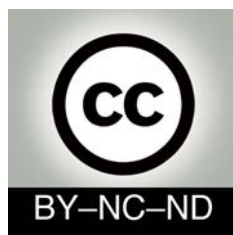


Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

**MÉMOIRE DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE**

Travail effectué dans le laboratoire d'Hémostase
Hôpital Edouard Herriot à Lyon - Pr NEGRIER
Sous la direction du Dr SOBAS Frédéric

présenté et soutenu publiquement le 20 Janvier 2016 par

Mademoiselle **JOUSSELME Emilie**
Née le 27 Décembre 1989 à Lyon 7^{ème}

Conformément aux dispositions du décret n°90810 du 10 septembre 1990, tient lieu de thèse

T H È S E
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Analyse de risques sur le processus de réalisation d'examens en biologie médicale et étude de dispositions répondant à ces risques : application en Hémostase à la mesure du Taux de Prothrombine et du Temps de Céphaline avec Activateur.

JURY

Présidente : Madame VINCIGUERRA Christine, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Membres du Jury : Monsieur NEGRIER Claude, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier
Monsieur SOBAS Frédéric, Praticien Hospitalier
Monsieur NOUGIER Christophe, Praticien Hospitalier
Madame GEAY-BAILLAT Marie-Odile, Assistante spécialiste des hôpitaux

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1

- Président de l'Université M. François-Noël GILLY
- Vice-Président du Conseil d'Administration M. Hamda BEN HADID
- Vice-Président du Conseil Scientifique M. Germain GILLET
- Vice-Président du Conseil des Études et de la Vie Universitaire M. Philippe LALLE

Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

SANTÉ

- UFR de Médecine Lyon Est Directeur : M. Jérôme ETIENNE
- UFR de Médecine Lyon Sud Charles Mérieux Directrice : Mme Carole BURILLON
- Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA
- UFR d'Odontologie Directeur : M. Denis BOURGEOIS
- Institut des Techniques de Réadaptation Directeur : M. Yves MATILLON
- Département de formation et centre de recherche en Biologie Humaine Directrice : Mme Anne-Marie SCHOTT

SCIENCES ET TECHNOLOGIES

- Faculté des Sciences et Technologies Directeur : M. Fabien DE MARCHI
- UFR de Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS) Directeur : M. Yannick VANPOULLE
- École polytechnique Universitaire de Lyon (ex ISTIL) Directeur : M. Pascal FOURNIER
- I.U.T. LYON 1 Directeur : M. Christophe VITON
- Institut des Sciences Financières et d'Assurance (ISFA) Directeur : M. Nicolas LEBOISNE
- ESPE Directeur : M. Alain MOUGNIOTTE

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1
ISPB – Faculté de Pharmacie Lyon
Directrice : Madame la Professeure Christine VINCIGUERRA

LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES

**DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE ET PHARMACIE
GALENIQUE**

- **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**

Monsieur Raphaël TERREUX (Pr)
Monsieur Pierre TOULHOAT (Pr-PAST)
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)
Monsieur Lars-Petter JORDHEIM (MCU)
Madame Christelle MACHON (AHU)

- **PHARMACIE GALENIQUE – COSMETOLOGIE**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)
Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)
Madame Françoise FALSON (Pr)
Monsieur Hatem FESSI (Pr)
Monsieur Fabrice PIROT (PU - PH)
Monsieur Eyad AL MOUAZEN (MCU)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Ghania HAMDI-DEGOBERT (MCU-HDR)
Monsieur Plamen KIRILOV (MCU)
Monsieur Damien SALMON (AHU)

- **BIOPHYSIQUE**

Monsieur Richard COHEN (PU – PH)
Madame Laurence HEINRICH (MCU)
Monsieur David KRYZA (MCU – PH - HDR)
Madame Sophie LANCELOT (MCU - PH)
Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (MCU-HDR)
Madame Elise LEVIGOUREUX (AHU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

