



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2019

Thèse N°080

Étude prospective : Relever les principales anomalies de la phase pré-analytique en hémostase au laboratoire d'Hématologie de l'HMA Marrakech

THÈSE

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE **26/04/2019**

PAR

Mme. Zineb AIT SI ALI

Née le 16 Septembre 1993 à Marrakech

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS :

Phase pré-analytique – Hémostase – Recommandations

JURY

Mme. S. CHELLAK
Professeur de Biochimie-Chimie

PRÉSIDENTE

M. M. CHAKOUR
Professeur d'Hématologie

RAPPORTEUR

Mme. L. ARSALANE
Professeur de Microbiologie-Virologie

JUGES

M. M.I. TAZI
Professeur agrégé d'Hématologie- Clinique

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948

LISTE DES PROFESSEURS

UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires

: Pr. Badie Azzaman MEHADJI

: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen

: Pr. Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la Coopération

: Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux Affaires Pédagogiques

: Pr. Redouane EL FEZZAZI

Secrétaire Générale

: Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato-orthopédie B	FINECH Benasser	Chirurgie - générale
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie-reanimation	FOURAIJI Karima	Chirurgie pédiatrique B
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie-obstétrique	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
ABOUSSAIR Nistrine	Génétique	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
ADERDOUR Lahcen	Oto-rhino-laryngologie	HOCAR Ouafa	Dermatologie
ADMOU Brahim	Immunologie	JALAL Hicham	Radiologie
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique A	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie-réanimation
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	KHATOURI Ali	Cardiologie
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie-obstétrique A	KHOUCANI Mouna	Radiothérapie
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KISSANI Najib	Neurologie
AKHDARI Nadia	Dermatologie	KOULALI IDRISSE Khalid	Traumato-orthopédie
AMAL Said	Dermatologie	KRATI Khadija	Gastro-entérologie
AMINE Mohamed	Epidémiologie-clinique	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	LAKMICH Mohamed Amine	Urologie

AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	LAOUAD Inass	Néphrologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie - Virologie	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie - générale
ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique B	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie A
ASRI Fatima	Psychiatrie	MAHMAL Lahoucine	Hématologie - clinique
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BENELKHAÏAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie - générale	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BOUAITY Brahim	Oto-rhino- laryngologie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUGHALEM Mohamed	Anesthésie - réanimation	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie - chimie	NAJEB Youssef	Traumato- orthopédie
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio- Vasculaire	NARJISS Youssef	Anesthésie- réanimation
BOURROUS Monir	Pédiatrie A	NEJMI Hicham	Rhumatologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie A	NIAMANE Radouane	Oto rhino laryngologie
CHAFIK Rachid	Traumato- orthopédie A	NOURI Hassan	Radiologie
CHAKOUR Mohamed	Hématologie	OUALI IDRISSE Mariem	Chirurgie pédiatrique
CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie générale
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RABBANI Khalid	Oto-rhino- laryngologie
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RAJI Abdelaziz	Traumato- orthopédie
DAHAMI Zakaria	Urologie	SAIDI Halim	Anesthésie- réanimation
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie- réanimation	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Gastro- entérologie

EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SAMLANI Zouhour	Urologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SARF Ismail	Pédiatrie B
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	SBIHI Mohamed	Microbiologie - virologie
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SORAA Nabila	Gynécologie-obstétrique A/B
EL HAOURY Hanane	Traumato-orthopédie A	SOUMMANI Abderraouf	Maladies infectieuses
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	TASSI Noura	Anesthésie-réanimation
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie B	YOUNOUS Said	Médecine interne
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZAHLANE Mouna	Microbiologie
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	ZOUHAIR Said	Chirurgie générale
ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne		

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FADILI Wafaa	Néphrologie
ADALI Imane	Psychiatrie	FAKHIR Bouchra	Gynécologie-obstétrique A
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	FAKHRI Anass	Histologie-embryologie cytogénétique
AISSAOUI Younes	Anesthésie - réanimation	GHOUNDALE Omar	Urologie
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
AIT BATAHAR Salma	Pneumo-phtisiologie	HAROU Karam	Gynécologie-obstétrique B
ALAOUI Mustapha	Chirurgie-vasculaire périphérique	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie - Embryologie - Cytogénétique
ALJ Soumaya	Radiologie	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses

ANIBA Khalid	Neurochirurgie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique B
ATMANE El Mehdi	Radiologie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
BASRAOUI Dounia	Radiologie	LOUHAB Nisrine	Neurologie
BASSIR Ahlam	Gynécologie-obstétrique A	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie (Neonatalogie)
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BELKHOUS Ahlam	Rhumatologie	MEJDANE Abdelhadi	Chirurgie Générale
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie - reanimation
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie B	MOUFID Kamal	Urologie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo-phtisiologie	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BENLAI Abdeslam	Psychiatrie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	QACIF Hassan	Médecine interne
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo-phtisiologie	QAMOUSS Youssef	Anesthésie-reanimation
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie-obstétrique B	RADA Noureddine	Pédiatrie A
BOURRAHOUSAT Aicha	Pédiatrie B	RAFIK Redda	Neurologie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
CHRAA Mohamed	Physiologie	RBAIBI Aziz	Cardiologie
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino - Laryngologie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino-laryngologie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	SAJIAI Hafsa	Pneumo-phtisiologie
EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie - Réanimation
EL BARNI Rachid	Chirurgie-générale	TAZI Mohamed Illias	Hématologie- Clinique
EL HAOUATI Rachid	Chiru Cardio vasculaire	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie - virology
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie

EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZIADI Amra	Anesthésie - reanimation
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ZYANI Mohammed	Médecine interne
EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie		

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	JALLAL Hamid	Cardiologie
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio vasculaire	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	KADDOURI Said	Médecine interne
AKKA Rachid	Gastro - entérologie	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
ALAOUI Hassan	Anesthésie - Réanimation	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
AMINE Abdellah	Cardiologie	LALYA Issam	Radiothérapie
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	MAHFOUD Tarik	Oncologie médicale
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	MARGAD Omar	Traumatologie - orthopédie
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	MILOUDI Mohcine	Microbiologie - Virologie
BABA Hicham	Chirurgie générale	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-Rhino - Laryngologie
BELARBI Marouane	Néphrologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BELBACHIR Anass	Anatomie- pathologique	MOUNACH Aziza	Rhumatologie
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	MOUZARI Yassine	Ophtalmologie

BELGHMAIDI Sarah	Ophthalmologie	NADER Youssef	Traumatologie – orthopédie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie – Réanimation	NADOUR Karim	Oto-Rhino – Laryngologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie (Neonatalogie)	NAOUI Hafida	Parasitologie Mycologie
BOUCHENTOUF Sidi Mohammed	Chirurgie générale	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique
BOUKHRIS Jalal	Traumatologie – orthopédie	NYA Fouad	Chirurgie Cardio – Vasculaire
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	OUEIRAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	REBAHI Houssam	Anesthésie – Réanimation
EL HARRECH Youness	Urologie	RHARRASSI Isam	Anatomie – pathologique
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
EL MEZOUARI El Moustafa	Parasitologie Mycologie	SAOUAB Rachida	Radiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
ELQATNI Mohamed	Médecine interne	SERGHINI Issam	Anesthésie – Réanimation
ESSADI Ismail	Oncologie Médicale	TAMZAOURTE Mouna	Gastro – entérologie
FDIL Naima	Chimie de Coordination Bio-organique	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique	YASSIR Zakaria	Pneumo – phtisiologie
GHAZI Mirieme	Rhumatologie	ZARROUKI Youssef	Anesthésie – Réanimation
GHOZLANI Imad	Rhumatologie	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie Thoracique
HAMMI Salah Eddine	Médecine interne	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio – Vasculaire
Hammoune Nabil	Radiologie		

DÉDICACES

*Je dédie ce travail de thèse à toutes les
personnes qui me sont chères, que j'adore
très fort et qui se reconnaîtront.*

REMERCIEMENTS

*A notre maître et présidente de thèse
Professeur CHELLAK Salîha
Professeur de l'enseignement supérieur de Biochimie-Chimie
Hôpital militaire Avicenne de Marrakech*

*Nous vous remercions pour l'honneur que vous nous faites en acceptant
de présider notre jury de thèse.*

*Nous vous sommes très reconnaissants pour la spontanéité et l'amabilité
avec lesquelles vous avez accepté de juger notre travail.*

*Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont
toujours marqués.*

*Veillez accepter, cher Maître, l'expression de nos sincères
remerciements et de notre profond respect.*

*A notre maître et Rapporteur de thèse
Professeur CHAKOUR Mohamed
Professeur de l'enseignement supérieur d'Hématologie
Hôpital militaire Avicenne de Marrakech*

*Vous nous avez fait le grand honneur de nous confier ce travail et
d'accepter de le diriger.*

*Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre disponibilité et
votre gentillesse méritent toute admiration.*

*Vos qualités humaines exemplaires, votre compétence et votre
dévouement sont pour nous un exemple à suivre dans l'exercice de la
profession médicale.*

*Nous espérons avoir été à la hauteur de votre confiance et de vos
attentes.*

*Veillez accepter, cher maître, le témoignage de notre vive gratitude, de
nos sentiments les plus distingués et de notre plus haute considération.*

*A notre maître et juge de thèse
ARSALANE Lamiae
Professeur de l'enseignement supérieur de Microbiologie-Virologie
Hôpital militaire Avicenne de Marrakech*

*Votre présence au sein de notre honorable jury constitue pour nous un
très grand honneur.
Nous sommes très reconnaissants pour la gentillesse et l'amabilité avec
lesquelles vous avez accepté de juger notre travail.
Veuillez accepter, cher maître, l'expression de notre grande admiration
et nos sincères respects.*

*A notre maître et juge de thèse
Professeur TAZI Mohamed Illias
Professeur agrégé d'Hématologie- Clinique
CHU Mohammed VI -Marrakech*

*Nous tenions à vous exprimer nos sincères remerciements, pour avoir
accepté de siéger parmi les membres de notre jury de thèse.
Nous vous remercions également pour l'honneur que vous nous faites, en
acceptant de juger notre thèse et pour le grand intérêt que vous avez
porté pour notre travail.
Veuillez agréer, cher maître, l'expression de notre reconnaissance et de
notre profond respect.*

FIGURES

Liste des figures

- Figure 1** : Répartition des patients en fonction du sexe.
- Figure 2** : Mention de l'âge des patients sur les fiches de prescription.
- Figure 3** : Mention des renseignements cliniques et thérapeutiques sur les fiches de prescription.
- Figure 4** : Répartition des tubes de prélèvements sanguins en fonction de leur origine.
- Figure 5** : Répartition des tubes internes en fonction de leur service d'origine.
- Figure 6** : Exemple de tube citraté rempli selon les recommandations : jusqu'à l'indice marqué.
- Figure 7** : Exemple de tube citraté non conforme : remplissage insuffisant à moins de 80%.
- Figure 8** : Répartition des tubes internes à remplissage non conforme en fonction du service d'origine.
- Figure 9** : Remplissage des tubes en fonction de leur origine.
- Figure 10** : Triage des tubes de prélèvements reçus en fonction des bilans demandés.
- Figure 11** : Paramètres de la centrifugation (centrifugeuse de la salle d'hémostase).
- Figure 12** : Répartition des prélèvements internes hémolysés reçus en fonction du service d'origine.
- Figure 13** : Répartition des prélèvements hémolysés en fonction de leur origine.
- Figure 14** : Hémostase primaire et formation du clou plaquettaire.
- Figure 15** : Microscopie électronique à balayage des plaquettes sanguines. A = Plaquette non activée/ B = Plaquette activée.
- Figure 16** : Schéma des voies de la coagulation in vitro.
- Figure 17** : Schéma de la fibrinolyse.
- Figure 18** : Représentation du circuit depuis la prescription jusqu'à l'interprétation de l'analyse soulignant l'importance de la phase pré-analytique afin de contrôler et garantir la fiabilité des résultats d'un bilan d'hémostase.
- Figure 19** : Ordre des prélèvements.
- Figure 20** : Comparaison des résultats concernant la mention de l'âge du patient sur la fiche de prescription.

- Figure 21** : Comparaison des résultats concernant la mention des renseignements cliniques et thérapeutiques.
- Figure 22** : Comparaison des pourcentages d'erreur liée au remplissage non conforme.
- Figure 23** : Comparaison des pourcentages des prélèvements coagulés dans les différentes séries d'étude.
- Figure 24** : Comparaison des pourcentages des tubes hémolysés dans les différentes études.
- Figure 25** : Poster à afficher à la salle de prélèvement et au sein des services de l'HMA.

TABLEAUX

Liste des tableaux

- Tableau I** : Remplissage des tubes de prélèvement reçus à la salle d'hémostase.
- Tableau II** : Répartition des tubes internes à remplissage non conforme en fonction du service d'origine
- Tableau III** : Principales caractéristiques des protéines de la coagulation.
- Tableau IV** : Hémostase pédiatrique versus adulte.
- Tableau V** : Résumé des effets de l'exercice sur les plaquettes et les marqueurs de la coagulation et de la fibrinolyse
- Tableau VI** : Pourcentages d'erreur d'identification des différentes études de la phase pré-analytiques en hémostase.
- Tableau VII** : Pourcentages d'erreur liée au remplissage non conforme des différentes études de la phase pré-analytique en hémostase.

ABRÉVIATIONS

Liste des abréviations

ADP	: Adenosine diphosphate.
AMPc	: Adénosine monophosphate cyclique.
AT	: Antithrombine.
CE	: Conformité Européenne.
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute.
CTAD	: Citrate–Theophylline–Adenosine–Dipyridamole.
ECAT	: European Concerted Action on Thromosis.
FII / FV...	: Facteur II / Facteur V ...
FIIa / FVa...	: Facteur II activé / Facteur V activé ...
FVW	: Facteur de Von Willebrand.
GFHT	: Groupe Français d'études sur l'Hémostase et la Thrombose.
GP	: Glycoprotéine.
HMA	: Hôpital Militaire Avicenne.
INR	: International Normalized Ratio.
ISI	: International Sensitivity Index.
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé.
ORL	: Oto–Rhino–Laryngologie.
PAI	: Inhibiteur de l'Activateur du Plasminogène.
PCa	: Protéine C activée.
PDF	: Produits de Dégradation de la Fibrine.
PET	: Polyéthylène téréphtalate.
TAFI	: Inhibiteur de la Fibrinolyse Activé par la Thrombine.
TAT	: Thrombine anti–thrombine.
TCA	: Temps de Céphaline activée.
TFPI	: Inhibiteur de la voie du facteur tissulaire.
TP	: Taux de Prothrombine.

- t-PA** : Activateur du plasminogène de type tissulaire.
- TQ** : Temps de Quick.
- TT** : Temps de thrombine.
- u-PA** : Activateur du plasminogène de type urokinase.

PLAN

INTRODUCTION	1
PATIENTS ET MÉTHODES	4
I. Patients.....	5
II. Méthodes	5
1. Type et période d'étude	5
2. Cadre de l'étude	5
3. Collecte des données.....	6
4. Saisie et analyse des données.....	6
RÉSULTATS	7
I. Paramètres liés à la fiche de prescription.....	8
1. Nom et prénom	8
2. sexe.....	8
3. Age.....	9
4. Renseignements cliniques et thérapeutiques.....	9
II. Paramètres liés au prélèvement	10
1. Origine des prélèvements.....	10
2. Heure du prélèvement	12
3. Délai entre prélèvement et arrivée des tubes en salle d'hémostase.....	12
4. Caractéristiques des tubes utilisés.....	13
5. Caractéristiques de l'anticoagulant utilisé.....	13
6. Ordre des tubes prélevés.....	13
7. Remplissage des tubes.....	14
7.1. Résultats non spécifiques.....	14
7.2. Résultats en fonction de l'origine des tubes.....	16
8. Prélèvements coagulés.....	18
III. Paramètres liés au prétraitement des prélèvements.....	18
1. Système d'enregistrement des tubes au niveau de la salle d'hémostase.....	18
2. Triage des tubes.....	19
3. Centrifugation.....	20
4. Prélèvements hémolysés	21
DISCUSSION	23
Chapitre 1 : Rappels	24

A. Etapes de l'hémostase.....	24
I. Hémostase primaire.....	24
1. Acteurs de l'hémostase primaire	25
2. Déroulement de l'hémostase primaire	27
II. Coagulation.....	29
1. Acteurs de la coagulation : protéines de la coagulation.....	29
2. Déroulement de la coagulation	31
3. Régulation de la coagulation	34
III. Fibrinolyse.....	35
1. Acteurs de la fibrinolyse	36
2. Déroulement de la fibrinolyse	37
B. Exploration de l'hémostase	39
I. Phase pré-analytique.....	39
1. Définition	39
2. Importance et complexité.....	41
3. Etapes de la phase pré-analytique	42
3.1. Fiche de prescription.....	42
3.1.1. Facteurs de variation physiologiques	43
3.1.2. Facteurs de variation pathologiques	46
3.1.3. Facteurs de variation liés à la prise des médicaments	48
3.1.4. Facteurs de variation liés à l'environnement	49
3.2. Prélèvement.....	50
3.3. Transport des prélèvements.....	60
3.4 Réception et prétraitement des prélèvements au laboratoire	61
4. Rejet des prélèvements non conformes.....	65
II. Phase analytique.....	66
1. Tests explorant l'hémostase primaire	66
2. Tests explorant la coagulation	67
3. Tests explorant la fibrinolyse.....	67
III. Phase post-analytique.....	68
Chapitre 2 : Discussion des résultats	68
I. Paramètres liés à la fiche de prescription.....	68
1. Nom et prénom	68
2. sexe.....	70
3. Age.....	70

4. Renseignements cliniques et thérapeutiques.....	71
II. Paramètres liés au prélèvement	73
1. Heure du prélèvement.....	73
2. Délai entre prélèvement et arrivée des tubes en salle d'hémostase	73
3. Caractéristiques des tubes utilisés.....	74
4. Caractéristiques de l'anticoagulant utilisé.....	75
5. Ordre des tubes prélevés	75
6. Remplissage des tubes.....	76
7. Prélèvements coagulés.....	78
III. Paramètres liés au prétraitement des prélèvements.....	79
1. Systèmes d'enregistrement et triage des tubes au niveau de la salle d'hémostase...	79
2. Centrifugation.....	79
3. Prélèvements hémolysés	80
Chapitre 3 : Recommandations.....	82
CONCLUSION.....	84
ANNEXES.....	87
RÉSUMÉS.....	89
BIBLIOGRAPHIE.....	96

INTRODUCTION

La prise en charge d'un prélèvement en biologie comporte trois grandes phases distinctes et enchainées dans le temps : les phases pré-, per- et post-analytiques. Selon des données fiables, les erreurs pré-analytiques représentent encore près de 70% de toutes les erreurs survenant dans le laboratoire, constituant un danger et une perte de temps pour le patient, ainsi qu'un surcoût [1, 2, 3].

La maîtrise des différentes composantes de l'étape pré-analytique est un sujet toujours d'actualité. Elle occupe une place cruciale dans la validité des tests d'exploration de l'hémostase. Elle conditionne une grande partie de la valeur informative clinique des résultats rendus. C'est, en hémostase, un volet important du plan d'assurance qualité. Cette phase comprend : la favorisation d'une juste prescription ; la diffusion des informations permettant au laboratoire de comprendre et intégrer les particularités du patient et de son traitement ; l'optimisation de la qualité du prélèvement, des conditions de son acheminement vers le laboratoire et de son accueil ; et enfin la préparation de l'échantillon avant analyse, avec centrifugation, stockage, congélation puis décongélation si nécessaire [4].

Tout le processus analytique, y compris la phase pré-analytique, est sous la responsabilité du biologiste. Son rôle doit dépasser le cadre de son laboratoire pour parer aux failles qui persistent avant l'arrivée du tube au laboratoire. Il est nécessaire d'assurer un respect des procédures recommandées pour des résultats fiables. Le biologiste doit sensibiliser le milieu médical et paramédical environnant sur l'importance capitale du respect des conditions pré-analytiques et les facteurs d'influences et d'erreurs les plus importants qui conditionnent la fiabilité des résultats du laboratoire [1].

Notre travail a mis le point sur les différentes étapes pré-analytiques et leur influence sur les tests explorant l'hémostase, les principales anomalies observées au cours de cette phase, ainsi que les nouvelles recommandations améliorant les pratiques quotidiennes des prescripteurs, préleveurs, techniciens et biologistes, à travers une analyse bibliographique et une étude prospective, sous forme d'enquête au sein du laboratoire d'Hématologie de l'Hôpital

Étude prospective : Relever les principales anomalies de la phase pré-analytique en hémostase au laboratoire d'Hématologie de l'HMA Marrakech

Militaire Avicenne de Marrakech, étalée sur une période de 04 semaines, dont l'objectif est de relever les principales anomalies de la phase pré-analytique en hémostase et proposer également des moyens visant à les corriger.

PATIENTS & MÉTHODES

I. Patients

Notre étude concernait les tubes de prélèvements, des patients ayant un bilan d'hémostase à effectuer, et qui sont reçus pour analyse, à la salle d'hémostase du Laboratoire d'Hématologie de l'Hôpital Militaire Avicenne (HMA) de Marrakech.

II. Méthodes

1. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude prospective, descriptive, analytique et quantitative, intéressant une partie de la phase pré-analytique en matière d'hémostase. Elle est sous forme d'une enquête, relevant les principales erreurs liées à cette phase et proposant des moyens visant à les corriger, réalisée au niveau du laboratoire d'hématologie de l'HMA et étalée sur une période de 4 semaines du 11/09/2017 au 08/10/2017.

2. Cadre de l'étude

Le laboratoire d'hématologie de l'HMA se situe au sein du bloc des laboratoires. Il se compose d'une unité d'hémostase et d'une unité de cytologie

Dans les locaux de ce laboratoire, nous distinguons :

- Une première salle d'hémostase équipée de deux automates et deux centrifugeuses.
- Une deuxième salle équipée de trois automates de cyto-hématologie.

Le personnel est composé d'un professeur d'hématologie, deux spécialistes, deux résidentes en formation et quatre techniciens. L'activité démarrait à 8 heures du matin.

Notre enquête s'est déroulée au niveau de la salle d'hémostase, recevant les tubes de prélèvements provenant des différents services hospitaliers (médecine, chirurgie, urgences) ainsi que de la salle des prélèvements (pour les patients non hospitalisés).

3. Collecte des données

L'ensemble des différents paramètres de la phase pré-analytique, évalués lors de notre enquête, ont été collectés et renseignés par moi-même, pour chaque tube reçu en salle d'hémostase à l'aide d'une fiche d'exploitation exhaustive, préétablie (annexe). Le nombre total des tubes examinés et les fiches de prescription correspondantes durant la période de l'étude était de 400.

4. Saisie et analyse des données

Les données ainsi recueillies à l'aide des 400 fiches d'exploitation ; remplies à partir de l'évaluation de chaque tube de prélèvement reçu et fiche de prescription correspondante, ont été ensuite saisies, informatisées et traitées sur le Logiciel Microsoft Excel. L'exploitation statistique a été réalisée également à l'aide du Logiciel Microsoft Excel.

L'étude a comporté une analyse descriptive avec calcul des taux d'erreurs spécifiques des différents paramètres évalués.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage et représentés sous formes d'histogrammes, secteurs et tableaux.

RÉSULTATS

I. Paramètres liés à la fiche de prescription

1. Nom et prénom

Le nom et le prénom des patients prélevés ont été mentionnés par les prescripteurs sur toutes les fiches de prescription. Aucune erreur d'identification n'a été signalée à ce niveau ; Le nom et le prénom marqués sur l'étiquette de chaque tube, étaient conformes, sans aucune exception à ceux mentionnés sur la fiche de prescription correspondante.

2. Sexe

Dans notre série, sur les 400 patients prélevés, 178 (44.5%) étaient de sexe féminin et 222 (55.5%) étaient de sexe masculin (avec un sexe ratio calculé à 1.24).

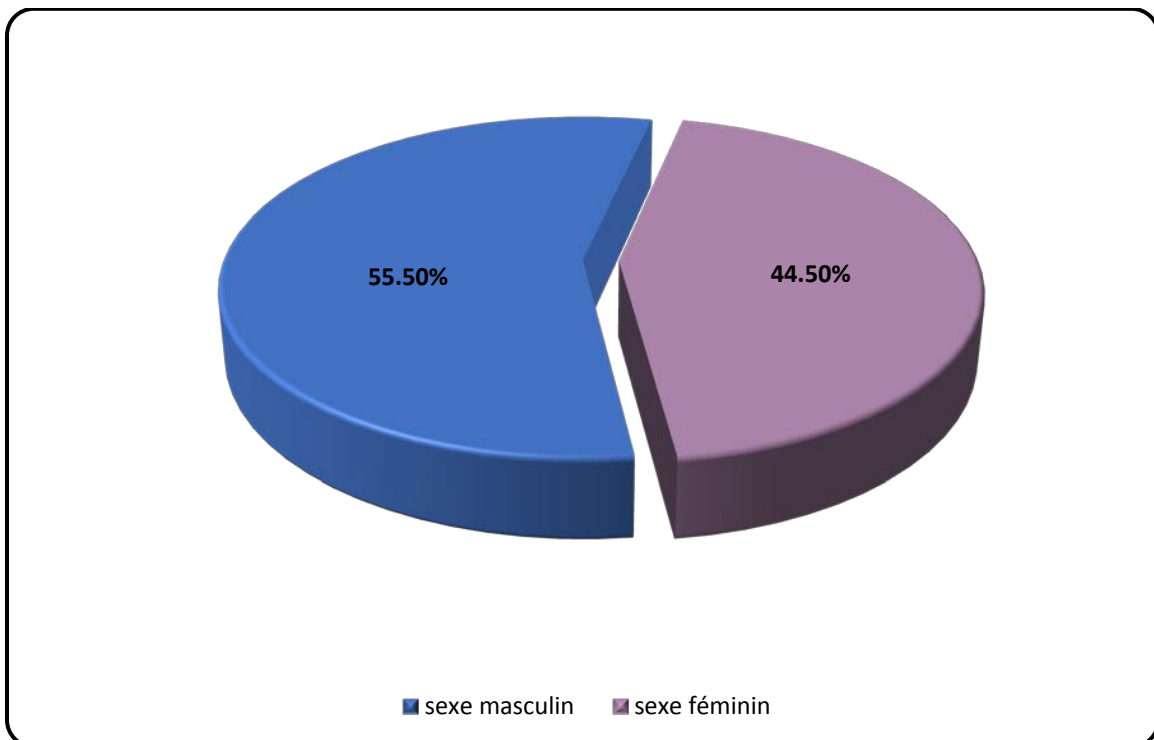


Figure 1 : Répartition des patients en fonction du sexe.

3. Age

L'âge des patients a été mentionné sur les fiches de prescription dans 293 cas (73.25%), par ailleurs la notion de l'âge a été absente dans 107 cas (26.75%).

