

Listes des abréviations

ADP	:	Adeninyl di-phosphate
ATP	:	Adeninyl tri-phosphate
aPTT	:	<i>activated Partial Thromboplastin Time</i>
CHU	:	Centre Hospitalier Universitaire
CARD	:	Cardiologie
CH-INF	:	Chirurgie Infantile
Coa	:	Coagulé
CV	:	Coefficient de variation
C-VASC	:	Chirurgie vasculaire
C-VISC	:	Chirurgie viscérale
DS	:	Dérivation standard
EEQ	:	Evaluation externe de la qualité
F3P	:	Facteur 3 plaquettaire
F. Willebrand :	:	Facteur de Willebrand
FP4	:	Facteur 4 plaquettaire
GBEA	:	Guide de bonne exécution des analyses
GEHT	:	Groupe d'Etude d'Hémostase et de Thrombose
HCII	:	cofacteur II de l'héparine
Hémol	:	Hémolysé
HJRA	:	Hôpital Joseph Ravoahangy Andrianavalona
HJRB	:	Hôpital Joseph Raseta Befelatanana
Ict	:	Ictérique
Inc	:	Incoagulable
INR	:	<i>International Normalized Ratio</i>
ISI	:	Index de Sensibilité International
KHPM	:	Kininogène de Haut Poids Moléculaire
Lip	:	Lipémique
NC	:	Neuro-Chirurgie
ONCO	:	Oncologie
ORL	:	Oto-Rhino-Laryngologie

PAI	:	<i>Plasminogen Activator Inhibitor</i>
PC	:	protéine C
PDF	:	produit de dégradation de la fibrine
PDGF	:	platelet derived growth factor
PFA	:	platelet function analyzer
PK	:	prékallicréine
PL	:	phospholipide
PS	:	Protéine S
QI	:	Quantité insuffisante
REA	:	Réanimation (Chirurgicale,médicale)
S/Avk	:	sous anti-vitamine K
S/hep	:	sous héparine
S.I.	:	système international
TCA	:	Temps de céphaline avec activateur
TF	:	facteur tissulaire
TFPI	:	<i>Tissue Factor Pathway Inhibitor</i>
Tpa	:	<i>Tissu Plasminogen Activator</i>
TQ	:	Temps de Quick
TRAUT	:	Traumatologie
TS	:	Temps de saignement
TXA₂	:	thromboxane II
UK	:	Urokinase
UPFRH	:	Unité Paraclinique de Formation et de Recherche en Hématologie
URG	:	Urgences chirurgicales
VIIIc	:	facteur VIII coagulant
Xa	:	facteur X activé
XIIa	:	facteur XII activé

SOMMAIRE

	pages
INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE	2
GENERALITES.....	2
1.Définition.....	2
2.Physiologie.....	2
2.1. L'hémostase primaire.....	2
2.2. La coagulation proprement dite ou hémostase secondaire.....	5
2.3. La fibrinolyse.....	7
3.Indication.....	7
4. Exploration de base de l'hémostase.....	7
4.1.Les tests.....	7
4.2. Les méthodes de réalisation des tests de l'hémostase secondaire.....	9
5. Contrôle de qualité.....	10
5.1. Au niveau de l'étape préanalytique.....	10
5.2. Au niveau de l'étape analytique, évaluation de la méthode utilisée.....	12
5.3. Les indicateurs de contrôle de qualité.....	12
DEUXIEME PARTIE.....	12
NOTRE ETUDE.....	13
1. Objectif.....	13
2. Présentation.....	14
3. Matériels et méthodes.....	14
3.1. Etude.....	14
3.2. Cadre d'étude.....	14
3.3. Les tests.....	14
3.4. Réactifs et matériels.....	15
3.5. Réalisation des tests.....	15
4. Détermination du temps de Quick.....	18
4.1. Principes.....	18
4.2. Technique.....	18
4.3. Valeur normale.....	18
5. Détermination de TCA ou Temps de céphaline avec activateur.....	19
5.1. Principe.....	19
5.2. Technique.....	19
5.3. Valeur normale.....	20
6. Dosage du fibrinogène.....	20
6.1 Principe.....	20
6.2 Technique.....	21
6.3 Valeur normale.....	21
7. L'assurance qualité.....	21
7.1. Responsabilité de la personne chargée de l'assurance qualité.....	21
7.2 Contrôle de qualité interne.....	22
7.3 Contrôle de qualité externe.....	24
RESULTATS.....	25
1. Les malades.....	25
2. Les tests d'hémostase.....	27

3. Les cas de non conformité.....	28
TROISIEME PARTIE..... 29	
DISCUSSION ET COMMENTAIRES.....	29
1. Risques et erreurs.....	29
1.1. Phase pré-analytique.....	29
1.2. Phase analytique.....	30
1.3. Phase post analytique.....	33
2. Avantages et inconvénients.....	34
2.1. Avantages.....	34
2.2. Inconvénients par rapport aux autres techniques.....	34
3. L'évaluation externe de la qualité.....	35
3.1. Le contrôle de qualité national.....	35
3.2. Autres contrôles externes de qualité.....	36
SUGGESTIONS.....	37
1. Améliorer la qualité et la fiabilité des tests d'hémostase.....	37
1.1. Agir sur la phase pré-analytique.....	37
1.2. Agir sur la phase analytique.....	37
1.3. Agir sur la validation analytique et biologique.....	38
2. Mettre en place un système de contrôle de qualité externe.....	38
CONCLUSION.....	39

INTRODUCTION

Le bilan hémostatique constitue un des examens systématiques avant toute intervention chirurgicale et en cas d'hémorragie ou de maladie thrombotique. Les tests peuvent être poussés plus loin avec les recherches spécifiques. Les tests d'hémostase sont classés en deux catégories : ceux qui se rapportent à l'hémostase de routine et ceux qui relèvent de l'hémostase spécialisée.

Pour l'hémostase de routine, trois types de mode de détermination sont possibles :

- la détermination manuelle,
- la détermination semi-automatique,
- la détermination automatique.

La méthode manuelle est maintenant dépassée par les deux autres méthodes du fait de l'évolution de la technologie. Cependant, c'est une méthode qui a fait ses preuves. L'automatisation à Madagascar n'atteint pas encore l'envergure des pays industrialisés. Dans la plupart des formations sanitaires malgaches, les analyses pouvant être effectuées de façon manuelle priment dans les laboratoires d'analyse de biologie médicale. Toutefois, la déficience en personnes qualifiées explique le faible nombre de centres sanitaires qui disposent de laboratoire d'hémostase.

C'est ainsi qu'il nous a semblé intéressant d'évaluer la détermination manuelle des tests d'hémostase afin de savoir si on pourrait l'appliquer dans les autres formations sanitaires dans l'attente d'une automatisation effective.

Nous avons pour cela réalisé une étude à l'unité paraclinique de formation et de recherche en hématologie du CHU HJRA abritant le laboratoire d'hématologie.

Ce travail va ainsi comporter trois parties. La première rappellera quelques notions générales sur l'hémostase, la deuxième traitera de l'étude proprement dite et des résultats obtenus lesquels seront commentés dans la troisième partie.

PREMIERE PARTIE

GENERALITES

1. Définition

La fonction hémostatique normale regroupe l'ensemble des différents mécanismes qui assurent la prévention des saignements spontanés et l'arrêt des hémorragies en cas de rupture de la continuité de la paroi vasculaire. (1)

2. Physiologie

Les phénomènes physiologiques de l'hémostase se décomposent en trois parties successives artificiellement distinctes mais en réalité intriquées : l'hémostase primaire, l'hémostase secondaire et la fibrinolyse.

2.1. L'hémostase primaire

Elle représente l'ensemble des phénomènes responsables de la formation du clou plaquettaire. Elle est suffisante pour les plaies des petits vaisseaux mais non pour les plus gros. Cette étape est toutefois indispensable pour l'hémostase secondaire.

Les facteurs de l'hémostase primaire intervenant sont :

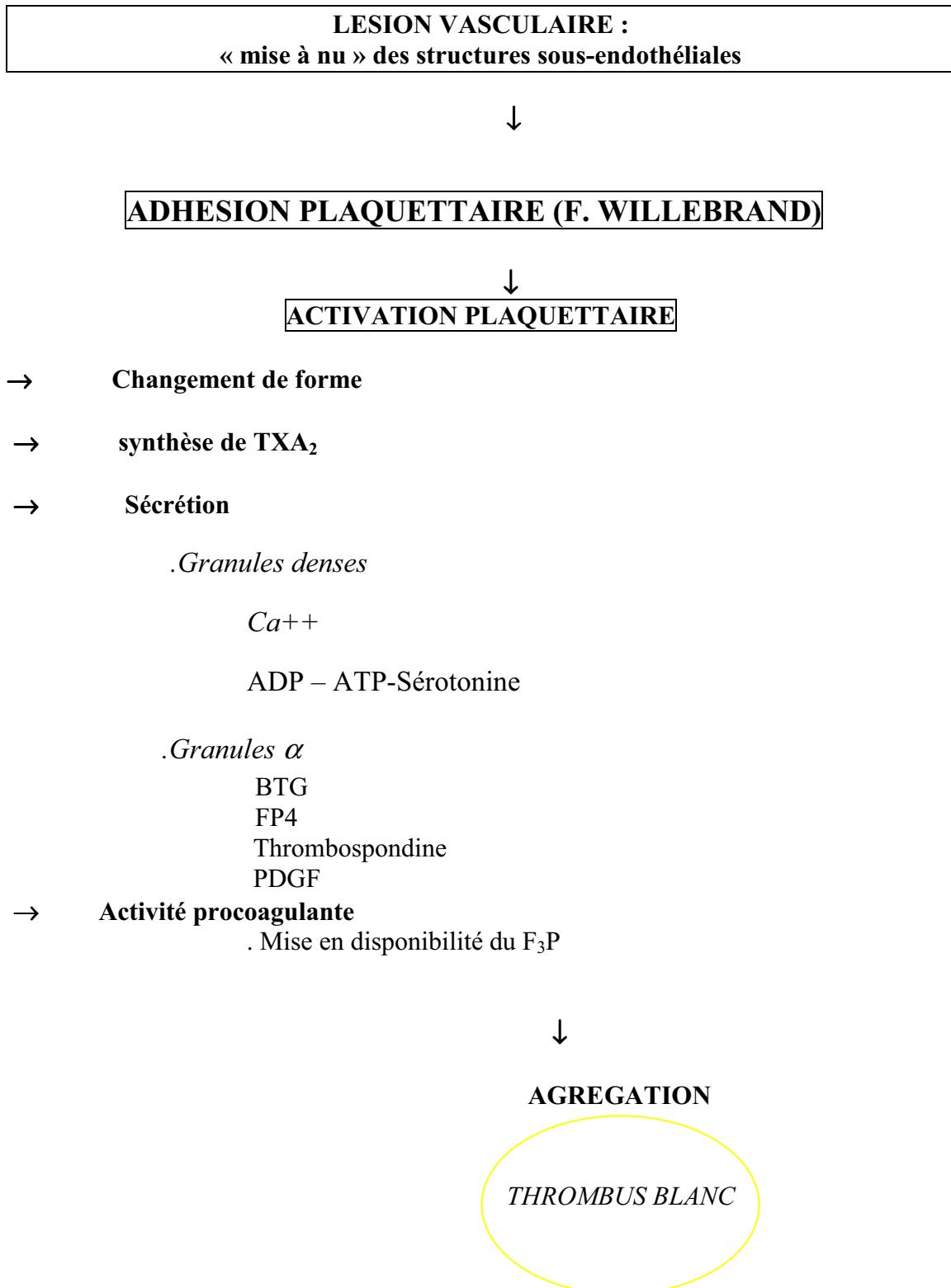
- a) les vaisseaux, formés par trois couches :
 - . l'endothélium qui secrète des substances anti-agrégantes,
 - . le sous- endothélium, sur lequel les plaquettes peuvent adhérer et s'activer,
 - . les cellules musculaires lisses qui peuvent assurer la contraction vasculaire.
- b) les plaquettes comportant une membrane et d'autres constituants :
 - . des glycoprotéines trans- membranaires qui participent à la fonction plaquettaire,
 - . des granules intra- plaquettaires,
 - . des systèmes canaliculaires qui sécrètent les granules,

