l'arginine 306. C'est donc des concentrations relatives en IIa, Xa et PCa que résulte le devenir de chaque molécule de FV [32] (figure 8).



**Figure 8 :** Les voies intriquées de l'activation par la thrombine et de l'inactivation par la PCa du facteur V [32].

## **V. Les propriétés physico-chimiques du FV:**

### **1. Stabilité :**

L'activité du FV est extrêmement labile particulièrement après purification lorsque la concentration protéique est faible, elle peut être stabilisée par l'addition d'albumine. Cette inactivation du FV est ralentie en présence de cations divalents, de ce fait, le FV est plus stable dans le plasma en présence de citrate de sodium qu'en présence d'EDTA ou d'oxalate. Le FV est thermolabile, l'activité étant rapidement détruite en l'absence de calcium, lorsque la température augmente de + 4°C à 37°C. Il est détruit par chauffage à 50°C pendant une heure.

Comme le FVII, son activité reste stable pendant quelques semaines à -60°C. Le maximum de stabilité est obtenu pour un pH compris entre 6,2 et 7,3 [2].

### **2. Poids moléculaire :**

Le FV non activé a un poids moléculaire de 330 kDa, son activation entraîne une diminution du poids moléculaire qui n'est plus que de 110 kDa en même temps que l'augmentation de l'activité spécifique [6].

### **3. Concentration et demi vie du facteur V :**

Le FV est présent dans le plasma à un taux de 5 à 10 mg/ml, et sa demi-vie plasmatique est de 12 à 36 heures.

## **Chapitre II :**

# **Facteur V Leiden**



## **I. Historique :**

En février 1993, DAHLBACK et coll, rapportent plusieurs cas de maladie thrombo-embolique familiale associée à un phénomène de résistance à la protéine C activée (RPCa ou RPCA). La mise en évidence de cette anomalie reposait sur l'allongement insuffisant du temps de céphaline avec activateur (TCA) en présence de la protéine C activée (PCa) exogène.

Cette découverte a stimulé les études fondamentales et bio-cliniques pour tenter d'en comprendre le mécanisme moléculaire et ses conséquences physiopathologiques.

Le mécanisme a été élucidé dès l'année suivante : le phénotype de RPCa est lié au facteur V muté de la coagulation. La mutation FV Leiden (FVL) a été décrite par l'équipe de Bertina en 1994.

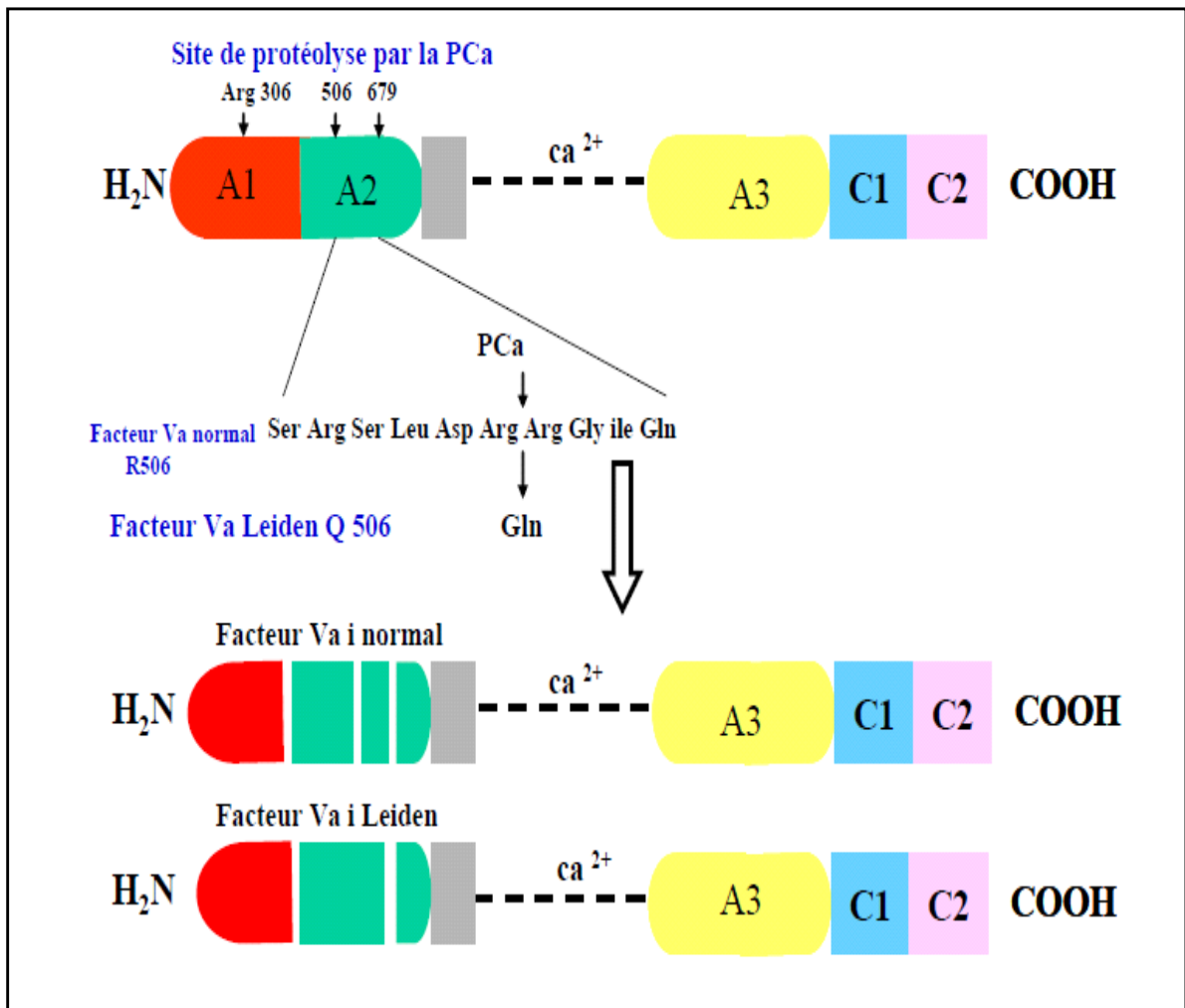
## **II. Le FV Leiden :**

### **1. Structure :**

Il s'agit d'une mutation faux-sens située dans l'exon 10 du gène codant le FV. La mutation

«Leiden » appelée aussi la mutation G1691A du gène du facteur V, touche le nucléotide 1691, le codon sauvage CGA étant remplacé par le codon CAA.

En conséquence, sur la protéine, l'Arginine (Arg) en position 506 est remplacée par une Glutamine (Gln), d'où l'appellation de mutation Arg506Gln (ou R506Q). La protéine C activée (PCa) ne reconnaît plus son premier site de clivage du FV activé par la thrombine. Et de ce fait, le FV «résiste» à l'inactivation par la PCa. En effet l'inactivation par clivage au niveau des arginines 306 et 679 est dix fois plus lente sur le FVL que sur le FV à l'état sauvage. En pratique, le FVL perd sa fonction de cofacteur du système de la protéine C, c'est-à-dire du système inhibiteur de la coagulation et de ce fait expose au risque de thrombose. En revanche, il conserve ses propriétés pro-coagulantes. Le FV muté est désigné sous le nom de FVL, du nom de la ville où l'anomalie a été décrite (en Hollande) (figure 9) [33-34].



**Figure 9** : Inactivation du FVa normal et du FV Leiden par la PCa [35]

## 2. Comparaison FVL/ FV normal :

Le tableau I compare le FVL avec FV normal.

Le **Tableau I** : tableau comparatif FVL/FV normal

	FV	FVL
<b>Structure</b>		
<b>Activité</b>	FV cofacteur de la protéine C activée	FVL résistant à la protéine C activée

### **3. Mode d'action du FVL dans la cascade de coagulation :**

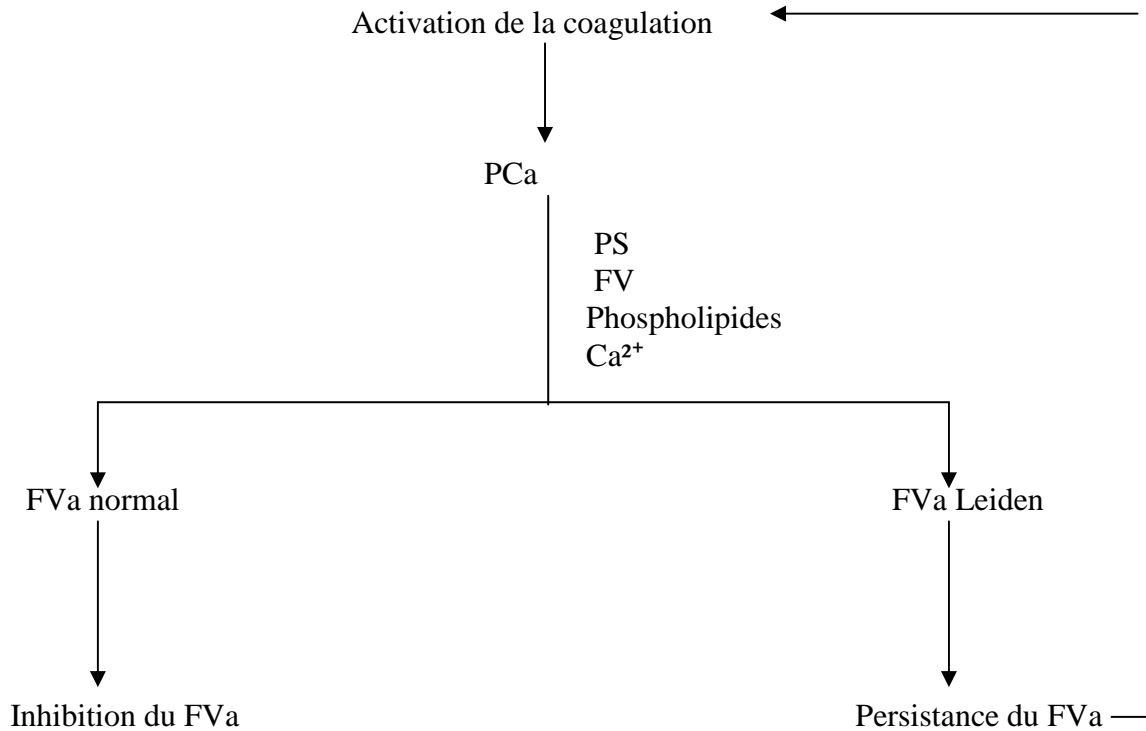
Le FV est activé en présence de FXa et de la thrombine. Le FVa est physiologiquement inactivé par la PCa qui le coupe en 3 sites précis : Arg 306, Arg 506, Arg679 [36, 37].

L'inactivation complète du FVa dépend surtout du clivage en 306. L'inactivation physiologique du clivage en 679 est mal connue. Le clivage en position 506 est nécessaire à l'exposition des autres sites de clivage, notamment du site en 306.

La mutation FVL entraîne une hypercoagulabilité par deux mécanismes. Le remplacement d'une arginine (Arg) par une glutamine (Gln) entraîne la perte du site de clivage par la PCa, à la fois sur le FV et sur le FVa. Il en résulte un défaut d'inactivation du FVa par la PCa et une perte de l'activité cofacteur de la PCa du FV.

Le site de clivage en position 506 du FVa est très sensible à l'action de la PCa sur le FVa normal, mais il est protégé par le FXa au sein du complexe prothrombinase. De ce fait, la mutation Arg506Gln entraîne surtout un défaut d'inactivation du FVa libre (et à degré moindre celle du FVa de la prothrombinase) [36, 37].

En outre, le FVL ne peut plus agir comme cofacteur de la PCa (en présence de phospholipides, de calcium et de protéine S) pour inactiver le FVIIIa, majorant l'amplification de la coagulation ce qui augmente le risque de thrombose (Figure 10).



**Figure 10 :** Facteur Va normal et facteur V Leiden activé [37].

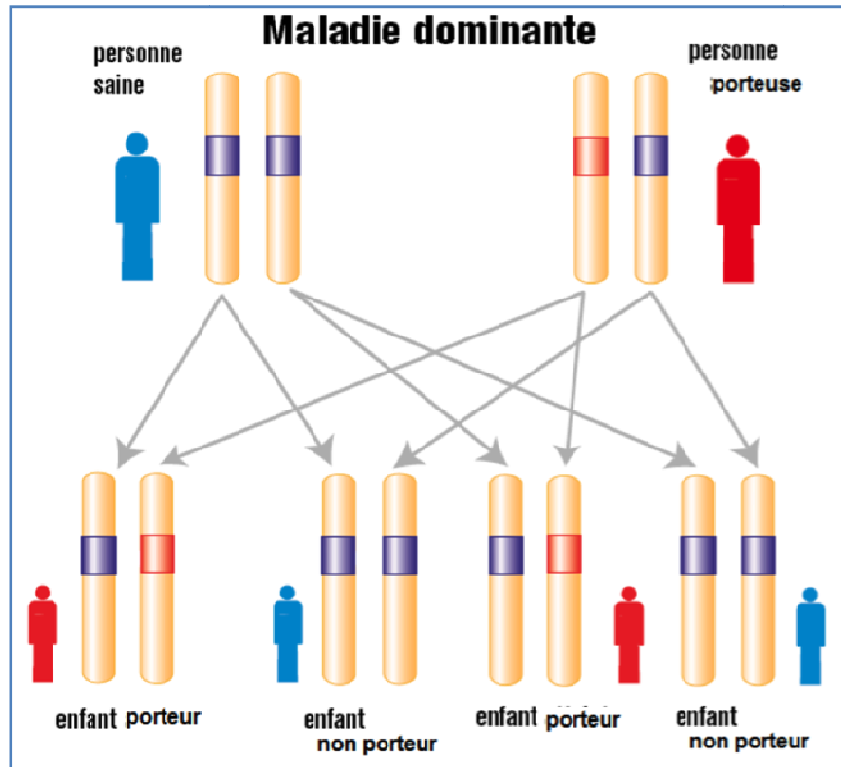
#### **4. Mode de transmission de la mutation FVL :**

Le FV Leiden est une maladie héréditaire affectant aussi bien les hommes que les femmes avec un mode de transmission autosomique dominant, causé par une mutation retrouvée au niveau de la paire de chromosomes 1.

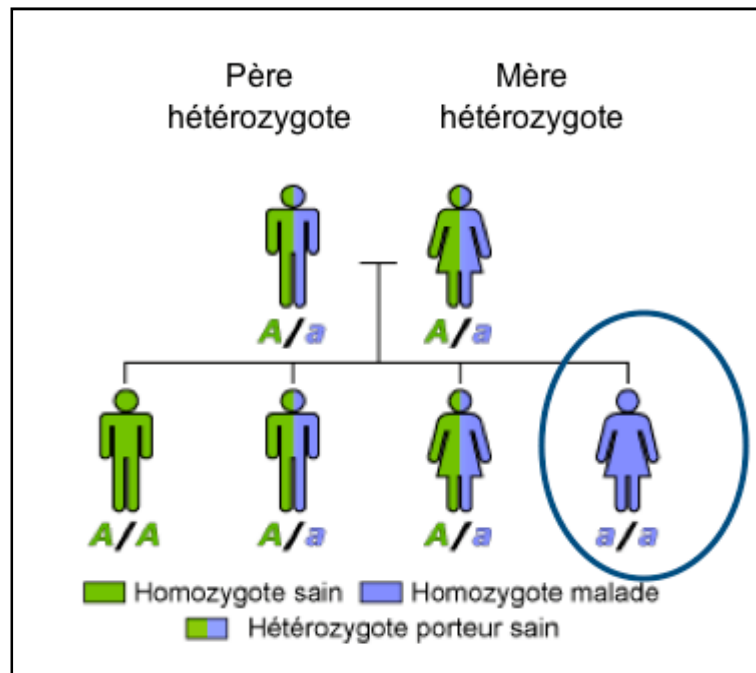
La personne porteuse du FV Leiden à l'état hétérozygote possède une copie du gène qui fonctionne normalement, et une copie du gène qui ne fonctionne pas normalement (copie « Leiden »). À chaque grossesse, l'individu hétérozygote possède 50 % de chance de transmettre à l'enfant le gène du FV fonctionnant normalement et 50 % de risque de transmettre le gène du FV défectueux (figure 11) [38].

Si les deux parents sont porteurs (figure 12), l'enfant a :

- un risque sur quatre (25 %) de recevoir des deux parents le gène du FV défectueux; dans ce cas-là, l'enfant est homozygote;
- 50 % de risque d'être hétérozygote;
- 25 % de chance d'être normal [39].



**Figure 11:** Croisement entre une personne saine et une autre porteuse hétérozygote [31].



**Figure 12:** Schéma de transmission autosomique dominante [38].

### **5. Distribution géographique et ethnique de la mutation FVL :**

La distribution de cette mutation est variable. Dans la population générale caucasienne, la fréquence du FVL varie de 2% à 8% [40]. Les porteurs de l'anomalie sont hétérozygotes, dans la grande majorité des cas. La prévalence de l'homozygotie est de 0.05% à 0.25% [40].

Depuis la publication de Bertina, différentes études ont été effectuées dans diverses populations et groupes ethniques afin de déterminer la prévalence de cette mutation dans la population générale.

Les prévalences rapportées par les différentes études sont résumées dans le tableau I. L'ensemble des données publiées fait apparaître une grande diversité dans la répartition géographique. En effet, la mutation est très fréquente chez les Européens, avec un gradient nord-sud: la fréquence allélique au Royaume-Uni est de 8,9 % versus 1,4 % en Italie [41].

La mutation est absente chez les Africains sub-sahariens, dans les populations de l'Est de l'Asie, les populations aborigènes d'Australie et d'Amérique ainsi que chez les Esquimaux, les Inuits du Groenland et les Basques [42-43].

Alors que les publications initiales suggéraient que la mutation FVL était strictement limitée à la population européenne, des publications récentes ont montré qu'elle existe dans les populations arabes du bassin méditerranéen, et parfois même à des taux plus élevée que celle retrouvée en Europe : 10.5% en Jordanie [44], 13.6% en Syrie [44], 14.4% au Liban [45].

