

Formation continue ANTLM

Pré-analytique en Hémostase

Apport des recommandations GFHT 2016

A. MASRAR, S. BENKIRANE

Laboratoire Central d'Hématologie, CHU Ibn Sina Rabat

Journée Hémostase

Rabat, 27 Avril 2019

Introduction

- ☐ Phase pré-analytique demeure l'une des principales sources des non conformités en hématologie et notamment en hémostase.**
- ☐ Il s'agit d'une phase critique et qui est sous la responsabilité du biologiste médical**
- ☐ Validation du processus pré-analytique selon des recommandations en vigueur et des formations continues.**

Phase pré-analytique en hémostase constitue une valeur informative réelle du résultat biologique final par :

- ***Pertinence de la prescription des tests***
- ***Contexte clinico-thérapeutique du patient***
- ***Conditions du prélèvement***
- ***Transfert des tubes au laboratoire***
- ***Préparation des tubes avant leur analyse technique***

Objectif

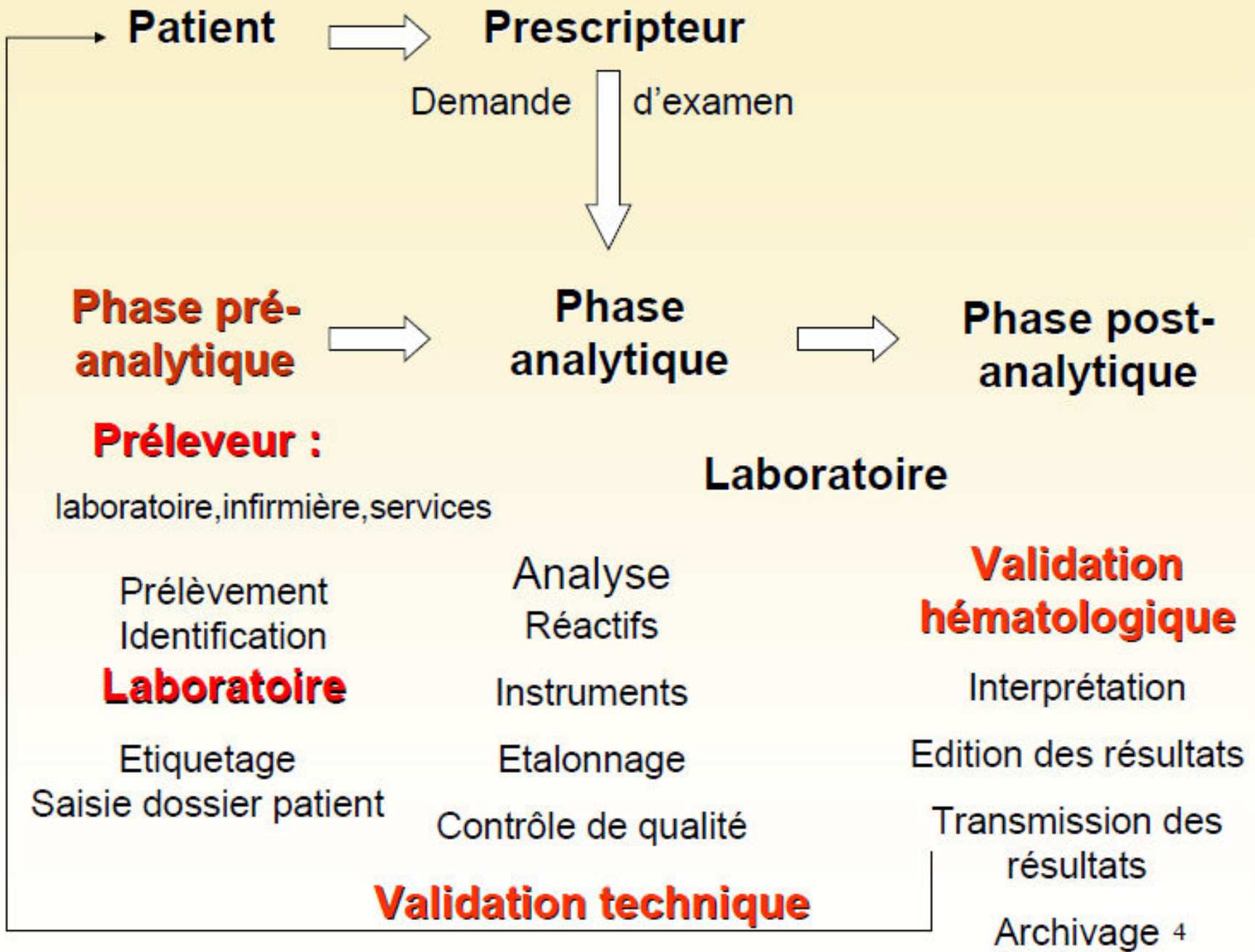
Evaluer l'impact du pré-analytique en hémostase sur les prélèvements et d'en tirer les défaillances pour proposer des solutions afin d'améliorer la qualité des prestations.

