



***ORDRE PROFESSIONNEL DES
TECHNOLOGISTES MÉDICAUX
DU QUÉBEC***

GUIDE D'HÉMOSTASE



GUIDE D'HÉMOSTASE

Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec
281, avenue Laurier Est, Montréal (Québec) H2T 1G2
Tél. : 514-527-9811 Sans frais : 1-800-567-7763 Téléc. : 514-527-7314
Courriel : info@optmq.org Adresse Internet : www.optmq.org

ISBN : 978-2-9816759-1-0 (version PDF)
Dépôt légal - Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2017
Dépôt légal - Bibliothèque et Archives Canada, 2017

© 2017 Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec (OPTMQ). Tous droits réservés. Toute reproduction ou utilisation du présent ouvrage est autorisée avec mention de la source et avis à l'OPTMQ.

AVANT-PROPOS

Le présent document remplace la deuxième édition des règles de pratique en hémostase de l'OPTMQ publiées en 2008. Il a été révisé selon le processus de révision périodique des documents publiés par le comité des normes de la pratique et a été adopté par le Conseil d'administration de l'OPTMQ le 28 octobre 2017. Seules des modifications mineures ont été apportées dans l'attente de la révision complète de ce document. Ces modifications sont présentées à la suite de l'avant-propos.

Afin de remplir son mandat qui est de protéger le public, l'Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec (OPTMQ) encadre l'exercice de la profession d'une part, par la surveillance générale de celui-ci et d'autre part, par la formation de ses membres. L'OPTMQ s'assure que ses membres conservent leurs compétences et ont accès à des outils appropriés pour les guider dans l'exercice de leurs fonctions.

Les technologistes médicaux doivent posséder les compétences requises pour exercer leur profession. Ces compétences se traduisent par le savoir, le savoir-être, le savoir-faire et le savoir-agir. Bien que son rôle, sa participation et sa responsabilité varient d'un établissement à l'autre, le technologiste médical doit connaître les politiques et procédures en vigueur à son travail et s'y conformer. L'exercice du jugement professionnel suppose également la capacité d'appliquer les politiques et procédures établies avec toute la rigueur nécessaire ainsi que l'adaptabilité exigée par les circonstances.

Le document intitulé *Les normes de pratique du technologiste médical* énonce les compétences générales que doivent maîtriser les technologistes médicaux. Le présent guide précise les compétences relatives aux activités réalisées au laboratoire d'hémostase. Ce guide vise à compléter les connaissances et à améliorer les pratiques des technologistes médicaux. Il collige les renseignements existants afin de renforcer les critères de qualité et de sécurité s'appliquant au domaine de l'hémostase en vue d'accorder la primauté au bien-être et à la protection du patient et à l'amélioration de la qualité des services dispensés.

Cet ouvrage ne vise pas à créer de nouvelles obligations non prévues par la loi. Les renseignements qu'il contient ne sont pas exhaustifs et ne remplacent pas la réglementation en vigueur. Compte tenu de l'évolution technologique, elles feront l'objet de révisions, et toute suggestion susceptible d'en améliorer le contenu sera accueillie avec intérêt. Tous les documents de l'OPTMQ publiés ultérieurement prévaudront sur les exigences exprimées dans le présent document.

Quand une référence citée dans le présent document n'est pas datée, c'est qu'elle renvoie à la plus récente édition du document. Les hyperliens figurant dans le texte étaient opérationnels quand ce guide a été imprimé.

Il est à noter que le titre de « technologiste médical » est considéré comme invariable et qu'il désigne aussi bien les hommes que les femmes. Dans ce document, le terme « laboratoire » désigne une entité qui comprend, entre autres, les technologistes médicaux et les gestionnaires du laboratoire.

AVANT-PROPOS (suite)

Nous tenons à remercier les personnes suivantes qui ont collaboré à la révision scientifique de la version antérieure de ce document : Marie Louise Alonso, T.M., Hélène Arsenault, D^r Normand Blais, Anik Cormier, Danielle Cousineau, D^{re} Christine Demers, Suzanne Deschênes Dion, F.T.M., Élise Gadbois T.M., Lynda Godue, T.M., D^{re} Jeannine Kassis, Alain Laliberté et D^r George E. Rivard.

Nous remercions aussi sincèrement Louise Vu, Chantal Nadeau, T.M., Louise Beauséjour, T.M. et Sylvie Clermont, anciennement membres du sous-comité en hémostase, pour leur participation à la réalisation de la version antérieure de ce document.

Nous remercions tout particulièrement Mme Chantal Nadeau, T.M., et Mme Line Gendreau, T.M. pour leur révision du présent document.

Les membres du comité des normes de la pratique :

Julie Désautels, T.M.

Suzanne Deschênes Dion, F.T.M., présidente

Stéphanie Lemay, T.M.

Michèle Pellerin, T.M.

Carolle Robert, T.M.

Anne-Marie Martel, T.M., chargée de dossiers scientifiques de l'OPTMQ

MODIFICATIONS

Voici la liste des modifications qui ont été effectuées lors de la révision du présent document :

- Modification du titre, de l'avant-propos et de toutes les mentions concernant les règles de pratique. Conséquemment aux nouvelles orientations du comité des normes, les règles de pratique sont remplacées par des guides.
- Remplacement du terme « maintenance préventive » par « entretien préventif » dans tout le document.
- Modifications des termes *doit*, *devrait* et *peut* au point 2.0.
- Modification du nombre de retournements successifs complets au point 10.5.
- Modification des exigences concernant les tubes de rejet au point 10.5.
- Modification du calibre recommandé pour les aiguilles lors du prélèvement au point 10.5.1.
- Remplacement du texte concernant l'identification de l'échantillon par la directive de consulter le document de l'OPTMQ intitulé *Prélèvement de sang par ponction veineuse pour fins d'analyse* au point 10.6.
- Remplacement des termes « coefficients de variations » par « pourcentage de différence » au point 15.3.3.2 et à l'annexe 3.
- Reformulation au point 18.3.2 concernant la mesure de l'activité du facteur von Willebrand pour inclure d'autres méthodes non mentionnées.
- Introduction du terme *Examens de biologie médicale délocalisée* (EBMD) au point 19.0.
- Mise à jour de l'annexe 6 sur la détermination de la vitesse de rotation lors de la centrifugation.
- Mise à jour de la bibliographie, des hyperliens et de la plupart des références.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	III
MODIFICATIONS	V
1.0 INTRODUCTION	1
2.0 DÉFINITIONS	1
3.0 SYSTÈME DE GESTION DE LA QUALITÉ	3
4.0 MESURES DE SÉCURITÉ	4
5.0 PERSONNEL	5
6.0 MATÉRIEL DIDACTIQUE ET DE RÉFÉRENCE EN HÉMOSTASE	5
7.0 LOCAUX ET CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES	5
8.0 GESTION DU SYSTÈME INFORMATIQUE	6
9.0 GESTION DE LA DOCUMENTATION	6
9.1 PROCÉDURES OPÉRATOIRES NORMALISÉES (PON).....	6
9.2 ENREGISTREMENT.....	7
10.0 PRÉLÈVEMENT DE SANG PAR PONCTION VEINEUSE AUX FINS D'ANALYSE EN HÉMOSTASE	7
10.1 RÉPERTOIRE DES ANALYSES	7
10.2 TUBES DE PRÉLÈVEMENT.....	8
10.3 ANTICOAGULANT POUR ÉCHANTILLONS EN HÉMOSTASE	9
10.3.1 Influence de l'hématocrite sur les analyses d'hémostase.....	9
10.3.1.1 Ajustement de la concentration du citrate de sodium en fonction de l'hématocrite du patient.....	9
10.4 RATIO SANG/ANTICOAGULANT ET VOLUME DE REMPLISSAGE DES TUBES	10
10.5 MÉTHODE DE PRÉLÈVEMENT	11
10.5.1 Calibre des aiguilles	12
10.6 IDENTIFICATION DE L'ÉCHANTILLON.....	12
11.0 CONSERVATION ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS D'HÉMOSTASE	12
11.1 TEMPÉRATURE DE CONSERVATION	12
11.1.1 Procédure à suivre lors du changement de température de conservation des échantillons	13
11.2 DÉLAIS DE CONSERVATION.....	13
11.2.1 Délais de conservation pour les analyses spécialisées.....	14
11.2.2 Délais de conservation de l'échantillon congelé	14
11.3 TRANSPORT ET MANIPULATION.....	15
12.0 RÉCEPTION ET TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS	15
12.1 REGISTRE D'ÉCHANTILLONS	15
12.2 CENTRIFUGATION	15
12.2.1 La température.....	15
12.2.2 La vitesse et la durée de la centrifugation.....	16
12.2.2.1 Obtention d'un plasma pour les analyses de routine	16
12.2.2.2 Obtention d'un plasma pauvre en plaquettes pour les analyses spécialisées.....	16
12.3 CRITÈRES D'ACCEPTATION OU DE REJET DES ÉCHANTILLONS D'HÉMOSTASE	16
12.3.1 Influence de l'hémolyse sur les analyses d'hémostase	17
12.3.1.1 Hémolyse <i>in vitro</i>	18
12.3.1.2 Hémolyse <i>in vivo</i>	18
12.4 CONGÉLATION DES PLASMAS	18
12.4.1 Décongélation des plasmas	19
12.5 ÉCHANTILLONS À ACHÉMINER À DES LABORATOIRES SOUS-TRAITANTS.....	19

13.0	CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DES ANALYSES.....	19
13.1	CRITÈRES GÉNÉRAUX.....	20
13.2	PLASMAS DE CONTRÔLE EN HÉMOSTASE.....	20
13.2.1	Plasmas de contrôle commerciaux.....	21
13.2.2	Plasmas de contrôle préparés sur place.....	21
13.2.3	Stabilité et conservation des plasmas de contrôle	21
13.2.4	Utilité des plasmas de contrôle.....	21
13.2.5	Niveaux des plasmas de contrôle.....	21
13.2.6	Fréquence du contrôle de la qualité.....	21
13.3	TRAITEMENT STATISTIQUE DU CONTRÔLE DE LA QUALITÉ	22
13.3.1	Valeur cible et limites du plasma de contrôle.....	22
13.3.1.1	Validation de nouveaux lots de plasmas de contrôle	22
13.3.2	Évaluation et suivi des résultats des contrôles.....	22
13.3.3	Reproductibilité.....	23
13.3.4	Graphiques	23
13.4	ANALYSES EN DUPLICATA	23
13.5	CONTRÔLE EXTERNE DE LA QUALITÉ.....	23
14.0	ÉQUIPEMENTS	24
14.1	EXIGENCES GÉNÉRALES.....	24
14.2	PROCÉDURES D'UTILISATION ET D'ENTRETIEN	25
14.2.1	Programme d'entretien	25
14.2.1.1	Enregistrer, dater et parapher.....	26
14.2.2	Procédures en cas de panne.....	26
14.3	CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DES APPAREILS AUTOMATISÉS ET SEMI-AUTOMATISÉS.....	26
14.3.1	Procédures de contrôle de la qualité.....	27
14.4	EXIGENCES PROPRES À CERTAINS ÉQUIPEMENTS.....	27
14.4.1	Équipements à température contrôlée	27
14.4.1.1	Limites de tolérance.....	28
14.4.2	Équipements volumétriques	28
14.4.2.1	Pipettes automatiques et semi-automatiques.....	28
14.4.3	Centrifugeuses	28
14.4.4	Exigences particulières pour les méthodes ELISA en microplaques.....	29
15.0	RÉACTIFS.....	29
15.1	GESTION DES RÉACTIFS EN HÉMOSTASE	29
15.2	PRÉPARATION ET CONSERVATION	30
15.2.1	Réactifs préparés au laboratoire	30
15.2.2	Réactifs commerciaux	30
15.2.3	Eau distillée.....	30
15.3	CHOIX DES RÉACTIFS	30
15.3.1	Sensibilité aux déficits en facteurs de coagulation.....	30
15.3.2	Réactif du temps de Quick.....	31
15.3.3	Réactif du temps de céphaline activé.....	31
15.3.3.1	Sensibilité à l'héparine et zone thérapeutique	31
15.3.3.2	Changement de lot.....	31
16.0	ÉTALONNAGE POUR DOSAGE DE FACTEURS ET D'INHIBITEURS DE LA COAGULATION	32
16.1	POOL DE PLASMAS NORMAUX CONGELÉ	32
16.1.1	Composition.....	32
16.1.2	Préparation.....	33
16.1.3	Utilité	33
16.2	PLASMAS COMMERCIAUX D'ÉTALONNAGE	33

17.0 INTERVALLES DE RÉFÉRENCE	34
17.1 VALEURS DE RÉFÉRENCE	34
17.1.1 Méthode	34
17.2 INTERVALLE DE RÉFÉRENCE.....	34
17.2.1 Méthodes de calcul	34
17.2.1.1 La méthode non paramétrique.....	35
17.2.1.2 La méthode paramétrique.....	35
17.2.2 Nombre minimal des valeurs de référence pour établir un intervalle de référence	35
17.2.2.1 Intervalle de référence fourni par un autre laboratoire ou par un fabricant	35
17.2.2.2 Changement de conditions préanalytiques ou analytiques	36
17.2.2.3 Nouvelle analyse ou nouvelle méthode d'analyse.....	36
18.0 AUTRES PROCÉDURES ANALYTIQUES EN HÉMOSTASE.....	36
18.1 FIBRINOGENÈ.....	36
18.2 D-DIMÈRES	36
18.3 FACTEUR VON WILLEBRAND (FVW).....	37
18.3.1 Température de conservation	37
18.3.2 Méthodes d'analyse.....	37
18.3.3 Étalonnage	37
18.3.4 Contrôle de la qualité	38
18.3.5 Résultats	38
18.4 ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES	38
18.4.1 Conditions préanalytiques	38
18.4.2 Conditions analytiques	39
18.4.2.1 Recherche d'anticoagulant de type lupique	39
18.4.2.2 Conditions d'analyse nécessaires pour déceler un anticoagulant de type lupique ...	39
18.4.2.3 Expression des résultats	40
18.4.3 Seuil de décision de positivité.....	40
18.4.3.1 Méthodes de coagulation	40
18.4.3.2 Méthodes ELISA	40
18.5 ANALYSES DE LA FONCTION PLAQUETTAIRE	40
18.5.1 Conditions préanalytiques	41
18.5.1.1 La prise de médicaments.....	41
18.5.1.2 Conditions optimales de prélèvement.....	41
18.5.2 Temps de saignement	41
18.5.2.1 Intervalle de référence du temps de saignement.....	42
18.5.3 Analyse automatisée de la fonction plaquettaire.....	42
18.5.3.1 Conditions préanalytiques.....	42
18.5.3.2 Conditions analytiques	43
18.5.3.3 Contrôle de la qualité.....	43
18.5.3.4 Résultats	43
18.5.3.5 Intervalles de référence	43
18.5.4 Test d'agrégation plaquettaire.....	43
18.5.4.1 Prélèvement et traitement de l'échantillon	43
18.5.4.2 Principaux agonistes et leurs concentrations.....	44
18.5.4.3 Préparation du plasma riche en plaquettes (PRP)	44
18.5.4.4 Intervalles de référence	45
18.5.4.5 Contrôle de la qualité.....	45
18.5.4.6 Résultats	45
19.0 EXAMENS DE BIOLOGIE MÉDICALE DÉLOCALISÉE (EBMD)	45
19.1 PROCÉDURES ÉCRITES POUR ANALYSES AUPRÈS DU PATIENT.....	45

20.0 RAPPORT D'ANALYSE.....	46
20.1 VÉRIFICATION DE LA VALIDITÉ DU RÉSULTAT.....	46
20.2 AJOUT D'UN COMMENTAIRE SUR LE RAPPORT.....	46
20.3 GESTION DES RÉSULTATS CRITIQUES.....	47
20.4 ÉMISSION DU RAPPORT D'ANALYSE.....	47
ANNEXE 1 TEMPÉRATURE ET DÉLAIS DE CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS EN HÉMOSTASE.....	49
ANNEXE 2 VOLUME D'ANTICOAGULANT EN FONCTION DE L'HÉMATOCRITE ET DU VOLUME DE SANG DANS LE TUBE DE PRÉLÈVEMENT.....	50
ANNEXE 3 PROCÉDURE À SUIVRE LORS DU CHANGEMENT DE TEMPÉRATURE DE CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS.....	51
ANNEXE 4 RESSOURCES INTERNET EN HÉMOSTASE.....	52
ANNEXE 5 CALENDRIER D'ENTRETIEN PRÉVENTIF ET DE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DE CERTAINS ÉQUIPEMENTS – RECOMMANDATIONS.....	53
ANNEXE 6 CENTRIFUGATION – DÉTERMINATION DE LA VITESSE DE ROTATION.....	54
BIBLIOGRAPHIE.....	55
COMMENTAIRES.....	60

1.0 Introduction

Le laboratoire d'hémostase joue un rôle important dans le diagnostic des patients atteints de troubles de l'hémostase. Il sert d'assise au suivi des thérapies antithrombotiques tant pour les patients traités à l'héparine que ceux traités par des anticoagulants oraux. Son rôle consiste à mettre en place les outils de contrôle nécessaires pour assurer, dans les meilleurs délais, un résultat d'analyse de qualité.

La qualité d'un résultat dépend de celle des trois phases du processus de production du résultat, c'est-à-dire les phases préanalytique, analytique et postanalytique. Afin de se conformer aux exigences établies, le laboratoire doit mettre en place un système de gestion de la qualité, ce qui comprend la définition d'un plan organisationnel et d'une structure de gestion de la qualité qui couvrent tout le processus. Ce dernier débute par l'ordonnance médicale de l'analyse et se termine par la production d'un rapport qui aide le médecin lors de sa prise de décision.