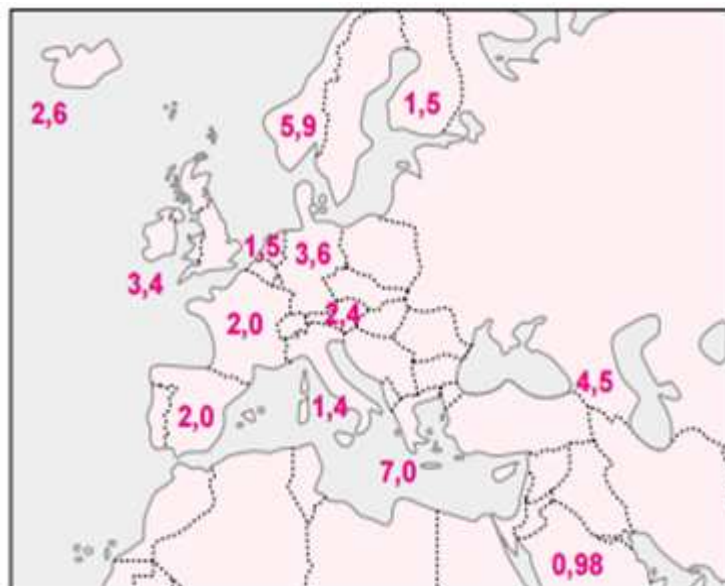
La prévalence diminue lorsque l'on s'éloigne du bassin méditerranéen, ce qui suggère que la mutation est limitée aux Caucasiens, Européens et Arabes.

L'origine de cette mutation se situerait donc dans le bassin Est de la méditerranée, hors pays européens, avec extension de la mutation vers les autres pays par le biais des vagues de migration [44].

Un effet fondateur est probablement à l'origine de cette anomalie, qui serait survenue il y a 21000 à 34000 ans, après la séparation des Africains, des non Africains et des Caucasiens, des populations mongoles [46].

Concernant la population marocaine et d'après les résultats des rares publications dans ce sujet, cette mutation est inexistante [55]. Contrairement par exemple à la Tunisie qui a été peuplée par une population Berbère avant de subir plusieurs colonisations successives par les Phéniciens, les Romains, les Vandales, les Byzantins et enfin les Arabes [47].

Sur la figure 13 et le Tableau II, est représentée la prévalence de la mutation FVL.



**Figure 13:** carte des fréquences (en %) de l'allèle FVL, en Europe et en Moyen-Orient [48].

**Tableau II:** Prévalence de la mutation FVL dans le monde.

<b>Pays/ population</b>	<b>Effectif (N)</b>	<b>Hétérozygote FV Leiden</b>	<b>Prévalence de l'hétérozygotie (%)</b>	<b>Références</b>
<b>Liban</b>	174	25	<b>14,4</b>	Almawi et al. [44]
Syrie	500	68	13,6	Irani-Hakime et al [44]
Grèce	187	25	13,4	Irani-Hakime et al [44]
Suède	288	32	11,1	[41]
Jordanie	400	42	10,5	Awidi et al. [49]
Royaume-Unis	237	21	8,9	[41]
Allemagne	814	58	7,12	Irani-Hakime et al [44]
Israël	2111	109	5,2	Seligsohn et al [50]
Tunisie	204	10	5	Frere et al. [51]
Turquie	151	7	4,6	Ozbek et al. [52]
Australie	126	5	3,96	[41]
France (Paris)	51	2	3,92	[41]
USA	4047	150	3,71	Irani-Hakime et al [44]
Espagne	150	5	3,3	Ozbek et al. [52]
Islande	96	3	3,12	[41]
Hollande	474	14	2,95	B.Zoller et al. [53]
Italie	1207	33	1,4	[41]
Algérie	75	1	1,3	Chafa et al [47]
Arabie Saoudite	55	0	0	Rees et al. [54]
Maroc	159	0	0	Mathonnet et al. [55]
Sénégal	96	0	0	Rees et al. [54]
Zambie	95	0	0	Rees et al. [54]
Kenya	60	0	0	Rees et al. [54]
Indonésiens	100	0	0	Pepe et al [56]
Koréen	93	0	0	[41]
Chine	254	0	0	[41]
Mongolie	36	0	0	[41]
Jamaïcains	91	0	0	[41]
Indiens d'Australie	184	0	0	Bennett et al. [57]

# **Chapitre III :**

# **FVL et Pathologies**



## I. Thrombophilie et FVL :

Le terme de « thrombophilie » désigne d'une part des situations cliniques caractérisées par la survenue de thromboses veineuses précoces ou récidivantes ou de siège inhabituel, d'autre part des situations biologiques caractérisées par une hypercoagulabilité.

Le FVL est un facteur de risque constitutionnel de thrombophilie qui a fait l'objet de plusieurs études.

**Tableau III:** Principaux facteurs de risque de la maladie thrombo-embolique veineuse [31].

Facteurs de risque acquis	Facteurs de risque génétique	Facteurs de risque mixtes
Age	<b>Facteur V Leiden</b>	Hyper-homocystéinémie
Antécédents de MTEV	Déficit en protéine C	Taux élevés de fibrinogène
Immobilisation	Déficit en protéine S	Taux élevés de facteur VIII
Chirurgie	Déficit en antithrombine	Taux élevés de facteur XI
Cancer	Facteur II G20210A (leiden)	Taux élevés de facteur IX
Traitement hormonal	Dysfibrinogénémié	
Synd. des antiphospholipides		
Synd. myéloprolifératif		

Chez les sujets présentant la mutation FVL à l'état hétérozygote, le risque de thrombose veineuse est multiplié par environ 3 à 8 [58, 59]. Dans de nombreux cas, les sujets hétérozygotes sont asymptomatiques. Les thromboses veineuses peuvent survenir dans des situations à risque, qui agissent comme facteur déclenchant, telles qu'une intervention chirurgicale, une grossesse, la prise de contraceptif oral (contenant des œstrogènes) ou une immobilisation.

## **1. L'évaluation du risque thrombo-embolique veineux associé à la présence du FVL :**

Ce risque est variable :

### **➤ Si la mutation est isolée :**

Les sujets homozygotes développent une thrombose au moins une fois dans leur vie, notamment lorsqu'ils sont exposés à des facteurs de risque transitoires.

L'âge moyen de survenue de la première thrombose est de 31 ans chez les homozygotes alors qu'il est de 44 ans chez les hétérozygotes [60].

La localisation et la sévérité des thromboses chez les porteurs de cette mutation sont très diverses.

Les TVP des membres inférieurs sont les plus fréquemment rencontrées, cependant des thromboses veineuses portales ou cérébrales ont été également rapportées. Le FVL est rarement associé à l'embolie pulmonaire ou aux thromboses veineuses rétiniennes [60,61].

Le rôle du FVL en tant que facteur de risque de récurrence de MTEV est controversé [62,63].

Sur le plan clinique le FVL expose surtout au risque de thrombose veineuse, plus rarement d'embolie pulmonaire [64].

### **➤ Si la mutation est associée à la prise de contraception orale :**

Compte tenu de sa grande fréquence, la mutation FVL crée une opportunité plus forte d'interaction avec d'autres facteurs de risque génétiques, acquis ou environnementaux. Ainsi, la contraception orale (CO) par les œstroprogestatifs, notamment les œstroprogestatifs de troisième génération, majore le risque de thrombose d'un facteur 4 chez les femmes non porteuses de la mutation par rapport à des femmes sans pilule. Ce risque peut augmenter jusqu'à 30 voire 50 chez les utilisatrices de CO porteuses de la mutation [65].

Le tableau III résume l'incidence des thromboses veineuses chez les jeunes femmes en âge de procréer en fonction de la prise de contraceptif oral et de l'existence ou non de la mutation du FVL.

**Tableau IV** : incidence de la MTEV en présence du FVL et contraception orale chez les femmes jeunes [66].

<b>Contraception orale</b>	<b>FVL</b>	<b>Risque relatif</b>	<b>Nombre cas/an/10 000</b>
-	-	1	4 – 5
+	-	3 – 4	12 – 20
-	+	6 – 8	24 – 40
+	+	30	120 – 150

➤ **Chez l'enfant :**

Selon l'étude réalisée par Nowak sur un échantillon de 196 enfants caucasiens âgés de 1 à 16 ans, la prévalence de la mutation FVL est de 5.1% [68]. Chez les enfants malades souffrant de TVP, la prévalence de la mutation FVL varie de 13.2% à 52% [67, 68].

Chez les enfants, comme chez les adultes, la mutation Leiden constitue un facteur de risque de TVP. En effet, une étude réalisée par Schobess portant sur 119 enfants présentant une TVP spontanée et 100 enfants témoins, âgés de 0 à 18 ans, a montré que la mutation FVL était significativement plus élevée chez les enfants malades que chez les témoins (odd ratio 4.55).

Selon trois études de cohorte et une étude cas-témoins, la prévalence de cette mutation chez les enfants souffrant de thrombose veineuse cérébrale varie de 0 à 18.8%. Dans l'étude cas-témoins réalisée chez 23 enfants, l'odd ratio est de 2.3 [69].

Cette mutation est un facteur de risque de récurrence chez les enfants. L'étude réalisée par Nowak portant sur 301 enfants âgés de 0 à 18 ans ayant consulté pour un premier épisode de TVP et suivis ensuite de façon prospective durant une période moyenne de sept ans, montre que la mutation confère un risque relatif de récurrence de 4.0, ce risque relatif étant de 6.0 chez les porteurs homozygotes. Le risque relatif de récurrence passe à 10.6 chez les enfants présentant des anomalies combinés [70].

La mutation FVL est également retenue comme facteur de risque de thromboses artérielles chez l'enfant. La majorité des études cas-témoin montre une majoration de l'incidence de la mutation chez les enfants ayant un accident ischémique artériel [71]. La méta-analyse réalisée par Barnes en 2000 portant sur 5 études cas-témoin, montre que la

mutation FVL est un facteur de risque de thrombose artérielle, l'odd ratio global dans cette étude étant de 4,3 [71].

### ➤ **Risque obstétrical associé à la mutation FVL :**

La mutation Leiden représente également un facteur de risque obstétrical. Deux méta-analyses regroupant respectivement 9 [72] et 31 études [73], montrent que cette mutation est impliquée aussi bien dans les pertes fœtales précoces que tardives. Par ailleurs, sa présence à l'état hétérozygote a été identifiée chez 4.5% à 26% des patientes ayant une pré-éclampsie sévère. Dans sa revue de la littérature, Alfirovic suggère une association entre FVL et pré-éclampsie/éclampsie [74].

Des données récentes montrent que le FVL est un facteur de risque de pertes fœtales récurrentes chez les femmes tunisiennes. En effet, la première étude concernait 54 femmes âgées de 19 à 43 ans à la maternité de Sousse pour avortements à répétition (plus de deux fausses-couches consécutives et inexplicables) [75]. Dans cette étude six patientes parmi les 54 (11.11%) étaient porteuses de la mutation à l'état hétérozygote. Une seconde étude a inclus une cohorte de patientes plus élevée (146 femmes avec plus de trois fausses couches consécutives et inexplicables). Cette étude montre une association positive entre la mutation Leiden et les pertes fœtales récurrentes chez les femmes tunisiennes [76]. L'étude de Zammiti, montre que, la mutation FVL n'est pas un facteur de risque de perte fœtale très précoce (avant 8 semaines de grossesse) chez la femme tunisienne. Par contre, elle majore graduellement le risque après la huitième semaine de gestation [77].

## **2. Concernant l'évaluation du risque thrombotique artériel associé à la présence du FVL :**

De nombreuses équipes ont étudié le rôle du FVL dans la survenue d'infarctus du myocarde. Dans l'étude prospective de médecins américains (Physician Health Study, PHS) [78]. La présence de la mutation n'est pas associée à la survenue d'un infarctus du myocarde ou d'un accident vasculaire cérébral ischémique. Dans le cadre de l'étude ECTIM (étude cas témoin de l'infarctus du myocarde) regroupant 643 patients et 726 témoins, aucune association significative n'est relevée [78].

Quelques études rapportent, cependant, des associations positives, particulièrement lorsque l'effet conjoint de la mutation et d'un facteur de risque environnemental a été étudié. Ainsi, dans une étude cas témoin de l'infarctus du myocarde survenant chez la femme jeune (88 patientes, 388 témoins), l'usage du tabac multiplie par 32 le risque relatif d'infarctus du myocarde associé à la présence du FVL qui, présent seul, est associé à un risque relatif beaucoup plus faible (2,4) [79].

Dans la méta-analyse de Casas et al. (4 598 malades, 13 798 témoins), la survenue d'accidents vasculaires cérébraux ischémiques ne semble pas fortement liée à la présence du FVL [80].

### **3. FVL et Cancers :**

La survenue de thromboses chez des patients atteints de cancers est souvent multifactorielle, faisant intervenir l'immobilisation, la chirurgie, la chimiothérapie et l'activité pro-coagulante des cellules cancéreuses. Si globalement, le risque de thrombose chez les patients présentant un cancer ou ayant un FVL est multiplié par 7, l'association cancers et FVL multiplierait ce risque par 12 [81].

### **4. FVL et thrombose des cathéters centraux :**

Elle peut être favorisée par la rupture de la paroi vasculaire, la nature du dispositif utilisé, et une activation de la coagulation et des plaquettes. Le rôle des thrombophilies biologiques, en particulier le FVL a été très étudié. La méta-analyse de Dentali et al. [82] portant sur dix études incluant des patients présentant un cancer et pour lesquels un cathéter veineux central a été mis en place montre un risque relatif (RR) de thrombose de 4,6 avec un intervalle de confiance (IC) compris entre 2,6–8,1 en cas de présence du FVL (211 cas) par rapport aux patients non porteurs de la mutation (860 cas).

**Chapitre IV :**  
**Techniques de détermination  
de la mutation FVL**



La recherche de la mutation FVL repose sur deux types de tests :

- des tests de dépistage phénotypique: ce sont les tests chromométriques représentés par la recherche de la résistance à la protéine C activée RPCa.
- des tests de confirmation : ce sont des tests de biologie moléculaire.

### **I. Les indications de la recherche de la mutation FVL :**

Dans le rapport de la HAS (Haute Autorité de Santé) publié en 2011, sont présentées les indications de la recherche de la mutation G1691A du gène du facteur V ou FVL, facteur impliqué dans la maladie thrombo-embolique veineuse. Pour cette recherche, il existe des indications consensuelles qui sont : [83]

- en cas de premier épisode de MTEV ;
  - non provoquée survenue avant 50/60 ans,
  - chez les femmes en âge de procréer, que l'épisode soit provoqué ou non ;
- en cas de récurrence de MTEV ;
  - toute récurrence de TVP proximale et/ou EP, dont le premier épisode est survenu avant 50/60 ans,
  - toute récurrence de TVP distale non provoquée ;
- en présence d'antécédents personnels de MTEV ou ayant des antécédents familiaux de MTEV chez la femme enceinte.

La recherche des mutations des FV peut également être proposée, après discussion au cas par cas dans les indications suivantes :

- en présence d'une histoire familiale de thrombophilie héréditaire chez les femmes enceintes ;
- en cas d'antécédents de fausses couches multiples ou de mort fœtale intra-utérine fœtale inexplicée, de pré-éclampsie, de syndrome HELLP, de retard de croissance fœtal chez la femme enceinte.

Le tableau V représente la synthèse des indications recommandées pour la recherche du FVL

**Tableau V:** Les indications de la recherche de la mutation FV Leiden [83].

Recommandations	Indications
HAS de 2006	<p>Les indications de la recherche FVL sont :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• dans le cas général (hors grossesse) lors bilan étiologique, en particulier chez le sujet de moins de 50 ans, d'une thrombose veineuse profonde inexpliquée ou récidivante ou d'une embolie pulmonaire inexpliquée ou récidivante ;</li> <li>• chez la femme enceinte : devant la survenue d'une thrombose veineuse ou ayant des antécédents familiaux de thrombose veineuse prouvés, ou des antécédents personnels de thrombose veineuse.</li> </ul>
GEHT de 2009	<p>Les indications de la recherche de Facteurs biologiques de risque de MTEV dont FVL sont :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• en cas de premier épisode de TVP proximale et/ou EP : en cas de premier épisode MTEV non provoquée survenu avant 60 ans, dans le but d'adapter éventuellement la durée de traitement et de définir les conduites à tenir pour les apparentés (grade C) ou chez les femmes en âge de procréer, que l'épisode soit provoqué ou non, compte tenu de l'impact sur la prise en charge des grossesses (grade C) ;</li> <li>• en cas de récurrence pour toute récurrence de TVP proximale et/ou EP provoquée ou non, dont le premier épisode est survenu avant 60 ans (accord professionnel), ou toute récurrence de TVP distale non provoquée (accord professionnel).</li> </ul>
SISSET de 2009	<p>Les indications de la recherche de Facteurs biologiques de risque de MTEV, dont FVL sont :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• chez les femmes enceintes asymptomatiques, avec une histoire familiale de MTEV (grade D) ;</li> <li>• chez les femmes enceintes asymptomatiques, avec une histoire familiale de thrombophilie héréditaire (grade C). Il est suggéré de rechercher la déficience familiale et au moins deux des mutations les plus communes : le facteur V de Leiden et la mutation G20210A du gène de la prothrombine ;</li> <li>• chez les femmes enceintes ayant un antécédent de MTEV (grade C) ;</li> <li>• chez les femmes enceintes ayant un antécédent de fausses couches multiples ou de mort intra-utérine fœtale inexpliquée (grade C) ;</li> <li>• chez les femmes enceintes ayant un antécédent de pré-éclampsie, de syndrome HELLP (Hemolysis Elevated Liver enzymes and Low Platelets), d'abruptio placentae, de retard de croissance fœtal (grade D).</li> </ul>

## **II. Les recommandations pré-analytiques :**

Comme pour tout prélèvement d'hémostase, la phase pré-analytique doit être respectée.

