

كلية الطب والصيدلة وطب الأسنان
FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE ET DE MÉDECINE DENTAIRE



جامعة سيدي محمد بن عبد الله - فاس
UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH DE FES

LA PHASE PRE-ANALYTIQUE EN HEMOSTASE : IMPACT SUR LA FIABILITE DES RESULTATS

MEMOIRE PRESENTE PAR :

Docteur SAMOUCHE MOUNA
Née le 31/12/1991 à Agadir

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE EN MEDECINE

OPTION : BIOLOGIE MÉDICALE

Sous la direction de :

Rapporteur: Professeur TLAMÇANI IMANE
Sous la direction de Professeur AMRANI HASSANI MONCEF

Session Juillet 2022

Dr Imane Tlamçani
Médecin Biologiste
Professeur Agrégé- en Hématologie
CHU Hassan II - FES

REMERCIEMENTS

A Mon Maître

Monsieur le Professeur Moncef AMRANI HASSANI

Je vous remercie pour vos conseils et votre encadrement au cours de mon cursus de résidanat. Veuillez accepter mes remerciements et mon admiration pour vos qualités humaines et professionnelles, j'admire l'étendue de votre savoir, la force de votre engagement et tout l'amour que vous portez pour la discipline.

A Mon Maître

Madame le Professeur Imane TLAMÇANI

Permettez-moi de vous remercier quant à vos efforts et le temps que vous nous avez consacré tant bien humainement parlant que professionnellement, vos conseils précieux, votre encadrement permanent et vos qualités pédagogiques ont permis la réalisation de ce travail.

Veuillez trouver dans ce mémoire, l'expression de ma plus grande estime, mon profond respect et ma sincère gratitude.

A tous mes chers maîtres et enseignants

Je tiens à vous remercier très cordialement pour votre soutien et pour les efforts que vous n'avez cessé de déployer pour nous accompagner et nous garantir une qualité de formation durant ces quatre années. Vos qualités humaines et professionnelles, votre sens de responsabilité ainsi que votre rigueur scientifique ont toujours suscité en moi une grande admiration et un profond respect. Pour tout cela, je vous serais éternellement reconnaissante et sincèrement respectueuse.

A mes parents

Vous avez guidé mes pas depuis mon enfance, et votre amour pour votre métier a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Je vous remercie pour votre amour et votre soutien inconditionnel sans lesquels ce travail n'aurait pas vu le jour.

Je vous aime très fort.

A mes frères

Ces quelques mots ne suffiront jamais à exprimer ma gratitude et tout l'amour que je vous porte. Merci d'être à mes côtés et me soutenir chaque jour.

SOMMAIRE

Introduction	11
I. Phase pré-analytique	14
II. Variables pré-analytique en hémostase	16
A. Facteurs liés aux patients	17
1. Variables physiologiques	17
a. Age	17
b. Sexe.....	19
c. Race.....	19
d. Rythme circadien.....	20
e. Groupe sanguin.....	20
f. Grossesse	21
g. Cycle menstruel	21
h. Exercice physique.....	22
2. Etats pathologiques	23
a. Obésité	23
b. Diabète	23
c. Hyperthyroïdie et états inflammatoires	23
d. Insuffisance rénale chronique et hépatocellulaire	24
e. Stress.....	25
B. Facteurs liés à la prise des médicaments.....	25
1. Contraceptifs, thérapie hormonale de substitution	25
2. Traitement à la lévothyroxine.....	26
3. Traitement anti-inflammatoire.....	26
C. Facteurs liés à l'environnement	27
1. Facteurs alimentaires.....	27
2. Tabac	27
3. Alcool (éthanol)	28
D. Facteurs liés aux prélèvements	29
1. Identification des patients et étiquetage des échantillons	29
2. Heure et conditions de prélèvement.....	30
3. Méthode de prélèvement	31
a. Garrot	31
b. Aiguille	31

c. Site de ponction	32
d. Ordre de prélèvement	32
e. Homogénéisation	33
f. Identification de l'échantillon	33
4. Tube de prélèvement de l'échantillon	34
5. Anticoagulant	34
6. Volume de l'échantillon	35
a. Influence de l'hématocrite sur les analyses d'hémostase	36
b. Adaptation de la concentration de citrate de sodium selon l'hématocrite du patient	37
E. Facteurs liés au traitement de l'échantillon	39
1. Conditions de transport	39
2. Réception et prétraitement	40
a. Triage des prélèvements	40
b. Centrifugation	43
3. Conservation	45
a. Congelation	46
b. Décongélation	46
Conclusion	49
Résumé.....	51
Bibliographie.....	53

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Particularités de l'hémostase pédiatrique par rapport à l'adulte.

Tableau II: Pourcentages d'erreurs liées au remplissage non conforme des tubes d'hémostase : comparaison des taux dans différentes études.

Tableau III : Résumé des principales recommandations pré-analytiques concernant les prélèvements sanguins.

Tableau IV: Les erreurs pré-analytiques commises dans différents études.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Effets de la durée du tabagisme (en années-paquets) sur la numération plaquettaire.

Figure 2 : Pourcentages de prélèvements sanguins coagulés/ hémolysés dans différentes études.

INTRODUCTION

Les résultats de laboratoire jouent un rôle déterminant dans la prise en charge patients. On estime qu'environ deux tiers des décisions cliniques importantes concernant les admissions, les sorties et les prises en charge thérapeutiques sont fondées sur les résultats des tests de laboratoire [1].

Par conséquent, les tests de laboratoire sont également une source notable d'erreurs médicales qui peuvent nuire à la sécurité des patients [2].

Le laboratoire d'hémostase joue un rôle important dans le diagnostic et le suivi des patients ayant des troubles de l'hémostase en adaptant les posologies des thérapies antithrombotiques, que ce soit pour les patients traités à l'héparine ou ceux traités aux anticoagulants oraux.

Son rôle est de mettre en œuvre les outils de contrôle nécessaires pour assurer la qualité des résultats des tests dans les meilleurs délais. Cette étape comprend les phases pré-analytiques et analytiques.

Habituellement, on a tendance à accorder moins d'attention à la phase pré-analytique et son impact potentiel est sous-estimé. Pourtant, la plupart des erreurs se produisent durant cette phase [3].

De nombreuses variables pré-analytiques peuvent influencer les résultats des tests de d'hémostase de routine. Bien que les progrès de l'instrumentation de laboratoire aient en partie amélioré la capacité du laboratoire à reconnaître certaines de ces variables et a augmenté considérablement la reproductibilité et la sensibilité de la phase analytique, le personnel de laboratoire est appelé à reconnaître les différentes erreurs pouvant survenir au cours de la phase pré-analytique et à prendre conscience de leur impact potentiel [4-7].

Les variables pré-analytiques associées aux tests d'hémostase peuvent être classées en trois catégories : le prélèvement de l'échantillon (y compris la sélection des patients), le transport et la stabilité des échantillons, et le traitement et le stockage des échantillons. Dans chacune de ces catégories, on distingue des paramètres individuels [8].

Plusieurs nouvelles normes standardisées pour les tests d'hémostase ont été élaborées en vue d'améliorer la précision et l'exactitude des résultats de tests d'hémostase [8].

De nombreuses recherches scientifiques médicales et biomédicales ont illustré les impacts des erreurs pré-analytiques sur les résultats de laboratoire des patients et sur la sécurité des patients [9,10].

L'objectif de ce travail est d'identifier les variables pré-analytiques associées aux tests d'hémostase et de récapituler des recommandations de pratiques de laboratoire dans le but d'améliorer la qualité des tests d'hémostase et l'exactitude des résultats.

I. Phase pré-analytique

La recherche de la qualité est devenue une exigence quotidienne dans les laboratoires. La phase pré-analytique est la première étape du processus d'analyse du laboratoire. Cette étape conditionne la qualité des résultats, particulièrement ceux d'hémostase. 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 [11]. Dans une étude représentative, un laboratoire italien a évalué 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 [12].

II. Variables pré-analytiques **en hémostase**

Les variables pré-analytiques peuvent être classés en trois grandes catégories :

A. Facteurs liés aux patients

Selon des études antérieures, on savait déjà que les facteurs liés au patient, tels que la position, l'exercice physique intense, le stress physique, le stress psychologique, le jeûne et le moment du prélèvement, peuvent avoir un effet sur les tests d'hémostase ultérieurs [13–15].

