

La Phase Pré-Analytique En Hemostase

M.Amrani, I.Tlamçani, M.Amrani Hassani

Laboratoire d'hématologie, Laboratoire central d'analyses médicales, CHU Hassan II de Fès.

Résumé :

La phase pré-analytique comprend les étapes allant de la prescription de l'examen jusqu'à son traitement au sein du laboratoire. C'est une phase critique pour la qualité des résultats et représente une des principales sources d'erreurs.

La maîtrise de la qualité des tests d'hémostase implique la maîtrise du processus de cette phase dans sa totalité, incluant la compétence des intervenants.

Toute personne impliquée dans cette phase doit être consciente de l'importance du pré-analytique, des risques engendrés par les erreurs commises et des conséquences qui peuvent en découler pour le patient.

Abstract :

The preanalytical phase includes the steps from prescribing the examination to its treatment in the laboratory. It is a critical phase for the quality of results and is one of the main sources of errors.

Mastering the quality of hemostasis tests involves mastering the entire process of this phase, including the competence of the participants.

Anyone involved in this phase must be aware of the importance of pre-analysis, the risks created by the errors made and the consequences that can ensue for the patient.

Date of Submission: 01-05-2022

Date of Acceptance: 13-05-2022

I. Introduction :

L'hémostase est un processus physiologique dont le but est de prévenir et d'arrêter des hémorragies en cas de lésion de la paroi vasculaire. Elle joue également un rôle dans le maintien de la fluidité sanguine par la mise en jeu de systèmes inhibiteurs. Le laboratoire d'hémostase joue un rôle dans le diagnostic des troubles de l'hémostase. La prise en charge d'un échantillon passe par trois étapes : la phase pré-, per- et post-analytique. La phase pré-analytique comprend la réalisation, l'acheminement et le traitement du prélèvement. Cette étape est primordiale dans la validité des tests d'hémostase.

L'objectif de notre travail est d'identifier les principales anomalies de la phase pré-analytique en hémostase et de fournir une vue d'ensemble sur les dernières recommandations améliorant la pratique quotidienne des prescripteurs, préleveurs, techniciens et biologistes.

II. Rappel :

Exploration de l'hémostase primaire :

Les tests de dépistage d'une anomalie de l'hémostase primaire comprennent un hémogramme complet, un examen attentif du frottis sanguin à la recherche d'anomalies morphologiques plaquettaires et des autres lignées, une mesure du temps d'occlusion plaquettaire sur PFA-100®, un dosage de fibrinogène et une mesure de la prothrombine résiduelle.

1. La numération plaquettaire :

Le prélèvement est réalisé sur du sang veineux périphérique dans un tube contenant de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA). L'hémogramme nous informe sur le taux de plaquettes qui varie entre 150000 et 400000/mm³ ainsi que la distribution des plaquettes selon leur taille en mesurant le volume plaquettaire moyen (VPM).

2. Le temps d'occlusion plaquettaire :

Le temps d'occlusion correspond au temps nécessaire à la formation du clou plaquettaire, c'est à dire l'adhésion et l'agrégation des plaquettes. Cette mesure permet de détecter des dysfonctionnements d'origine héréditaire, acquis et d'assurer le suivi d'un traitement antiagrégant plaquettaire. En effet, Le système INNOVANCE® PFA®-200 reproduit le processus d'hémostase primaire et favorise le dépistage rapide de ses altérations en simulant in vitro les conditions hémodynamiques de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaire suite à une lésion vasculaire, ou suite à une prise d'antiagrégants plaquettaires.

3. *Dosage du facteur de von willebrand :*

Le FVW a un rôle primordial au cours de l'hémostase primaire, puisque aux fortes forces de cisaillement, il permet l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium via la GP Ib plaquettaire. Il permet également le transport et la protection de la protéolyse du facteur VIII. Le dosage spécifique du facteur Willebrand fait appel à deux types d'analyses : dosage de l'antigène et dosage de l'activité.

Exploration de la coagulation :

4. *Le temps de céphaline avec activateur (TCA) :*

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes et recalcifié en présence de céphaline et d'un activateur de la phase contact de la coagulation. Il explore les facteurs de coagulation de la voie endogène.

5. *Le temps de Quick :*

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes en présence de thromboplastine et de calcium. Il explore les facteurs de coagulation de la voie exogène.

6. *Le temps de thrombine :*

C'est le temps de coagulation d'un plasma citraté pauvre en plaquettes en présence de thrombine.