On va se limiter aux particularités de la recherche de FVL.

## **1. Le prélèvement :**

- **Pour le test de dépistage :** comme pour les tests d'hémostase, le plasma doit être prélevé

sur anticoagulant type citrate de sodium à la concentration de 3,2 % (0,109 M) au 1/10 (0,5 ml pour 4,5 ml de sang). Les tubes citratés à 3,8 % (0,129 M) sont acceptés. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole). Tout autre anticoagulant doit être proscrit. Les conditions de prélèvement sont celles générales des tests d'hémostase [36].

- **Pour la biologie moléculaire :** le prélèvement doit être réalisé sur tube contenant du citrate de sodium ou d'EDTA.

## **2. Transport, mode de centrifugation et conservation :**

- **Pour le test de dépistage :**

D'après les recommandations de la GEHT (Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose) et la CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) [36, 37] :

- Le transport doit se faire à température ambiante avec un délai de moins de 4 heures.
- Le nombre de plaquettes résiduel est un élément très important et ne doit pas excéder 10 Giga/L. Pour cela, il est recommandé de pratiquer une double centrifugation de 2 x 15 min à 2500 g, en prenant soin de décanter le plasma au-dessus de la couche leuco-cytoplaquettaire entre les deux opérations. Il est recommandé d'utiliser une centrifugeuse thermostatée permettant de maintenir une température comprise entre 18° et 22° C.
- En cas de dosage différé, congeler dans les 2 heures suivant le prélèvement. La congélation doit être rapide à -70°C, en petit volume, tube non mouillable, capacité adaptée à l'échantillon. La décongélation doit être rapide (2-3 minutes) à 37°C et les plasmas sont homogénéisés et le test doit être réalisé sans délai.
- La conservation du plasma est possible 2 semaines à - 20 °C et 6 mois à - 80 °C.

- **Pour la biologie moléculaire :**

- Conservation du prélèvement 48 heures à température ambiante (15 -20 °C).
- L'ADN extrait et purifié se conserve plusieurs mois à - 70 °C.

– Transport à température ambiante ou à + 4 °C (si > 24 h).

**NB** : Éviter toute contamination du prélèvement par des germes, des cellules exogènes ou de l'ADN exogène. Pour cela, il est recommandé de réaliser le prélèvement au moyen d'un système d'aspiration sous vide, et à ne pas ouvrir le tube avant son analyse au laboratoire.

### **3. Les Renseignements indispensables :**

#### **◆ Pour le test de dépistage RPCa :**

La protéine C étant un facteur vitamine K dépendant, le traitement par antivitamines K interfère avec le test. De même la prise de dabigatran ou rivaroxaban [36]. La méthode de Dahlbäck modifiée, actuellement utilisée, n'est pas influencée par les traitements antivitamines K.

#### **◆ Pour la biologie moléculaire :**

L'examen des caractéristiques génétiques à des fins médicales est réglementé par le Code de la santé publique de chaque pays.

##### **- *Les dispositions générales :***

La recherche de la mutation FVL obéit aux mêmes règles que tout autre test génétique. Ces règles définies que l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales a pour objet « soit de confirmer ou d'infirmer le diagnostic de maladie génétique chez une personne qui en présente les symptômes, soit de rechercher, chez une personne asymptomatique, les caractéristiques d'un ou plusieurs gènes susceptibles d'entraîner à terme, le développement d'une maladie chez la personne elle-même ou sa descendance » [32].

##### **- *Les conditions de prescription :***

La prescription suppose un entretien préalable avec le patient afin de lui expliquer la nature de l'examen, la signification du résultat, et les conséquences éventuelles de ce résultat. L'accord écrit du sujet est requis pour réaliser le test, et il peut refuser d'en connaître le résultat. L'information préalable à la réalisation du test (directe, puis consignée par écrit) comme la remise du résultat doivent être faites par un médecin. Le secret médical doit être respecté vis-à-vis des tiers, y compris les autres membres de la famille qui ne peuvent être contactés que par le sujet lui-même. Les mineurs ne sont testés qu'en cas de bénéfice individuel direct attendu [84].

- ***Conditions de communications des résultats :***

Le compte rendu d'analyse commenté et signé par le praticien responsable agréé doit être adressé exclusivement au praticien prescripteur des examens génétiques, puis remis au patient dans le cadre d'une consultation médicale individuelle [32,84].

- ***Conditions de conservation des documents :***

Le consentement écrit, le double des prescriptions et les comptes rendus d'analyse doivent être conservés par le médecin prescripteur dans le dossier médical du patient. Les comptes rendus d'analyse et leur commentaire explicatif sont également conservés par le laboratoire de biologie médicale [84,85].

### **III. Les techniques de détermination :**

#### **1. Les tests de recherche d'une résistance à la protéine C activée RPCa :** **TEST DE DEPISTAGE – TEST PHENOTYPIQUE**

La mutation Arg506Gln ou FVL est mise en évidence chez 90 à 95 % des patients présentant une RPCa. Les autres cas de RPCa (environ 5%) sont acquis (au cours de la grossesse, lors de la prise de contraception œstro-progestative ou chez certains patients présentant un syndrome des anti-phospholipides) ou en rapport avec une autre mutation du FV (FV Cambridge, FV Hong Kong) [33-37].

Il existe actuellement de nombreuses méthodes de détection de la RPCa avec en général une bonne sensibilité pour la mutation du FVL et pour certaines une spécificité proche de 98 à 100 %. Ce sont des techniques totalement automatisées réalisées dans des laboratoires de biologie médicales.

En cas de positivité du test, la recherche par biologie moléculaire du FVL est indispensable pour établir le caractère homozygote ou hétérozygote de la mutation. Dans certains laboratoires la recherche de la mutation est réalisée d'emblée sans test RPCa préalable.

**a. Test historique = test de première génération :**

Le test initialement mis au point par Dahlbäck et al. [83,86] en 1993 repose sur la mesure du temps de céphaline avec activateur (TCA) effectuée sur du plasma non dilué en présence et en l'absence de protéine C activée exogène en quantité standardisée. Le résultat est habituellement exprimé sous forme du ratio (TCA + PCa)/TCA natif. La résistance se mesure par l'absence d'allongement du (TCA + PCa). Ce test, dit de « première génération », détecte la présence du FVL, mais il est influencé par de nombreux facteurs et sujette à de nombreuses interférences. Ainsi, le test n'est pas interprétable chez les patients sous traitements anti-coagulants : héparine ou antivitamines K. De même, une insuffisance hépatique, la présence d'un anticoagulant circulant [94], un déficit en protéine S ou un excès du facteur VIII et de fibrinogène au cours des syndromes inflammatoires [87-88].

Des RPCa acquises chez les femmes enceintes ou sous contraception orale ont été également rapportées [88,89].

La spécificité d'une RPCa détectée par ce test global est d'environ 80 %.

Néanmoins, les études ont montré que le test de première génération permet également de détecter une RPCa héréditaire, non liée à la présence du FVL, qui est un facteur de risque de thrombose veineuse, indépendamment des taux de FVIII, de l'âge et du sexe [34]. Ce test est utilisé dans les laboratoires de recherche sur la thrombophilie qui cherchent à dépister de nouvelles causes de RPCa et qui réalisent des études épidémiologiques [83].

**b. Les tests de seconde génération = méthodes avec pré-dilution dans du plasma déficient en FV :**

- La pré-dilution du plasma à étudier dans un plasma déficient en FV permet de réduire les

interférences, et d'améliorer la sensibilité et la spécificité du test vis-à-vis du FVL [90]. On parle de technique « modifiée » ou de test de seconde génération.

Dans ces conditions, seule l'influence du temps de dégradation du FV du patient (dépendant de la présence ou non de la mutation Leiden) intervient sur le ratio, et la discrimination entre patients porteurs ou non de la mutation est excellente [32].

Cette technique autorise le dépistage de l'anomalie chez les patients sous traitement anticoagulant par anti-vitamine K [91]. En cas de traitement héparinique, le traitement

préalable du plasma par un inhibiteur de l'héparine est nécessaire s'il n'est pas présent dans le réactif.

L'interprétation des résultats reste parfois difficile en cas de déficit en FV ou en présence d'un anticoagulant circulant [92].

C'est la technique la plus couramment utilisée [93]. Elle est recommandée par le BCSH (British Committee for Standards in Haematology) [94] comme test phénotypique du FVL. Pour Tripodi, les deux tests devraient être réalisés (test historique et modifié) et en cas de résultat positif, la recherche moléculaire de la mutation du FV Leiden devrait être réalisée [91].

D'autres tests de « deuxième génération » de principe ont été développés, et cherchent à améliorer la spécificité de la méthode vis-à-vis de la recherche du FV Leiden (tableau V) [32].

Les moyens mis en œuvre pour assurer cette spécificité sont soit la pré-dilution dans du plasma déficient en FV, soit le déclenchement de la coagulation par des venins activateurs du FV, du FX ou du FII. L'optimisation des concentrations de venin influence également la spécificité. Ainsi la pré-dilution du plasma à tester dans un pool de plasmas normaux est également préconisée dans certaines méthodes qui restent sensibles à la présence de 25 % de taux de FVL [32].

La mesure de deux temps (avec ou sans PCa) ou d'un seul temps, la réalisation du temps de coagulation en l'absence de PCa permet d'identifier d'éventuelles autres causes d'allongement du temps de coagulation. Les ratios sont le plus souvent valables malgré les allongements des temps de base, mais le contrôle du diagnostic par une autre méthode est recommandé en cas d'allongement important des temps. Certaines méthodes recommandent l'expression des résultats en ratio qui est le rapport entre le résultat du patient et le résultat du pool normal ou du plasma lyophilisé (ratios normalisés) [32].

Le recrutement de la PC endogène activée par le venin d'*Agkistrodon contortrix* pour dégrader le FV peut entraîner une sensibilité du test aux déficits en PC [32].

D'autres techniques ont été proposées et interviennent sur la voie de la coagulation :

- des techniques utilisant le venin de crotale qui active directement le FX et déclenche la coagulation en milieu calcique. Après dilution en plasma déficient en FV, on mesure le temps de coagulation en présence de PCa purifiée. Les résultats sont interprétés en

fonction d'un seuil, 120 secondes, au-dessus duquel ils sont considérés comme normaux. La seule limite de ce test est le taux de FV du patient, qui doit impérativement être supérieur à 50 % [34,37].

- des techniques qui reposent sur l'inhibition du FVIII, sur l'addition de FXa ou explorant

la cascade anticoagulante de la protéine C. D'après Ronde et Bertina [95], il est préférable que les résultats soient exprimés en Ratios normalisés.

Cependant, dans une étude de Tripodi et al. [96], à laquelle ont participé sept laboratoires experts, la normalisation (pool normal ou plasma lyophilisé) n'améliore pas la reproductibilité. On peut donc exprimer le résultat d'une méthode en deux temps ( $\pm$  PCa) soit à l'aide du rapport des deux temps, soit à l'aide du rapport normalisé.

Chaque laboratoire doit déterminer localement et pour chaque lot de réactif la zone de normalité et les zones de résistance qui permettent de suspecter la présence d'un FVL à l'état hétérozygote ou homozygote. Il peut exister une zone de doute dont les limites doivent être précisées. Un résultat dans cette zone implique systématiquement la recherche de la mutation par biologie moléculaire [84].

Il importe donc d'être très vigilant quant à l'interprétation des résultats (mode d'expression des résultats et seuils différents selon le test utilisé).

**Tableau III :** Principaux tests de recherche d'une résistance à la protéine C activée [32].

	<b>Fournisseur</b>	<b>Sensible à ...</b>	<b>Principe</b>	<b>Spécificité</b>
Coatest APC Resistance  Test historique	Chromogenix, Instrumentation laboratory  Haemochrom Diagnostica	Facteur V-L + VIII, V, PS + AVK et HNF + toutes causes de TCA allongé	TCA silice colloïdale ± PCA colyophilisée avec la céphaline. 2 temps.	-
APC resistance V	Instrumentation laboratory	Facteur V-L 100 % Facteur V R306T	Prédilution en plasma déficient V puis TCA silice colloïdale ± PCA colyophilisée avec la céphaline. 2 temps.	+
Hemoclot Factor V-L	HYPHEN BioMed	Facteur V-L + V Insensible à AC lupique, AVK, HNF	Prédilution en [Fg+II+VIIIc+PS] puis X ± PCA, puis IXa+PL+Ca <sup>++</sup> . 2 temps.	+
Hemoclot Quanti-V-L	HYPHEN BioMed	Facteur V-L	Prédilution en [Fg+II+VIIIc+PS+PCA] puis Xa+PL puis Ca <sup>++</sup> . 1 temps et gamme d'étalonnage.	+
Staclot APCR	Diagnostica Stago	Facteur V-L + V (faux négatifs si diminué) Insensible à AC lupique, AVK, HNF, déficit en PS	Prédilution en plasma déficient V avec activation du X par le venin (4) puis déclenchement par Ca <sup>++</sup> +PCA. 1 temps.	+
ProC global	Dade-Behring	Facteur V-L100 % + PC (90 %), PS (60- 90 %) + AVK, Fg, V et VIII (peu spécifique des anomalies de la voie de la protéine C	± Activation de la PC endogène par venin de serpent (1), En présence de céphaline puis activation de coagulation par Ca <sup>++</sup> . 2 temps	-

	<b>Fournisseur</b>	<b>Sensible à ...</b>	<b>Principe</b>	<b>Spécificité</b>
ProC Ac R	Dade-Behring	Facteur V-L + Facteur V R306T et R306C + PC Insensible à AC lupique, AVK, HNF	± Activation de la PC endogène par venin de serpent (1), puis activation du X par RVV-X(2)+PL+Ca++. 2 temps.	+
Gradithromb PCP Test	Life diagnostics	Facteur V-L (100 %) + PC (95 %), PS (65 %), mutation du II, OP, grossesse... Insensible à HNF	± Activation de la PC endogène par venin de serpent (1), puis activation du X par RVV(2)+PL+Ca++. 2 temps.	-
Gradileiden V  Cryocheck Clot APCR	Life diagnostics  PrecisionBiologic	Facteur V-L + PC, AVK Peu sensible à AC lupique, Insensible à VIII, facteurs contact, PC, PS, HNF	± Activation de la PC endogène par venin de serpent (1), puis activation du X par RVV-X+PL+Ca++(2) à concentration optimisée. 2 temps.	±
APC Resistance kit	Technoclone	Facteur V-L Insensible à AC lupique, VIII, AVK, HNF	Prédilution en « plasma de dilution » puis activation du V par RVV-V(2)± PCA, puis activation du II venin (3) dépendant du V résiduel. 2 temps.	+
Pefakit APC-R Factor V Leiden	Pentapharm Ltd	Facteur V-L (100 % ssb, 100 % sp) Insensible à AC lupique (ni Ca++, ni PL), au VIII (en amont), AVK, HNF, déficit en PS et PC	Prédilution en plasma déficient V puis activation du V par RVV-V ± PCA puis activation du II par venin (3) dépendant du V résiduel. 2 temps.	+

(1) Protac, activateur de la PC (*Agkistrodon contortrix contortrix*)

(2) RVV, venin de vipère Russell, activateur du FX (=RVV-X) ou du FV (=RVV-V)

(3) Noscarine, activateur du FII en présence de FV (*Notechis scutatus scutatus*)

(4) activateur du FX (*Crotalus Viridis helleri*)



**Figure 14:** photo du coffret StacLOT APC-R utilisé au niveau du service d'Hématologie de l'Hôpital Militaire de Rabat.  
 (1) FV déficient plasma, (2) Venin, (3) PCa, (4) Control N, (5) Control P.

## **2. La recherche du FV Leiden par biologie moléculaire :**

### **TEST DE CONFIRMATION :**

La recherche du polymorphisme Arg506Gln de l'exon 10 du gène du FV est simple. Toutes les méthodes de recherche des mutations ponctuelles peuvent être employées [84]. L'éventail des techniques est très large et d'évolution constante [84,97].

Il existe des techniques classiques qui comportent deux étapes : une étape d'amplification de l'ADN par PCR (polymerase chain reaction) et une étape de détection de la mutation sur le produit amplifié.

Deux grandes familles dominent actuellement le marché :

- les méthodes nécessitant une étape de séparation sur gel électrophorèse (les premières à avoir été utilisées en 1994 lors de la découverte de la mutation FVL)
- et les techniques en temps réel.

De nombreuses autres techniques nécessitent souvent des appareillages spécifiques.

### **a. Techniques sur gel :**

#### **◆ Polymorphisme de longueur de fragments de restriction (Restriction Fragment Length Polymorphism ou RFLP) :**

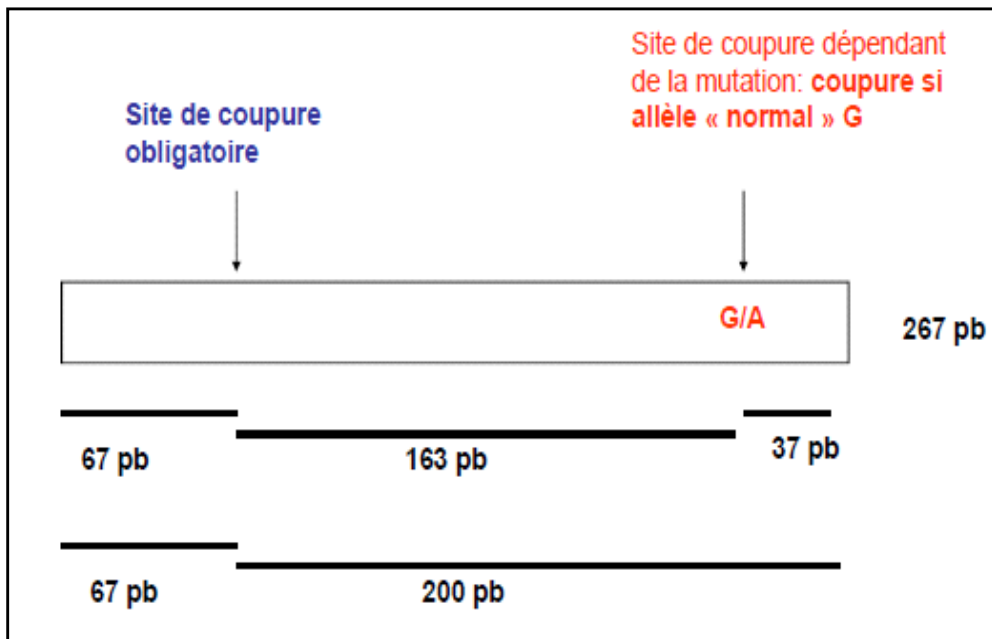
La digestion par une enzyme de restriction du matériel amplifié aboutit à l'obtention de différents fragments de tailles variables en fonction de la séquence de l'amplifié (figure 15). L'analyse de la longueur de ces fragments permet de rechercher des substitutions, des insertions ou des délétions qui modifient le nombre de sites de restriction et donc la longueur des fragments de restriction [32].