Les exigences du système de la qualité applicables à tous les secteurs d'activité du laboratoire de biologie médicale sont décrites dans le document de l'OPTMQ intitulé *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*¹ ainsi que dans la norme ISO 15189 *Laboratoires de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence*².

C'est en tenant compte de tous ces éléments et en suivant les pratiques généralement reconnues en laboratoire que nous abordons ce guide dont l'objectif consiste à décrire les exigences de qualité des processus préanalytique, analytique et postanalytique particulières au secteur de l'hémostase. Ce document servira de guide pour la mise en place et l'amélioration de la qualité des procédures effectuées dans un environnement sécuritaire et efficace au laboratoire d'hémostase.

2.0 Définitions

Anticoagulant	Substance qui empêche ou retarde la coagulation du sang.
Conformité	Fait d'être conforme à toutes les exigences établies.
Contrôle de la qualité	Opérations techniques et mesures prises de façon systématique afin de vérifier si la qualité des procédures préanalytiques, analytiques et postanalytiques est conforme aux exigences.
Exactitude de mesure	Étroitesse de l'accord entre le résultat d'un mesurage et d'une valeur vraie du mesurande ² .
Hémostase	Ensemble des réactions physiologiques qui permettent l'arrêt du saignement et la prévention des hémorragies et des thromboses.

	<p>Principales protéines de l'hémostase⁷ :</p> <p>Facteur II Facteur V Facteur VII Facteur VIII Facteur IX Facteur X Facteur XI Facteur XIII Facteur von Willebrand Fibrinogène</p> <p>Principaux inhibiteurs de la coagulation⁷ :</p> <p>Antithrombine Protéine C Protéine S</p>
Incertitude de mesure	Paramètre, associé au résultat d'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurand ² .
Indice de sensibilité international (ISI)	Caractéristique de chaque thromboplastine déterminée par la comparaison du réactif avec la thromboplastine de référence internationale correspondante.
Mesurande	Grandeur particulière soumise à mesurage
Non-conformité	Défaut de se conformer à une exigence établie.
Précision	Étroitesse de l'accord entre des résultats indépendants obtenus en vertu des conditions stipulées ⁵⁸ .
Procédure	Documentation et instructions techniques expliquant toutes les étapes d'une procédure ⁹ . Les expressions <i>procédure opératoire normalisée</i> (PON) et <i>procédure documentée</i> peuvent également être utilisées.
Rapport normalisé international (RNI) (<i>International Normalized Ratio</i>) (INR)	Résultat du temps de Quick (TQ) exprimé sous forme de rapport normalisé et uniformisé par l'ISI de la thromboplastine utilisée ¹⁰ . RNI= (TQ patient (s)/TQ valeur normale moyenne (s)) ^{ISI}
Stabilité de l'échantillon	Période durant laquelle survient un changement inférieur à 10 % de la valeur initiale et non cliniquement significatif ¹¹ .
Système de gestion de la qualité	Ensemble des activités de planification, de direction, de contrôle et d'assurance de la qualité destinées à assurer ou à maintenir la qualité.

TCA ou aPTT	Analyse du temps de céphaline activé ou temps de thromboplastine partielle (aPTT, <i>activated partial thromboplastine time</i>), soit le temps de coagulation plasmatique, exprimé en secondes, en présence de phospholipides, d'un activateur et d'ions de calcium ¹² .
TQ ou PT	Analyse du temps de Quick ou temps de prothrombine (PT, <i>prothrombine time</i>) soit le temps de coagulation plasmatique, exprimé en secondes, en présence de thromboplastine tissulaire et d'ions de calcium ¹² .
Signification des termes « doit », « devrait » et « peut »	
Doit :	Dans le présent document, le verbe <i>devoir</i> à l'indicatif désigne l'obligation de respecter ou d'appliquer les exigences prescrites, soit parce qu'elles sont exigées par la réglementation en vigueur ou parce qu'elles ont trait à une compétence que doit posséder le technologiste médical. L'expression <i>il faut</i> a le même sens.
Deviendrait :	Dans le présent document, le verbe <i>devoir</i> au conditionnel signifie que l'énoncé s'appuie sur des faits scientifiques et qu'il est recommandé de le respecter ou de l'appliquer. L'expression <i>il faudrait</i> a le même sens.
Peut :	Dans le présent document, le verbe <i>pouvoir</i> signifie que l'énoncé est considéré comme valable et que son application est souhaitable.

3.0 Système de gestion de la qualité

La mise en place d'un système de gestion de la qualité au laboratoire entraîne l'adoption de critères de qualité s'appliquant à tous les processus associés aux besoins et à la sécurité des patients, des médecins, du personnel et des autorités de réglementation.

Le laboratoire, avec le soutien de la direction de l'institution, doit désigner au moins une personne responsable de la qualité qui veillera à l'application, au suivi et à la mise à jour des exigences énoncées dans son manuel qualité².

Pour obtenir de plus amples renseignements sur le système de gestion de la qualité, veuillez consulter le document de l'OPTMQ intitulé *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*¹.

4.0 Mesures de sécurité

Il est essentiel d'élaborer et de mettre en place un programme de prévention des risques liés à la santé et à la sécurité en laboratoire¹⁵. Les exigences de ce programme de prévention et de mesures de sécurité sont décrites dans le document de l'OPTMQ intitulé *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*¹.

Lors de la manipulation d'échantillons sanguins, de liquides biologiques et d'autres échantillons, les pratiques énoncées dans le document intitulé *Pratiques de base et précautions additionnelles visant à prévenir la transmission des infections dans les milieux de soins* de l'Agence de la santé publique du Canada doivent être suivies. Ce document se trouve à l'adresse suivante :

<http://www.phac-aspc.gc.ca/nois-sinp/guide/summary-sommaire/tihs-tims-fra.php>

Le lavage des mains demeure le moyen le plus efficace de prévenir la transmission des infections nosocomiales. Pour obtenir des renseignements sur les exigences liées à la prévention des infections nosocomiales, veuillez consulter le document de l'Agence de la santé publique du Canada intitulé *Pratiques en matière d'hygiène des mains dans les milieux de soins* se trouvant à l'adresse suivante :

<http://www.phac-aspc.gc.ca/nois-sinp/guide/summary-sommaire/hh-hm-fra.php>

En ce qui a trait aux conditions environnementales, les lieux de travail doivent être adaptés aux activités de chaque secteur du laboratoire et être conformes aux exigences de l'Agence de la santé publique du Canada (éclairage, température, ventilation, degré d'humidité, équipement, surfaces de travail, revêtements de sol, etc.)^{17,18}. Ces exigences sont décrites dans la *Norme canadienne sur la biosécurité* et le *Guide canadien sur la biosécurité* de l'Agence de la santé publique du Canada et sont disponibles à l'adresse suivante :

<https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/normes-lignes-directrices-canadiennes-biosecurite.html>

Les lieux doivent être propres et les surfaces de travail doivent être nettoyées tous les jours avec un désinfectant ou avec un germicide reconnu. Lors d'un déversement accidentel ou toutes les fois qu'une contamination de surface est visible ou soupçonnée, la surface de travail doit être désinfectée selon une procédure établie^{4,18,19}.

Il convient de souligner qu'un programme de prévention comprenant des mesures de sécurité efficaces et reconnues est basé sur les responsabilités partagées à tous les niveaux : personnel de laboratoire, gestionnaire, employeur, comités de prévention des infections et de santé et sécurité²⁰.

Pour obtenir de plus amples renseignements, veuillez consulter le document intitulé *Lignes directrices sur la sécurité au laboratoire* de la Société de science de laboratoire médical.

5.0 Personnel

Le personnel est un élément essentiel du système de la qualité²¹. Les ressources en personnel doivent être adéquates et suffisantes².

Les technologistes médicaux, en tant que membres d'un ordre professionnel, ont des devoirs dont ils doivent s'acquitter. Ils doivent exercer leur profession en respectant le *Code de déontologie*¹³, les *Normes de pratique du technologiste médical*⁴, les guides ainsi que les bonnes pratiques de laboratoire.

Les exigences générales concernant le personnel sont décrites dans le document de l'OPTMQ intitulé *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*¹.

L'Ordre considère que les technologistes médicaux qui effectuent des interventions sur des usagers doivent suivre et maintenir à jour une formation en réanimation cardio-respiratoire.

6.0 Matériel didactique et de référence en hémostase

Pour l'accomplissement du travail quotidien, ainsi que pour des besoins d'orientation et de formation continue, les technologistes doivent avoir accès, sur place, au matériel nécessaire à l'exercice de leurs fonctions, entre autres :

- les normes et les guides de pratique reconnues;
- les guides de bonnes pratiques, les normes de qualité et les lignes directrices des organismes reconnus;
- des volumes de référence récents;
- les procédures opératoires normalisées du laboratoire;
- les sites en ligne pertinents (voir l'annexe 4);
- toute autre source d'information pertinente.

7.0 Locaux et conditions environnementales

Les locaux du laboratoire doivent être aménagés et les conditions environnementales maintenues de façon à² :

- protéger les patients, les employés et les visiteurs contre des dangers reconnus;
- définir les zones de confinement selon les catégories de risque et définir les personnes ayant accès à ces zones;
- s'assurer que les conditions environnementales dans lesquelles les analyses ont lieu sont adéquates et qu'elles n'ont aucune incidence sur la qualité du processus analytique;
- s'assurer que les espaces de travail sont propres, bien entretenus et ergonomiques;
- éliminer les matériaux dangereux conformément à la réglementation en vigueur²².

8.0 Gestion du système informatique

Lorsque le laboratoire utilise un système informatique pour la collecte, l'enregistrement et la conservation des données, il doit établir et mettre en place des procédures opératoires normalisées qui seront consignées dans le manuel des procédures du système informatique².

L'ensemble du personnel doit être formé au sujet de l'utilisation du système informatique.

Pour obtenir de plus amples renseignements sur la gestion du système informatique et la procédure relative au code d'accès, veuillez consulter le document de l'OPTMQ intitulé *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*¹.

9.0 Gestion de la documentation

Dans un système de gestion de la qualité, la documentation fait référence aux politiques, aux processus, aux procédures et aux enregistrements. Une politique de gestion de la documentation doit établir une hiérarchie documentaire et définir les lignes directrices quant aux responsabilités sur les plans de la rédaction, de la révision et de l'approbation de tout document^{1,2}.

Le laboratoire doit définir, consigner et mettre à jour les procédures de gestion de tous les documents et de tous les renseignements (provenant de sources internes et externes) qui constituent ses ressources documentaires^{1,2,23}. Les procédures doivent être mises en application.

Bien que tous les membres du personnel doivent connaître les politiques et les processus concernant les activités qu'ils accomplissent, ce document s'adresse au personnel du laboratoire d'hémostase et nous nous limiterons à une brève description des exigences relatives aux procédures opératoires normalisées et aux enregistrements.

Pour obtenir de plus amples renseignements sur les exigences relatives à la documentation, veuillez consulter le document de l'OPTMQ intitulé *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*¹.

9.1 Procédures opératoires normalisées (PON)

Des procédures opératoires normalisées écrites, datées, approuvées et validées techniquement doivent être élaborées pour toutes les activités de laboratoire. De plus, le personnel concerné doit connaître ces procédures opératoires normalisées. Elles doivent être accessibles et mises en application à tous les postes de travail^{1,2,23}.

Les exigences décrites dans les notices d'accompagnement des trousseaux commerciales, des appareils, des réactifs, des tubes à prélèvement et de tout autre élément doivent être vérifiées à tous les changements de lot. Lorsqu'une modification est apportée à la notice d'accompagnement, celle-ci doit être lue, datée, paraphée et conservée. Les modifications pertinentes doivent également être intégrées à la procédure opératoire normalisée. Les procédures analytiques devraient indiquer les critères d'acceptation, les concentrations utilisées ainsi que la fréquence des étalonnages et des vérifications à l'aide du contrôle de la qualité².

9.2 Enregistrement

Dans le présent contexte, un enregistrement est un document qui constitue la preuve de l'exécution d'une activité ou qui fait état de résultats obtenus.

Par exemple, les enregistrements peuvent faire état de la traçabilité de l'information, apporter la preuve d'une vérification (feuille d'entretien préventif, contrôle de la qualité, etc.), ou encore, attester de la réalisation d'une mesure préventive ou corrective^{2,3}.

Un enregistrement doit être daté, paraphé et conservé selon un calendrier de conservation respectant les directives de l'institution et la réglementation en vigueur^{1,2,14}. Le suivi périodique des enregistrements fait partie d'un programme d'amélioration de la qualité.

10.0 Prélèvement de sang par ponction veineuse aux fins d'analyse en hémostase

L'obtention d'un échantillon sanguin de qualité est à la base de tout résultat d'analyse fiable. Toutes les procédures inadéquates relatives à la ponction, à l'identification, à la manipulation, à la conservation et au transport des échantillons peuvent entraîner la production de résultats erronés^{24,25,26,34}.

10.1 Répertoire des analyses

Un répertoire des analyses mis à jour et qui décrit les exigences préanalytiques sera fourni à toute personne ou à tout établissement soumettant des échantillons à des fins d'analyse².

Le répertoire des analyses doit comprendre, sans toutefois s'y limiter, les renseignements suivants pour chaque analyse² :

- le nom de l'analyse et son code informatique (mnémonique);
- la nature de l'échantillon (par exemple, le prélèvement de sang veineux);
- le tube ou le contenant à utiliser;
- la quantité d'échantillon à prélever (par exemple, le volume de remplissage);

- le formulaire de demande approprié et les renseignements qu'il doit comprendre;
- l'administration de médicaments ou d'autres substances en vue de l'analyse (le cas échéant);
- les restrictions alimentaires (le cas échéant);
- les états cliniques du patient qui ont une incidence sur l'analyse (par exemple, l'anticoagulothérapie);
- les conditions appropriées pour la manipulation, la conservation et le transport;
- le délai d'analyse à respecter entre le prélèvement et l'analyse;
- les analyses pouvant être demandées en « STAT »;
- les analyses de routine et celles effectuées sur demande spéciale, selon la nature de l'échantillon;
- les critères d'acceptation ou de rejet des échantillons;
- toute autre information ou directive pertinente relative à l'analyse ou au prélèvement.

10.2 Tubes de prélèvement

Les tubes de prélèvement doivent être en plastique inerte (par exemple, en polypropylène) ou en verre siliconé afin d'éviter :

- l'activation de la coagulation;
- l'activation plaquettaire qui peut entraîner la neutralisation de l'héparine plasmatique ou de l'anticoagulant de type lupique.

Lors de l'évaluation d'un nouveau type de tube de prélèvement (changement d'anticoagulant, de calibre, de fournisseur, etc.), il faut :

- vérifier la stabilité du tube en fonction de la date de péremption, car il faut s'assurer que les résultats d'un test sont les mêmes pour la durée de vie du lot⁸;
- vérifier l'incidence sur les résultats (biais, voir l'annexe 3);
- valider les intervalles de référence des analyses effectuées.

Le système de prélèvement sous vide est largement utilisé. Il faut connaître les possibilités et les limites du système et respecter les recommandations ainsi que les dates de péremption proposées par le fabricant.

10.3 Anticoagulant pour échantillons en hémostase

Il est recommandé d'utiliser l'anticoagulant de choix en hémostase soit, une solution tamponnée de citrate de sodium à 3,2 % (0,105 à 0,109 mol/L)^{27,28,29}. Le ratio du volume sang/anticoagulant est de 9 pour 1. Les autres anticoagulants (par exemple, l'oxalate, l'héparine et l'EDTA) ne sont pas recommandés pour les analyses courantes en hémostase²⁷.

Cette recommandation est basée sur la nécessité de normaliser la concentration de l'anticoagulant utilisé, car la nature et la concentration de l'anticoagulant utilisé influent sur les résultats des analyses d'hémostase et sur leurs intervalles de référence respectives^{27,28,29}.

Comme les variations d'hématocrite influent sur les résultats d'analyse en hémostase, la concentration de citrate de sodium 0,129 mol/L ou 3,8 %, n'est pas recommandée²⁸.

10.3.1 Influence de l'hématocrite sur les analyses d'hémostase

Le laboratoire doit faire état de l'interférence possible d'un hématocrite anormal sur le rapport d'analyse d'un patient dont l'hématocrite est supérieur à 0,55 L/L ou inférieur à 0,20 L/L.

Un hématocrite anormal (anémie ou polyglobulie) influence le ratio plasma/anticoagulant de l'échantillon, ce qui entraîne une variabilité des résultats d'analyse²⁷.

Dans les cas où l'hématocrite est supérieur à 0,55 L/L, le volume de plasma est anormalement réduit par rapport au volume total de sang et la proportion d'anticoagulant se retrouve en excédent. Le plasma est alors hypercitraté, ce qui entraîne une augmentation du temps de coagulation²⁷.

Dans les cas où l'hématocrite est inférieur à 0,20 L/L, la proportion relative de l'anticoagulant est diminuée. Le plasma est alors hypocitraté, ce qui entraîne une diminution du temps de coagulation et, à la limite, un allongement causé par la consommation ou l'inactivation des facteurs de la coagulation.

10.3.1.1 Ajustement de la concentration du citrate de sodium en fonction de l'hématocrite du patient

Hématocrite supérieur à 0,55 L/L

Dans des cas particuliers et à la demande du médecin, la concentration d'anticoagulant peut être rajustée pour les patients dont l'hématocrite est supérieur à 0,55 L/L^{27,30}.