- **DROIT DE LA SANTE**

Monsieur François LOCHER (PU - PH)
Madame Valérie SIRANYAN (MCU - HDR)

- **ECONOMIE DE LA SANTE**

Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU - HDR)

Madame Carole SIANI (MCU - HDR)
Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU)

- **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU - HDR)

- **HYGIENE, NUTRITION, HYDROLOGIE ET ENVIRONNEMENT**

Madame Joëlle GOUDABLE (PU - PH)

- **INGENIERIE APPLIQUEE A LA SANTE ET DISPOSITIFS MEDICAUX**
Monsieur Gilles AULAGNER (PU - PH)
Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)
- **QUALITOLOGIE – MANAGEMENT DE LA QUALITE**
Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBault (MCU)
Monsieur Vincent GROS (MCU PAST)
Madame Audrey JANOLY-DUMENIL (MCU-PH)
Madame Pascale PREYNAT (MCU PAST)
- **MATHEMATIQUES – STATISTIQUES**
Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU)
Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)
Madame Marie-Paule PAULTRE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

- **CHIMIE ORGANIQUE**
Monsieur Pascal NEBOIS (Pr)
Madame Nadia WALCHSHOFER (Pr)
Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU - HDR)
Madame Christelle MARMINON (MCU)
Madame Sylvie RADIX (MCU -HDR)
Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU - HDR)
- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**
Monsieur Roland BARRET (Pr)
Monsieur Marc LEBORGNE (Pr)
Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU - HDR)
Monsieur Thierry LOMBERGET (MCU - HDR)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**
Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (Pr)
Madame Marie-Emmanuelle HAY DE BETTIGNIES (MCU)
Madame Isabelle KERZAON (MCU)
Monsieur Serge MICHALET (MCU)
- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**
Madame Roselyne BOULIEU (PU - PH)
Madame Magali BOLON-LARGER (MCU - PH)
Madame Christelle CHAUDRAY-MOUCHOUX (MCU-PH)
Madame Céline PRUNET-SPANNO (MCU)
Madame Catherine RIOUFOL (MCU - PH - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

- **TOXICOLOGIE**
Monsieur Jérôme GUITTON (PU - PH)
Madame Léa PAYEN (PU-PH)
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)
Monsieur Sylvain GOUTELLE (MCU-PH)

- **PHYSIOLOGIE**
 Monsieur Christian BARRES (Pr)
 Monsieur Daniel BENZONI (Pr)
 Madame Kiao Ling LIU (MCU)
 Monsieur Ming LO (MCU - HDR)
- **PHARMACOLOGIE**
 Monsieur Michel TOD (PU – PH)
 Monsieur Luc ZIMMER (PU – PH)
 Monsieur Roger BESANCON (MCU)
 Monsieur Laurent BOURGUIGNON (MCU-PH)
 Madame Evelyne CHANUT (MCU)
 Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)
 Madame Dominique MARCEL CHATELAIN (MCU-HDR)
- **COMMUNICATION**
 Monsieur Ronald GUILLOUX (MCU)
- **ENSEIGNANTS ASSOCIES TEMPORAIRES**
 Monsieur Olivier CATALA (Pr-PAST)
 Madame Corinne FEUTRIER (MCU-PAST)
 Madame Mélanie THUDEROZ (MCU-PAST)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

- **IMMUNOLOGIE**
 Monsieur Jacques BIENVENU (PU – PH)
 Monsieur Guillaume MONNERET (PU-PH)
 Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU - HDR)
 Monsieur Sébastien VIEL (AHU)
- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**
 Madame Christine VINCIGUERRA (PU - PH)
 Madame Brigitte DURAND (MCU - PH)
 Monsieur Yohann JOURDY (AHU)
- **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE AUX BIOTECHNOLOGIES INDUSTRIELLES**
 Monsieur Patrick BOIRON (Pr)
 Monsieur Jean FRENEY (PU – PH)
 Monsieur Frédéric LAURENT (PU-PH-HDR)
 Madame Florence MORFIN (PU – PH)
 Monsieur Didier BLAHA (MCU)
 Madame Ghislaine DESCOURS (MCU-PH)
 Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU-PH)
 Madame Emilie FROBERT (MCU - PH)
- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**
 Monsieur Philippe LAWTON (Pr)
 Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)
 Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