La RFLP a constitué la première technique moléculaire de détection de la mutation V Leiden. En effet, celle-ci est à l'origine de la perte d'un site de restriction (MnI1) d'où la possibilité de distinguer selon cette approche les homozygotes et les hétérozygotes (figure 16).

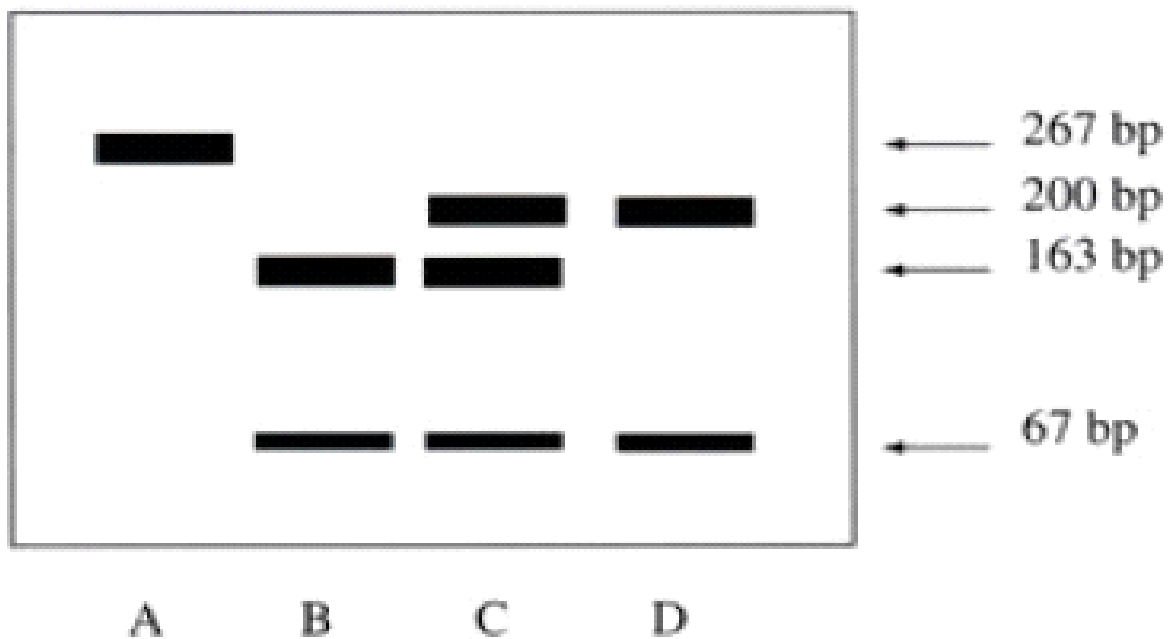
Une technique dérivée consiste à introduire un site de restriction artificiel par l'utilisation d'une amorce spécifique de la mutation.

De très nombreuses enzymes qui sont d'origine bactérienne ont été décrites pour la recherche de la mutation Arg506Gln. Il est préférable de choisir des enzymes permettant de visualiser un site de restriction contrôle, toujours présent et localisé à un autre emplacement que la mutation recherchée [32,98].

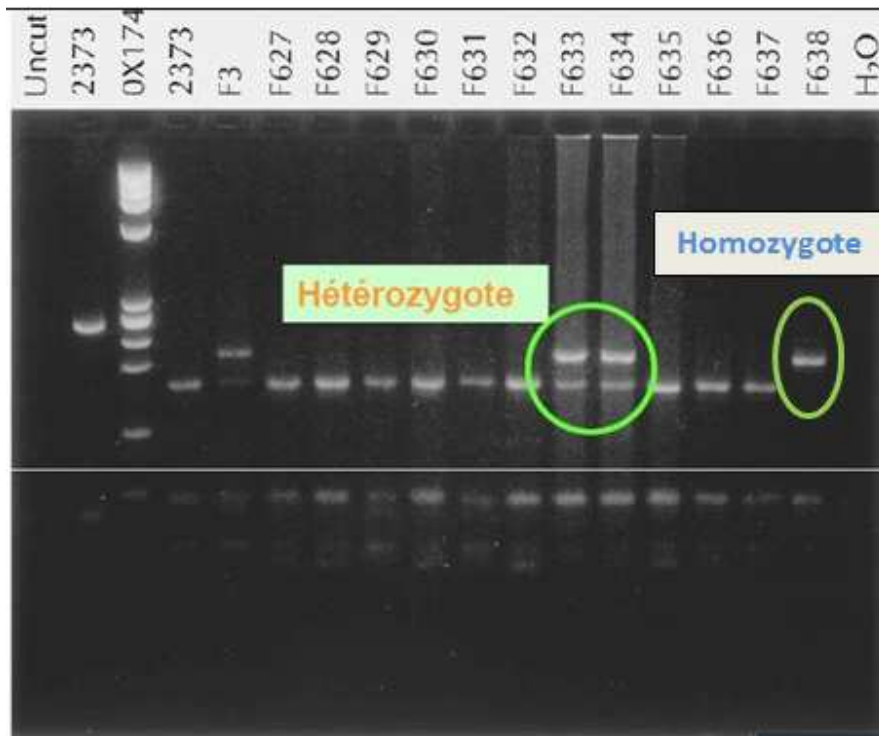
L'ADN est extrait, amplifié par PCR, digéré par l'endonucléase MnI1 puis les produits sont analysés sur gel d'électrophorèse.



**Figure 15 :** Principe de détection du FV Leiden par RFLP (Mnl1).



**Figure 16 :** Schéma de la mise en évidence de la mutation Arg506Gln du FVL [37]. Le produit normal d'amplification est de 267 paires de bases (bp) (A) et se divise en deux fragments de 163 et 67 bp après digestion par l'endonucléase (B). L'allèle muté apparaît sous la forme d'une bande de 200 bp à l'état hétérozygote avec persistance des bandes à 67 et 163 bp (C) ou homozygote, avec disparition de la bande à 163 bp (D).



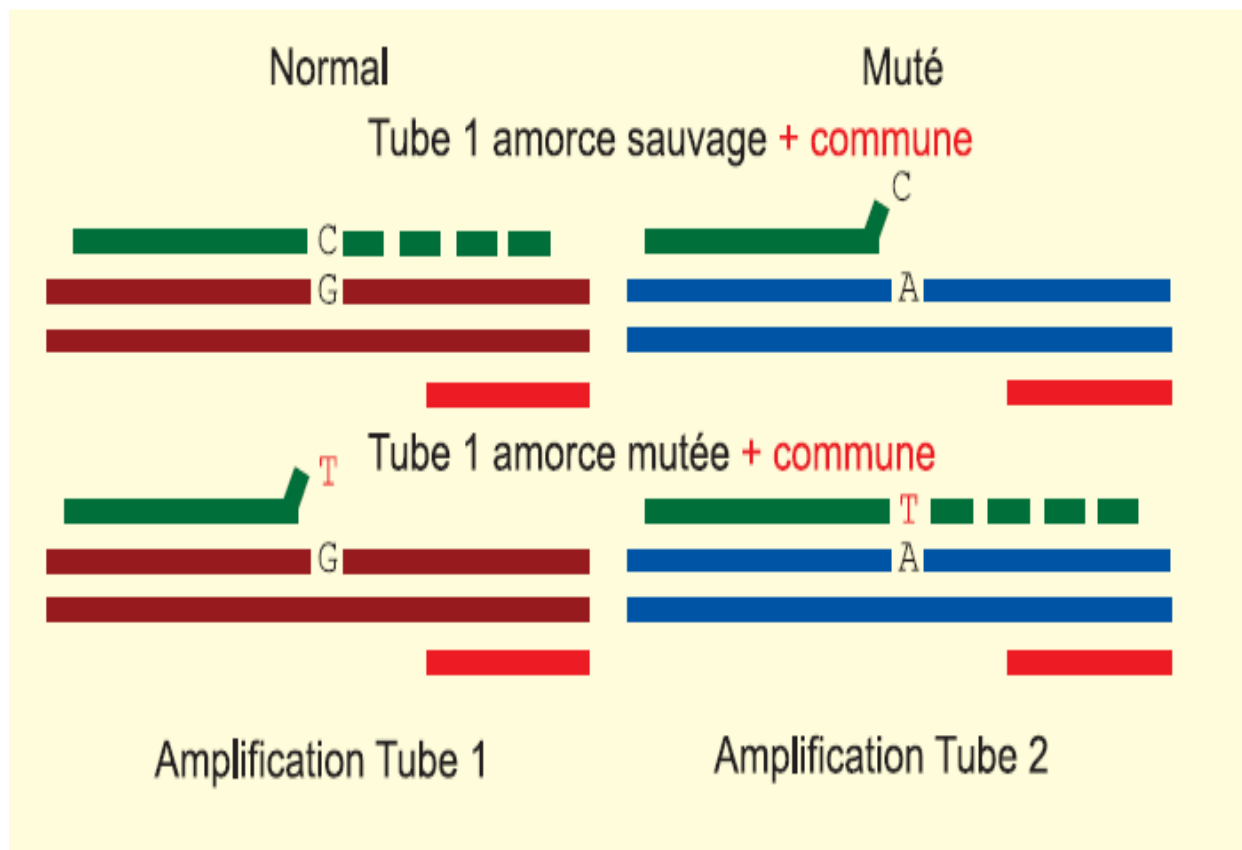
**Figure 17:** Electrophorèse sur gel d'agarose pour la détection du facteur V Leiden par RFLP [98].

♦ **PCR spécifique d'allèle (Allele-specific PCR ou amplification refractory mutation system ou ARMS) :**

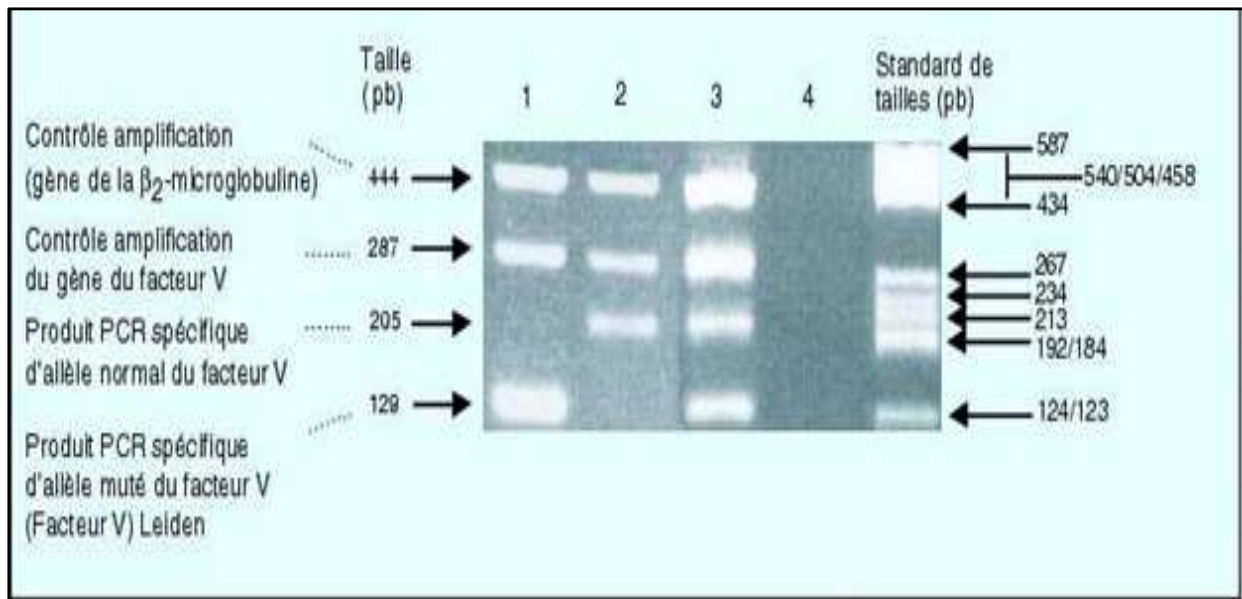
Cette méthode est fondée sur le fait que la présence d'un mésappariement à l'extrémité 3' d'une amorce ne permet pas l'amplification (figure 18). Deux amplifications sont réalisées dans deux tubes contenant tous les deux une amorce commune mais différenciés par la présence d'une amorce spécifique de l'allèle sauvage dans le premier et d'une amorce spécifique de l'allèle muté dans le second. La séquence de l'amorce spécifique de l'allèle muté est conçue de façon à ce que le nucléotide muté corresponde à son extrémité 3'. Les homozygotes sauvages et mutés ne donneront d'amplification que dans un des deux tubes, les hétérozygotes conduiront à une amplification dans les deux tubes. Dans ce cas, le produit final est un amplicon double brin. Plusieurs variantes de cette technique ont été décrites impliquant

notamment l'utilisation d'amorces spécifiques marquées par un fluorophore et l'utilisation de l'électrophorèse capillaire comme technique séparative [32,99].

D'après l'AHRQ (Agency for Healthcare Research and Quality) [106], les méthodes PCR-RFLP et PCR spécifique d'allèle sont utilisées et considérées par la FDA (Food and Drug Administration) comme méthodes de référence acceptables.



**Figure 18 :** Principe de la technique amplification spécifique d'allèle [32].



**Figure 19:** Gel d'agarose de trois produits de PCR [99].

1. Sujet homozygote pour l'allèle muté 1691A ; 2. Sujet homozygote pour l'allèle normal 1691G ; 3. Sujet hétérozygote 1691A et 1691G ; 4. Témoin négatif. Dans les cas des produits de PCR 1, 2 et 3, les bandes contrôles du gène de la  $\beta$ -microglobuline (444 pb) et du gène du facteur V (287 pb) sont clairement visibles.

### **b. Techniques en temps réel fondées sur le transfert d'énergie entre molécules fluorescentes (Fluorescence resonance energy transfer, FRET) :**

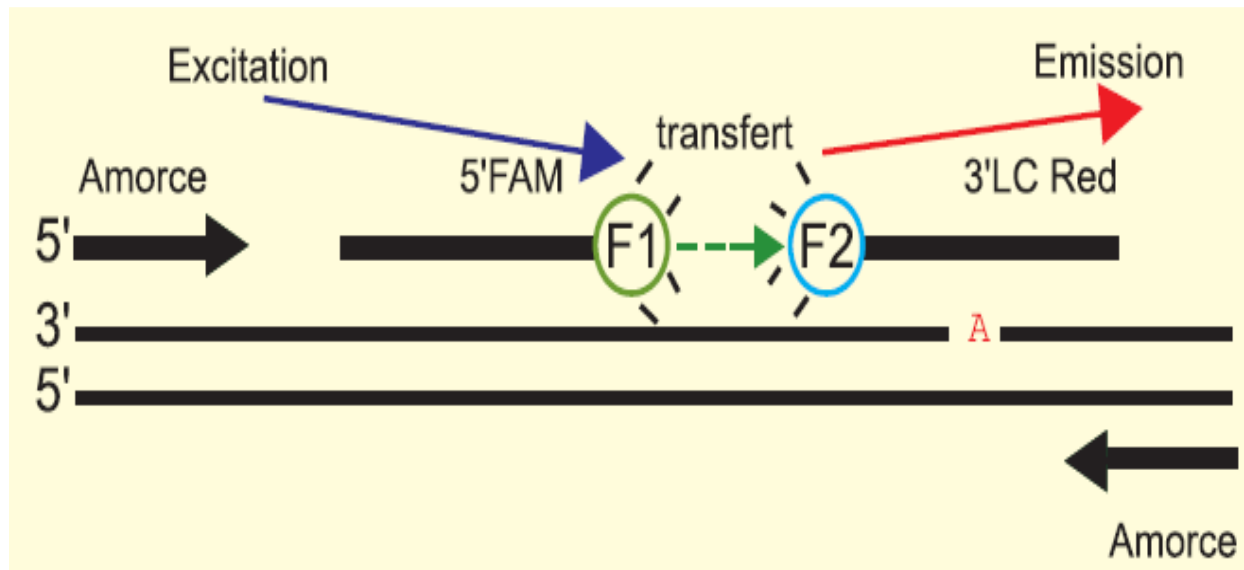
Deux techniques associent amplification et fluorimétrie en exploitant le phénomène de FRET : soit grâce à des sondes allèles spécifiques de type Light-Cycler, soit grâce à des sondes d'hydrolyse de type Taqman. Dans les deux cas, un couple d'amorces amplifie la zone du polymorphisme recherché [32].