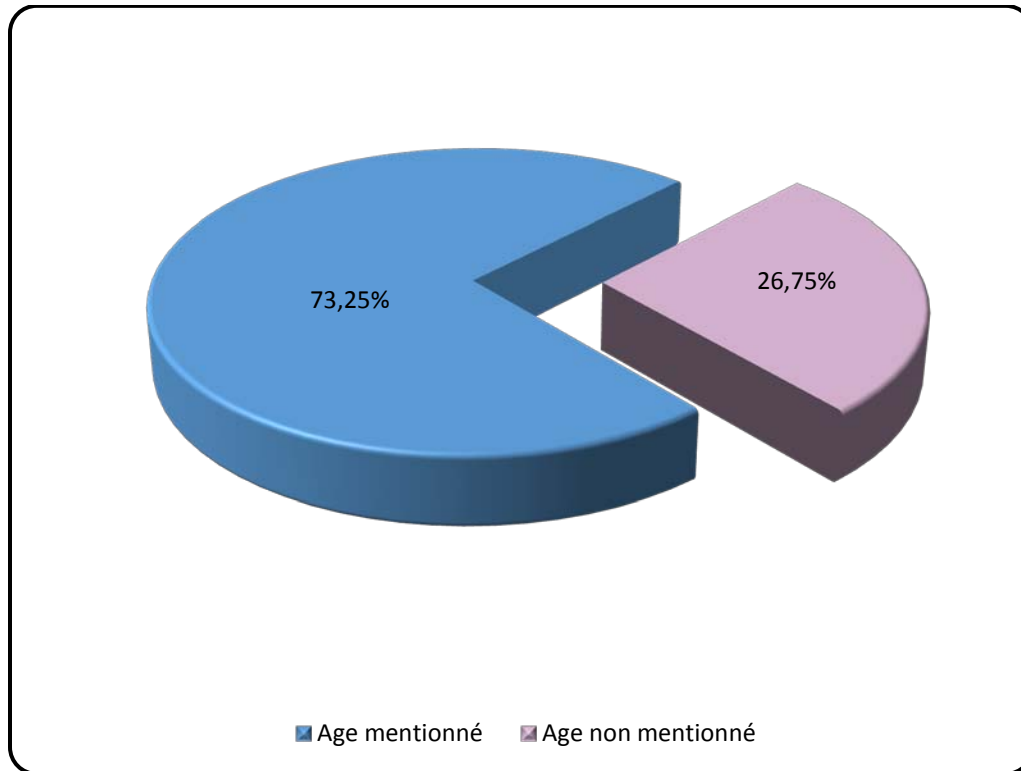


Figure 2 : Mention de l'âge des patients sur les fiches de prescription.

4. Renseignements cliniques et thérapeutiques

Les renseignements cliniques et thérapeutiques des patients prélevés étaient mentionnés sur les fiches de prescription dans 52 cas (13%), sur les 348 (87%) autres fiches de prescription, aucun renseignement clinique ou thérapeutique n'a été rapporté.

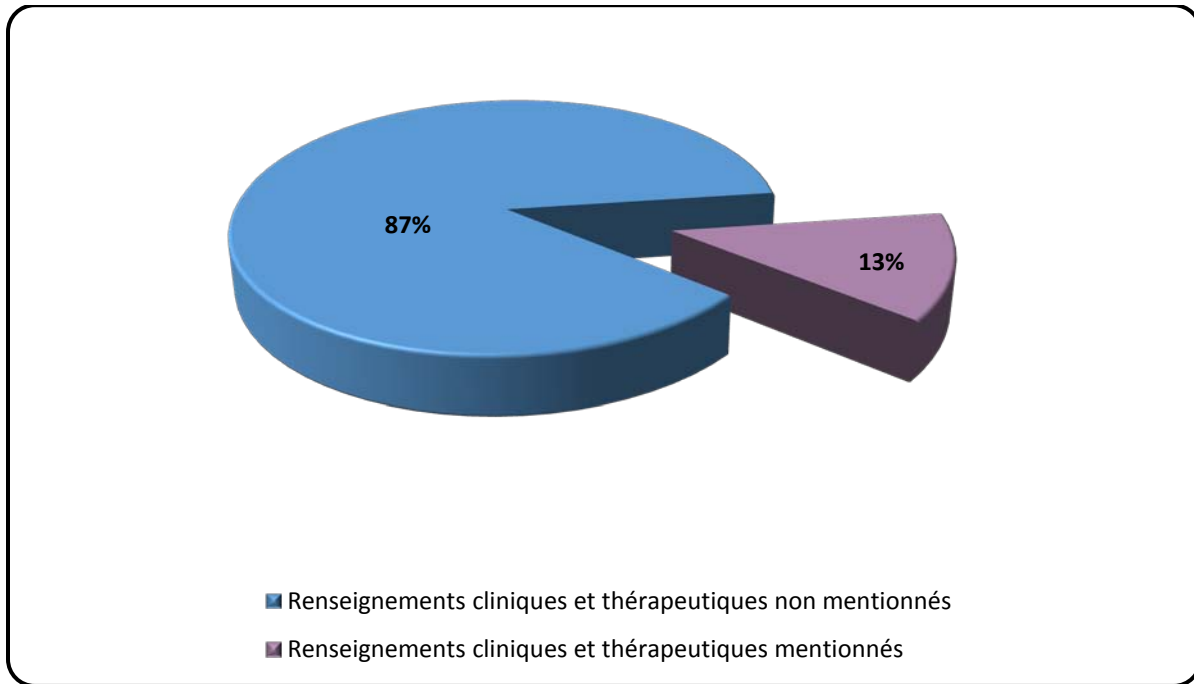


Figure 3 : Mention des renseignements cliniques et thérapeutiques sur les fiches de prescription.

II. Paramètres liés au prélèvement

1. Origine des prélèvements

Sur les 400 tubes de prélèvements sanguins reçus à la salle d'hémostase, 251(62.75%) ont été réalisés au niveau de la salle de prélèvements pour les patients non hospitalisés (externes). Les 149 (37.25%) autres tubes de prélèvements ont été réalisés au niveau des services hospitaliers (internes).

La répartition des 149 tubes internes était comme suit :

- ❖ 37 (24.83%) tubes provenaient du service de la Réanimation.
- ❖ 35 (23.48%) tubes provenaient du service des Urgences.
- ❖ 29 (19.46%) tubes provenaient du service de Médecine Interne.
- ❖ 16 (10.73%) tubes provenaient du service de Cardiologie.
- ❖ 12 (8.05%) tubes provenaient du service de Neurologie.

- ❖ 5 (3.35%) tubes provenaient du service de Pneumologie.
- ❖ 4 (2.68%) tubes provenaient du service de Neurochirurgie.
- ❖ 3 (2.01%) tubes provenaient du service de Chirurgie maxillo-faciale.
- ❖ 2 (1.34%) tubes provenaient du service de Chirurgie ORL.
- ❖ 2 (1.34%) tubes provenaient du service de Chirurgie viscérale.
- ❖ 1 (0.67%) tube provenait du service de Chirurgie cardio-vasculaire.
- ❖ 1 (0.67%) tube provenait du service de Chirurgie urologie.
- ❖ 1 (0.67%) tube provenait du service de Psychiatrie.
- ❖ 1 (0.67%) tube provenait du service d'Hématologie clinique.

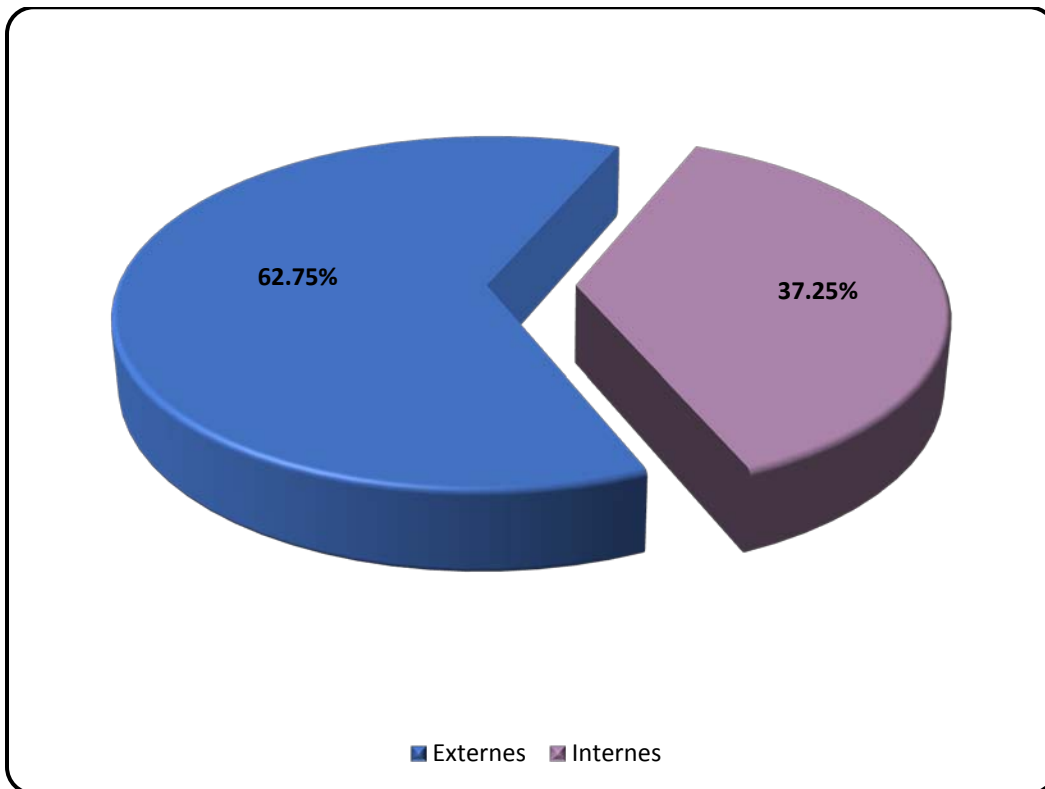


Figure 4 : Répartition des tubes de prélèvements sanguins en fonction de leur origine.

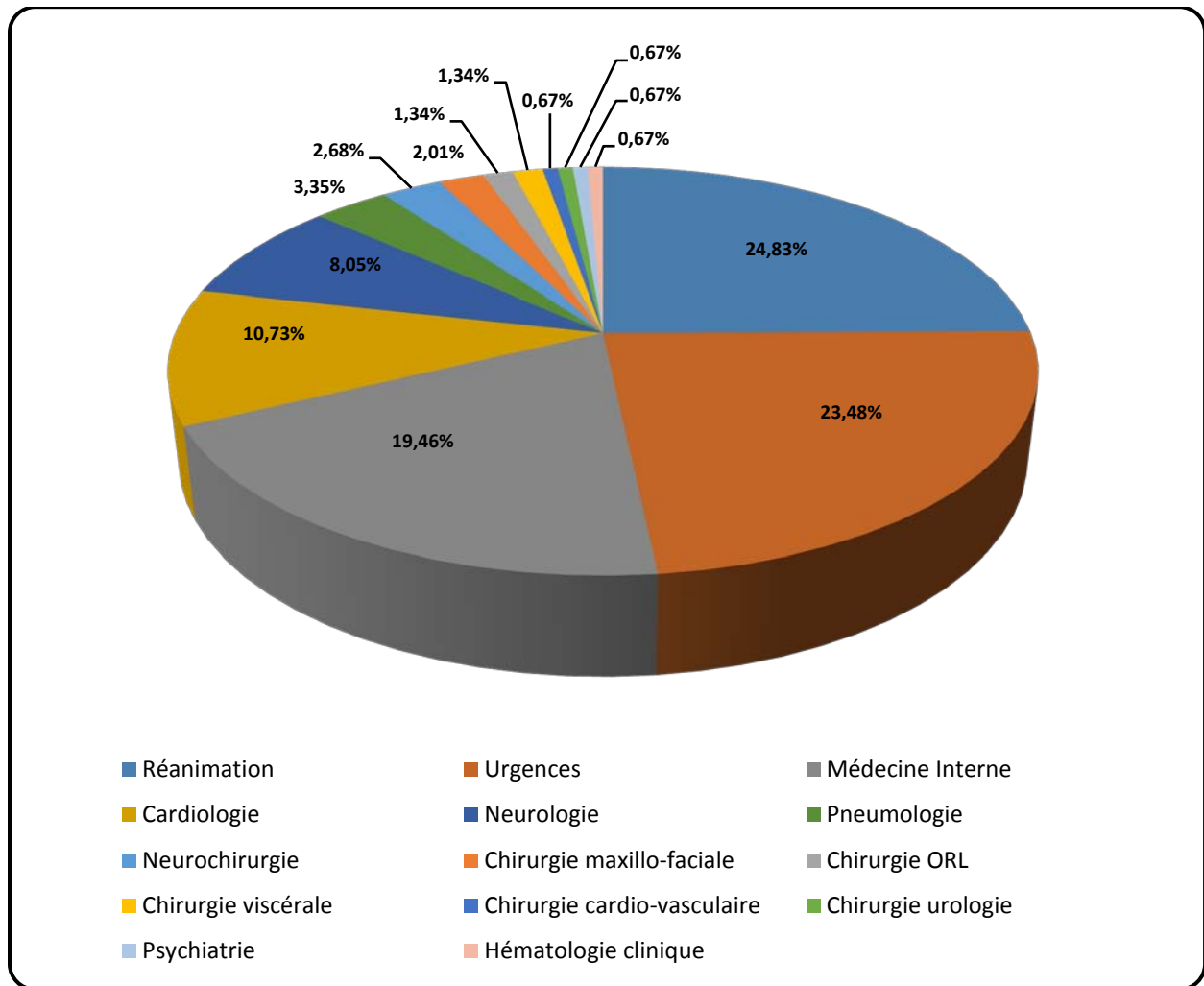


Figure 5 : Répartition des tubes internes en fonction de leur service d'origine.

2. Heure du prélèvement

Dans notre série, l'heure exacte du prélèvement n'était mentionnée ni sur les fiches de prescription ni sur les étiquettes des tubes des prélèvements reçus à la salle d'hémostase.

3. Délai entre prélèvement et arrivée des tubes en salle d'hémostase

Dans notre étude, le délai entre le prélèvement et l'arrivée des tubes en salle d'hémostase variait en fonction de l'origine des tubes.

Pour les tubes provenant des différents services (internes), ce délai était inconnu, en raison de la non-disponibilité des informations concernant l'heure exacte de la réalisation du prélèvement pour ces tubes.

Quant aux tubes provenant de la salle de prélèvement du laboratoire (externes), ils sont acheminés à la salle de traitement sans délai, une fois réalisés, ils sont transportés par un agent dans l'immédiat.

4. Caractéristiques des tubes utilisés

- Date de péremption :

Dans notre enquête la date de péremption était respectée, pour la totalité des tubes de prélèvements reçus à la salle d'hémostase sans exception.

- Matière :

Tous les tubes de prélèvements reçus à la sale d'hémostase, étaient en polyéthylène téréphtalate (PET) et portaient le marquage CE (Conformité Européenne).

5. Caractéristiques de l'anticoagulant utilisé

- Nature : L'anticoagulant utilisé pour les 400 tubes de prélèvements reçus, était le citrate de sodium.
- Concentration : La concentration de l'anticoagulant utilisé pour les 400 tubes de prélèvements reçus, était de 3.8%.

6. Ordre des tubes prélevés

- Les tubes provenant des différents services (internes) :

L'ordre de chaque tube des 149 tubes internes reçus à la salle d'hémostase était inconnu.

- Les tubes provenant de la salle de prélèvement du laboratoire (externes) :
via l'interrogatoire du personnel de la salle de prélèvement l'ordre des tubes est :
 - Bilan d'hémostase demandé seul : le prélèvement sur tube citraté était réalisé seul sans utilisation préalable d'un tube de purge.
 - Bilan d'hémostase demandé avec une série d'examen nécessitant un prélèvement sur tube sec (sans additifs ni activateurs) : le prélèvement dédié à l'étude de l'hémostase était réalisé en deuxième position après le prélèvement sur tube sec.

7. Remplissage des tubes

7.1. Résultats généraux

Dans notre série, les résultats concernant le remplissage des tubes de prélèvements sanguins obtenus sont expliqués dans le tableau suivant :

Tableau I : Remplissage des tubes de prélèvement reçus à la salle d'hémostase.

Remplissage	Nombre de tubes	Pourcentage
Recommandé (> 90%)	149	37.25%
Acceptable (> 80%)	162	40.5%
Non conforme (< 80%)	89	22.25%
Total	400	100%



Figure 6 : Exemple de tube citraté rempli selon les recommandations : jusqu'à l'indice marqué.

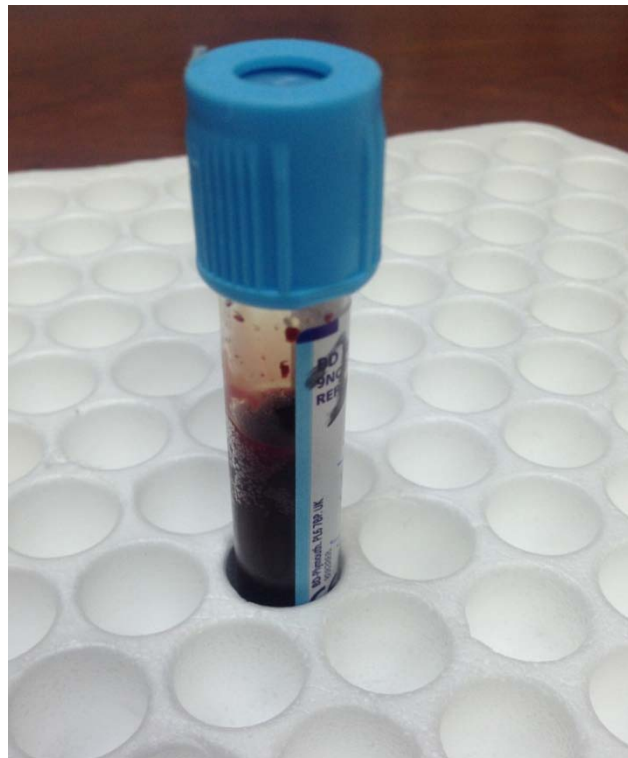


Figure 7 : Exemple de tube citraté non conforme : remplissage insuffisant à moins de 80%.

7.2. Résultats en fonction de l'origine des tubes

- ❖ Tubes provenant des différents services (internes) :

Dans notre série, sur les 149 tubes de prélèvements sanguins internes : 45 (30.2%) ont été remplis à plus de 90%, 62 (41.61%) ont été remplis à plus de 80%, les 42 (28.18%) autres tubes ont été remplis à moins de 80%.

Tableau II : Répartition des tubes internes à remplissage non conforme en fonction du service d'origine.

Service	Tubes non conformes	Pourcentage par rapport à la totalité des tubes internes à remplissage non conforme
Urgences	14	33.33%
Réanimation	9	21.42%
Médecine interne	7	16.66
Cardiologie	3	7.14%
Neurologie	3	7.14%
Pneumologie	2	4.76%
Psychiatrie	1	2.38%
Chirurgie ORL	1	2.38%
Chirurgie viscérale	1	2.38%
Chirurgie cardio-vasculaire	1	2.38%

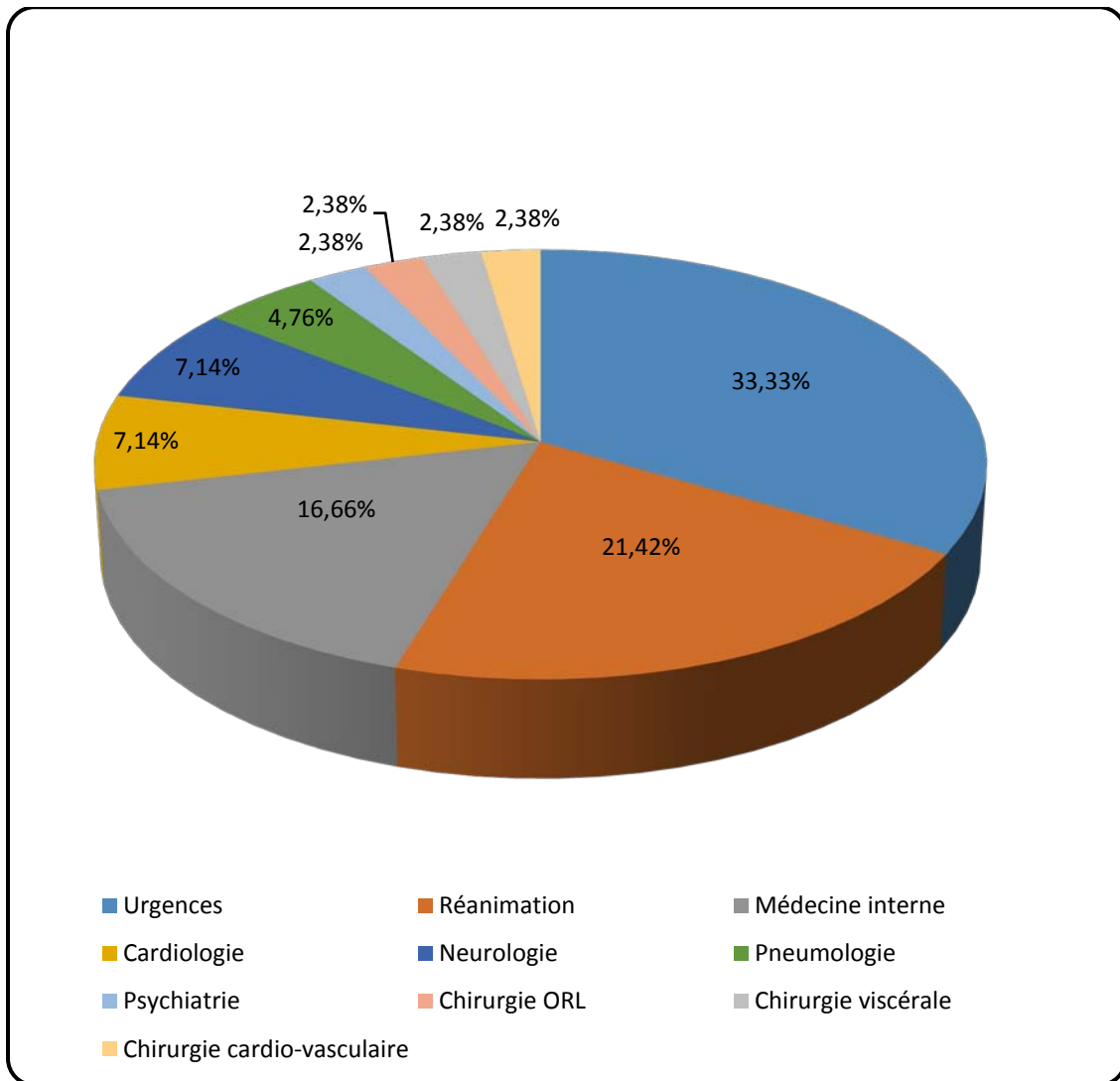


Figure 8 : Répartition des tubes internes à remplissage non conforme en fonction du service d'origine.

❖ Tubes provenant de la salle de prélèvement du laboratoire (externes) :

Quant aux 251 tubes de prélèvements externes ; 104 (41.43%) ont été remplis à plus de 90%, 100 (39.84%) ont été remplis à plus de 80%, les 47 (18.72%) autres tubes ont été remplis à moins de 80%.

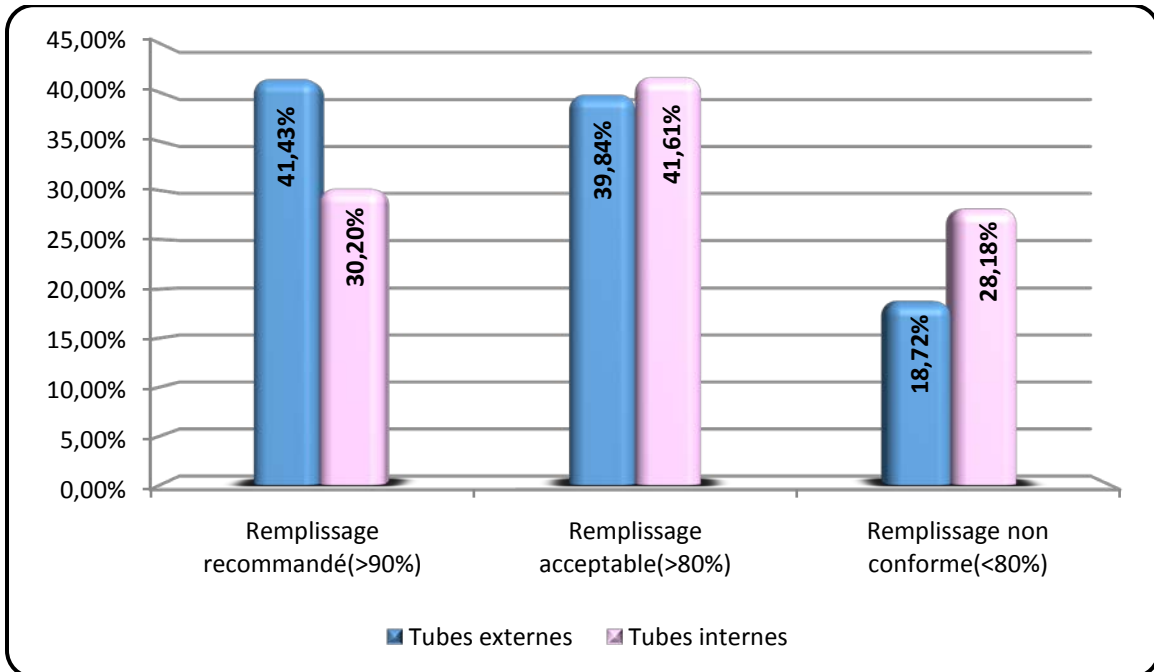


Figure 9 : Remplissage des tubes en fonction de leur origine.

8. Prélèvements coagulés

Dans notre série, aucun tube de prélèvement, reçu à la salle d'hémostase n'était coagulé.

III. Paramètres liés au prétraitement des prélèvements

1. Système d'enregistrement des tubes au niveau de la salle d'hémostase

Le système d'enregistrement utilisé durant notre enquête se réalisait en deux étapes.

- La première était manuelle ; Le technicien du laboratoire d'hématologie procède à l'identification des tubes, en donnant à chaque tube reçu un chiffre, en respectant l'ordre d'arrivée des tubes, noté à l'aide d'un marqueur sur le tube et sur la fiche de prescription correspondante.

- La deuxième était l'étape d'enregistrement informatique ; le technicien saisit les informations de chaque patient prélevé (Nom, Prénom, Age...) sur l'ordinateur (lié à l'automate d'hémostase) selon l'ordre préétabli durant l'étape manuelle.

2. Triage des tubes

Le triage des tubes de prélèvements sanguins reçus à la salle d'hémostase, était réalisé manuellement par les techniciens du laboratoire. Les tubes étaient triés en fonction des examens demandés sur la fiche de prescription, afin d'être traités par la suite.

Les bilans demandés pour l'exploration de l'hémostase étaient variés, ils étaient répartis comme suit :

TP : 387 demandes (soit 96.75% du total des fiches de prescription reçues).

INR : 121 demandes (soit 30.25% du total des fiches de prescription reçues).

TCA : 258 demandes (soit 64.50% du total des fiches de prescription reçues).

Fibrinogène : 15 demandes (soit 3.75% du total des fiches de prescription reçues).

Anticorps anticoagulants circulants : 3 demandes (soit 0.75% du total des fiches de prescription reçues).

Protéines C et S : 3 demandes (soit 0.75% du total des fiches de prescription reçues).

Antithrombine : 3 demandes (soit 0.75% du total des fiches de prescription reçues).

Facteur VIII : 1 demande (soit 0.25% du total des fiches de prescription reçues).

D-dimères : 1 demande (soit 0.25% du total des fiches de prescription reçues).