Le volume d'anticoagulant à utiliser en fonction de l'hématocrite du patient peut être calculé en se reportant à l'annexe 2 ou en utilisant la formule suivante²⁷ :

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

X = Volume de citrate de sodium en ml

Ht = Hématocrite du patient en L/L

Vs = Volume de sang en ml dans le tube

Remarque

Une seringue à tuberculine peut être utilisée pour enlever l'excédent d'anticoagulant sans altérer le vide dans le tube de prélèvement³¹. La procédure utilisée doit permettre de préserver l'intégrité du tube.

Hématocrite inférieur à 0,20 L/L

Dans le cas des hématocrites inférieurs à 0,20 L/L, il n'existe actuellement aucune donnée scientifique qui appuie cette pratique^{27,30}.

En ce qui a trait aux unités de néonatalogie, il peut s'avérer justifié de rajuster le volume d'anticoagulant pour 1 ml de sang selon l'hématocrite du prématuré, ce qui permet ainsi de limiter les transfusions sanguines en raison des ponctions de sang. Un tube conique eppendorf de 2,0 ml peut être utilisé avec un trait noir indiquant le volume maximal de sang. Il convient d'appliquer la formule mentionnée pour le rajustement du volume d'anticoagulant pour 1 ml de sang.

L'annexe 2 présente un tableau du volume d'anticoagulant en fonction de l'hématocrite et du volume de sang dans le tube de prélèvement.

10.4 Ratio sang/anticoagulant et volume de remplissage des tubes

La qualité de l'échantillon d'hémostase et l'exactitude du résultat sont directement liées au respect du ratio sang/anticoagulant adéquat dans le tube de prélèvement.

Le ratio sang/anticoagulant dans le tube représente neuf volumes de sang pour un volume d'anticoagulant. Un volume de remplissage maximal du tube permet de respecter le ratio sang/anticoagulant de l'échantillon.

Lorsque le tube est moins bien rempli, les temps des tests de coagulation ont tendance à augmenter en raison de la plus grande proportion d'anticoagulant dans l'échantillon. Cet effet est moins important lorsqu'il contient du citrate de sodium à 3,2 % et peut varier selon les analyses et les hématocrites des patients, le plus ou moins de sensibilité des réactifs utilisés et les temps de coagulation plus ou moins longs des tests des patients.

Un volume de remplissage minimal de 90 % permet d'obtenir des résultats fiables dans la majeure partie des situations²⁷.

Il existe, sur le marché, des tubes dont le volume de remplissage de 90 % est indiqué sur la paroi externe du tube. Le laboratoire doit s'assurer que le délai de péremption des tubes de prélèvement est respecté. Ainsi, en cas de remplissage incomplet, il doit vérifier la capacité de remplissage du lot de tubes en cours d'utilisation en le comparant avec d'autres lots.

10.5 Méthode de prélèvement

L'exécution d'un prélèvement de qualité est primordiale. Il doit être effectué avec un minimum de traumatisme afin d'éviter l'activation de la coagulation et des plaquettes ainsi que l'hémolyse.

Afin d'obtenir de plus amples renseignements, veuillez consulter le document de l'OPTMQ intitulé *Prélèvement de sang par ponction veineuse pour fins d'analyse*³⁴.

Le technologiste médical doit³⁴ :

- identifier sans équivoque le patient et obtenir son consentement;
- vérifier les concordances d'identification avec le patient, les étiquettes et les formulaires;
- utiliser des tubes avant la date de péremption du lot³⁵;
- réaliser une ponction veineuse franche en observant les guides de pratique et la marche à suivre ainsi que l'ordre de prélèvement des tubes³⁴;
- mélanger le contenu de chaque tube par retournements successifs complets, trois à quatre fois immédiatement après le remplissage du tube de prélèvement pour assurer le mélange adéquat du sang et de l'anticoagulant et éviter la formation de caillots et l'hémolyse²⁷;
- utiliser le premier tube prélevé lorsque la ponction est franche pour les demandes d'analyses destinées à la coagulation de routine (TQ et TCA pour des patients non-traités à l'héparine)^{27,36,37,38,39}. Il est recommandé aux laboratoires d'hémostase d'effectuer des validations à l'interne afin de corroborer ces études pour les analyses spécialisées d'hémostase^{40,57,66,85}.
- éviter de prélever un tube destiné aux analyses de coagulation dans un cathéter, canule, héparine/saline lock, car ces dispositifs sont habituellement balayés d'une solution d'héparine, ce qui peut contaminer l'échantillon²⁷. Cependant, exceptionnellement, lorsque la situation l'exige, les éléments suivants doivent être respectés⁴⁰:
 - les prélèvements doivent être effectués par du personnel spécialement formé;
 - il est nécessaire d'éliminer la solution d'héparine en balayant avec 5 ml de saline et en rejetant les premiers 5 ml de sang avant le remplissage du tube de coagulation^{27,40};
 - il est important d'indiquer, sur la requête et le rapport d'analyse, que le prélèvement a été effectué dans un cathéter, canule, héparine/saline lock et que l'échantillon a peut-être été contaminé par l'héparine.

Attention : Lorsqu'une unité de prélèvement à ailettes est utilisée pour la ponction veineuse et que le premier tube prélevé est destiné à la coagulation, un tube de rejet doit être prélevé en premier afin de vider l'air de la tubulure de l'unité de prélèvement et assurer un ratio sang/anticoagulant optimal. Un tube pour test de coagulation ou un tube sans additif doit être employé comme tube de rejet^{27,40}.

10.5.1 Calibre des aiguilles

Il est recommandé d'utiliser des aiguilles ou des unités de prélèvement à ailettes de calibre 19 à 21G²⁷. Dans le cas de veines difficiles, de prélèvements délicats ou de catégories particulières de patients (pédiatrie, oncologie, gériatrie, etc.), des aiguilles de calibre 22 ou 23G peuvent être utilisées au besoin⁴⁰. 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 coagulation²⁷.

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 choix du calibre de l'aiguille doit être approprié pour éviter l'activation des plaquettes et de la coagulation.

10.6 Identification de l'échantillon

L'identification adéquate de l'échantillon est une étape préanalytique cruciale. Les exigences énoncées dans le document de l'OPTMQ intitulé *Prélèvement de sang pour ponction veineuse pour fins d'analyse* doivent être respectées.

11.0 Conservation et transport des échantillons d'hémostase

11.1 Température de conservation

Il est recommandé de conserver les échantillons destinés aux analyses d'hémostase à une température se situant entre 18 et 25 °C, du moment du prélèvement jusqu'à l'exécution de l'analyse^{11,27,43,44,45}.

Cette condition de conservation s'applique à toutes les analyses d'hémostase, incluant les analyses des facteurs VIII et von Willebrand. Voir le point 18.3.

Ces recommandations s'appuient sur de nombreuses références scientifiques qui confirment la stabilité des échantillons (écart de 10 % ou moins) lorsqu'ils sont conservés à une température se situant entre 18 et 25 °C^{11,37,43,44,45}. La conservation des échantillons à une température se situant entre 2 et 8 °C pour les besoins d'analyses d'hémostase n'est pas recommandée en raison de l'activation possible du facteur VII par le froid, de la perte du facteur von Willebrand et de la lyse des plaquettes²⁷.

En plus d'être facile d'application, cette pratique favorise la normalisation des processus liés à l'étape préanalytique des analyses d'hémostase et assure une meilleure fiabilité des résultats d'analyse.

11.1.1 Procédure à suivre lors du changement de température de conservation des échantillons

Le laboratoire d'hémostase qui devra modifier la température de conservation et de centrifugation de ses échantillons d'hémostase, passant de « froid » (entre 2 et 8 °C) à « tempéré » (entre 18 et 25 °C) devra vérifier les effets du changement de cette condition préanalytique sur les résultats d'analyse et modifier les intervalles de référence, s'il y a lieu.

L'annexe 3 de ce document décrit la procédure à suivre pour vérifier les effets du changement de la température de conservation des échantillons de « froid » à « tempéré ».

11.2 Délais de conservation

Les délais de conservation à respecter entre le prélèvement de l'échantillon et l'exécution de l'analyse sont les suivants :

Échantillons non centrifugés et non débouchés ou centrifugés et non décantés, conservés à une température entre 18 et 25 °C :

TQ/RNI :	24 heures ^{11,27,38,46}
TCA :	6 heures ^{7,11,27,43,92,93}
TCA et Anti-Xa, patient traité à l'héparine non-fractionnée :	Centrifugé en l'espace d'une heure et analysé en l'espace de quatre heures ^{11,27}

La présence des plaquettes dans l'échantillon de sang peut entraîner la neutralisation de l'héparine si elles sont activées. Il faut donc centrifuger le plus rapidement possible pour les analyses TCA ou anti-Xa de patients traités à l'héparine.

Remarques :

- Les délais de conservation recommandés sont détaillés dans l'annexe 1 de ce document. Les exigences relatives aux conditions de centrifugation des échantillons sont décrites à la section 12.2.
- Des études scientifiques ont déterminé qu'un délai de 24 heures pour l'analyse exclusive du TQ/RNI est acceptable étant donné que la variation des résultats n'est pas cliniquement significative^{11,27,46,47}. Cependant, les analyses devraient idéalement être effectuées le jour du prélèvement et le délai de 24 heures ne devrait s'appliquer que lors de situations particulières.

- Dans le cas de patients non traités à l'héparine, bien que le *Clinical and Laboratory Standards Institute* recommande de respecter un délai de quatre heures pour le TCA d'un échantillon non centrifugé ou centrifugé non décanté, conservé entre 18 et 25 °C, des études ont démontré que le TCA pouvait être stable au-delà de ce délai^{7,11,43,92,93}. Les laboratoires qui doivent conserver ces échantillons pour une durée supérieure à quatre heures devront procéder à une étude de validation.

L'amélioration des tubes de prélèvement, qui contiennent un anticoagulant tamponné ainsi qu'une surface interne en polypropylène, accroît la stabilité des échantillons, ce qui permet de prolonger les délais de conservation et de transporter les tubes à la température de la pièce⁴⁸.

11.2.1 Délais de conservation pour les analyses spécialisées

Pour les facteurs VIII et von Willebrand, ainsi que pour les autres analyses spécialisées, le délai de conservation recommandé est de quatre heures pour un échantillon de sang complet, non centrifugé et non débouché ou centrifugé et décanté, à une température entre 18 et 25 °C^{27,45}.

Par contre, une étude a démontré qu'un échantillon de sang complet, conservé non débouché à une température entre 18 et 25 °C, peut être stable pendant 24 heures pour les analyses suivantes : protéine C, protéine S, antithrombine, RPCa (résistance à la protéine C activée) et dRVVT (dilute Russell's viper venom time)⁴⁹. Les laboratoires qui doivent conserver ces échantillons pour une durée supérieure à quatre heures devront procéder à une étude de validation.

11.2.2 Délais de conservation de l'échantillon congelé

Si les analyses spécialisées ne peuvent être effectuées dans les délais recommandés (voir le point 11.2.1), le plasma doit être décanté dans des tubes en matière plastique (polypropylène) et congelé rapidement. Les exigences liées à la congélation des plasmas sont décrites au point 12.4 du présent document.

Dans le document intitulé *Collection Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition*²⁷, le *Clinical and Laboratory Standards Institute* fait état des résultats d'une étude concernant les délais de conservation des échantillons congelés. Les délais acceptables pour réaliser les tests de routine et doser tous les facteurs et inhibiteurs de la coagulation sont les suivants⁹¹ :

Plasma décanté et congelé :

- 20 °C	3 mois
Entre -70 et -80 °C	6 mois

11.3 Transport et manipulation

Les conditions de transport sont conçues pour préserver et maintenir l'intégrité de l'échantillon pour la période qui s'écoule entre la collecte et le traitement effectué par le laboratoire.

Afin de maintenir l'intégrité des échantillons d'hémostase, on devrait :

- garder les tubes en position verticale^{50,51};
- éviter les vibrations répétées pouvant causer l'hémolyse^{50,51};
- protéger les échantillons des vibrations et des chocs lors du transport par pneumatique²⁷.

Le laboratoire doit avoir une politique écrite portant sur le transport d'échantillons provenant de l'extérieur de l'établissement (CLSC et autres). Il est important que les tubes ne soient pas déposés directement sur des blocs réfrigérants (*ice pack*). Les blocs réfrigérants doivent être fondants et placés au fond du contenant afin de maintenir une température tempérée, notamment en été. Pour le transport des échantillons congelés, se référer à la section 12.5.

L'emballage doit respecter la réglementation en vigueur et le document de l'OPTMQ intitulé *Transport et conservation des échantillons dans le domaine de la biologie médicale*⁵².

12.0 Réception et traitement des échantillons

Avant de procéder à l'analyse, le technologiste médical doit s'assurer que l'échantillon reçu est conforme aux critères de qualité déterminés pour l'analyse¹⁴.

La vérification de l'acceptabilité de l'échantillon d'hémostase est une étape cruciale pour l'obtention d'un résultat de qualité.

12.1 Registre d'échantillons

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^{1,2}. Tout autre renseignement pertinent doit être enregistré. L'identité de la personne ayant reçu les échantillons doit également être consignée².

12.2 Centrifugation

Les conditions de centrifugation des échantillons d'hémostase doivent être définies d'une façon précise et doivent être rigoureusement respectées.

12.2.1 La température

La température de centrifugation doit se situer entre 18 et 25 °C tout comme la température de conservation. Les échantillons non débouchés doivent être centrifugés à une température déterminée, se situant entre 18 et 25 °C, y compris pour les analyses des facteurs VIII et von Willebrand⁴⁵. Voir le point 18.3.

12.2.2 La vitesse et la durée de la centrifugation

12.2.2.1 Obtention d'un plasma pour les analyses de routine

L'échantillon peut être centrifugé à :

- 2,000 g pendant une période minimale de 10 minutes⁷;
- 1,500 g pendant une période minimale de 15 minutes²⁷.

Afin de traiter les demandes d'analyses urgentes, des centrifugeuses de table peuvent être utilisées²⁷. Les vitesses de centrifugation varient environ entre 4,000 g et 6,000 g pendant une période minimale de 2 minutes^{53,54}. Voir l'annexe 6 pour déterminer la vitesse de rotation par minute (RPM).

12.2.2.2 Obtention d'un plasma pauvre en plaquettes pour les analyses spécialisées

Plusieurs analyses spécialisées d'hémostase, notamment la recherche d'anticoagulant de type lupique, le test de résistance à la protéine C activée, l'anti-Xa et la protéine S, exigent un plasma pauvre en plaquettes avec un décompte plaquettaire inférieur à $10 \times 10^9/L$ ²⁷. De plus, pour toutes les analyses effectuées sur un plasma décongelé, il est important que l'échantillon soit essentiellement dépourvu de plaquettes.

Dans les exemples suivants, un plasma pauvre en plaquettes a été obtenu en centrifugeant le tube de sang complet à une température se situant entre 18 et 25 °C :

- 2,500 g pendant une période minimale de 15 minutes;
- double centrifugation à 2,500 g pendant 10 minutes.

12.3 Critères d'acceptation ou de rejet des échantillons d'hémostase

Une politique sur les critères d'acceptation ou de rejet d'un échantillon doit être établie dans chaque laboratoire. Une procédure opératoire normalisée doit définir les étapes à suivre en cas de non-conformité d'un échantillon^{1,2,51}.

Les éléments suivants devraient être compris dans l'élaboration de la politique sur les critères d'acceptation ou de rejet d'un échantillon :

- l'identification adéquate de l'échantillon ainsi que la double identification (nom, prénom et numéro d'identification personnalisé);
- la conformité avec les exigences de la méthode de prélèvement et des conditions de stabilisation de l'échantillon pour l'analyse demandée.

La production de résultats d'analyse représentatifs de l'état clinique du patient est directement liée à la qualité de l'échantillon.

En hémostase, les éléments suivants sont des critères de rejet :

- Présence de caillots. L'échantillon peut être examiné en vue de déceler la présence de caillots visibles par inversion délicate du tube avant la centrifugation ou par vérification de l'intérieur du tube à l'aide de bâtonnets de bois, soit avant la centrifugation soit dans le plasma après l'obtention de résultats inattendus²⁷.

Note : Le laboratoire doit établir une politique et une procédure opératoire normalisée portant sur la vérification de la présence de caillots dans les échantillons. En l'absence de vérification avant la centrifugation, tous les intervenants (infirmières et infirmiers, personnel du centre de prélèvements et médecins traitants) devraient être avisés des répercussions possibles de la politique sur les résultats.

- Présence d'hémolyse⁵⁵. Voir le point 12.3.1.
- Ratio sang/anticoagulant non conforme. Voir le point 10.4.

Lorsque l'identification du patient n'est pas conforme ou que la qualité de l'échantillon n'est pas acceptable, l'échantillon est rejeté (voir la note plus bas). Un rapport de non-conformité indiquant que l'analyse n'a pas été effectuée en raison de la non-conformité de l'échantillon doit alors être rédigé et le demandeur doit en être avisé.

Le laboratoire doit consigner dans un registre papier ou électronique l'origine et la raison de la non-conformité de l'échantillon rejeté. Ces données devraient être analysées périodiquement afin de déceler les causes d'erreurs, de recommander des actions correctives et préventives et, ainsi, d'améliorer le service.

Note : Si pour des raisons exceptionnelles liées au bien-être du patient, un échantillon qui ne respecte pas les critères d'acceptabilité est tout de même analysé, le rapport d'analyse doit faire état de la non-conformité de l'échantillon et du fait que le résultat n'est pas validé. La raison de la non-conformité doit être décrite. Le cas échéant, il devra comprendre un *addenda* contenant tous les renseignements susceptibles d'influer sur l'interprétation clinique du résultat qui sera faite par le médecin².

12.3.1 Influence de l'hémolyse sur les analyses d'hémostase

Il est fortement déconseillé d'effectuer une analyse d'hémostase sur un échantillon hémolysé⁵⁵.