- . des protéines contractiles qui permettent la contractilité des plaquettes.
- c) les protéines plasmatiques qui sont : le fibrinogène, le facteur von Willebrand.

La séquence de l'hémostase primaire comporte deux temps :

- le temps vasculaire qui consiste en une vasoconstriction réflexe après une lésion vasculaire, les plaquettes et les protéines coagulantes se dirigent au niveau de la lésion vasculaire,
- le temps plaquettaire (schéma n° 1).

Schéma n°1 : le temps plaquettaire



2.2. La coagulation proprement dite ou hémostase secondaire

Cette étape a pour finalité la transformation du fibrinogène en fibrine sous l'action de la thrombine. La fibrine renforce le clou plaquettaire formé lors de l'hémostase primaire.

Les facteurs intervenant lors de la coagulation sont :

- a) les phospholipides anioniques et le calcium

Les phospholipides anioniques apparaissent à la surface des membranes des plaquettes activées sur lesquelles se fixent les facteurs vitamino-dépendants et les cofacteurs V et VII.

- b) les facteurs de la coagulation

Il existe dix facteurs de coagulation appelés protéines coagulantes, deux facteurs plasmatiques appartenants au système des kinines (la prékallicréine et le kininogène), le facteur tissulaire appelé FIII tissulaire ou thromboplastine tissulaire. Ces facteurs sont pour la plupart synthétisés au niveau du foie, cinq d'entre eux sont consommés au cours de la coagulation et donc absents du sérum (I, II, V, XIII).

Les séquences de la coagulation sont représentées schématiquement par la cascade d'activation enzymatique qui comprend trois étapes (schéma n°2) :

- la génération du complexe prothrombinase après activation du FX par voie endogène et exogène en présence de TF et de quelques protéines coagulantes,
- la thrombinoformation,
- la fibrinoformation.

In vivo, il existe des inter-relations entre ces deux voies. Il apparaît que la voie d'initiation de la coagulation est essentiellement sous la dépendance de la voie exogène et que la voie endogène reste plutôt une voie de consolidation du processus coagulant. La thrombine apparaît comme l'élément central du système du fait de son fort potentiel d'auto amplification.

Le contrôle de la coagulation s'effectue par les serpines (l'antithrombine III, le deuxième cofacteur de l'héparine ou HCII, l' α 2 macroglobuline), l'inhibiteur de la voie exogène ou TFPI, le système de la protéine C (PC, PS, la thrombomoduline)

Schéma n° 2 : les séquences de la coagulation

Formation de prothrombinase

Voie endogène
(surface de contact)
XII-PK-KHPM-XI

IX
VIIIC
Ca++

PL
↓

Voie exogène
thromboplastines tissulaires

VII
Ca++
↓

Prothrombinase
V-Xa- Ca++ -PL



Thrombinoformation

II -----> IIa

Fibrinoformation

↓

Fibrinogène -----> Monomères

↓ fibrine

Fibrinopeptides A et B

↓ Fibrine insoluble dans l'urée

2.3. La fibrinolyse

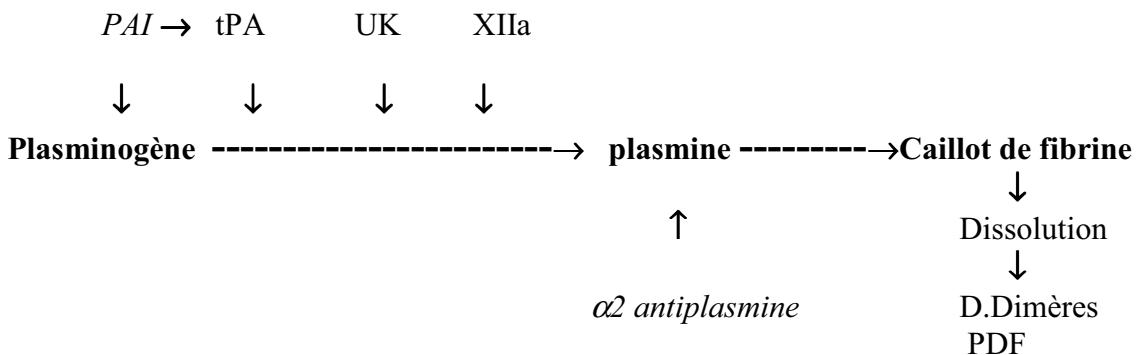
C'est un système de contrôle ultime de l'hémostase et dont le rôle principal est d'éliminer *in vivo* les dépôts de fibrine : thrombolyse physiologique.

Les facteurs de la fibrinolyse sont : le plasminogène, les activateurs du plasminogène (tPA, autres activateurs), les inhibiteurs de la fibrinolyse (de l'activation du plasminogène et les antiplasmines).

Les séquences de la fibrinolyse s'effectuent en deux étapes : l'activation du plasminogène et la dégradation de la fibrine par la plasmine (schéma n° 3).

Schéma n° 3 : les séquences de la fibrinolyse

Activation du plasminogène



3. Indications

Le test d'hémostase est indiqué (2) :

- en chirurgie, dans le cadre d'un bilan standard pré-opératoire et devant toute hémorragie non expliquée
- en médecine pour le diagnostic des syndromes hémorragiques (purpura, hématomes...) et des manifestations thrombotiques, la surveillance de traitements anticoagulants (antivitamines K, héparinothérapie...) (3)(4), l'évaluation de la fonction hépatique, le diagnostic étiologique des maladies vasculaires (5).

4. Exploration de base de l'hémostase

4.1. Les tests

4.1.1. Les tests explorant l'hémostase primaire

- a) Le test fondamental d'exploration de l'hémostase primaire est le temps de saignement (TS). C'est le temps nécessaire à l'arrêt du saignement provoqué par une coupure qui n'atteint que des vaisseaux superficiels de faible diamètre. L'hémostase primaire est suffisante pour arrêter le saignement des vaisseaux de faible diamètre. C'est

un test global qui, s'il est normal, permet de dire que l'hémostase primaire est normale....à condition qu'il soit bien réalisé de façon standardisée par un personnel entraîné.

C'est un test réalisé *in vivo*. Plusieurs techniques ont été développées.

Technique de Duke

L'incision est réalisée au niveau du lobe de l'oreille avec un vaccinostyle ou microlance et le recueil de sang se fait par l'intermédiaire d'un papier buvard.

Méthode d'Ivy

On détermine le TS au niveau de 3 points de piqûre à l'avant bras sous une pression stable et continue de 4 cm de mercure. Les piqûres sont réalisées avec des microlances.

Il existe dans le commerce des dispositifs à usage unique qui permettent de mieux standardiser ce test et qui sont plus sensibles : ce sont les techniques Ivy-incision ("Simplate" et "Surgicut", respectivement des laboratoires Organon et Ortho Diagnostic).

Méthode *in vitro*

Le temps de saignement *in vitro* avec du sang total est maintenant possible avec PFA-100 (*platelet function analyzer*) (6)(7).

b) Un allongement du TS doit faire rechercher une anomalie des plaquettes. Une thrombopénie (déficit quantitatif) est révélée par l'hémogramme et une thrombopathie (déficit qualitatif) par l'exploration des fonctions plaquettaires notamment l'agrégation.

c) Le dosage du fibrinogène fait partie également de l'exploration de l'hémostase primaire.

4.1.2. *Les tests explorant l'hémostase secondaire*

On entend par exploration de l'hémostase secondaire l'exploration des mécanismes procoagulants. Cette exploration se fait par des tests *in vitro* exclusivement. Elle est réalisée par la détermination du temps de céphaline avec activateur (TCA), du temps de Quick (TQ) et du fibrinogène (facteur de coagulation n° I) et éventuellement des autres facteurs de coagulation.

4.1.3. Les tests explorant la fibrinolyse

Globalement, la fibrinolyse est explorée par la présence des produits finaux de lyse de la fibrine ou du fibrinogène. La recherche des produits de dégradation de la fibrine PDF ou des D-dimères se fait par méthode immunologique (8).

Le taux plasminogène est également déterminé dans le plasma.

4.2. Les méthodes de réalisation des tests de l'hémostase secondaire

4.2.1. La méthode manuelle

C'est la technique la plus ancienne . La réalisation des tests dans leur totalité se font entièrement à la main : mise en présence du plasma et des réactifs, mélange du plasma et des réactifs, détection de la formation du coagulum à l'aide d'un chronomètre.

Deux méthodes peuvent être utilisées :

- la méthode de KOLLER, la détection de la coagulation formée se fait par l'intermédiaire d'un crochet,
- la méthode de QUICK, l'inclinaison répétée à 80° du tube à hémolyse permet de voir la transformation du plasma liquide en solide.

Dans les deux cas, la lecture doit se faire par un technicien bien expérimenté.