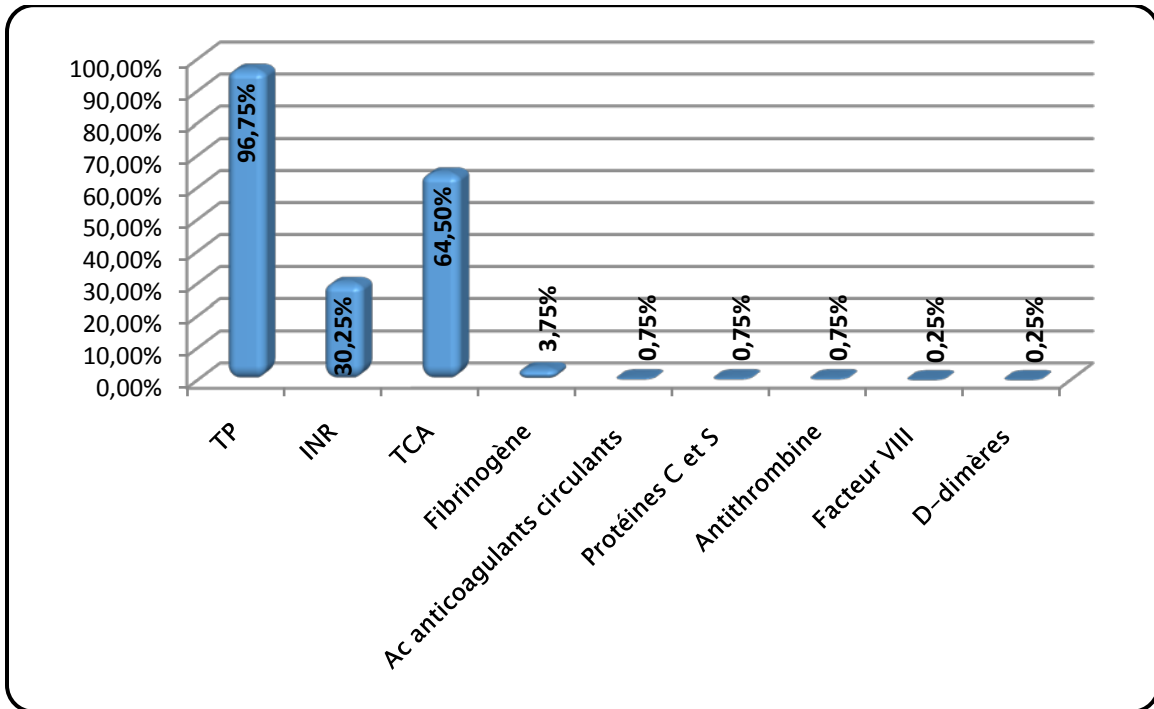


Figure 10 : triage des tubes de prélèvements reçus en fonction des bilans demandés.

3. Centrifugation

- Délai entre la réception des tubes et leur centrifugation

Le délai entre la réception des tubes de prélèvements sanguins et leur centrifugation était de 10 à 20 min pour les 400 tubes reçus à la salle d'hémostase.

- Vitesse de rotation

La centrifugeuse était programmée sur une vitesse standard de 5000g (unité d'accélération) pour tous les tubes de prélèvements, quelque soit l'examen biologique demandé.

- Durée de la centrifugation

La durée de centrifugation pour les 400 tubes était de 5min quelque soit l'examen demandé.

- Température de la centrifugation

La centrifugeuse était programmée sur une température de 22 °C, pour tous les tubes quelque soit l'examen demandé.

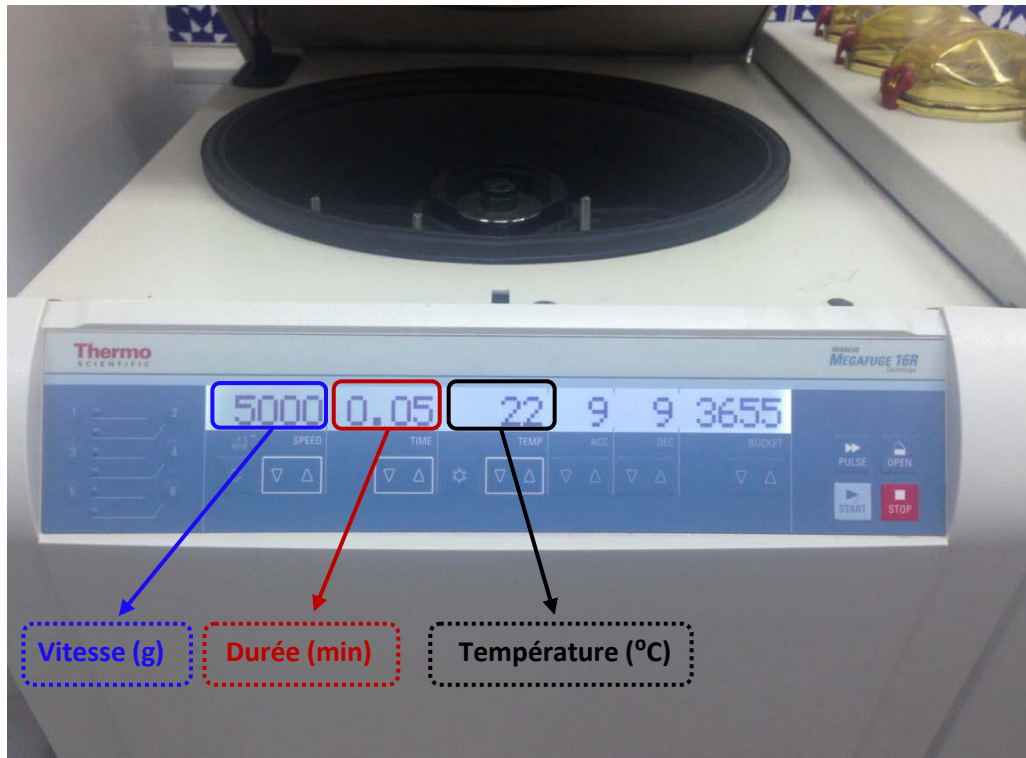


Figure 11 : Paramètres de la centrifugation (centrifugeuse de la salle d'hémostase).

4. Prélèvements hémolysés

Les prélèvements sanguins hémolysés (plasma séparé grâce à la centrifugation, est coloré plus ou moins fortement, en fonction du degré de l'hémolyse, en rouge orangé) étaient au nombre de 12 (3% de la totalité des tubes reçus).

- Tubes provenant des différents services (internes) :

Les prélèvements sanguins hémolysés étaient au nombre de 10 (6.71%). 7 (70%) de ces prélèvements provenaient du service des Urgences, 2 (20%) avaient pour origine le service de Médecine interne et 1 (10%) provenait du service de Réanimation.

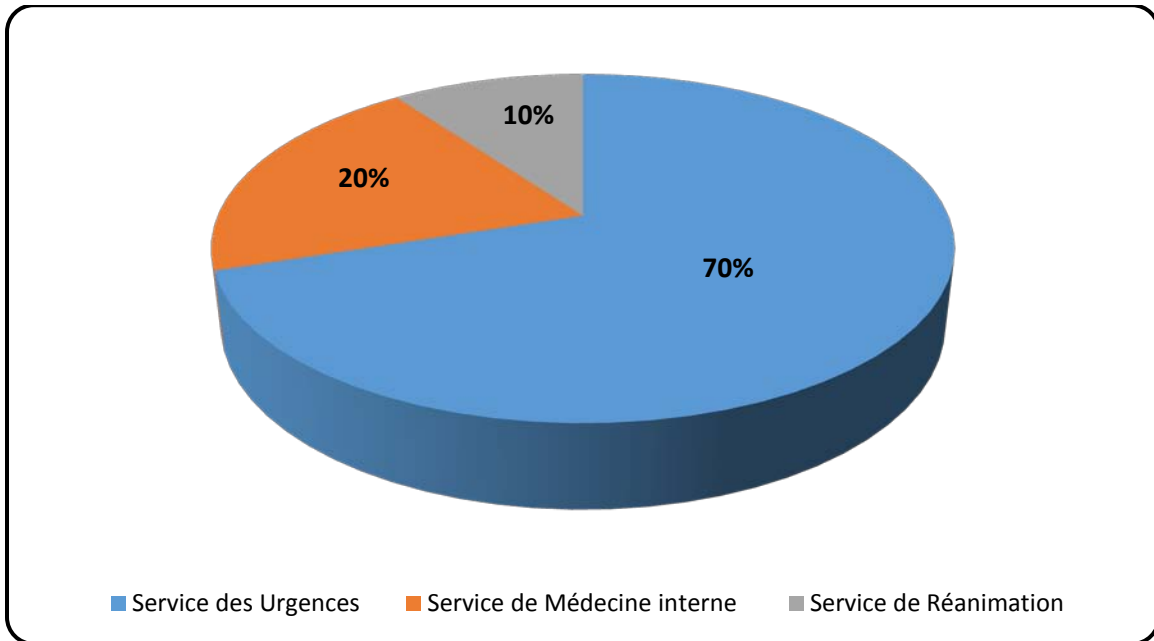


Figure 12 : Répartition des prélèvements internes hémolysés reçus en fonction du service d'origine.

- Tubes provenant de la salle de prélèvement du laboratoire (externes) :

Les prélèvements sanguins hémolysés étaient au nombre de 2(0.79%).

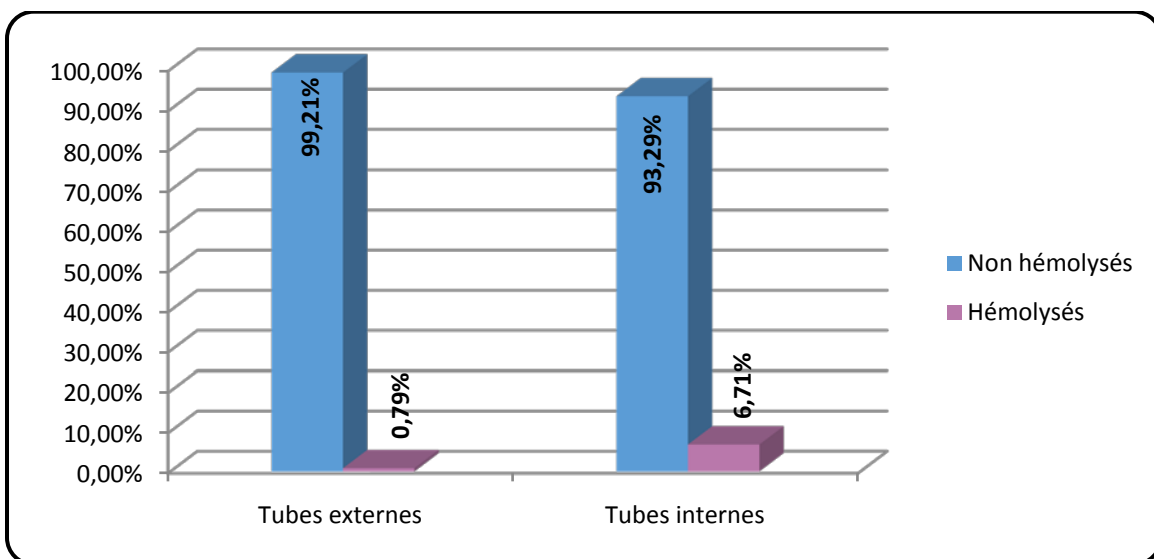


Figure 13 : Répartition des prélèvements hémolysés en fonction de leur origine.

DISCUSSION

Chapitre 1 : Rappels

A. Etapes de l'hémostase [5, 6, 7]

L'hémostase désigne l'ensemble des mécanismes physiologiques qui concourent à maintenir le sang à l'état fluide à l'intérieur des vaisseaux, empêchant ainsi les thromboses. Ces mécanismes permettent aussi la prévention et l'arrêt des hémorragies, en cas de lésion de la paroi vasculaire. L'hémostase comprend trois phases intriquées et interdépendantes à savoir :

- Hémostase primaire, première étape d'urgence du contrôle hémorragique, conduisant au thrombus plaquettaire en une durée de 3 à 5 minutes.
- Coagulation plasmatique, dont le rôle est de consolider le thrombus plaquettaire par la constitution d'un réseau protéique de fibrine en une durée de 5 à 10 minutes.
- Fibrinolyse assurant secondairement la dégradation enzymatique de la masse fibrino-plaquettaire à l'issue de la réparation vasculaire en une durée de 48 à 72 heures.

I. Hémostase primaire

Les vaisseaux, les plaquettes et au moins deux facteurs plasmatiques ; le facteur Willebrand et le fibrinogène, sont les acteurs essentiels de l'hémostase primaire. La vasoconstriction réflexe du vaisseau blessé facilite l'adhésion et l'agrégation plaquettaire aboutissant à la formation du thrombus plaquettaire [8].

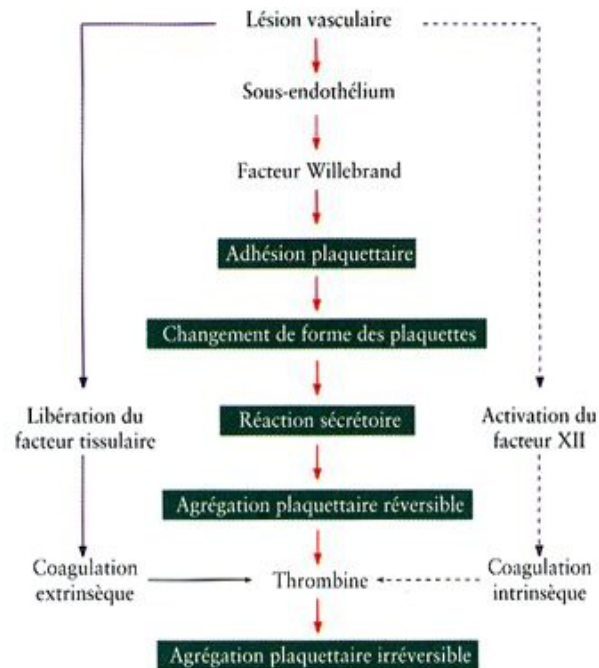


Figure 14 : Hémostase primaire et formation du clou plaquettaire [9].

1. Acteurs de l'hémostase primaire

a. Endothélium vasculaire [10]

L'endothélium vasculaire est situé à l'interface entre le sang et la paroi vasculaire et représente une surface non-thrombogène, permettant l'écoulement du sang dans la lumière vasculaire. Les responsables du maintien de l'équilibre anti-thrombotique de l'endothélium sont à la fois des facteurs physiques tels l'existence de forces de répulsion entre plaquettes et endothélium dues aux charges négatives de leurs membranes respectives, et des facteurs biochimiques tels que la synthèse et la libération d'inhibiteurs de l'activation plaquettaire : prostacycline et monoxyde d'azote. Egalement, les substances potentiellement antithrombine, telles que les glycosaminoglycannes et la thrombomoduline, contribuent à réduire l'activation plaquettaire locale.

b. Plaquettes [7]

Il s'agit de cellules anucléées de 2 à 3 µm de diamètre et d'un volume de 8 à 10 fl, produites dans la moelle osseuse par le biais d'une fragmentation cytoplasmique de leurs précurseurs mégacaryocytaires.

Le taux de plaquettes sanguines varie de 150 à 400 G/l, le tiers du pool plaquettaire périphérique est séquestré dans la rate. Les plaquettes ont une durée de vie de 8 à 10 jours.

c. Facteur de Von Willebrand [11]

Le FVW est une GP synthétisée par les cellules endothéliales vasculaires (70%) et par les mégacaryocytes (30%). Il peut être stocké dans les corps de Weibel-Palade de l'endothélium vasculaire ou dans les granules alpha des mégacaryocytes et des plaquettes, avant d'être libéré. Il est de ce fait présent dans le sang circulant, les plaquettes et les mégacaryocytes, l'endothélium et le sous-endothélium vasculaires.

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.

d. Fibrinogène [7]

Il s'agit d'une protéine soluble synthétisée par le foie, qui est transformée en fibrine insoluble par la thrombine lors de l'activation de la coagulation. Le fibrinogène exerce en outre un rôle important, au niveau de l'hémostase primaire en assurant les ponts moléculaires inter-plaquettaires à l'origine des agrégats plaquettaires.

2) Déroulement de l'hémostase primaire

a. Temps vasculaire [12]

Il correspond à la vasoconstriction immédiate à toute lésion vasculaire. Elle est secondaire en grande partie à un réflexe neurogène du système sympathique, renforcée par la sécrétion locale des facteurs comme l'endothéline, un puissant vasoconstricteur synthétisé par l'endothélium. En réduisant le débit sanguin, la vasoconstriction diminue pendant une brève période la perte sanguine.

b. Temps plaquettaire

La vasoconstriction est suivie rapidement par l'obturation de la plaie vasculaire par un thrombus plaquettaire peu compact, le thrombus blanc ou clou plaquettaire de Hayem. Sa formation comporte trois phases successives [12] :

❖ Adhésion plaquettaire [12]

Les plaquettes adhèrent sur les berges de la plaie vasculaire, au collagène dénudé et à la matrice extracellulaire sous-endothéliale du tissu conjonctif en présence d'un cofacteur, le FVW. Ce dernier est nécessaire pour l'adhésion des plaquettes aux fibres de collagène : il réalise un pont moléculaire, entre le collagène exposé et le récepteur des différentes glycoprotéines situées sur la surface des plaquettes activées.

Les plaquettes forment initialement une monocouche recouvrant la brèche vasculaire et leur activation se fait en quelques secondes (10 à 20 s).

Les plaquettes adhèrent au FVW fixé sur le collagène sous-endothélial (type I ou III) par l'intermédiaire du récepteur GP-Ib-IX-V. Cette adhésion est passagère et réversible : pendant cette phase, les plaquettes peuvent se déplacer lentement sur les berges de la plaie et éventuellement s'en détacher si elles ne sont pas activées.

❖ **Activation plaquettaire** [12]

Elle conduit à l'expression des récepteurs des glycoprotéines situés à la surface de la membrane plaquettaire, à la libération du contenu des granules de sécrétion et à la synthèse de thromboxane A₂ (à partir de l'acide arachidonique de la membrane plasmique des plaquettes). Ce dernier est un des principaux enzymes du processus inflammatoire et un puissant vasoconstricteur qui stimule localement la libération du contenu des vésicules plaquettaires. L'activation des plaquettes renforce la vasoconstriction locale et favorise l'activation des plaquettes circulantes qui adhèrent les unes aux autres. Puis survient la phase d'agrégation plaquettaire.

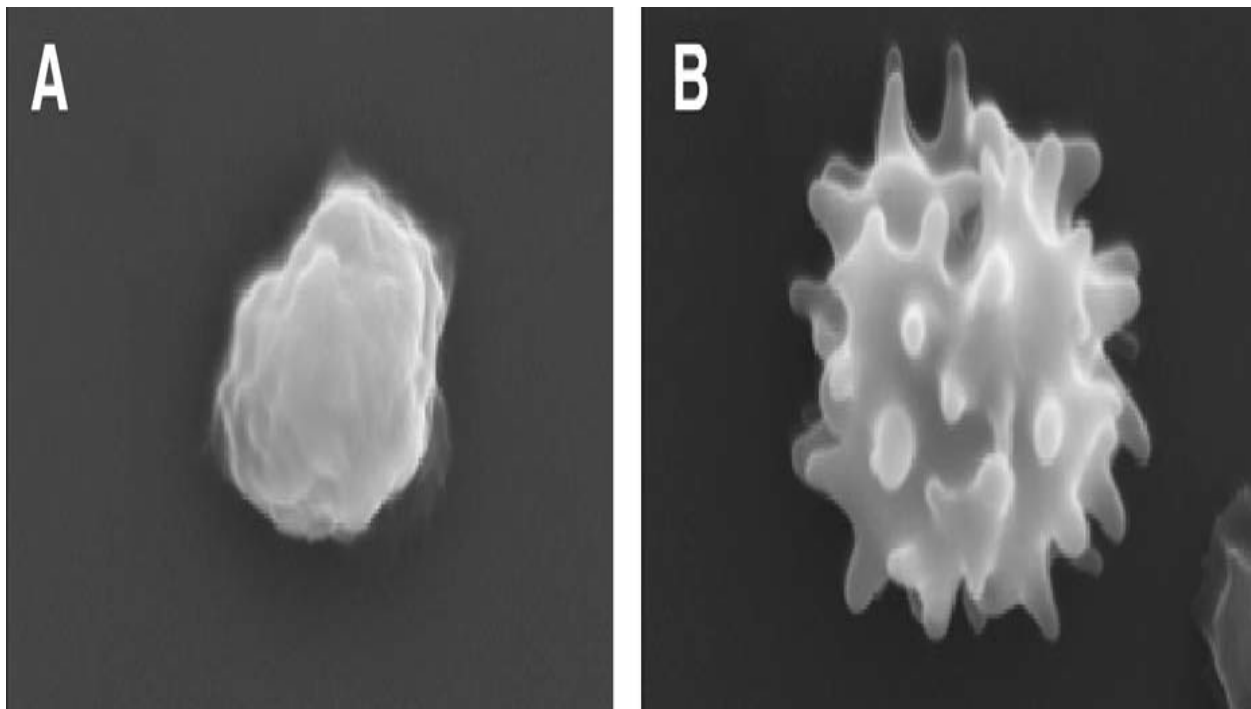


Figure 15 : Microscopie électronique à balayage des plaquettes sanguines. A = Plaquette non activée/ B = Plaquette activée. [13]

❖ **Agrégation plaquettaire** [7,12]

À ce stade, les plaquettes subissent une métamorphose visqueuse, aboutissant à une agrégation réversible après la libération d'ADP et du thromboxane A2. Ensuite l'agrégation devient irréversible sous l'effet de la thrombine plaquettaire et plasmatique.

L'agrégation est permise par le fibrinogène qui crée de véritables ponts adhésifs interplaquettaires par le biais de sa fixation à son récepteur membranaire spécifique, la GPIIb/IIIa. Il s'agit d'un phénomène actif dépendant d'énergie et de la disponibilité du calcium.

Les plaquettes possèdent également la propriété de se contracter. Ceci leur permet de libérer des doses importantes d'actine et de myosine qui stimulent la vasoconstriction et favorisent la fusion des plaquettes entre elles.

II. Coagulation [7]

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

Le processus central de la coagulation est la génération de la molécule de thrombine, enzyme clé de la coagulation, permettant la transformation du fibrinogène en fibrine et assurant la rétro-activation et l'amplification des différentes étapes de la coagulation.

1. Acteurs de la coagulation : protéines de la coagulation [14]

Les protéines de la coagulation sont des protéines plasmatiques qui incluent :

❖ **Facteurs de coagulation**

Ils sont au nombre de 12. Ce sont des protéines plasmatiques qui ont des noms qui leur sont propres, mais sont, pour la majorité d'entre elles, désignées dans la nomenclature internationale par des chiffres romains ; exemple : prothrombine = facteur II (F II). Une fois activés, les facteurs de coagulation portent leur nom suivi du suffixe « a » ; exemple : facteur Xa (F Xa) désigne le facteur X activé. Les facteurs de coagulation peuvent être regroupés en différents groupes, selon leur structure et leur fonction.

❖ **Inhibiteurs physiologiques de la coagulation**

Ce sont des protéines plasmatiques dont le rôle est de réguler en permanence le processus d'hémostase, elles appartiennent à différentes familles :

- Serpines : ou les inhibiteurs de sérine protéases, protéines qui contrôlent la coagulation : l'antithrombine, le cofacteur II de l'héparine, et plus accessoirement l' α 1-antitrypsine et le C1-inhibiteur.
- Protéine C et protéine S.
- Inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI).

❖ **Facteur tissulaire**

Protéine membranaire présente dans la tunique externe du vaisseau, c'est l'élément déclenchant le processus de coagulation quand une lésion vasculaire l'amène au contact du sang.

Les principales caractéristiques de ces protéines sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau III : Principales caractéristiques des protéines de la coagulation.

	Masse moléculaire (kDa)	Fonction	Concentration plasmatique (mg/L)	Demi-vie plasmatique (h)
Facteurs de la coagulation				
I (fibrinogène)	340	Substrat	2-4 × 10 ³	120
II (prothrombine)*	72	Zymogène	100-150	80
V	330	Cofacteur	5-10	24
VII*	50	Zymogène	0,35-0,6	6
VIII (facteur antihérophilique A)	330	Cofacteur	0,1-0,2	12
X*	59	Zymogène	7-17	48
IX (facteur antihérophilique B)*	57	Zymogène	3-5	24
XI	160	Zymogène	3-6	60
XII	80	Zymogène	30-40	60
XIII (facteur stabilisant de la fibrine)	320	Zymogène	20-30	240
Prékalikréine	85	Zymogène	25-50	35
Kininogène de haut poids moléculaire	100	Cofacteur	60-90	150
Facteur tissulaire**	47	Cofacteur	-	-
Inhibiteurs de la coagulation				
Antithrombine	65	Serpine	180-300	60
Protéine C*	62	Zymogène	2,7-6	6
Protéine S*	70	Cofacteur	25	ND
HCII	65	Serpine	60-110	60
TFPI (inhibiteur du facteur tissulaire)	42	Inhibiteur de type Kunitz	0,1	ND

Tous les zymogènes sont des précurseurs de sérine protéases, sauf le facteur XIII (zymogène d'une transglutaminase). HCII : cofacteur II de l'héparine ; ND : non déterminé.
* : Synthèse vitamine K-dépendante ; ** : à la différence des autres protéines de ce tableau, le facteur tissulaire n'est pas une protéine plasmatique mais une protéine membranaire.

2) Déroulement de la coagulation

La coagulation est une cascade de réactions enzymatiques aboutissant à la formation de fibrine. L'enzyme central permettant de transformer le fibrinogène en fibrine est la thrombine. Le processus de formation de la thrombine est complexe avec une série d'activations enzymatiques qui surviennent à la surface de phospholipides membranaires des plaquettes, cellules endothéliales ou monocytes. [15]

a. Concept actuel (in vivo)

Le concept actuel ou bien le modèle révisé est celui observé in vivo [16].

❖ **Phase d'initiation** [14, 16]

La formation d'un complexe FT-FVIIa est l'étape cruciale qui initie le processus de coagulation sanguine. Le facteur tissulaire est une glycoprotéine exprimée à la surface des cellules extravasculaires. La rupture de la barrière endothéliale permet au FVII plasmatique, présent en faibles concentrations sous forme activée, d'accéder au facteur tissulaire.

Le complexe FT-FVIIa ainsi formé enclenche le processus de coagulation en assurant la conversion du facteur X en facteur Xa et le facteur IX en facteur IXa.

❖ **Phase d'amplification** [15]

Cette phase concerne la formation de thrombine ainsi que son amplification. Grâce au complexe prothrombinase (constitué du facteur Xa en présence du facteur Va, des phospholipides des membranes cellulaires, et du calcium), la prothrombine s'active en thrombine. Cette dernière est une enzyme extrêmement puissante, son substrat principal est le fibrinogène. Une molécule de thrombine peut coaguler 1000 fois son poids de fibrinogène.

La thrombine catalyse sa propre génération ; ainsi le processus s'amplifie en favorisant la génération du facteur VIIIa, Va et XIa.

❖ **Phase de propagation** [7, 17, 18]

À la surface des plaquettes, le complexe ténase (FVIIIa-FIXa), génère des quantités importantes de FXa. L'activation du FX en FXa par le complexe ténase est 50 fois supérieure à celle du FX par le complexe FT-FVIIa. Le complexe prothrombinase clive la prothrombine en thrombine, mais après la phase d'amplification, la présence à la surface des plaquettes de concentrations élevées de facteurs activés, permet la génération « explosive » de quantités importantes de thrombine (thrombin burst) qui aura de multiples effets : activation en boucle du facteur XI, du FVIII et du FV, activation des plaquettes et surtout protéolyse du fibrinogène en monomères de fibrine. La polymérisation spontanée de ces monomères crée la trame du réseau de fibrine qui structure le caillot.