L'hémolyse cause le déversement d'hémoglobine et d'autres composants internes des érythrocytes dans le liquide environnant (hémolysat). Elle est visuellement décelable par la couleur rose rouge du plasma dans des échantillons contenant aussi peu que 0,5 % d'hémolysat⁵⁵. L'hémolyse se définit généralement par une concentration d'hémoglobine extracellulaire supérieure à 0,3 g/L⁵⁵.

12.3.1.1 Hémolysse *in vitro*

L'hémolyse *in vitro*, causée par des facteurs techniques et mécaniques, est celle qui survient le plus fréquemment. L'ADP libéré des globules rouges provoque une activation plaquettaire. L'hémolyse, même à un taux aussi bas que 0,9 %, entraîne une variation des résultats du TQ et du TCA plus grande que le biais acceptable⁵⁵. Une relation linéaire est observée entre le degré de lyse et la variation des résultats, l'hémolyse causant une augmentation des valeurs du TQ et du D-dimère et une diminution des valeurs du TCA et du fibrinogène⁵⁵. Compte tenu d'une grande variation interindividuelle des résultats (≥ 20 %) pour un même degré d'hémolyse, il est recommandé de reprendre le prélèvement lorsqu'un échantillon est hémolysé⁵⁵.

12.3.1.2 Hémolysse *in vivo*

Lorsque l'hémolyse se produit *in vivo* (par exemple, en cas d'anémie hémolytique auto-immune), il sera impossible d'obtenir un échantillon exempt d'hémolyse⁵⁵. L'analyse est alors effectuée, mais la présence d'hémolyse doit être signalée dans le rapport d'analyse.

Dans les cas où une interférence de l'hémolyse survient lors de la détection du caillot par l'analyseur, le rapport doit indiquer qu'il s'agit d'un résultat sous réserve.

12.4 Congélation des plasmas

Pour la congélation du plasma, l'échantillon doit être centrifugé de façon à obtenir un plasma pauvre en plaquettes avec un décompte plaquettaire inférieur à $10 \times 10^9/L$. Voir le point 12.2.2.2²⁷.

Après la centrifugation, décanter dans les meilleurs délais le trois quarts supérieur de la couche de plasma dans un tube en polypropylène à l'aide d'une pipette de plastique puis boucher⁷. 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 pour permettre une congélation et une décongélation rapide. Afin d'éviter des variations de pH, il est très important que les tubes de transfert soient bouchés et congelés rapidement.

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 froid²⁷.

12.4.1 Décongélation des plasmas

Les conditions et les délais pour la décongélation des plasmas congelés doivent respecter les exigences de la méthode d'analyse et les spécifications du fabricant du réactif⁷. Il est important que le plasma soit entièrement décongelé et très bien inversé en raison de la précipitation des protéines qui peut survenir suite à la congélation²⁷. Le laboratoire doit définir des conditions de décongélation complète pour tous les échantillons à analyser.

Pour les analyses par méthode immunologique, certains fabricants de trousse recommandent un temps de décongélation de 15 minutes à 37 °C.

Les plasmas décongelés doivent être conservés à une température de 18 à 25 °C et analysés dans les plus brefs délais²⁷.

12.5 Échantillons à acheminer à des laboratoires sous-traitants

Le laboratoire demandeur doit s'informer des exigences préanalytiques propres à l'analyse demandée auprès du laboratoire sous-traitant et les respecter rigoureusement.

Les conditions de transport doivent permettre de maintenir la température de l'échantillon constante jusqu'à son traitement par le laboratoire sous-traitant. Plus particulièrement, les échantillons congelés qui sont expédiés doivent demeurer congelés.

Lorsque des échantillons sont envoyés à un laboratoire sous-traitant aux fins d'analyse, le laboratoire demandeur doit consigner dans un registre les renseignements relatifs à l'échantillon et assurer le suivi des résultats². Pour les exigences relatives à la gestion des analyses envoyées à des laboratoires sous-traitants, veuillez consulter le document de l'OPTMQ intitulé *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*¹.

L'emballage des échantillons doit respecter la réglementation en vigueur et le document de l'OPTMQ intitulé *Transport et conservation des échantillons dans le domaine de la biologie médicale*⁵².

13.0 Contrôle de la qualité des analyses

Cette section décrit les exigences ayant trait au contrôle de la qualité lors de la phase analytique du processus de prestation de service effectué par le laboratoire d'hémostase. Elle englobe les mesures mises en œuvre pour assurer l'exactitude et la précision du résultat de chacune des analyses effectuées. Le but ultime vise à offrir des analyses d'un niveau de qualité élevé et, par conséquent, de soutenir le médecin dans ses interventions auprès du patient.

Le technologiste médical, en collaboration avec le médecin hématologue, s'assure que chaque méthode d'analyse est assortie d'un système de contrôle de la qualité reconnu et adéquat².

Le laboratoire devrait désigner un responsable du contrôle de la qualité qui traitera les données, documentera les sources d'erreurs et assurera l'enregistrement et le suivi des données¹.

13.1 Critères généraux

Le laboratoire d'hémostase doit mettre en œuvre et maintenir un système de contrôle de la qualité des procédures analytiques qui respecte les exigences énoncées ci-dessous.

- Les procédures analytiques doivent être validées, documentées et approuvées. Si des procédures analytiques internes sont utilisées, elles doivent être validées adéquatement afin d'être employées comme il est prévu et documentées convenablement^{2,56}.
- Toutes les procédures analytiques doivent être associées à une procédure opératoire normalisée.
- Toute modification apportée à une procédure doit être validée, datée, documentée et approuvée.
- Un système de contrôle interne de la qualité doit permettre de s'assurer de l'exactitude des résultats obtenus^{2,56}.
- Les étalonnages et la vérification doivent être enregistrés, datés et paraphés dans le cadre du contrôle de la qualité.
- Un système de contrôle externe de la qualité et de comparaison entre laboratoires ou une procédure d'évaluation de la conformité doivent être mis en place^{2,56}.
- La préparation des contrôles et des réactifs utilisés pour réaliser les contrôles doit être documentée. Les résultats des contrôles, internes et externes, doivent être enregistrés, datés et paraphés. Ils doivent faire l'objet d'une évaluation et d'un suivi périodiques effectués par le responsable. Cette information doit être transmise au personnel⁵⁶.
- Lorsqu'un résultat du contrôle de la qualité est non conforme, des actions correctives doivent être apportées, documentées et révisées par une personne responsable².

13.2 Plasmas de contrôle en hémostase

Les plasmas de contrôle en hémostase doivent être sélectionnés selon les caractéristiques de la méthode de mesure et de l'échantillon du patient⁵⁸. Le laboratoire devrait faire provision de plasmas de contrôle stables (date d'expiration appropriée) en quantité permettant d'utiliser un lot unique à long terme (pendant au moins un an)⁵⁸.

Il existe deux types de plasmas de contrôle : les plasmas commerciaux et les plasmas préparés sur place.

13.2.1 Plasmas de contrôle commerciaux

Le mode de reconstitution des plasmas commerciaux lyophilisés ainsi que la décongélation des plasmas commerciaux congelés doivent respecter rigoureusement les exigences du fabricant.

13.2.2 Plasmas de contrôle préparés sur place

Le technologiste médical doit vérifier la stabilité, établir une date de péremption et définir les conditions de conservation pour les plasmas de contrôle préparés sur place⁵⁹.

13.2.3 Stabilité et conservation des plasmas de contrôle

Le technologiste médical doit respecter le délai de stabilité, la date de péremption et les conditions de conservation des plasmas de contrôle commerciaux recommandés par le fabricant.

Une fois reconstitués ou décongelés, les plasmas de contrôle ne doivent pas être recongelés, sauf sur avis contraire du fabricant⁵⁹.

13.2.4 Utilité des plasmas de contrôle

La fonction première des plasmas de contrôle consiste à surveiller quotidiennement, de façon continue et à plus ou moins long terme, les performances analytiques d'un appareil et des réactifs, le niveau de précision et la fiabilité des résultats⁷.

13.2.5 Niveaux des plasmas de contrôle

Le nombre de niveaux ou de concentration des plasmas de contrôle doit être suffisant pour vérifier la performance analytique du domaine de mesure de la technique⁵⁸.

Des plasmas de contrôle de niveaux normal et anormal doivent être utilisés pour chacune des analyses effectuées⁵⁸.

Trois niveaux de contrôles commerciaux sont couramment utilisés pour les tests de routine en hémostase.

Les plasmas de contrôle doivent être représentatifs de la clientèle desservie. Par exemple :

- pour les patients traités à l'héparine, un plasma de contrôle hépariné doit être inclus pour le TCA;
- pour les patients traités aux anticoagulants oraux, un plasma de contrôle représentatif de la zone thérapeutique de la warfarine doit être utilisé.

13.2.6 Fréquence du contrôle de la qualité

La fréquence du contrôle de la qualité doit être établie en fonction des conditions d'analyse du laboratoire.

Dans le cas des appareils automatisés, pour assurer la fiabilité des résultats d'analyse de routine, il convient d'effectuer de façon minimale un contrôle de la qualité⁶⁰ :

- à tous les quarts de travail;
- à tous les changements de réactifs;
- à tous les ajustements majeurs de l'appareil.

Pour les appareils semi-automatisés, pour les méthodes manuelles et les tests de spécialité :

- inclure un plasma de contrôle normal et anormal à chaque série de tests.

Note : Une série de tests se définit comme étant la période ou le nombre de mesures pendant lesquels le système analytique est stable⁵⁸.

13.3 Traitement statistique du contrôle de la qualité

13.3.1 Valeur cible et limites du plasma de contrôle

Chaque laboratoire doit établir la valeur cible et les limites de chaque niveau du plasma de contrôle. La valeur cible et les limites correspondent à la valeur moyenne et à plus ou moins 3 écarts-types d'une distribution comptant un minimum de 20 données pendant une période de 20 jours⁵⁸.

13.3.1.1 Validation de nouveaux lots de plasmas de contrôle

Une procédure doit être mise en œuvre pour évaluer un nouveau lot de plasmas de contrôle qui est comparé avec l'ancien lot pour établir la valeur cible et les valeurs limites du nouveau lot.

13.3.2 Évaluation et suivi des résultats des contrôles

Si les conditions techniques sont respectées et demeurent inchangées, les résultats des plasmas de contrôle doivent respecter les limites définies pour ces plasmas. Des règles de 1_{3s} (un résultat de plus ou moins trois écarts-types de la moyenne) ou de 2_{2s} (deux résultats consécutifs de plus ou moins deux écarts-types de la moyenne) peuvent être utilisées pour déterminer l'acceptabilité des contrôles. Si ces règles sont respectées, les résultats des analyses des patients seront acceptés et validés. D'autres règles de « Westgard » peuvent s'appliquer. Un résultat de plus ou moins deux écarts-types de la moyenne (1_{2s}) est généralement considéré comme un avertissement^{58,61}.

Si les résultats des plasmas de contrôle sont en dehors des plages acceptables, le laboratoire doit mettre en place une procédure qui définit les actions correctives à prendre afin de résoudre le problème avant de produire un résultat d'analyse pour un patient.

13.3.3 Reproductibilité

La reproductibilité est la mesure de l'imprécision; elle exprime le degré de variation (dispersion) des résultats lors d'analyses multiples d'un matériel de contrôle d'une même grandeur réalisées selon une méthode d'analyse.

La reproductibilité est exprimée par le coefficient de variation (CV) qui se calcule en divisant l'écart-type par la moyenne; il définit l'imprécision d'une méthode.

Le CV inter-essai (CV calculé sur une période de 20 à 30 jours) ne doit pas excéder les limites d'imprécision suggérées par le fabricant. De façon générale, le CV devrait être inférieur à 5 %⁶⁰.

13.3.4 Graphiques

Les appareils automatisés sont généralement munis d'un système intégré de traitement des valeurs de contrôle de la qualité qui permet de faire l'interprétation et le suivi du contrôle.

La personne responsable du contrôle de la qualité doit utiliser des graphiques de contrôle pour interpréter les résultats et exercer une surveillance étroite du contrôle de la qualité.

Les graphiques de Levey-Jennings et les règles multiples de Westgard sont les plus couramment utilisés dans les laboratoires médicaux.

13.4 Analyses en duplicata

Lorsque les échantillons d'hémostase sont analysés en duplicata, la moyenne des résultats obtenus est calculée⁵⁹. L'écart entre deux résultats quantitatifs ne doit pas excéder 10 %⁶².

La décision d'effectuer les analyses en duplicata revient à chaque laboratoire. Elle doit être prise en fonction de la méthode, du degré d'automatisation de l'appareil utilisé et de la précision des résultats obtenus. Cependant, les tests effectués en simple sont acceptables si les normes de qualité sont respectées et que l'analyse est effectuée par un analyseur automatisé⁵⁹.

Les études qui serviront à orienter la décision de ne plus effectuer d'analyses en duplicata devront être conservées.

13.5 Contrôle externe de la qualité

Le laboratoire d'hémostase doit participer à un programme d'évaluation externe de la qualité pour toutes les procédures analytiques qu'il effectue^{2,56}.

Lorsqu'il n'existe pas de programme d'évaluation externe de la qualité pour une ou plusieurs procédures analytiques, le laboratoire doit mettre en place une procédure d'évaluation de la conformité (exactitude)². Le laboratoire devrait, dans ce cas, participer à une comparaison inter-laboratoires afin d'évaluer la conformité de ses procédures analytiques^{2,56}.

Les résultats doivent être consignés et évalués périodiquement par le personnel désigné. Ces résultats seront transmis au personnel et, s'il y a lieu, des actions correctives seront mises en œuvre².

Les échantillons fournis dans le cadre de ces programmes doivent être analysés et traités de la même façon que les échantillons provenant de patients².

Le contrôle externe de la qualité et le système de comparaison inter-laboratoires sont des outils utiles pour la formation continue du personnel. Le personnel des différents quarts de travail devrait y participer.

14.0 Équipements

Les équipements et les instruments sont des composantes importantes du processus analytique et ils englobent, entre autres, les consommables, les matériaux de référence, les systèmes analytiques, les instruments, l'équipement à température contrôlée, l'équipement volumétrique, etc².

Le technologiste médical doit connaître le fonctionnement des appareils automatisés et demeurer vigilant quant à leur utilisation¹⁴.

14.1 Exigences générales

Le laboratoire doit mettre en place des mesures afin de vérifier si les équipements utilisés sont conformes à leurs spécifications, maintenus en bon état, utilisés de façon sécuritaire, respectueux de l'environnement et sont en quantité suffisante. La gestion de l'équipement comprend le processus de sélection, d'installation, d'entretien et de remise de l'équipement^{2,56}. Le laboratoire doit établir un protocole pour mettre en fonction un nouvel instrument⁶³. Celui-ci devrait inclure :

- l'étude comparative des nouveaux réactifs de routine (pour le TQ/RNI, évaluer au moins 40 patients traités aux anti-vitamines K avec une étendue des RNI entre 1,5 et 4,5);
- l'évaluation des différentes méthodes de détection pour le dépistage des troubles de saignement et de la thrombophilie pratiquées dans le laboratoire;
- l'établissement des intervalles de référence et de la zone thérapeutique pour l'héparine non fractionnée selon le biais significatif ainsi que la diffusion des changements auprès des différents professionnels de la santé (pour l'évaluation de la zone thérapeutique du traitement à l'héparine, évaluer au moins 20 patients recevant de l'héparine non fractionnée et se situant dans la zone thérapeutique);
- l'établissement de nouvelles courbes d'étalonnage, de la linéarité et des limites de détection;
- l'établissement des valeurs cibles et des plasmas de contrôle de la qualité;
- l'évaluation de la précision, de l'exactitude et de la contamination croisée « carryover » des réactifs et des échantillons;
- le raccordement de l'interface au système informatique en place;

- la formation du personnel;
- l'établissement des procédures d'entretien.

La durée de conservation des enregistrements de l'équipement doit être déterminée par le laboratoire et respecter les prescriptions juridiques et administratives⁶⁴.

Pour obtenir de plus amples renseignements, veuillez consulter le document de l'OPTMQ intitulé *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*¹.

14.2 Procédures d'utilisation et d'entretien

Une procédure d'utilisation et d'entretien doit être établie pour chaque équipement et elle doit contenir les indications suivantes² :

- l'identification unique de chaque équipement d'analyse et de son logiciel (s'il y a lieu);
- l'identification du fabricant, le nom de la personne à contacter et le numéro de téléphone du fournisseur;
- la date de mise en service;
- les vérifications de la conformité de l'équipement selon les spécifications exigées pour l'analyse lors de l'installation;
- le ou les principes;
- le matériel requis;
- les directives à jour concernant l'utilisation et le fonctionnement de l'équipement, dont le manuel du fabricant;
- le contrôle de la qualité et les enregistrements inhérents (résultats, interprétation, calcul, etc.);
- les directives d'entretien nécessaires au bon fonctionnement et les enregistrements inhérents;
- le guide de dépannage.

Pour de plus amples renseignements, veuillez consulter le document de l'OPTMQ intitulé *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*¹.

14.2.1 Programme d'entretien

Le laboratoire doit mettre en œuvre un programme d'entretien pour ses équipements².

Le calendrier d'entretien doit respecter au moins les recommandations du fabricant ou les autres références pertinentes².

14.2.1.1 Enregistrer, dater et parapher

Le technologiste médical consigne toutes les interventions liées à l'entretien et à la réparation des équipements qu'il date et parapher¹⁴.

Les enregistrements relatifs à l'entretien et à la réparation des équipements devraient être conservés pour la vie utile de l'équipement plus trois ans⁶⁴.