4.2.2. Technique semi-automatique

Une partie de la réalisation des tests d'hémostase est effectuée à la main. Un semi-automate se charge de l'autre partie.

Le plasma et les réactifs sont pipetés à la main. Le cuve réactionnel est mis sur le semi-automate, le mélange se fait de façon continue par l'intermédiaire d'une barrette magnétique contenue dans chaque cuve et la détection du coagulum se fait également par l'appareil.

Plusieurs principes peuvent régir la détection de la coagulation :

- soit le principe de SCHNITGER et GROSS, les deux électrodes sont placées dans l'échantillon. L'un, muni de crochet, effectue des mouvements de va et de vient et l'autre sans crochet reste en permanence dans la cuvette. Un chronomètre est incorporé

dans l'appareil. La formation de la coagulation entraîne une circulation de courant électrique et l'arrêt du chronomètre.

- soit le principe de viscosité, qui utilise une lame ou une bille dans la cuvette. Une détection chronométrique fait la mesure à partir de l'augmentation de la viscosité du plasma entraînant une diminution de l'amplitude.

- soit le principe « ball coagulometer », un barreau magnétique bien agité dans la cuvette conique effectue un mouvement qui est suivi par un détecteur chronométrique. La formation de coagulation entraîne un changement de position et de mouvement du barreau.

4.2.3. Technique automatique

Le prélèvement du plasma et des réactifs, le mélange ainsi que la détection du temps de coagulation sont pris entièrement en charge par l'automate après programmation du manipulateur.

L'appareil de mesure est équipé d'un support informatique : un système d'exploitation (logiciel), un écran tactile ou un clavier alpha numérique, une imprimante. L'identification des tubes se font souvent par des étiquettes à codes à barres.

L'appareil de mesure est formé par : une zone de pipetage, un bloc de mesure au niveau duquel on réalise l'analyse.

La mesure se fait soit par la méthode de viscosité, soit par le module photométrique permettant la réalisation des tests colorimétriques et immunologiques.

De nouveaux appareils portables sont actuellement développés permettant la mesure du taux de prothrombine avec du sang total ou du plasma au lit du malade. Cet appareil est idéal pour suivre la prise des anticoagulants surtout chez les malades en soins intensifs. (9)

5. Contrôle de qualité

5.1. Au niveau de l'étape préanalytique

La qualité des résultats dépend étroitement de celle du prélèvement qui parvient au laboratoire d'analyse. De nombreux impératifs doivent être observés.

5.1.1. *Prélèvement*

Les conditions de prélèvements sont primordiales, leurs qualités conditionnent la fiabilité des résultats communiqués au clinicien quelque soit la méthode utilisée.

Les échantillons sont prélevés par ponction veineuse franche, avec garrot peu serré, à l'aide d'une aiguille de calibre suffisant. Le prélèvement à la seringue est déconseillé. Il faut prélever tout de suite dans un tube avec anticoagulant. Le mieux est de privilégier le prélèvement par système sous vide type Vacutainer.

L'usage du verre est à proscrire puisqu'il provoque une activation de la coagulation.

Pour éviter la contamination par des facteurs procoagulants lors de la ponction veineuse, les premiers millilitres de sang seront rejettés.

L'anticoagulant de choix est le citrate trisodique 3,2 % (10), en respectant le rapport un volume d'anticoagulant et 9 volumes de sang prélevé. Il faut bien mélanger suffisamment et modérément sans produire de mousse ni créer une hémolyse.

Le patient doit être à jeun ou ne pas avoir absorbé de corps gras. Si possible, il doit être préalablement au repos (physique et moral).

Toute prise de médicaments dans les heures et jours précédents sera indiquée : prise d'aspirine, traitement aux antivitamines K ou héparine.

Il est important de conserver les prélèvements à température ambiante et non à 2-8°C avant de les acheminer au laboratoire.

5.1.2. *Préparation du plasma*

Les échantillons sont centrifugés pendant 10 à 15 minutes entre 2000 à 3000 tours par minutes (environ 1500g) afin d'obtenir un plasma pauvre en plaquettes. On décante soigneusement le plasma. Cette séparation doit être réalisée le plutôt possible après le prélèvement.

Le plasma doit être laissé à la température ambiante (20-25° C) jusqu'à l'exécution du test. Il faut couvrir les échantillons afin de prévenir des changements de pH qui peuvent influer sur les résultats. Le test doit être réalisé dans les 2 à 4 heures suivant le prélèvement (4 heures pour le taux de prothrombine et 2 heures pour le reste). Sinon la conservation doit se faire à -20°C et valable pendant 1 mois ou -70°C pour une année.

En général, pour les méthodes manuelle et semi-automatique, il faut réaliser le test des échantillons et des contrôles en double. On retiendra la moyenne des doubles déterminations.

5.1.3. Préparation du matériel et des réactifs

Les réactifs seront reconstitués et mis à la température du laboratoire en général pendant 15 minutes, la température du corps humain à 37°C doit être obtenue de façon stable sur le bain marie avant la réalisation des tests.

5.2. Au niveau de l'étape analytique, évaluation de la méthode utilisée

Avant chaque série d'analyses, des plasmas témoins devraient donner les résultats escomptés avec la même procédure et les mêmes réactifs.

Quelques paramètres permettent d'évaluer la méthode utilisée :

- l'étude de la précision des résultats obtenus : répétabilité et reproductibilité sur pool de plasma normal et pool de plasma pathologique,
- l'étude de la linéarité,
- la recherche de contamination : inter-spécimen et inter-réactif,
- la corrélation avec d'autres dosages,
- la praticabilité des tests.

5.3. Les indicateurs de contrôle de qualité

La qualité de prestation d'un laboratoire peut s'apprécier par plusieurs paramètres, notamment (11):

- le pourcentage de problème pré-analytique,
- le score de compétence du personnel,
- le résultat d'évaluation de qualité externe,
- le pourcentage de coefficient de variation (CV) de contrôle de matériel,
- le coût,
- le délai de résultat,
- la satisfaction du client.

DEUXIEME PARTIE

NOTRE ETUDE

1. Objectif

En réalisant cette étude, nous nous sommes fixé comme objectifs :

- de faire connaître l'utilité des tests d'hémostase,
- d'évaluer la mise au point de la technique manuelle des tests d'hémostase pour améliorer sa réalisation.

2. Présentation

L'Hématologie étudie la physiologie et la pathologie du sang. Celui ci est composé de cellules qui flottent dans une substance liquide jaune ambrée, le plasma.

Le sang circule dans le système vasculaire de façon continue et régulée par le système cardiovasculaire. Il participe au maintien de l'intégrité des vaisseaux par certains de ces constituants qui interviennent dans l'hémostase.

Les **plaquettes** (ou thrombocytes) constituent le troisième type de cellules sanguines après les hématies et les leucocytes. Il s'agit de cellules anucléées provenant de la fragmentation d'une cellule médullaire, le mégacaryocyte. Elles jouent un rôle essentiel dans la prévention et l'arrêt des hémorragies dans le cadre de l'hémostase primaire. Elles sont consommées au cours de l'hémostase. Leur durée de vie est d'environ une semaine.

Le plasma correspond à la portion du sang qui ne contient pas les cellules sanguines. Il peut être obtenu, après recueil du sang dans un tube anticoagulé, par sédimentation ou plus rapidement par centrifugation. En très grande partie constitué d'eau (92%), le plasma contient : des électrolytes et des sels minéraux (Na, K, Ca ...), des produits des métabolismes cellulaires (urée, bilirubine, Co2 ...), des enzymes, des hormones, des nutriments (glucides, lipides) et des protides.

Le taux normal des protides sanguins est de 70 g/l. La répartition des différentes protéines peut être explorée par électrophorèse qui sépare un pic étroit correspondant à l'albumine et les reste des protéines dénommées globulines. Chaque fraction peut être

quantifiée. Parmi les globulines, deux groupes ont une grande importance en hématologie : les immunoglobulines ou gammaglobulines et les protéines de la coagulation.

L'hémostase secondaire est assurée par les protéines de la coagulation. Elle s'explique essentiellement par trois tests : le temps de Quick (TQ), le temps de céphaline avec activateur (TCA) et le taux de fibrinogène.

3. Matériels et méthodes

3.1. Etude

Une étude descriptive à la fois rétrospective et prospective a été réalisée à partir des résultats des tests d'hémostase dans le laboratoire d'hématologie CHU-HJRA durant la période allant de 2002 en mai 2003.

3.2. Cadre d'étude : unité paraclinique de formation et de recherche en Hématologie CHU-HJRA.

Cette unité fait partie des unités paracliniques du CHU. Ses activités se rapportent à deux rubriques : l'hématologie cellulaire et l'hémostase.

Elle dessert des patients venant à titre externe et des patients hospitalisés dans différents services cliniques du CHU HJRA et des autres hôpitaux : CHU HJRB, Maternité et Hôpitaux pédiatriques, hôpitaux périphériques (Fenoarivo, Itaosy) et des patients référés des autres provinces ou des environs immédiats d'Antananarivo.

Les prélèvements provenant des malades hospitalisés sont effectués au lit du malade et transférés au laboratoire dans un délai maximum de 2 heures 30minutes. Pour les malades venant à titre externe, la ponction veineuse est réalisée dans le centre de prélèvement des laboratoires du CHU HJRA.

3.3. Les tests

Les tests suivants sont réalisés pour l'exploration de l'hémostase :

- le temps de saignements (TS),
- la numération des plaquettes dans le cadre de l'hémogramme,
- le temps de Quick (TQ), le taux de prothrombine (TP), INR (*International Normalized Ratio*),

- le temps de céphaline avec activateur (TCA),
- le taux de fibrinogène,
- le taux des autres facteurs de coagulation.

Notre étude porte surtout sur la détermination du TQ, du TCA et du taux de fibrinogène, explorant globalement l'hémostase secondaire. Ils ont été effectués selon la méthode manuelle.

3.4. Réactifs et matériels

a) Matériels et consommables

Nous avons eu besoin des matériels suivants :

- un bain-marie thermostaté,
- un chronomètre,
- des crochets,
- des tubes à hémolyse avec les portoirs correspondants,
- des micropipettes à volume variable,
- des embouts.

b) Réactifs et contrôles

Les réactifs utilisés ainsi que les plasmas de contrôle normal et pathologique ont été fournis par les laboratoires Human et BioMérieux.