Le caillot formé est tout d'abord instable. Le FXIII, facteur de stabilisation de la fibrine, préalablement activé par la thrombine, solidifie alors les molécules de fibrine par l'établissement de liaisons covalentes ; ainsi le caillot devient stable.

b. Concept classique (in vitro)

➤ Voie extrinsèque [19]

Les premières observations sur la coagulation ont démontré la capacité de certains extraits tissulaires à initier la coagulation. Ceci a conduit à la description de la voie extrinsèque. Le FT s'est avéré être une protéine membranaire exprimée par la plupart des tissus. Ce facteur rentre en action avec le FVII, qui va à son tour activer le FX.

➤ Voie intrinsèque [19]

Les protéines nécessaires à cette voie se trouvent dans le plasma. La première étape est appelée phase contact. Elle fait appel à 3 facteurs : FXII, Kininogène de Haut Poids Moléculaire et Prékallikréine. Elle est initiée par le contact du facteur XII avec une surface électronégative (Verre, Kaolin...). Après ce contact il y a activation du facteur XII, formation de Kallikréine et libération de peptide vasoactif (Bradykinine) à partir du Kininogène de Haut Poids Moléculaire. Le FXIIa active alors le FXI. Celui-ci active le FIX en présence de Calcium. Le FIXa forme un complexe avec le FVIIIa, en présence de Calcium et une surface membranaire chargée négativement. Ce complexe va activer le FX.

➤ Voie commune [19]

Cette voie correspond aux réactions enzymatiques conduisant à la formation de fibrine à partir du fibrinogène. Dans un premier temps il y a une activation de la prothrombine en thrombine par le complexe formé par le FXa, FVa, le Calcium et les phospholipides plaquettaires. La thrombine convertira le fibrinogène en monomères de fibrines qui vont former

le caillot de fibrine par des liaisons électrostatiques. Ce caillot reste soluble. FXIII activé par la thrombine va agir sur le caillot pour le rendre solide par la formation des liaisons covalentes entre les monomères de fibrine.

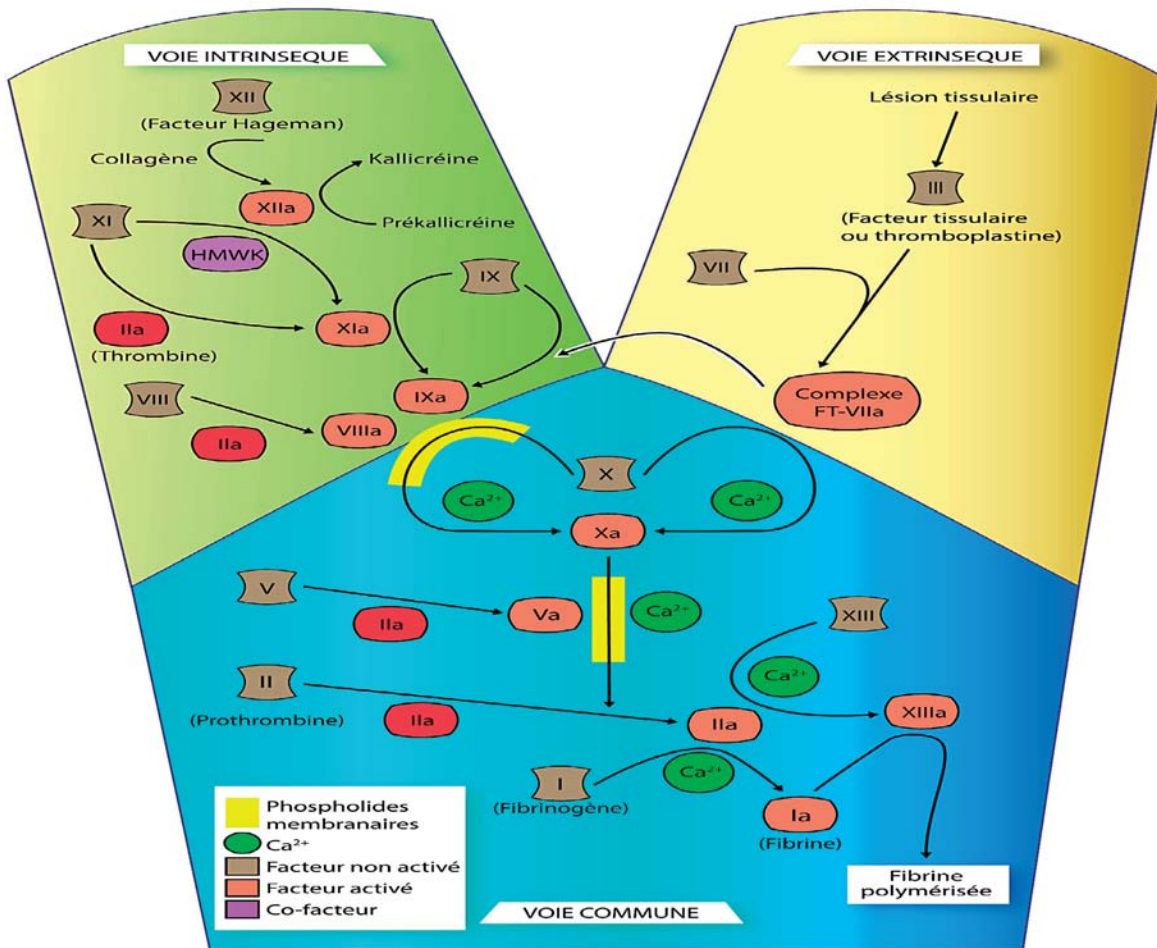


Figure 16 : schéma des voies de la coagulation in vitro. [12]

3. Régulation de la coagulation

Le processus de la coagulation plasmatique a tendance à s'activer spontanément. Il est important pour l'organisme que les enzymes formés lors de l'activation de la coagulation (thrombine, Xa...) ne circulent pas dans le plasma, car ils risqueraient d'entraîner une activation

diffuse de la coagulation et un processus pathologique grave. Pour éviter ceci et maintenir leur équilibre chaque facteur activé a son inhibiteur. [15]

Les trois systèmes de la régulation négative de la coagulation jouent un rôle physiologique important dans le maintien de la fluidité sanguine. [14]

a. Antithrombine (AT) [12, 18]

L'antithrombine (inhibiteur naturel de la thrombine) circulante, une fois activée par l'héparine, se lie à la thrombine, formant des complexes thrombine-antithrombine (TAT). Ces derniers inhibent l'action de la thrombine et plusieurs autres facteurs de la coagulation comme les facteurs IXa, Xa, XIa.... L'AT est aussi un puissant inhibiteur de l'agrégation plaquettaire.

b. Système protéine C / protéine S [12, 16]

L'activation de la protéine C en protéine C activée (PCa) est déclenchée grâce à la thrombine qui se fixe sur le récepteur de la thrombomoduline de la cellule endothéliale. La PCa en présence de son cofacteur la protéine S, inhibe les facteurs VIIIa et Va de la coagulation, ces derniers n'étant pas inhibés par l'antithrombine. Les protéines C et S sont toutes les deux vitamines K-dépendantes.

c. TFPI (tissue factor pathway inhibitor) [12, 19]

C'est un inhibiteur synthétisé par les cellules endothéliales. Il inhibe le complexe FT-VIIa. Sa concentration est augmentée par l'héparine. En plus de son action inhibitrice du complexe FT-VIIa, il inhibe le FXa.

III. Fibrinolyse

La fibrinolyse est une conséquence directe de la coagulation. Elle désigne le processus enzymatique de dissolution de la fibrine ; constituant essentiel du thrombus, par la plasmine. Lorsqu'un caillot se forme, ce mécanisme physiologique se met en œuvre, afin de détruire le réseau de fibrine et d'assurer la reperméabilisation des vaisseaux thrombosés et la restitution

ad integrum de la circulation. La fibrinolyse est ainsi déterminée pour agir au moment opportun, avec focalisation et brièveté. [19, 20, 21]

1. Acteurs de la fibrinolyse

❖ **Plasmine** [7, 22, 23]

La plasmine est l'enzyme centrale de la fibrinolyse. Elle dérive du plasminogène, qui est une glycoprotéine d'origine hépatique, présente dans le plasma sanguin sous forme de précurseur inactif.

❖ **Activateurs de la fibrinolyse** [12, 15]

L'activation du plasminogène en plasmine se fait grâce à des activateurs de deux types :

- La voie de l'activateur du plasminogène de type tissulaire t-PA ; il s'agit d'une sérine protéase d'origine quasi exclusive endothéliale, libérée sur le site du caillot.
- La voie de l'activateur du plasminogène de type urokinase u-PA ; la forme circulante est la pro-urokinase synthétisée par les cellules rénales et d'autres cellules parenchymateuses. La pro-urokinase s'active en urokinase essentiellement en contact du caillot de fibrine.

❖ **Inhibiteurs de la fibrinolyse** [7, 15, 20, 22]

Le système fibrinolytique est régulé par :

- Les inhibiteurs de la plasmine : L' α -2-antiplasmine est la principale protéine à activité antiplasmine, il s'agit d'une glycoprotéine synthétisée par la cellule hépatique.
- Les inhibiteurs des activateurs du plasminogène :

PAI-1 : inhibiteur surtout du t-PA, est majoritairement localisé dans les granules alpha des plaquettes.

PAI-2 : inhibiteur surtout de l'u-PA, synthétisé par le placenta au cours de la grossesse.

- L'inhibiteur de la fibrinolyse activé par la thrombine (TAFI) : est un inhibiteur de connaissance plus récente, synthétisé par le foie.

2. Déroulement de la fibrinolyse [7, 20, 22, 24]

La spécificité et l'efficacité de la fibrinolyse reposent sur les relations structure-fonction de la fibrine, à la fois comme support du caillot hémostatique, comme surface d'assemblage du complexe ternaire formé avec le plasminogène et son activateur tissulaire, et enfin comme surface d'activation du plasminogène.

Le plasminogène possède une grande affinité pour la fibrine, et s'y fixe par un récepteur spécifique aux côtés de son activateur, permettant ainsi la génération locale de plasmine. Cette dernière protéolyse le fibrinogène et la fibrine en divers fragments de tailles variables, identifiés comme les produits de dégradation de la fibrine (PDF), qui sont quantifiables dans le plasma. Le taux de PDF plasmatiques est ainsi un reflet de l'activité de la plasmine et donc de l'activation de la coagulation.

La fibrinolyse est contrôlée par deux systèmes équilibrés d'activation et d'inhibition.

Les activateurs principaux du plasminogène sont le t-PA et l'u-PA. Le t-PA a une activité protéolytique sur le plasminogène, déclenchée lors de son adsorption sur la fibrine. La sécrétion vasculaire de t-PA est initiée par de nombreux stimuli d'activation de la cellule endothéliale : thrombine, cytokines, anoxie.... L'u-PA est le second activateur du plasminogène présent dans de nombreux tissus, dont le rôle physiologique est moins connu que celui du t-PA.

Les inhibiteurs de la fibrinolyse comportent des inhibiteurs de la plasmine proprement dits et des inhibiteurs de l'activité du plasminogène ; L' α -2-antiplasmine neutralise la plasmine plasmatique circulante non liée à la fibrine. Le PAI de type 1 ou PAI-1 est le principal inhibiteur des activateurs du plasminogène ; il inhibe le t-PA et l'u-PA par formation d'un complexe covalent. Le PAI-1 est libéré lors de l'activation plaquettaire qui initie le processus de l'hémostase. Le PAI 2 ; est un autre inhibiteur synthétisé par le placenta au cours de la grossesse, son rôle physiologique comme inhibiteur de l'uPA et du tPA reste encore mal connu. A ces deux types d'inhibiteurs s'ajoute un troisième identifié récemment ; le TAFI qui s'oppose à l'action de la fibrine sur le t-PA et inhibe ainsi l'amplification du processus fibrinolytique.

Ce système très fin de régulation de l'activité de la plasmine et de sa restriction à la surface de la fibrine explique le fait que la fibrinolyse physiologique soit un processus qui reste localisé au niveau du thrombus. Son rôle réside en effet dans la lyse progressive du caillot après la cicatrisation de la brèche vasculaire, mais aussi dans la prévention de son extension évitant par là l'occlusion de la lumière vasculaire.

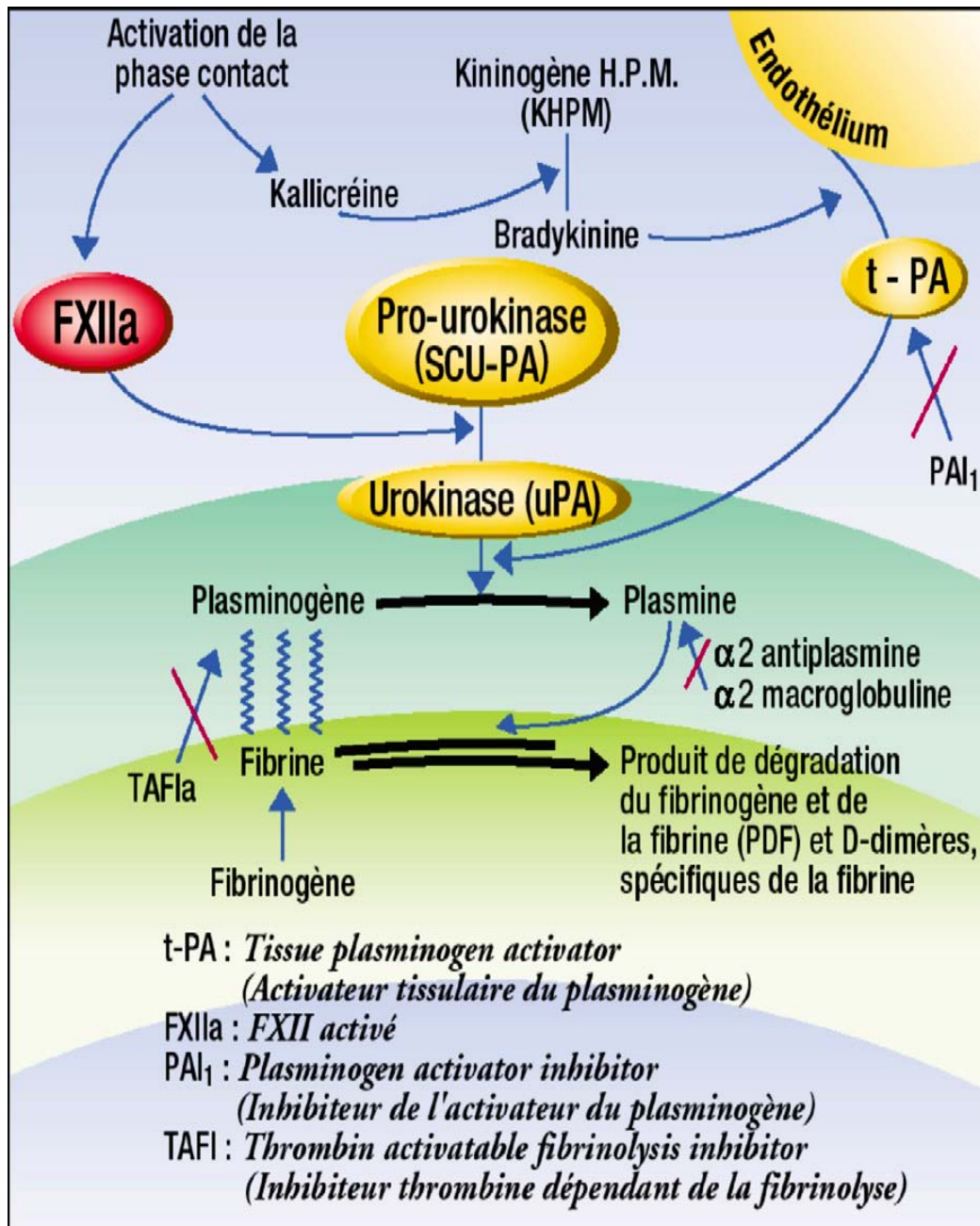


Figure 17 : schéma de la fibrinolyse. [25]

B. Exploration de l'hémostase

I. Phase pré-analytique

1. Définition

La réalisation des analyses au sein du laboratoire de biologie médicale est un processus très complexe, ce processus est subdivisé en trois phases classiques pré, intra et post analytiques [26].

La phase pré-analytique est la première étape du processus d'analyse du laboratoire. Elle peut s'effectuer dans un site du laboratoire de biologie médicale, en vue de la transmission des prélèvements à un autre site du même laboratoire multi-site, ou bien être réalisé dans le même site où se pratiquera l'analyse. Elle inclut également le prélèvement éventuel du patient hors des murs du laboratoire (domicile, unité de soins) par du personnel du laboratoire, des préleveurs qualifiés ou par un autre laboratoire (transmission) [27].

La majorité des erreurs au cours de ce processus d'analyse ont pour origine la phase pré-analytique. Afin de réduire ces erreurs, les recommandations concernant cette phase doivent donc être respectées [26].

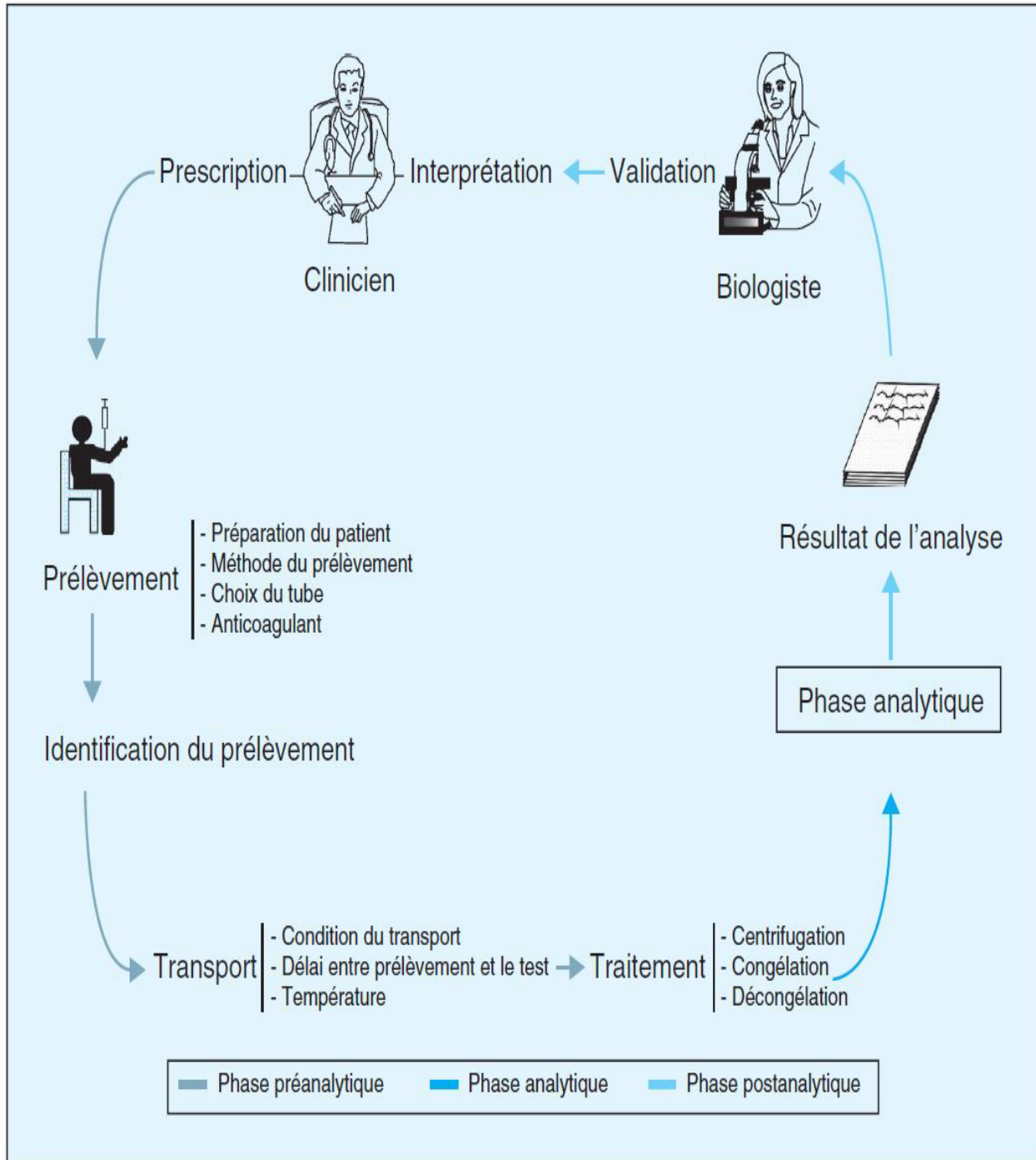


Figure 18 : Représentation du circuit depuis la prescription jusqu'à l'interprétation de l'analyse soulignant l'importance de la phase pré-analytique afin de contrôler et garantir la fiabilité des résultats d'un bilan d'hémostase [1].

2. Importance et complexité

La recherche de la qualité est devenue une exigence quotidienne dans les laboratoires. Or en hémostase plus encore que dans les autres disciplines de la biologie, la qualité est conditionnée par l'étape pré-analytique. La maîtrise de cette dernière est primordiale pour la validité des résultats des examens biologiques. [9, 28, 29]

Le taux des erreurs liées à la phase pré-analytique, s'élève à 70% de la totalité des erreurs commises pendant le processus d'analyse [3]. Dans une étude représentative, un laboratoire italien a utilisé la même méthodologie statistique, pour évaluer les taux d'erreur en 1996 et 2006 et a constaté que, malgré une réduction de 34% du taux d'erreur total, la répartition des erreurs en fonction des phases demeure pratiquement inchangée, avec 62% en pré-analytique, 15% en analyse et 23% en post-analytique. [30, 31]

La non-conformité aux conditions pré-analytiques recommandées, a un coût élevé. Ce coût est estimé à 25 % du budget annuel du matériel de prélèvement. Elle serait à l'origine ; d'une part, de coûts supplémentaires (en personnel, temps, énergie et matériel) en cas d'échantillon défectueux obligeant à refaire le prélèvement. D'autre part, de résultats inadéquats pouvant amener à des examens complémentaires inutiles et même à des conduites thérapeutiques erronées pouvant porter préjudice au patient. [32, 33]

Le biologiste est responsable de la phase pré-analytique, et cela même si l'acte de prélèvement est confié à un tiers. De ce fait, le rôle du biologiste doit dépasser le cadre de son laboratoire pour parer aux failles qui persistent avant l'arrivée du tube au laboratoire. Il est nécessaire d'assurer un respect des procédures recommandées pour des résultats fiables. Le biologiste doit sensibiliser le milieu médical et paramédical environnant sur l'importance capitale du respect des conditions pré-analytiques et les facteurs d'influences et d'erreurs les plus importants qui conditionnent la fiabilité des résultats du laboratoire. [1, 34]

3. Etapes de la phase pré-analytique

La maîtrise des différentes composantes de la phase pré-analytique occupe une place cruciale dans la validité des tests biologiques d'exploration du système de l'hémostase et de surveillance des traitements anti-thrombotiques. Elle conditionne une grande partie de la valeur informative clinique des résultats rendus. C'est, en hémostase, un volet important du plan d'assurance qualité. [4]

3.1. Fiche de prescription

La prescription fait partie de la phase pré-analytique et participe à la qualité de l'analyse, non sur le plan technique, mais plutôt de sa pertinence et de ses conséquences diagnostiques ou thérapeutiques pour le patient. [1]

Le support de prescription doit permettre au laboratoire d'avoir accès à toutes les informations nécessaires pour une identification univoque du patient et du prescripteur. Le laboratoire doit avoir accès aux informations pertinentes pour une interprétation correcte des résultats. Ces critères sont : Nom et prénom, numéro identifiant, la nature des analyses prescrites, les renseignements cliniques et thérapeutiques relatifs au patient (sexe, date de naissance, diagnostics, suivi, traitement en cours, posologie...), la date et l'heure de prélèvement. Toutes ces informations doivent être libellées de manière précise, lisible et non équivoque afin d'éviter tout risque d'erreur. Il convient que la manière dont les prescriptions doivent être communiquées au laboratoire soit déterminée en accord avec les utilisateurs, en fonction des particularités de chaque établissement. [35]

En effets il existe des facteurs de variations multiples de l'hémostase, ils sont d'ordre ; physiologiques, pathologiques, d'autres liés à la prise médicamenteuse ou encore à l'environnement, qu'il convient de connaître (via la fiche de prescription) et prendre en considération, pour une meilleure interprétation des résultats obtenus.

3.1.1. Facteurs de variation physiologiques

a. Age

Il existe des variations quantitatives et qualitatives des différents paramètres de l'hémostase en fonction de l'âge, d'où la nécessité d'interpréter les bilans, en fonction des valeurs de référence qui correspondent à l'âge du patient.

❖ Variations chez le nouveau-né et enfant

L'enfant et le nouveau-né présentent des particularités quant à leur système hémostatique, comparativement à l'adulte. En effet, l'enfant pendant sa première année de vie, et plus particulièrement en cas de prématurité, présente des taux de facteurs pro-coagulants (tous sauf le FVIII et le FVW) et des taux d'inhibiteurs physiologiques (antithrombine, protéine C, protéine S), significativement plus bas que chez l'adulte. Les résultats biologiques doivent donc être interprétés en fonction de ces caractéristiques physiologiques. [36]

La deuxième particularité en pédiatrie concerne la stratégie d'exploration de l'hémostase, conditionnée par les petits volumes échantillon prélevés chez l'enfant. [36]

Tableau IV : Hémostase pédiatrique versus adulte. [37, 38]

<u>Composante</u>	<u>Comparaison enfant/adulte</u>
Hémostase primaire	↔ Numération plaquettaire ↑ F Willebrand
Facteurs de la coagulation	↓ FII, FVII, FIX, FX ↓ FXI, FXII, PK, KHPM ↔ FV, FXIII ↔ Fibrinogène ↑ FVIII
Inhibiteurs de la coagulation	↓ Antithrombine ↓ protéines C et S
fibrinolyse	↓ Plasminogène ↑ t-PA ↑ PAI
↔ : pas de différence. ↓ : diminution. ↑ : augmentation.	

❖ **Variations chez le sujet âgé [39]**

Pendant le vieillissement de nombreux changements dans le système vasculaire, l'hémostase et l'endothélium, ainsi que des altérations des plaquettes, des facteurs de la coagulation et de la fibrinolyse, se produisent. Un état d'hypercoagulabilité croissante dû au déséquilibre entre les facteurs pro-coagulants et anti-fibrinolytiques, est observé avec le vieillissement et peut expliquer l'incidence plus élevée de troubles cardiovasculaires thrombotiques chez les personnes âgées.

b. Sexe [4]

C'est un facteur important à prendre en considération, les principales différences en fonction du sexe des paramètres de l'hémostase sont :

- Les études fonctionnelles plaquettaires semblent globalement montrer des plaquettes féminines moins réactives aux agonistes de l'agrégation plaquettaire que celle des hommes.
- Les jeunes femmes ont une protéine S plus basse par rapport aux hommes du même âge.
- Les femmes en pré-ménopause ont un fibrinogène plus élevé et une antithrombine plus basse que les hommes.

c. Grossesse [1, 40, 41]

Il est important de savoir si la patiente est enceinte. La grossesse normale s'accompagne de modifications majeures de l'hémostase, allant dans le sens d'un état d'hypercoagulabilité acquise augmentant progressivement pendant la grossesse, pour être maximale au moment du terme et dans le post-partum immédiat. Ce phénomène plurifactoriel, lié à des modifications hémodynamiques et vasculaires, protège les femmes d'une hémorragie pouvant être fatale au moment de la délivrance.