14.2.2 Procédures en cas de panne

Des procédures écrites devraient établir les mesures à prendre en cas de défektivité mineure ou majeure de l'équipement².

Pour obtenir de plus amples renseignements, veuillez consulter le document de l'OPTMQ intitulé *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*¹.

14.3 Contrôle de la qualité des appareils automatisés et semi-automatisés

L'application du contrôle de la qualité des appareils automatisés en hémostase est propre à cette discipline, compte tenu de la nature enzymatique complexe du processus de coagulation.

Les appareils d'hémostase combinent en général l'utilisation de mesures chronométriques liées à la détection du caillot, de mesures chromogéniques liées à l'évaluation photométrique de l'activité des médiateurs de la coagulation ainsi que des mesures immunoturbidimétriques¹². Ils sont généralement munis d'un microprocesseur et d'un système informatique intégré.

Le choix des paramètres du contrôle de la qualité de ces appareils dépend de la complexité de l'appareil, de la nature des analyses de coagulation effectuées et des recommandations du fabricant. Plusieurs éléments peuvent influencer sur les résultats et les altérer. Ils doivent, à tout le moins, être vérifiés dans le cadre du programme de surveillance de la qualité. Parmi ces éléments, notons⁷ :

- la vérification journalière des éléments à température contrôlée intégrés à l'appareil (par exemple, le compartiment réfrigéré des réactifs et des échantillons) et l'enregistrement de ces données lorsqu'elles ne sont pas prises en charge par l'appareil;

Note : Certains appareils sont munis d'un système interne de vérification des éléments à température contrôlée. Les recommandations du fabricant doivent être respectées.

- l'assurance que le volume de l'échantillon ajouté est constant et adéquat;
- l'assurance que le volume des réactifs ajoutés est constant et adéquat;
- la vérification de l'étalonnage;

Le suivi rigoureux des recommandations du fabricant quant à l'utilisation, au contrôle et à l'entretien de l'appareil est essentiel pour assurer le contrôle de la qualité.

La connaissance approfondie du mode opératoire de l'appareil et de ses composantes est également un élément essentiel à l'exactitude des résultats. La vigilance, l'expertise et le jugement du technologiste médical sont donc à la base de toute approche suivie pour le contrôle de la qualité des analyseurs en hémostase.

14.3.1 Procédures de contrôle de la qualité

Le laboratoire d'hémostase doit :

- mettre en place une procédure écrite de contrôle de la qualité de chaque appareil qui comprend, au moins, les éléments décrits au point 14.3;
- adopter une procédure d'étalonnage reconnue;
- intégrer une méthode de surveillance pour déceler les erreurs systématiques et aléatoires de chaque série d'analyses (ou après un nombre d'échantillons déterminé par le laboratoire) ainsi qu'un suivi journalier, hebdomadaire et mensuel des résultats de contrôle de la qualité;
- consigner par écrit ou mentionner une procédure de résolution de problème en cas de non-conformité du contrôle de la qualité;
- respecter les règles et procédures définies dans les politiques générales de contrôle de la qualité. Veuillez consulter le document de l'OPTMQ intitulé *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*¹.

14.4 Exigences propres à certains équipements

Les points qui suivent décrivent les exigences propres à certains équipements qui font partie directement ou indirectement du processus analytique d'un laboratoire d'hémostase.

14.4.1 Équipements à température contrôlée

Les équipements à température contrôlée comprennent, entre autres, les centrifugeuses, les réfrigérateurs, les congélateurs, les incubateurs et les bains-marie.

Les équipements dont le contrôle de la température a une incidence sur l'analyse ou sur la conservation du matériel de laboratoire doivent être munis d'un thermomètre manuel ou électronique. De plus, l'exactitude des thermomètres doit être vérifiée annuellement à l'aide d'un thermomètre de référence⁶⁵.

Le technologiste médical vérifie, enregistre, date et paraphe quotidiennement la température de chaque appareil.

Les données doivent être conservées par le laboratoire pendant au moins trois ans⁶⁴.

Voir l'annexe 5 pour le calendrier d'entretien préventif et de contrôle de la qualité des équipements.

14.4.1.1 Limites de tolérance

La limite supérieure et la limite inférieure de la marge de température permise de chaque appareil et équipement doivent être déterminées. Ces limites sont établies en fonction des exigences de l'analyse ou du produit.

Les limites de tolérance proposées pour l'équipement à température contrôlée sont les suivantes⁶⁵ :

- Bain-marie : ± 1 °C
- Réfrigérateur et centrifugeuse : ± 3 °C
- Congélateur à -20 °C : ± 5 °C
- Congélateur à -80 °C : ± 10 °C

14.4.2 Équipements volumétriques

Les équipements volumétriques comprennent, entre autres : les pipettes, les diluteurs et les distributeurs.

L'exactitude et la précision de ces équipements doivent être vérifiées avant la première utilisation et après chaque activité d'entretien préventif ou correctif selon les intervalles d'usage ou, à tout le moins, une fois par année⁶⁵.

14.4.2.1 Pipettes automatiques et semi-automatiques

Le technologiste médical doit vérifier le calibrage de toute nouvelle pipette automatique ou semi-automatique. Il doit établir une procédure de vérification du calibrage qui comprend un calendrier d'entretien préventif. Il doit dater et parapher toutes ses interventions.

Voir l'annexe 5 portant sur le calendrier d'entretien préventif et de contrôle de la qualité des équipements.

14.4.3 Centrifugeuses

La vitesse de centrifugation doit être vérifiée à intervalles réguliers à l'aide d'un tachymètre. Le laboratoire doit établir une procédure de vérification de la vitesse de centrifugation qui comprend un calendrier d'entretien. Toutes les interventions doivent être datées et paraphées.

La fiabilité de la procédure de centrifugation doit être validée en fonction de l'obtention d'un plasma pauvre en plaquettes (pour obtenir un décompte plaquettaire inférieur à $10 \times 10^9/L$)²⁷. Cette procédure devrait être vérifiée par la suite tous les six mois ou après une modification apportée à la centrifugeuse²⁷.

Voir l'annexe 6 portant sur la détermination de la vitesse de rotation.

14.4.4 Exigences particulières pour les méthodes ELISA en microplaques

En ce qui a trait aux méthodes ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay) en microplaques, la procédure opératoire normalisée doit respecter scrupuleusement les recommandations du fabricant et prendre en considération, en plus des exigences décrites au point 14.3.1, les éléments suivants⁶² :

- le respect des conditions environnementales (par exemple, l'éclairage contrôlé) exigées par le fabricant;
- l'étape de lavage doit être normalisée;
- le respect rigoureux de la durée des intervalles de distribution des échantillons et des réactifs;
- le respect rigoureux des périodes d'incubation;
- le lecteur de plaque doit être calibré pour assurer la lecture des densités optiques à la longueur d'onde appropriée;
- les analyses devraient être effectuées en duplicata et la moyenne des deux résultats calculée. L'écart entre les deux résultats ne doit pas excéder 10 %. Dans le cas des appareils automatisés, les analyses peuvent être effectuées en simple⁶².

Des plasmas de contrôle normal et anormal doivent être analysés à chaque série d'analyses⁶².

15.0 Réactifs

15.1 Gestion des réactifs en hémostase

Un répertoire des réactifs utilisés doit être disponible et comprendre les renseignements suivants¹ :

- la description des produits qui doit répondre aux exigences SIMDUT;
- les directives d'entreposage du fabricant;
- la préparation, la vérification et les conditions de conservation des réactifs;
- l'enregistrement des dates de péremption et du numéro de lot des solutions commerciales;
- les modalités de préparation des réactifs en laboratoire;
- le mode d'identification du contenant : date de préparation, date de péremption, concentration et initiales du technologiste médical.

15.2 Préparation et conservation

15.2.1 Réactifs préparés au laboratoire

Les modalités de préparation doivent être rédigées et respectées. Les dates de préparation et de péremption, la concentration ainsi que les initiales du technologiste médical doivent être identifiées correctement et indiquées sur le contenant.

15.2.2 Réactifs commerciaux

Les dates d'arrivée, de péremption et d'ouverture ainsi que le numéro de lot doivent être enregistrés. Les directives d'entreposage du fabricant doivent être respectées.

15.2.3 Eau distillée

L'eau purifiée de type 1 doit être utilisée, sinon suivre les directives du fabricant. Si le laboratoire utilise un autre type d'eau, son acceptabilité devra être documentée⁶⁰. Pour de plus amples renseignements, veuillez consulter le document suivant :

CLSI, C3: *Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory; Approved Guideline*⁶⁷.

15.3 Choix des réactifs

En tenant compte de la méthodologie utilisée, choisir des réactifs qui assurent une sensibilité, une exactitude et une précision optimales. Compte tenu de la grande variété de thromboplastines et de céphalines (thromboplastine partielle) offertes, chaque laboratoire doit s'assurer de la compatibilité des réactifs avec la méthode et l'instrumentation utilisées. Il doit aussi vérifier la sensibilité du réactif choisi pour les besoins du dépistage des déficiences en facteurs et des anticoagulants de type lupique ainsi que du suivi de l'anticoagulothérapie.

15.3.1 Sensibilité aux déficits en facteurs de coagulation

Préparer différentes concentrations de facteurs de coagulation à l'aide de plasmas déficients commerciaux et d'un pool de plasmas normaux et mesurer le TQ ou le TCA.

Pour les facteurs de la voie extrinsèque (facteurs II, V, VII et X), mesurer le TQ et pour les facteurs de la voie intrinsèque (facteurs VIII, IX, XI et XII), mesurer le TCA. Établir la concentration de chaque facteur qui donne une valeur anormale de TQ ou de TCA⁷.

La sensibilité des réactifs doit permettre de déceler les déficits en facteurs de coagulation qui sont cliniquement significatifs.

15.3.2 Réactif du temps de Quick

La sensibilité de chaque lot de thromboplastine en ce qui a trait au TQ est évaluée par le fabricant et exprimée par l'indice de sensibilité internationale (ISI).

Il est recommandé de valider cette valeur ISI dans chacun des laboratoires (pour chacune des combinaisons d'appareil et de lot de thromboplastine) à l'aide de plasmas certifiés¹⁰.

Les plasmas certifiés servent à calculer une valeur ISI locale ainsi que la valeur normale moyenne ou à établir une courbe d'étalonnage qui servira à exprimer le résultat en RNI (INR).

Lors d'un changement de lot, il faut confirmer que l'étalonnage donne des résultats de RNI chez les patients comparables à ceux observés avec l'ancien lot⁶⁸.

15.3.3 Réactif du temps de céphaline activé

15.3.3.1 Sensibilité à l'héparine et zone thérapeutique

Chaque laboratoire doit déterminer la zone thérapeutique du TCA pour la surveillance des traitements à l'héparine en fonction de la sensibilité du réactif qu'il utilise, de l'héparine administrée aux patients et de l'appareil utilisé pour l'analyse^{7,12,60}.

Il est recommandé d'établir la courbe de sensibilité à l'héparine en effectuant ou en faisant effectuer des dosages d'activité anti-Xa dans le plasma des patients recevant de l'héparine non fractionnée. Les TCA des plasmas utilisés doivent être représentatifs de l'étendue de la zone thérapeutique recommandée.

Les valeurs de TCA qui correspondent à des concentrations d'héparine de 0,30 et 0,70 UI/ml déterminent la zone thérapeutique de l'héparine^{7,63,69,70}.

Une fois la zone thérapeutique établie, il faut vérifier qu'elle demeure la même lors d'un changement d'appareil, de réactif ou de lot de réactifs ou lors d'une autre condition préanalytique et analytique.

15.3.3.2 Changement de lot

La sensibilité aux déficits en facteurs ou à l'héparine ainsi que les intervalles de référence doivent être vérifiés lors d'un changement de lot.

Pour procéder à cette vérification, comparer les TCA effectués sur un total d'au moins 40 plasmas de patients, incluant des patients normaux, traités à l'héparine et ayant des déficits en facteurs, et ce, avec l'ancien et le nouveau lot.

Calculer le pourcentage de différence. S'il est égal ou inférieur au biais dérivé de la variation biologique acceptable pour l'analyse^{68,71} (voir le tableau de l'annexe 3) :

- il ne sera pas nécessaire d'établir un nouvel intervalle de référence pour cette analyse;
- la sensibilité du réactif aux déficits en facteurs de coagulation sera semblable;
- la zone thérapeutique pour le suivi du traitement à l'héparine restera la même.

Si les résultats sont à l'extérieur du biais acceptable^{68,71} :

- établir un nouvel intervalle de référence et une nouvelle zone thérapeutique pour le suivi de l'héparinothérapie⁷².

ou

- utiliser un protocole d'étude comparative qui mesure le degré de corrélation entre les deux lots de réactifs et qui calcule la régression linéaire⁶⁸. Cette étude statistique permet d'obtenir un facteur de correction qui s'appliquera au nouveau lot. Ce facteur de correction permet de conserver les intervalles de référence et la zone thérapeutique déjà établis.

16.0 Étalonnage pour dosage de facteurs et d'inhibiteurs de la coagulation

En ce qui a trait aux analyses quantitatives, il est nécessaire d'effectuer un étalonnage. Ce dernier peut être réalisé en utilisant :

- un pool de plasmas normaux congelé dont les échantillons ont été prélevés dans les mêmes conditions que les plasmas des patients ;
- un plasma certifié d'étalonnage d'origine commerciale.

16.1 Pool de plasmas normaux congelé

16.1.1 Composition

Le pool est un mélange à parties égales de plasmas provenant d'au moins 20 individus normaux, apparemment sains, dont le TQ et le TCA sont normaux^{62,73}.

Les individus, habituellement membres du personnel de l'établissement, sont des femmes (qui ne sont pas enceintes) et des hommes âgés de 20 à 55 ans apparemment en bonne santé et ne prenant aucun médicament, même sans ordonnance.

Ce pool représente la valeur moyenne de la population et contient par convention 1 unité par ml ou 100 % de tous les facteurs de l'hémostase.

16.1.2 Préparation

Les échantillons sont prélevés et traités dans les mêmes conditions préanalytiques que celles des plasmas de patients selon l'utilisation qui sera faite du pool. Après les avoir testés séparément, les plasmas normaux sont mélangés et répartis dans des tubes en polypropylène. La centrifugation doit être conforme à celle établie par le laboratoire pour l'étude de l'anticoagulant de type lupique si le pool est utilisé pour effectuer cette analyse. Voir le point 18.4.

Les tubes sont ensuite congelés rapidement, puis conservés jusqu'à un an à -80 °C.

Tout nouveau pool doit être comparé avec le précédent, et ce, pour toutes les analyses où il sert d'étalon. Il faut s'assurer que le nouveau pool contient 1 unité par ml ou 100 % de tous les facteurs. Pour certaines analyses, il est recommandé de vérifier le pool normal en utilisant un plasma de référence international. Voir le point 18.3.3.

16.1.3 Utilité

En plus de servir de plasma d'étalonnage à l'aide duquel on peut doser les facteurs de l'hémostase, le pool de plasmas normaux peut être utilisé comme :

- plasma normal lors de la recherche d'inhibiteurs dans les tests de coagulation;
- plasma normal pour vérifier la sensibilité à l'héparine dans la courbe *in vitro*.

L'avantage du pool de plasmas normaux réside dans le fait que l'étalon est préparé dans les mêmes conditions que les plasmas des patients⁷³. De plus, les échantillons des individus normaux qui composent le pool sont plus représentatifs que ceux des individus qui entrent dans la composition d'un plasma certifié commercial.

16.2 Plasmas commerciaux d'étalonnage

Des plasmas commerciaux d'étalonnage, lyophilisés ou congelés, sont offerts par différentes compagnies avec des valeurs connues pour les facteurs de coagulation.

Lorsque l'on utilise ces plasmas, il faudrait vérifier l'exactitude des valeurs proposées par la compagnie, soit en les comparant à un pool de plasmas normaux, soit en les comparant à d'autres références commerciales ou internationales.

17.0 Intervalles de référence

17.1 Valeurs de référence

Les valeurs de référence doivent être obtenues localement dans chaque laboratoire. Les taux plasmatiques des facteurs et des inhibiteurs de l'hémostase peuvent varier selon l'âge et le sexe. La population des individus, dont les valeurs servent à établir les intervalles de référence, doit être représentative de la population à analyser. Dans certains cas, des valeurs de référence propres à une population pédiatrique, par exemple, doivent être obtenues.

17.1.1 Méthode

Suivre la méthode indiquée ci-dessous⁷².

- Sélectionner des donneurs sains selon des critères définis : les individus ne doivent pas être des patients hospitalisés, ni des patients externes (par exemple, le personnel de l'établissement);
- Prélever, traiter et analyser les échantillons dans les mêmes conditions que celles existant pour les patients à analyser;
- Effectuer les prélèvements des donneurs et les analyser pendant une période d'au moins cinq jours, de façon à refléter les variations inter-essais du laboratoire.

17.2 Intervalle de référence

Un intervalle de référence est l'intervalle entre deux valeurs, soit entre une limite inférieure et une limite supérieure de référence, qui représente le pourcentage défini des valeurs d'une population donnée (habituellement 95 % de la population). Les limites inférieure et supérieure déterminent les 2,5^e et 97,5^e percentiles de la distribution des valeurs de référence. Dans certains cas, seule la limite supérieure de référence est cliniquement importante⁷².

Les éléments les plus importants pour déterminer un intervalle de référence fiable sont⁷² :

- une sélection appropriée des individus de référence;
- l'analyse d'un nombre adéquat d'individus de référence;
- l'élimination de sources d'erreurs préanalytiques et analytiques.

17.2.1 Méthodes de calcul

Il existe deux méthodes statistiques pour déterminer un intervalle de référence : non paramétrique et paramétrique^{72,90}.