1. Variables physiologiques

L'âge, le sexe, la race, le groupe sanguin et l'état de santé du patient sont tous des paramètres qui influent sur les tests d'hémostase, en particulier sur l'interprétation des résultats. Par conséquent, chaque laboratoire doit être en mesure de tenir compte de ces différents facteurs, ce qui peut exiger la détermination d'intervalles de référence différents, selon le test et la méthode d'analyse, afin de garantir une interprétation correcte des résultats.

a. Age :

Le foie est le principal organe de synthèse de la plupart des facteurs de coagulation. Comme le foie est le dernier organe à se développer complètement, les nouveau-nés (en particulier les prématurés) auront généralement des niveaux de facteurs de coagulation plus faibles, et donc des valeurs "normales" différentes. Pour la plupart des facteurs de

coagulation, les niveaux atteignent des valeurs adultes dès l'âge de 6 mois [16, 17].

La deuxième spécificité en pédiatrie concerne la méthode d'exploration de l'hémostase, qui est déterminée par les petits volumes d'échantillons prélevés sur les enfants [18].

L'augmentation de l'âge est associée à une augmentation du D-dimère, du facteur (F) de von Willebrand (VWF) ainsi que des facteurs FV, FVII, FVIII, FIX et FXI [19–22]. (Tableau 1)

L'augmentation de l'âge peut également être associée à des changements dans les mesures thromboélastographiques (THEG), dans l'évaluation du potentiel de thrombine endogène (ETP) et dans les tests semi globaux de la coagulation (temps de céphaline activé : TCA temps de Quick : TQ) devenant plus courts avec l'âge [23].

Cependant, dans l'étude de Chan KL, on a indiqué qu'il n'y avait pas de différences entre les adultes et les patients pédiatriques, mais ils ont recommandé une détermination d'intervalles de références ajustées à l'âge pour les tests de thromboélastographie (TEG) pour permettre une interprétation judicieuse des résultats [24].

Dans la série de Tadesse et al, 11,5% des fiches ne mentionnaient pas l'âge du patient. Dans l'étude marocaine de Khayati et al l'âge n'était pas mentionné sur 27% du nombre total de fiches reçues [25, 26].

Tableau I: Particularités de l'hémostase pédiatrique par rapport à l'adulte.

<u>Composante</u>	<u>Modification des paramètres d'hémostase chez enfant</u>
Hémostase primaire	Augmentation du facteur de Willebrand (vWF)
Facteurs de la coagulation	Diminution des FII, FVII, FIX, FX, FXI, FXII, PK, KHPM Augmentation du FVIII
Inhibiteurs de la coagulation	Diminution de l'antithrombine, des protéines C et S
Fibrinolyse	Diminution du plasminogène Augmentation du t-PA et du PAI

b. Sexe :

Les principales différences en fonction du sexe des paramètres de l'hémostase sont : des niveaux plus élevés des FII, FVII, FX, FIX, FXI et FXII chez les femmes que chez les hommes, des plaquettes féminines moins réactives aux agonistes de l'agrégation plaquettaire que celle des hommes, une protéine S plus basse par rapport aux hommes du même âge [27, 28]. Une étude réalisée en 2018, a montré l'absence de la mention sexe du patient sur la carte de prescription dans 10,3% du total des cartes de prescription reçues au laboratoire. Dans une autre enquête, le sexe de chaque patient était marqué sur la fiche de prescription correspondante [25, 26].

c. Race :

Il existe un lien remarquable entre l'ethnicité et les paramètres de coagulation, en rapport avec les mutations génétiques qui peuvent être associées à un risque thromboembolique ou hémorragique:

le polymorphisme mononucléotidique du FVW chez la race noire, la présence de FXI déficient chez les Juifs ashkénazes, et l'incidence accrue de l'APCR (Activated protein C resistance) chez les Caucasiens [28].

La drépanocytose, qui est surtout une maladie touchant les Noirs et les personnes d'origine méditerranéenne, est associée à une augmentation du FVIII, du FVW et des D-dimères combinées à une augmentation du fragment de prothrombine.

d. Rythme circadien :

La variation biologique circadienne a également été notée. Le test de coagulation présente une variation importante pour le FVW et moindre pour le temps de prothrombine (TP). Des variations saisonnières ont également été noté pour le fibrinogène et l'ETP [29].

e. Groupe sanguin :

Le groupe sanguin du patient fournit des informations utiles concernant l'activité hémostatique : les paramètres de coagulation varient significativement en fonction du groupe sanguin.

Les patients du groupe sanguin O sont notés comme ayant des niveaux de FVW plus faibles. La présence de l'antigène H (groupe O) favorise le clivage du FVW par la métalloprotéase ADAMTS13 et, de plus, une meilleure clairance hépatique du FVW [30].

Dans le groupe sanguin O, les niveaux de FVIII, FIX et de FXII sont plus faibles que dans le groupe non-O [31].

Le système Rh ne semble pas être associé à des modifications de n'importe quel paramètre de coagulation [31].

f. Grossesse :

Les œstrogènes de la grossesse altèrent les niveaux d'hémostase au sens d'un état d'hypercoagulabilité acquise augmentant pendant la grossesse, pour être maximale à terme et dans le post-partum immédiat. Ces changements hémodynamiques protègent de l'hémorragie de délivrance.

La grossesse est également associée à une augmentation de fibrinogène, D-dimères, VWF, FVII, FVIII, FIX, FX, FXII, du plasminogène, l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 (PAI-1), de l'antigène tPA et de la fonction plaquettaire, avec des niveaux réduits de FXIII [30].

La diminution des anticoagulants physiologiques se manifeste par une résistance acquise à la protéine C (APC). L'antigène libre de la protéine S est diminué à cause de l'augmentation des niveaux de sa protéine de liaison, le composant du complément C4b [32].

Vu ces différentes altérations associées à la grossesse, les recommandations actuelles pour l'évaluation de la coagulopathie sont d'attendre deux mois après l'accouchement, en particulier pour l'évaluation de la maladie de von Willebrand et de la maladie de Parkinson [33].

g. Cycle menstruel :

Certaines études ont démontré que le FVW, le FVIII et la fonction plaquettaire sont à leurs niveaux les plus bas pendant les menstruations et

au début de la phase folliculaire. Chez les femmes qui ont leurs règles et qui sont suspectées de maladie de von Willebrand (MVW), il est recommandé de prélever des échantillons de sang entre le premier et le quatrième jour du cycle [34].

Les concentrations de FVII et de FVIIa augmentent jusqu'au 14^e jour du cycle, tandis que la protéine S diminue entre le 1^{er} et 14^e jour du cycle. Le temps de saignement est le plus long pendant les menstruations dans la plupart des rapports.

Cependant aucune variation cyclique menstruelle pour le fibrinogène, FXI, FXIII, l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA), l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène-1 (PAI-1), le D-dimère ou α -2-antiplasmine n'a été rapportée dans aucune étude [34].

h. Exercice physique :

L'activité physique s'accompagne de modifications de la coagulation.

On note une diminution du temps de prothrombine (TP) et de la fibrinolyse, une activation du temps de thromboplastine partiel (TPT), une augmentation des D-dimère, de l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) et de l'inhibiteur de l'activateur tissulaire du plasminogène (PAI).

L'exercice physique s'accompagne également d'une augmentation des FVW, le FVIII et le temps de lyse de l'euglobuline (ELT) [33].

La libération d'adrénaline accompagnant l'exercice physique provoque une augmentation du taux et de l'activité des plaquettes qui commencent à produire des microparticules induisant un état procoagulant transitoire,

ainsi qu'une augmentation de production de thrombine et activation des facteurs de coagulation [35, 36].

2. États pathologiques

L'interrogatoire et l'examen clinique sont d'une importance extrême permettant de détecter les pathologies connues pour provoquer des anomalies de l'hémostase primaire ou encore un trouble hémostatique acquis.

Parmi les situations pathologiques perturbant le système hémostatique :

a. Obésité :

Le tissu adipeux produit du PAI-1 et du facteur tissulaire, expliquant l'état d'hypofibrinolyse et d'hypercoagulation qui accompagnent l'obésité. Elle s'accompagne aussi d'une augmentation de la réactivité plaquettaire [30, 36].

b. Diabète :

Il s'agit d'un état pro-coagulant par l'augmentation des taux de fibrinogène, FVW et l'alpha-2-antiplasmine, la diminution des taux de la protéine S et l'hypo-fibrinolyse [34, 36].

c. Hyperthyroïdie et états inflammatoires :

L'augmentation des niveaux d'hormones thyroïdiennes s'accompagne d'une augmentation des taux de fibrinogène, de F VIII, de FX, de FVW, et du

PAI- 1, ce qui engendre un raccourcissement du TCA et une augmentation du temps de lyse des caillots.