#### **◆ La méthode Light-cycler :**

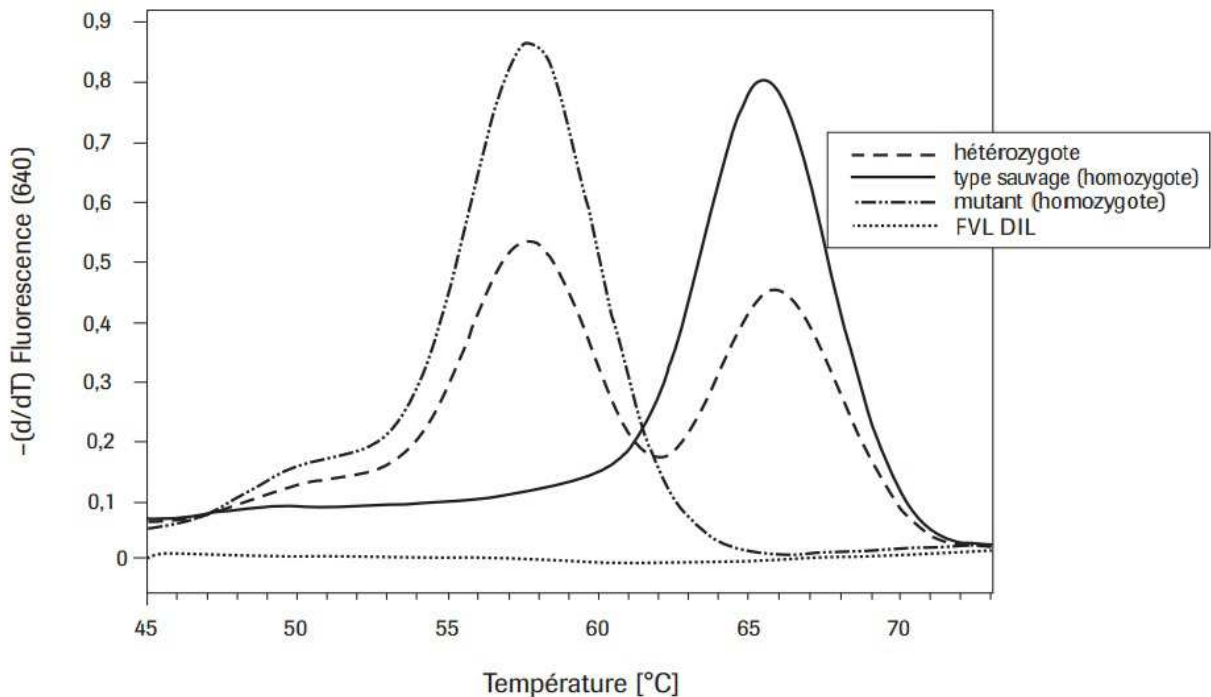
La méthode Light-cycler met en œuvre, deux sondes courtes marquées par deux fluorophores différents, l'une d'entre d'elle peut s'hybrider sur la zone du polymorphisme et

l'autre à proximité (Figure 20). Le rapprochement physique de ces sondes sur les amplifiats permet le transfert d'énergie et l'augmentation du signal fluorescent est mesurée en temps réel.

La présence d'une mutation modifie les propriétés de fusion des complexes sonde/produit d'amplification et la réalisation d'une courbe de fusion permet donc d'identifier les différents génotypes [32,100].



**Figure 20** : Principe des sondes Light-cycler [32].



**Figure 21:** Resultat de la technique Light-cycler [100].

Cette analyse séquentielle montre que les oligonucléotides de synthèse sélectionnés utilisés comme amorces amplifient spécifiquement un fragment de 222 bp du gène du facteur V contenant la séquence Factor V Leiden.

#### ◆ La méthode TaqMan :

La méthode TaqMan repose sur une sonde unique portant deux fluorophores (en 5' Reporteur

FAM, TET, JOE, HEX ou VICTM, en 3' Quencher, habituellement TAMRA). La petite taille de la sonde (25 à 30 nucléotides, soit moins de 55 angströms), fait que l'énergie absorbée par le reporteur excité est transférée par FRET au Quencher (figure 22). Le spectre d'excitation du TAMRA ne chevauchant pas le spectre d'émission du reporteur, le Quencher absorbe l'énergie sans émettre aucune fluorescence. Le système TaqMan utilise l'activité 5'-3' exonucléase de l'ADN polymérase qui hydrolyse la sonde hybridée à sa cible spécifique lors de l'étape d'élongation des amorces [32,101].

Ainsi au cours des cycles d'amplification le fluorophore reporteur est libéré et l'émission de fluorescence augmente. L'utilisation de sondes TaqMan allèle-spécifique permet la détermination des génotypes.

On notera également l'existence d'une autre méthode fondée sur le transfert d'énergie entre molécules fluorescentes, la technologie InvaderR, commercialisée par la société Third Wave Technology. Elle peut s'employer avec ou sans PCR préalable du fait de l'amplification considérable du signal fluorescent (6 à 7 log) par rapport au nombre de séquences cibles [32,101].

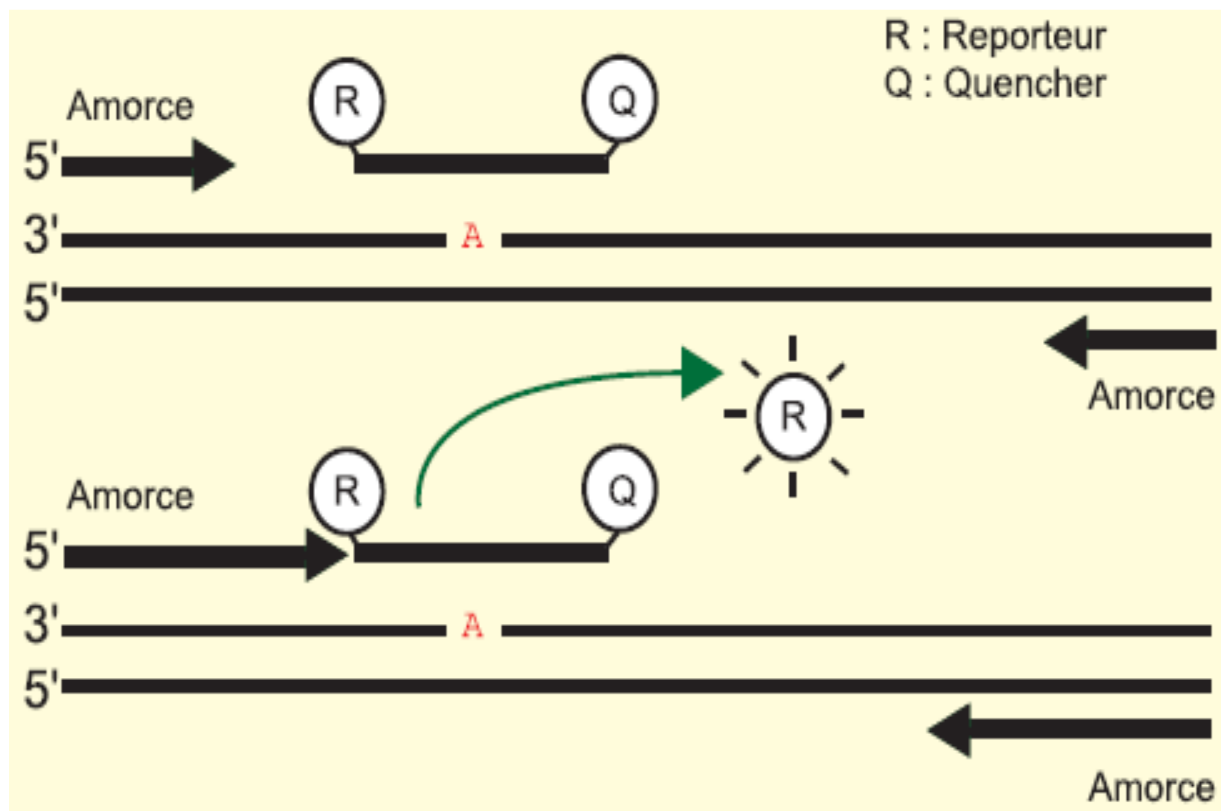
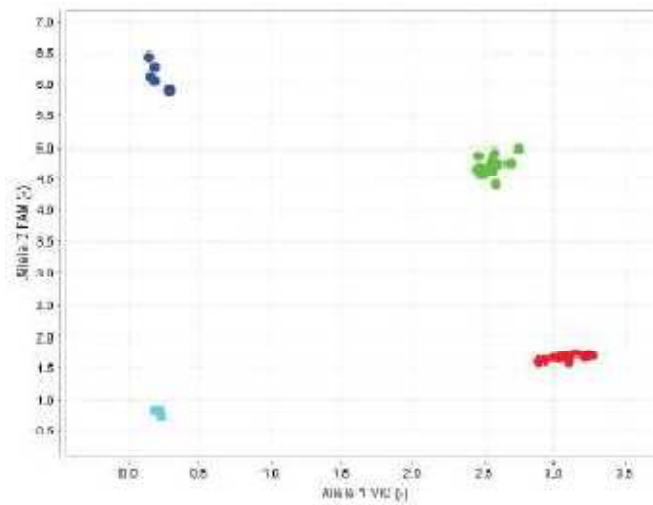


Figure 22: Principe des sondes TaqMan [32].



**Figure 23:** Résultats de la technique TaqMan [101].

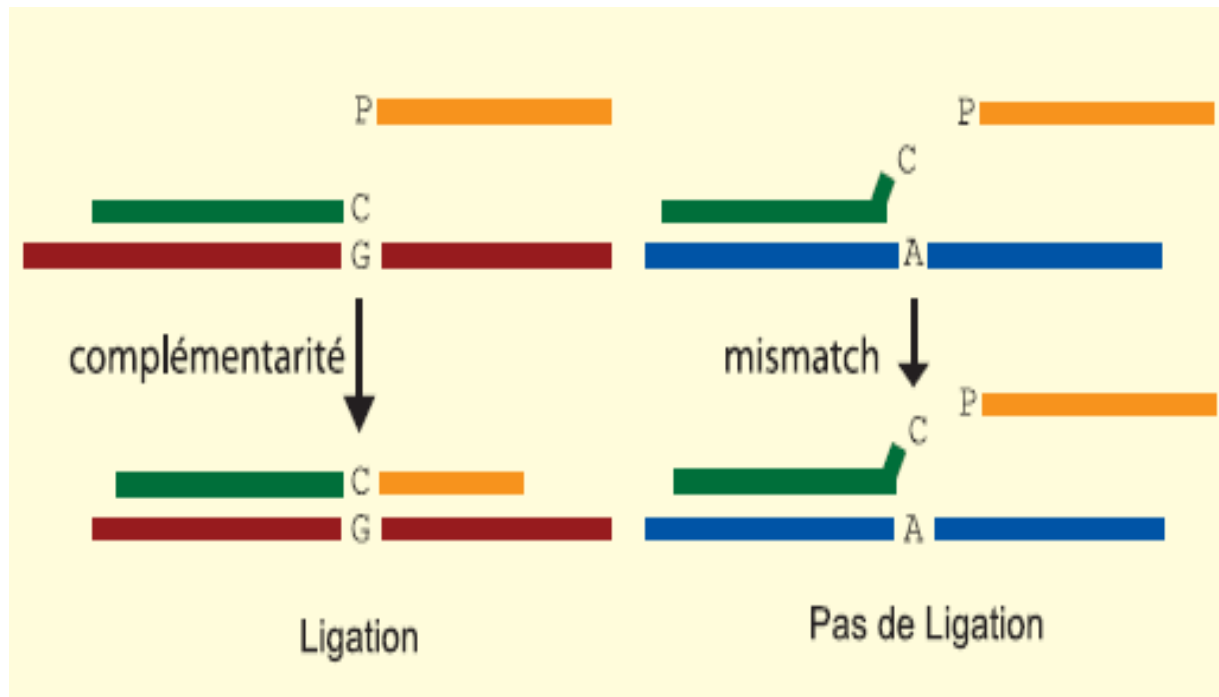
La plupart des programmes d'évaluation PCR en temps réel représentent automatiquement les données sous forme d'un nuage de points. Les points de données se situant le long des axiales X- à savoir Y correspondent au génotype normal, à savoir homozygote muté, tandis que les points de données situés au milieu du nuage de points correspondent au génotype hétérozygote.

### c. Autres Techniques :

#### ◆ **Ligature des oligonucléotides (Oligonucléotide ligation assays, OLA) :**

Son principe est fondé sur une propriété de la ligase : cette enzyme ne lie deux oligonucléotides adjacents que s'ils sont parfaitement appariés à leur séquence cible (figure 24). La technique utilise donc, d'une part, un oligonucléotide complémentaire de la séquence d'ADN jouxtant le site du polymorphisme et, d'autre part, une sonde conçue de façon à ce que son extrémité 5' ou 3' soit terminée par un nucléotide spécifique de l'allèle sauvage ou muté [32].

Le résultat de la réaction de ligation, le fait que ces deux oligonucléotides soient effectivement liés ou pas, permet de déterminer le génotype des fragments d'amplification étudiés.



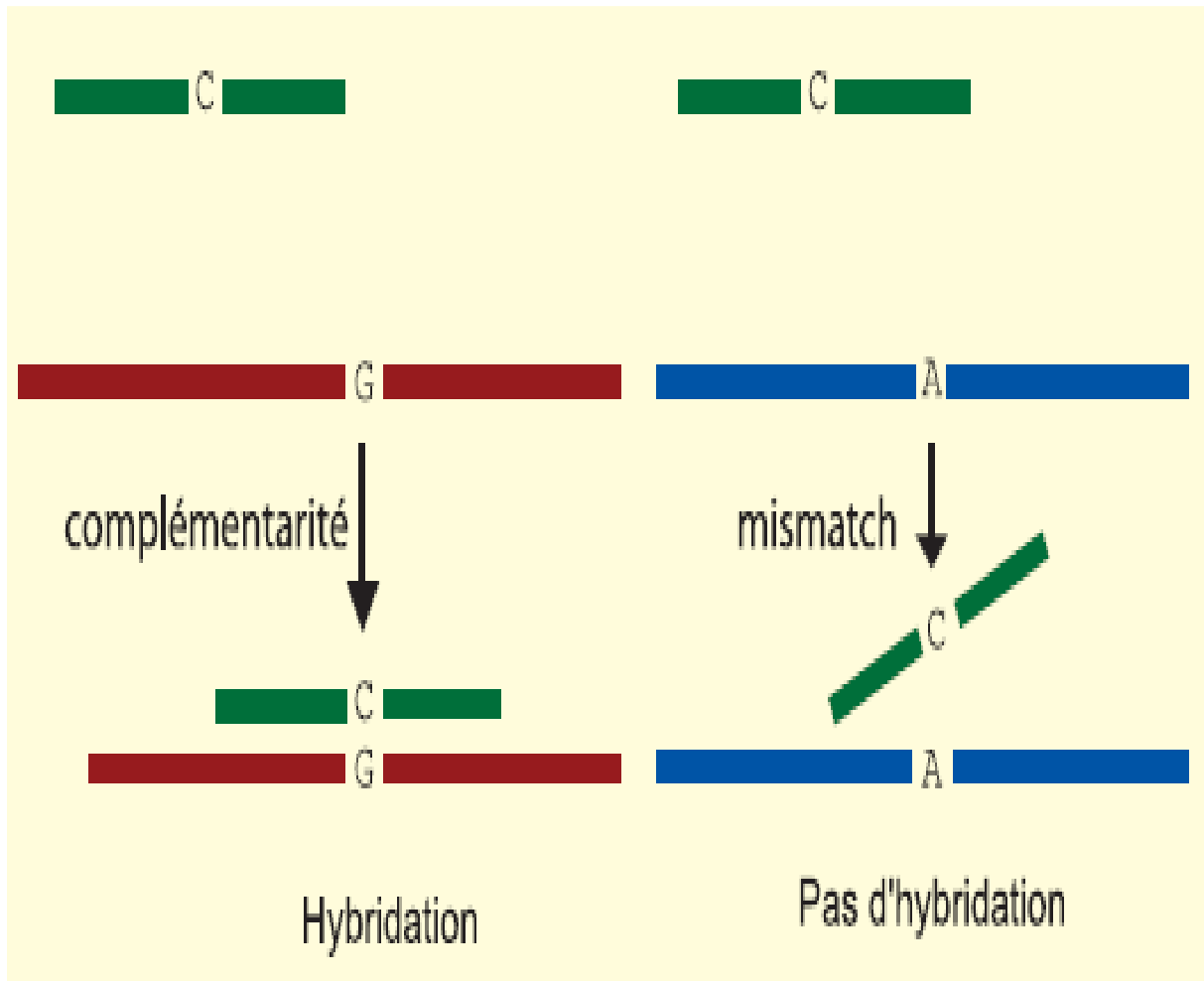
**Figure 24:** Principe de la technique ligature des oligonucléotides (OLA) [32].

◆ **Hybridation spécifique d'allèle (allele-specific hybridization, ASO) :**

Fondée sur la spécificité de la réaction d'hybridation, cette technique se prête à de multiples variantes selon les techniques de marquages et de détection employées (figure 25).

L'approche « reverse dot-blot » consiste à fixer sur une membrane les sondes oligonucléotidiques.

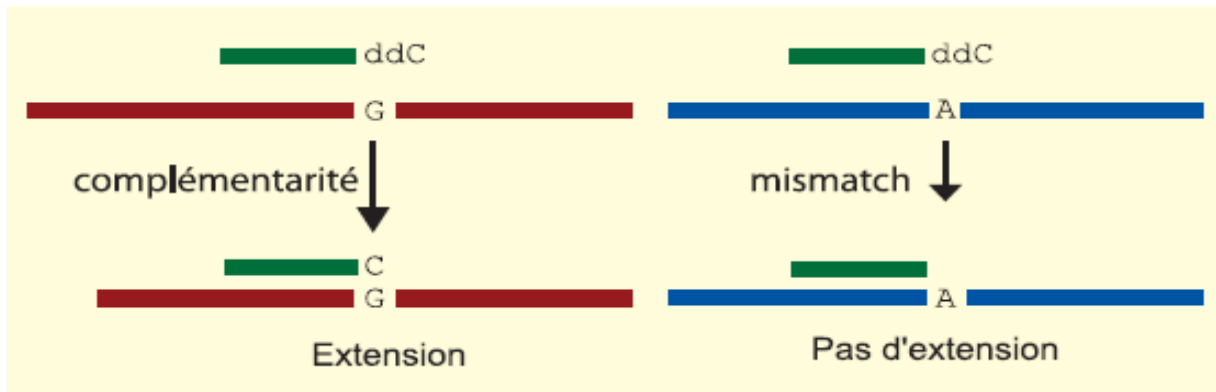
La réaction d'hybridation est réalisée dans des conditions de haute stringence assurant que l'ADN génomique préalablement amplifié et marqué ne s'hybride qu'avec la sonde dont la séquence lui est parfaitement complémentaire [32].