- **BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE – BIOTECHNOLOGIE**

Madame Pascale COHEN (Pr)
Monsieur Alain PUISIEUX (PU - PH)
Madame Emilie BLOND (MCU-PH)
Monsieur Karim CHIKH (MCU - PH)
Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU - PH-HDR)
Monsieur Boyan GRIGOROV (MCU)
Monsieur Hubert LINCET (MCU-HDR)
Monsieur Olivier MEURETTE (MCU)
Madame Caroline MOYRET-LALLE (MCU – HDR)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Stéphanie SENTIS (MCU)
Monsieur Anthony FOURIER (AHU)

- **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Madame Bénédicte COUPAT-GOUTALAND (MCU)
Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU - HDR)

- **INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (Pr)
Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)
Monsieur Philippe LAWTON (Pr)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
Madame Alexandra MONTEBAULT (MCU)
Madame Angélique MULARONI (MCU)

- **Assistants hospitalo-universitaires sur plusieurs départements pédagogiques**

Madame Florence RANCHON

- **Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)**

Madame Charlotte BOUARD (86ème section)
Madame Laure-Estelle CASSAGNES (85ème section)
Monsieur Karim MILADI (85ème section)
Madame Laurence PAGES (87ème section)

Pr : Professeur

PU-PH : Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

MCU : Maître de Conférences des Universités

MCU-PH : Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier

HDR : Habilitation à Diriger des Recherches

AHU : Assistant Hospitalier Universitaire

PAST : Personnel Associé Temps Partiel

Remerciements

A Madame le Professeur Christine Vinciguerra,

Vous me faites le grand honneur de présider mon jury de thèse et je vous en remercie. Je vous ai connu en tant que professeur à partir de la 3^{ème} année de Pharmacie et je pense sincèrement que votre enseignement a fortement influencé mon avenir. Vous m'avez fait découvrir, apprécier l'Hémostase et voilà que je termine ma thèse dans ce domaine. Votre implication comme doyenne à la faculté et au sein de la filière internat me permet de me retrouver, en fin de cursus d'internat de biologie médicale, devant vous et ce jury pour présenter ce travail. Merci du fond du cœur.

A Monsieur le Professeur Claude Négrier

Je suis très sensible à l'honneur que vous me faites de participer à ce jury et d'apporter vos compétences à la critique de ce travail. Je tiens à vous remercier tout particulièrement pour le soutien que vous avez apporté lors de l'élaboration de l'étude et de votre présence régulière lors des réunions de suivi. Soyez assuré de l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A Monsieur le Docteur Frédéric Sobas

J'exprime mes profonds remerciements à mon directeur de Thèse qui m'a épaulé tout au long de ce travail. Je vous remercie d'avoir tenu le challenge avec moi et de m'avoir aidé à combiner dans ce travail qualité et expériences pratiques. Je vous suis grandement reconnaissante pour votre investissement lors de la réalisation de l'analyse de risque et lors de vos nombreuses relectures, parfois matinales. Merci d'avoir cru en mes compétences et de m'avoir permis de m'ouvrir au monde de l'hémostase au sein des HCL et au-delà. J'espère que nous aurons le plaisir de travailler de nouveau ensemble.

A Monsieur le Docteur Christophe Nougier

Je tiens à te remercier sincèrement de m'avoir guidé jusqu'à ce terme. Nous nous sommes connus alors que je n'étais pas encore interne mais 5AHU au laboratoire d'HEH et mener un tel travail plus tard dans ce laboratoire me semblait improbable. Et malgré tout, nous y voilà ! Au cours de son élaboration, tu m'as encadré tout particulièrement dans la réalisation des parties expérimentales et tu as partagé tes compétences et ton esprit critique. Je te laisse désormais juger de l'ensemble. En espérant sincèrement pouvoir également mener d'autres projets à terme dans le futur.