3.5. Réalisation des tests

3.5.1. La phase pré-analytique

La phase pré-analytique a été respectée autant que possible.

a) le prélèvement

Nous avons utilisé un tube citraté à 0,38 mmol/litre. L'anticoagulant pour les tubes délivrés aux services cliniques est préparé par le laboratoire avec 200 µl de solution citratée à 0,38 mmol/litre pour l'adulte et 100µl pour les enfants. Les tubes servant au prélèvement pour les malades externes dans le centre de prélèvement du CHU HJRA sont des tubes citratés sous vide type Vacutainer.

Pour les prélèvements à titre externe réalisés au centre de prélèvement, le personnel a déjà été formé préalablement concernant les conditions de prélèvement : utilisation d'un garrot peu serré et maintenu le moins longtemps possible, non recueil

des premières gouttes de sang dans le tube citraté, mélange immédiat du sang avec l’anticoagulant par des retournements itératifs mais modérés.

Par contre, les prélèvements au lit du malade effectués par le personnel paramédical des services cliniques n’ont pas été supervisés. Il leur est demandé de mentionner tout incident survenant au cours du prélèvement sur la fiche de demande qui doit également comporter l’identité et la qualité du prélèveur.

b) la préparation de l’échantillon

Les prélèvements réalisés au centre de prélèvement sont traités dans l’heure qui suit le prélèvement. Pour les malades hospitalisés, tout échantillon qui parvient au laboratoire plus de deux heures trente minutes après le prélèvement est refusé et refait. Une fiche de non conformité délivrée par le laboratoire au moment de la réception des prélèvements est transmise au service clinique concerné (cf Annexe 1).

Les échantillons sont tout de suite centrifugés à 2000 tours par minutes pendant 10 minutes et le plasma est séparé du culot globulaire dans des tubes bien identifiés.

c) la préparation du matériel et des réactifs

Le bain marie est branché à 37 °C. Les réactifs à utiliser sont préalablement remis à température ambiante. Eventuellement, les réactifs sont reconstitués selon la procédure requise par le fournisseur.

3.5.2 La phase analytique

Pour chaque test, les contrôles normal et pathologique sont effectués en premier. Une valeur non adéquate entraîne une remise en question du test. La cause de l’erreur doit être recherchée et corrigée avant de passer aux plasmas des patients.

Une double détermination est réalisée pour chaque test. La moyenne des deux déterminations est ensuite retenue. Il arrive qu’on refasse le test jusqu’à quatre ou cinq fois.

La valeur normale de chaque paramètre n’a pas de valeur absolue. Elle varie selon la méthode et les réactifs.

La notion de la valeur de référence varie aussi selon les laboratoires mais les variations physiologiques sont communément admises.

Selon l'âge

Les enfants de bas âge et surtout le nouveau-né ont un statut hypocoagulabilité relative avec une tendance hémorragique(12).

Selon l'état physiologique

Chez la femme enceinte, certains auteurs affirment que la grossesse n'a aucune influence sur l'hémostase (13). Selon d'autres par contre, la valeur des paramètres d'hémostase est différente pendant la deuxième et la troisième trimestres.(14)

Selon les habitudes

La fibrinogénémie serait plus élevée chez le fumeur (15).

3.5.3. La phase post-analytique

Dans la chaîne de l'automate d'hémostase, la phase post-analytique est elle aussi entièrement automatisée avec un réseau de communication polyvalent, la gestion automatisée du contrôle de qualité, l'accès au système expert, un gestionnaire de traçabilité (GBEA), le e-commerce voire les études et conseils en organisation et en réorganisation de fonctionnement du laboratoire.

Par contre, avec la méthode manuelle, tous ces processus sont pris en charge par une personne responsable.

Avant de rendre les résultats définitifs, la validation analytique permet d'éviter les éventuelles erreurs. Elle se fait en rapport avec les contrôles. Elle est réalisée par une personne responsable sous la supervision du chef de laboratoire.

La validation biologique est valable pour toutes les méthodes. Celle-ci est réalisée par un biologiste. Dans le cas de l'UPFRH, elle est assurée par le chef de laboratoire. Les résultats seront rendus avec une conclusion et des commentaires le cas échéant.

Le délai de livraison des résultats est de 3 heures en moyenne pour les bilans normaux et de une heure pour les urgences.

Le coût des analyses est en général beaucoup plus faible par rapport aux autres laboratoires.

4. Détermination du temps de Quick

4.1 .Principes

Le temps de Quick (TQ) est un test global qui explore la coagulation extrinsèque. Il consiste à déterminer le temps de coagulation d'un plasma, à 37°C en présence d'un excès de thromboplastine tissulaire et de calcium.

La conversion du temps de Quick, en pourcentage par rapport au temps de Quick du témoin normal, donne la valeur de taux de prothrombine (TP).

Le taux de prothrombine permet d'apprécier l'activité prothrombinique du plasma à tester comparativement à un plasma témoin servant de référence (=100%). Il dépend des facteurs II, V, VII, et X.

L'INR (*International Normalized Ratio*) représente un paramètre qui permet de suivre les traitements antivitamines K et correspond au rapport du temps de Quick du malade sur le temps de Quick du témoin, multiplié par l'ISI ou Index de Sensibilité Internationale du réactif utilisé. L'ISI évoque un coefficient de correction de la thromboplastine utilisée par rapport à une thromboplastine de référence (ISI=1).

4.2 .Technique

Le plasma est incubé dans le bain-marie à 37° C pendant une minute puis on ajoute de la thromboplastine calcique préchauffée à 37°C. Le chronomètre est déclenché avec l'addition du réactif et tout est bien mélangé. On enregistre le temps de formation du caillot à l'aide du crochet qui accroche le caillot formé. C'est le temps de Quick qui est interprété par rapport au temps témoin.

Une courbe de référence (droite de Thivolle) est établie à partir de la détermination du temps de Quick de plusieurs dilutions 1/2,1/4, 1/8, 1/16 correspondant respectivement à 50 %, 25 %, 12,5 % et 6,25 % de taux de prothrombine.

4.3 .Valeur normale

Les valeurs de référence utilisées varient d'un laboratoire à l'autre selon la technique utilisée.

La valeur normale du temps de Quick est de 10 à 13 secondes suivant la thromboplastine. A l'UPFRH, elle est de 12 à 13 secondes.

En général, la valeur normale de taux de prothrombine se situe entre 75 à 100 %.

La valeur de l'INR varie selon les conditions clinique et thérapeutique ainsi que les différentes écoles . Ainsi, le tableau 1. résume les valeurs de l'INR retenues selon les cas cliniques et les tendances : recommandations françaises selon le Groupe d'Etude d'Hémostase et de Thrombose (GEHT) et recommandations américaines selon l'ACCP.

Tableau 1. Valeur de l'INR selon les écoles

cas cliniques	recommandations françaises (GEHT)	recommandations américaines (ACCP)
prévention primaire des thromboses veineuses	2 à 3	2 à 3
traitement des thromboses veineuses et embolies pulmonaires	2 à 3	2 à 3
prévention des embolies systématiques	2 à 3	2,5 à 3,5
prothèse valvaire mécanique	2 à 3	2,5 à 3,5
embolies systémiques récidivantes	3 à 4,5	2 à 3

5. Détermination de TCA ou Temps de céphaline avec activateur

5.1. Principe

Le temps de céphaline avec activateur est un test global qui explore la coagulation intrinsèque. Il consiste à déterminer le temps de coagulation d'un plasma à 37° C, en présence d'un substitut plaquettaire et d'un activateur.

5.2. Technique

On mélange le plasma avec un activateur. On incube le mélange dans le bain-marie à 37°C. Ensuite, on recalcifie le mélange en ajoutant de chlorure de calcium

préchauffé à 37°C et toujours en bien mélangeant le tout, on déclenche immédiatement le chronomètre. Le temps de coagulation est repéré à l'aide du crochet et le temps de formation du caillot est enregistré.

5.3. Valeur normale

Le T.C.A. normal varie suivant les activateurs, les céphalines commerciales et les appareils utilisés, de 30 à 40 s en général. La limite de la zone de normalité, à déterminer par chaque laboratoire, est située entre 6 à 10 secondes au dessus du témoin.(13)

La valeur limite minimale approximative est située entre 20 et 25 secondes; La valeur limite maximale approximative entre 32 et 40 secondes. Les nouveaux-nés ont normalement un TCA allongé par rapport aux adultes. Le TCA atteint 55 secondes à la naissance et diminue graduellement jusqu'au taux normal de l'adulte à 6 mois (16). Toutefois, les nouveaux-nés ne saignent pas du fait d'un équilibre maintenu entre les facteurs procoagulants et les anticoagulants physiologiques.

6. Dosage du fibrinogène

6.1 .Principe

Le temps de thrombine est le temps de coagulation d'un plasma après addition d'une faible quantité de thrombine. Ce temps dépend des facteurs ayant une action sur la vitesse de la fibrinoformation, à l'exception du facteur XIII. Il est sensible au taux de fibrinogène et surtout à la présence éventuellement d'un inhibiteur de la fibrinoformation.

Lorsqu'un plasma dilué est mis en présence d'un excès de thrombine, le logarithme du temps de coagulation est en relation linéaire avec le logarithme de la concentration en fibrinogène du plasma étudié.

6.2. Technique

Le plasma dilué en général au dixième avec un diluant est mis au bain- marie à 37°C. On ajoute une faible quantité de thrombine et en même temps on déclenche le chronomètre jusqu'à ce qu'on obtienne une coagulation.

6 .3. Valeur normale

Chez l'adulte : le taux de fibrinogène varie entre 2 à 4 g/l

Chez l'enfant : il varie entre 1,5 à 3g /l

7. L'assurance qualité

7.1. Responsabilité de la personne chargée de l'assurance qualité

Le système d'assurance de qualité du laboratoire d'hématologie est assuré par le chef de service ou responsable d'unité qui est un médecin biologiste ayant la formation, la compétence et l'expérience nécessaire pour accomplir cette tâche.

a) En ce qui concerne le personnel, elle assure :

- la mise en œuvre des procédures opératoires concernant l'hygiène et la sécurité des personnels;
- la formation de l'exécutant de chaque opération réalisée au laboratoire pour une meilleure qualification et une acquisition d'expérience appropriée ;
- la sensibilisation du personnel à la notion d'assurance de qualité et à la mise en œuvre des pratiques "qualité";

b) En ce qui concerne les procédures et modes opératoires, elle assure :

- leur validation ;
- leur mise en œuvre ;
- l'information du personnel de toute modification de procédure, cette modification approuvée doit être écrite, datée et communiquée au personnel. Celui-ci est formé à son application.
- leur conservation dans un fichier chronologique.

c) En ce qui concerne le contrôle de qualité, elle s'occupe de :

- la gestion du programme de contrôle de qualité du laboratoire ;
- la bonne utilisation des données fournies par le contrôle de qualité et de la correction des anomalies ;

- la maintenance du bon fonctionnement des appareillages ;
- la bonne tenue des documents qui concourent à la traçabilité.