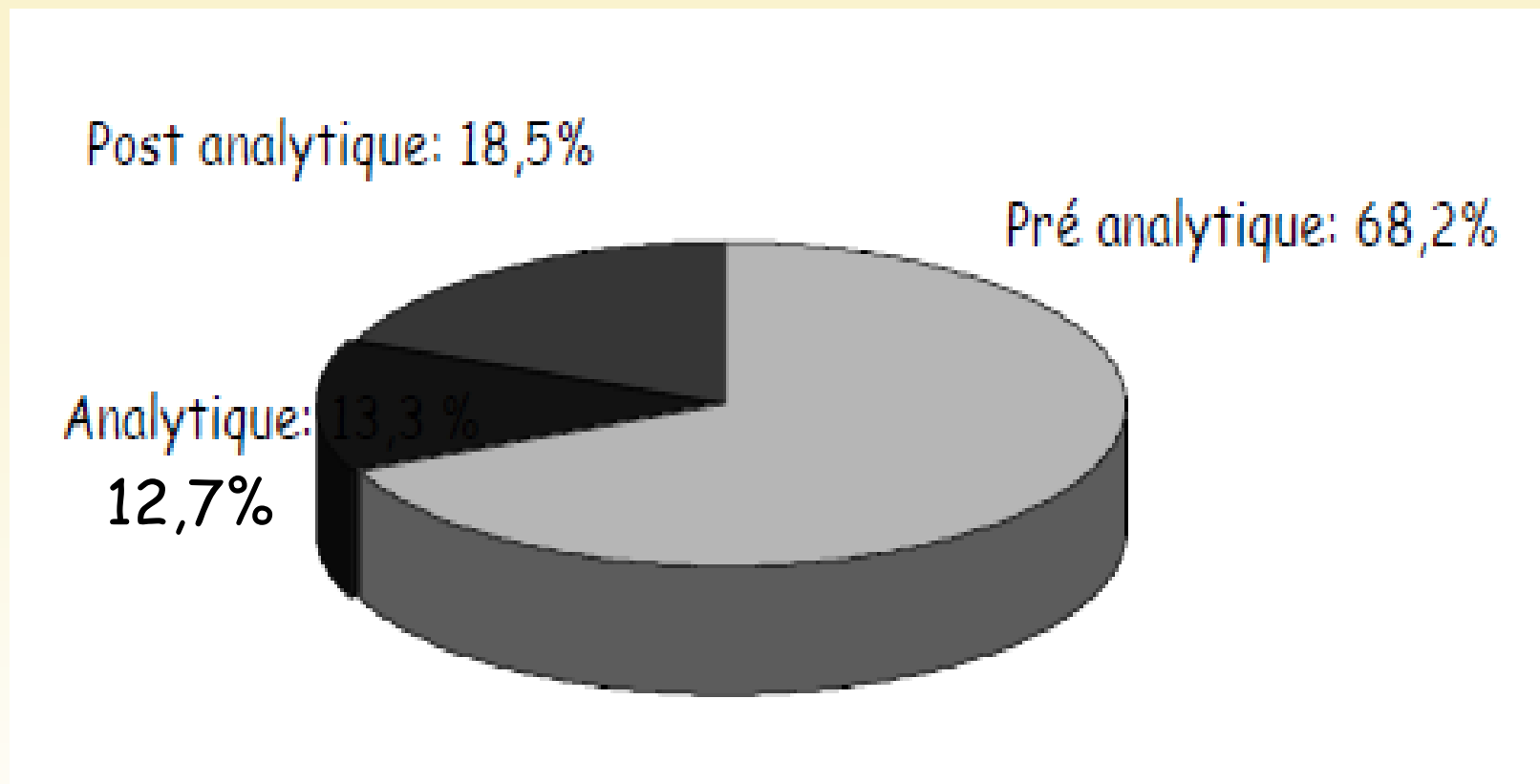
Arrêté de la ministre de la santé n° 2598-10 du 27 ramadan 1431 (7 septembre 2010) relatif au guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale.