A Madame le Docteur Marie-Odile Geay-Baillat

Un grand merci pour ton investissement et ton dynamisme. Nous avons pu travailler conjointement initialement lors de l'installation des ACL TOP et tu m'as proposé cette étude, dans ton laboratoire au CBS, qui s'intégrait pleinement à la démarche d'analyse de risques de la thèse. Je te suis reconnaissante de m'avoir encadré, soutenu et d'avoir partagé tes expériences sur ces sujets qui nous tiennent à cœur. J'espère que nous aurons la possibilité de réitérer de tels échanges pour améliorer sans cesse nos pratiques.

Je tiens à remercier sincèrement et humblement l'ensemble de mon jury de thèse qui a toujours été très disponible. J'ai pu échanger avec chacun d'eux sur la biologie médicale, l'hémostase et de nombreux autres domaines. Ils m'ont responsabilisé, m'ont laissé m'investir plus que nécessaire, au-delà de ce travail de thèse et au-delà de mon statut d'interne. Merci sincèrement de votre confiance.

A l'ensemble des personnes qui ont également participé à l'élaboration de ce travail, j'adresse tous mes remerciements.

La liste est longue mais pas superflue : sans vous, ce travail n'aurait pu se faire. Nous n'aurions eu ni les bases, ni n'aurions pu discuter librement et pleinement de problématiques communes qui nous impliquent tous au quotidien.

J'adresse mes profonds remerciements au :

- Docteur Mathilde Frétiigny sur qui j'ai pu compter à de nombreuses reprises en tant qu'interne et jusqu'au dernier point de cette thèse. Merci de votre aide.
- Nadia Touti, ingénieur INSA qui a su s'approprier nos données et apporter sa contribution ainsi qu'à Chloé, Stagiaire à HEH.
- Personnel de Werfen : Elodie Casstilejo, Amandine Chakirian et Philippe Lacombe, Directeur qualité qui nous a apporté son soutien, ses expériences et ses compétences.

Merci pour leur présence et leur réponse aux :

- Docteurs : Michelline Berruyer, Gisèle Debize, Véronique Girault, Laurent Jallades, Denis Massignon, Michel Hanss, Yves Perucchetti.
- Personnels qualitatifs : Maud Baume, Mylène Gadoux, Sophie Gazzo
- Internes : Mathilde Beghin, Mr Delwarde, Mr Grumet.
- Techniciennes : Brigitte Court-Bourcet, Sylvie Marin, Amélie Meunier, Stéphanie Françillon, Géraldine Heraud Vialon, Semiha Ozdamarlar, Rousselot Dominique, Karine Vernoux.
- Autre personnel du laboratoire : Ingrid Bornuat, Stéphane Cavoret.

A l'ensemble du personnel du laboratoire d'Hémostase et de Cytologie de HEH où j'ai passé ma 3^{ème} année d'internat.

A ma famille, toujours unie et soudée, elle grandit de jour en jour.... Je vous aime.

Merci à **mes parents** d'avoir assuré cette cohésion et de nous avoir inculqué des valeurs qui nous ont permis de nous accomplir tous. Merci également de m'avoir soutenu tout au long de ces longues études, de la première année de pharmacie à la relecture de cette thèse et de m'avoir appris rigueur, patience et persévérance.

Je pense aussi à **Julien, Julie et la petite Eléa** et à **Chloé, Loïc et au « petit dernier »** dont on connaît la future existence que depuis peu.... Merci d'avoir été tous disponibles et là pour me supporter.

A mon CDBL,

Je n'imagine plus la vie sans toi. Ton soutien à été primordial pendant ces quatre années d'internat. Tu as tout supporté : absences, lendemains de garde, soirées à travailler, larmes, erreurs sur les terrains (!), caractère (mon père t'avait prévenu)... J'ai hâte d'accomplir de nouveau projet avec toi. Merci pour ta patience et ton amour au quotidien. With you, ever...