7.2. *Contrôle de qualité interne*

Le contrôle de qualité interne est indispensable pour permettre de déceler les anomalies et les erreurs des mesures pour y remédier immédiatement. Dans l'UPFRH, il est organisé par le biologiste chef de laboratoire.

Il comporte toutes les mesures destinées à vérifier les différentes phases de l'activité permettant l'obtention des résultats, et notamment l'analyse d'échantillons de contrôle effectuée dans les mêmes conditions que celles appliquées aux échantillons biologiques.

Les procédures opératoires précisent la fréquence de passage des échantillons de contrôle et les valeurs acceptables pour chaque constituant. Elles comportent également les instructions concernant les mesures à prendre en cas d'anomalies constatées.

Le contrôle de qualité interne vérifie également la validité des tests appliqués. Nous avons étudié la précision des résultats obtenus par l'étude de la répétabilité et de la reproductibilité sur pool de plasma normal et de la linéarité du dosage du fibrinogène.

7.2.1. *Reproductibilité*

La reproductibilité, appelée également précision inter séries, est une procédure qui va vérifier que le test donne des résultats semblables (dans les limites établies) à chaque mesure et analyse d'un même échantillon au cours de séries différentes.

L'étude de la reproductibilité a été réalisée avec des pools de plasmas normaux : 49 pools pour le TQ, 45 pour le TCA et 37 pour le fibrinogène. Nous avons fait trois dosages pendant 3 jours successifs sur le même plasma. Le résultat obtenu est résumé sur le tableau suivant.

Le coefficient de variation est la formulation en pourcentage de la dispersion des données (écart type) par rapport à la moyenne.

$$CV (\%) = \text{écart type} / \text{moyenne} \times 100$$

Tableau 2. Reproductibilité des tests d'hémostase

<i>Test</i>	<i>nombre</i>	<i>moyenne</i>	<i>DS</i>	<i>CV %</i>
TQ	49	12,79	0,2	1,56
TCA	45	30,54	0,007	0,25
Fibrinogène	37	2,75	0,3	0,98

7.2.2. Répétabilité

La répétabilité est la capacité à reproduire des résultats semblables lors de la répétition de la même analyse. Elle donne le degré de proximité des résultats lors d'une analyse répétée d'un même échantillon.

Pour étudier la répétabilité des mesures du TQ, du TCA et du fibrinogène, nous avons fait quatre mesures successives dans les mêmes conditions (technicien, méthode et mode opératoire, réactif) sur 5 pools de plasmas normaux. Le résultat est représenté sur le tableau suivant :

Tableau 3. Répétabilité des tests d'hémostase

<i>Test</i>	<i>nombre</i>	<i>moyen</i>	<i>DS</i>	<i>CV %</i>
TQ	5	14,5	0,41	2,82
TCA	5	33,35	0,46	1,37
Taux de fibrinogène	5	2,82	0,52	3,39

7.2.3. Linéarité du dosage du taux de fibrinogène

La linéarité est la capacité à obtenir des valeurs cibles (valeurs de référence ou calculées) pour divers niveaux de concentration dans les limites spécifiées.

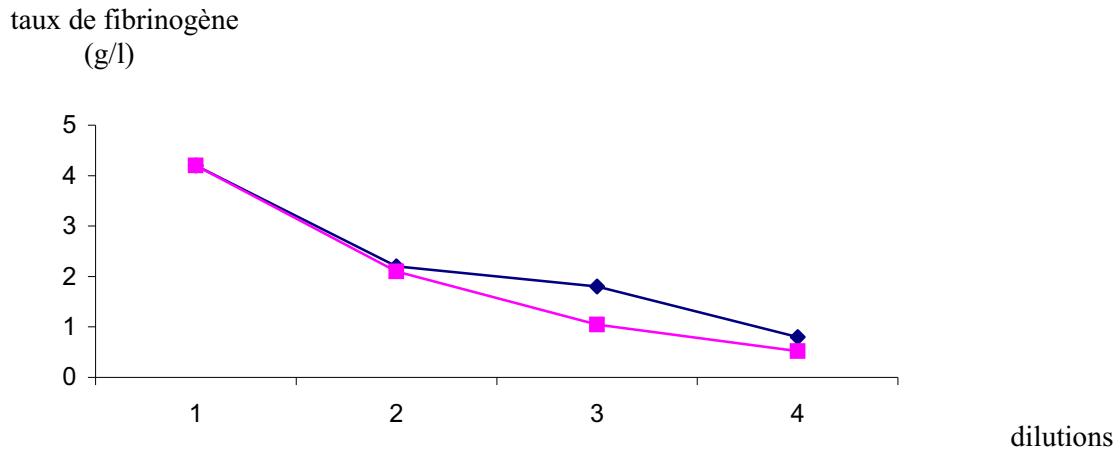


Figure 1. Linéarité du taux de fibrinogène

1 = pure 2 = dilution 1/2 3 = dilution 1/4 4 = dilution 1/8

La linéarité du taux de fibrinogène (méthode de Von Clauss) a été testée à partir d'un plasma dont le taux de fibrinogène était à 4,2 g/l. Des dilutions successives avec du tampon salin « Hemostat IBS» de Human ont permis d'obtenir un domaine de mesure allant jusqu'à 0,8 g/l. Nous avons poussé nos dilutions jusqu'à 1/8 .

Dans notre étude, les résultats montrent que le dosage du fibrinogène est linéaire dans le domaine testé soit de 0,8 g/l à 4,2 g/l. La figure 1 présente deux courbes : celle du dessus montrent les valeurs obtenues après les dilutions, l'autre représente les valeurs théoriques.

7.3. Contrôle de qualité externe

Pour le moment, l'UPFRH n'est pas affiliée à un système de contrôle de qualité externe. Mais cette affiliation fait partie de ses préoccupations majeures. Les réglementations concernant les laboratoires d'analyses médicales ne sont pas encore en place.

RESULTATS

1. Les malades

Pendant la période de 13 mois, nous avons reçu 1203 demandes de tests d'hémostase parmi lesquels 699 (58,10 %) sont des malades à titre externe et 504 (41,90 %) des malades hospitalisés (Tableau 4.)

Tableau4. Répartition générale des malades

<i>Provenance</i>	<i>Malades hospitalisés</i>	<i>Malades externes</i>	<i>Total</i>
Effectif	504	699	1203
Pourcentage	41,90 %	58,10 %	100 %

Plus de la moitié des malades hospitalisés proviennent des services chirurgicaux. En général, compte tenu des renseignements cliniques fournis, les tests d'hémostase sont demandés pour le bilan pré-opératoire, devant une hémorragie non expliquée ou pour adapter un traitement antithrombotique (Tableau 5.)

Tableau 5. Répartition des malades hospitalisés selon le service

<i>SERVICE</i>	<i>MEDECINE</i>	<i>CHIRURGIE</i>	<i>PEDIATRIE</i>	<i>MATERNITE</i>	<i>TOTAL</i>
EFFECTIF	180	282	16	26	609
Pourcentage	35,72 %	55,95 %	3,17 %	5,16 %	100 %

Environ le tiers des malades sont issus des services de médecine. Le bilan d'hémostase est demander en général pour évaluer la fonction hépatique, rechercher l'origine des syndromes hémorragiques, pour surveiller un éventuel traitement antithrombotique ou encore pour explorer l'état hémostatique au cours des maladies malignes.

Le reste des malades proviennent du département mère enfant qui a été représenté dans 3,49 % des cas. Les principales indications concernent les grossesses à opérer ou d'autres bilans pré-opératoires mais aussi plus rarement le diagnostic de certaines maladies congénitales (déficit en facteur de coagulation...) (Tableau 5.)

Tableau 6. Répartition des malades dans les services chirurgicaux

SERVICE	NC	C-VISC	REA	ORL	URO	TRAUT	C-VASC	URG	CH-INF	TOTAL
EFFECTIF	87	38	67	10	41	18	14	6	1	282
%	30,85	13,48	23,76	3,55	14,54	6,38	4,96	2,13	0,35	100

NC : Neuro-Chirurgie
 C-VISC : Chirurgie viscérale
 REA : Réanimation Chirurgicale
 ORL : Oto-Rhino-Laryngologie
 TRAUT : Traumatologie
 C-VASC : Chirurgie vasculaire
 URG : Urgences chirurgicales
 CH-INF : Chirurgie Infantile

Les malades chirurgicaux pour lesquels un test d'hémostase a été prescrit proviennent en premier lieu du service de Neuro-Chirurgie suivi par les services de réanimation.

Tableau 7. Répartition des malades issus des services de médecine

SERVICE	REA	ONCO	CARD	SMIP	SMR	SMME	NEURO	NEPHRO	MP	DERM	TOTAL
EFFECTIF	33	12	79	1	3	4	9	19	17	3	180
%	18,33	6,66	43,89	0,56	1,66	2,23	5	10,56	9,45	1,66	100

REA : Réanimation
 ONCO : Oncologie
 CARD : Cardiologie
 SMI : Maladie infectieuse et parasitaire
 SMR : Maladie respiratoire
 NEURO : Neurologie
 NEPHR : Néphrologie
 MP : Médecine Payante
 DERM : Dermatologie

Plus de la moitié des malades provenant des services de médecine relèvent des services de cardiologie.

Le service d'oncologie a été représenté dans 6,66 % des cas.

2. Les tests d'hémostase

Tableau 8. Répartition des tests d'hémostase par mois

DATE	TOTAL	TQ/TP	TCA	FIB	TS	ANORMAL
Mai	66	64	42	43	31	1
Juin	70	69	48	29	24	4
Juillet	108	98	75	72	38	0
Août	113	55	97	70	50	22
Septembre	72	0	72	0	61	3
Octobre	69	0	67	0	45	3
Novembre	94	69	81	28	34	9
Décembre	76	69	59	28	18	8
Janvier	110	104	84	43	28	10
Février	124	105	82	40	22	18
Mars	81	72	60	33	20	18
Avril	116	110	96	86	25	20
mai-03	104	101	87	72	17	9
TOTAL	1203	916	950	544	413	125

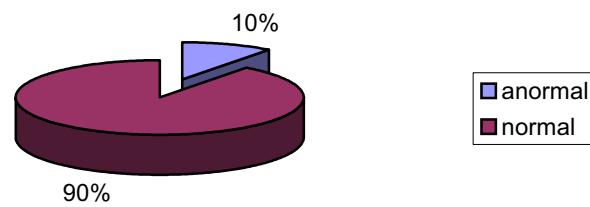


Figure 2. Pourcentage des résultats anormaux

3. Les cas de non conformité

Concernant les analyses réalisées au cours de notre étude, nous avons constaté quelques cas de non conformité :

- 11 prélèvements coagulés,
- 15 plasmas hémolysés,
- 24 plasmas trouvés incoagulables alors que les tests se sont avérés normaux après contrôle sur un autre prélèvement.