III. La phase pré-analytique en hémostase :

En hémostase, la phase pré-analytique est une étape importante du plan d'assurance qualité. Le rôle du médecin biologiste est crucial dans la sensibilisation du personnel médical et paramédical sur l'importance de cette étape afin de minimiser les erreurs qui conditionnent la fiabilité des résultats et ainsi impacter sur la prise en charge du patient. Une étude menée par Bonini et al a démontré que 32 à 68% des erreurs retrouvées au laboratoire se produisent au cours de la phase pré-analytique. D'où la responsabilité du médecin biologiste dans la maîtrise de cette phase en commençant par la réalisation du prélèvement jusqu'au traitement de l'échantillon. [1]

a) *Identification du patient :*

- Chaque tube doit impérativement contenir le nom, le prénom du malade ainsi que son identifiant.
- Un tube de prélèvement sur lequel ne figure aucune identification ne doit en aucun cas être traité.
- L'utilisation des étiquettes à code-barres permet une identification claire.

b) *Préparation du malade :*

Avant d'effectuer le prélèvement et afin de minimiser les erreurs d'interprétation des résultats, il faut informer le patient de manière compréhensible des mesures à respecter avant de venir. En effet, il est recommandé que le prélèvement soit réalisé le matin à jeun ou au moins après la prise d'un repas pauvre en graisse. Une étude menée par Kackov et al a démontré qu'une grande proportion des patients n'est pas préparée à la ponction veineuse en terme de jeune. En effet, Le temps de jeune doit être standardisé à 12h pour tout type de prélèvement sanguin. [2]

Le patient doit être au repos pendant au moins 5min. La consommation d'alcool et du tabac est fortement déconseillée. Il a été démontré que la consommation du tabac avant le prélèvement augmente de façon significatif l'agrégation plaquettaire. [3]

c) *Méthode de prélèvement :*

Le prélèvement est réalisé par ponction veineuse après désinfection locale à l'aide d'une aiguille de calibre suffisant (19 à 21G) au niveau d'une veine de grand calibre (veine basilique, veine cubitale ou veine céphalique). Pour les personnes difficiles à piquer, les aiguilles à ailettes type "épicrâniennes" sont utilisables à condition que la tubulure soit courte (longueur inférieure à 6 cm et volume mort inférieure à 150 uL).

Selon les recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), Il est primordial de respecter l'ordre des tubes. En effet, les tubes d'hémostase doivent être prélevés après un tube sec sans activateurs appelé tube de purge afin d'éviter toute contamination possible par les anticoagulants présents dans d'autres tubes tel que l'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) [4].

Selon les dernières recommandation du GEHT (Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose), le recueil des prélèvements est réalisé dans des tubes sous vide, en verre siliconé ou PET (polyéthylène téréphthalate) portant le marquage CE [5]. L'Anticoagulant utilisé est le citrate de sodium à 3,2% (0,109M). Cependant, la concentration à 0,129M est considérée comme acceptable par le GEHT [6].

L'exactitude des résultats et la qualité du prélèvement dépendent étroitement du volume de remplissage des tubes. En effet, le ratio du sang/anticoagulant doit être de 9 pour 1 (Figure 1). Un remplissage du tube inférieur à 90% peut entraîner un allongement des tests de la coagulation secondaire à la présence d'une proportion d'anticoagulant plus importante. (Figure 2). Une fois le tube rempli, il faut s'assurer de bien mélanger le contenu en le retournant trois à quatre fois afin d'assurer le mélange du sang et de l'anticoagulant et d'éviter la formation de caillots [7].



Figure 1 : Tube citraté rempli selon les recommandations



Figure 2 : Tube citraté non conforme.

d) *Conservation et transport des échantillons :*

L'échantillon prélevé doit être transmis au laboratoire avec une fiche de prescription et si nécessaire une fiche de renseignements cliniques pouvant orienter le biologiste dans l'interprétation des résultats.

Le transport doit se faire immédiatement dans un délai maximal de 4 heures et dans une température ambiante entre 15° et 25°. La conservation des prélèvements à une température froide de +2° à +4° est à éviter car elle entraîne une activation des facteurs de la coagulation et une altération des fonctions plaquettaires. Les tubes doivent être maintenus de façon verticale afin d'éviter le contact avec le bouchon.

En milieu hospitalier, il existe un système de transport pneumatique pour les tests courants permettant ainsi de

réduire le temps d'arriver des tests au laboratoire [8].