**Bulletin officiel n° 5892 du 11 Hija 1431
(18 novembre 2010)**

Chapitre III

Assurance qualité





Prévalence des "anomalies ou erreurs" de laboratoire

Prescription des tests d'hémostase

❑ Personnel habilité

❑ Pertinente :

- *Identité du patient,*
- *Date de naissance (normes spécifiques),*
- *Sexe (taux bas VIII ou IX chez la femme),*
- *Groupe sanguin (vWF),*
- *Service,*
- *Acte analytique à réaliser*

>>> Concertation biologistes/prescripteurs par actualisation du panel analytique

- ❑ **Caractère urgent ou pas**

- ❑ **Tests d'hémostase de routine, différés ou non**

- ❑ **Importance des renseignements cliniques :**
 - ***Prise de thérapeutiques anticoagulantes, de fractions coagulantes, d'hormones)***
 - ***Habitudes toxiques: tabac (simule la fibrinolyse), alcool (nécrose hépatique)***
 - ***Circonstance à risque de CIVD: sepsis, complications obstétriques, morsure vipère...***
 - ***....***



Laboratoire Central d'Hématologie

Contacts : Tél/Flotte +212661257458 Ligne interne 6461 Courriel: labohemato@chis.ma

Pr Azlarab MASRAR
Chef de service

Pr Souad BENKIRANE
Dr Asma LAMRABET

BILAN DE THROMBOPHILIE

Nom prénom.....Age.....Origine.....

N° d'entrée.....Service.....Date.....

- Antécédents personnels de thrombose :

.....
.....

- Antécédents familiaux de thrombose :

.....
.....

- Type et localisations de la thrombose :

.....
.....

- Consanguinité (préciser le degré si oui).....

- Bilan d'extension: Hémopathie maligne ou autre cancer, lupus, diabète, autre

.....
.....
.....

- Traitement anticoagulant ou autre (type de traitement et posologie) :

.....
.....
.....
.....

Signature et cachet du praticien (obligatoire).....

NB: Veuillez joindre avec la demande de bilan d'hémostase spécialisée deux prélèvements d'hémostase de 5ml chacun et un prélèvement pour hémogramme.

Patient

- ❑ Préleveur vérifie la concordance identité du patient et celle de la prescription

>>> Etre un préleveur qualifié en hémostase est une distinction qui se gagne...

- ❑ Mise en confiance du patient : éviter le stress (élévation VIII, stimulation fibrinolyse, activation PLT)
- ❑ Éviter café et tabac dans l'heure qui précède le prélèvement.
- ❑ Horodatage et étiquetage

Matériel à prélèvement



□ choix du tube :

- *Tube sous vide, stérile*
- *Tube citrate : PET (polyéthylène téréphthalate), polypropylène ou verre siliconé*
- *Tube CTAD : PET ou verre siliconé*
- *Respect des dates de péremption : qualité de l'anticoagulant et maintien du vide initial*

>>> minimiser l'activation de l'hémostase

□ Anticoagulant : Prélèvement effectué sur citrate de Na : Citrate trisodique

- *Concentration recommandée 0,109 M (3,2%)*
- *Concentration acceptable 0,129 M (3,8%).*

>>> Concentration de citrate influence la détermination de l'ISI des thromboplastines calciques et les fabricants les calibrent par des plasmas obtenus à partir de sang prélevé sur citrate 0,109 M.