Les échantillons coagulés ont fait l'objet d'un refus immédiat avec demande d'un nouveau prélèvement pour le lendemain.

L'hémolyse est souvent constatée après centrifugation, les tests d'hémostase sont quand même réalisés et ne sont refaits que si des anomalies de résultats sont remarquées.

Les plasmas incoagulables au cours de l'analyse sont systématiquement recontrôlés sur un deuxième prélèvement.

TROISIEME PARTIE

DISCUSSION ET COMMENTAIRES

Assurer la qualité de la phase pré analytique est l'une des exigences les plus difficiles à organiser dans un laboratoire d'analyses de biologie médicale. Depuis le nombre des intervenants, jusqu'à la fragilité des constituants, nombreux sont les écueils à surmonter et les étapes à maîtriser pour assurer que les constituants des spécimens analysés sont identiques qualitativement et quantitativement, à ceux initialement présents chez le patient. Cette qualité doit être plus rigoureuse à observer pour les tests d'hémostase étant donné la fragilité et la sensibilité des facteurs de coagulation à de nombreux paramètres.

La méthode manuelle utilisée dans la réalisation des tests d'hémostase sera plus fréquente dans les pays comme Madagascar où l'automatisation est encore loin d'être effective.

Cette étude effectuée dans le but d'estimer la fiabilité de cette méthode manuelle en ce qui concerne la coagulation a permis de relever de nombreux constats.

1. Risques et erreurs

Les risques et les erreurs peuvent survenir à tous les niveaux de l'analyse biologique : au cours de la phase pré-analytique, au cours de l'analyse proprement dite ou plus rarement pendant la phase post-analytique.

1.1. Phase pré-analytique

Cette phase est commune à toutes les méthodes que ce soit manuelle ou automatique. Elle influence la qualité du plasma et conditionne ainsi le résultat.

Les cas de non conformité observés ont pu se produire au cours d'un prélèvement non correct.

Le manque de respect du rapport anticoagulant plasma peut entraîner des erreurs :

- par coagulation partielle si l'anticoagulant est insuffisant ou si le sang n'a pas bien été mélangé avec l'anticoagulant au moment du prélèvement,

- par incoagulabilité si on met trop d'anticoagulant.

L'effet d'un mauvais remplissage est plus sensible pour le TCA que pour le TQ. Il vaut mieux néanmoins s'en tenir, pour tous les types d'examens, au critère minimum des 90%.

Par contre l'hémolyse ne semble pas provoquer des erreurs sur l'analyse(17).

L'usage du verre provoque une activation de la coagulation.

La présence de facteur tissulaire dans le plasma, présent dans les premiers gouttes du sang peut induire de phénomène de coagulation avant le dosage et fausse le résultat.

Le non respect de conservation de prélèvement (intervalle de temps entre prélèvement et manipulation, température) est aussi source de beaucoup d'erreur en ce qui concerne les prélèvements réalisés à l'extérieur de laboratoire.

Toutes les valeurs pathologiques sont recontrôlées par plusieurs dosages sur le même prélèvement et d'autres dosages sur un deuxième prélèvement.

Les erreurs introduites au moment du prélèvement peuvent être dues :

- à une ponction veineuse défectueuse,
- à un anticoagulant mal adapté,
- à un non respect des conditions de prélèvement notamment
- à l'état du patient.

L'importance de cette phase pré-analytique est telle qu'elle mérite une meilleure information de la part des biologistes : pour les cliniciens prescripteurs des examens biologiques, pour le personnel paramédical qui se charge souvent du prélèvement veineux, pour les agents chargés du transfert des prélèvements au laboratoire, pour les malades eux-mêmes. Les instructions relatives à la préparation du patient et aux modalités du prélèvement doivent être communiquées clairement.

En effet, l'étape pré-analytique bien respectée réduirait fortement les pertes de temps inutiles et néfastes pour la prise en charge des malades.

1.2. Phase analytique

En ce qui concerne la phase analytique proprement dite, le respect de la procédure d'analyse est de règle.

La mise au point technique de cette procédure revient au biologiste responsable en tenant compte des spécificités de chaque réactif utilisé.

Tout laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer de procédures et de modes opératoires écrits, datés et techniquement validés afin d'assurer la qualité des résultats.

En France, la réalisation des actes de biologie doit respecter les obligations techniques prévues par la Nomenclature des actes de biologie médicale et par les textes en vigueur concernant les réactifs et les appareils de mesure.

A Madagascar, cette nomenclature devrait également être élaborée à la lumière des données internationales et actualisées selon les nécessités du pays en même temps que les textes réglementaires régissant les analyses biologiques.

A l'UPFRH du CHU HJRA, nous avons eu recours aux réactifs et plasmas de contrôle normal et pathologique de HUMAN® et BIOMERIEUX®. L'utilisation d'un pool de plasmas normaux ou pathologiques pour les contrôles a permis d'obtenir les mêmes résultats.

Au cours de l'analyse, les erreurs peuvent se produire :

a) au niveau des matériels

La contamination est une des sources d'erreurs possibles. L'utilisation d'embouts bien propres, décontaminés de façon suffisante avant la réutilisation et changés après chaque pipetage permet d'éviter cette erreur.

Ceci constitue un des avantages de la méthode manuelle où la contamination inter réactifs et inter spécimens est fortement réduite du fait de l'utilisation d'un embout propre pour chaque pipetage contrairement aux automates.

La qualité des réactifs a une grande influence sur les résultats. Cette qualité dépend de la conservation du réactif depuis sa sortie d'usine jusqu'à son utilisation en passant par le transport, de sa reconstitution, mais aussi de sa conservation entre les différentes manipulations.

Les réactifs laissés trop longtemps à la température de la paillasse peuvent s'avarier.

Il est donc important de respecter le délai de maintien des réactifs en dehors de la chaîne de froid.

b) soit par le biais du personnel,

Toutes les étapes analytiques au cours d'un mode manuel sont réalisées à la main (pipetage, mélange, lecture et comptage). L'assurance du dosage dépend donc étroitement du technicien manipulateur. Tout trouble au cours de la manipulation (fatigue, maladie, déconcentration, non expérimentation, manque de précision...) même minime peut entraîner influer sur les résultats.

c) soit par d'autres phénomènes

Il peut exister des erreurs liées à la qualité du plasma. Dans notre étude, nous avons retrouvés 10 échantillons lipémiques et 14 ictériques.

Harker (Philadelphie) a constaté que les échantillons fortement lipémiques ou fortement hémolysés peuvent modifier les résultats (18).

La proportion d'anticoagulant peut également être une source d'erreur. La quantité de citrate de sodium devrait être diminuée proportionnellement à une hématocrite au dessus de 0,53 et augmentée si l'hématocrite est en dessous de 0,25 (18).

L'alimentation peut intervenir dans l'activation des facteurs de coagulation. Tholstrup *et al* ont pu vérifier que la consommation d'acides gras insaturés augmente le taux d'activation du facteur VII que les acides gras saturés (19). Vorster *et al* (Afrique du Sud) rapportent qu'une grande consommation d'œufs augmente significativement le taux des facteurs de coagulation, notamment le fibrinogène et le facteur IX avec un raccourcissement du temps de Quick et du TCA pouvant indiquer un état d'hypercoagulabilité (20)(21)(22).

Le taux de triglycéridémie et bilirubinémie très élevé est aussi parmi la cause des erreurs sur le dosage (17)(20). Ce fait pourrait entraîner une légère hypercoagulabilité.

Estimation de la précision des résultats

Au prix d'un contrôle rigoureux, d'une sérieuse expérience des techniciens et d'une consommation de réactifs un peu plus grande, la précision et l'exactitude des résultats obtenus dans cette étude sont quand même satisfaisantes.

En effet, comparé aux autres méthodes, les coefficients de variation retrouvés dans notre série sont acceptables.

Le coefficient de variation du TCA dans toutes les variétés des tubes ne dépasse pas 10 % et pour les automates, il est situé entre 2, 6 et 6, 2 %. (23)

Les performances analytiques des automates testées sur des plasmas normaux et anormaux sont excellentes avec des CV toujours inférieurs à 5 % sauf pour les dosages de FVIII ($6,4 < CV < 11\%$).(Verdy E., Résumés des communications 2000, de GEHT)

En ce qui concerne le TCA en particulier mais aussi les autres tests en général, la précision et la fiabilité des résultats peuvent être affectée par de nombreux paramètres. Les différences interlaboratoires augmentent du fait d'un grande variété de systèmes de coagulation utilisés pour la détection du coagulum en point final (24) (25).

Les variables intra laboratoire qui pourraient intervenir sont : le pH de l'eau distillée utilisée pour la reconstitution des réactifs, la technique de pipetage, les températures d'incubation, le temps d'incubation, la contamination des réactifs, le changement de lot de réactifs (26). Les procédures de contrôle périodique de qualité aideront à identifier l'apparition d'éventuelles déviations qui pourraient mener à des erreurs dans les résultats.

1.3. Phase post-analytique

Les risques d'erreurs sont moindre à ce niveau étant donné un contrôle répété à tous les niveaux.

La validation des résultats est double : elle comporte une validation analytique, qui peut être réalisée par le personnel d'exécution sous la responsabilité du biologiste, et une validation biologique, qui est de la compétence exclusive du biologiste.

La validation analytique des examens doit être soumise à des procédures précises écrites. Elle ne doit être effectuée qu'après avoir vérifié les indicateurs de bon fonctionnement des instruments et pris connaissance des résultats du contrôle de qualité interne.

La validation biologique doit s'assurer de la compatibilité des résultats de l'ensemble des analyses réalisées pour le même patient à des temps différents, compte tenu, le cas échéant, des variations de son état clinique, des traitements subis et des résultats antérieurs.

2. Avantages et inconvénients

2.1. Avantages

La méthode manuelle est réalisable quand l'automatisation fait défaut. Elle nécessite beaucoup moins d'investissement car les automates coûtent chers.

Elle est préférable dans un laboratoire de faible activité.