Des études plus approfondies suggèrent l'effet possible de l'hormone thyroïdienne sur la synthèse hépatique des protéines de coagulation [37].

L'état d'hypercoagulabilité et d'hypofibrinolyse est donc provoqué par le biais direct des hormones thyroïdiennes et pas uniquement par les effets sur la pression sanguine ou le poids corporel [31, 37].

L'inflammation s'accompagne d'une diminution l'activité de la PS : augmentation de la forme liée (inactive) de la PS dû à l'augmentation de la C4Bbp [30, 31].

d. Insuffisance rénale chronique et hépatocellulaire

Ces états pathologiques s'accompagnent d'une modification de la coagulation :

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 (PAI-1) est augmenté.

Hypo-agrégabilité plaquettaire et thrombopénie.

Augmentation du taux plasmatique du FVW.

Diminution des Protéine C, protéine S, antithrombine et de l' α 2-macroglobuline.

Diminution de l' α -2-antiplasmine, TAFI (Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor)

e. Stress :

Le stress doit être évité en toutes circonstances (par exemple, un enfant agité), car il accroît les protéines de phase aiguë dont le facteur de von Willebrand (FVW), le facteur VIII et le fibrinogène [38].

B. Facteurs liés à la prise des médicaments

1. Contraceptifs, thérapie hormonale de substitution (THS)

L'utilisation de contraceptifs oraux (CO) ou la thérapie de substitution hormonale (THS) influence clairement la coagulation, et peut donc être responsable d'interférences dans les tests d'hémostase [37].

Les changements associés aux CO utilisés dépendent de la concentration en œstrogènes. L'influence des progestatifs seuls n'est pas bien connue.

L'éthinylestradiol augmente les niveaux de l'antigène FVII, l'activité du FVIII et β -thromboglobuline et le degré de résistance à l'APC et entraîne une diminution des inhibiteurs de la coagulation notamment la protéine S libre, l'antithrombine (AT) et l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI) [39, 40].

Ces changements hémostatiques peuvent être modifiés en utilisant un progestatif, le lévonorgestrel qui vient contrecarrer l'effet des œstrogènes. Cependant l'utilisation de contraceptifs oraux combinés est associée à un risque de thrombose veineuse trois à six fois plus élevé [41].

L'effet du THS transdermique sur la coagulation est nettement inférieur à celui observé avec les préparations orales [42].

Les recommandations pour la collecte de sang pour les patientes ayant recours aux CO et à la THS combinés, sont d'interrompre la thérapie pendant deux mois avant le test, en particulier pour les tests de PS et d'APCR [33].

2. Traitement à la lévothyroxine

Le traitement à la lévothyroxine s'accompagne d'une augmentation des niveaux de facteurs de coagulation (FVW, FVIII, FIX, FX, PAI-1) et d'une inhibition la fibrinolyse de manière dose-dépendante [37].

3. Traitement anti-inflammatoire

Pour les tests de la fonction plaquettaire, le traitement avec des médicaments connus pour bloquer de manière réversible la fonction plaquettaire (comme les AINS) doit être arrêté au moins 3 jours avant le prélèvement, et le traitement avec des médicaments connus pour inhiber de manière irréversible la fonction plaquettaire (comme l'aspirine, les thiénoopyridines) doit être arrêté au moins 10 jours avant le prélèvement, si possible. Comme il est souvent impossible d'arrêter tous les médicaments avant d'être prélevé, les effets provoqués par ces médicaments sur la fonction plaquettaire doivent être considérés lors de l'interprétation des résultats [43].

C. Facteurs liés à l'environnement

1. Facteurs alimentaires :

La fonction plaquettaire peut être influencée par des facteurs alimentaires tels que le café ou les produits contenant de la caféine, flavonoides, les phytoestrogènes et les polyphénols [44].

L'ingestion d'acides gras peut également influencer sur la fonction plaquettaire, ainsi que l'augmentation des niveaux de PAI-1 et favoriser l'activation du FVII. Pour métaboliser complètement l'apport lipidique, il est recommandé de réaliser le prélèvement après au moins 8 heures de jeûne et d'activité réduite. Il est également conseillé de ne pas consommer de chocolat noir [45, 46].

2. Tabac :

Maintes études ont révélé que la consommation de tabac est fortement liée à des modifications de coagulation augmentant le risque de thrombose [33].

Chez les fumeurs chroniques, on a noté une baisse de la numération plaquettaire, qui pourrait être due à l'effet du stress oxydatif induit par la nicotine sur la thrombocytopoïèse [33, 47].

Cette diminution du nombre de plaquettes est corrélée négativement au nombre d'années de tabagisme, ce qui signifie qu'au fur que la durée du tabagisme augmente, le nombre de plaquettes diminue. (Figure 1)

Il a également été noté une augmentation de l'expression des marqueurs thrombopoïétiques, tels que la sélectine P et sP, ce qui augmente l'agrégation plaquettaire [47].

Le tabagisme est également associé à une activation de la fibrinolyse à cause du dysfonctionnement de l'endothélium vasculaire qu'il entraîne se traduisant par l'augmentation du t-PA et la diminution du PAI-1 [47].

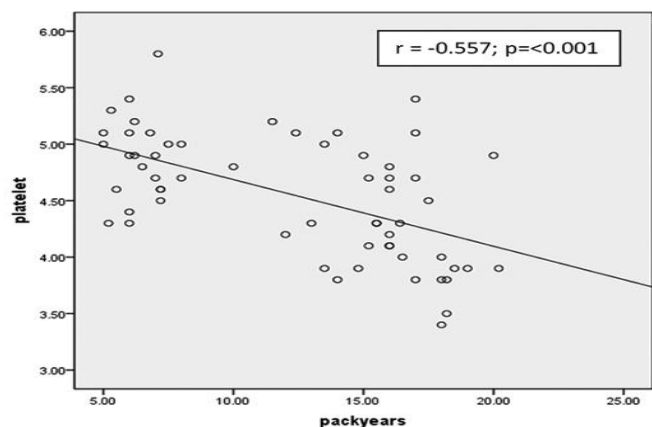


Figure 1 : Effet de la durée du tabagisme (en années-paquets)
sur la numération plaquettaire [47].

3. Alcool (éthanol) :

La consommation d'alcool a de nombreuses incidences sur le phénomène d'hémostase.

L'éthanol ou ses métabolites inhibent l'agrégation des plaquettes, mais en même temps, l'éthanol induit une activation plaquettaire (diminution de l'AMPc intracellulaire et augmentation de l'inositol-1,4,5-triphosphate intracellulaire, induisant une augmentation du calcium intracellulaire) [48].

Certaines études ont démontré que l'éthanol induit une diminution des niveaux de fibrinogène, de VWF et de FVII et une augmentation du t-PA sans modification de la concentration en PAI-1 ce qui augmente la fibrinolyse.

Par ailleurs, il a été rapporté qu'une consommation élevée d'éthanol entraîne apparemment une diminution de la fibrinolyse en augmentant la concentration de PAI-1, ce qui augmente le risque d'événements thrombotiques [48].

La consommation d'alcool peut également augmenter le temps de saignement dépendamment de la dose.

D. Facteurs liés aux prélèvements

1. Identification des patients et étiquetage des échantillons

Le phlébotomiste doit étiqueter chaque tube prélevé avec le nom complet du patient, sa date de naissance, son numéro d'identification.

L'identification par système électronique ou à code-barres permet de réduire le risque d'identification erronée. Cette identification comporte le nom complet du patient plus un identifiant supplémentaire (date de naissance, numéro de dossier médical) plus la date et heure de prélèvement [49].

Cette automatisation permet de réduire considérablement le taux d'erreur d'identification des patients. Par exemple, l'équipe de Killeen et al a rapporté que l'introduction de systèmes automatiques dans un service d'urgence a réduit le taux d'erreur d'identification de 2,56 à 0,49 pour 1000 échantillons [49].

Selon les résultats de Outi et Eva, les erreurs les plus graves avant le prélèvement des échantillons sanguins étaient une mauvaise identification du patient. Il est essentiel de s'assurer que les échantillons sanguins sont

prélevés sur les bons patients. Ils ne doivent jamais être prélevés avant que l'identité du patient ne soit confirmée [10].