- **Aiguille de prélèvement à triple biseau**
 - *Diamètre entre 0,7 mm (19 gauges) et 1 mm (22 gauges)*
 - *Enfants=>aiguilles à ailettes avec tubulure courte (longueur<6cm et volume mort<150μL)*
- **Ne pas prélever à la seringue,**
- **Prélèvement sur cathéter à éviter : contamination à l'héparine**

Rapport d'anticoagulant/volume de sang

1 V d'anticoagulant pour 9V de sang :

- *Excès de citrate dans le plasma : allonge les temps de coagulation*
- *Déficit du citrate favorise l'activation plaquettaire*

Effet de l'hématocrite

Pour des hématocrites élevés (>55%) ou très bas (<20%), il faut ajuster le volume d'anticoagulant utilisé :

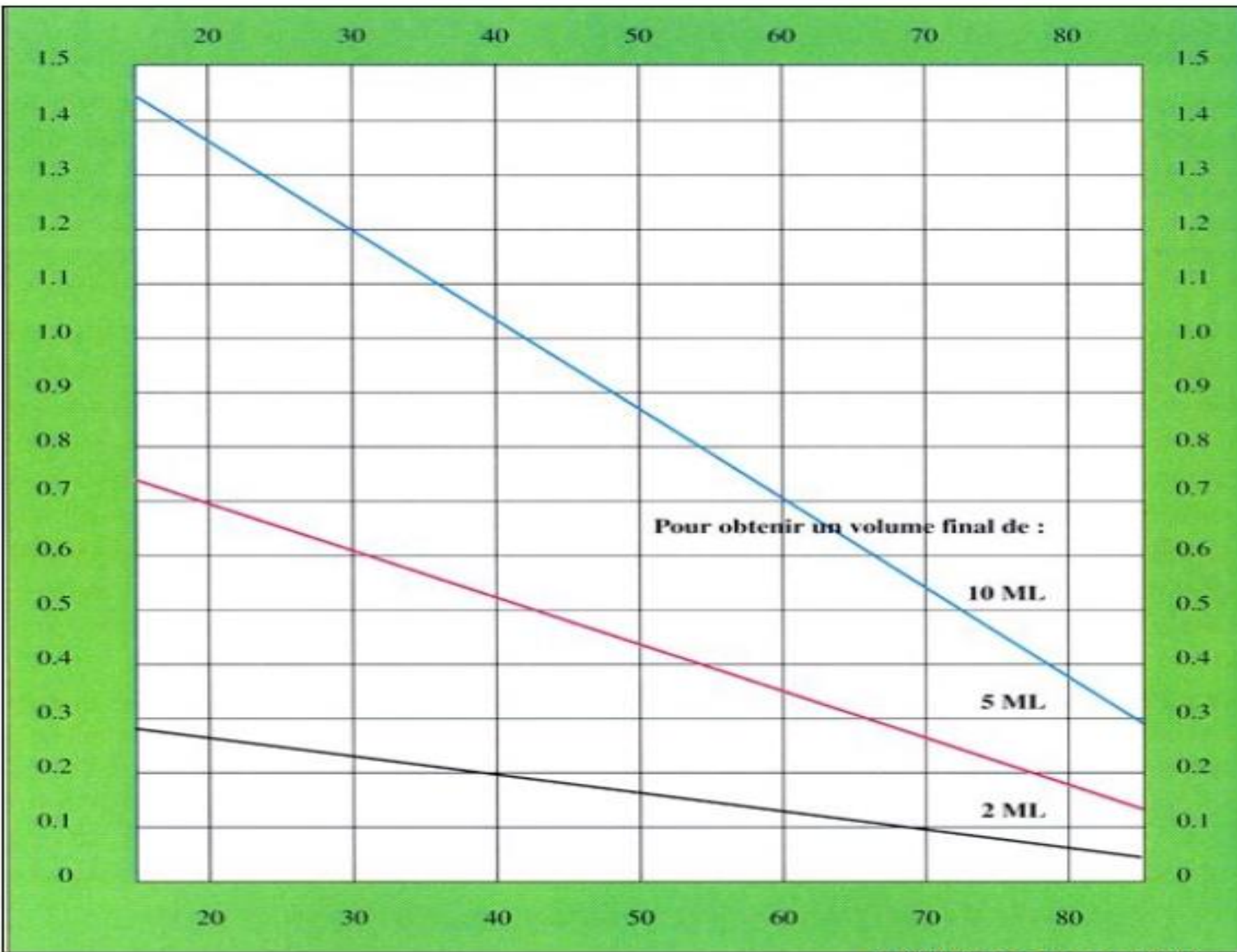
Formule de *Mc Gann*:

$$\text{Volume d'anticoagulant (mL)} = 0,00185 \times \text{vol de sang (mL)} \times [100 - \text{hématocrite}(\%)]$$

Formule d'*Ingram* :

$$\text{Volume d'anticoagulant (mL)} = \text{volume de sang(mL)} \times (100 - \text{hématocrite}) / [595 - \text{hématocrite} (\%)]$$

Volume en ml de la solution de citate à utiliser



Pour obtenir un volume final de :

10 ML

5 ML

2 ML

HÉMATOCRITE (%)

Réalisation du prélèvement

❑ **Prélèvement veineux par ponction franche:**

➤ *Bras opposé à une perfusion*

➤ *Bras opposé à une fistule artério-veineuse chez les patients hémodialysés*

❑ **Garrot peu serré posé pour une durée de moins 1minute**

Ordre du prélèvement

- **Si prélèvement multiple, ordre des tubes:**
 - *Hémoculture*
 - *sans additif*
 - *Citrate*
 - *EDTA*
 - *Autres*
 - >>> Ne jamais prélever après un tube hépariné ou sous EDTA*
- **Mélanger immédiatement par retournements successifs sans faire mousser.**

Transfert au laboratoire

□ Acheminement en position verticale, éviter les chocs mécaniques

>>> En pneumatique : respect de l'enrobage et réception douce, sinon il y a risque de formation de mousse et activation des PLT

□ Température de transport : Sac isothermes à 20+/-2°C

➤ *température < 4°C activation plaquettaire*

➤ *température > 30°C : facteurs de la coagulation thermolabiles (V, VIII)*

Transfert au laboratoire

□ Délai avant les tests d'hémostase :

- *Recommandé < 2h*
- *Acceptable 4h*
- *Non conforme si > 4h*

>>> Organisation du prélèvement d'hémostase au laboratoire pour les examens spécialisés.

Réception au laboratoire

- Enregistrement : vérification étiquetage (concordance prescription et tube à analyser),**
- Vérifier la conformité du prélèvement : tube coagulé ou pas, respect anticoagulant / sang, plasmas HIL...**
- Apposition de codes à barres Tests**

Spécimens au laboratoire

□ Centrifugation Thermostatée 15 à 25°C

- *PPP : vitesse recommandée pour une double centrifugation (2X2000g à 2x2500g) pendant 15 min surtout si examen différé.*
- *PPP : vitesse acceptée pour une simple centrifugation 2000g à 2500g /15min surtout pour les tests de routine.*

➤ PRP

Préparation des plaquettes PRP	Eviter choc mécanique lié au pipetage et centrifugation <ul style="list-style-type: none">▪ Centrifugation à 200-250g à 20°C pendant 10 min sans frein, ou par sédimentation en cas de présence de plaquettes géantes.▪ Attention à la contamination par hématies et leucocytes
Conservation	Température ambiante 20°C +/- 2°C
Déroulement des tests : Semi-automatique ou automatique	Taux plaquettaire 200-300G/L Propreté des cuves Température 37°C >>> Réalisation des tests entre 30 min et 2 h après le prélèvement.