17.2.1.1 La méthode non paramétrique

La méthode non paramétrique est la méthode recommandée, car elle est plus simple et plus fiable. Elle n'emploie que les rangs des valeurs de référence disposées dans l'ordre croissant. Elle ne requiert aucune hypothèse sur la forme de distribution des valeurs de référence. L'intervalle de référence correspond à 95 % de la population, les limites étant de 2,5 et de 97,5 %.

17.2.1.2 La méthode paramétrique

La méthode paramétrique présume que la distribution des valeurs de référence est normale ou Gaussienne et exige une transformation de ces valeurs lorsque la distribution n'est pas normale. L'intervalle de référence correspond aux limites obtenues en calculant plus ou moins deux écarts-types de la moyenne des valeurs de référence.

17.2.2 Nombre minimal des valeurs de référence pour établir un intervalle de référence

17.2.2.1 Intervalle de référence fourni par un autre laboratoire ou par un fabricant

Dans le cas d'un système analytique identique (méthode et instrument) et présumant que l'étude originale des valeurs de référence fut réalisée selon les normes :

Le laboratoire doit calculer son propre intervalle de référence en analysant au moins 20 individus de référence dans sa population et en le comparant à l'intervalle proposé par l'autre laboratoire ou par le fabricant. L'intervalle proposé est validé si pas plus de deux valeurs obtenues à partir des 20 sujets testés n'excèdent cet intervalle proposé.

Afin d'obtenir les détails des méthodes statistiques appropriées pour la détermination des intervalles de référence, veuillez consulter le document suivant du *Clinical and Laboratory Standards Institute : How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline, Second Edition, Pennsylvania, C28*⁷².

17.2.2.2 Changement de conditions préanalytiques ou analytiques

Le laboratoire doit utiliser une méthode d'analyse comparative et d'estimation du biais sur un minimum de 40 échantillons de patients pendant une période d'au moins cinq jours pour valider l'intervalle de référence déjà établi⁶⁸.

La fiabilité et l'efficacité de la méthode augmentent en analysant plus d'échantillons pendant une plus longue période.

Voir le point 15.3.3.2

17.2.2.3 Nouvelle analyse ou nouvelle méthode d'analyse

Bien qu'un minimum de 40 valeurs puisse permettre d'estimer les 2,5^e et 97,5^e percentiles de la population, un minimum de 120 valeurs de référence est recommandé pour obtenir une valeur suffisamment précise du 2,5^e et du 97,5^e percentiles⁷⁴.

18.0 Autres procédures analytiques en hémostase

18.1 Fibrinogène

La méthode de Clauss portant sur le dosage fonctionnel du fibrinogène plasmatique est la méthode la plus reconnue en raison de son exactitude et de sa précision. Étant donné que le plasma testé est dilué, cette méthode est moins affectée par plusieurs facteurs d'interférences, notamment la présence d'héparine à des doses thérapeutiques, les produits de dégradation du fibrinogène et de la fibrine, ainsi que certaines paraprotéines⁷⁵.

18.2 D-Dimères

Selon les recommandations, le test de D-Dimères utilisé pour l'exclusion de la maladie thromboembolique doit répondre aux quatre critères suivants⁷⁶ :

- une méthode quantitative rapide (les méthodes de dosage recommandées sont l'ELISA, l'ELFA et l'immunoturbidimétrie)¹²;
- une méthode sensible et cliniquement validée;
- une méthode disponible en tout temps;
- un résultat obtenu idéalement en moins de 15 minutes.

18.3 Facteur von Willebrand (FvW)

18.3.1 Température de conservation

Pour l'analyse du FvW, l'échantillon doit être conservé à une température se situant entre 18 et 25 °C, et ce, du prélèvement à la congélation. Après la décongélation, l'échantillon doit être conservé à une température se situant entre 18 et 25 °C jusqu'à l'exécution de l'analyse⁴⁵.

La conservation à une température se situant entre 18 et 25 °C permet d'éviter une cryoprécipitation du FvW qui provoquerait un abaissement *in vitro* de ce facteur^{27,45}.

18.3.2 Méthodes d'analyse

Différentes méthodes d'analyse du FvW existent, telles que⁶² :

- la mesure de la liaison du FvW aux plaquettes par le dosage du cofacteur de la ristocétine;
- la mesure de la liaison du FvW au collagène;
- la mesure de la liaison du FvW au facteur VIII;
- la détermination de l'antigène du FvW par la méthode ELISA ou par une méthode immunoturbidimétrique;
- l'agglutination des plaquettes par la ristocétine (RIPA : Ristocetin Induced Platelet Agglutination) qui permet d'identifier le type 2B de la maladie von Willebrand;
- l'analyse des multimères du FvW par électrophorèse en gel qui permet d'identifier les différents types et sous-types de la maladie.

18.3.3 Étalonage

Le plasma de référence doit être préparé à partir d'au moins 20 donneurs apparemment sains. La valeur du plasma de référence devrait avoir $1,0 \pm 0,2$ unités/ml. Le plasma devrait aussi être calibré par rapport à un standard international (Organisation mondiale de la santé)⁶². Le résultat s'exprime en UI/ml.

Pour l'étalonnage voir le point 16.0.

Bien que le CLSI recommande de déterminer des intervalles de référence selon le groupe sanguin ABO⁶², des études cliniques ont démontré que l'utilisation de ces intervalles ne serait pas essentielle au diagnostic. En effet, les manifestations cliniques étaient semblables chez les individus ayant des taux comparables de FvW, indépendamment de leur groupe ABO⁷⁷.

18.3.4 Contrôle de la qualité

- Un contrôle normal et un contrôle anormal doivent être analysés à chaque série d'analyses⁶².
- Le coefficient de variation (CV) ou la mesure de l'imprécision, pour le contrôle normal de l'antigène du FvW, doit être $\leq 10\%$ et $\leq 15\%$ pour le contrôle normal du cofacteur de la ristocétine⁶².
- La reproductibilité des duplicatas de l'antigène du FvW doit être $\leq 10\%$ et $\leq 15\%$ pour les duplicatas du cofacteur de la ristocétine⁶².

Note : Le document du CLSI, H51 intitulé *Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor Activity*⁶² est une référence reconnue qui contient de l'information détaillée et approfondie au sujet de l'analyse du FvW.

18.3.5 Résultats

Les résultats du dosage du FvW peuvent être exprimés de manière à différencier les types de la maladie.

Les résultats peuvent être exprimés par⁷⁸ :

- les taux d'activité et d'antigène du FvW exprimés en un/ml ou en UI/ml;
- le ratio FvW activité/FvW antigène. Des valeurs de ratio de 0,72 à 1,26 ont été trouvées chez 681 sujets normaux. Un ratio $< 0,70$ pourrait indiquer un défaut qualitatif du FvW lorsque le taux de base est $> 0,20$ UI/ml.

18.4 Anticorps antiphospholipides

Pour assurer une sensibilité optimale dans les différents tests de coagulation utilisés pour le dépistage des anticorps antiphospholipides ou d'un anticoagulant de type lupique, il est essentiel d'obtenir un plasma pauvre en plaquettes avec un décompte plaquettaire inférieur à $10 \times 10^9/L$ ^{27,79}.

18.4.1 Conditions préanalytiques

Afin d'obtenir un plasma pauvre en plaquettes dans ses échantillons, chaque laboratoire doit établir les conditions de centrifugation, notamment la durée, la vitesse et la température se situant entre 18 et 25 °C^{27,79,80}. Voir le point 12.2.2.2 au sujet de l'obtention d'un plasma pauvre en plaquettes.

Le laboratoire doit utiliser la même méthode de préparation du plasma pauvre en plaquettes pour les patients faisant l'objet d'une analyse et les sujets normaux qui servent à définir le seuil de décision d'un test positif.

Certains auteurs font une mise en garde contre l'utilisation d'un plasma filtré, car la filtration pourrait nuire à l'évaluation du facteur von Willebrand⁷⁹. L'ultracentrifugation doit être utilisée avec précaution en raison des fragments plaquettaires qu'elle peut générer⁷⁹.

18.4.2 Conditions analytiques

Dans le contexte du syndrome des antiphospholipides, les analyses recommandées pour déceler des anticorps antiphospholipides sont les suivantes⁸¹:

- la recherche d'anticoagulant de type lupique avec au moins deux tests de coagulation dépendants des phospholipides et dont les principes d'analyse sont différents (par exemple, le TCA, le temps de Stypven dilué (dRVVT) et le TQ);
- le dosage des anticorps anticardioline de type IgG et IgM par une méthode ELISA normalisée;
- le dosage des anticorps anti-β2 Glycoprotéine 1 de type IgG et IgM par une méthode ELISA normalisée.

18.4.2.1 Recherche d'anticoagulant de type lupique

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées et parfois plusieurs réactifs peuvent être employés dans le cadre d'une méthode donnée⁸¹. Bien qu'il n'existe aucune recommandation sur les tests les plus appropriés dans le cadre de la recherche d'anticoagulant de type lupique, le laboratoire devrait utiliser une méthode normalisée afin de minimiser les variations attribuables à la concentration en phospholipides.

18.4.2.2 Conditions d'analyse nécessaires pour déceler un anticoagulant de type lupique

Pour confirmer la présence d'un anticoagulant de type lupique, il est recommandé d'obtenir les conditions d'analyse présentées ci-dessous^{79,81}.

- Allongement d'au moins un test qui dépend des phospholipides.
- Mise en évidence de l'activité d'inhibition par un test sur un mélange 1:1 avec un pool de plasmas normaux. Il est essentiel que ce pool de plasmas ne contienne pas de plaquettes ni de fragments plaquettaires.

Notes : Un pool de plasmas normaux maison soigneusement préparé ou un pool de plasmas commercial congelé est préférable aux plasmas lyophilisés commerciaux qui contiennent des additifs. Certains anticoagulants n'exercent pas d'action inhibitrice sur un mélange 1:1.

- Test de confirmation avec l'utilisation ou l'ajout d'un réactif riche en phospholipides.
- Dosage des facteurs si un déficit ou un inhibiteur spécifique est soupçonné.

18.4.2.3 Expression des résultats

Les résultats peuvent être exprimés de différentes façons⁸¹ :

- Ratio Test sensible/Test non sensible;
- Ratio Test de dépistage/Test de confirmation.

Un ratio normalisé est recommandé pour réduire les variations inter-essais⁸¹. Il faut déterminer quel facteur de correction rectifiera le ratio d'un pool normal à 1,0, puis appliquer ce facteur au ratio des patients testés dans la même série.

18.4.3 Seuil de décision de positivité

Afin d'obtenir une meilleure sensibilité lors de la recherche d'anticorps antiphospholipides, chaque laboratoire doit établir son propre seuil de décision de positivité.

18.4.3.1 Méthodes de coagulation

Un test est positif lorsque le résultat est plus grand que la moyenne géométrique plus deux écarts-types des valeurs de référence⁸¹.

18.4.3.2 Méthodes ELISA

Pour le dosage des anticorps anticardiolipine, un résultat est positif lorsqu'il est plus grand que 40 unités GPL ou MPL ou lorsqu'il est plus grand que le 99^e percentile des valeurs de référence. Pour le dosage des anticorps anti- β 2 Glycoprotéine 1, un résultat est positif lorsqu'il est plus grand que le 99^e percentile des valeurs de référence⁸¹.

18.5 Analyses de la fonction plaquettaire

Le laboratoire doit dresser la liste des médicaments qui peuvent interférer dans les analyses de fonction plaquettaire et s'assurer d'indiquer dans le rapport d'examen qu'un résultat allongé peut être attribuable à ce facteur (par exemple, certains agents antiplaquettaires, comme l'acide acétylsalicylique, les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les antibiotiques, tels que la pénicilline et la céphalosporine, etc.).

18.5.1 Conditions préanalytiques

18.5.1.1 La prise de médicaments

La prise de médicaments pouvant interférer dans les analyses de la fonction plaquettaire doit être documentée.

- Pour éviter toute interférence, le prélèvement doit être effectué au moins 10 jours après la prise d'agents antiplaquettaires, tels que l'acide acétylsalicylique, d'anti-inflammatoires non stéroïdiens ou d'antibiotiques tels que la pénicilline et la céphalosporine, etc.
- Dans le cas d'une analyse réalisée chez un patient ayant pris de tels médicaments, le rapport d'analyse doit en faire mention afin que le médecin puisse interpréter les résultats à la lumière de l'interférence médicamenteuse.

18.5.1.2 Conditions optimales de prélèvement

Une attention particulière doit être apportée au prélèvement afin d'éviter l'activation des plaquettes.

- Le patient devrait être au repos au moins 30 minutes avant le prélèvement.
- Le prélèvement doit être effectué sans traumatisme (garrot moins d'une minute, ponction franche, etc.), voir le point 10.5.
- L'échantillon doit être transporté en position verticale, sans vibration ni agitation. Éviter le transport par système pneumatique⁸³.
- Tout échantillon hémolysé doit être rejeté.

18.5.2 Temps de saignement

Le temps de saignement est sensible à plusieurs variables qui peuvent entraîner des résultats faussement augmentés ou faussement abaissés⁸². Pour améliorer l'exactitude et la reproductibilité de cette analyse, la procédure opératoire normalisée doit définir les variables énumérées ci-dessous.

- direction de l'incision;
- nombre d'incisions;
- profondeur et longueur de l'incision;

Cette variable dépend en partie de la pression exercée par l'opérateur et de la texture de la peau du patient. L'expérience de l'opérateur est donc essentielle à la qualité du résultat.

- température ambiante;

- pression sanguine veineuse;
La pression sanguine veineuse doit être maintenue à 40 mm Hg pour les adultes et à 20 mm Hg pour les enfants (poids inférieur à 40 kg ou personne âgée de moins de 16 ans⁸²).
 - âge du patient;
Chez les personnes âgées et celles souffrant d'atrophie de la peau, la pertinence d'effectuer cet examen devrait être évaluée compte tenu de la difficulté d'interpréter le résultat.
 - interférence médicamenteuse;
 - influence de l'hématocrite du patient;
Le temps de saignement peut être allongé chez les patients anémiques dont l'hématocrite est inférieur à 0,30.
 - numération plaquettaire;
Le temps de saignement peut être allongé chez les patients dont la numération plaquettaire est inférieure à $100 \times 10^9/L$.
- Cet examen devrait être exécuté seulement par du personnel formé qui possède une expérience adéquate en la matière⁸².

18.5.2.1 Intervalle de référence du temps de saignement

Chaque laboratoire doit établir son propre intervalle de référence⁸². Voir le point 17.0.

18.5.3 Analyse automatisée de la fonction plaquettaire

De plus en plus, le test de temps de saignement est remplacé par un test automatisé pour l'analyse de la fonction plaquettaire. Il s'agit d'un système qui simule *in vitro* les processus d'adhésion et d'agrégation plaquettaire à la suite d'une lésion vasculaire, alors que les plaquettes sont exposées à des forces de cisaillement élevées. Le système est composé d'un appareil et d'une cartouche à usage unique⁸³.

18.5.3.1 Conditions préanalytiques

L'analyse est effectuée sur un échantillon de sang total conservé à une température se situant entre 18 et 25 °C pendant une durée maximale de 4 heures.

Il est important d'éviter l'activation plaquettaire lors du prélèvement, de la manipulation et du traitement de l'échantillon. Par conséquent, les précautions suivantes doivent être prises⁸³ :

- prévenir le traumatisme lors de la ponction;
- inverser sans brusquerie le tube immédiatement après le prélèvement;
- assurer le transport de l'échantillon en position verticale;

- vérifier la présence de micro caillots et rejeter tout échantillon coagulé;
- rejeter un échantillon dont le volume de remplissage est de moins de 90 % de la capacité de remplissage.

18.5.3.2 Conditions analytiques

- Il faut suivre les recommandations du fabricant pour l'exécution de l'analyse.
- Il faut connaître les limites du test : il n'est pas recommandé d'effectuer l'analyse chez des patients ayant $\leq 50 \times 10^9/L$ de plaquettes ou dont l'hématocrite est $\leq 0,20 L/L$.
- Il est recommandé d'utiliser un algorithme pour le choix du réactif selon la prise ou non d'agents antiplaquettaires.

18.5.3.3 Contrôle de la qualité

Un sujet normal doit servir de contrôle de la qualité afin d'évaluer les différents lots de cartouches⁸⁵.

Le laboratoire doit vérifier le système électronique chaque jour ou selon les recommandations du fabricant⁸⁸.

18.5.3.4 Résultats

La valeur mesurée désigne le temps d'occlusion et le résultat est exprimé en secondes.

La prise de médicaments pouvant interférer doit être indiquée dans le rapport d'analyse.

18.5.3.5 Intervalles de référence

Le laboratoire doit établir ses propres intervalles de référence selon le type de cartouches en utilisant 20 sujets normaux et employer la méthode statistique la plus appropriée pour mettre en évidence les troubles de la fonction plaquettaire⁷².

18.5.4 Test d'agrégation plaquettaire

18.5.4.1 Prélèvement et traitement de l'échantillon

Le prélèvement peut être effectué en tube sous vide, muni d'une gaine intérieure de polypropylène et contenant du citrate de sodium de 3,2 %. On peut aussi utiliser une seringue de polypropylène : transférer le sang dans des tubes de polypropylène en laissant couler le sang le long de la paroi.

Les exigences sont établies afin de maintenir l'intégrité des plaquettes du moment du prélèvement jusqu'à la fin de l'analyse.

Les éléments suivants doivent être respectés :

- le délai d'exécution de l'analyse doit se situer entre 30 minutes et 4 heures après le prélèvement^{7,83};
- l'échantillon doit être conservé à une température se situant entre 18 et 25 °C jusqu'à l'exécution de l'analyse⁷;
- l'agrégation plaquettaire mesurée par la méthode optique ne devrait pas être effectuée sur des échantillons lipémiques;
- aucun test d'agrégation plaquettaire ne doit être effectué sur des échantillons hémolysés.