Les recommandations de la CLSI exigent que tous les tests de coagulation soient analysés dans les 4 heures qui suivent le prélèvement. A l'exception du TP qui possède une stabilité allant jusqu'à 24 heures [9]. Une étude menée par Zurcher a analysé la stabilité des tests de coagulation dans du sang total citraté conservé à température ambiante à différents délais : 1h, 4-6h, 8-12h, 24-48h et 48-52h. Les résultats étaient : [10]

- FV, FVIII, PS totale : stabilité jusqu'à 24 h;

- TQ, TCA, FVII : stabilité jusqu'à 48 h;

- Autres paramètres : stabilité pendant 48 h.

La majorité des échantillons sanguins destinés aux tests de l'hémostase utilisent du plasma pauvre en plaquettes c'est à dire un taux de plaquettes inférieur à 10 G/L. Pour ce, une seule centrifugation de 2000 à 2500 g pendant 15 minutes est réalisée [11]. Concernant les tests visant à rechercher les anticoagulants lupiques, les anticorps anti-phospholipides ainsi que la recherche d'un phénotype de résistance à la protéine C activée, une double centrifugation est alors recommandée avec décantation du plasma entre les deux (Figure 3).



Figure 3 : Centrifugeuse de la salle d'hémostase du Laboratoire d'Hématologie –CHU Hassan II- Fès.

IV. Conclusion :

La phase pré-analytique est une partie cruciale dans le traitement d'un prélèvement. Le respect et la bonne maîtrise des différentes étapes pré-analytiques au sein du laboratoire d'hémostase réduit considérablement le risque d'erreurs dans l'analyse et l'interprétation des résultats. En effet, Les recommandations concernant les conditions de prélèvement, de transport et de prétraitement des échantillons ont été spécifiées par les sociétés savantes (GEHT - Groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose, CLSI - Clinical and laboratory standards institute et EFLM - European federation of clinical chemistry and laboratory medicine et ISO/TS 20658:2017 Medical laboratories – Requirements for collection, transport, receipt, and handling of samples) (12,13).

Reference :

- [1]. Pierangelo Bonini, Ferruccio Ceriotti et al. MISIDENTIFICATION AND OTHER PREANALYTICAL ERRORS. JMB 27: 339–342, 2008.
- [2]. Sanja Kackov, Ana-Maria Simundic et al. Are patients well informed about the fasting requirements for Laboratory blood testing ? Biochemia Medica 2013; 23(3):326–31
- [3]. Pamukcu B, Oflaz H, Onur I et al. Effect of cigarette smoking on platelet aggregation. Clin Appl Thromb Hemost 2011; 17(6):E175–E180.
- [4]. Denis J Ernst, Anne-Marie Martel et al. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, Approved Standard, 6th edition GP 41-A6, 27 (26) 2012 .

- [5]. Laboratoire de Biologie Médicale, CHU Tours. "GFHT recommandations pré analytiques en hémostase, révision octobre 2015 (dernière mise à jour Mai 2017).
- [6]. Louati N, Ben Amor I et al. Effet de l'anticoagulant et de la conservation des échantillons sanguins sur les tests d'exploration de la coagulation. *Journal de l'Information Médicale de Sfax*, n°24, p. 22-23, Oct 2016.
- [7]. Dorothy M. Adcock, Daniel M. Hoefner et al. Clinical and laboratory standards institute. *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline- Fifth Edition*, CLSI document H21-A5, Wayne, PA, CLSI, 2008.
- [8]. Wallin O, So derberg J et al. Preanalytical effects of pneumatic tube transport on routine haematology, coagulation parameters, platelet function and global coagulation. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46: 1443-9
- [9]. Dorothy M. Adcock, Daniel M. Hoefner et al. *Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays, Approved Guideline – Fifth Edition*. CLSI document H21-A5. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
- [10]. Zürcher M. *Thromb Haemost* 2008; 99:416-26.
- [11]. Lippi G, Salvagno GL et al. Influence of the centrifuge time of primary plasma tubes on routine coagulation testing. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2007; 18 : 525-8.
- [12]. Révision des recommandations pré-analytiques en hémostase (mai 2017) : stabilité des paramètres d'hémostase générale et délais de réalisation des examens. Docuthèques – Groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose. [Cité 16 juin 2018]. Disponible sur: <http://site.geht.org/actu/recommandations-preanalytiques-gfht-2017>.
- [13]. ISO/TS 20658:2017 Medical laboratories – Requirements for collection, transport, receipt, and handling of samples [Internet]. [Cité 16 juin 2018]. Disponible sur: <https://www.iso.org/standard/68763.html>.

M.Amrani, et. al. "La Phase Pré-Analytique En Hemostase." *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*, 17(3), (2022): pp. 12-16.