Les variations physiologiques observées au cours de la grossesse sont :

- Une augmentation des concentrations du fibrinogène, des facteurs VII, VIII, X, VW, et des D-dimères
- Une augmentation des taux de la prothrombine et du complexe thrombine-antithrombine.
- Une diminution des anticoagulants physiologiques ; se manifestant par une résistance acquise à la protéine C activée et une baisse du taux de la protéine S libre.
- L'activité fibrinolytique globale est altérée pendant la grossesse mais retourne rapidement à la normale après l'accouchement. Cela est en grande partie dû à l'inhibiteur de type 2, présent en quantités substantielles pendant la grossesse.

Il est à noter qu'il faut interpréter les dosages du FVW, FVIII, ainsi que la protéine S, en tenant compte des variations physiologiques dus à la grossesse ; tout résultat anormal pendant la grossesse doit être contrôlé à distance, au moins deux mois après l'accouchement.

d. Exercice physique [42, 43]

La coagulation et la fibrinolyse sont fortement influencées par l'exercice physique. Les variations des paramètres de l'hémostase observées semblent liées à l'intensité de l'exercice et à sa durée ; une activité physique intense est associée à un état d'hypercoagulabilité transitoire, en particulier chez les individus non entraînés. Tandis qu'une intensité d'exercice modérée est suivie par l'activation de la fibrinolyse sanguine sans hypercoagulabilité concomitante.

Tableau V : Résumé des effets de l'exercice sur les plaquettes et les marqueurs de la coagulation et de la fibrinolyse [44].

Paramètres	Effets de l'exercice
Plaquettes : - Numération - Agrégation	- ↑ - Effet incertain
Coagulation : - TCA - TP - TT - FVIII	- ↓ - Sans effet - ↓ - ↑
Fibrinolyse : - t-PA - PAI-1	- ↑ - ↓

3.1.2. Facteurs de variation pathologiques

En dehors des troubles d'hémostase primitifs ; constitutionnels ou acquis, bien connus, il existe des situations pathologiques qui retentissent secondairement sur les systèmes hémostatiques, à titre d'exemple :

❖ Insuffisance hépatocellulaire [45]

Les perturbations de l'hémostase survenant en cas d'insuffisance hépatocellulaire, sont multiples et complexes. Elles concernent l'hémostase primaire, la coagulation proprement dite, et la fibrinolyse. Ces principales perturbations sont :

- Thrombopénie.
- Altérations des fonctions plaquettaires.
- ↓ Facteurs II, V, VII, IX, X, XI.

- Anomalies quantitatives et qualitatives du fibrinogène.
- ↓ α -2-antiplasmine, TAFI.
- ↑ t-PA.
- ↑ FVW et FVIII.
- ↓ Protéine C, protéine S, antithrombine, α 2-macroglobuline.
- ↓ Plasminogène.
- ↑ PAI-1.

❖ **Insuffisance rénale chronique** [46, 47]

Elle se caractérise par des troubles de l'hémostase complexes, qui font coexister une tendance hémorragique et un état pro-thrombotique. Les principaux troubles observés sont :

- Hypo-agrégabilité plaquettaire et thrombopénie.
- Anomalies structurelles du FVW et augmentation de son taux plasmatique.
- Hypo-fibrinolyse : le temps de lyse des euglobulines est prolongé. L'activateur tissulaire du plasminogène est diminué, ainsi que le plasminogène. L'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 est augmenté.

❖ **Obésité** [4, 48]

Elle s'accompagne d'une augmentation significative de la réactivité plaquettaire, et également, d'une hypo-fibrinolyse par effet direct du tissu adipeux qui produit du PAI-1 et peut-être du TAFI. Le tissu adipeux agit sur la coagulation par production directe du facteur tissulaire, mais l'hypercoagulabilité est principalement due à la majoration de la production hépatique du fibrinogène, FT et des facteurs VII, VIII, vW. Il faut donc avoir accès à l'indice de masse corporelle des patients, calculé comme quotient : poids/(taille²).

❖ **Diabète [49, 50]**

Il a été démontré que le diabète est un état pro-coagulant. La physiopathologie de cet état pro-coagulant est partiellement comprise. L'hypercoagulabilité est mise en évidence chez les patients diabétiques insulino-dépendants par : l'augmentation des taux de fibrinogène et l'alpha-2-antiplasmine, la diminution des taux de la protéine S, la production accrue du FVW par l'endothélium et l'hypo-fibrinolyse (comme en témoigne l'augmentation des taux de PAI-1).

3.1.3. Facteurs de variation liés à la prise des médicaments

Les divers traitements pouvant modifier le système de l'hémostase doivent bien sûr être connus et notés en cas de prise, sur la fiche de prescription, pour une interprétation adéquate des résultats obtenus. [1, 4]

D'une part, la prise médicamenteuse d'agents antiagrégants plaquettaires ou anticoagulants ; oraux ou injectables lors d'un bilan de surveillance thérapeutique ne pose aucun problème d'interprétation, du moment où le biologiste est informé. Le risque étant la prise non signalée de médicaments ayant un effet méconnu perturbant l'hémostase, à titre d'exemple : [4, 19, 41]

- La prise événementielle d'aspirine (antalgique).
- Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens.
- les antibiotiques tels que certaines céphalosporines.
- Les psychotropes antidépresseurs en particulier les inhibiteurs de recapture de sérotonine.
- Les b-bloquants, quinidine, dérivés nitrés, inhibiteurs des canaux calciques.
- Les antihistaminiques.
- Les contraceptifs hormonaux.

D'autre part, les traitements substitutifs administrés aux patients porteurs d'une pathologie de l'hémostase doivent être précisés, tant dans leur nature, leur posologie ou leur volume, que leur horaire d'administration vis-à-vis du moment du prélèvement : [4]

- Produits sanguins labiles tels le plasma frais congelé, les culots érythrocytaires ou les unités de plaquettes.
- Produits sanguins stables telles les différentes fractions thérapeutiques d'origine plasmatique ou recombinantes.
- Produits sanguins activés tels le complexe prothrombinique FEIBA® ou le FVII humain recombinant activé NovoSeven®.

Il est également important de savoir l'effet des solutés de remplissage sur l'hémostase en particuliers chez les patients hospitalisés en réanimation ; Tous les solutés de remplissage vasculaire, y compris les cristalloïdes isotoniques, ont tendance à altérer la coagulation pour des hémodilutions supérieures à 50 %. Pour des hémodilutions moindres, 30 à 50 %, les effets sont absents avec les cristalloïdes et albumine, peu intenses avec la gélatine fluide modifiée, ou plus marqués avec les Hydroxyethylamidons et les dextrans. [51]

3.1.4. Facteurs de variation liés à l'environnement

a. Tabac [1, 52, 53]

Le tabagisme perturbe de façon significative, à court ou à long terme, le bilan d'hémostase. De nombreuses études ont montré que le tabagisme est fortement associé à une augmentation des concentrations plasmatiques du fibrinogène. Il agit également sur la fonction des plaquettes en stimulant leur agrégation. Il a été démontré aussi que les personnes tabagiques ont un TCA plus court par rapport aux non-fumeurs.

En ce qui concerne son effet sur la fibrinolyse ; le tabac constitue un facteur stimulateur, il est responsable d'une dysfonction majeure de l'endothélium vasculaire qui s'ensuit une augmentation du taux du t-PA et une diminution du taux du PAI-1.

b. Alcool [54, 55]

La consommation d'alcool (éthanol) a de multiples effets sur l'hémostase ; affectant les plaquettes, les facteurs de coagulation et le système fibrinolytique.

L'éthanol ou ses métabolites inhibent l'agrégation plaquettaire (en réponse au collagène et à l'ADP). D'autre part, l'éthanol induit une activation plaquettaire (diminution du taux d'AMPc intracellulaire et augmentation de la concentration d'inositol-1,4,5-triphosphate intracellulaire, entraînant une augmentation du taux de calcium intracellulaire).

Certaines études ont montré que l'éthanol induit une diminution des taux de fibrinogène, FVW et FVII.

La consommation d'alcool affecte également le système fibrinolytique. Un apport modéré en éthanol entraîne une augmentation du taux de t-PA sans modification de la concentration en PAI-1, ce qui augmente la fibrinolyse. En revanche, un apport élevé en éthanol conduit apparemment à une diminution de la fibrinolyse en augmentant la concentration en PAI-1, ce qui augmente le risque d'événement thrombotique.

3.2. Prélèvement

a. Conditions générales du prélèvement

En dehors des situations urgentes, il est indispensable de respecter certaines modalités afin de minimiser les erreurs d'interprétation des résultats de laboratoire; à savoir :

- **Jeûn [1, 19, 41, 56]**

Le prélèvement sanguin doit être réalisé après 12h de jeun ; temps nécessaire pour métaboliser complètement l'apport lipidique. L'hyperlipémie postprandiale peut perturber certains tests (la réactivité plaquettaire, le taux de FVII et la fibrinolyse) notamment lorsque les tests sont pratiqués avec un appareil à détection photo optique. Toutefois un prélèvement après un repas léger reste acceptable ; il a été prouvé qu'un repas léger dépourvu de matière grasse ne perturbe pas le bilan d'hémostase.

En plus de la consommation déconseillée d'alcool et le tabac avant le prélèvement, il est essentiel de décourager aussi toute consommation de la caféine pour une période de plus de 2 heures avant le prélèvement (augmente le potentiel fibrinolytique avec une augmentation de l'activité du t-PA et diminution des taux du PAI-1) ainsi que le chocolat noir (l'agrégation plaquettaire est modulée par un mécanisme indépendant des flavanols, probablement dû à la théobromine, qui est contenue dans les produits à base de cacao).

- **Horaire** [1, 4, 34, 41, 57]

Plusieurs études ont mis en évidence des variations circadiennes significatives, chez l'homme, des paramètres de la coagulation et de la fibrinolyse, ainsi que des fonctions plaquettaires. Ces variations doivent être généralement reconnues pour éviter une interprétation clinique erronée des données du laboratoire, relatives aux échantillons d'analyse prélevés à différentes heures de la journée. Le moment de prélèvement privilégié en hémostase est généralement le matin entre 7 h et 9 h.

- **Repos** [1, 4, 41]

Le repos est une condition importante à respecter lors de la réalisation d'un bilan d'hémostase. Une activité physique même modérée dans les 2 heures précédant le prélèvement sanguin n'est pas recommandée. L'effort physique entraîne une activation de la coagulation et de la fibrinolyse.

Il est donc indispensable que le prélèvement soit réalisé sur un patient au repos depuis plus de 5 minutes. Pour certaines analyses, en particulier l'étude de la fibrinolyse, le repos pendant 20 à 30 minutes est nécessaire pour obtenir des résultats fiables.

- **Posture** [1, 4, 58]

La posture du patient peut avoir un impact significatif sur les résultats des tests de routine d'hémostase, il a été démontré que le changement de position du patient (assis / debout) s'accompagne d'une variation des résultats du fibrinogène, TCA et du TP, de telles

variations pouvant altérer à la fois le raisonnement diagnostique et le suivi thérapeutique. La posture au cours des prélèvements en hémostase doit être standardisée afin d'obtenir des références plus homogènes. Le prélèvement sanguin est alors effectué par convention en position assise confortable pour le patient.

- **Sans stress** [19, 41]

Le préleveur doit rassurer le malade. Les tests explorant la fibrinolyse peuvent en effet être perturbés si le patient est stressé. Le stress doit être évité dans toutes les circonstances, car il s'associe à une augmentation des concentrations du FVW, le FVIII et le fibrinogène.

b. Choix du tube [1, 4, 41, 59, 60]

Les tubes utilisés pour l'étude de l'hémostase ne doivent pas activer la coagulation. Selon les dernières recommandations (mai 2017) du Groupe Français d'études sur l'Hémostase et la Thrombose (GFHT), il est recommandé d'utiliser des tubes stériles, en matière plastique ; polyéthylène téréphthalate (PET). L'utilisation des tubes en verre siliconé reste acceptable.

Le prélèvement doit être réalisé sous vide. La date de péremption des tubes doit absolument être respectée aussi bien pour la qualité de l'anticoagulant (contamination bactérienne) que pour le maintien du vide initial (mauvais remplissage par perte du vide). Les bouchons des tubes doivent être inertes. Il est également important que les qualités des tubes soient documentées et reconnues par un marquage CE.

Cas particuliers :

- Quelques tests pour l'étude de l'hémostase doivent se faire sur des tubes en verre siliconé :
 - étude de la rétraction du caillot : sang total, sans anticoagulant.
 - dosage des produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène.
- l'utilisation des tubes sous vide est déconseillée pour l'étude des fonctions plaquettaires (tests d'agrégation, activations plaquettaires, étude des glycoprotéines

membranaires...) car l'aspiration brutale du sang peut activer les plaquettes. Il est recommandé de ne pas utiliser des tubes sous vide mais plutôt de prélever avec une aiguille directement dans un tube débouché.

c. Anticoagulant

L'anticoagulant de référence en hémostase est le citrate de sodium.

- **Concentration** [33, 59, 61]

Il existe sous différentes concentrations dont la plus recommandée est de 105 – 109 M (3,2 %), La concentration de citrate à 129 M (3,8 %) est également disponible et considérée comme acceptable par l'Institut des Standards Cliniques et des Laboratoires (the Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI) et le GFHT, malgré des inconvénients non négligeables incluant un allongement du TQ et du TCA et des discordances dans les valeurs de l'INR.

En effet, selon les données de la littérature, le citrate 0,129M donne des TQ plus allongés que le citrate 0,109 M et ceci chez des patients sans et sous traitement anticoagulant oral. Mais, cet allongement est plus marqué chez les patients sous traitement anticoagulant oral pouvant ainsi majorer l'INR d'environ 10 %. Cette différence est expliquée par le fait que les ISI (International Sensitivity Index) des thromboplastines utilisés pour calculer l'INR soient déterminés à partir d'échantillons sanguins prélevés sur citrate 3,2 % selon les recommandations de l'OMS et, par conséquent, ne sont pas valides pour les échantillons collectés sur citrate 3,8 %. Actuellement, le GEHT et les recommandations américaines sont en faveur de l'utilisation de la concentration la plus faible (3,2%).

- **Rapport volume : anticoagulant/sang**

Il est impératif de respecter strictement le rapport volumique anticoagulant sur sang total (tube correctement prélevé), qui doit être de 1 pour 9. En effet, on peut obtenir un allongement artificiel des temps de coagulation soit par excès, soit par insuffisance de calcium.

- **PH [4, 59]**

Si le pH du plasma anticoagulé n'est pas entre 7,3 et 7,45, il existe un risque d'allongement des tests, notamment du TP. Pour autant, il est inenvisageable de contrôler le pH de tous les échantillons d'hémostase. En fait, il suffit de vérifier, lors du choix des tubes, que le citrate est tamponné pour maintenir un pH acide, ceci est indiqué dans la fiche fournisseur ; le pH de l'anticoagulant doit donc être maintenu entre 5,1 et 5,3 pour garantir un pH du plasma analysable entre 7,3 et 7,45.

- **Autres anticoagulants [4, 34]**

Le mélange CTAD (citrate, théophylline, adénosine, dipyridamole), utile pour surveiller les traitements par l'héparine non fractionnée et à l'étude des glycoprotéines membranaires des plaquettes en cytométrie de flux, doit être conservé à l'abri de la lumière (les tubes doivent être stockés en ambiance sombre).

d. Aiguille [1, 59, 62]

Le prélèvement est en général réalisé par une aiguille de calibre suffisant permettant un écoulement approprié et facile du sang dans le système de collecte, minimisant ainsi la probabilité d'introduire une variabilité pré-analytique.

Il est largement admis que le sang doit être prélevé avec précaution pour éviter une pression excessive ou un stress dû au cisaillement, qui sont associés à une lésion ou à une rupture (causées par l'utilisation d'aiguille à diamètre réduit) des cellules sanguines, en particulier des érythrocytes, conduisant à des échantillons inadéquats ; hémolysés avec activation du système de coagulation et des plaquettes.

Il est donc recommandé d'utiliser des aiguilles dont le diamètre est compris entre 19 (1 mm) à 22 Gauge (0.7 mm).

Par ailleurs, pour les enfants, les patients difficiles à piquer et les patients à veines fragiles, on peut utiliser des aiguilles à ailettes « épicroâniennes » dont le diamètre est de 23

Gauge, à condition que la tubulure soit courte (inférieure à 6 cm) et que le volume mort dans la tubulure soit inférieure à 10 % du volume final du tube.

e. Garrot [4, 63, 64, 65]

Le meilleur prélèvement se fait sans garrot, exercice parfois possible chez certains patients privilégiés. Poser un garrot est le plus souvent nécessaire pour effectuer des prélèvements sanguins, il aide à localiser et à définir les veines périphériques afin d'obtenir une ponction veineuse réussie et sûre.

Pour un prélèvement sans effet indésirable sur les paramètres mesurés, le garrot doit être peu serré (il est veineux, non artériel) et ne doit pas être laissé plus d'une minute. Il doit être, en utilisant les tubes à dépression, desserré dès que le sang afflue : laissé en place de façon trop prolongée, il favorise l'activation de l'hémostase mais aussi des modifications de résultats induits par l'hémoconcentration locale. Il a été démontré également qu'une pose de garrot pendant plus d'une minute est associée de manière significative à une augmentation du risque d'hémolyse.

f. Site de ponction [4, 66]

Le soin apporté à reconnaître le site le plus approprié pour insérer l'aiguille, est une clé pour déterminer le succès de la procédure de ponction et réduire le risque de blessure qui s'accompagne d'une activation de l'hémostase.

Pour un prélèvement conforme la connaissance de l'anatomie, ainsi que l'utilisation d'outils (garrot) améliorant la visualisation du réseau veineux sont obligatoires.

Le site principal de prélèvement du sang est représenté par le réseau veineux superficiel de la fosse cubitale de l'avant-bras

L'inspection et en particulier la palpation constituent l'approche de base pour identifier le site exacte de la ponction veineuse. La palpation permet au préleveur de reconnaître l'élasticité du vaisseau, la profondeur et la consistance des tissus environnants.

Le site de ponction doit être désinfecté : l'antiseptique choisi est appliqué localement et le temps nécessaire à son action, variable selon le principe actif, respecté. La ponction veineuse doit être la moins traumatique possible, en réduisant la longueur du trajet sous-cutané de l'aiguille avant l'abord de la veine, dans le sens du flux sanguin.

Il est important que le site de ponction soit éloigné de toute perfusion, de toute plaie. Il faut éviter également les membres lymphoedémateux. La gestion du capital veineux impose que la répétition des prélèvements se fasse en se rapprochant des extrémités, évitant ainsi de prélever un sang veineux ayant irrigué une effraction veineuse et son caillot hémostatique.

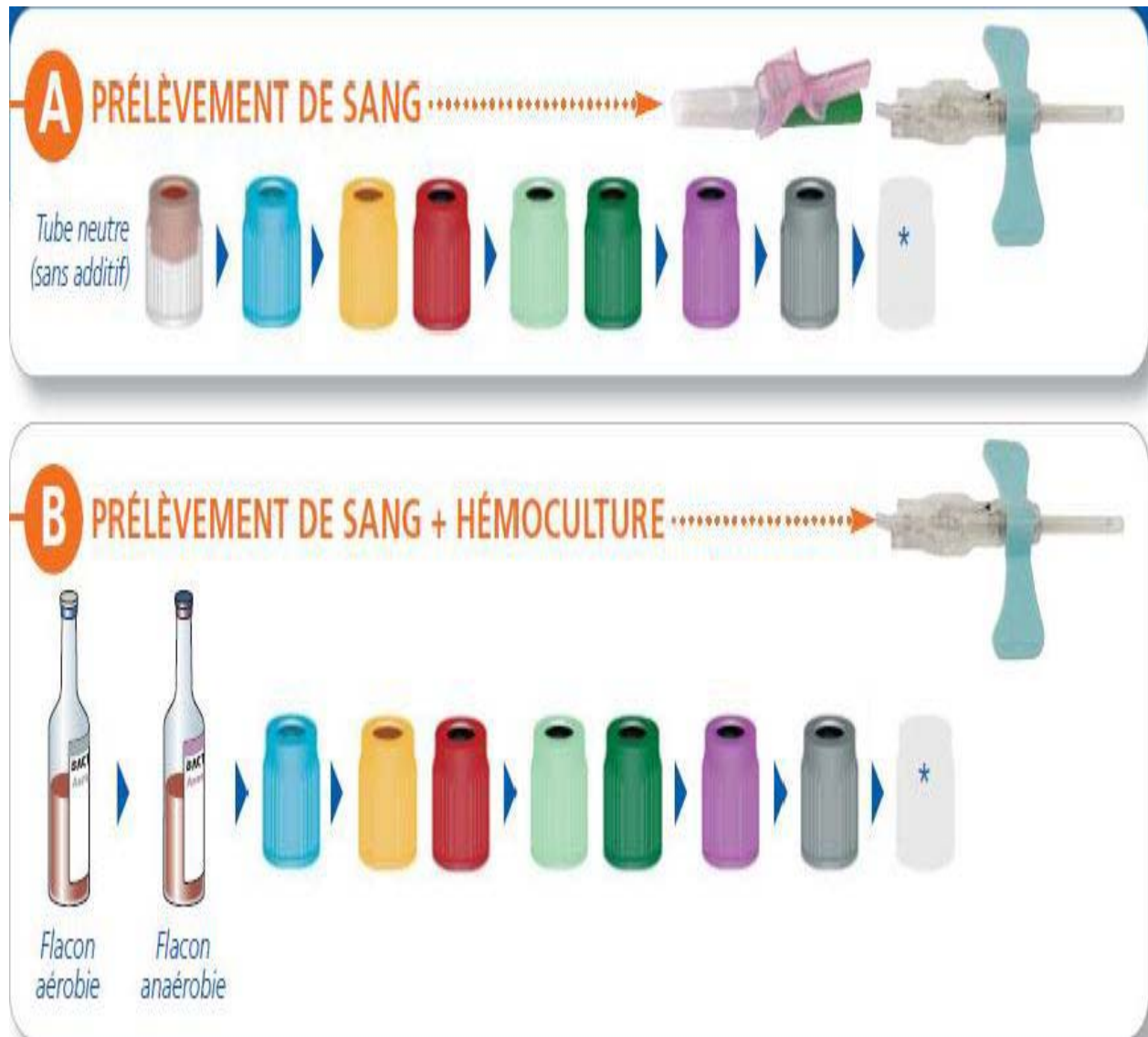
g. Ordre de prélèvement des tubes [4, 67]

L'ordre dans lequel les tubes sont prélevés a son importance, surtout en matière d'hémostase. Selon les recommandations du GFHT et CLSI, le prélèvement en hémostase doit être prélevé en position numéro 2. Un premier tube neutre sans additif de « purge » est donc nécessaire, ou un tube sec ne comportant pas d'activateur de la coagulation, ou après des hémocultures.

Le premier tube ne peut pas contenir d'anticoagulant autre que le citrate ou d'activateur de la coagulation ; qui pourraient contaminer le tube d'hémostase à travers les résidus, interférant avec les tests de coagulation, laissés sur le dispositif de percussion des tubes à dépression.

Si le bilan ne contient que des tests courants de la coagulation (non affectés par l'activation endothéliale), et si la ponction veineuse est franche, il est acceptable selon le GFHT que le premier tube soit utilisé, en particulier pour la surveillance des traitements anti-vitamine K.

Lors des prélèvements avec une aiguille épicroténienne, le tube de purge est recommandé. À défaut d'un tube de purge, il est acceptable de s'assurer obligatoirement du volume de remplissage ; volume mort de la tubulure < 10% du volume final du tube.



Cas A : Prélèvement de sang SANS hémoculture AVEC hémostase

1-Tube de purge → 2-Tube hémostase → 3-Tube sérum (avec ou sans activateurs de caillot, avec ou sans gel) → 4-Tube héparine (avec ou sans gel) → 5-Tube EDTA → Autres tubes (ACD, Fluorure, VS, tubes de Quantiféron)

Cas B : Prélèvement de sang AVEC hémoculture AVEC hémostase

1-Hémoculture → 2-Tube hémostase → 3- Tube sérum (avec ou sans activateurs de caillot, avec ou sans gel) → 4- Tube héparine (avec ou sans gel) → 5-Tube EDTA → Autres tubes (ACD, Fluorure, VS, tubes de Quantiféron)

Figure 19 : ordre des prélèvements [68]

h. Remplissage des tubes

Les tubes doivent être remplis de manière adéquate ; jusqu'au repère indiqué sur le tube, le cas échéant, ou à au moins 90%. Cela est essentiel pour obtenir le rapport anticoagulant/sang, le plus approprié (1/9 : Une partie d'anticoagulant plus neuf parties de sang). [69, 70]

Un remplissage insuffisant peut entraîner une dilution significative de l'échantillon et peut également entraîner des temps de coagulation faussement prolongés, en raison de l'excès de citrate se liant au calcium. Cet effet dépend de la concentration en citrate, de la taille du tube et de l'examen réalisé. Il est plus marqué avec des tubes à 3,8% de citrate et des tubes de prélèvement de faible volume (pédiatriques). La dilution de l'échantillon conduira également à une sous-estimation des résultats quantitatifs (dosage des facteurs). [69]

Selon le GFHT il est recommandé que le tube soit rempli à plus de 90 %, un remplissage supérieur à 80 % est acceptable, mais il faut refuser tout prélèvement rempli à moins 80 %. C'est la recommandation la plus appropriée à fournir aux préleveurs, qui ne sont pas nécessairement informés de la concentration finale de l'anticoagulant dans le tube de prélèvement ou des caractéristiques de test spécifiques, telles que la composition et la sensibilité des réactifs. [1, 71]

Il est important de sensibiliser les préleveurs du risque d'erreur qu'accompagne certaine pratique dangereuse; Le sang ne doit jamais être transféré d'un tube de prélèvement à un autre dans le but de fournir le volume de remplissage complet requis. Cela est vrai même s'il s'agit de deux tubes de citrate de sodium combinés, car cela peut conduire à un doublement des concentrations d'anticoagulant citrate et à une dilution supplémentaire du plasma [69].

i. Homogénéisation [59, 70, 72]

La présence d'un additif signifie que le tube doit être mélangé de manière appropriée pour garantir la miscibilité totale entre le sang et l'anticoagulant, et ainsi (pour les collections d'hémostase) éviter une coagulation excessive.

Le GFHT et le CLSI préconise actuellement de mélanger le tube délicatement, dès la fin du remplissage, par des retournements lents et complets, deux à six fois, afin de permettre un contact complet entre le sang et le citrate de sodium tamponné.

Il faut toutefois éviter de mélanger vigoureusement et de façon prolongée les échantillons. Une agitation intense et ou prolongée, peut induire l'hémolyse, la coagulation ainsi que l'activation plaquettaire.

j. Identification [1, 70, 73, 74]

L'identification complète et précise, est la base de la sécurité du patient. Elle doit être effectuée avec le plus grand soin ; la vérification de l'identité du patient et l'étiquetage des tubes doivent se faire au moment du prélèvement. Il faut s'assurer de la concordance du nom et prénom du patient, avec ceux marqués sur la demande d'analyse et l'étiquette qui sera collée sur le tube. Il faut utiliser au moins deux identifiants (le numéro de la chambre du patient ou son emplacement physique ne doivent pas être utilisés) pour étiqueter les tubes de prélèvement en présence du patient. L'étiquetage après la réalisation du prélèvement doit être évité car, il s'accompagne d'un risque d'erreur élevé. Il est également crucial de s'assurer que ces recommandations spécifiques, visant à éviter toute faute concernant cette étape pré-analytique importante, soient connues et appliquées par les différents préleveurs.