18.5.4.2 Principaux agonistes et leurs concentrations

Chaque laboratoire devra établir les concentrations des agonistes en fonction des équipements utilisés afin d'optimiser l'évaluation du test d'agrégation. Les agonistes les plus couramment utilisés ainsi que les concentrations finales sont :

- l'ADP : 0,5 – 10 µM
- le collagène : 1 à 5 mg/ml
- l'acide arachidonique 0,5 à 1,6 mM
- l'épinéphrine 0,5 à 10 µM

Pour le RIPA (*Ristocetin induced platelet aggregation*) :

- ristocétine à faible dose ≤ 0,5 mg/ml
- ristocétine à dose élevée 0,8 à 1,5 mg/ml

Tous les agonistes doivent être ajoutés directement dans le plasma riche en plaquettes et non le long de la paroi de la cuvette de réaction.

18.5.4.3 Préparation du plasma riche en plaquettes (PRP)

Les conditions de centrifugation doivent être rajustées pour obtenir un décompte de plaquettes maximal sans contamination de globules rouges. Ces conditions peuvent être obtenues en centrifugeant à 170 g pendant 15 minutes⁸³. Les aliquotes de PRP doivent être bouchées afin de maintenir le pH.

Un ajustement constant de la concentration du PRP entre 200 et 250 x 10⁹/L à l'aide d'un plasma pauvre en plaquettes (PPP) autologue pour les décomptes supérieurs à 400 x 10⁹/L est suggéré afin de normaliser les effets causés par une densité optique plus grande de ces échantillons.

Certains auteurs ne recommandent pas l'ajustement du PRP à l'aide de PPP. L'ajout du PPP au PRP entraîne potentiellement une inhibition des réponses d'agrégation à l'ADP⁸⁴.

18.5.4.4 Intervalles de référence

Le fabricant suggère en général des intervalles de référence pour chacun des agonistes à titre de guide. Le laboratoire devra établir ses propres valeurs en corrélation avec les intervalles publiés et utiliser les échantillons d'au moins 20 donneurs sains, hommes et femmes, sans grossesse ni médicament^{72,83}. Voir le point 17.0.

18.5.4.5 Contrôle de la qualité

Des sujets normaux peuvent servir à vérifier les lots de réactifs, l'analyseur ou tout changement apporté à une condition préanalytique ou analytique susceptible de modifier les intervalles de référence.

18.5.4.6 Résultats

Les résultats sont exprimés en % maximal d'agrégation ou en % final d'agrégation en fonction d'une période déterminée d'une durée de 6 à 10 minutes.

La sécrétion mesurée par la luminescence sur certains agrégomètres sera exprimée en fonction d'un étalon d'ATP en nano moles.

19.0 Examens de biologie médicale délocalisée (EBMD)

Un programme d'assurance qualité, conçu, mis en œuvre et coordonné par le laboratoire doit être mis en place pour les EBMD (anciennement *analyses de biologie délocalisées* : ADBD)⁸⁶.

L'Organisation internationale de normalisation (ISO) a publié la norme suivante à ce sujet : Examens de biologie médicale délocalisée (EBMD) – Exigences concernant la qualité et la compétence¹¹⁵. Le terme ADBD a été remplacé par le terme EBMD dans l'édition publiée en 2016.

19.1 Procédures écrites pour analyses auprès du patient

Une procédure écrite doit comprendre les éléments suivants⁸⁶ :

- les directives détaillées pour le prélèvement. Voir les documents de l'OPTMQ intitulés *Prélèvement par ponction veineuse pour fins d'analyse*³⁴ et *Prélèvement par ponction capillaire aux fins d'analyse*⁸⁷;
- le mode opératoire détaillé pour effectuer l'analyse;
- le contrôle de la qualité et les enregistrements inhérents^{86,88};

- l'enregistrement des résultats des patients;
- le traitement des valeurs critiques;
- l'entretien de l'appareil et de l'équipement et les enregistrements inhérents;
- le guide de dépannage et l'interprétation des messages d'erreur;
- les procédures en cas de panne.

20.0 Rapport d'analyse

Compétence et jugement vont de pair lorsqu'il s'agit de veiller à ce que le résultat d'analyse transmis reflète l'état clinique du patient dont provient l'échantillon et, de plus, à ce que ce résultat soit communiqué dans un délai et selon un mode de transmission appropriés qui respectent les lois et règlements sur la confidentialité^{1,2}.

Le rapport d'analyse fait partie des activités de l'étape postanalytique du processus d'analyse. Il comprend toutes les activités liées à l'émission du rapport, jusqu'à l'étape de son archivage et de la conservation des échantillons.

20.1 Vérification de la validité du résultat

Le laboratoire d'hémostase doit mettre en application une politique et une procédure de validation du résultat du patient avant l'émission du rapport d'analyse².

La politique et la procédure opératoire normalisée peuvent comprendre des directives sur les éléments suivants :

- les résultats du contrôle de la qualité qui excèdent les écarts-types établis;
- un résultat situé en dehors des intervalles de référence ou qui atteint les valeurs critiques;
- la corrélation entre le résultat et les renseignements cliniques, le diagnostic et le traitement du patient;
- un résultat inhabituel ou incompatible avec les données;
- la corrélation entre le résultat et les autres examens de laboratoire.

Le technologiste médical doit faire le suivi approprié selon les politiques et procédures établies et réagir dans l'intérêt du patient. Cela signifie, entre autres, que les résultats des demandes urgentes doivent être traités en priorité.

20.2 Ajout d'un commentaire sur le rapport

Toute information pouvant avoir une incidence sur le résultat doit paraître sur le rapport d'analyse. Par exemple :

- Le rapport d'un test effectué malgré le non-respect d'une condition préanalytique doit inclure un commentaire détaillé pour émettre le résultat sous réserve;
- Tout état clinique inhérent au patient pouvant interférer avec le résultat doit figurer sur le rapport. Par exemple : la prise de médicament, l'hyperlipémie, l'ictère, la polyglobulie ou l'anémie.

20.3 Gestion des résultats critiques

Une politique et une procédure opératoire normalisée portant sur la gestion des résultats critiques en hémostase doivent être établies. Elles devraient comprendre, sans toutefois s'y limiter, les éléments suivants² :

- la liste des résultats critiques exigeant une intervention rapide auprès du patient;
- la liste des personnes à qui l'on doit transmettre un résultat critique;
- une procédure écrite de transmission qui doit comprendre l'enregistrement de la date, de l'heure et du nom de la personne qui transmet le résultat et le nom de celle qui le reçoit.

20.4 Émission du rapport d'analyse

Le laboratoire doit déterminer, en concertation avec les utilisateurs de ses services, les personnes autorisées à recevoir un résultat, le format du rapport d'analyse (papier ou électronique) ainsi que la manière précise dont le rapport leur sera communiqué².

Les politiques et les procédures opératoires normalisées relatives à l'émission du rapport d'analyse doivent comprendre, sans toutefois s'y limiter, les éléments suivants² :

- le délai opportun entre la réception du prélèvement et la sortie du résultat en fonction de l'urgence de l'analyse;
- les étapes à suivre pour aviser le requérant dans le cas d'un délai d'émission du rapport susceptible d'avoir un impact sur les soins fournis au patient;
- les directives concernant un amendement aux rapports (format papier ou électronique);
- les directives d'archivage des résultats et de conservation des échantillons.

Le laboratoire doit aussi normaliser la terminologie et la présentation des rapports d'analyse d'hémostase². Les exigences relatives au rapport d'analyse sont détaillées dans le document de l'OPTMQ intitulé *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*¹.

Annexe 1

Température et délais de conservation des échantillons en hémostase

ANALYSE	ÉCHANTILLON	TEMPÉRATURE	DÉLAI MAXIMAL DE CONSERVATION
TQ/RNI	Non centrifugé et non débouché Centrifugé et non décanté Centrifugé, décanté et bouché	18 à 25 °C	24 heures ^{11,27,38,46}
TCA Patient non traité à l'héparine	Non centrifugé et non débouché Centrifugé et non décanté	18 à 25 °C	6 heures ^{7,11,27,43,92,93}
TCA Anti-Xa Patient traité à l'héparine non fractionnée	Centrifugé à l'intérieur d'une heure ^{11,27}	18 à 25 °C	4 heures ^{11,27}
F VIII et FvW	Non centrifugé et non débouché Centrifugé et décanté <u>Ne pas mettre au froid</u> ⁴⁵	18 à 25 °C	4 heures ⁴⁵

TQ : Temps de Quick

TCA : Temps de céphaline activé

F VIII : Facteur VIII

FvW : Facteur von Villebrand

Note : Les délais de conservation représentent le temps écoulé entre le prélèvement et l'exécution de l'analyse.

Annexe 2

Volume d'anticoagulant en fonction de l'hématocrite et du volume de sang dans le tube de prélèvement

Hématocrite L/L	Tube de 1,8 ml	Tube de 2,7ml	Tube de 4,5 ml
0,20	0,27	0,40	0,67
0,25	0,25	0,37	0,62
0,50	0,17	0,25	0,42
0,55	0,15	0,22	0,37
0,60	0,13	0,20	0,33
0,65	0,12	0,17	0,29
0,70	0,10	0,15	0,25
0,75	0,08	0,12	0,21

Volume calculé selon la formule : $X = (0,185 \times V_s) \times (1 - H_t)$

X = Volume de citrate de sodium en ml

Ht= Hématocrite du patient en L/L

Vs = Volume de sang en ml dans le tube

Adaptation de la formule présentée dans le document du *Clinical and Laboratory Standards Institute* : H21-A5, Collection, *Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition, 2008*²⁷.

Annexe 3

Procédure à suivre lors du changement de température de conservation des échantillons

Le laboratoire d'hémostase qui modifie la température de conservation et de centrifugation de ses échantillons d'hémostase passant de « froid » (entre 2 et 8 °C) à « tempéré » (entre 18 et 25 °C) doit vérifier les répercussions du changement de cette condition préanalytique sur les résultats d'analyse et, s'il y a lieu, modifier les intervalles de référence⁶⁸.

La procédure recommandée est la suivante⁶⁸ :

1. Effectuer une analyse comparative avec au moins 40 échantillons représentatifs de la clientèle normale et anormale⁷. Analyser en parallèle chacun des échantillons conservés et centrifugés entre 2 et 8 °C et ceux conservés et centrifugés entre 18 et 25 °C; Note : Les exigences relatives aux conditions de centrifugation des échantillons sont décrites dans la section 12.2 et doivent être intégrées à l'analyse comparative.
2. Calculer le pourcentage de différence entre les résultats des analyses effectuées sur les échantillons conservés et centrifugés entre 2 et 8 °C et ceux conservés et centrifugés entre 18 et 25 °C;
3. Comparer le pourcentage de différence obtenu avec le biais biologique acceptable⁷¹. Le biais acceptable est détaillé dans le tableau présenté ci-dessous.

Si le pourcentage de différence obtenu est égal ou inférieur au biais dérivé de la variation biologique acceptable pour l'analyse, il n'est pas nécessaire d'établir un nouvel intervalle de référence pour cette analyse⁷¹.

Si le pourcentage de différence obtenu est supérieur au biais cliniquement acceptable pour l'analyse, le laboratoire d'hémostase doit redéfinir l'intervalle de référence pour chacune des analyses concernées (voir la section 17.0).

Tableau : Biais dérivé de la variation biologique acceptable⁷¹

Analyse	Biais acceptable
Temps de Quick (TQ)	2,0 %
Temps de céphaline activé (TCA)	2,3 %
FVII	5,1 %
FVIII	4,9 %
FvW	7,1 %
Fibrinogène	4,8 %

Annexe 4 Ressources Internet en hémostase

Nom	Adresse Internet
American Society of Hematology	http://www.hematology.org
College of American Pathologists	http://www.cap.org
International Society for Laboratory Hematology	http://www.islh.org
International Society on Thrombosis and Hemostasis	http://www.isth.org/
North American Specialized Coagulation Laboratory Association	http://www.nascola.com
Société canadienne d'hématologie	http://www.canadianhematologysociety.org

Annexe 5

Calendrier d'entretien préventif et de contrôle de la qualité de certains équipements – Recommandations

Attention : Les annexes de référence ne font pas partie du présent guide, mais elles sont intégrées à titre de complément d'information. Pour certains équipements, les fréquences de contrôle de la qualité et d'entretien préventif peuvent être modifiées en fonction de l'utilisation.

Équipement	Fréquence	Activités
Équipements automatisés	Journalière et selon les recommandations du fabricant	<ul style="list-style-type: none"> - Effectuer tous les contrôles de la qualité recommandés par le fabricant ou selon des références reconnues - Effectuer l'entretien préventif recommandé par le fabricant en respectant le calendrier des activités
Équipements à température contrôlée bain-marie congélateur réfrigérateur centrifugeuse	Journalière ou à toutes les utilisations	<ul style="list-style-type: none"> - Enregistrer la température au moins une fois par jour (pour les limites de tolérance, voir le point 14.4.1.1) - Vérifier le niveau et la propreté de l'eau (s'il y a lieu) - S'assurer du fonctionnement du ventilateur (s'il y a lieu)
	Hebdomadaire	<ul style="list-style-type: none"> - Changer l'eau du bassin de l'humidificateur (s'il y a lieu)
	Mensuelle	<ul style="list-style-type: none"> - Vider et nettoyer les équipements contenant de l'eau
	Semestrielle	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier et enregistrer le fonctionnement du système d'alarme sonore ainsi que la source auxiliaire d'énergie de l'appareil ou du système d'alarme (s'il y a lieu)
	Annuelle ou plusieurs fois par année, au besoin	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier les thermomètres à l'aide d'un thermomètre de référence - S'assurer que le ventilateur fonctionne lorsque la porte est fermée (s'il y a lieu) - Nettoyer l'intérieur et l'extérieur des équipements - Effectuer toute autre activité d'entretien préventif selon les recommandations du fabricant
Équipements volumétriques micro-pipettes pipettes distributeurs etc.	Journalière	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier visuellement l'état de l'équipement lors de chaque utilisation
	Après une activité d'entretien ou une fois par année	<ul style="list-style-type: none"> - Calibrer (vérifier l'exactitude et la précision)

Sources :

MASSICOTTE, Luc, M.Sc. Laboratoire de Santé Publique du Québec. *Contrôle de la qualité appliqué en microbiologie*, novembre 2003⁶⁵.

ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC, *Guide de Microbiologie*⁸⁹.

Annexe 6 Centrifugation – Détermination de la vitesse de rotation

Le nomogramme ci-dessous permet de déterminer la vitesse de rotation par minute (rpm) nécessaire à l'obtention d'une force centrifuge relative (FCR) (g) donnée en fonction du rayon du rotor de la centrifugeuse.

Pour déterminer la vitesse de rotation à l'aide du nomogramme, il faut placer une règle sur le nomogramme de façon à relier la force centrifuge relative (FCR) (g) (C) au rayon connu du rotor de la centrifugeuse (cm; A). Le point d'intersection (B) entre la règle et l'axe de vitesse de rotation par minute (rpm) détermine cette valeur.

Exemple : Si le rayon de la centrifugeuse est de 10 cm et que la force centrifuge relative (FCR) est de 1000 g, la vitesse de rotation par minute est de 3000 rpm.

Formules :

$$FCR (g) = (1,118 \times 10^{-5}) \times r \times (rpm)^2$$

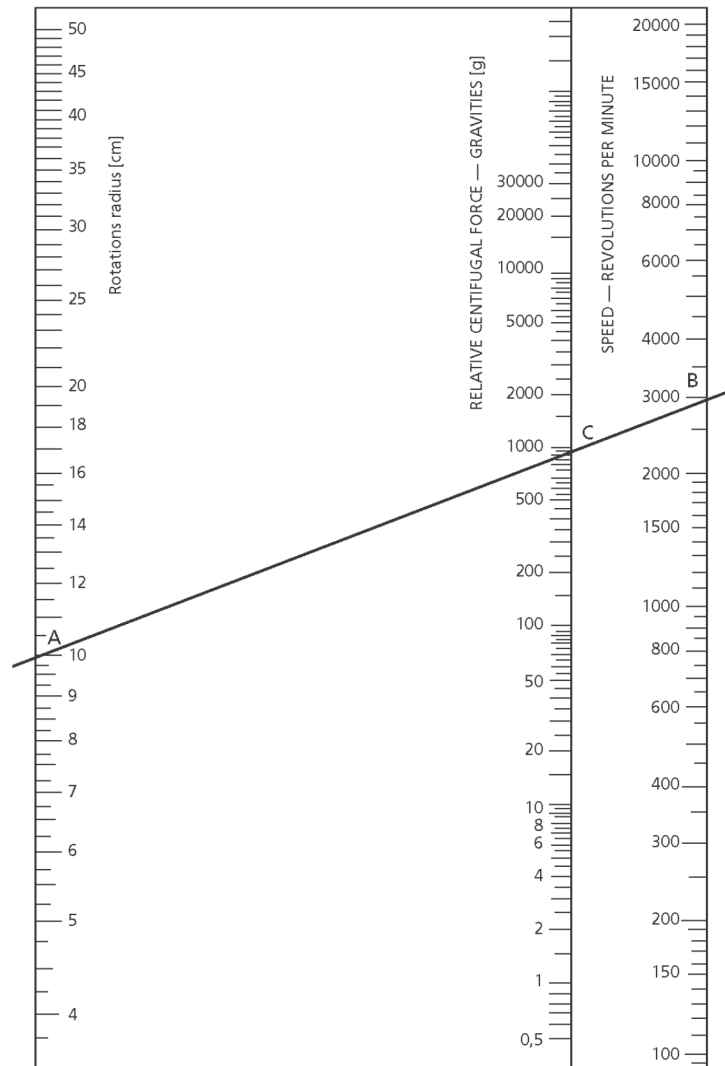
$$rpm = \sqrt{\frac{FCR}{(1,118 \times 10^{-5}) \times r}}$$

Où :

FCR : Force centrifuge relative

r : rayon du rotor (cm)

rpm : rotation par minute



Nomogramme : Courtoisie et © de Becton, Dickinson and Company

Reproduit avec permission.