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

2. Heure et conditions de prélèvement

Les échantillons sanguins doivent être prélevés sur des sujets après 12 heures de jeun (l'hyperlipémie post prandiale perturbe la réactivité plaquettaire le taux de FVII et la fibrinolyse).

Vu les changements circadiens non négligeables l'heure recommandée en hémostase est le matin entre 7 et 9h sur des sujets qui se sont abstenus de fumer pendant au moins 30 minutes [35].

La consommation de caféine est déconseillée dans les 2 heures précédant le prélèvement. La caféine augmente le pouvoir fibrinolytique (augmentation de l'activité du t-PA et diminution du PAI-1 [43, 50].

L'activité physique dans les 2 h précédant le prélèvement est déconseillée. L'effort physique provoque une activation de la coagulation et de la fibrinolyse. Un repos pendant une courte période (au moins 5 minutes) est souhaitable [43].

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.

3. Méthode de prélèvement

La phlébotomie est l'acte de ponctionner une veine dans le but de prélever du sang et constitue l'une des étapes les plus importantes de toute la phase pré-analytique.

La réalisation d'un prélèvement de qualité est d'une importance capitale. Il doit être effectué avec un minimum de traumatisme afin d'éviter l'activation de la coagulation et des plaquettes ainsi que l'hémolyse.

a. Garrot :

Idéalement le prélèvement doit être effectué sans garrot ; sinon pour des patients difficiles à piquer on peut utiliser un garrot peu serré laissé posé moins d'une minute. Une pose de garrot prolongée peut être significativement associée à une activation de l'hémostase, une hémococoncentration et à une hémolyse in vitro [51].

b. Aiguille :

Il est recommandé d'utiliser des aiguilles dont le diamètre est compris entre 19 (1 mm) à 22 Gauge (0.7 mm). L'utilisation d'une aiguille de petit calibre peut causer de l'hémolyse dans le tube sous vide, ce qui provoque l'activation des plaquettes et des facteurs de coagulation. Lorsqu'une unité de prélèvement à ailettes est utilisée, en raison de la longueur de la tubulure et de l'écart additionnel entre la veine et le tube, le calibre de l'aiguille doit être adéquat pour éviter l'activation des plaquettes et de la coagulation [35].

Dans le cas de veines difficiles, de prélèvements délicats ou de catégories particulières de patients (pédiatrie, oncologie, gériatrie, etc.) on

peut utiliser des aiguilles à ailettes « épicroâniennes » dont le diamètre est de 23 Gauge [35].

c. Site de ponction :

La ponction veineuse doit idéalement être effectuée directement dans une veine périphérique (veine antécubitale) après avoir désinfecter le site de ponction [50, 52].

Elle 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 [53].

d. Ordre de prélèvement :

Selon les recommandations internationales de l'OMS et CLSI, le tube d'hémostase est prélevé en deuxième position. 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.

Cependant des études publiées ont démontré que pour les tests de coagulation de routine, l'utilisation d'un tube de rejet n'est pas obligatoire car il n'y avait pas de différence significative dans les résultats du TCA et du TP entre le premier et le second tube prélevé [35].

D'autres études ont évalué la nécessité d'utiliser des tubes d'écartement dans une variété d'autres tests de coagulation (par exemple, fibrinogène, D-dimère, facteurs II, V, VII, VIII, IX, X, XI, protéines C et S et AT, ...) et suggèrent que les tubes d'écartement ne sont pas nécessaires

lors du prélèvement d'échantillons pour des tests de coagulation spécialisés [54, 55].

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 [31].

e. Homogénéisation :

Il est primordial de mélanger le contenu de chaque tube par retournements successifs complets, trois à quatre fois immédiatement après le remplissage pour assurer la miscibilité totale entre le sang et l'anticoagulant et éviter la formation de caillots et l'hémolyse [14]. Il faut toutefois éviter une agitation intense et ou prolongée car elle peut induire l'hémolyse, la coagulation ainsi que l'activation plaquettaire.

f. Identification de l'échantillon :

L'identification adéquate de l'échantillon est une étape préanalytique cruciale : la vérification de l'identité du patient et l'étiquetage des tubes doivent se faire au moment du prélèvement. L'étiquetage après la réalisation du prélèvement doit être évité car, il s'accompagne d'un risque d'erreur élevé.

4. Tube de prélèvement de l'échantillon :

Les échantillons de sang pour les analyses d'hémostase doivent être prélevés dans des tubes stériles en verre siliconé ou des tubes en plastique (polypropylène).

Les bouchons des tubes doivent être inertes.

Les tubes à vide doivent être scellés et marqués CE, le prélèvement doit être réalisé sous vide.

Il faut veiller à respecter les dates de péremption du fabricant que ce soit pour la qualité de l'anticoagulant (contamination bactérienne) ou pour le maintien du vide initial (mauvais remplissage dû à une perte de vide) [35].

Cas particulier : pour l'étude des fonctions plaquettaires (tests d'agrégation, activations plaquettaires, étude des glycoprotéines membranaires...) il est préconisé de prélever avec une aiguille directement dans un tube débouché car l'aspiration brutale du sang dans les tubes sous vide peut activer les plaquettes.

5. Anticoagulant

L'anticoagulant de référence en hémostase est le citrate de sodium ; il fixe le calcium, ce qui le rend donc non disponible pour favoriser la formation de caillots. Le pH de l'anticoagulant doit être compris entre 5,1 et 5,3 pour maintenir un pH du plasma anticoagulé analysable entre 7,3 et 7,45 [35, 50].

Les directives du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) sur la collecte d'échantillons de sang pour les tests d'hémostase, recommandent l'utilisation de citrate trisodique dans des tubes de 105-109

mmol/L (3,2%). La concentration de citrate à 129 M (3,8 %) est également disponible mais accroît la liaison du calcium et allonge le temps de coagulation ce qui entraîne un allongement du temps de Quick et une sous-estimation du fibrinogène. Vu cette différence le consensus actuel suggère que les laboratoires se normalisent à une concentration de citrate et développent des intervalles de référence appropriés [35].

Cas particulier: pour la surveillance des traitements par l'héparine non fractionnée et l'étude des fonctions plaquettaires tel que l'étude des glycoprotéines membranaires des plaquettes en cytométrie de flux, on utilise un mélange d'additifs CTAD (citrate, théophylline, adénosine, dipyridamole), qui empêche l'activation plaquettaire in vitro. Les tubes doivent être conservés à l'abri de la lumière (ambiance sombre) jusqu'à 4 h avant la centrifugation [56].

6. Volume de l'échantillon

Les tubes de citrate de sodium doivent être remplis jusqu'à 90% du volume nominal ou jusqu'à la marque indiquée sur le tube s'il est fourni. Le rapport requis entre le citrate de sodium et le sang total est de 1:9 [36, 57].

Un remplissage insuffisant modifie sensiblement le ratio sang/anticoagulant, le temps de coagulation augmente alors en raison de la présence d'un excès de citrate de sodium. Cet effet est moins important lorsqu'il contient du citrate de sodium à 3,2 % et peut varier selon les analyses, les hématocrites des patients, et la sensibilité des réactifs utilisés. Un volume de remplissage minimal de 90 % permet d'obtenir des résultats fiables dans la majeure partie des situations [50].

Il a été rapporté dans certaines études qu'au lieu de rejeter un tube d'échantillon, il peut être utile de noter le volume de l'échantillon et d'adapter le résultat en fonction de la dilution supplémentaire [36, 49].

Plusieurs études ont évalué le paramètre de remplissage des tubes en hémostase, les pourcentages d'erreurs liés aux remplissages non conforme calculés diffèrent d'une étude à l'autre.

Tableau II: Pourcentages d'erreur liée au remplissage non conforme des tubes d'hémostase : comparaison des taux dans différentes études [25, 26, 58].