A ma grand-mère,

Merci pour tes bons repas et ton soutien. Nous avons encore plein à partager, j'espère pouvoir passer te voir plus souvent.

A Marinette,

Ces derniers mois ont été difficiles pour toute la famille mais peu importe la situation, tu restes et resteras, pour toujours et pour nous cinq, une grande-tante aimante, souriante et nous pensons tous forts à toi.

A mon parrain, ma marraine et leurs familles, **Sylvie, Patrick, Vinciane, Laëtitia, Grégoire, Clément, Yohann et Lucas**. Un très grand merci pour votre présence, vos encouragements et votre amour.

A ma belle famille, **Marc, Nathalie, Pierre, Lore**, merci de m'avoir accueillie. Une pensée à la famille Normande : **Colette**, pour votre gentillesse et votre force, **Esther, Anne, Gilles** et les ânes. Une pensée à la famille **Belge** et à **Julie**. A **Laura, Didier et Jeanne**.

A mes amis,

De la faculté : **Laura et Stéphane, Claire et Lionel**, félicitations pour vos réussites et vos mariages respectifs. A **Alice**, en souvenir de cette 5^{ème} année de pharma à réviser le programme du concours et à ces moments de complicités. J'espère que nous aurons l'occasion de nous revoir plus souvent malgré les distances. Courage pour les nouvelles échéances à venir. A **Margot**, je pense bien à toi et à ta belle réussite.

A **Solenn**, j'espère que nous retrouverons vite l'occasion de nous voir.

A **Sophie**, en souvenir de ces voyages en TER, bientôt terminés pour toi aussi !!
A **Chou, Camille et Fanny**, à ces moments passés tous ensemble.

Aux amis du badminton, que de monde !! A la belle bande de copains qui me connaît souriante/énervée, pleines d'énergie/fatiguée, transpirante/grelottante, merci de m'avoir fait oublier le boulot sur les terrains et lors de nos soirées ! A **Claire, Pauline, Manon, Anaïs, Estelle, Aurélie, Dimitri, Quentin, Nico, Mathieu B, Mathieu A, Chris, Jocelyn, Jérôme** et tous les coéquipier(e)s du BACLY !!

A mes amis internes,

A **Mathilde**, merci pour ce soutien mutuel pendant cette année pas toujours facile, très bientôt ce sera toi que j'écouterai parler, Courage ! On y est !

A **Fanélie**, merci pour ta bonne humeur et ton dynamisme, j'espère qu'on aura vite l'occasion de travailler de nouveau ensemble,

A **Yohann**, un grand merci pour les stats' et ton aide,

A **David**, le petit plus vraiment nouveau, t'es au Top, ne change rien,

A **PAB, Alexandre, Maxime**, en souvenir de notre tendre parasito et de ces phrases chocs,

A **Béatrice**, merci de m'avoir si souvent écouté..,

A **Perrine et Sabine**, l'équipe de BJ !

Et tous les autres **Roman, Marc, Pauline L, Océane, Michael P, Yann, Pauline B, Ludivine...**

A toutes les personnes que j'ai rencontrées pendant mes années pharma et qui m'ont toujours confortée dans mes choix pour tout donner pour faire ce métier qui me plaît tant :

A toute l'équipe de la **pharmacie de Trion**, de la **pharmacie de Champvert**, et des laboratoires où je suis passée en tant qu'interne.

Et à tous ceux que j'aurai par mégarde oublié....