L'installation des automates a besoin de plus d'emplacement. Pour le dosage manuel, à part une centrifugeuse, seul le bain-marie tient une place plus importante .

Comme il a été dit plus haut, le risque de contamination inter spécimen ou inter réactif est faible voire nul étant donné que par la méthode manuelle, on doit changer d'embout à chaque prélèvement de réactif ou de plasma.

2.2. Inconvénients par rapport aux autres techniques

Par rapport aux autres méthodes (automatique et semi-automatique), la méthode manuelle présente d'assez nombreux inconvénients :

- les risques d'erreurs relatifs au temps analytique sont plus importants,
- les risques d'erreurs liés à la manipulation, aux yeux pour la détection du coagulum et à l'état du manipulateur sont nettement plus fréquents,
- le temps imparti pour le contrôle est plus important,
- la cadence analytique est de ce fait plus faible.

On réalise classiquement un bilan minimum pour éviter une inflation de tests redondants, coûteux et consommateurs de temps, mais suffisant pour explorer l'hémostase primaire et l'hémostase secondaire avec sécurité.

Les tests doivent être de réalisation simple et rapide, sensibles, reproductibles et peu coûteux.

Le bilan standard comporte 5 tests dont la normalité assure presque toujours de l'intégrité de l'hémostase dans son ensemble : ce sont le temps de saignement, le nombre de plaquettes, le temps de céphaline + activateur (TCA), le temps de Quick ou Taux de Prothrombine (TP), le taux de fibrinogène.

Deux tests sont de plus en plus abandonnés actuellement : le temps de coagulation du sang total (TC) et le temps de Howell (TH). Ces 2 tests étaient justifiés à une époque où l'on ne disposait pas des réactifs que nous avons actuellement car le TC ne requiert aucun réactif et le TH uniquement du CaCl₂. Mais il est prouvé actuellement que le TC est vraiment trop peu sensible et laisse échapper tous les déficits modérés de la coagulation, le TH est plus sensible mais dépend nettement des conditions de prélèvement et de centrifugation qui le rendent moins standardisable que le TCA.

3. L'évaluation externe de la qualité

3.1. *Le contrôle de qualité national*

Ce terme correspond au programme d'évaluation externe de la qualité défini en France par le décret pris en application de l'article L. 761-14 du code de la santé publique. Il s'agit d'un auto-contrôle qui doit se dérouler dans un climat de confiance réciproque. Les résultats individuels produits lors de ce contrôle sont confidentiels et ne peuvent être communiqués aux autorités sanitaires que dans les conditions prévues par les textes.

La participation au programme national d'évaluation externe de la qualité est obligatoire. Tout refus de participation, ou toute insuffisance de participation, est susceptible de déclencher des sanctions pénales prévues par les textes législatifs et réglementaires en France et dans les autres pays.

Une participation loyale est indispensable pour qu'elle soit utile. Cette participation doit être un reflet exact de la pratique. Une optimisation artificielle des résultats du contrôle est inutile pour le laboratoire et nuisible pour la collectivité.

Ce n'est pas tant l'erreur qui est coupable que l'indifférence face à cette erreur qui a pour conséquence sa répétition. D'autre part, les données d'ensemble sont précieuses pour la collectivité.

Les résultats individuels et globaux de l'évaluation externe de la qualité sont analysés collectivement par toute l'équipe du laboratoire afin de remédier aux erreurs qui pourraient être objectivées. L'étude critique des anomalies détectées par le contrôle de qualité peut induire la remise en cause de la méthode utilisée au laboratoire. Il peut aussi être utile d'engager un dialogue avec les responsables du contrôle de qualité pour éclaircir les raisons d'un résultat discordant inexpliqué. Une trace des décisions induites

par les résultats de l'évaluation externe de la qualité doit être conservée en même temps que sont archivés les comptes rendus individuels du laboratoire pendant cinq ans.

La rigueur de cette démarche se justifie parce qu'elle aboutit à une bonne information des biologistes sur la qualité de leurs prestations. Ces informations permettent aux biologistes de corriger les anomalies mises en évidence, démarche normale de tout biologiste.

Lorsque les résultats du contrôle de qualité d'un laboratoire présentent des anomalies répétées ou importantes au regard de leur utilisation médicale, le cas de ce laboratoire est soumis anonymement à la commission chargée du contrôle de qualité qui se prononce sur le caractère de gravité de ces anomalies. En France, lorsque celles-ci sont jugées graves, le laboratoire est obligatoirement signalé par le directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé au ministre chargé de la santé à qui il communique les résultats, en vue de réaliser un contrôle prévu à l'article L.761-13 du code de la santé publique.

A Madagascar, de tels textes réglementaires devraient être érigés afin d'améliorer la qualité et la fiabilité des résultats biologiques en général et en particulier en hématologie.

3.2. Autres contrôles externes de qualité

Le laboratoire peut aussi participer à des contrôles de qualité externes organisés par des sociétés scientifiques, des groupements de biologistes ou tout autre organisme présentant les garanties nécessaires.

La méthode manuelle est donc praticable en hémostase mais il faut une formation rigoureuse préalable du biologiste et des techniciens, un respect impératif des modalités d'analyse et un contrôle sérieux et scrupuleux des différentes étapes.

Il aurait été plus judicieux de comparer les valeurs obtenues par la méthode manuelle à celles obtenues par un appareil de référence (27). Cette étude devrait donc être reprise dans cette optique afin de mieux optimiser la comparaison. Faute de mieux, nous nous sommes limités à estimer la précision des résultats des tests d'hémostase par la méthode manuelle.

D'ores et déjà, nous nous permettons d'avancer quelques suggestions au terme de cette étude.

SUGGESTIONS

Devant ces constatations, nous pensons améliorer les résultats des analyses biologiques en proposant les quelques suggestions suivantes. Certains points méritent en effet d'être mieux ciblés.

1. Améliorer la qualité et la fiabilité des tests d'hémostase

1.1. Agir sur la phase pré-analytique

- a) décrire les obligations réglementaires et rappeler les bases scientifiques des pratiques pour :
 - améliorer la qualité de la phase pré analytique par une meilleure connaissance de son déroulement, l'identification des étapes critiques, la sensibilisation des acteurs et la mise en oeuvre d'un plan d'action,
 - favoriser le prolongement de l'action, par l'élaboration de la politique qualité de cette phase dans le laboratoire,
 - mettre en place des outils d'évaluation de l'efficacité des actions entreprises pour garantir aux patients la qualité des résultats de leurs examens biologiques.
- b) Assurer une information et une formation technique du personnel chargé du prélèvement de sang à analyser, notamment le personnel médical et paramédical des services cliniques.

1.2. Agir sur la phase analytique

Assurer également une formation technique du personnel chargé de réaliser les tests d'hémostase, ceci sous entend un formateur spécialisé et qualifié notamment le biologiste responsable du laboratoire.

Afin de minimiser les risques d'erreurs au niveau de la phase analytique, préconiser autant que possible l'utilisation d'un appareil automatique pour la réalisation des tests d'hémostase.

Agir sur la validation analytique et biologique

Organiser des formations continues des techniciens de laboratoires et des biologistes et des échanges d'expérience entre professionnels de laboratoire afin de remettre à jour les connaissances sur la biologie qui sont en évolution continue

2. Mettre en place un système de contrôle de qualité externe

CONCLUSION

A l'époque où l'automatisation a pris le dessus dans les pays industrialisés, les pays en développement restent encore dans un domaine moins avancé en matière d'équipements médicaux.

En particulier, les équipements des laboratoires d'analyse sont difficilement renouvelés du fait de leur coût.

Le domaine du manuel reste toujours prédominant en laboratoire à Madagascar. Cependant, les tests d'hémostase sont très peu pratiqués. Ils nécessitent en effet une manipulation plus délicate et une grande précision.

Le bilan d'hémostase indispensable avant tout acte chirurgical est pour cette raison très peu effectué.

Cette étude a donc été réalisée dans le but de mettre au point les tests d'hémostase pratiquée de façon manuelle.

Nous avons pu constater une grande fréquence d'erreurs nécessitant des contrôles itératifs, consommant plus de temps mais aussi de réactifs.

Dans les structures sanitaires moins importantes de faible activité, en l'absence d'automatisation, la détermination manuelle des tests d'hémostase est donc parfaitement praticable moyennant seulement une formation spécialisée des techniciens sur le système de contrôle de qualité, une consommation plus élevée de réactifs et nécessitant beaucoup plus de temps.

Dans tous les cas, l'utilisation d'automate ou de semi-automate serait souhaitable pour avoir une meilleure fiabilité des résultats et un meilleur délai de rendu de résultat : appareil automatique pour les formations sanitaires ayant une activité importante ou appareil semi-automatique pour les formations de plus faible activité.

Nous pensons avoir apporté notre modeste contribution à l'amélioration des analyses biologiques pour une meilleure prise en charge des malades. Cependant, cette étude devrait ouvrir d'autres horizons, devrait susciter d'autres plus détaillées pour le développement de la biologie médicale au service de la santé.

BIBLIOGRAPHIE

1. Zittoun R, Samama M, Marie JP. Manuel d'hématologie, 1990 ; 23-33, 447-70.
2. Shimetani N. [Hematologic and hemostatic tests availability in view of remuneration for medical services] [Article in Japanese] *Rinsho Byori*. 2002 ; 50 (8) : 786-790.
3. Prandoni P, Bagatella P, Bernardi E, *et al*. Use of an Algorithm for Administering Subcutaneous Heparin in the Treatment of Deep Venous Thrombosis. *Ann Intern Med*, 1998, 129 (4) : 299-302.
4. Kearon C, Harrison L, Crowther M, *et al*. Optimal Dosing of Subcutaneous Unfractionated Heparin for the Treatment of Deep Vein Thrombosis. *Thromb Res*, 2000, 97(6) : 395-403.
5. van Wyk V, Coetze MJ, Alexander KC, Badenhorst PN. Haemostatic profile of the San (Bushmen) relocated to Schmidtsdrif. *S Afr Med J*. 1998 ; 88 (6) : 715-6.
6. Peters AJ, Borries M, Gradaus F, Jax TW, Schoebel FC, Strauer BE. In vitro bleeding test with PFA-100-aspects of controlling individual acetylsalicylic acid induced platelet inhibition in patients with cardiovascular disease. *J Thromb Thrombolysis*. 2001;12 (3) : 263-272.
7. Wuillemin WA, Heizmann M. Interpretation of screening tests of hemostasis. Article in German. *Schweiz Rundsch Med Prax*. 2003 ; 92 (3) : 57-64.
8. Ito K, Wada H, Abe Y, Tomatsu H, Nishioka J, Nobori T. Clinical evaluation of a test for plasma fibrin/fibrinogen degradation products (FDP) based on monoclonal anti-FDP antibody technology: an application for the scoring system of the disseminated intravascular coagulation (DIC) diagnostic criteria. Article in Japanese. *Rinsho Byori*. 2003 ; 51 , 4 : 295-299.
9. Opartkiattikul N, Wongtiraporn W, Tientadakul P, Rungpitarungsi B. Application of indicators for quality improvement in the coagulation laboratory. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2002 ; 33 Suppl 2 : 131-135.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), "Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and General Performance of Coagulation Assays : Approved Guideline 3rd edition," NCCLS document H21-A3, NCCLS, 940 West Valley Road, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 1998.
11. Miguel D, Burgaleta C, Reyes E, Pascual T. Capillary whole blood testing by a new portable monitor. Comparison with standard determination of the international normalized ratio. *Am J Clin Pathol*. 2003 ;120(1):28-33.