**Figure 25 :** Principe de la technique hybridation spécifique d'allèle [32].

◆ **Extension d'amorces spécifiques d'allèle (allele-specific primer extension) :**

Une amorce est conçue pour s'hybrider à une base en amont du site du polymorphisme (figure 26). Mise en présence de l'ADN cible amplifié, des didésoxynucléotides (ddNTPs, terminators) et d'une enzyme permettant l'incorporation des ddNTPs, l'amorce est étendue d'une seule base (on parle de miniséquencage) [32].

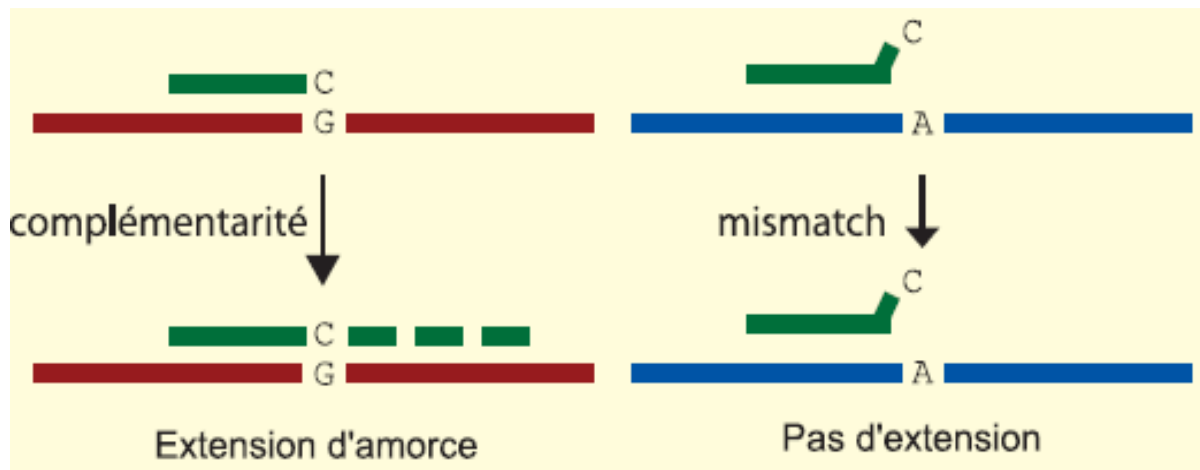


**Figure 26:** Principe de la technique extension d'amorces avec terminators [32].

Il existe de multiples déclinaisons de cette technique différenciées par leur support (réalisation en phase liquide, sur support solide,...) et le type de détection mis en œuvre (fluorescence, chimioluminescence, spectrométrie de masse,...).

Une autre variante consiste à utiliser des amorces spécifiques d'allèle qui seront étendues si leur appariement avec la séquence cible est parfait (figure 27). Ce phénomène est toutefois moins rapide que l'extension d'une sonde parfaitement appariée.

La technique dite AMASE (apyrase-mediated allele-specific extension) exploite cette différence de cinétique et résout ce problème d'extension de mésappariements [32].



**Figure 27:** Principe de la technique extension d'amorces spécifique d'allèle [32].

### ◆ **Technologie Xmap :**

On doit cette technologie à la société Luminex, des microsphères de polystyrène de 5,6 µm de diamètre sont marquées par des concentrations variables de 2 fluorophores (rouge et infrarouge) permettant de distinguer 100 sous-types de billes. Des oligo-nucléotides greffés à la surface des billes permettent la capture de séquences complémentaires dans l'échantillon à tester (chaque type de bille est couplé à un oligo-nucléotide unique). Une amorce est associée à chaque oligo-nucléotide spécifique d'un des polymorphismes à étudier. Une première phase d'amplification est suivie d'une deuxième avec l'extension d'une amorce allèle spécifique et en présence de dNTP-biotinyles [32].

L'identification des billes par cytométrie en flux est réalisée grâce à leur marquage fluorescent, et la streptavidine couplée à de la phycoérythrine permet de quantifier les séquences qui ont été reconnues et amplifiées.

Le génotype est défini par la comparaison du signal obtenu sur les billes portant les allèles sauvage et muté.

Les avantages de la méthode sont les très faibles quantités de réactifs et d'échantillons (de l'ordre du microlitre), le fait que 100 cibles puissent être analysées simultanément dans le même échantillon et l'automatisation potentielle de la lecture [32].

### ◆ **Microarrays et nanotechnologies :**

Plusieurs types de microarrays commercialisées ou résultant d'un développement « des techniques maison » (ce sont les techniques actuellement utilisées par les laboratoires dont les réactifs n'ont pas les garanties apportées par les ASRs (Analyte Specific reagents) qui sont des réactifs obéissant aux bonnes pratiques de préparation (GMP, good manufacturing practice)) également été mis en œuvre [32].

A titre d'exemple, on peut citer le système NanoChip™ proposé par la société Nanogen, pour lequel les tests de détection de la mutation Arg506Gln sont disponibles. Cette plateforme automatisée présente l'avantage de permettre la réalisation de nombreux tests en parallèle.

La société Nanosphere présente pour sa part une alternative originale [32].

A la différence des autres techniques moléculaires précédemment décrites, cette méthode ne requiert ni amplification du matériel génétique ni utilisation d'enzymes. Elle s'appuie sur deux hybridations séquentielles avec, d'une part deux sondes spécifiques de chaque allèle (ou

sondes de capture) et, d'autre part, une sonde signal spécifique d'une portion de séquence proche du polymorphisme.

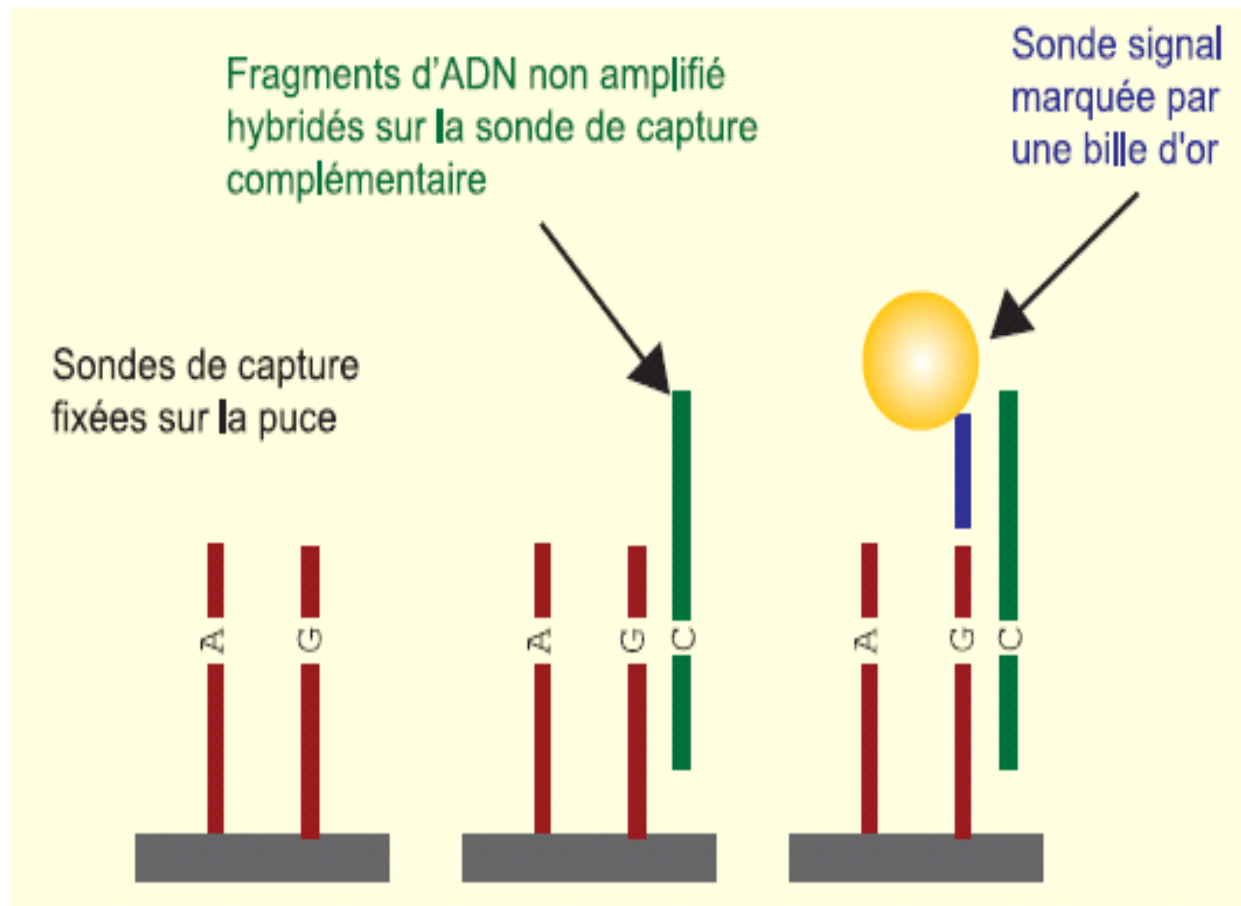
Les sondes de capture sont fixées sur une puce et la sonde signal est portée par des nanoparticules d'or d'une quinzaine de nanomètres de diamètre (figure 28) [32].

L'ADN génomique (0,5 à 5 µg) est fragmenté par des ultrasons (taille des fragments 500 paires de bases) et l'échantillon est mis en contact avec les sondes greffées par la puce puis, après une étape de lavage, avec la sonde signal portée par les nano-particules.

Après élimination des particules non hybridées, la réaction est révélée à l'argent et une lecture optique est réalisée. Grâce à l'extrême sensibilité de la détection des billes d'or et à la spécificité apportée par les sondes (capture et signal), qui prennent la cible en sandwich. Cette méthode au principe relativement simple s'affranchit des besoins d'amplification et de réduction de la complexité de l'ADN génomique [32].

Différentes applications ont été développées pour ce système et notamment un test multiplexe pour la détection des mutations V et II Leiden associées à la mutation 677C>T MTHFR. Les conditions d'hybridations sont homogènes et la stringence a été définie pour permettre une bonne discrimination simultanée des 3 polymorphismes [32].

La technique se caractérise par sa sensibilité permettant d'obtenir un signal suffisant pour une discrimination efficace.



**Figure 28:** Principe de la technologie nanosphère [32].

### **3. Performances des techniques de diagnostic :**

#### **◆ Les tests de recherche d'une résistance à la protéine C activée (RPCa) :**

La sensibilité et la spécificité du test de RPCa pour le dépistage d'une mutation FVL ont été analysées dans 5 études [102-103] (Tableau VI). Ces études étaient réalisées sur un ou plusieurs laboratoires, de façon prospective ou rétrospective, et portaient sur différentes techniques de recherche de RPCa.

La sensibilité et la spécificité des tests étaient évaluées soit à partir d'un seuil pré-défini, soit à partir d'un seuil fixé au vu des résultats.

Dans toutes les études, la sensibilité des tests évalués était de 100 %, sachant que seules 2 études sur 5 ont analysé les résultats en utilisant un seuil pré-défini et la spécificité variait de 68 % (avec le test historique de Dahlbäck et la définition d'un seuil de positivité permettant d'obtenir une sensibilité de 100 %) à 100 % selon les études. Si le test était réalisé avec une dilution préalable du plasma du patient dans un plasma déficient en FV (test de seconde génération), la spécificité du test variait de 98,8 % à 100 % sauf en cas de présence d'un anticoagulant lupique ou de pathologie hépatique.

**Tableau VII :** Sensibilité (Se) et spécificité (Sp) du test de résistance à la protéine C activée (RPCa) dans le cadre de la recherche d'une mutation du facteur V de Leiden [97].

Type d'étude	Test	Échantillon analysé	Seuil	Se et Sp
Étude monocentrique prospective	Variante du test de RPCa fondé sur la prothrombine avec dilution du plasma en facteur V : un réactif contenant de la protéine C activée et un activateur spécifique du facteur V est ajouté. Après une période d'incubation, la coagulation est initialisée par addition de Noscarine, un activateur de la prothrombine dépendant du facteur V	Analyse du plasma de 686 patients (pas de précision sur l'exhaustivité de l'échantillon) ayant un dépistage de thrombophilie (212 patients porteurs de la mutation FV Leiden dont 192 hétérozygotes) et de 17 patients ayant une mutation FV Leiden homozygote connue	Seuil prédéfini : 2,5  La définition d'un seuil de 1,2 au vu des données permettait de différencier les mutations hétérozygotes et homozygotes	Se = 100 % Sp = 100 %  Pas de modification des résultats en présence d'anticoagulant lupique ou selon la concentration en facteur VIII
Étude monocentrique rétrospective	Test : ProC Global modifié (c'est-à-dire réalisé sur du plasma dilué en facteur V) Ce test, dans sa version originale, évalue la cascade anticoagulante de la protéine C. Ce test est basé sur un allongement du TCA provoqué par l'activation de la protéine C par un extrait de venin	Sélection d'un échantillon de plasmas congelés issus de 353 patients ayant des antécédents de thrombose veineuse (critères de sélection non précisés), dont 69 porteurs de la mutation FV Leiden d'après l'analyse de l'ADN (64 hétérozygotes, 5 homozygotes) 87 patients étaient sous traitement anticoagulant (dont 12 porteurs de la mutation)	Seuil défini au vu des résultats : 0,8	Se = 100 % Sp = 100 %  En cas de pathologie hépatique : Sp = 95,5 %
Étude monocentrique prospective	Test de RPCa, technique fondée sur l'inhibition du facteur VIII (test immunochrome)	Analyse du plasma de 486 patients consécutifs présentant une thrombose veineuse profonde, une atteinte artérielle ou une pathologie autre que vasculaire : 149 patients avaient une RPCa positive dont 58 porteurs de la mutation FV Leiden d'après l'analyse de l'ADN	Seuil prédéfini par le laboratoire : 1,9	Se = 100 % Sp = 78,7 %

Type d'étude	Test	Échantillon analysé	Seuil	Se et Sp
Étude monocentrique rétrospective	Test de RPCa basé sur l'activation du facteur X par du venin de serpent <i>Crotalus viridis helleri</i> sur du plasma dilué en facteur V (test STA-Staclot RPCa)	<p>Sélection d'un échantillon de plasmas :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 38 témoins sains</li> <li>- 27 patients porteurs de la mutation FV Leiden (23 hétérozygote et 4 homozygotes)</li> <li>- 7 patients porteurs d'un déficit en protéine S</li> <li>- 1 patient porteur d'un déficit en protéine C et de la mutation FV Leiden</li> <li>- 6 patients porteurs d'un déficit en protéine S et de la mutation FV Leiden</li> </ul> <p>De plus, analyse d'un échantillon de plasmas issus de 36 patients porteurs d'un anticoagulant lupique dont un porteur d'une mutation hétérozygote du facteur V Leiden</p>	<p>Seuil du temps de coagulation défini au vu des résultats :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- porteur de la mutation FV Leiden : <math>\leq 106</math> s</li> <li>- déficit en protéine C ou S : <math>&gt; 136</math> s</li> </ul> <p>Pas de définition d'un seuil propre aux patients ayant un anticoagulant lupique</p>	<p>Se = 100 % Sp = 100 %</p> <p>Ce test permettait de distinguer le type de mutation selon le temps de coagulation :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- hétérozygotes : 76 – 106,3 s</li> <li>- homozygotes : <math>&lt; 66</math> s</li> </ul> <p>En présence d'un anticoagulant lupique Se = 100 % Sp = 68,6 %</p>
Étude monocentrique prospective	Test : recherche d'une RPCa avec (test modifié) et sans (test original) dilution du plasma en facteur V	<p>220 patients consécutifs externes avec suspicion de thrombose veineuse profonde des membres inférieurs en phase aiguë (adressés aux urgences pour une phlébographie de contraste) et 278 témoins volontaires pour l'étude (sans antécédents de thrombose)</p> <p>Le diagnostic de thrombose était posé par phlébographie de contraste (99 patients avec thrombose confirmée) Le test de référence pour diagnostiquer la mutation était l'analyse de l'ADN</p> <p>Parmi les patients avec thrombose confirmés : 22 mutations hétérozygote et 6 homozygotes Parmi les patients sans thrombose confirmée : 26 hétérozygotes et 1 homozygote Parmi les témoins : 27 hétérozygotes et 2 homozygotes</p>	<p>Test original : seuil à 3,2.</p> <p>Test modifié : seuil à 2,1</p> <p>Ces seuils ont été définis au vu des données afin d'obtenir une sensibilité de 100 %</p>	<p>Tests original : Se = 100 % Sp global = 68,0 % Sp témoins = 84,7 % Sp suspicion = 42,7 % (avec Sp patients sans thrombose = 53,8 % Sp patients avec thrombose = 28,2 %)</p> <p>Test modifié : Se = 100 % avec une distinction des hétérozygotes et des homozygotes Sp global = 98,8 %</p>

### ◆ **La recherche du facteur V Leiden par biologie moléculaire :**

D'après le contrôle de qualité des caractéristiques génétiques à des fins médicales organisé en 2005 sous l'égide de l'Afssaps (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé) [104], quarante-neuf laboratoires ont participé à la recherche du polymorphisme FVL. Quarante-huit ont rendu des résultats exacts. La moitié des laboratoires employait des techniques classiques en deux étapes, et l'autre moitié la PCR en temps réel. Un autre contrôle a été réalisé en 2010 avec participation de cent-deux laboratoires, dans l'ensemble, les résultats (génotypes et commentaires) de cette opération sont satisfaisants à 100% [105].