Auteurs	Pays	Année	Pourcentage d'erreurs
Ye et al	Chine (Beijing)	2018	0.02%
Shukla et al	Inde (Karad)	2016	0.17%
Tadesse et al	Ethiopie (Addis Ababa)	2018	10.5%
Zineb AIT SI ALI	Maroc (Marrakech)	2019	22.5%
Nejjar	Maroc (Rabat)	2010	2.25%

a. Influence de l'hématocrite sur les analyses d'hémostase

Un hématocrite anormal (anémie ou polyglobulie) affecte le ratio plasma/anticoagulant modifiant ainsi les résultats de l'analyse : lorsque l'hématocrite est supérieure à 0,55 L/L, le volume de plasma est anormalement réduit par rapport au volume total de sang et la proportion d'anticoagulant est excédentaire. Le plasma est alors excessivement citré, ce qui conduit à une augmentation du temps de coagulation ; Lorsque

l'hématocrite est inférieur à 0,20 L/L, la proportion relative d'anticoagulant est diminuée. Le plasma est alors hypocitraté, ce qui entraîne une diminution du temps de coagulation [5].

b. Adaptation de la concentration de citrate de sodium selon l'hématocrite du patient.

Le volume d'anticoagulant à utiliser en fonction de l'hématocrite du patient peut être calculé en utilisant la formule suivante:

$$X = (0,185 \times V_s) \times (1 - H_t)$$

X = volume de citrate de sodium, en millilitres Ht = hématocrite du patient en L / L Vs = volume de sang dans le tube à essai, en millilitres

Si l'hématocrite est supérieur à 0,55 L/L, on retire l'excès d'anticoagulant à l'aide d'une seringue à tuberculine sans modifier le vide dans le tube de prélèvement. Pour l'hématocrite inférieur à 0,20 L/L, il n'existe actuellement aucune recommandation scientifique [52].

Pour les prélèvements de néonatalogie, il peut être justifié d'ajuster le volume d'anticoagulant par millilitre de sang selon la formule mentionnée . Un tube conique (Eppendorf) de 2,0 ml peut être utilisé avec une ligne noire indiquant le volume sanguin maximal.

Tableau III : Résumé des principales recommandations pré-analytiques
concernant les prélèvements sanguins [35, 50, 51, 52]

Utiliser des tubes en verre siliconé ou en plastique (polypropylène).

Les échantillons de sang doivent être prélevés dans un anticoagulant tamponné au citrate de sodium à 105–109 mmol/L. Le pH de l'anticoagulant doit être de 1,5 à 1,5.

Le pH du plasma anticoagulé doit être compris entre 7,3 et 7,45.

Effectuer le prélèvement sanguin sur des sujets à jeun le matin (entre 7 et 9 heures).

Le patient doit être détendu. Le stress doit être évité.

Étiqueter chaque tube prélevé avec le nom complet du patient, sa date de naissance, son numéro d'identification.

Effectuez une ponction veineuse directement dans une veine périphérique (veine antécubitale).

Le diamètre de l'aiguille doit de préférence être compris entre le calibre 19 et 22.

Relâchez le garrot dès que le premier tube commence à se remplir (<1 min).

L'ordre de prélèvement du sang pendant la phlébotomie doit être le suivant : tubes d'hémoculture/stériles, puis tubes de coagulation, puis tubes ordinaires/gel, puis tubes contenant des additifs.

Prélever un tube de rejet lorsque du plasma citraté est obtenu à l'aide de systèmes papillon ou d'autres dispositifs de cathéters IV.

Le tube de rejet peut être envisagé pour assurer un remplissage correct des tubes d'échantillon pour les tests de coagulation.

Assurez-vous que les tubes sont correctement remplis (>90% de remplissage).

Respectez le rapport requis entre le citrate de sodium et le sang total (1:9).

E. Facteurs liés au traitement de l'échantillon

1. Conditions de transport

Les conditions de transport sont déterminées de manière à assurer l'intégrité de l'échantillon durant la période entre le prélèvement et le traitement par le laboratoire. On devrait :

- Maintenir les tubes en position verticale permettant de réduire l'agitation de l'échantillon [5].
- Veiller à ce que les tubes restent bouchés et maintenus à température ambiante [43].
- Pour les échantillons transportés sur une certaine distance, l'acheminement doit être rapide et en toute sécurité ; les échantillons ne doivent pas être déposés directement sur des blocs réfrigérants ou dans un bain d'eau glacée.
- Dans certains hôpitaux, les systèmes de tubes pneumatiques peuvent être utilisés pour transporter à grande vitesse les échantillons de sang total anticoagulé des patients hospitalisés vers le laboratoire.
- Eviter les vibrations répétées pouvant entraîner l'activation plaquettaire et l'hémolyse [5].

*Les mouvements d'accélération/décélération du pneumatique peuvent entraîner une activation et dégranulation des plaquettes lors du transport, rendant ainsi le test des fonctions plaquettes ininterprétable.

Pour l'analyse de la fonction plaquettaire, les échantillons doivent être transportés manuellement au laboratoire et laissés à température ambiante pendant 30 minutes pour permettre le rétablissement d'une fonction

plaquettaire normale, mais pas plus de 2 à 4 heures, pour que la fonction plaquettaire ne se détériore pas.

Une étude transversale réalisée en 2018 en Chine par l'équipe de Ye et al, incluant 1586 laboratoires, sur une période d'un mois, a montré un taux de 0,001% de décalage entre le prélèvement sanguin et la réception des tubes en salle de soins. Ce taux très faible s'explique par l'attention portée aux échantillons et à leur réception au cours des 5 dernières années, qui a généralement minimisé les rejets dus à des erreurs pré-analytiques [58].

2. Réception et prétraitement

a. Triage des prélèvements :

La vérification de l'acceptabilité de l'échantillon d'hémostase, selon les points de conformité pré-analytique, est une étape cruciale pour l'obtention d'un résultat de qualité.

Le laboratoire doit enregistrer, à la réception, tous les échantillons qu'il reçoit, et consigner dans un registre (papier ou électronique) l'heure et la date de réception ainsi que celles du prélèvement si elles n'ont pas été notées au préalable [18].

Le laboratoire doit se doter d'une procédure documentée, conforme aux dernières recommandations précisant les critères d'acceptation et de rejet des échantillons (nature des tubes, volume, durée, température de transport, etc.).

Une procédure opérationnelle standard devrait définir les mesures à prendre en cas d'échantillon non conforme: un rapport indiquant que

l'analyse n'a pas été effectuée en raison de la non-conformité de l'échantillon doit alors être consigné dans un registre papier ou électronique et le demandeur doit en être avisé.

En plus des critères préalablement cités (identification du patient, conditions de transport, prélèvements non conformes, volume insuffisant...), il est primordial de vérifier la présence d'un caillot de sang ou à l'inverse la présence d'hémolyse.

L'inversion délicate du tube avant la centrifugation permet d'objectiver la présence d'un caillot de sang. Quelquefois en l'absence de vérification avant la centrifugation, le caillot est décelé dans le plasma après centrifugation suite à l'obtention de résultats inattendus.

La présence d'hémolyse est définie par la présence d'hémoglobine extracellulaire supérieure à 0,3 g/. La diffusion de l'hémoglobine et d'autres éléments internes des globules rouges est à l'origine d'interférences qui faussent les résultats en hémostase [36].

On distingue deux types d'hémolyse : l'hémolyse in vitro, associée à des niveaux de potassium nettement élevés et à une lactate déshydrogénase (LDH) normale, et inversement l'hémolyse qui se produit in vivo, associée à des niveaux de potassium normaux et à une augmentation marquée de la LDH.

L'hémolyse in vitro est la plus fréquente, elle est causée par des facteurs mécaniques. L'ADP libéré des globules rouges provoque une activation plaquettaire entraînant donc des variations des résultats d'hémostase : une augmentation des valeurs du TQ et du D-dimère et une diminution des valeurs du TCA et du fibrinogène [36].

En cas d'hémolyse in vivo (par exemple, en cas d'anémie hémolytique auto-immune), il sera impossible d'obtenir un échantillon exempt d'hémolyse, l'analyse est alors effectuée, mais la présence d'hémolyse doit être signalée dans le rapport d'analyse et communiquer le résultat sous réserve.

Certaines équipes ont détecté la présence d'échantillons coagulés parmi les tubes de prélèvement. Cependant, les pourcentages restent inférieurs à 1% [58, 59].

Le taux d'échantillons hémolysés, quant à lui, était de 3% de tous les tubes reçus dans l'étude de Khayati. Des études similaires ont également rapporté des taux d'échantillons hémolysés inférieurs à 1% [26, 58, 60].