Conversion de la vitesse de centrifugation à 2500 g en nombre de tours/min en fonction du rayon de la centrifugeuse :

<i>Rayons mesurés depuis l'axe de la centrifugeuse jusqu'au fond du plot de centrifugation (cm)</i>	<i>Nombre de tours/min</i>
<i>9</i>	<i>5 000</i>
<i>10</i>	<i>4 500</i>
<i>12</i>	<i>4 300</i>
<i>15</i>	<i>3 800</i>
<i>17</i>	<i>3 600</i>
<i>20</i>	<i>3 400</i>
<i>22</i>	<i>3 200</i>

Conservation des échantillons

❑ Tests différés: congélation rapide par décantation en eppendorffs remplis au tiers minimum, bouchons à vis préconisés :

➤ *Recommandée - 80°C*

➤ *Acceptable : -20°C si < 30J*

❑ Décongélation : incubation 5 à 10 min à 37°C, agitation par vortex

❑ Laisser 10 min à température de laboratoire avant chargement à bord de l'automate

ACTION ENVISAGEE SUR	RECOMMANDATION A METTRE EN PLACE	NON-CONFORMITE CORRIGEE
Tube de prélèvement utilisé	Utiliser des tubes, stériles, sous vide, en PET inerte	- Coagulation intra-tube
	Date de péremption des tubes de prélèvement à maîtriser	- Volume de remplissage du tube non conforme (rupture du vide)
	Utiliser exclusivement des tubes citratés de concentration 3,2% en citrate tamponné (pH entre 7,3 et 7,45)	- Allongement des tests d'hémostase notamment du TP
	Ne pas utiliser de tube citraté de volume résiduel >20%	- Impact significatif sur les valeurs des tests d'hémostase notamment pour les patients sous HNF
Matériel de prélèvement	Utiliser des aiguilles de diamètre entre 19 et 22G Si utilisation d'épicrâniennes, utiliser une longueur minimale de tubulure avec un volume mort < 10% du volume final du tube.	- Coagulation intra-tube - Hémolyse
Prélèvement	Doit être fait par ponction veineuse, loin de toute perfusion (formation du personnel préleveur)	- Aspect dilué de l'échantillon - Coagulation intra-tube -
	Le garrot ne doit être maintenu moins d'une minute et doit être desserrer avant la fin du prélèvement (formation du personnel préleveur)	- Hémococoncentration de l'échantillon sanguin - Hémolyse de l'échantillon
	L'ordre des tubes de prélèvement est important à observer. Si TP/INR, TCA il est recommandé de prélever le tube citraté en premier Si examen spécialisé (ex facteurs) : il est préférable d'utiliser un tube de purge « inerte » avant prélèvement surtout si usage d'épicrânienne	- Coagulation intra-tube
	Refuser les tubes insuffisamment remplis Volume recommandé 90% Volume acceptable 80%	- Impact direct sur les résultats patient (allongement des tests)
	Retourner les tubes prélevés après prélèvement : 2 à 6 retournements complets, lents dès la fin du remplissage.	- Coagulation de l'échantillon - Hémolyse de l'échantillon