Lorsque des techniques « maison » sont utilisées, la responsabilité de la validité du résultat revient totalement au laboratoire, qui doit tout mettre en place pour assurer les performances de sa technique et garantir la qualité en s'entourant des contrôles qui permettent d'évaluer l'efficacité des différentes étapes analytiques (amplification, digestion, etc.). Les changements de lot de réactifs nécessitent une attention particulière.

Quelle que soit la technique employée, dans chaque série de tests seront incorporés un blanc réactif et trois contrôles (normal, muté hétérozygote et homozygote). D'ailleurs le NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control) a produit des lignées cellulaires immortalisées issues de patients porteur des trois génotypes. Ces lignées constituent une source stable d'ADN et le premier panel de référence pour le FVL [106].

Afin de rendre un résultat à 100 % fiable du fait de l'importance du diagnostic, il est préférable de réaliser soit deux déterminations indépendantes par la même technique soit deux déterminations par des techniques différentes pour examiner l'absence d'erreur de prélèvement et de manipulation. Cette attitude n'est cependant pas généralisée en pratique [32].

## **CHAPITRE V :**

# **Conduite à tenir en présence d'une mutation FV Leiden**



La mutation FVL ne s'exprime, le plus souvent, que dans des situations à risque de thrombose ou chez des patients porteurs d'autres facteurs génétiques de risque.

### **I. Chez un sujet qui a déjà thrombosé :**

L'existence d'un FVL hétérozygote chez les individus qui ont déjà présenté une thrombose, s'accompagne d'une majoration du risque de récurrence de thrombose veineuse, ce qui suggère de prolonger le traitement par antivitamine K au-delà des 3 à 6 mois habituellement préconisés. Cette décision doit cependant être discutée au cas par cas, en tenant compte des antécédents thrombotiques, des séquelles, des facteurs associés de récurrence et du mode de vie du patient [85].

Le FVL homozygote entraîne une forte augmentation du risque de récurrence et indique, en principe, la prescription d'un traitement par antivitamine K au long cours, sauf cas particulier.

Chez les femmes victimes d'une thrombose et qui envisage d'avoir un enfant, un traitement par héparine de bas poids moléculaire est instauré dès que la grossesse est confirmée, à raison d'une administration par jour. L'héparine doit être continuée pendant six semaines au maximum après l'accouchement [38].

### **II. Chez un sujet asymptomatique :**

Le plus souvent, une telle situation se rencontre au cours d'une étude familiale, donc par définition dans un contexte d'antécédents familiaux de thrombose. Dans ce contexte, la découverte de la mutation FVL dans sa forme hétérozygote rend souhaitables deux recommandations essentielles [85] :

- ✓ Prescrire, dans toutes les circonstances qui entraînent un risque thrombotique veineux, un traitement par héparine (en principe de bas poids moléculaire) selon un protocole de type «risque élevé». Parmi ces circonstances, citons un acte chirurgical ou une immobilisation. En cas de signe d'appel clinique, un bilan angiologique est nécessaire, de façon à apprécier l'utilité d'une contention veineuse. Si les antécédents

thrombotiques familiaux sont démontrés (ce qui, par définition, est souvent le cas chez les sujets explorés), il faut aussi recommander le port de bas de contention lors de voyages prolongés (avion long-courrier, voiture, autocar), associé éventuellement, s'il existe plusieurs facteurs de risque, à une héparinothérapie pendant 24 à 48 heures. L'attitude à adopter en cas de grossesse est à discuter au cas par cas. La parité, les facteurs de risque associés et les antécédents familiaux sont à prendre en compte. L'attitude peut varier de l'abstention simple associée aux recommandations hygiéno-diététiques habituelles, à l'héparinothérapie pendant la grossesse et/ou en post-partum, en passant par la prescription d'une contention veineuse.

- ✓ Chez les femmes, la contraception orale par oestro-progestatifs majore le risque relatif de thrombose, qui pourrait atteindre 50. Si une contraception hormonale est nécessaire, il vaut mieux recourir à un contraceptif progestatif pur, micro ou normodosé selon le contexte gynécologique.

Ces recommandations concernent les femmes qui ont des antécédents familiaux de thrombose, et le dépistage de la RPCa devrait leur être proposé dans le cadre d'un bilan d'hémostase avant prescription de contraception orale. On ne dispose pas d'étude à grande échelle dans la population générale pour apprécier le risque réel de thrombose veineuse induit par les estro-progestatifs chez les femmes qui présentent un FVL hétérozygote sans antécédents familiaux de thrombose, raison pour laquelle il n'est pas justifié de prescrire une recherche de RPCa avant toute prescription de contraception orale, s'il n'y a pas d'antécédent familial.

Chez les femmes homozygotes pour le FVL, la prescription d'héparinothérapie à dose « risque élevé » et le port de bas de contention dans les circonstances à risque sont nécessaires.

Chez les femmes présentant la mutation et n'ayant pas d'antécédents de thrombose, seules une surveillance au cours de la grossesse et l'administration d'héparine à titre préventif lors de l'accouchement sont nécessaires [59], surtout s'il existe des antécédents familiaux. La contraception hormonale contenant des œstrogènes est contre-indiquée [85].

### **III. L'hygiène de vie et mutation FVL :**

Malheureusement, il n'existe pas de recommandations diététiques qui puissent améliorer la coagulation en présence de la mutation FVL.

Afin de minimiser les risques de thrombose, les personnes en surpoids ou obèses doivent subir un régime pour lutter contre l'excès de poids.

La pratique régulière d'une activité physique et d'un sport est fortement recommandée, y compris chez les personnes ayant été victimes d'une thrombose. Si la thrombose est récente, il est évident qu'un délai de trois mois est à respecter avant d'entreprendre cette activité.

Il est impératif de suivre le schéma thérapeutique prescrit en cas de thrombose et ce de façon à prévenir toute récurrence. Le port de bas de contention veineuse est recommandé car il peut réduire au minimum le risque de survenue d'une complication désagréable courante : le syndrome post-thrombotique (œdème, troubles cutanés, ulcères). Idéalement, les bas devraient être portés régulièrement pendant une période allant jusqu'à 2 ans après la thrombose. Il est également utile de sur-élever ses jambes le soir. Il faut éviter la chaleur et s'abstenir notamment de les exposer au soleil pendant des périodes prolongées.

# Conclusion



Le facteur V Leiden est une mutation unique sur le gène codant pour le facteur V de la coagulation qui conduit au remplacement en position 506 d'une arginine par une glutamine (Arg 506 Gln ou R506Q). Les fonctions procoagulantes du facteur V sont conservées tant dit ce que la mutation modifie l'un des sites de clivage du facteur Va par la protéine C activée (PCa), ce qui induit une résistance à son inactivation et une hypercoagulabilité. La transmission de cette anomalie génétique est autosomique dominante.

Le FV Leiden représente actuellement, par sa fréquence, la première cause de thrombophilie constitutionnelle. Le risque relatif de thrombose veineuse est multiplié par 5 à 10 chez les hétérozygotes et par 50 à 100 chez les homozygotes. La distribution et la prévalence de cette anomalie varie largement selon les zones géographiques et les populations. Le taux le plus haut est dans la population générale caucasienne 2 à 8 % de cette population serait hétérozygote pour cette mutation avec des variations considérables selon les pays (10 à 12 % d'hétérozygotes en Suède, 12 à 13 % en Grèce) la prévalence des homozygotes est de 1/5000. La mutation est très rare dans les populations noires, asiatiques et les aborigènes australiens. Sur la seule étude publiée au Maroc il n'a pas été noté de cas de FVL.

La recherche de cette anomalie génétique fait partie du bilan de thrombophilie et vise à mieux cerner le risque de thrombose, en vue de proposer une thérapeutique préventive des récurrences et à dépister les sujets à risque.

Le diagnostic phénotypique de la mutation du FVL est représenté par un test de coagulation qui est RPCa. Le test est basé sur le TCA, réalisé en présence ou en l'absence de PCa, et le résultat est exprimé en rapport TCA en présence et en absence de PCA. Ce test a une sensibilité et une spécificité comparable à celle de la biologie moléculaire. Il est réalisable chez les patients sous antivitamines K et sous héparine avec certaines troupes de réactifs. Il peut être faussement perturbé en cas d'anticoagulant lupique et son interprétation est difficile en cas d'allongement du TCA et d'un déficit en facteur V inférieur à 50%. De plus, ce test ne permet pas de différencier de façon fiable les sujets hétérozygotes des sujets homozygotes.

La recherche directe de la mutation est possible par l'analyse de l'ADN par polymérase chain reaction (PCR), digestion enzymatique qui permet un diagnostic de certitude du facteur V Leiden et permet de distinguer les sujets hétérozygotes des homozygotes. Il est obligatoire d'informer le patient de la réalisation de ce test sur l'ADN génomique, et de se conformer dans ces circonstances à la législation en vigueur. Cette recherche par biologie moléculaire est le plus souvent réalisée après un test phénotypique positif.

# Résumés



# Résumé

**Titre : Le Facteur V Leiden ou phénotype de Résistance à la Protéine C activée (RPCa)**

**Mots clés :** Facteur V- Résistance à la protéine C activée -Facteur V Leiden - Thrombophilie - Thromboses veineuses.

**Auteur :** Sana FARHANE

Le facteur V (FV) est une protéine de l'hémostase, son rôle est crucial dans la voie pro-coagulante et anti-coagulante notamment celle de la protéine C. La résistance à la protéine C activée (RPCA) est une anomalie de la coagulation liée le plus souvent à la mutation facteur V Leiden, substitution nucléotidique G1691A se traduisant par une mutation arginine (506) en glutamine en position 506 du facteur V. C'est un facteur constitutionnel de thrombophilie. Chez les patients ayant des antécédents de thromboses veineuses, sa fréquence est de 20 à 30 % alors qu'elle est de 4 à 10 % chez les sujets asymptomatiques.

La recherche du FV Leiden fait partie du bilan de thrombophilie du sujet âgé de moins de 50 ans. L'implication du FV Leiden au cours des thromboses artérielles est faible, voire absente. Une association avec les fausses couches à répétition et certaines pathologies vasculoplacentaires est également rapportée.

Sa détermination au laboratoire comporte un test phénotypique représentée par la recherche de RPCA par méthodes de coagulation est souvent utilisée en première intention avec une très bonne spécificité. Toutefois, l'étude moléculaire est incontournable pour établir la nature hétérozygote ou homozygote du FV Leiden.

# Abstract

**Autor: Factor V Leiden or phenotype of activated protein C resistance (APCR)**

**Key words:** Factor V Resistance to activated protein C - Factor V Leiden - thrombophilia - Venous thrombosis.

**Author:** Sana FARHANE

Factor V (FV) is a protein in hemostasis, its role is crucial in the way pro-coagulant and anticoagulant including that of protein C. Activated protein C resistance (APCR) is a coagulation abnormality often linked to FV Leiden mutation, a single nucleotide G1691A substitution resulting in arginine 506 to glutamine missense factor V mutation. FVL is a factor of thrombophilia. FV Leiden has a frequency of 20 to 30% in groups of patients with venous thrombosis while it is of 4 to 10% in asymptomatic subjects.

APCR and FV Leiden are included in laboratory investigations of thrombophilic markers in patients less than 50 years with venous thrombosis. In arterial thrombosis, FV Leiden implication is weak or absent. FV Leiden increases the risk of thrombosis in other situations as in patients with cancer. An association with recurrent miscarriages and other vasculoplacental complications is also reported.

Detection of APCR by coagulation methods is often used in first intention with a high specificity if plasmas tested are diluted in factor V deficient plasma. Genotyping study is essential to establish the heterozygote or homozygote of factor V.

# ملخص

العنوان: العامل الخامس لايدن أو النمط الظاهري المقاومة لتنشيط البروتين C (مقاومة APC)

الكاتب: سناء فرحان

الكلمات الأساسية: العامل الخامس، العامل الخامس لايدن، التخثر الوريدي.

العامل الخامس (V) هو بروتين محوري في الارتفاع، له دور حاسم في طريقة البروتين C على تحفيز تخثر الدم ومضادته التخثر. مقاومة بروتين C المنشط (RPCA) هو اضطراب النزيف غالبا ما يرتبط بتحول العامل الخامس لايدن، يتم ذلك باستبدال النوكليوتيدات (G1691A) مما أدى إلى طفرة أرجينين (506) في الجلوتامين في الموضع 506 للعامل الخامس. تردد هذه الطفرة لدى المرضى الذين لديهم تاريخ مرضي في التخثر الوريدي، يتراوح بين 20 و 30٪ في حين أنه يتراوح من 4 إلى 10٪ لدى الناس السالمين.

البحث عن العامل الخامس لايدن هو جزء من اختبارات تقييم التخثر للأشخاص الذين تقل أعمارهم عن 50 عاما. إيشترك FV لايدن في تجلط الدم الشرياني بنسبة منخفضة أو غائبة. وذكر أيضا وجود علاقة مع الإجهاض المتكرر و بعض الأمراض الأخرى.

غالبا ما تستخدم أساليب بحوث التخثر (RPCA) كاختبارات أولية دقيقة ، ومع ذلك فإن الدراسة الجزيئية أمر ضروري لتحديد طبيعة تخالف أو تماثل الطفرة FV لايدن .

**Références**

**Bibliographiques**



1. Jean-Paul, L., Jean B., Bruno, V. *Hématologie*. 2 volumes, Flammarion, Paris, **1976**.
2. Kenneth, G., Mann and Michael, K. *Factor V: a combination of Dr Jekyll and Mr. Hyde*. BLOOD, **2003**. Vol. 101.
3. Mann and Michael, K. *blood coagulation factor with four types of internal repeats*. Biochemistry. **1987**. 26:6508-6514.
4. María, A., Corral, R., Paul, E. B., Erick, H.C., Ricardo, G.G., and Pablo, F.P. *Structural basis of thrombin-mediated factor V activation: the Glu666-Glu672 sequence is critical for processing at the heavy chain-B domain junction*. Blood. **2011**. 117(26): 7164–7173.
5. Steven W. P., Jill A., Morris, J.S., and Randal, J. K. *Differential Interaction of Coagulation Factor VIII and Factor V with Protein Chaperones Calnexin and Calreticulin*. THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, **1998**. Vol. 273, No. 14.
6. Eva, A., Istvan, B., Terez, S., Aniko, M., Gizella, H., and Laszlo, M. *Severe coagulation factor V deficiency caused by 2 novel frameshift mutations*. Blood, **2002**. Vol 99, N° 2.
7. Segers, K. Björn, D., Gerry A., Nicolaes, F. *Coagulation factor V and thrombophilia: Background and mechanisms*. Thromb Haemost, **2007**. Vol. 98.
8. Betty, W.S., Paul, C.S., Chong-Hwan, C., Jae-Wook, H., Jung-Sik, L, Jeanman, K., Young-Ho, K., and Barry L. Stoddard *The tertiary structure and domain organization of coagulation factor VIII*. BLOOD, **2008**. Vol. 111, No. 3.
9. Bruno, O., Villoutrix, Gerry, A., Nicolaes, F., Martine, A. *Intro à la bio-informatique structurale: application a deux cofacteurs de la coagulation, le facteur V et le facteur VIII*. Hématologie, **2001**. Vol. 7, No. 4.
10. Léna, LE FLEM. *Hémato-hémostase - Génétique moléculaire postnatale (hémostase)*, Biomnis Paris.
11. Jenny, R., Pittman, D., Toole, J., *Complete cDNA and derived amino acid sequence of human factor V*. Proc Natl Acad Sci U S A. **1987**. 84:4846-4850.
12. Stefano, D., Rosanna, A., Maria Luisa, T. *Molecules in focus: Coagulation factor V*. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, **2004**. Vol. 36.
13. Roberta, R., Maria Rosaria, E., and Achille, I. *Inherited hematological disorders due to defects in coat protein (COP) II complex*. American Journal of Hematology, **2012**.

14. Zhang, B., and Ginsburg, D., *Familial multiple coagulation factor deficiencies: new biologic insight from rare genetic bleeding disorders*. International Society on Thrombosis and Haemostasis, **2004**.
15. William C. et al., *Mutations in the ER–Golgi Intermediate Compartment Protein ERGIC-53 Cause Combined Deficiency of Coagulation Factors V and VIII*. **1998**. Cell, Vol. 93.
16. Vinciguerra, C., Durand, B., Rugeri, L. *Déficit combine en facteurs V et VIII de la coagulation : ou quand la génétique nous explique les déficits combinés de facteurs de la coagulation*. Immuno-analyse et biologie spécialisée, **2007**. Vol. 22.
17. William, C., Nichols and David, G. *PROTEIN BIOSYNTHESIS '99: From the ER to the Golgi: Insights from the Study of Combined Factors V and VIII Deficiency*. Am. J. Hum.Genet. **1999**. Vol 64.
18. Joseph, D. et al., *Bergeron Lectin control of protein folding and sorting in the secretory pathway*. TRENDS in Biochemical Sciences, **2003**. Vol.28 No.1.
19. Norihito, K. et al., *The sugar-binding ability of ERGIC-53 is enhanced by its interaction with MCFD2*. BLOOD, **2008**. Vol. 111, No. 4.
20. Bin, Z., Randal, J.K. and David, G. *LMAN1 and MCFD2 Form a Cargo Receptor Complex and Interact with Coagulation Factor VIII in the Early Secretory Pathway*. THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, **2005**. Vol. 280, No. 27.
21. Bin, Z. *Recent developments in the understanding of the combined deficiency of FV and FVIII*. Br J Haematol, **2009**. Vol. 145, No.16.
22. Chunlei, Z., Hui-hui, L., Jiahai, Z., and Bin, Z. *EF-hand domains of MCFD2 mediate interactions with both LMAN1 and coagulation factor V or VIII*. BLOOD, **2010**. Vol. 115, No. 5.
23. Abdallah, H.E., et al., *Structural analysis of two novel mutations in MCFD2 gene causing combined coagulation factors V and VIII deficiency*. Blood Cells, Molecules, and Diseases, **2010**. Vol. 44.
24. Andrea, C. Baines and Bin, Z. *Receptor-mediated protein transport in the early secretory pathway* Biochemical Sciences, **2007**. Vol.32 No.8.
25. Hans-Peter, H., Felix, K., Helena, A. and Christian, A. *ERGIC-53 and traffic in the secretory pathway*. Journal of Cell Science, **2000**. 113, 587-596.