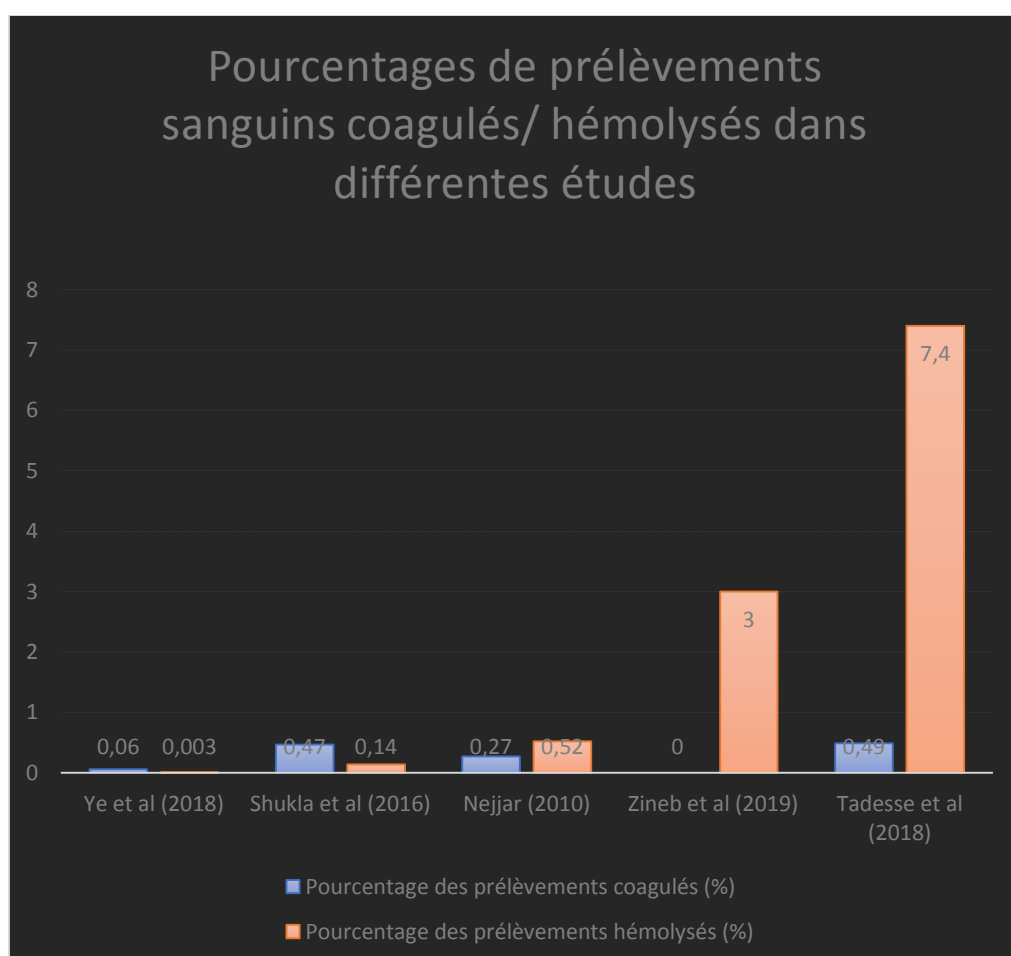


Figure 2 : Pourcentages de prélèvements sanguins coagulés/ hémolysés dans différentes études [25, 26, 58, 60]

Un autre critère important est le plasma lipémique ou ictérique: la lipidémie et l'ictère peuvent influencer la lecture précise d'un test de coagulation, surtout avec l'utilisation des méthodes optiques. L'ictère peut en outre interférer avec les tests chromogéniques (par exemple, l'activité AT), et les résultats doivent être interprétés avec précaution.

L'élimination mécanique des lipides (par exemple, l'ultracentrifugation ou les solvants) a également été décrite, mais cela prend du temps, tous les laboratoires n'ont pas accès à de telles centrifugeuses/solvants [36].

b. Centrifugation :

La centrifugation est une étape primordiale du processus pré-analytique, elle conditionne la qualité des prélèvements sur lesquels les analyses vont être effectuées.

Chaque laboratoire doit évaluer périodiquement sa centrifugeuse minimum une fois par an.

Le but de la centrifugation est de séparer le plasma des composantes cellulaires en fonction de la densité et de la taille des particules.

La centrifugation permet d'obtenir un plasma pauvre en plaquettes (PPP) ou au contraire riche en plaquettes, selon les paramètres de centrifugation puisque les plaquettes sont les dernières cellules à être éliminées du plasma [57].

Les paramètres de centrifugation pour éliminer les plaquettes dépendent de la vitesse de la centrifugeuse, du rayon du bras de centrifugation (les deux déterminent la force "g") et du temps de centrifugation [57].

Il existe différents types de centrifugation :

La centrifugation standard :

Tous les échantillons de sang pour les tests de coagulation (sauf les études de la fonction plaquettaire et le TEG) utilisent du plasma pauvre en plaquettes (PPP) qui est défini par un nombre de plaquettes inférieur à 10 000/yl.

Ceci permet d'éviter toute interférence avec les tests de coagulation quand les plaquettes se rompent ou s'activent [5].

En général, dans les grandes centrifugeuses standard, la force g est de 1500 à 2000g avec un temps de centrifugation de 15 minutes, ou de 2000 à 2500g pendant au moins 10 minutes.

La centrifugation rapide :

Il existe des centrifugeuses rapides avec une force de centrifugation plus élevée et un temps de centrifugation court : 3000g pendant au moins 5 minutes ou 4440g pendant au moins 2 minutes [35].

Selon le GFHT ce protocole a été validé pour réaliser certains tests : TCA, TQ, fibrinogène et D-dimères.

La centrifugation douce :

Pour les explorations plaquettaires (tests d'agrégation plaquettaire, exploration de la réponse aux antiagrégants plaquettaires...), il faut obtenir un plasma riche en plaquettes [35].

Le PRP est réalisé par une centrifugation inférieure de l'échantillon de sang total pour éliminer les globules rouges (RBC) et la majorité des globules blancs (GB), tout en conservant les plaquettes plus petites en solution et évitant leur activation.

Une centrifugation de 10 minutes à une vitesse entre 180 et 200 g, à température ambiante thermostatée, est recommandée [5].

La double centrifugation :

Il s'agit de deux centrifugations standards avec une décantation intermédiaire et finale permettant de préparer un PPP (moins de 10G/l).

Ce protocole est essentiellement utilisé pour congeler l'échantillon de plasma pour un test ultérieur ou encore pour doser des paramètres pouvant être modifié par l'activation ou la sécrétion plaquettaire (recherche d'anticoagulants lupiques et d'anticorps anti-phospholipides) [35, 36].

3. Conservation

Selon le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) et le Groupe français d'étude de l'hémostase et de la thrombose (GFHT), les échantillons conservés à température ambiante (15°C–25°C) pour les tests d'hémostase de routine doivent être analysés dans les 4 heures suivant le prélèvement, sauf pour le temps de Quick (TQ), dont la stabilité peut atteindre 24 heures, et les tests de suivi du traitement par héparine non fractionnée, pour lesquels le délai ne doit pas dépasser 2 heures [61, 62].

Plusieurs études ont démontré une stabilité plus longue pour de nombreux paramètres de l'hémostase. Cela peut être intéressant, par exemple, lorsque des tests de coagulation supplémentaires sont demandés ou lorsque les laboratoires doivent sous-traiter les tests à un laboratoire éloigné du lieu de prélèvement [63, 64].

a. Congélation :

Pour des tests supplémentaires ou une exploration ultérieure, il est nécessaire de conserver l'échantillon tout en préservant la stabilité des paramètres.

Après la centrifugation, il faut décanter les trois quarts supérieurs de la couche de plasma et préparer des aliquotes de 500 à 1 200 μ L permettant une congélation et une décongélation rapide. Lorsqu'il y a plusieurs tubes pour un même patient, faire un pool du plasma décanté puis répartir en aliquotes de 1 à 2 ml. Les échantillons de plasma décantés et étiquetés doivent être stockés dans des tubes spéciaux non mouillables (cryovials ou plastique approprié qui ne se fissurent pas ou ne fuient pas) avec un bouchon à vis (évitant l'évaporation du plasma) [65, 66].

Une fois préparés, les tubes doivent être conservés dans un congélateur ultra-bas à -70 ou -80°C sans givre pendant 6 mois ou à -20°C pendant 2 semaines.

Le congélateur ne devrait pas posséder de système de dégivrage automatique afin d'éviter les variations de température et de prévenir la déshydratation des plasmas et l'activation du facteur VII par le froid [65, 66].

b. Décongélation

Les flacons d'échantillons (avec leurs bouchons) sont décongelés dans un bain d'eau à 37°C avec un mélange doux (inversion ou vortex doux) pendant 5 à 10 minutes jusqu'à dissoudre complètement l'échantillon de plasma.