Les erreurs d'identification du patient et ou des tubes, sont considérées comme rares, mais elles sont probablement sous-estimées car souvent méconnues. Elles sont associées de manière significative à un préjudice pour les patients, vu que les données incorrectes sont utilisées pour effectuer des soins de santé spécifiques (diagnostic, traitement...).

Toute aide technologique proposée de manière fiable pour limiter le risque d'identification erronée dans les soins de santé devrait être encouragée.

3.3. Le transport des prélèvements [1, 75, 76, 77]

Lorsque les prélèvements d'un bilan d'hémostase, ne sont pas effectués au laboratoire, ils doivent être transportés au laboratoire rapidement et en toute sécurité, de manière à éviter les agitations et les vibrations qui peuvent entraîner une hémolyse et une activation plaquettaire. Ils doivent rester bouchés et maintenus à la température ambiante (de 15 à 25 °C). Les tubes de prélèvements citratés du sang total, ne doivent pas être réfrigérés (de 2 à 8° C) ni stockés sur de la glace ou dans un bain d'eau glacée.

- **Transport par les systèmes pneumatiques (non disponibles au Maroc) :**

Certains hôpitaux utilisent des systèmes de transport des tubes de prélèvements dit pneumatiques. Ils permettent de transporter à grande vitesse, les tubes depuis les services hospitaliers (lieu de prélèvements) vers le laboratoire.

Les contraintes physiques exercées par les systèmes pneumatiques sont susceptibles d'avoir une influence sur la qualité pré-analytique des prélèvements et donc d'induire des variations sur les résultats des paramètres biologiques, notamment les examens d'hémostase. Les chocs et les vibrations doivent être minimisés au cours du transport des échantillons pour éviter une fragmentation des globules rouges, une activation de la coagulation et une dégradation des protéines. Les mouvements d'accélération/décélération du pneumatique peuvent, en effet, induire une activation et une dégranulation des plaquettes au moment du transport, rendant ininterprétables les tests plaquettaires.

Plusieurs études ont démontré que le transport pneumatique des tubes, n'affecte que de manière négligeable la plupart des tests de coagulation, et il semble raisonnable que seuls les prélèvements destinés aux analyses des fonctions plaquettaires aient besoin d'être transportés manuellement au laboratoire. Il a été prouvé également que les caractéristiques du pneumatique étant variables d'un laboratoire à l'autre, chaque laboratoire devrait réaliser localement ses propres tests sur site pour qualifier son réseau pneumatique, plus

particulièrement dans le cas des prélèvements dédiés à des tests de fonctions plaquettaires ou faisant intervenir les plaquettes.

3.4 Réception et prétraitement des prélèvements au laboratoire [30, 35]

Une fois le prélèvement réalisé, l'échantillon est transmis au laboratoire, réceptionné, vérifié puis enregistré. Ensuite il va subir une étape de tri et de pré-traitement avant d'être engagé au niveau du processus suivant qui est le processus analytique.

L'accueil des tubes par le laboratoire s'accompagne obligatoirement de la vérification des points de conformité pré-analytique. Le laboratoire doit disposer d'une procédure documentée précisant les critères d'acceptation et de rejet des échantillons (nature des tubes, volume, délai, température de transport...). Ces critères doivent être définis en respectant les dernières recommandations. Tout prélèvement ne répondant pas à ces critères doit être rejeté et l'anomalie doit être tracée par l'ouverture d'une fiche de non-conformité.

Après avoir vérifié la qualité des tubes, il faut les enregistrer sans oublier de noter la date et l'heure exactes de réception.

a. Triage des prélèvements [35]

Le tri des prélèvements consiste qu'un personnel habilité revoit systématiquement les fiches de prescriptions et les échantillons, afin de s'assurer de la pertinence et de la possibilité de réaliser les analyses, en les orientant vers les postes de travail concernés. Ce personnel doit s'assurer également d'éventuelles demandes particulières, telles qu'une demande d'examen en urgence et l'orienter à bon escient. Il est recommandé qu'un moyen optique ou sonore fiable permette d'identifier ces échantillons. Les plus classiquement mis en œuvre sont les gommettes ou clips de couleur vive.

L'identification des échantillons par le laboratoire est réalisée en salle de prélèvement lorsque le patient est prélevé au laboratoire ou en salle de tri lorsque le prélèvement provient

de l'extérieur. Cette manipulation doit être réalisée par les techniciens habilités à cette tâche en raison des risques d'erreur liée à l'étiquetage.

b. Délai entre le prélèvement et le test [2, 78, 79, 80]

La stabilité des paramètres en sang total conditionne les délais optimaux et tolérables d'acheminement des prélèvements au laboratoire. Des délais courts sont une limite à la prise en charge des prélèvements provenant des sites extérieurs.

Selon le CLSI, le GFH et le ECAT (European Concerted Action on Thrombosis), les prélèvements du sang total ou de plasma, conservés à la température ambiante (15°C – 25°C) pour les tests d'hémostase de routine ou la détermination des facteurs de coagulation doivent être analysés dans les 4 heures suivant le prélèvement, à l'exception du TP, ayant une stabilité allant jusqu'à 24 heures, et des tests visant à surveiller les traitements à l'héparine non fractionnée, pour lesquels le délai ne doit pas dépasser 2 heures.

Compte tenu des contraintes liées au délai entre les prélèvements et la réalisation des examens d'hémostase, il est nécessaire de noter l'heure du prélèvement sur l'étiquette des tubes ou sur la feuille de demande de l'examen.

c. Centrifugation [4, 59, 81, 82, 83, 84]

La centrifugation des prélèvements du sang total anticoagulé, est une étape essentielle du processus pré-analytique en hémostase. Des résultats précis ne peuvent être obtenus que si les laboratoires effectuent des analyses sur des prélèvements de très bonne qualité, qui est en partie influencée par les paramètres de centrifugation.

Les centrifugeuses sont traditionnellement utilisées pour séparer les composants d'un mélange en fonction de la taille ou de la densité des particules. Leur application la plus courante en biologie a pour but la séparation du sang, en cellules et plasma.

La centrifugation permet d'obtenir un plasma pauvre en plaquettes, citraté, nécessaire pour la réalisation des bilans d'hémostase. Le CLSI ainsi que le GFHT indiquent que les tubes de prélèvement en hémostase, bouchés, doivent être centrifugés à la vitesse et le temps requis pour produire systématiquement, un plasma pauvre en plaquettes.

Les différents types de centrifugation sont :

- **Centrifugation de base / standard**

Les tests de routine sont effectués sur un plasma pauvre en plaquettes nécessitant une seule centrifugation à une température comprise entre 15°C et 25°C, pour une durée d'au moins 15 min à une vitesse de 1500 à 2 000 g, ou pendant au moins 10min à une vitesse de 2000 à 2500g.

- **Centrifugation rapide**

Selon le GFHT, des protocoles plus rapide de la centrifugation ont été validés et peuvent être utilisés pour la réalisation de quelques examens à savoir : TQ, TCA, fibrinogène et D-dimères. Pour ceci il faut une centrifugation à une vitesse supérieure ou égale à 3000g pendant au moins 5min, ou bien une vitesse supérieure ou égale à 4440g pendant une durée d'au moins 2 min.

- **Double centrifugation**

Pour les bilans de recherche d'anticoagulants lupiques et d'anticorps anti-phospholipides, recherche d'un phénotype de résistance à la protéine C activée, dosage de tout paramètre pouvant être modifié par l'activation ou la sécrétion plaquettaire, ou encore pour congeler un échantillon de plasma pour examen ultérieur : il faut systématiquement que les plasmas soient préparés par deux centrifugations standards, avec une décantation intermédiaire et finale. Le plasma pauvre en plaquette ainsi préparé doit contenir moins de 10 G plaquettes par litre.

- **Centrifugation douce**

Pour les explorations plaquettaires (tests d'agrégation plaquettaire, exploration de la réponse à certains antiagrégants plaquettaires...), il faut préparer un plasma riche en plaquettes, obtenu par une centrifugation douce, évitant toute activation plaquettaire. Une centrifugation de 10 minutes à une vitesse entre 180 et 200 g, toujours à température ambiante thermostatée, est recommandée.

d. Congélation [2, 4, 33, 85, 86]

Si les tests d'hémostase ne peuvent être réalisés sur plasma frais à temps conformément aux recommandations, ou doivent être différés, ceux-ci doivent être congelés pour une exploration ultérieure, et ce pour préserver l'activité biologique des facteurs de coagulation. La stabilité des paramètres sur plasma congelé conditionne le délai de réalisation des analyses non urgentes. Il est important de noter aussi que cette stabilité est fortement dépendante des conditions de congélation.

La conservation optimale pour assurer une bonne stabilité est la congélation en azote liquide (congélation rapide). Ce qui n'est pas toujours possible en raison de contraintes matérielles surtout dans les petits laboratoires.

Selon le CLSI ; une congélation rapide est recommandée, les plasmas ainsi congelés doivent être conservés à au moins -70°C , en utilisant des tubes non mouillables, en petits aliquots (500 à 1 200 μL), avec bouchon à vis (évitant l'évaporation du plasma) et une capacité adaptée au volume du plasma. Il est acceptable également de congeler rapidement les plasmas et les conserver à au moins -20°C , pour une période inférieure à 15 jours.

L'accueil des échantillons de plasma déjà préparés, adressés sous forme congelée par un autre laboratoire, expose à des risques pouvant altérer leurs qualités. Il est important de respecter certaines règles à ce propos :

- la chaîne de congélation ne doit pas avoir été rompue, les aliquotes étant au mieux acheminées sur carboglace en container clos, avec vérification de persistance de carboglace à l'arrivée et d'absence de décongélation.
- Il est difficile de vérifier l'adéquation d'identité entre le tube primaire et les aliquotes envoyées : la procédure consistant à demander de joindre le tube primaire identifié aux échantillons transmis identifiés pourrait aider.

e. Décongélation [1, 69, 87]

Les échantillons déjà congelés doivent être rapidement décongelés dans un bain-marie à 37° C pendant 5 à 10 minutes ou jusqu'à ce qu'ils soient complètement décongelés. Une surveillance étroite pendant cette période est nécessaire pour éviter une incubation inadéquate ou excessive à 37 °C.

L'intégrité des échantillons peut être compromise si les échantillons ne sont pas complètement décongelés ou s'ils sont maintenus trop longtemps à 37° C. En outre, les bains-marie doivent être correctement entretenus, pour ne pas atteindre une température plus élevée, car cela pourrait entraîner une détérioration des facteurs de coagulation.

Une fois les échantillons décongelés, il est impératif de les mélanger soigneusement et adéquatement avant de les analyser dans l'immédiat ; afin d'éviter l'activation de la coagulation et la diminution des facteurs labiles V et VIII. Il est important à savoir également qu'un plasma décongelé ne doit jamais être recongelé.

4. Rejet des prélèvements non conformes [4, 70, 88]

Tout prélèvement non conforme, ne respectant pas une ou plusieurs recommandations liées à la phase pré-analytique, doit être rejeté, avec communication écrite de la cause du rejet au service source (services hospitaliers, salle de prélèvement...). Les principales causes du rejet sont :

- ❖ Identification du patient :
 - Erreurs d'étiquetage
 - Aucun test spécifié sur la fiche de prescription
 - Demande illisible
- ❖ Prélèvements non conformes :
 - Prélèvement coagulé.
 - Volume insuffisant ou ratio anticoagulant/ sang (1/9) non respecté.
 - Tube et ou anticoagulant inappropriés.
- ❖ Transport des tubes :
 - Conditions de stockage (température non respectée, agitations fortes...).
 - Tube perdu ou non reçu par le laboratoire.
 - Délai prélèvement-réception dépassé.
- ❖ Les plasmas obtenus après centrifugation non conformes (peuvent interférer avec la transmission lumineuse lorsque l'on utilise un analyseur à principe de mesure optique) :
 - Plasma hémolysé.
 - Plasma lipémique.
 - Plasma ictérique.

II. Phase analytique

1. Les tests explorant l'hémostase primaire [7, 89, 90]

Les principaux tests explorant l'hémostase primaire sont :

- La numération plaquettaire
- Le temps de saignements
- Temps d'occlusion plaquettaire
- Dosage du facteur de von willebrand
- Mesure de la thrombine résiduelle sur le sérum

- Tests fonctionnels : étudient in vitro les différentes fonctions plaquettaires telles que l'adhésion, la sécrétion ou l'agrégation.

2. Tests explorant la coagulation

Les principaux tests explorant la coagulation sont divisés en : [7, 91]

❖ Tests de 1ère intention :

- Le temps de céphaline activée (TCA)
- Le temps de quick (TQ) ou taux de prothrombine (TP)
- L'international normalized ratio (INR)

❖ Tests de 2ème intention :

- Dosage spécifique des facteurs de la coagulation
- Le temps de thrombine (TT) et dosage de fibrinogène
- Exploration des systèmes de régulation de la coagulation

3. Tests explorant la fibrinolyse [24]

Les principaux tests explorant la fibrinolyse sont :

- ✓ Le dosage des D-dimères
- ✓ Les tests globaux (historiques pour la plupart) :
 - Temps de lyse des euglobulines
 - Temps de lyse d'un caillot de sang total
- ✓ Les tests analytiques :
 - Dosage du plasminogène
 - Dosage de l' α -2-antiplasmine
 - L'activité du t-PA et Le PAI-1

III. Phase post-analytique [30, 31, 92]

Après la phase analytique durant laquelle les examens sont effectués, débute la phase post-analytique. Cette phase constitue la 2ème source d'erreur durant le processus d'analyse après la phase pré-analytique. Elle consiste à :

- Revoir systématiquement les résultats des analyses, leur évaluation par rapport aux éléments cliniques disponibles, et leur interprétation en fonction des valeurs de référence.
- Mettre en place des systèmes de stockage et d'élimination des prélèvements, et gestion des déchets.
- Etablir une procédure d'alerte si résultats critiques.
- Etablir les comptes rendus des résultats en fonction des besoins cliniques.
- Etablir une procédure du traitement des réclamations des patients :
 - modalité de traitement des réclamations.
 - enquête de satisfaction périodique.
 - permet d'analyser les forces et les faiblesses du laboratoire.

Chapitre 2 : Discussion des résultats

I. Paramètres liés à la fiche de prescription

1. Nom et prénom

Toute analyse biologique ne peut avoir lieu qu'après une identification correcte et précise du patient prélevé. Le nom et prénom ainsi qu'un numéro identifiant (carte d'identité nationale, numéro d'entrée pour les patients hospitalisés...) marqués sur la fiche de prescription doivent être identiques à ceux marqués sur l'étiquette du tube correspondant.

Tout tube mal étiqueté par rapport à sa fiche de prescription, doit être rejeté avec communication de la raison du rejet au service hospitalier source ou à la salle de prélèvements (pour les tubes externes).

Dans notre série d'étude aucune erreur d'identification n'a été objectivée, Le nom et le prénom marqués sur l'étiquette de chaque tube, étaient conformes, sans aucune exception à ceux mentionnés sur la fiche de prescription correspondante. Ceci reflète le niveau de connaissance élevé des prescripteurs et des préleveurs (chargés de l'étiquetage des tubes), en matière de l'importance de l'identification correcte, nécessaire à la réalisation des examens d'hémostase.

Plusieurs études ont évalué le nombre d'erreur concernant ce paramètre, les pourcentages d'erreur diffèrent d'une étude à l'autre, tout en étant relativement bas.

Tableau VI : Pourcentages d'erreur d'identification des différentes études de la phase pré-analytiques en hémostase.

Auteurs	Ville/Pays	Année de réalisation	Pourcentage d'erreur d'identification
Arul et al [93]	Coimbatore/Inde	2018	0.02%
Ye et al [94]	Beijing/chine	2018	0.003%
Tadesse et al [95]	Addis Ababa/Ethiopie	2018	0.2%
Narang et al [96]	Ludhiana/Inde	2016	0.005%
Upreti et al [97]	Meerut/Inde	2013	0.35%
Nejjar [98]	Rabat/ Maroc	2010	0.09%
Notre série	Marrakech/Maroc	2019	0%

2. sexe

Le sexe des patients prélevés est l'un des facteurs importants de variations physiologiques des paramètres de l'hémostase. Sa mention sur la fiche de prescription est primordiale, il est obligatoire de le prendre en considération lors de l'interprétation des bilans explorant l'hémostase. [4]

Une étude de Tadesse et al [95], réalisée en 2018, au sein du laboratoire d'hématologie du St. Paul's Hospital Millennium Medical College, Addis Ababa, Ethiopie, a objectivé l'absence de la mention du sexe du patient prélevé sur la fiche de prescription dans 10,3% du total des fiches de prescription reçues au laboratoire.

Dans notre enquête le sexe de chaque patient prélevé a été marqué sur sa fiche de prescription correspondante. Ceci montre que les prescripteurs aient su que l'interprétation des résultats des bilans en hémostase, se fasse en fonction des valeurs de références propres à chaque sexe.

3. Age

Les valeurs de référence utilisées lors de l'interprétation des bilans d'hémostase sont liées étroitement aux tranches d'âge des patients. La mention de l'âge ou la date de naissance du patient prélevé est primordiale pour une interprétation adéquate des résultats. [36, 37, 38, 39]

L'équipe Tadesse et al [95], lors de son étude réalisée en 2018, a évalué la mention de l'âge sur les fiches de prescription reçues, ainsi l'âge n'a pas été mentionné dans 11.5% des cas.

Quant à notre série, l'âge n'a pas été mentionné sur 26.75% du nombre total des fiches de prescription reçues. Ce taux élevé peut être expliqué par la méconnaissance des

prescripteurs de l'importance de ce paramètre, influençant l'interprétation des différents bilans d'hémostase.

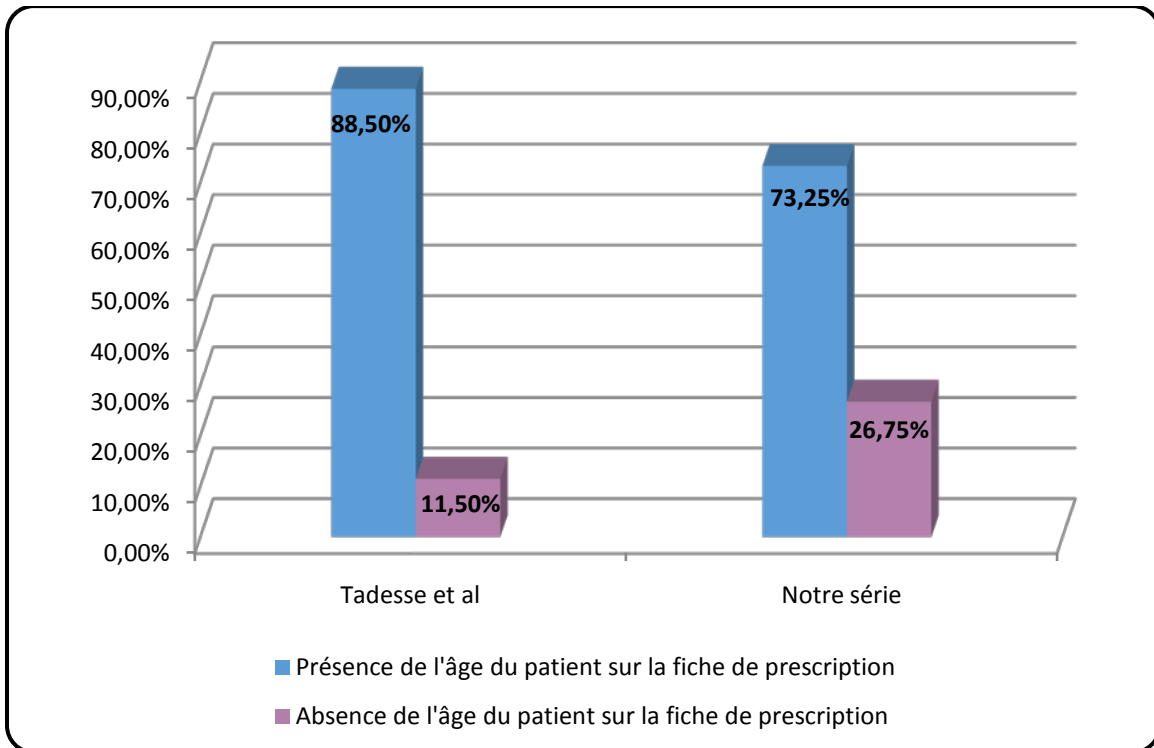


Figure 20 : Comparaison des résultats concernant la mention de l'âge du patient sur la fiche de prescription.

4. Renseignements cliniques et thérapeutiques

Il existe des variations pathologiques (insuffisance hépatocellulaire, insuffisance rénale chronique, diabète, obésité...) [4, 45, 46, 47, 48, 49, 50] et ou liées à la prise médicamenteuse [1, 4, 41, 51], pouvant modifier les résultats des examens explorant l'hémostase. Donc la mention des renseignements cliniques et thérapeutiques sur les fiches de prescription des patients est essentielle. Ceci permet au biologiste d'interpréter de façon correcte les résultats obtenus, et aussi d'agir en réalisant si nécessaire, des examens complémentaires pouvant apporter plus de précisions aux examens demandés initialement par le clinicien.

Dans la série de Tadesse et al [95], les renseignements cliniques et thérapeutiques étaient absents sur les fiches de prescription dans 70.1% des cas. Quant à notre série ils étaient mentionnés seulement dans 13% des cas et absents sur 87% de la totalité des fiches de prescription reçues à la salle d'hémostase de notre laboratoire.

Ce taux accru peut être expliqué ; d'abord par la méconnaissance de l'utilité des renseignements cliniques et thérapeutiques en matière d'interprétation des bilans. Et ou par la charge de travail augmentée ainsi que le nombre de patients importants, rendant difficile aux prescripteurs d'avoir assez de temps pour les mentionner.

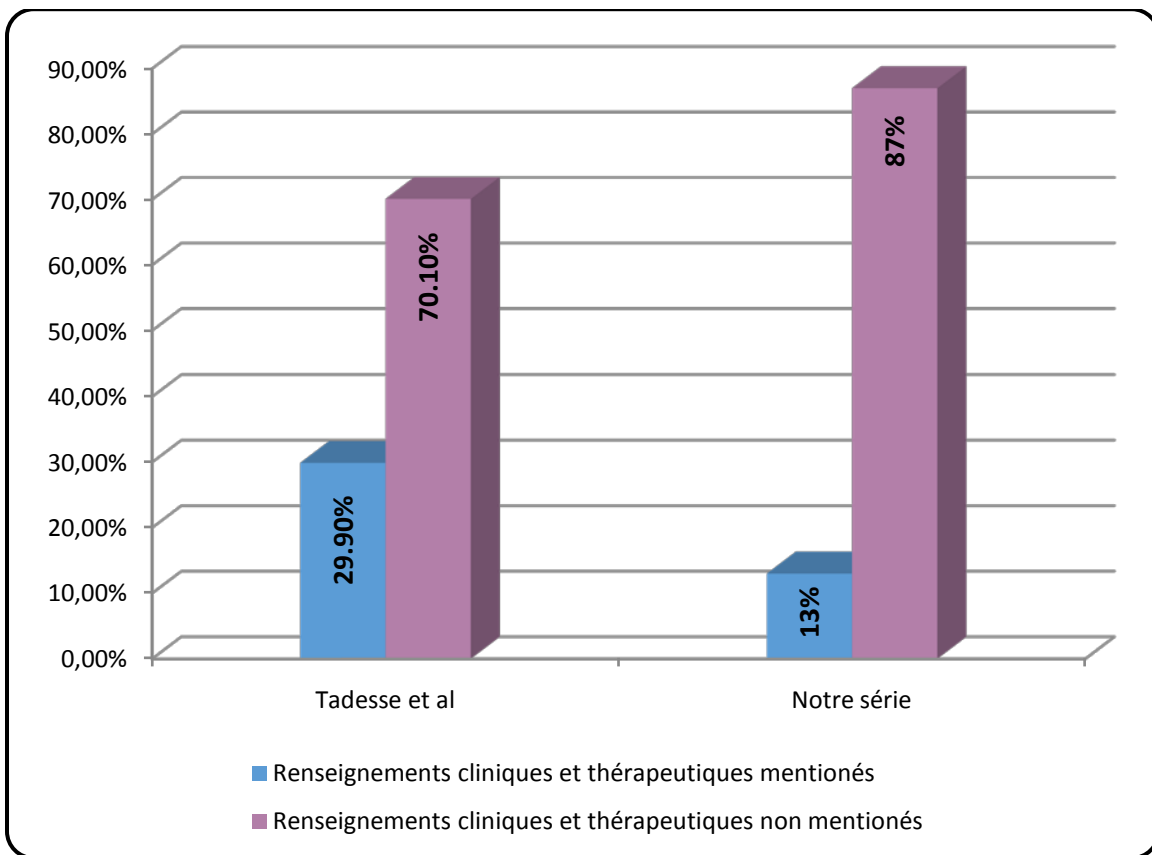


Figure 21 : Comparaison des résultats concernant la mention des renseignements cliniques et thérapeutiques.

II. Paramètres liés au prélèvement

1. Heure du prélèvement

La mention de l'heure du prélèvement est obligatoire afin de connaître le délai exact entre la réalisation de prélèvement et sa réception pour traitement.

Dans notre série, l'heure exacte du prélèvement n'était pas mentionnée sur toutes les fiches de prescription des 400 prélèvements sanguins reçus à la salle d'hémostase. Ceci ne peut être expliqué que par la méconnaissance des personnels chargés des prélèvements sanguins, de l'influence qu'a la notion du temps, sur la stabilité des paramètres de l'hémostase et la validité des résultats obtenus.

2. Délai entre prélèvement et arrivée des tubes en salle d'hémostase

Selon le CLSI (The Clinical & Laboratory Standards Institute), le GFHT (Groupe Français d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose) et le ECAT (European Concerted Action on Thrombosis), les prélèvements du sang total ou de plasma, conservés à la température ambiante (15°C - 25°C) pour les tests d'hémostase de routine ou la détermination des facteurs de coagulation doivent être analysés dans les 4 heures suivant le prélèvement, à l'exception du TP, ayant une stabilité allant jusqu'à 24 heures, et des tests visant à surveiller les traitements à l'héparine non fractionnée, pour lesquels le délai ne doit pas dépasser 2 heures. [78, 79]

Plusieurs études ont démontré une stabilité plus longue, pour de nombreux paramètres d'hémostase. Cela peut être intéressant, par exemple, lorsque des tests de coagulation supplémentaires sont demandés ou lorsque les laboratoires doivent sous-traiter des tests de coagulation, à un laboratoire distant du lieu de prélèvement. Mais des études complémentaires bien conduites restent nécessaires pour confirmer la validité de cette éventualité. [2, 78, 79,80]

Une étude transversale réalisée en 2018 en Chine par l'équipe Ye et al [94], incluant 1586 laboratoires, pendant une période de 01 mois, a objectivé un taux de 0.001% de dépassement de délai entre la réalisation du prélèvement et la réception des tubes à la salle de traitement. Ce taux très bas a été expliqué par l'attention accordée aux prélèvements et à leur réception au cours des 5 dernières années, ce qui a minimisé de façon générale les rejets dus aux erreurs pré-analytiques.