Hématocrite	<p>Si hématocrite >55% :</p> <p>Le GFTH recommande de ne pas chercher à ajuster le citrate mais rendre les résultats et les pondérer et les expliquer via l'interprétation du biologiste.</p> <p>Si Hématocrite < 20% :</p> <p>Risque de ne pas pouvoir rendre les résultats si prélèvement coagulé. ajuster le citrate via une formule d'ajustement (ex Formule Mac Gann)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Tests d'homostase allongés - Test d'hémostase raccourcis
Température de transport	<p>Température ambiante :</p> <p>Les recommandations de transport à température ambiante imposent à chaque laboratoire de préciser ce qu'est la température ambiante. Température ambiante selon la pharmacopée européenne : 15 à 25°C.</p> <hr/> <p>Echantillons congelés : l'utilisation de la carboglace est recommandée, les plaques eutectiques sont acceptables</p> <p>Le laboratoire doit s'assurer que tous les échantillons sont effectivement congelés.</p> <hr/> <p>Qualification des mallettes de transport : le laboratoire doit apporter la preuve de la qualification du matériel de transport dans les conditions définis.</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Hémolyse des échantillons -Dégradation de la qualité de l'échantillon (facteurs++)
Acheminement par pneumatique	<p>Le laboratoire doit établir une analyse de risque à l'encontre de ce moyen d'acheminement des tubes.</p> <p>Tester la pneumatique avec au minimum 06 prélèvements de sujets volontaires sains avec deux tubes chacun (un acheminé en pneumatique et l'autre manuporté) et comparaison des valeurs des tests selon les critères acceptables.</p> <p>Préférer le transport manuporté en cas de tests sur sang total et les études d'agrégation plaquettaire</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Dégradation de la qualité de l'échantillon -Coagulation de l'échantillon
Centrifugation	<p>Les rotors à godets mobiles sont conseillés afin d'éviter les souillures du plasma par les éléments figurés du sang.</p> <p>Temps de centrifugation : 10 min</p> <p>Vitesse de centrifugation :2000 à 2500g</p> <p>Température de centrifugation : acceptable entre 15 et 25°C.</p> <p>Utilisation de centrifugeuses thermostatées.</p> <p>Double centrifugation obligatoire pour la recherche d'anticoagulant circulant de type lupique et/ou examens spécialisés d'hémostase.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Dégradation de la qualité de l'échantillon - Hémolyse de l'échantillon sanguin - Impact sur le résultat patient

Non conformité	Action (s)
Absence de code à barres BAF du patient sur le bon de demande d'examens	Refus de l'examen. Refaire une autre demande en collant une étiquette code à barres BAF du patient sur le bon de demande d'examens.
Code à barres BAF du patient est non lisible	Refus de l'examen. Refaire une autre demande en collant une étiquette conforme du code à barres BAF du patient.
Bon de demande d'examens ne contient pas les prestations à réaliser	Refus de l'examen. Refaire une autre demande en précisant les tests à réaliser sur le bon de demande d'examens.
Discordance entre l'identification du bon de demande et celle de l'échantillon	Refus de l'examen. Refaire une autre demande en renseignant sur l'échantillon soit le numéro du bon, soit le numéro d'entrée, soit le nom-prénom du patient. Prière de ne pas coller l'étiquette code à barres BAF du patient sur le tube de prélèvement.
Prescripteur non identifié sur la demande : absence du cachet du prescripteur	Refus de l'examen. Refaire une autre demande en précisant l'identité du prescripteur.
Analyse non réalisée en garde et ne pouvant pas être conservée	Refus de l'examen. Refaire une autre demande sur une fiche spécialisée et des prélèvements adéquats qui doivent être reçus au laboratoire avant 10H en dehors des jours fériés.
Non respect des conditions requises pour les examens obligatoirement programmés	Refus de l'examen. Refaire une autre demande en contactant le laboratoire : une fiche de demande spécialisée doit être renseignée.

Non conformité	Action (s)
Absence de renseignements cliniques obligatoires	Seuls les tests de routines sont réalisés. Le laboratoire doit être contacté pour tout complément d'information.
Renseignements cliniques obligatoires insuffisants	Seuls les tests de routines sont réalisés. Le laboratoire doit être contacté pour tout complément d'information.
Identification de l'échantillon absente	Refus de l'examen. Refaire une autre demande en renseignant sur l'échantillon soit le numéro du bon, soit le numéro d'entrée, soit le nom-prénom du patient. Prière de ne pas coller l'étiquette code à barres BAF du patient sur le tube de prélèvement.
L'heure du prélèvement n'est pas notée sur le bon de la demande d'examens	Refus de l'examen. L'heure et la date du prélèvement doivent être précisées sur le bon de la demande.
Prélèvement fait dans un tube sous anticoagulant inadapté aux prestations demandées	Refus de l'examen. Refaire une autre demande sur un tube de prélèvement avec l'anticoagulant spécifique aux prestations demandées.
Tube de prélèvement reçu vide	Refus de l'examen. Refaire une autre demande sur un tube de prélèvement rempli correctement.
Quantité insuffisante du sang par rapport au volume de remplissage indiqué sur le tube de prélèvement	Refus de l'examen. Refaire une autre demande avec respect du volume de remplissage indiqué sur le tube de prélèvement : un remplissage est considéré comme acceptable si la quantité manquante du sang, par rapport au volume préconisé, ne dépasse pas 20% (bilans d'hémostase ou VS) et 10% (suivi des traitements anticoagulants).