26. Zhang, B., Ginsburg, D. *Familial multiple coagulation factor deficiencies: new biologic insight from rare genetic bleeding disorders*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, **2004**.
27. Rami, K., Matthew, P.V. and David, G. *The COPII pathway and hematologic disease*. The American Society of Hematology, **2012**.
28. Vinciguerra, C., Durand, B., and Rugeri, L. *Déficit combiné en facteurs V et VIII de la coagulation : ou quand la génétique nous explique les déficits combinés de facteurs de la coagulation*. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, **2007**. Vol 22.
29. Freyburger, G., Labrouche, S. *Facteur V Leiden (VL) et Résistance à la Protéine C activée (PCA), Facteur II Leiden (G20210 G>A), aspects physiopathologiques et stratégies diagnostiques*, SPECTRA BIOLOGIE n° 162, **2007**.
30. Gelas, M. A., Aiach, M. *Anomalies constitutionnelles de la coagulation prédisposant à la thrombose*. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). **2007**. 13-022-B-60.
31. Cours du Pr. MESSAOUDI.
32. Aillaud, M-f. *Facteur V : Proaccélélerine*. EMC Biologie médicale **2012**.7(1):1-4 [Article 90-20-0040-A].
33. Biomnis – Précis de biopathologie analyses médicales spécialisées : *Mutation du facteur V Leiden Résistance à la protéine C activée*. **2012**.
34. Mayer Michel, S., Carole, E. Cahier de formation Biologie médicale, *Hémostase et thrombose* N°20 septembre **2000**.
35. Bouaziz, B.L. *Les gènes de prédisposition à la maladie thromboembolique veineuse dans une population tunisienne*. Reims. **2006**.
36. Guerhazi, S., Znazen, R. *Résistance à la protéine C activée et facteur V Leiden : intérêt clinique*. Elsevier Masson SAS, **2009**.
37. Imbert, B. *Quelles sont les patientes à risque de pathologies vasculaires gravidiques en fonction de leur statut biologique*. Ann Méd Interne, **2003**. 154(5-6):414-21.
38. Mehrez, M.J. *Epidemiology of Activated Protein C Resistance the Mediterranean Region*. Mediterranean journal of hematology and infectious diseases issn **2011**.2035-3006.
39. Thrombophilie constitutionnelle [en ligne] consulté sur <http://www.ismaap.org/index.php?id=208> le 20/12/2015.

40. Lucotte, G., Mercier, G. *Frequency of factor V Leiden (Arg506Gln) in France*. Br J Haematol, **1997**. 99: 237-241.
41. Manuel du résident. Hématologie II. Edition tsunami. Exclusivité. **2009**. 13-000-M-56.p6.
42. Mehrez, M. J. *Aetiology of Venous Thrombosis*, Venous Thrombosis - Principles and Practice, Dr. Ertugrul Okuyan (Ed.), **2012**. ISBN: 978-953-307-885-4
43. Irani-Hakime, N., Tamim, H., Kreidy, R., Almawi, WY. *The prevalence of factor V R506Q mutation-Leiden among apparently healthy Lebanese*. Am J Hematol, **2000**. 65: 45-49.
44. Tamim, H., Finan, R.R., Almawi, W.Y. *Prevalence of two thrombophilia predisposing mutations: factor V G1691A (R506Q; Leiden) and prothrombin G20210A, among healthy Lebanese*. Thromb Haemost, **2002**. 88: 691-692.
45. Zivelin A. et al., *A single genetic origin for a common caucasian risk for venous thrombosis*. Blood, **1997**. 89: 397-402.
46. Thierry, P. et al., *Prevalence of angiotensin-converting enzyme, methylenetetrahydrofolate reductase, Factor V Leiden, prothrombin and apolipoprotein E gene polymorphisms in Morocco*. Annals of Human Biology, **2010**. 37(6): 767–777.
47. Emmerich, J. et al., *Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism*. Pooled analysis of 8 case-control studies including 2310 cases and 3204 controls. Thromb Haemost, **2001**. 86: 809-816.
48. Élisabeth, B. *Facteur V Leiden, un marqueur génétique de la population européenne*. médecine/sciences, **1997**. 13 : 216-7.
49. Frere, C., Saut, N., Boukef, M.K., Zili, M., Toumi, N. *Factor V Leiden G1691A and prothrombin G20210A mutations are common in Tunisia*. J Thromb Haemost, **2003**. 1: 2451-2452.
50. Awidi, A. et al. *High prevalence of factor V Leiden in healthy Jordanian Arabs*. Thromb Haemost, **1999**. 81: 582-584.
51. Ameen, G. et al. *An arab selective gradient in the distribution of factor V G1691A (Leiden), prothrombin G20210A and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T*. J Thromb Haemost, **2005**. 3 (9): 2126-2127.

52. Rees, D.C., Cox, M., Clegg, J.B. *World distribution of factor V Leiden*. **1995**. 346: 1133-1134.
53. Zoller, B. et al. *High prevalence of the FVR506Q mutation causing APC resistance in a region of Southern Sweden with a high incidence of venous thrombosis*. *Thromb Res*, **1996**. 83:475-477.
54. Rees, D.C., Cox, M., Clegg, J.B. *World distribution of factor V Leiden*. **1995**. 346: 1133-1134.
55. Pepe, G., Rickards, O., Vanegas, O.C., Brunelli, T., Gori, A.M., Giusti, B., Attansio, M. *Prevalence of factor V Leiden mutation in non-European populations*. *Thromb Haemost*, **1997**. 77: 329-331.
56. Hessner, M.J., Luhm, R.A., Pearson, S.L., Endean, D.J., Friedman, K.D., Montgomery, R.R. *Prevalence of prothrombin G20210A, factor V G1691A (Leiden) and MTHFR in seven different populations determined by multiplex allele-specific PCR*. *Thromb Haemost*, **1999**. 81: 733-738.
57. Renner, W., Koppel, H., Hoffmann, C., Schallmoser, K., Stanger, O., Toplak, H. *Prothrombin G20210A, factor V Leiden and factor XIII Val34Leu : common mutations of blood coagulation factors and deep vein thrombosis in Austria*. *Thromb Res*, **2000**. 99: 35-39.
58. British Society for Haematology, Walker, ID., Greaves, M., Preston, FE. *Investigation and management of heritable thrombophilia*. Guideline. *Br J Haematol*, **2001**. 114 (3):512-28.
59. FACTEUR V [en ligne] <http://www.cheo.on.ca/uploads/Facteur%20V%20de%20Leiden.pdf> consulté le 10/12/15.
60. Bessero, A.C., Borruat, F.X. *Dysfonction visuelle et occlusion artérielle : association à la mutation Leiden du facteur V*. *J.Fr. Oohtalmol.*, **2006**. 29, 1 : 43-46.
61. Weltermann, A., Eichinger, S., Bialonczyk, C., Minar, E., Hirschl, M., Quehenberger, P. et al. *The risk of recurrent venous thromboembolism among patients with high factor IX levels*. *J Thromb Haemost*, **2003**.1:28–32.

62. Santamaria, M.G., Agnelli, G., Taliani, M.R., Prandoni, P., Moia, M., Bazzan, M. et al. *Thrombophilic abnormalities and recurrence of venous thromboembolism in patients treated with standardized anticoagulant treatment*. *Thromb Res*, **2005**.116:301–6.
63. Bounameaux, H. *Factor V Leiden paradox: risk of deep vein thrombosis but not of pulmonary embolism*. *Lancet*, **2000**.356:182-3.
64. Vandenbrouke, J.P., Koster, T., Briet, E. *Increased risk of venous thrombosis in oral contraceptives users who are carriers of factor V Leiden mutation*. *Lancet*, **1994**. 344: 1453-1457.
65. Aiach, M., Alhenc-Gelas, M., Léger, P., Levesque, H. *Société française de génétique humaine, Facteurs génétiques prédisposant à la thrombophilie*. *Cah Diagnost Génét*, **2001**.
66. Johals, C. et al. *Family History is a Poor Screen for Prothrombotic Genes in Children with Stroke*. *J Pediatr*, **2006**. 148 (1):68-71.
67. Nowak-göttl, U., et al. *Resistance to activated protein C (APCR) in children with venous or arterial thromboembolism*. *Br J Haematol*, **1996**. 92 (4): 992 – 998.
68. Schobess, R. et al. *Factor V G1691A and prothrombin G20210A in childhood spontaneous venous thrombosis - evidence of an age-dependent thrombotic onset in carriers of factor V G1691A and prothrombin G20210A mutation*. *Eur J Pediatr*, **1999**. 158: 105-108.
69. Nowak-göttl, U. et al. *The Childhood Thrombophilia Study Group. Risk of recurrent venous thrombosis in children with combined prothrombotic risk factors*. *Blood*, **2001**. 97: 858-862.
70. Barnes, C., Deveber, G. *Prothrombotic abnormalities in childhood ischaemic stroke*. *Thromb Res*, **2005**. Available on line 21 July 2005. (consulté le 14/12/15). Disponible à partir de URL: [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com).
71. L'hémostase [en ligne] consulté sur [http://promo\\_2004.2007.free.fr/\\_APP/7\\_HEMOSTASE.html](http://promo_2004.2007.free.fr/_APP/7_HEMOSTASE.html) le 02/02/2016.
72. Rey, E., Kahn, S.R., David, M., Shrier, I. *Thrombophilic disorders and fetal loss a meta-analysis*. *Lancet*, **2003**. 361 (9361): 901–908.

73. Alfirevic, Z. *How strong is the association between maternal thrombophilia and adverse pregnancy outcome? A systematic review.* Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, **2002**. 101: 6–14.
74. Charafeddine, B., Laradi, S., Mahdaoui, A., Montasir, K. et al. *Résistance du facteur V à la protéine C activée au cours des avortements à répétition.* Immunoanal Biol Spéc, **2001**. 16: 37-380.
75. Mtiraoui, N., Borgi, L., Gris, J.C., Almawi, W. Y., Mahjoub, T. *Factor V Leiden, Prothrombin G20210A and antibodies against phospholipids in recurrent spontaneous abortion.* J Thromb Haemost, **2004**. 2: 1482-1484.
76. Zammiti, W. et al. *Association of factor V gene polymorphisms (Leiden, Cambridge, Hong Kong and HR2 Haplotype) with recurrent idiopathic pregnancy loss in Tunisia.* Thromb Haemost, **2006**. 95 (4): 612-617.
77. Wai Khoo, H., Hankey, G.J., Quinlan, D.J., Eikelboom, J.W. *Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia.* Arch Intern Med, **2006**. 166:729-36.
78. Rosendaal, F.R., Siscovick, D.S., Schwartz, S.M., Beverly, R.K., et al. *Factor V Leiden (resistance to activated protein C) increases the risk of myocardial infarction in young women.* Blood .**1997**. 89:2817-21.
79. Casas, J.P., Hingorani, A.D., Bautista, L.E., Sharma, P. *Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke. Thirty-two genes involving approximately 18 000 cases and 58 000 controls.* Arch Neurol, **2004**. 61: 1652-62.
80. Blom, J.W., Doggen, C.J., Osanto, S., Rosendaal, F.R. *Malignancies, prothrombotic mutations, and the risk of venous thrombosis.* JAMA, **2005**. 293:715–22.
81. Dentali, F., Gianni, M., Agnelli, G., Ageno, W. *Association between inherited thrombophilic abnormalities and central venous catheter thrombosis in patients with cancer: a meta-analysis.* J Thromb Haemost, **2008**. 6. 70-.
82. *Biologie des anomalies de l'hémostase : Recherche des mutations G1691A et G20210A. Rapport d'évaluation : Tome VII, Haute Autorité de Santé , Service évaluation des actes professionnels .* **2011**.

83. Alhenc-Gelas, M., Aillaud, M.F., Delahousse, B., Freyburger, G., Le Querrec, A., Reber, G. *La recherche des facteurs biologiques de risque établis de maladie thromboembolique veineuse: état des connaissances et conséquences pour la pratique en biologie clinique.* Sang Thromb Vaiss, **2009**.21(Suppl):12-39.
84. Jude, B., Susen, S., Zawadzki, C., & Trillot, N. *Les thrombophilies constitutionnelles.* Laboratoire d'hématologie, CHRU, Lille.
85. Dahlback, B., Carlsson, M., Svensson, P.J. *Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C.* Proc Nat Acad Sci U S A, **1993**.90:1004–8.
86. Ehrenforth, S., Radkte, K.P., Scharrer, L. *Acquired activated protein C resistance in patients with lupus anticoagulants.* Thromb Haemost, **1995**.74:797–8.
87. Cumming, A.M., Tait, R.C., Fildes, S., Keenay, S., Hay, C.R. *Development of resistance to activated protein C during pregnancy.* Br J Haematol, **1995**.90:725–7.
88. Trossaërt, M., et al. *Modified APC resistance assay for patients on oral anticoagulants.* Lancet, **1994**.344(8938):1709.
89. Olivieri, O., Friso, S., Manzato, F., Guella, A., Bernardi, F., Lunghi, B., et al. *Resistance to activated protein C in healthy women taking oral contraceptives.* Br J Hematol, **1995**.91:465–70.
90. Tripodi, A. *Laboratory diagnosis of thrombophilic states: where do we stand?* Pathophysiol Haemost Thromb, **2002**.32:245–8.
91. Elalamy, I., Gouin-Thibault, I., et al. *Recherche d'une anomalie prédisposant aux thromboses.* Cah Form Bioform, **2000**.(20):119-60.ION.
92. Favaloro, E.J., Bonar, R., Sioufi, J., Wheeler, M., Low, J., Aboud, M., et al. *Multilaboratory testing of thrombophilia: current and past practice in Australasia as assessed through the RoyalCollege of Pathologists of Australasia Quality Assurance Program for Hematology.* Semin Thromb Hemost, **2005**.31(1):49-58.
93. Greaves, M., Preston, F.E. *Investigation and management of heritable thrombophilia.* Guideline. Br J Haematol, **2001**.114 (3):512-28.

94. De Ronde, H., Bertina, R.M. *Laboratory diagnosis of APC-resistance: a critical evaluation of the test and the development of diagnostic criteria.* Thromb Haemost, **1994**. 72: 880-6.
95. Tripodi, A., Chantarangkul, V., Negri, B., Mannucci, P.M. *Standardization of the APC resistance test. Effects of normalization of results by means of pooled normal plasma.* Thromb Haemost, **1998**. 79 : 564-6.
96. Haute Autorité de Santé. *Test de résistance à la protéine C activée. Recherche de la mutation Facteur V Leiden. Recherche de la mutation G.20210G>A de la prothrombine.* Saint-Denis La Plaine: HAS; **2006**.
97. Segal, J.B. et al. *Agency for Healthcare Research and Quality, Outcomes of genetic testing in adults with a history of venous thromboembolism.* Rockville: AHRQ; **2009**.
98. John A. et al. *Combined Factor V Leiden and Prothrombin Genotyping in Patients Presenting With Thromboembolic Episodes.* MD Arch Pathol Lab Med. **2001**.125:105–111.
99. Gandrille, S. et al. *Validation d'un kit de diagnostic de la mutation Leiden du facteur V.***2003**. Volume 61, numéro 6.
100. Roche Molecular Systems, *FACTOR V LEIDEN KIT, Kit prévu pour 32 réactions pour un maximum de 30 échantillons Réservé au diagnostic in vitro*, **2012**.
101. Technique Taqman ViennaLab. *Diagnostics GmbH Gaudenzdorfer Guertel 43-45 A-1120 Vienna, Austria*, **2015**.
102. Wilmer, M., Stocker, C., Bühler, B., Conell, B., Calatzis, A. *Improved distinction of factor V wildtype and factor V Leiden using a novel prothrombin-based activated protein C resistance assay.* Am J Clin Pathol, **2004**.122(6):836-42.
103. Svensson, P.J., Zöller, B., Dahlbäck, B. *Evaluation of original and modified APCresistance tests in unselected outpatients with clinically suspected thrombosis and in healthy controls.* Thromb Haemost, **1997**. 77(2):332-5.
104. Jocelyne, O., Martine, A., Véronique, D., Claude, F. *Annales caractéristiques génétiques à des fins médicales 05cGM1*, **2005**.
105. Jocelyne, O., Martine, A., Véronique, D., Claude, F. *Annales caractéristiques génétiques à des fins médicales 10CGM1*, **2010**.

106. Gray, E., Hawkins, J.R., Morrison, M., et al. *Establishment of the 1st international genetic Reference panel for factor V Leiden, human gDNA*. *Thromb Haemost*, **2006**. 96 : 215-9.

## *Serment de Galien*

*Je jure en présence des maîtres de cette faculté :*

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à législation en vigueur aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis*

*Fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes*

*Confrères si je manquais à mes engagements.*



جامعة محمد الخامس  
كلية الطب والصيدلة  
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم  
وأحس بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاو مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلي أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

والله على ما أقول شهيد



جامعة محمد الخامس- الرباط  
كلية الطب والصيدلة - الرباط

أطروحة رقم : 95

سنة : 2016

العامل الخامس لايدن أو النمط الظاهري المقاومة لتنشيط  
البروتين C (مقاومة APC)

أطروحة:

قدمت ونوقشت علانية يوم: .....

من طرف

الآنسة : سناء فرحان

المزودة في 08 يوليوز 1990 بالرباط.

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: العامل الخامس، العامل الخامس لايدن، التخثر الوريدي

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد : عبد الواحد بايت

أستاذ في الإنعاش والتخدير

مشرفة

السيدة : نزهة مسعودي

أستاذة في علم الدم

أعضاء

السيدة : سعيدة طلال

أستاذة في علم الأحياء الكيميائية

السيدة : سارة عوفي

أستاذة في علم الطفيليات