Quant à notre étude, le délai entre le prélèvement et l'arrivée des tubes en salle d'hémostase variait en fonction de l'origine des tubes :

- ❖ Les prélèvements réalisés à la salle de prélèvement du laboratoire (externes), sont acheminés à la salle de traitement sans délai, une fois effectués, ils sont transportés par un agent dans l'immédiat. Ceci prouve le niveau de maîtrise et savoir du personnel de la salle de prélèvement quant à l'indispensabilité du respect des délais en hémostase.

- ❖ Pour les prélèvements réalisés au niveau des services (internes), ce délai est inconnu, en raison de la non-disponibilité des informations concernant l'heure exacte de la réalisation du prélèvement pour ces tubes. Il s'agit d'un problème majeur, dont les conséquences peuvent porter préjudice aux patients, ayant des prélèvements reçus après dépassement des délais acceptables (résultats erronés). Le personnel chargé des prélèvements au sein des services doit être sensibilisé et informé sur l'importance du délai pour l'analyse des prélèvements en hémostase.

3. Caractéristiques des tubes utilisés

Selon les dernières recommandations (mai 2017) du GFHT, il faut utiliser des tubes en matière plastique ; polyéthylène téréphtalate. La date de péremption des tubes doit absolument être respectée. Il est également important que la qualité des tubes soit documentée et reconnue par un marquage CE. [59]

Dans notre enquête tous les tubes utilisés étaient conformes aux dernières recommandations du GFHT.

4. Caractéristiques de l'anticoagulant utilisé

L'anticoagulant utilisé dans les 400 prélèvements reçus à la salle d'hémostase était le citrate de sodium à la concentration 3.8%. Selon les recommandations françaises (GFHT) et américaines (CLSI) l'utilisation de cette concentration est acceptable. L'utilisation de la concentration 3.2% est plus recommandée. [33, 59, 61]

5. Ordre des tubes prélevés

L'ordre dans lequel les tubes sont prélevés a son importance, surtout en matière d'hémostase. Selon les recommandations du GFHT et CLSI, le prélèvement en hémostase doit être prélevé en position numéro 2. Un premier tube neutre sans additif de « purge » est donc nécessaire, ou un tube sec ne comportant pas d'activateur de la coagulation, ou après des hémocultures. [4, 67]

Dans notre enquête l'ordre de prélèvement des 149 tubes provenant des différents services et reçus à la salle d'hémostase était inconnu. Ceci rend l'évaluation de ce paramètre impossible, et peut être, une source méconnue d'erreur compromettant la validité des résultats obtenus.

Quant à l'ordre de prélèvement des 251 tubes provenant de la salle de prélèvement du laboratoire (interrogatoire du personnel) :

- Bilan d'hémostase demandé seul : le prélèvement sur tube citraté était réalisé seul sans utilisation préalable d'un tube de purge. Cette conduite est acceptable selon le GFHT seulement pour les tests courants d'hémostase et avec une ponction veineuse franche non traumatisante.

– Bilan d'hémostase demandé avec une série d'examen nécessitant un prélèvement sur tube sec (sans additifs ni activateurs) : le prélèvement dédié à l'étude de l'hémostase était réalisé en deuxième position après le prélèvement sur tube sec. Cette conduite est conforme aux recommandations françaises et américaines.

6. Remplissage des tubes

Dans notre étude le remplissage de chaque tube reçu à la salle d'hémostase, quelque soit son origine, est évalué selon les dernières recommandations (Mai 2017) du Groupe Français d'études sur l'Hémostase et la thrombose (GFHT) :

- ❖ Remplissage recommandé : jusqu'à l'indice marqué sur le tube, ou à plus de 90%
- ❖ Remplissage acceptable : tube rempli à plus de 80%
- ❖ Remplissage non conforme : tube rempli à moins de 80 %

Les tubes à remplissage non conforme représentaient 22.25% de la totalité des tubes reçus à la salle d'hémostase. Pour les tubes provenant des différents services, 28.18% étaient non conformes, quant aux tubes provenant de la salle de prélèvement du laboratoire, 18.72% étaient non conformes. Ces taux sont élevés par rapport aux taux des enquêtes similaires. Ceci peut être dû à plusieurs facteurs, à savoir :

- La méconnaissance du personnel préleveur vis-à-vis de l'importance de ce paramètre pour la validité des résultats obtenus.
- Expérience insuffisante du personnel préleveur en matière de ponction veineuse et la non utilisation des tubes sous vide.
- L'existence des patients difficile à piquer (sujets obèses, nourrissons...) rendant le remplissage adéquat des tubes difficile.

Le service des urgences était l'origine de 33.33% de la totalité des tubes à remplissage non conforme provenant des différents services. Ceci peut être expliqué, en plus des raisons

précédemment décrites, par l'afflux important des patients et la charge augmentée de travail au sein de ce service.

Plusieurs études ont évalué le paramètre de remplissage des tubes en hémostase, les pourcentages calculés diffèrent d'une étude à l'autre, tout en étant bas par rapport à celui calculé dans notre série.

Tableau VII : Pourcentages d'erreur liée au remplissage non conforme des différentes études de la phase pré-analytiques en hémostase.

Auteurs	Ville/Pays	Année de réalisation	Pourcentage d'erreur liée au remplissage non conforme
Ye et al [94]	Beijing/chine	2018	0.02%
Narang et al [96]	Ludhiana/Inde	2016	0.06%
Shukla et al [99]	Karad/Inde	2016	0.17%
Salvagno et al [100]	Verona/Italie	2008	0.75%
Nejjar [98]	Rabat/ Maroc	2010	2.25%
Tadesse et al [95]	Addis Ababa/Ethiopie	2018	10.5%
Notre série	Marrakech/Maroc	2019	22.25%

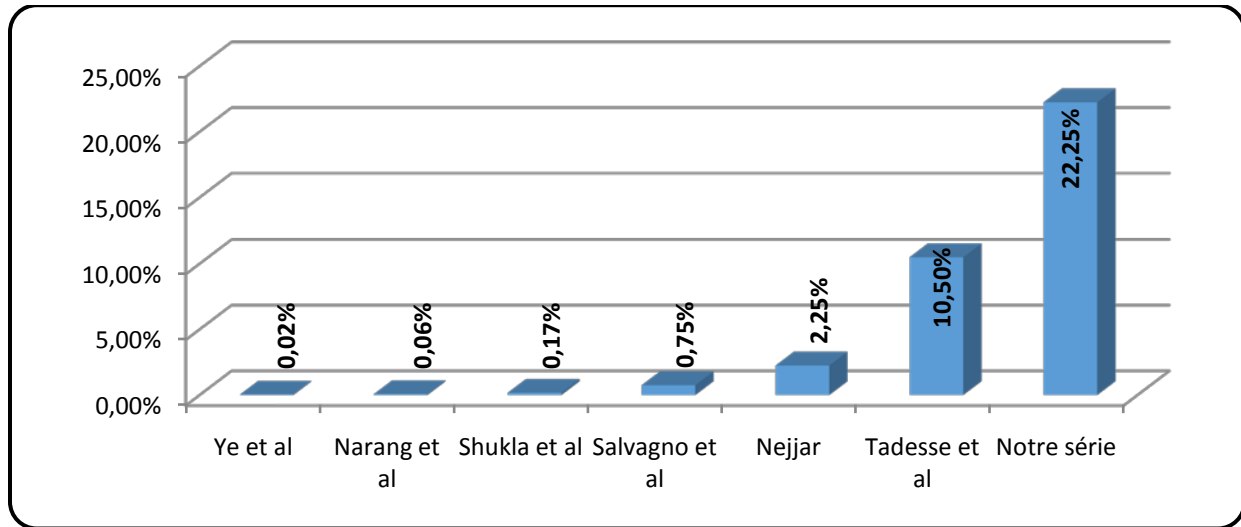


Figure 22 : Comparaison des pourcentages d'erreur liée au remplissage non conforme.

7. Prélèvements coagulés

Dans notre série, aucun prélèvement, reçu à la salle d'hémostase n'était coagulé. Plusieurs équipes ont étudié la présence de prélèvements coagulés parmi les tubes de prélèvements reçus, les pourcentages ainsi calculés sont inférieurs à 1%.

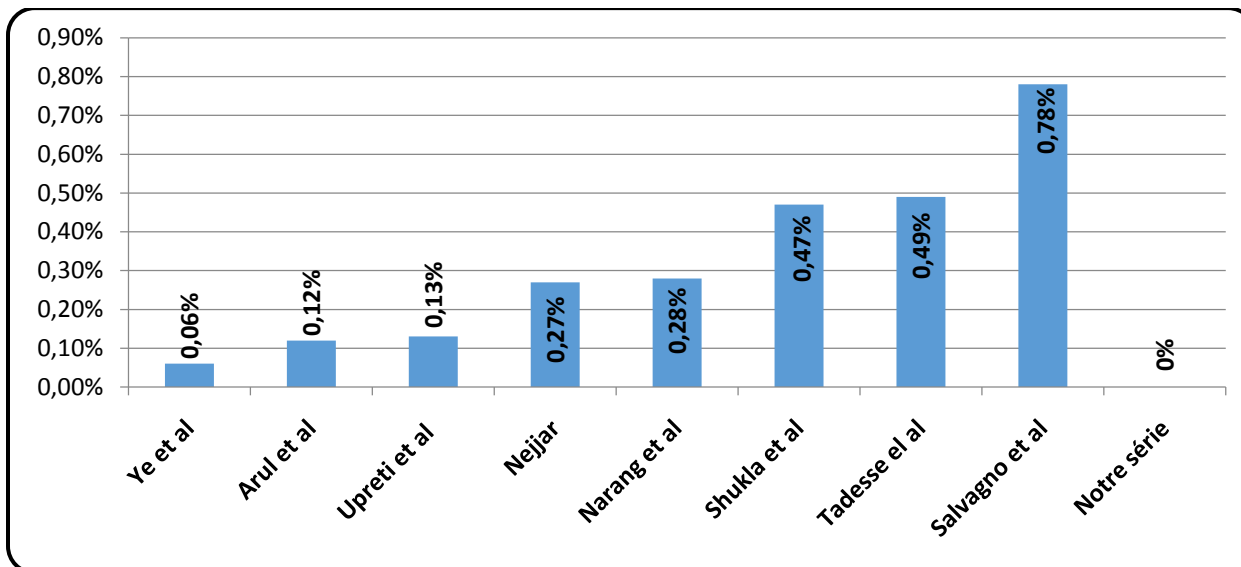


Figure 23 : Comparaison des pourcentages des prélèvements coagulés dans les différentes séries d'étude.

III. Paramètres liés au prétraitement des prélèvements

1. Systèmes d'enregistrement et triage des tubes au niveau de la salle d'hémostase

Les systèmes d'enregistrement et triage utilisés durant notre enquête étaient principalement manuels. Les dernières recommandations favorisent l'utilisation de systèmes automatiques permettant :

- L'enregistrement informatique des patients (identifiants, résultats des bilans précédents, consultations, rapport d'hospitalisation...).
- La demande d'examens biologiques sans recours aux fiches de prescription, ainsi les techniciens du laboratoire n'auront plus à trier manuellement les demandes avant de les saisir.
- L'étiquetage automatisé (codes barres par exemple).

Cette automatisation réduit significativement les taux d'erreur d'identification des patients. A titre d'exemple l'équipe de Killeen et al ont signalé que l'introduction des systèmes automatiques dans un service des urgences a diminué les taux d'erreur d'identification de 2,56 à 0,49 par 1 000 prélèvements. [73, 74]

2. Centrifugation

- Le délai entre la réception des tubes et leur centrifugation était entre 10 et 20 min pour la totalité des tubes reçus à la salle d'hémostase, ce délai était conforme aux recommandations du GFHT, sachant que les tests doivent être réalisés en général dans les 4 heures suivant le prélèvement, à condition que les prélèvements soient acheminés à la salle d'hémostase sans délai après leur réalisation et que l'heure exacte du prélèvement soit notée sur la fiche de prescription accompagnant chaque tube.

- La température de la centrifugeuse était fixée à 22°C pour tous les tubes de prélèvements. Celle-ci est conforme aux recommandations du GFHT ; ayant précisé que la température des centrifugeuses doit être entre 15°C et 25°C.
- La vitesse de rotation et la durée de la centrifugation, étaient programmées à 5000g pendant 5 minutes pour tous les tubes de prélèvements reçus. Selon le GFHT, il s'agit d'une centrifugation rapide, ayant été validée et peut être utilisée juste pour la réalisation de quelques examens à savoir : TP, TCA, Fibrinogène, D-dimères. Cependant le laboratoire avait reçu 10 demandes de tests intéressants : Protéines C et S, facteur VIII, antithrombine et anticorps anticoagulants circulants. Pour ces derniers une double centrifugation devait être réalisée au lieu de la centrifugation rapide selon les recommandations du GFHT.

3. Prélèvements hémolysés

L'hémolyse peut survenir suite à plusieurs causes à savoir : [1, 4, 65]

- ❖ Prélèvement difficile avec ponction veineuse non franche et traumatisante.
- ❖ Agitations fortes des tubes.
- ❖ Utilisation d'aiguille très large (<19 gauge).
- ❖ Pause de garrot prolongée (>1 min)

Dans notre série Les prélèvements sanguins hémolysés étaient au nombre de 12 (3% de la totalité des tubes reçus).

- Tubes provenant des différents services :

Les prélèvements sanguins hémolysés étaient au nombre de 10 (6.71%). 7 (70%) de ces prélèvements provenaient du service des Urgences, 2 (20%) avaient pour origine le service de Médecine interne et 1 (10%) provenait du service de Réanimation.

- Tubes provenant de la salle de prélèvement du laboratoire :

Les prélèvements sanguins hémolysés étaient au nombre de 2(0.79%).

Plusieurs autres études ont évalué la présence de prélèvements hémolysés parmi leurs tubes reçus, les pourcentages diffèrent d'une étude à l'autre comme présenté sur la figure suivante :

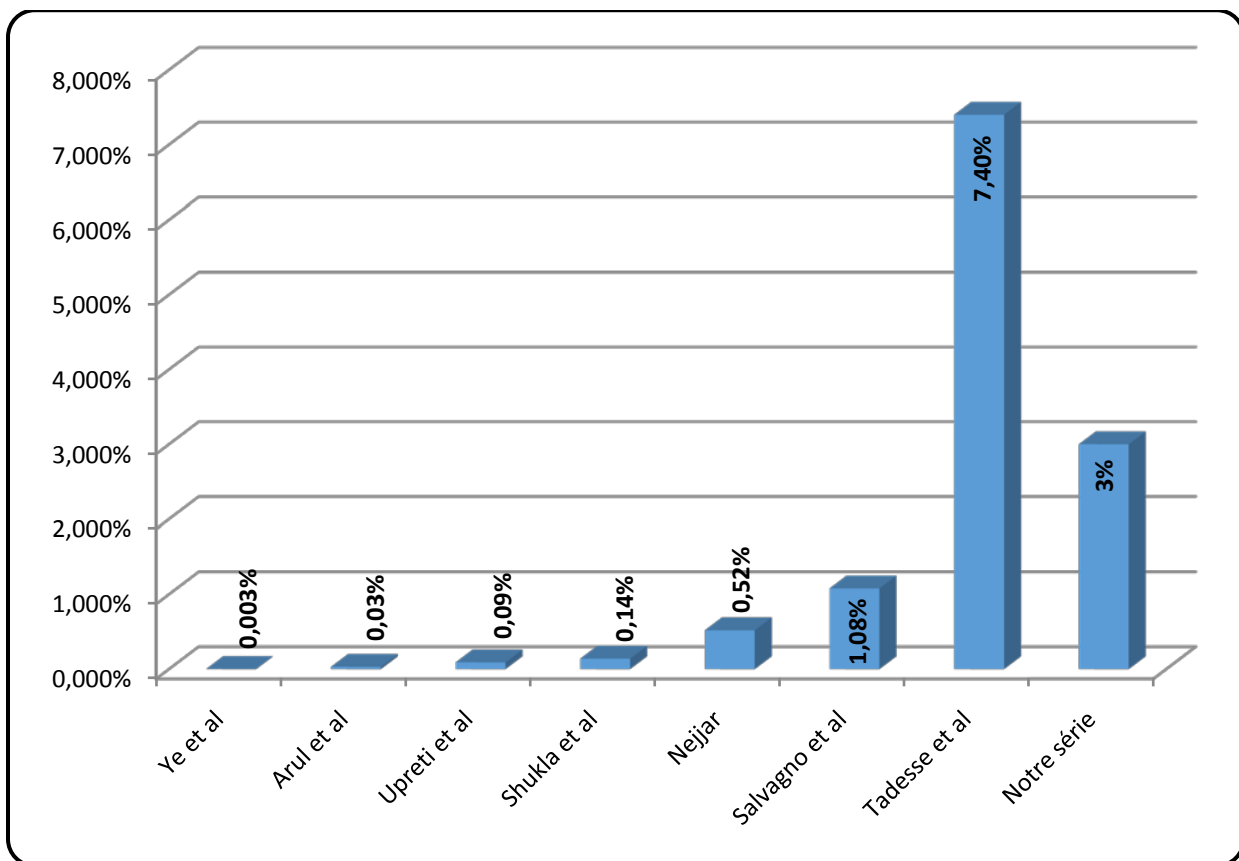


Figure 24 : Comparaison des pourcentages des tubes hémolysés dans les différentes études.

Chapitre 3 : Recommandations

Afin d'améliorer la qualité des prélèvements en hémostase, et minimiser les erreurs liées à la phase pré-analytique, nous proposons d'abord de rappeler aux prescripteurs et préleveurs, les conditions de bases pour une prescription valide et un prélèvement conforme en hémostase, à l'aide d'un poster, qui sera affiché à la salle de prélèvement et aux différents services de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech.

Par ailleurs, la standardisation des critères d'acceptation des prélèvements permettra incontestablement d'atteindre la fiabilité des résultats souhaitée. C'est la raison pour laquelle une gestion pertinente des prélèvements non conformes par le personnel de la salle d'hémostase s'impose. Tout prélèvement ne respectant pas les recommandations liées à la phase pré-analytique, doit être rejeté, avec communication de la cause du rejet au service source ou à la salle de prélèvement du laboratoire.



Figure 25 : Poster à afficher à la salle de prélèvement et au sein des services de l'HMA.

CONCLUSION

Le respect des conditions pré-analytiques constitue un volet majeur d'assurance de la fiabilité et de la validité des résultats en hémostase.

La phase pré-analytique est la source la plus importante des résultats erronés (70%) ou non interprétables. Elle demeure le maillon faible de la chaîne de traitement des prélèvements, d'autant plus qu'elle pourrait échapper au contrôle du biologiste qui, pourtant, constitue une cible privilégiée des critiques en cas de résultats aberrants.

Sur la base des résultats de notre étude prospective et à la lumière de l'analyse bibliographique menée, nous concluons que cette phase reste le point sensible du processus d'analyse en hémostase et que tous ses paramètres sont aussi importants les uns que les autres. Elle est difficile à maîtriser en raison du grand nombre d'intervenants impliqués et de la diversité des paramètres qui la constituent. Elle est une phase obligatoire de l'examen de biologie médicale, qui doit concourir à la fiabilité des résultats avec la même rigueur que les étapes per et post-analytiques. La maîtrise et les efforts de standardisation de conditions pré-analytiques sont primordiaux pour assurer la qualité de l'exploration en hémostase.

Il ressort de notre étude prospective que le déroulement général de la phase pré-analytique au sein du laboratoire d'hématologie, de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech, respecte globalement la plupart des recommandations. Cependant, malgré les efforts fournis par les différents intervenants impliqués dans ce processus, certains paramètres en relation avec la mention de l'âge et des renseignements cliniques et thérapeutiques du patient, la mention de l'heure exacte du prélèvement, la mention de l'ordre des tubes prélevés, les techniques de prélèvement, le niveau de remplissage des tubes et les conditions de la centrifugation, méritent encore d'être renforcés et pris en considération afin d'obtenir la fiabilité des résultats souhaitée.

La prise de conscience de la problématique par chacun des intervenants, en aval et en amont de leur propre responsabilité, permettrait d'appliquer les dernières recommandations liées à la phase pré-analytique et également d'améliorer la qualité des prélèvements ainsi que

la fiabilité des résultats obtenus. Dans la même perspective la collaboration et la communication efficaces entre les différents intervenants (biologiste, médecin clinicien, infirmiers, préleveurs...) s'imposent pour parer aux failles de la phase pré-analytique en hémostase.

ANNEXES

Fiche d'exploitation

I – Paramètres liés à la fiche de prescription

Nom et Prénom	
Sexe	
Age	
Renseignements cliniques et thérapeutiques	

II – Paramètres liés au prélèvement

Origine	Interne : <input type="checkbox"/>	Externe : <input type="checkbox"/>	
Heure du prélèvement	Présente : <input type="checkbox"/>	Absente : <input type="checkbox"/>	
Délai entre prélèvement et réception			
Caractéristiques du tube utilisé	Date de péremption	Respectée <input type="checkbox"/>	Non respectée <input type="checkbox"/>
	Matière :		
Caractéristiques de l'anticoagulant utilisé	Nature		
	Concentration		
Ordre du tube prélevé			
Remplissage	$\geq 90\%$ <input type="checkbox"/>	$\geq 80\%$ <input type="checkbox"/>	$\leq 80\%$ <input type="checkbox"/>
Prélèvement coagulé	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	

III – Paramètres liés au prétraitement des prélèvements

Système d'enregistrement			
Triage des tubes			
Centrifugation	Délai		
	Vitesse		
	Durée		
	Température		
Tube hémolysé	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	

RÉSUMÉS

Résumé

Titre : Etude prospective : Relever les principales anomalies de la phase pré-analytique en hémostase au laboratoire d'Hématologie de l'HMA Marrakech.

Mots-clés : Phase pré-analytique – Hémostase – Recommandations.

Le processus d'analyse au sein du laboratoire de biologie, se divise en trois phases, à savoir : pré, per et post analytiques. La phase pré-analytique représente la source d'erreur la plus importante (70%). Le respect des différents paramètres pré-analytiques constitue un volet majeur d'assurance de la fiabilité et de la validité des résultats en hémostase.

Notre travail a mis le point sur les différentes étapes pré-analytiques et leur influence sur les tests explorant l'hémostase, les principales anomalies observées au cours de cette phase, ainsi que les nouvelles recommandations améliorant les pratiques quotidiennes des prescripteurs, préleveurs, techniciens et biologistes, à travers une analyse bibliographique et une étude prospective, sous forme d'enquête au sein du laboratoire d'Hématologie de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech, étalée sur une période de 04 semaines, dont l'objectif est de relever les principales anomalies de la phase pré-analytique en hémostase et proposer également des moyens visant à les corriger.

Nous avons reçu à la salle d'hémostase 400 fiches de prescriptions et leurs tubes correspondants. En ce qui concerne les paramètres liés à la fiche de prescription : le nom et prénom des patients ont été mentionnés sur toutes les fiches reçues et ils étaient conformes à ceux marqués sur le tube correspondant sans exception. Le sexe des patients a été mentionné également sur toutes les fiches. L'âge des patients a été mentionné sur 293(73.25%) demandes d'examen tandis que les renseignements cliniques et thérapeutiques étaient mentionnés dans 52cas (13%) seulement.

Quant aux paramètres pré-analytiques en hémostase liés au prélèvement : 251 prélèvements (62.75%) étaient réalisés au niveau de la salle de prélèvement du laboratoire et 149 (37.25%) autres étaient réalisés au niveau des différents services de l'hôpital. L'heure de la

réalisation des prélèvements n'était pas mentionnée ni sur les fiches ni sur les étiquettes des tubes. Le délai entre le prélèvement et la réception des tubes en salle d'hémostase était inconnu pour les prélèvements réalisés au niveau des services, par contre les prélèvements réalisés au niveau de la salle de prélèvement du laboratoire étaient reçus sans délai après leur réalisation. Tous les tubes reçus étaient en polyéthylène téréphtalate et leur date de péremption était respectée. L'anticoagulant utilisé pour tous les prélèvements était le citrate de sodium à la concentration 3.8%. L'ordre de la réalisation des prélèvements au niveau des services était inconnu, alors que ceux réalisés au niveau de la salle de prélèvements du laboratoire étaient effectués en 1ère position si bilan d'hémostase était demandé seul, et en 2ème position après tube sec si bilan d'hémostase était demandé avec une série d'examen. Le remplissage des tubes était non conforme dans 89 tubes (22.25%). Aucun prélèvement reçu n'était coagulé.

Concernant les paramètres liés au prétraitement des prélèvements : Les systèmes d'enregistrement et triage des tubes étaient en général manuels. La centrifugation des tubes était réalisée dans un délai de 10 à 20 min après leur réception, à la vitesse de rotation de 5000g, pendant 5min, et à une température fixée à 22°C. Les prélèvements hémolysés étaient au nombre de 12 (3%).

Il ressort de notre étude prospective que le déroulement général de la phase pré-analytique au sein du laboratoire d'hématologie de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech respecte globalement la plupart des recommandations. Cependant, malgré les efforts fournis par les différents intervenants impliqués dans ce processus, certains paramètres en relation avec la mention de l'âge et des renseignements cliniques et thérapeutiques du patient, la mention de l'heure exacte du prélèvement, la mention de l'ordre des tubes prélevés, les techniques de prélèvement, le niveau de remplissage des tubes et les conditions de la centrifugation, méritent encore d'être renforcés et pris en considération afin d'obtenir la fiabilité des résultats souhaitée.

La collaboration et la communication efficaces entre les différents intervenants (biologiste, médecin clinicien, infirmiers, préleveurs...) s'imposent pour parer aux failles de la phase pré-analytique en hémostase.

Abstract

Title: Prospective study: Identify the main anomalies of the pre-analytical phase in hemostasis in the Hematology laboratory of the HMA Marrakech.

Keywords: Pre-analytical phase - Hemostasis - Recommendations

The analysis process in the laboratory of biology is divided into three phases, namely: pre, per and post analytics. The pre-analytical phase represents the largest source of errors (70%). The respect of the various pre-analytical parameters constitutes a major component of insurance of the reliability and the validity of the results in hemostasis.

Our work focused on the different pre-analytical steps and their influence on the tests exploring hemostasis, the main anomalies observed during this phase, as well as the new recommendations improving the daily practices of prescribers, samplers, technicians and biologists, through a bibliographic analysis and a prospective study, in the form of a survey in the Hematology laboratory of the Military Hospital Avicenne of Marrakech, spread over a period of four weeks, whose objective is to identify the main anomalies of the pre-analytical phase in hemostasis and also propose means to correct them.

We received in the hemostasis room 400 request forms and their corresponding tubes. Regarding the parameters related to the forms: the name and surname of the patients were mentioned on all forms received and they were consistent with those marked on the corresponding tube. The sex of the patients was mentioned also on all the forms. The age of the patients was mentioned on 293 (73.25%) request forms while the clinical and therapeutic information were mentioned in 52 cases (13%) only.

As for the pre-analytical parameters in hemostasis related to the collection: 251 samples (62.75%) were made at the sampling room of the laboratory and 149 (37.25%) were performed at the different departments of the hospital. The time of sampling was not

mentioned on the forms or labels of the tubes. The delay between the collection and the reception of the tubes in the hemostasis room was unknown for the samples performed at the hospital departments, on the other hand the samples performed at the sampling room of the laboratory were received without delay right after their realization. All the tubes received were polyethylene terephthalate and their expiry date was respected. The anticoagulant used for all samples was sodium citrate at a concentration of 3.8%. The order of the realization of the samples coming from hospital departments was unknown, whereas those coming from the sampling room of the laboratory were carried out in 1st position if hemostasis tests were requested alone, and in 2nd position after dry tube if hemostasis tests were requested with series of other tests. The tube filling was improper in 89 tubes (22.25%). No samples received were coagulated.