BIBLIOGRAPHIE

1. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale*, Montréal, OPTMQ, 2017.
2. ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. *ISO 15189 :2012(F) Laboratoires de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence*, troisième édition (version corrigée 2014-08-15), Genève, ISO, 2012.
3. ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. *ISO 9000 :2015(F) Systèmes de management de la qualité – Principes essentiels et vocabulaire*, Quatrième édition, Genève, ISO, 2015.
4. AGENCE DE LA SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA. *Guide canadien sur la biosécurité*, deuxième édition. Ottawa : ASPC, 2016.
5. Sans objet.
6. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Quality Management System: A Model for Laboratory Services; Approved Guideline - Fourth Edition*, CLSI document QMS01-A4, Wayne, PA, CLSI, 2011.
7. STIENE-MARTIN E.ANNA, LOTSPEICH-STEININGER CHERYL A., KOEPKE JOHN A. *Clinical Hematology, Principles, Procedures, Correlations*, Second Edition, Philadelphia, J.B.Lippincott Co., 1998.
8. FOUCHER K, TOULON P, SCHVED JF, POLACK B. Suggestions for an appropriate methodological approach for the validation of an evacuated blood collection tube made in plastic material including the effect of age, *Thromb Haemost*, 2004;91:845-847.
9. GROUPE CSA. *Z902-15 Sang et produits sanguins labiles*, Mississauga, Groupe CSA, 2015.
10. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Procedures for Validation of INR and Local Calibration of PT/INR Systems; Approved Guideline*, CLSI document H54-A, Wayne, PA, CLSI, 2005.
11. ADCOCK Dorothy M, KRESSIN David C, MARLAR Richard A. The effect of time and temperature on routine coagulation tests, *Blood Coagul Fibrinolysis*, 1998; 6: 463-470.
12. LALIBERTÉ, Alain. *Hémostase*. Collège de Sherbrooke. Les Éditions : Le Griffon d'argile, 1999.
13. *Code de déontologie des membres de l'Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec* (RLRQ, chapitre C-26, r. 243).
14. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Normes de pratique du technologiste médical*, quatrième édition. Montréal, OPTMQ, 2015.
15. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Clinical Laboratory Safety; Approved Guideline - Third Edition*, CLSI document GP17-A3, Wayne, PA, CLSI, 2012.
16. AGENCE DE LA SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA. *Pratiques de base et précautions additionnelles visant à prévenir la transmission des infections dans les milieux de soins*. Ottawa : ASPC, mars 2014.
17. AGENCE DE LA SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA. *Pratiques en matière d'hygiène des mains dans les milieux de soins*. Ottawa : ASPC, 2012.
18. ASSOCIATION CANADIENNE DE NORMALISATION. *CAN/CSA-Z15190 Medical laboratories - Requirements for safety (Laboratoires de médecine - Exigences pour la sécurité)*, Mississauga, Association canadienne de normalisation, 2005.
19. AGENCE DE LA SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA. *Norme canadienne sur la biosécurité*, deuxième édition. Ottawa : ASPC, 2015.

20. SHEMATEK, GENE, WOOD, WAYNE et O'GRADY, Eoin. *La sécurité au laboratoire. Directives de la SCSLM* huitième édition, Société canadienne de science de laboratoire médical, 2017.
21. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Training and Competence Assessment; Approved Guideline - Fourth Edition*, CLSI document QMS03-A4, Wayne, PA, CLSI, 2016.
22. *Règlement sur les déchets biomédicaux* (RLRQ, chapitre Q-2, r.12).
23. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Quality Management System: Development and Management of Laboratory Documents; Approved Guideline - Sixth Edition*, CLSI document QMS02-A6, Wayne, PA, CLSI, 2013.
24. LAWRENCE JB. Preanalytical variables in the coagulation laboratory. *Lab Med* 2003; 34:49-57.
25. MCGLASSON DL. Laboratory variables that may affect test results in prothrombin times (PT) international normalized ratios (INR). *Lab Med* 2003; 34:124-9.
26. CASTELLONE DONNA D. Q & A Specimens for Coagulation, *Laboratory Medicine*, 1998, Vol 29; 8: 467.
27. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline- Fifth Edition*, CLSI document H21-A5, Wayne, PA, CLSI, 2008.
28. ADCOCK DM, KRESSIN DC, MARLAR RA. Effect of 3.2% vs 3.8% sodium citrate concentration on routine coagulation testing. *Am J Clin Pathol* 1997; 107:105-10.
29. DUNCAN EM, CASEY CR, DUNCAN BM, LLOYD JV. Effect of concentration of trisodium citrate anticoagulant on calculation of the international normalized ratio and the international sensitivity index of thromboplastin. *Thromb Haemost* 1994; 72:84-8.
30. RICHARD A. MARLAR PhD, ROBYN M. POTTS, MD, AND AUDREY A. MARLAR, MT (ASCP). Effect on Routine and Special Coagulation Testing Values of Citrate Anticoagulant Adjustment in Patients With High Hematocrit Values. *American Journal of Clinical Pathology*, 2006; 126(3):400-5.
31. COLLEGE OF PHYSICIANS AND SURGEONS OF SASKATCHEWAN. *Hematology Guidelines. Laboratory Quality Assurance Program*. Saskatchewan, 2004.
32. RENEKE J, ETZELL J, LESLIE S, NG VL, GOTTFRIED EL. Prolonged prothrombin time and activated partial thromboplastin time due to underfilled specimen tubes with 109 mmol/L (3.2%) citrate anticoagulant. *Am J Clin Pathol* 1998; 109:754-7.
33. ADCOCK DM, KRESSIN DC, MARLAR RA. Minimum specimen volume requirements for routine coagulation testing. *Am J Clin Pathol* 1998; 109:595-9.
34. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Prélèvement de sang par ponction veineuse pour fins d'analyse, Règles de pratique*, sixième édition. Montréal, OPTMQ, 2006.
35. BUSH V, COHEN R. The evolution of evacuated blood collection tubes. *Lab Med* 2003; 34:304-10.
36. ADCOCK Dorothy M, KRESSIN David C, MARLAR Richard A. Are Discard Tubes Necessary in Coagulation Studies? *Laboratory Medicine*, 1997; 28 :530-533.
37. GOTTFRIED EL, ADACHI MM. Prothrombin time and activated partial thromboplastin time can be performed on the first tube. *Am J Clin Pathol* 1997; 107:681-3.
38. BRIGDEN ML, GRAYDON C, MCLEOD B, LESPERANCE M. Prothrombin time determination: the lack of need for a discard tube and 24-hour stability. *Am J Clin Pathol* 1997; 108:422-6.
39. YAWN BP, LOGE C, DALE J. Prothrombin time: one tube or two. *Am J Clin Pathol* 1996; 105:794-7.
40. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard- Seventh Edition*. CLSI document GP41-A7. Wayne, PA : CLSI, 2017.

41. RUTH E. McCALL, CATHEE M. TANKERSLEY. *Phlebotomy Essentials*, sixième édition. Pennsylvania : Wolters Kluwer, 2015.
42. KIECHLE, Frederick, I., et autres. *So You're Going to Collect a Blood Specimen, An Introduction to Phlebotomy*. Fifteenth Edition. Illinois : College of American Pathologists, 2017.
43. HEIL W., GRUNEWALD R, AMEND M, HEINS M. Influence of time and temperature on coagulation analytes in stored plasma, *Clinical Chemistry Lab Med.*, 1998; 36(7): 459-462.
44. LIPPI G, SALVAGNO GL, MONTAGNANA M, POLI G, GUIDI GC. Influence of Centrifuge Temperature on Routine Coagulation Testing. *Clinical Chemistry* 2006; 52:537-538.
45. FAVALORO E J, SOLTANI S, MCDONALD J. Potential laboratory misdiagnosis of hemophilia and von Willebrand disorder owing to cold activation of blood samples for testing. *Am J Clin Pathol* 2004; 122:686-692.
46. FROOM PAUL, ABRAMOVA DORA, BAR-EI MARTHA AND BARAK MIRA. Reliability of delayed prothrombin time INR determinations in a central laboratory using off-site blood sampling, *Clin. Lab. Haem.* 2001; 23:189-192.
47. MOHAMMED A. AWAD, TAREK E. SELIM AND FATMA A. AL-SABBAGH. Influence of Storage Time and Temperature on International Normalized Ratio (INR) Levels and Plasma Activities of Vitamin K Dependent Clotting Factors, *Hematology*, 2004; 9: 333-337.
48. CONSTANTINO Benie T., I, SH(ASCP); MLT, ART. Preanalytical Variables in Coagulation Testing, *Canadian Journal of Medical Laboratory Science* 2004; 66: 98-104.
49. ROGER LUDDINGTON, JANE PETERS, PETER BAKER, TREVOR BAGLIN. The effect of delayed analysis or freeze-thawing on the measurement of natural anticoagulants, resistance to activated protein C and markers of activation of the Haemostatic system. *Thrombosis Research*, 1997; 87 (6) 577-581.
50. VAN GEEST-DAALDEROP JOHANNA, et autres. Preanalytical Variables and Off-Site Blood Collection: Influences on the Results of the Prothrombin Time/International Normalized Ratio Test and Implications for Monitoring of Oral Anticoagulant Therapy, *Clinical Chemistry* 2005; 51:561-568.
51. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline – Fourth Edition*. CLSI document GP44-A4. Wayne, PA : CLSI, 2010.
52. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Transport et conservation des échantillons dans le domaine de la biologie médicale, Règles de pratique*, quatrième édition, Montréal, OPTMQ, 2010.
53. STATSPIN, INC. *Residual Platelet Counts of plasma Prepared for Coagulation Studies*, Jamaica Plain, MA, 2002.
54. IRIS SAMPLE PROCESSING. *Comparison Study Between the Statspin Express 3 Centrifuge and the Heraeus Labofuge 400 Centrifuge*, Detroit, Michigan, 2005.
55. LIPPI G, SALVAGNO GL, MONTAGNANA M, POLI G, GUIDI GC. Interference of Blood Cell Lysis on Routine Coagulation Testing. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130:181-184.
56. AGRÉMENT CANADA. *Programme Qmentum 2017. Normes : Laboratoires médicaux*, Ver. 11, 2016.
57. SERIN, Erdinc et BUGDAYCI, Guler. Effect of Tube Filling Order on Specific Coagulation Parameters in Healthy Subjects. *LABMEDICINE*. 2007, Vol. 38, No 9, p. 556-558.
58. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; Approved Guideline - Third Edition*, CLSI document C24-A3, Wayne, PA, CLSI, 2006.
59. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline - Fourth Edition*, CLSI document H21-A4, Wayne, PA, CLSI, 2003.

60. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *One Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline*, CLSI document H47-A, Wayne, PA, CLSI, 1996.
61. JAMES O. WESTGARD. Internal quality control: planning and implementation strategies, Personal View. *Ann Clin Biochem* 2003; 40: 593-611.
62. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Assays of von Willebrand Factor Antigen and Ristocetin Cofactor Activity; Approved Guideline*, CLSI document H51-A, Wayne, PA, CLSI, 2002.
63. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Protocol for the Evaluation, Validation, and Implementation of Coagulometers; Approved Guideline*, Pennsylvania, H57-A, 2008.
64. BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES NATIONALES DU QUÉBEC. *Recueil de règles de conservation des documents des établissements de santé et de services sociaux du Québec*, BAnQ, mars 2017
65. MASSICOTTE Luc, M.Sc. Laboratoire de Santé Publique du Québec. *Contrôle de la qualité appliqué en microbiologie*, novembre 2005.
66. RAIJMAKERS, Maarten T.M., et autres. Collection of Blood Specimens by Venipuncture for Plasma-Based Coagulation Assays. *Am J Clin Pathol*. 2010, Vol. 133, p. 331-335.
67. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Fourth Edition*, CLSI document C3-A4, Wayne, PA, CLSI, 2006.
68. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition*, CLSI document EP9-A2, Wayne, PA, CLSI, 2002.
69. HIRSH JACK, CM, MD, FCCP AND ROBERT RASCHKE, MD, MS. Heparin and Low-Molecular-Weight Heparin. *American College of Chest Physicians*. Chest. 2004; 126:188S-203S.
70. BRILL-EDWARDS P, GINSBERG JS, JOHNSTON M, HIRSH J. Establishing a therapeutic range for heparin therapy. *Ann Intern Med*, 1993; 119:104-109.
71. RICOS C., ALVAREZ V., CAVA F., GARCIA-LARIO V., HERNANDEZ A., JIMÉNEZ C.V., MINCHINELA J., PERICH C. AND SIMON M. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scan J Clin Lab Invest* 1999; 59:491-500.
72. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Second Edition*, CLSI document C28-A2, Wayne, PA, CLSI, 2000.
73. JESPERSEN J, BERTINA RM, HAVERKATE F. *Laboratory Techniques in Thrombosis – A Manual, 2nd revised edition of ECAT Assay Procedures*, Kluwer Academic Publishers, London, 1998.
74. REED AH, HENRY RJ, MASON WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range, *Clin Chem*, 1971; 17:275-284.
75. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Procedure for the Determination of Fibrinogen in Plasma; Approved Guideline - Second Edition*, CLSI document H30-A2, Wayne, PA, CLSI, 2001.
76. DEMPFFLE C.-E. D-dimer testing and venous thromboembolism: four view points. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2005; 3: 377-384.
77. NITU-WHALLEY IOANA C., LEE CHRISTINE A, GRIFFIOEN ANJA, JENKINS P VINCE, PASI K JOHN. Type 1 von Willebrand disease – a clinical retrospective study of the diagnosis, the influence of the ABO blood group and the role of the bleeding history. *British Journal of Haematology*, 2000; 108(2): 259-264.
78. THE WORKING PARTY ON VON WILLEBRAND DISEASE CLASSIFICATION. *Update of the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor*. International Society on Thrombosis and Haemostasis, 2006.

79. BRANDT JOHN T., DOUGLAS A. TRIPLETT, ALVING BARBARA, SCHARRER INGE. Criteria for the Diagnosis of Lupus Anticoagulants: An Update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 1995; 4: 1185-90.
80. WILLIAM F. BRIEN, MAUREEN R. SCHAUS, KAREN E. COOPER, BERNICE T. O'KEEFE AND MARTIN INWOOD. Lupus anticoagulant testing: effect of the platelet count on the activated partial thromboplastin time. *British Journal of Biomedical Science* 1993; 50: 114-116.
81. MYAKIS S, et autres. *International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS)*. International Society on Thrombosis and Haemostasis, 2006.
82. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Performance of the Bleeding Time Test; Approved Guideline - Second Edition*, CLSI document H45-A2, Wayne, PA, CLSI, 2005.
83. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Platelet Function Testing by Aggregometry; Proposed Guideline*, CLSI document H58-A, Wayne, PA, CLSI, 2008.
84. CATTANEO M, LECCHI A, ZIGHETTI ML, LUSSANA F. Platelet aggregation studies: autologous platelet-poor plasma inhibits platelet aggregation when added to platelet-rich plasma to normalize platelet count. *Haematologica*, 2007; 92(5): 694-697.
85. SMOCK, Kristi J., et autres. Discard tubes are not necessary when drawing samples for specialized coagulation testing. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. 2010, Vol. 21, No 3, p. 279-282.
86. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Point-of-Care Monitoring of Anticoagulation Therapy; Approved Guideline*, CLSI document H49-A, Wayne, PA, CLSI, 2003.
87. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Prélèvement de sang par ponction capillaire aux fins d'analyse, Règles de pratique*, troisième édition, Montréal, OPTMQ, 2011 .
88. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Quality Management for Unit-Use Testing; Approved Guideline*, CLSI document EP18-A, Wayne, PA, CLSI, 2002.
89. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Guide de microbiologie*, Montréal, OPTMQ, 2017.
90. QUALITY MANAGEMENT ASSESSMENT- LABORATORY SERVICES, Ontario Medical Association, *Reference intervals and calculation of mean values for coagulation laboratories*, Coagulation Broadsheet #8, Volume 3, décembre 2003, p23-25.
91. WOODHAMS B, GIRARDOT O, BLANCO MJ, COLESSE G, GOURMELIN Y. Stability of coagulation proteins frozen in plasma. *Blood Coag Fibrinol*, 2001; 12(4): 229-236.
92. RAO LV, OKORODUDU AO, PETERSEN JR, ELGHETANY MT. Stability of prothrombin time and activated partial thromboplastin time tests under different storage conditions. *Cli Chim Acta*, 2000; 300(1-2): 13-21.
93. AWAD MA, ELDEEN OA, IBRAHIM HA. Stability of activated partial thromboplastin time (APTT) test under different storage conditions. *Hematology*, 2006; 11(5): 311-315.

COMMENTAIRES

Compte tenu de l'évolution technologique, ce guide fera l'objet de révisions périodiques. Nous vous invitons à nous faire part de toute suggestion susceptible d'améliorer le contenu du présent document.

DOCUMENT : **GUIDE D'HÉMOSTASE, 2017**

COMMENTAIRES :

SIGNATURE : _____ *DATE :* _____

NOM : _____