- 12.** Okunade MA, Essien EM. Coagulation profile in healthy Nigerian neonates. *Afr J Med Med Sci.* 1998; 27(1-2):71-2.
- 13.** Docteur Denis Massignon. Maître de Conférences de l'Université. Praticien Hospitalier. Faculté de Médecine Lyon Nord. Cours d'hémostase de DCEM1.
- 14.** Obisesan KA, Adeyemo AA, Okunade MA. Haematological values in pregnancy in Ibadan, Nigeria. *Afr J Med Med Sci.* 1998; 27 (1-2) : 9-11.
- 15.** Gader A, Bahakim H, Awadalla S, Malaika S. Ethnic variations in the haemostatic system: comparison between Arabs, Westerners (Europeans and Americans), Asians and Africans. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1995 ; 6 (6) : 537-542.
- 16.** Andrew M, Paes B, and Johnston M. Development of the Hemostatic System in the Neonate and Young. *Infant Am J Pediatr Hematol Oncol,* 1990, 12(1) : 95-104.
- 17.** Ermens AA, Bury JG, Wijn-Maas EC. Evaluation of an automated hemostasis testing analyzer, the Trombolyzer Combi. *Clin Lab.* 2000 ; 46(9-10) : 463-467.
- 18.** Harker LA: Hemostasis manual. F.A. Davis Company, Philadelphia, pg 62, 1974.
- 19.** Tholstrup T, Miller GJ, Bysted A, Sandstrom B. Effect of individual dietary fatty acids on postprandial activation of blood coagulation factor VII and fibrinolysis in healthy young men. *Am J Clin Nutr.* 2003 ; 77, 5 : 1125-1132.
- 20.** Vorster HH, Silvis N, Venter CS, van Ryssen JJ, Huisman H, van Eeden TS, Walker AR. Serum cholesterol, lipoproteins, and plasma coagulation factors in South Africa blacks on a high-egg but low-fat intake. *Am J Clin Nutr.* 1987 ; 46 (1) : 52-57.
- 21.** ten Boekel E, de Kieviet W, Bartels PC. Subjects with a shortened activated partial thromboplastin time show increased in-hospital mortality associated with elevated D-dimer, C-reactive protein and glucose levels. *Scand J Clin Lab Invest.* 2003 ; 63 (6) : 441-448.
- 22.** Guirguis NG, Eicher C, Hock L, Lynch J, Graham VD, Rajagopalan PR, Guirguis A, Lazarchick J. Thromboembolic risk factors in patients undergoing kidney transplant: implication of abnormally short activated partial thromboplastin time. *Ann Clin Lab Sci.* 2003 ; 33 (4) : 396-400.
- 23.** Vladimirova SG, Tarasova LN, Savinykh EIu, Platonova GK. Effect of activators for activated partial thromboplastin time test on its results in the tube an. automated test versions. *Klin Lab Diagn.* 2002 ; (2) : 38-40.

- 24.** Poller L: Standardization of the APTT tests. Current Status. *Scand J Haematol.* 25 (Suppl 37) : 49, 1980.
- 25.** Sabo MG. Coagulation instrumentation and reagent systems. In Triplett DA : Laboratory evaluation of coagulation. *American Society of Clinical Pathologist Press, Chicago*, 1982 ; 330.
- 26.** Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T : A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry *Clin Chem.* 1981 ; 27(3) : 493-501.
- 27.** Abecassis L, Soni T, Le Bihan-Augereau F. Evaluation de l'automate d'hémostase STA-R en pratique hospitalière. *Spectra Biologie*, 1999 ; 18 : 102.

ANNEXE 1. FICHE DE NON CONFORMITE

FICHE DE NON CONFORMITE D'UNE DEMANDE D'ANALYSE BIOLOGIQUE

La demande d'analyse qui nous a été adressée n'est pas conforme au Guide de Bonne Exécution des Analyses. Nous vous prions de bien vouloir corriger cette anomalie et de nous retourner cette fiche.

Identité du patient

Médecin prescripteur

N° d'identification interne

Service demandeur

Nature du prélèvement

Examen(s) demandé(s)

I. NON CONFORMITE OBSERVEE

Demande d'analyse

Absente

Identification du patient absente ou illisible ou incomplète

Identification du médecin prescripteur absente

Identification du service demandeur absente ou illisible

Renseignements cliniques absents ou incomplets

Discordance identité prélèvement / demande

Discordance analyse demandée / prélèvement effectué

Date ou heure de prélèvement absente

Prélèvement

Absent ou récipient vide

Récipient détérioré

Mal conditionné

Non respect stérilité ou hygiène

Prélèvement coagulé

Quantité insuffisante

Récipient non conforme

Non respect rapport coagulant / sang

Nature non déterminée

Identification absente ou illisible

Transmission retardée (> 2 h)

Non respect condition de température

Autres

II. MESURES PRISES AU LABORATOIRE

ACCEPTE (sous réserve de réponse écrite à la correction demandée)

REFUSE (avec information du service prescripteur)

Antananarivo, le

ANNEXES 2. LES FACTEURS DE COAGULATION

- I** : facteur I ou fibrinogène
- II** : facteur II ou prothrombine
- V** : facteur V ou proaccélérine
- VII** : facteur VII ou proconvertine
- VIII** : facteur VIII ou antihémophilique A
- IX** : facteur IX ou antihémophilique B
- X** : facteur X ou *facteur Stuart*
- XI** : facteur XI ou *facteur Rosenthal*
- XII** : facteur XII ou *facteur Hageman*
- XIII**: facteur XIII ou facteur Stabilisant du fibrinogène (FSF)

PERMIS D'IMPRIMER

LU ET APPROUVE
Le Président de Mémoire

Signé : Professeur RASAMINDRAKOTROKA Andry

Vu et permis d'imprimer

Le Doyen de la Faculté de Médecine
Signé : Professeur RAJAONARIVELO Paul

Nom et prénoms : RABOBA Julia Liliane

Titre du mémoire : Détermination manuelle des tests d'hémostase

Rubrique : Biologie

Nombre de pages : 39

Nombre de tableaux : 8

Nombre de figures : 2

Nombre de schéma : 3

Nombre de graphiques : 0

Nombre d'annexes : 2

Nombre de bibliographies : 27

Résumé

Dans la plupart des formations sanitaires malgaches, du fait d'une faible automatisation, les analyses pouvant être effectuées de façon manuelle priment dans les laboratoires d'analyse de biologie médicale. Toutefois, la déficience en personnes qualifiées explique le faible nombre de centres sanitaires qui disposent de laboratoire d'hémostase.

Une étude rétrospective du bilan hémostatique portant sur les malades hospitalisés et externes de mai 2002 à mai 2003 a été réalisée à l'UPFR hématologie du CHU HJRA. Sur 1203 malades, 10 % ont eu un résultat anormal.

A l'UPFRH, le contrôle de qualité interne, indispensable pour permettre de déceler les anomalies et les erreurs des mesures, est organisé par le biologiste chef de laboratoire.

Nous avons étudié la précision des résultats obtenus par l'étude de la répétabilité et de la reproductibilité sur pool de plasma normal et de la linéarité du dosage du fibrinogène. La méthode manuelle est reproductible avec une déviation standard de 0,2, 0,007 et 0,3 respectivement pour le TQ, le TCA et le fibrinogène. La répétabilité est acceptable avec une déviation standard de 0,41, 0,46 et 0,52 respectivement pour le TQ, le TCA et le fibrinogène. Le dosage du fibrinogène est linéaire dans le domaine testé soit de 0,8g/l à 4,2 g/l.

La méthode manuelle en hémostase est réalisable mais nécessite un personnel bien expérimenté, consomme plus de réactifs et plus de temps. On devrait autant que possible lui préférer les méthodes automatiques afin de minimiser les erreurs.

Mots-clés: hémostase, temps de Quick, temps de céphaline, fibrinogène, manuelle, Madagascar

Directeur de mémoire: Professeur RASAMINDRAKOTROKA Andry

Adresse de l'auteur: Bloc 21 porte 3, Cité des 67 Ha Nord Ouest, 101 Antananarivo

Summary

The hemostasis profile forms part of routine pre surgical screening.

This study investigated the usefulness and practicability of manual determination of main coagulation parameters. In most of Malagasy sanitary establishment, because of lack of automation, manual assay is usual in medical biological laboratory.

Nevertheless, lack of skillful technician explains reducing numbers of hemostasis laboratory.

Retrospective study was performed in the hematological laboratory of JRA Hospital about coagulation testing from may 2002 to may 2003. Above 1203 patients, abnormal coagulation results was found in 10 % of cases.

Periodic quality control procedures are carried out by the biologist to identify the occurrence of any deviations which may lead to erroneous test results.

Accuracy and precision of results were assessed. Manual assay is reproducible with standard deviation 0,2, 0,007 and 0,3 respectively for thromboplastin time, aPTT and fibrinogen determination. Manual assay is repeatable with standard deviation 0,41, 0,46 and 0,52 respectively for thromboplastin time, aPTT and fibrinogen determination. Plasma fibrinogen assay is linear in the tested field between 0,8 g/l and 4,2 g/l.

Manual assay is practicable but requires very experienced lab technician, more reagents and more time. Mechanical method with instrument is preferable to reduce errors.

Key-words: hemostasis, aPTT, thromboplastin time, fibrinogen, manual, Madagascar

Assisted by: Professor RASAMINDRAKOTROKA Andry

Correspondance: Bloc 21 porte 3, Cité des 67 Ha NW, 101 Antananarivo