Non conformité	Action (s)
Aspect d'une polyglobulie sur le tube de prélèvement après centrifugation : hématicrite du patient élevé > 55%	Refus de l'examen. Le laboratoire doit être contacté pour préparer un tube de prélèvement en ajustant le volume de l'anticoagulant citrate en fonction de l'hématocrite du patient. Les examens d'hémostase sont réalisables à des hématicrites de 20% à 55%.
Prélèvement coagulé : présence d'un caillot grossier ou de nombreux micro-caillots	Refus de l'examen. Refaire une autre demande sur un tube de prélèvement immédiatement agité par au moins 8 retournements doux.
Prélèvement hémolysé	Refus de l'examen. Refaire une autre demande sur un prélèvement adéquat, acheminé au laboratoire dans l'heure qui suit à une température de 20°C +/- 2°C. L'heure du prélèvement doit être précisée sur le bon. Ne pas conserver les prélèvements aux réfrigérateurs ou congélateurs. Eviter les secousses et les chocs thermiques.
Prélèvement suspecté d'être dilué par une perfusion éventuelle : aspect d'un prélèvement dilué	Refus de l'examen. Refaire une autre demande sur un prélèvement réalisé loin d'une perfusion éventuelle.
Prélèvement accidenté ou renversé	Refaire une autre demande. Assurer l'étanchéité de l'échantillon.

Non conformité	Action (s)
<p>Nombre de tubes insuffisant pour la réalisation des examens demandés</p>	<p>Des prestations partielles peuvent être réalisées sur les prélèvements reçus. Envoi d'autres tubes afin de compléter les prestations demandées.</p>
<p>Prélèvement fait sur un tube non conforme pour les prestations demandées</p>	<p>Refus de l'examen. Refaire une autre demande sur un tube de prélèvement contenant l'anticoagulant spécifique pour les prestations demandées.</p>
<p>Code à barres BAF du patient incomplet</p>	<p>Refus de l'examen. Refaire une autre demande avec code à barres BAF du patient contenant au minimum : Nom-prénom, sexe, date de naissance, numéro d'entrée, service, établissement.</p>
<p>Quantité excessive du sang par rapport au volume de remplissage indiqué sur le tube de prélèvement</p>	<p>Refus de l'examen. Refaire une autre demande avec respect du volume de remplissage indiqué sur le tube de prélèvement : un remplissage est considéré comme acceptable si la quantité excessive du sang, au delà du volume préconisé, ne dépasse pas 10%.</p>
<p>L'identité du préleveur n'est pas notée sur le bon de demande d'examens</p>	<p>Refus de l'examen. L'identité du préleveur doit être précisée sur le bon de demande d'examens.</p>

□ 8875 cas de non conformités pré-analytiques sur 101714 demandes de tests d'exploration d'hémostase reçues

>>> 8,72 % des demandes sont non conformes.

□ Il s'agit principalement des non conformités :

➤ *Volume de remplissage : 65,80%,*

➤ *Sang coagulé : 17,18%*

➤ *Absence ou discordance entre l'identification du bon de demande et celle de l'échantillon : 7,10%*

Conclusion

- ❑ Pré-analytique constitue une étape essentielle : **65%** de budget de fonctionnement d'un laboratoire d'hématologie en France.
- ❑ Source importante de non conformités qualifiée d'«**erreur de laboratoire** »
- ❑ Sa maîtrise est un objectif prioritaire par diffusion de guide de bonne pratique de pré-analytique et par formation continue

Merci pour votre attention