Concerning the parameters related to the pretreatment of the samples: The systems of recording and sorting of the tubes were in general manual. The centrifugation of the tubes was carried out within 10 to 20 minutes after their reception, at the speed of rotation of 5000 g, for 5 min, and at a temperature set at 22degree. Hemolyzed samples were 12 (3%).

It emerges from our prospective study that the general progress of the pre-analytical phase in the hematology laboratory of the Military Hospital Avicenne of Marrakech respects most of the recommendations. However, despite the efforts made by the various stakeholders involved in this process, certain parameters related to the mention of age, clinical and therapeutic informations of the patient, the mention of the exact time of sampling, the mention of the order of the tubes sampling, the sampling techniques, the level of filling of the tubes and the conditions of the centrifugation, still deserve to be reinforced and taken into consideration in order to obtain the reliability desired of the results.

Effective collaboration and communication between the various stakeholders (biologist, clinician doctor, nurses, samplers ...) are needed to address the flaws of the pre-analytical phase in hemostasis.

ملخص

العنوان : دراسة مستقبلية: تحديد الأخطاء الرئيسية خلال المرحلة ما قبل التحليلية في الإرقاء بمختبر أمراض الدم بالمستشفى العسكري ابن سينا مراكش

الكلمات الأساسية : المرحلة ما قبل التحليلية - الإرقاء - توصيات.

تنقسم عملية التحليل داخل مختبر البيولوجيا إلى ثلاث مراحل ، هي: ما قبل التحليلية ، خلال التحليلية و ما بعد التحليلية. تمثل مرحلة ما قبل التحليل أكبر مصدر للأخطاء (70%). يشكل احترام مختلف العوامل قبل التحليلية مكوناً رئيسياً لضمان الموثوقية وصحة النتائج في الإرقاء.

يركز عملنا على الخطوات ما قبل التحليلية المختلفة وتأثيرها على اختبارات استكشاف الإرقاء، الأخطاء الرئيسية التي لوحظت خلال هذه المرحلة ، بالإضافة إلى التوصيات الجديدة لتحسين الممارسات اليومية للواصفين ، آخذي العينات ، التوقيتين و علماء الأحياء، من خلال تحليل بيليوغرافي ودراسة مستقبلية بمختبر أمراض الدم بالمستشفى العسكري ابن سينا مراكش، استمرت لمدة أربعة أسابيع ، والتي تهدف إلى تحديد الأخطاء الرئيسية خلال المرحلة ما قبل التحليلية في الإرقاء وتقتراح أيضا وسائل لتصحيحها.

تلقينا في غرفة الإرقاء 400 وصفة طبية و عينات الدم المقابلة لها. فيما يخص العوامل المتعلقة بالوصفات الطبية: سجل الإسم الشخصي والعائلي للمرضى في جميع الوصفات التي تم تلقيها وكانوا متوافقين مع الاسماء المسجلة على العينات المقابلة. سجل جنس المرضى أيضا على جميع الوصفات. وتم ذكر عمر المرضى على 293 (73.25%) من طلبات الفحص بينما تم ذكر المعلومات السريرية والعلاجية في 52 طلب فقط (13%).

بالنسبة للمعايير المتعلقة بالعينات: تم إنجاز 251 عينة (62.75%) في غرفة أخذ العينات بالمختبر و 149 (37.25%) بالأقسام الاستشفائية المختلفة. لم يتم تسجيل وقت أخذ العينات على الوصفات أو ملصقات العينات. كان التأخير بين التجميع واستقبال الأنابيب في غرفة تخثر الدم غير معروف بالنسبة للعينات المأخوذة على مستوى الأقسام الاستشفائية ، ومن ناحية أخرى ، تم استلام العينات المأخوذة على مستوى غرفة أخذ العينات في المختبر دون تأخير بعد إنجازها. كانت جميع أنابيب أخذ العينات المستلمة عبارة عن البولي إيثيلين تيريفثالات وتم احترام تاريخ انتهاء صلاحيتها. كان مضاد التخثر المستخدم لجميع

العينات سترات الصوديوم بتركيز 3.8 ٪. لم يُعرف ترتيب إنجاز العينات التي أُجريت على مستوى الأقسام الاستشفائية ، في حين أنجزت تلك العينات على مستوى غرفة عينات المختبر في الموضع الأول إذا طُلب تقييم الإرقاء بمفرده ، وفي الموضع الثاني بعد الأنبوب الجاف إذا طلب تقييم الإرقاء مع سلسلة من الفحوص. كان ملء الأنبوب غير متوافق مع الشروط في 89 (22.25٪) عينة. لم يتم تخثر العينات المستلمة.

بخصوص العوامل المتعلقة بالمعالجة القبلية للعينات: كانت أنظمة التسجيل والفرز يدوية بشكل عام. تم إجراء الطرد المركزي للعينات في غضون 10 إلى 20 دقيقة بعد استقبالها، بسرعة دوران 5000، لمدة 5 دقائق، و على درجة حرارة ثابتة عند 22 درجة. و كان هناك انحلال للدم في 12 (3٪) عينة.

يتبين من دراستنا أن مختبر علم الدم بالمستشفى العسكري ابن سينا مراكش يحترم معظم التوصيات المتعلقة بالمرحلة ما قبل التحليلية في الإرقاء. على الرغم من الجهود التي يبذلها مختلف المتدخلين في هذه المرحلة، هناك بعض الخطوات المتعلقة بذكر العمر والمعلومات السريرية والعلاجية للمريض ، تسجيل وقت أخذ العينات ، ذكر ترتيب العينات التي تم أخذها ، تقنيات أخذ العينات ، مستوى ملء الأنابيب وظروف الطرد المركزي، بحاجة إلى التعزيز والأخذ بعين الاعتبار من أجل الحصول على موثوقية النتائج المرجوة.

هناك حاجة إلى تعاون وتواصل فعالين بين مختلف المتدخلين (عالم الأحياء، الطبيب، الممرض، آخذي العينات، التقنيين...) لمعالجة عيوب المرحلة ما قبل التحليلية في الإرقاء.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 **Ellouze R, Guermazi S.**
"Importance of preanalytical step in hemostasis"
Annales de Biologie Clinique, Vol 71, n° 4, p. 401-407, 2013.
- 2 **Mauge L, Alhenc-Gelas M.**
"Stability of coagulation parameters: review of available data,"
Annales de Biologie Clinique, n° 2, p. 141-145, 2014.
- 3 **Plebani M et al.**
"Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing"
Clinica Chimica Acta, vol 432, p. 44-48, Mai 2014.
- 4 **Gris JC.**
"Étapes préanalytiques en hémostase"
EMC – Biologie médicale, vol 6, n° 3, p. 1-7, Jan 2011.
- 5 **Berthélémy S.**
"Le bilan d'hémostase et de coagulation"
Actualités Pharmaceutiques, vol 54, n° 542, p. 59-61, Jan 2015.
- 6 **Dubœuf S, Pillon F.**
"L'hémostase, quelques notions de physiologie"
Actualités Pharmaceutiques, vol 49, n° 501, p. 14-15, Déc 2010.
- 7 **De Revel T, Doghmi K.**
"Physiologie de l'hémostase"
EMC-Dentisterie, Vol 1, p. 71-81, 2004.
- 8 **Horellou MH, Flaujac C, Guin Thibault I.**
"Hémostase : physiologie et principaux test d'exploration"
EMC – Traité de médecine AKOS, vol 7, n° 2, p. 1-4, 2012.
- 9 **Samama MM, Emile C et al.**
Cahier de formation N° 20 Hémostase et Thrombose. Bioforma Paris : 2000.
- 10 **Baruch D.**
"Interactions plaquettes – paroi vasculaire"
Thérapies, vol 61, n° 5, p. 371-378, Sep 2006.

- 11 **Bellucci S.**
"Physiologie de l'hémostase primaire"
EMC – Hématologie, vol 1, n° 1, p. 1-9, Jan 2006.
- 12 **Nizamaldin Y et al.**
"Hémostase locale en chirurgie orale. 1^{ère} partie : physiologie de l'hémostase"
Médecine Buccale Chirurgie Buccale, vol 18, n° 2, p. 119-127, 2012.
- 13 **Garraud O et al.**
"Plaquettes sanguines, réponses aux signaux de danger infectieux et inflammation : vers un nouveau paradigme?"
Transfusion Clinique et Biologique, vol 18, n° 2, p. 165-173, 2011.
- 14 **Bezeaud A, Guillin MC.**
"Physiologie de la coagulation"
EMC – Hématologie, vol 1, n° 1, p. 1-7, Jan 2006.
- 15 **Schved JF.**
"Physiologie de l'hémostase"
Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes. MB7- H3-Hémostase. 1-6, 2007.
- 16 **Hermans C et al.**
"Malformations veineuses et coagulopathie"
Annales de Chirurgie Plastique Esthétique, vol 51, n° 4-5, p. 388-393, 2006.
- 17 **Schved JF.**
"Hémophilie : physiopathologie et bases moléculaires"
EMC – Hématologie, vol 3, n° 2, p. 1-14, Jan 2008.
- 18 **Ducloy-Bouthors AS.**
"Hémostase et prééclampsie"
Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, vol 29, n° 5, p. e121-e134, Mai 2010.
- 19 **Harif M.**
"Hémostase: de la physiologie à la pathologie"
CASABLANCA, 2007.

- 20 **Fourrier F.**
“Fibrinolyse et fibrinogénolyse en réanimation”
Réanimation, Vol 11, n° 5, p. 341–348, 2002.
- 21 **Faure S.**
“Fibrinolytiques”
Actualités Pharmaceutiques, vol 53, n° 534, p. 53–56, Mar 2014.
- 22 **Hanss M.**
“Anomalies constitutionnelles de la fibrinolyse et syndromes hémorragiques”
Revue Francophone des Laboratoires, n° 433, p. 39–45, 2012.
- 23 **Ditisheim S et al.**
“Coagulation et cirrhose: un nouveau regard”
Rev Med Suisse, Vol 8, p. 1652–1656, Sep 2012.
- 24 **Gaussem P, Anglés–cano E.**
“Physiologie et exploration de la fibrinolyse”
EMC –Hématologie, vol 9, n° 3, août 2014.
- 25 **Samama C.**
“Les troubles graves de l’hémostase”
Réanimation, vol 16, n° 7–8, p. 673–677, Nov 2007.
- 26 **Da Rin G.**
“Pre-analytical workstations: A tool for reducing laboratory errors”
Clinica Chimica Acta, vol 404, n° 1, p. 68–74, 2009.
- 27 **Soubiran P, Annette–Reisch M, Szymanowicz A.**
“Périmètre et description de l’étape pré-analytique”
Annales de Biologie Clinique, Vol 68, n° 1 (Hors série), p. 3–22, 2010.
- 28 **Legrand A.**
“Le pré –analytique en biologie médicale”
Bio tribune magazine, n°10, p. X, Mai 2004

- 29 Crozet C et al.**
“Étude d’impact des températures de transport sur la qualité des résultats d’analyse en immuno-hématologie”
Transfusion Clinique et Biologique, vol 22, n° 4, p. 238, Sep 2015.
- 30 Hawkins R.**
“Managing the Pre- and Post-analytical Phases of the Total Testing Process”
Annals of Laboratory Medicine, vol 32, n° 1, p. 5, 2012.
- 31 Plebani M, Piva E.**
“Medical Errors: Pre-Analytical Issue in Patient Safety”
Journal of Medical Biochemistry, vol 29, n° 4, p. 310-314, Oct 2010.
- 32 Bustin A.**
“Importance de la phase préanalytique spécifique aux prélèvements sanguins dans les services d’urgence”
Urgences 2005, Conférences Infirmiers, Société française de médecine d'urgence, Chapitre 65, p. 15-26, Avril 2005.
- 33 Louati N, Ben Amor I, Daoued G.**
“EFFET DE L’ANTICOAGULANT ET DE LA CONSERVATION DES ECHANTILLONS SANGUINS SUR LES TESTS D’EXPLORATION DE LA COAGULATION EFFECT OF ANTICOAGULANT AND STORAGE OF BLOOD SAMPLES FROM CLOTTING EXPLORATION TESTS”
Journal de l'Information Médicale de Sfax, n° 24, p. 22 - 33, Oct 2016.
- 34 Leblanc RM.**
“Le pré-analytique en hémostase et les recommandations du Groupe d’études sur l’hémostase et la thrombose (GEHT)”
Option/Bio, vol 20, n° 417, p. 20-21, 2009.
- 35 Gendt L, Szymanowicz A.**
“Proposition pour la maîtrise de la phase pré-analytique selon la norme NF EN ISO 15189”
Bio tribune magazine, vol 36, n° 1, p. 50-58, Oct 2010.
- 36 Hézard N.**
“Hémostase pédiatrique”
Bio Tribune Magazine, Vol 18, n° 1, p. 40-43, 2006.

- 37 Hurtaud–Roux MF, Vincenot A, Lasne D.**
“L’hémostase en pédiatrie, ses particularités, les principales pathologies hémorragiques et leur gestion”
Anesthésie & Réanimation, vol 4, n° 4, p. 290–299, 2018.
- 38 Lasne D, Hurtaud MF.**
“Particularités de l’hémostase du nouveau-né”
Revue Francophone des Laboratoires, n° 508, p. 72–80, Jan 2019.
- 39 Franchini M.**
“Hemostasis and aging”
Critical Reviews in Oncology/Hematology, vol 60, n° 2, p. 144–151, Nov. 2006.
- 40 Boyer–Neumann C**
“Hémostase et grossesse”
EMC – Hématologie, vol 2, n° 2, p. 132–143, 2005.
- 41 Magnette A et al.**
“Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: guidance for the clinical laboratories”
Thrombosis Journal, vol 14, n° 1, Dec. 2016.
- 42 Lippi G, Maffulli N.**
“Biological Influence of Physical Exercise on Hemostasis”
Seminars in Thrombosis and Hemostasis, vol 35, n° 3, p. 269–276, 2009.
- 43 El–Sayed MS, El–Sayed Ali Z, Ahmadizad S.**
“Exercise and Training Effects on Blood Haemostasis in Health and Disease: An Update”
Sports Medicine, vol 34, n° 3, p. 181–200, 2004.
- 44 Smith JE.**
“Effects of strenuous exercise on haemostasis”
British Journal of Sports Medicine, vol 37, n° 5, p. 433–435, Oct. 2003.
- 45 Ozier Y, Cadic A, Dovergne A.**
“Prise en charge des troubles de l’hémostase chez l’insuffisant hépatique”
Transfusion Clinique et Biologique, vol 20, n° 2, p. 249–254, 2013.

- 46 Brunet P et al.**
"Troubles de l'hémostase au cours de l'insuffisance rénale chronique"
EMC – Néphrologie, vol 1, n° 1, p. 1-7, Jan 2006.
- 47 Abdellaoui M, Mekhfi H, Bentata Y.**
"Épidémiologie des troubles de l'hémostase associés à la maladie rénale chez les patients en néphrologie"
Néphrologie & Thérapeutique, vol 14, n° 5, p. 330, Sep. 2018.
- 48 Hunt BJ.**
"The effect of BMI on haemostasis: Implications for thrombosis in women's health"
Thrombosis Research, vol 151, p. S53-S55, Mar 2017.
- 49 Madan R et al.**
"Coagulation Profile in Diabetes and its Association with Diabetic Microvascular Complications"
Journal of The Association of Physicians of India (JAPI), vol 58, p. 481-484, 2010.
- 50 Fattah MA, Shaheen MH, Mahfouz MH.**
"Disturbances of Haemostasis in Diabetes Mellitus"
Disease Markers, vol 19, n° 6, p. 251-258, 2004.
- 51 Blanloeil Y et al.**
"Effets des solutés de remplissage vasculaire sur l'hémostase"
Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, vol 21, n° 8, p. 648-667, Oct 2002.
- 52 Yanbaeva DG et al.**
"Systemic Effects of Smoking"
Chest, vol 131, n° 5, p. 1557-1566, Mai 2007.
- 53 Basalingappa D et al.**
"Impact of chronic cigarette smoking on platelet aggregation and coagulation profile in apparently healthy male smokers"
International Journal of Clinical and Experimental Physiology, vol 2, n° 2, p. 128, 2015.
- 54 Salem RO, Laposata M.**
"Effects of Alcohol on Hemostasis"
Pathology Patterns Reviews, vol 123, n° suppl_1, p. S96-S105, 2005.

- 55 **Wang Z et al.**
“Effects of red wine and wine polyphenol resveratrol on platelet aggregation in vivo and in vitro”
International Journal of Molecular Medicine, Jan. 2002.
- 56 **Lima–Oliveira G et al.**
“Could light meal jeopardize laboratory coagulation tests?”
Biochemia Medica, vol 24, n° 3, p. 343–349, 2014.
- 57 **Montagnana M, Salvagno G, Lippi G.**
“Circadian Variation within Hemostasis: An Underrecognized Link between Biology and Disease?”
Seminars in Thrombosis and Hemostasis, vol 35, n° 01, p. 023–033, Fev 2009.
- 58 **Lippi G et al.**
“Influence of posture on routine hemostasis testing”
Blood Coagulation & Fibrinolysis, vol 26, n° 6, p. 716–719, Sep. 2015.
- 59 **Laboratoire de Biologie Médicale, CHU Tours.**
“GFHT recommandations préanalytiques en hémostase, révision octobre 2015 (dernière mise à jour Mai 2017)”
Disponible sur : https://www.chu-tours.fr/assets/files/pdf/manuel_prelevement/LBM_M_N_DX005_02_Recommandations_pr%C3%A9-analyti.pdf, 2017, (consulté le 10.04.2019).
- 60 **Abecassis L, Le Bihan F, Le Bourdelles S.**
“Intérêt des tubes en polyéthylène téréphtalate Venosafe® pour les tests d'hémostase avec détermination des valeurs usuelles”
Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, vol 20, n° 6, p. 379–382, 2005.
- 61 **Samama MM.**
“Le pré-analytique en hémostase”
Bio tribune magazine, n°10, p. XIII, Mai 2004.
- 62 **Lippi G et al.**
“Influence of the needle bore size on platelet count and routine coagulation testing”
Blood Coagulation & Fibrinolysis, vol 17, n° 7, p. 557–561, Oct 2006.

- 63 Saleem S et al.**
“A prospective study of causes of haemolysis during venepuncture: tourniquet time should be kept to a minimum”
Annals of Clinical Biochemistry, vol. 46, n° 3, p. 244-246, May 2009.
- 64 Cengiz M et al.**
“Influence of tourniquet application on venous blood sampling for serum chemistry, hematological parameters, leukocyte activation and erythrocyte mechanical properties”
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, vol 47, n° 6, Jan 2009.
- 65 Heyer NJ et al.**
“Effectiveness of practices to reduce blood sample hemolysis in EDs: A laboratory medicine best practices systematic review and meta-analysis”
Clinical Biochemistry, vol 45, n° 13-14, p. 1012-1032, Sep 2012.
- 66 Ialongo C, Bernardini S.**
“Phlebotomy, a bridge between laboratory and patient”
Biochemia Medica, p. 17-33, 2016.
- 67 Cornes M et al.**
“Order of blood draw: Opinion Paper by the European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE)”
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), vol 55, n° 1, p. 27-31, Jan 2017.
- 68 Pôle Médico-Technique Laboratoire de Biologie médicale du Centre Hospitalier de Saint-Denis.**
“LIVRET BIOLOGIQUE Catalogue des examens et manuel de prélèvements”
Disponible sur : <http://www.ch-stdenis.fr/media-files/478/livret-biologique-2016-avril-2016.pdf>, 2016, (consulté le 10/04/2019).
- 69 Favalaro EJ, Adcock Funk DM, Lippi G.**
“Pre-analytical Variables in Coagulation Testing Associated With Diagnostic Errors in Hemostasis”
Laboratory Medicine, vol 43, n° 2, p. 1.2-10, 2012.

- 70 Lippi G et al.**
“Quality Standards for Sample Collection in Coagulation Testing”
Seminars in Thrombosis and Hemostasis, vol 38, n° 6, p 565-575, Sep 2012.
- 71 Lippi G et al.**
“Quality and reliability of routine coagulation testing: can we trust that sample?”
Blood Coagulation & Fibrinolysis, vol 17, n° 7, p. 513-519, Oct 2006.
- 72 Parenmark A, Landberg E.**
“To mix or not to mix venous blood samples collected in vacuum tubes?”
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), vol 49, n° 12, Jan 2011.
- 73 Lippi G et al.**
“Patient and Sample Identification. Out of the Maze?”
Journal of Medical Biochemistry, vol 36, n° 2, pp. 107-112, Apr. 2017.
- 74 Lippi G et al.**
“Causes, consequences, detection, and prevention of identification errors in laboratory diagnostics”
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), vol 47, n° 2, Jan 2009.
- 75 Calmette L et al.**
“Impact of a pneumatic tube system transport on hemostasis parameters measurement: the experiment of Cochin university hospital (AP-HP, Paris, France)”
Annales de Biologie Clinique, n° 1, p. 93-100, 2017.
- 76 Adcock Funk D, Lippi G, Favaloro E.**
“Quality Standards for Sample Processing, Transportation, and Storage in Hemostasis Testing”
Seminars in Thrombosis and Hemostasis, vol 38, n° 6, p. 576-585, Sep 2012.
- 77 Subbarayan D, Choccalingam C, Lakshmi CKA.**
“The Effects of Sample Transport by Pneumatic Tube System on Routine Hematology and Coagulation Tests”
Advances in Hematology, vol 2018, p. 1-4, 2018.

- 78 Linskens EA, Devreese KMJ.**
“Pre-analytical stability of coagulation parameters in plasma stored at room temperature”
International Journal of Laboratory Hematology, vol 40, n° 3, p. 292-303, 2018.
- 79 Toulon P et al.**
“Impact of different storage times at room temperature of unspun citrated blood samples on routine coagulation tests results. Results of a bicenter study and review of the literature”
International Journal of Laboratory Hematology, vol 39, n° 5, p. 458-468, Oct. 2017.
- 80 Feng L et al.**
“Effects of storage time and temperature on coagulation tests and factors in fresh plasma”
Scientific Reports, vol. 4, no. 1, May 2015.
- 81 Daves M et al.**
“Influence of centrifuge brake on residual platelet count and routine coagulation tests in citrated plasma”
Blood Coagulation & Fibrinolysis, vol 25, n° 3, p. 292-295, Apr 2014.
- 82 Lippi G et al.**
“Influence of the centrifuge time of primary plasma tubes on routine coagulation testing”
Blood Coagulation & Fibrinolysis, vol 18, n° 5, p. 525-528, 2007.
- 83 Dimeski G et al.**
“Centrifugation protocols: tests to determine optimal lithium heparin and citrate plasma sample quality”
Annals of Clinical Biochemistry, vol 48, n° 3, p. 218-222, 2011.
- 84 Hurtaud-Roux MF, Colard N.**
“Les recommandations pré-analytiques du GFHT en hémostase”
Option/Bio, vol 27, n° 553-554, p. 13-16, Nov 2016.
- 85 Zhao Y et al.**
“Effects of preanalytical frozen storage time and temperature on screening coagulation tests and factors VIII and IX activity”
Scientific Reports, vol 7, n° 1, Dec 2017.

- 86 Gosselin RC et al.**
“Effects of storage and thawing conditions on coagulation testing”
International Journal of Laboratory Hematology, vol 37, n° 4, p. 551-559, 2015.
- 87 Lawrence JB.**
“Preanalytical Variables in the Coagulation Laboratory”
Laboratory Medicine, vol 34, n° 1, p. 49-57, Jan 2003.
- 88 Jacobsz LA et al.**
“Chemistry and haematology sample rejection and clinical impact in a tertiary laboratory in Cape Town”
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), vol 49, n° 12, Jan 2011.
- 89 Morange PE, Chambost H, Alessi CM.**
“Introduction à la démarche diagnostique de l'hémostase”
EMC – Hématologie vol 9, n° 4, p. 1-6, 2014.
- 90 Huisse MG, Faille D, Ajzenberg N.**
“Exploration de l'hémostase primaire”
EMC – Angéiologie, Vol 12, n° 1, p. 1-7, 2017.
- 91 Bezeaud A, Guillin MC.**
“Exploration de la coagulation”
EMC – Hématologie, vol. 1, n° 1, p. 1-3, Jan 2006.
- 92 Mercadier A.**
“Les indispensables pratiques pour être accrédités Cofrac « l'accréditation pour les nuls »”
Transfusion Clinique et Biologique, vol 20, n° 2, p. 86-89, 2013.
- 93 Arul P et al.**
“Prevalence and types of preanalytical error in hematology laboratory of a tertiary care hospital in South India”
Journal of Laboratory Physicians, vol 10, n° 2, p. 237-240, 2018.
- 94 Ye Y et al.**
“Haematology specimen acceptability: a national survey in Chinese laboratories”
Biochemia Medica, vol 28, n° 3, Oct 2018.

- 95 Tadesse H et al.**
“Errors in the Hematology Laboratory at St. Paul’s Hospital Millennium Medical College, Addis Ababa, Ethiopia”
BMC Research Notes, vol 11, n° 1, Dec 2018.
- 96 Narang V et al.**
“Preanalytical Errors in Hematology Laboratory– an Avoidable Incompetence,”
Iranian Journal Of Pathology, Vol 11, n° 2, p. 151 – 154, 2016.
- 97 Upreti S et al.**
“Types and Frequency of Preanalytical Errors in Haematology Lab”
Journal of Clinical and Diagnostic Research, Vol 7, n° 11, p. 2491–2493, Nov 2013.
- 98 Nejjar N.**
“La phase préanalytique en hémostase : Données de la littérature et enquête au laboratoire d’hématologie à l’HMIMV de Rabat.”
Thèse Doctorat Pharmacie, UNIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE–RABAT, n°101, 2010.
- 99 Shukla DKB et al**
“Study of Pre–Analytical and Post–Analytical Errors in Hematology Laboratory in A Tertiary Care Hospital”
Journal of Medical Science And clinical Research, vol 04, n° 12, p. 14964–14967, Dec 2016.
- 100 Salvagno GL et al.**
“Prevalence and type of pre–analytical problems for inpatients samples in coagulation laboratory”
Journal of Evaluation in Clinical Practice, vol 14, n° 2, p. 351–353, 2008.

قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف

والأحوال باذلة وسعي في إنقاذها من الهلاك والمرض

والآلم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.

وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلة رعايتي الطبية للقريب والبعيد،

للصالح والطلح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، وأسخره لنفع الإنسان لا لأذاه.

وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرنني، وأكون أخذا لكل زميل في المهنة

الطبية متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سري وعلانيتي، نقيّة مما يُشِينها تجاه

الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيد.

أطروحة رقم 080

سنة 2019

دراسة مستقبلية : تحديد الأخطاء الرئيسية خلال المرحلة ما قبل التحليلية في الإرقاء بمختبر أمراض الدم بالمستشفى العسكري ابن سينا مراكش

الأطروحة

قدمت و نوقشت علانية يوم 2019/04/26

من طرف

السيدة زينب ايت السي علي

المزودة في 16 شتنبر 1993 بمراكش

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية :

المرحلة ما قبل التحليلية - الإرقاء - توصيات.

اللجنة

الرئيس

ص. شلاق

السيدة

أستاذة في علم الكيمياء و الكيمياء الحيوية

المشرف

م. بشكور

السيد

أستاذ في طب أمراض الدم

الحكام

ل. أرسلان

السيدة

أستاذة في علم البكتيريا و الفيروسات

م.إ. التازي

السيد

أستاذ مبرز في علم أمراض الدم السريرية