L'échantillon ne doit pas rester dans le bain-marie à 37°C pendant une période prolongée, car certains facteurs labiles (FVIII, FV...) commenceront à se dégrader, produisant des valeurs erronément basses et des temps de coagulation faussement prolongés [57].

Les plasmas décongelés doivent être conservés à une température de 18 à 25 °C et analysés dans les plus brefs délais.

Il est important à savoir également qu'un plasma décongelé ne doit jamais être recongelé [36].

Tableau IV : les erreurs pré-analytiques commises dans différentes études [2, 3, 36].

Reference de l'étude	Type de l'étude	Erreurs de la phase pré-analytique
Suryaatmadja M (29) Specimen collection and handling	Revue	Prélèvement sur le bras perfusé Utilisation prolongée d'un garrot Tube insuffisamment rempli Mauvais anticoagulant dans le tube
Capel P, Chatelain B, Leclercq R, Lust A, Masure R, Arnout J (28) Quality control in haemostasis	Etude théorique	Utilisation prolongée du garrot Taille de l'aiguille Prélèvement par cathéter Mauvais tube collecteur
Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, Green S, Kitchen S, Palicka V et al. (12) Causes, consequences, detection, and prevention of identification errors in laboratory diagnostics	Revue	Saisie incorrecte ou incomplète des données du patient Prélèvement de spécimens sur le mauvais patient
Lippi G, Montagnana M, Giovanni D (20) National survey on the pre-analytical variability in a representative cohort of Italian laboratories	Enquête	Échantillon non adapté aux tests Manque de directives de référence Conditions de stockage des échantillons inadaptés Transport des échantillons
Lippi G (17) Governance of pre-analytical variability: Travelling the right path to the bright side of the moon	Revue	Variation dans le remplissage des tubes Procédures inexactes Collecte de spécimens auprès du mauvais patient
Nauck M, Nauck M, Koetting J (32) A Recapping System for Automatic, Semiautomatic, and Manual Use	Revue	Les échantillons ne sont pas suffisamment couverts lors du stockage
Da Rin G (2) Pre-analytical workstations: A tool for reducing laboratory errors	Revue	Demande de test inappropriée Mauvaise identification du patient Conteneur inapproprié Échantillons mal étiquetés Échantillon non adapté au test Variation du remplissage du tube Période et conditions de stockage inappropriées

CONCLUSION

L'étape pré-analytique reste le chaînon le plus faible de la chaîne de traitement des échantillons.

Le contrôle et la gestion continus des erreurs qui peuvent survenir lors de cette phase sont primordiaux pour pouvoir améliorer sa qualité.

Pour cela des procédures standardisées doivent être mises en œuvre afin de prévenir ces problèmes et de protéger contre les complications et la mauvaise prise en charge des patients.

Dans la même perspective une éducation globale de l'ensemble du personnel sur les différents types et sources d'erreurs, ainsi que la communication efficace entre les différents intervenants (biologiste, médecin clinicien, infirmiers, préleveurs...) s'avère nécessaire.

La mise en application d'une approche globale de la qualité va donc permettre de parer aux failles de la phase pré-analytique en hémostase.

RESUME

Un grand nombre de variables peuvent potentiellement impacter les résultats d'un bilan biologique et peuvent être distinguées en trois groupes classiques : pré-analytiques, analytiques et post-analytiques. Il s'agit d'un circuit depuis la prescription jusqu'à l'interprétation de l'analyse.

La qualité (fiabilité et validité) des résultats est majoritairement conditionnée par l'étape la plus critique de l'ensemble du processus du test : l'étape pré-analytique.

Cette étape constitue la source la plus importante de résultats erronés ou non interprétables, constituant un danger, une perte de temps et un coût supplémentaire pour le patient.

Elle inclut un circuit de procédures : prescription, prélèvement du patient (préparation du patient, méthode du prélèvement, choix du tube, anticoagulant), identification du prélèvement, transport (conditions, délai, température) et traitement (centrifugation, congélation, décongélation).

Des erreurs peuvent se produire tout au long de ce processus, et avoir un impact direct sur la prise en charge du patient. De ce fait, la maîtrise des différents intervenants de l'étape pré-analytique est importante pour la validité des tests d'hémostase.

A travers ce travail, nous allons essayer d'identifier les principales anomalies de la phase pré-analytique en hémostase et de récapituler les dernières recommandations standardisées par rapport à cette phase, dont le respect permet de réduire significativement le taux d'erreurs.

Mots-clés : Hémostase – Constantes pré-analytiques – Phase pré-analytique.

BIBLIOGRAPHIE

1. Plebani M. Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? Clin Chem Lab Med 2006; 44: 750–9.
2. Da Rin G. Pre-analytical workstations: A tool for reducing laboratory errors. Clin Chim Acta 2009; 404: 68–74.
3. Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, Green S, Kitchen S, Palicka V, Vassault AJ, Plebani M. Causes, consequences, detection, and prevention of identification errors in laboratory diagnostics. Clin Chem Lab Med 2009; 47: 143–53.
4. Plebani M, Favaloro EJ, Lippi G. Patient safety and quality in laboratory and hemostasis testing: a renewed loop? Semin Thromb Hemost 2012;38(06):553–558
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline– Fifth Edition, CLSI document H21–A5, Wayne, PA, CLSI, 2008.
6. Preston FE, Lippi G, Favaloro EJ, Jayandharan GR, Edison ES, Srivastava A. Quality issues in laboratory haemostasis. Haemophilia 2010;16(Suppl 5):93–99
7. Bonar R, Favaloro EJ, Adcock DM. Quality in coagulation and haemostasis testing. Biochem Med (Zagreb) 2010;20:184–199
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Available at: <https://clsi.org/>. Accessed March 09, 2019
9. Hilborne LH, Lubin IM, Scheuner MT. The beginning of the second decade of the era of patient safety: Implications and roles for the clinical laboratory and laboratory professionals. Clin Chim Acta 2009; 404: 24–7.

10. Outi Mäkitalo and Eeva Liikanen, **Improving Quality at the Preanalytical Phase of Blood Sampling: Literature Review**, International Journal of Biomedical Laboratory Science (IJBLS) 2013 Vo1. 2, No. 1:7–16
11. Plebani M et al. “Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing” Clinica Chimica Acta, vol 432, p. 44–48, Mai 2014.
12. 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.] [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.
13. Chaigneau C, Cabioch T, Beaumont K, Betsou F. Serum biobank certification and the establishment of quality controls for biological fluids: examples of serum bio-marker stability after temperature variation. Clin Chem Lab Med 2007; 45: 1390–5.
14. Ritchie R, Leude T, Craig W. Patient hydration: a major source of laboratory uncertainty. Clin Chem Lab Med 2007; 45: 158–66
15. Leppänen E. Experimental basis for standardisation of blood specimen collection. Helsinki University Faculty of Medicine, 2004
16. Toulon P. Developmental hemostasis: laboratory and clinical implications. Int J Lab Hematol 2016;38(Suppl 1):66–77.
17. Nowak-Göttl U, Limperger V, Kenet G, et al. Developmental hemostasis: a lifespan from neonates and pregnancy to the young and elderly adult in a European white population. Blood Cells Mol Dis 2017;67:2–13.
18. Hézard N. “Hémostase pédiatrique” Bio Tribune Magazine, Vol 18, n° 1, p. 40–43, 2006
19. Righini M, Nendaz M, Le Gal G, Bounameaux H, Perrier A. Influence of age on the cost-effectiveness of diagnostic strategies for suspected pulmonary embolism. J Thromb Haemost 2007;5 (09):1869–1877

20. Giansante C, Fiotti N, Cattin L, Da Col PG, Calabrese S. Fibrinogen, D-dimer and thrombin-antithrombin complexes in a random population sample: relationships with other cardiovascular risk factors. *Thromb Haemost* 1994;71(05):581-586
21. Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J, Grezchnik E, Easton L, Favaloro JW. Reassessment of ABO blood group, sex, and age on laboratory parameters used to diagnose von Willebrand disorder: potential influence on the diagnosis vs the potential association with risk of thrombosis. *Am J Clin Pathol* 2005;124(06):910-917 Erratum in: *Am J Clin Pathol*. 2006;125(5):796
22. Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J, Grezchnik E, Easton L. Cross- laboratory audit of normal reference ranges and assessment of ABO blood group, gender and age on detected levels of plasma coagulation factors. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005;16(08):597-605
23. Schneider T, Siegemund T, Siegemund R, Petros S. Thrombin generation and rotational thromboelastometry in the healthy adult population. *Hamostaseologie* 2015;35(02):181-186
24. Chan KL, Summerhayes RG, Ignjatovic V, Horton SB, Monagle PT. Reference values for kaolin-activated thromboelastography in healthy children. *Anesth Analg* 2007;105(06):1610-1613
25. Tadesse H et al. Errors in the Hematology at St. Paul's Hospital Millennium Medical College, Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Research Notes*, vol 11, n°1, Dec 2018
26. Khayati Siham, Mouayche Ikhlas, Bahri Raihane, Ait Si Ali Zineb, Yahyaoui Hicham, Ait Ameer Mustapha, Chakour Mohammed. Pre-analytical Phase in Hemostasis: The Main Anomalies and Means to Correct Them. *American Journal of Laboratory Medicine*. Vol. 4, No. 6, 2019, pp. 105-110. doi: 10.11648/j.ajlm.20190406.14

27. 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.
28. Ho P, Ng C, Rigano J, et al. Significant age, race and gender differences in global coagulation assays parameters in the normal population. *Thromb Res* 2017;154:80-83.
29. de Maat MP, van Schie M, Kluft C, Leebeek FW, Meijer P. Biological variation of hemostasis variables in thrombosis and bleeding: consequences for performance specifications. *Clin Chem* 2016;62(12):1639-1646.
30. Magnette A et al. "Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: guidance for the clinical laboratories" *Thrombosis Journal*, vol 14, n° 1, Dec. 2016.
31. Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J, Grezchnik E, Easton L. Laboratory identification of familial thrombophilia: do the pitfalls exceed the benefits? A reassessment of ABO-blood group, gender, age, and other laboratory parameters on the potential influence on a diagnosis of protein C, protein S, and antithrombin deficiency and the potential high risk of a false positive diagnosis. *Lab Hematol* 2005;11(03):174-184.
32. Lipets EN, Ataullakhanov FI. Global assays of hemostasis in the diagnostics of hypercoagulation and evaluation of thrombosis risk. *Thromb J*. 2015;13:4
33. Blombäck M, Konkle BA, Manco-Johnson MJ, Bremme K, Hellgren M, Kaaja R; ISTH SSC Subcommittee on Women's Health Issues. Preanalytical conditions that affect coagulation testing, including hormonal status and therapy. *J Thromb Haemost* 2007;5(04):855-858.
34. Gosselin RC, Marlar RA. Preanalytical Variables in Coagulation Testing: Setting the Stage for Accurate Results. *Semin Thromb Hemost*. juill 2019;45(05):433-48.

35. GFHT. (French Study Group on Hemostasis and Thrombosis). 2015.
http://site.geht.org/site/Pratiques-Professionnelles/Documents-GEHT/Variables-Preanalytiques/Recommandations-Variables-preanalytiques_69_722.html. Accessed 3 Nov 2016.
36. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Lima-Oliveira G, Guidi GC, Favaloro EJ. Quality standards for sample collection in coagulation testing. *Semin Thromb Hemost*. 2012;38:565-75.
37. Van Zaane B, Squizzato A, Debeij J, et al. Alterations in coagulation and fibrinolysis after levothyroxine exposure in healthyvolunteers: a controlled randomized crossover study. *J ThrombHaemost* 2011;9(09):1816-1824.
38. O'Donnell J, Tuddenham EG, Manning R, Kemball-Cook G, Johnson D, Laffan M. High prevalence of elevated factor VIII levels in patients referred for thrombophilia screening: role of increased synthesis and relationship to the acute phase reaction. *Thromb Haemost*. 1997;77:825-8.
39. Franchi F, Biguzzi E, Martinelli I, Bucciarelli P, Palmucci C, D'Agostino S, Peyvandi F. Normal reference ranges of antithrombin, protein C and protein S: effect of sex, age and hormonal status. *Thromb Res*. 2013;132:e152-7
40. Sandset PM. Mechanisms of hormonal therapy related thrombosis. *Thromb Res*. 2013;131 Suppl 1:S4-7
41. Raps M, Helmerhorst FM, Fleischer K, Dahm AE, Rosendaal FR, Rosing J, Reitsma P, Sandset PM, van Vliet HA. The effect of different hormonal contraceptives on plasma levels of free protein S and free TFPI. *Thromb Haemost*. 2013;109:606-13
42. Oger E, Alhenc-Gelas M, Lacut K, Blouch M-T, Roudaut N, Kerlan V, et al. Differential effects of oral and transdermal estrogen/progesterone regimens on sensitivity to activated protein C among postmenopausal women: a randomized trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1 sept 2003;23(9):1671-6.

43. Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, Hayward CP, Kenny D, Nugent D, et al. Recommendations for the standardization of light transmission aggregometry: a consensus of the working party from the platelet physiology subcommittee of SSC/ISTH. *J Thromb Haemost.* 2013;11:1183-9.]
44. Lordkipanidzé M. Platelet function tests. *Semin Thromb Hemo* st2016;42(03):258-267.
45. Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Lippi G, Danese E, Gelati M, Montagnana M, Picheth G, Guidi GC. Could light meal jeopardize laboratory coagulation tests? *Biochem Med (Zagreb).* 2014;24:343-9
46. Rull G, Mohd-Zain ZN, Shiel J, Lundberg MH, Collier DJ, Johnston A, Warner TD, Corder R. Effects of high flavanol dark chocolate on cardiovascular function and platelet aggregation. *Vascul Pharmacol.* 2015;71:70-8
47. 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.
48. Salem RO, Laposata M. “Effects of Alcohol on Hemostasis” *Pathology Patterns Reviews*, vol 123, n° suppl_1, p. S96-S105, 2005.
49. Lippi G et al. Patient and sample identification. Out of the Maze ?. *Journal of Medical Biochemistry*, vol 36, n°2, p. 107-112, Apr 2017.
50. McCraw A, Hillarp A, Echenagucia M. Considerations in the laboratory assessment of haemostasis. *Haemophilia.* 2010;16 Suppl 5:74-8.
51. 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

52. Lima-Oliveira G, Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Picheth G, Guidi GC. The effective reduction of tourniquet application time after minor modification of the CLSI H03-A6 blood collection procedure. *Biochem Med (Zagreb)*. 2013;23:308–15
53. Ialongo C, Bernardini S. “Phlebotomy, a bridge between laboratory and patient” *Biochemia Medica*, p. 17–33, 2016.
54. Smock KJ, Crist RA, Hansen SJ, Rodgers GM, Lehman CM. Discard tubes are not necessary when drawing samples for specialized coagulation testing. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2010;21:279–82.
55. Raijmakers MT, Menting CH, Vader HL, van der Graaf F. Collection of blood specimens by venipuncture for plasma-based coagulation assays: necessity of a discard tube. *Am J Clin Pathol*. 2010;133:331–5
56. Becton, Dickinson and Company (BD) Diagnostics : <http://www.bd.com>. Accessed 17 Nov 2016
57. Mackie I, Cooper P, Lawrie A, Kitchen S, Gray E, Laffan M, British Committee for Standards in H. Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. *Int J Lab Hematol*. 2013;35:1–13.
58. Ye Y et al. Haematology specimen acceptability: a national survey in Chinese laboratories. *Biochemia Medica*, vol 28, n°3, Oct 2018.
59. 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
60. 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 4, n°12, p. 14964–14967, Dec 2016

61. Toulon P et al. Impact of different storage times at rooms temperature of unspun citrated blood samples on routine coagulation tests results. Results of a bicenter study an reviw of the literature. International Journal of Laboratory Hematology, vol 39, n°5, p. 458–468, Oct 2017
62. 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
63. Feng L et al. Effects of storage time and temperature on coagulation tests and factors in frensh plasma. Scientific Reports, vol 4, n° 1, May 2015
64. Mauge L, Alhenc–Gelas M. Stability of coagulation parameters review of available data. Annales de Biologie Clinique, n°2, p 141–145, 2014
65. Gosselin RC, Dwyre DW. Determining the effect of freezing oncoagulation testing: comparison of results between fresh and oncefrozen–thawed plasma. Blood Coagul Fibrinolysis 2015;26(01):69–74.
66. 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