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX.....	15
LISTE DES FIGURES.....	18
LISTE DES ABREVIATIONS.....	21
INTRODUCTION	23
PARTIE 1 : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	26
1 L'ANALYSE DE RISQUES SUR LE PROCESSUS DE REALISATION D'UN EXAMEN	26
1.1 <i>Le risque : définition et concept.....</i>	26
1.1.1 Définition du mot « risque »	26
1.1.2 Histoire du mot « risque »	26
1.1.3 Le risque : bon ou mauvais ?.....	27
1.2 <i>Notion de risque et accréditation des laboratoires de biologie médicale.....</i>	28
1.2.1 Le cadre réglementaire	28
1.2.1.1 La réforme de la biologie médicale	28
1.2.1.2 La norme ISO 15189	30
1.2.1.2.1 Généralités.....	30
1.2.1.2.2 Le risque dans la norme.....	31
1.2.2 Prise en compte de la notion de risque dans la démarche d'accréditation	33
1.2.2.1 La gestion des risques dans le guide SH GTA 04	33
1.2.2.2 La vérification des méthodes	34
1.2.2.2.1 Performances techniques	34
1.2.2.2.2 Maîtrise des risques	35
1.3 <i>Référentiels d'aide à l'élaboration d'une analyse de risques</i>	36
1.3.1 AMDEC	37
1.3.1.1 Historique de la méthode AMDEC.....	37
1.3.1.2 Méthodologie	37
1.3.1.3 Avantages et inconvénients	42
1.3.1.4 AMDEC et laboratoire de biologie médicale hospitalière	43
1.3.2 EP23.....	44
1.3.2.1 Concept	44
1.3.2.2 Méthodologie	44

1.3.3	Comparaison AMDEC / EP23.....	48
1.3.4	Revue d'analyses AMDEC tirées de la littérature.....	48
1.4	<i>Réalisation des examens : les phases et leur criticité.....</i>	<i>49</i>
1.4.1	Le processus de réalisation.....	49
1.4.2	Données de la littérature sur la criticité de l'ensemble du processus.....	51
1.4.2.1	Les enjeux.....	51
1.4.2.2	Historique.....	51
1.4.3	La phase pré-analytique en hémostase.....	53
1.4.3.1	Types d'erreurs et recommandations.....	53
1.4.3.2	Fréquence des erreurs : données de la littérature.....	57
1.4.3.3	Conséquences.....	58
1.4.3.4	Prévention des erreurs.....	59
1.4.4	La phase post-analytique en hémostase.....	60
1.4.4.1	Données des référentiels.....	60
1.4.4.2	Données de la littérature.....	61
2	PARAMETRES ETUDIES.....	64
2.1	<i>Participation de la discipline hémostase à l'accréditation du LBMMS.....</i>	<i>64</i>
2.2	<i>Examens rentrant dans le périmètre de l'échéance de 2016.....</i>	<i>65</i>
2.2.1	Critères de choix.....	65
2.2.2	Taux de prothrombine.....	66
2.2.3	Temps de céphaline avec activateur.....	67
2.3	<i>Examens d'hémostase étudiés hors échéance 2016.....</i>	<i>67</i>
2.3.1	Suivi des patients sous héparine : TCA et héparinémie.....	67
2.3.1.1	Le suivi biologique du traitement par Héparine Non fractionnée (HNF).....	67
2.3.1.2	Choix de l'examen à réaliser dans ce suivi.....	68
2.3.1.3	Contraintes biologiques du suivi héparinique.....	69
2.3.1.1	Tubes citratés conventionnels et tubes CTAD.....	70
2.3.2	Mesure des taux de fibrinogène, facteur V et facteur VIII.....	75
3	OBJECTIFS DU TRAVAIL REALISE.....	76

**PARTIE 2 : TRAVAIL PERSONNEL D'ANALYSE DE RISQUES DOCUMENTEE PAR DES
ETUDES EXPERIMENTALES.....77**

A. ANALYSE DE RISQUES EN HEMOSTASE.....77

1	MATERIEL ET METHODE DE L'ANALYSE DE RISQUES.....	77
---	--	----

1.1	<i>Méthodologie générale du travail transversal</i>	77
1.2	<i>Identification des risques au sein d'activités</i>	79
1.3	<i>Evaluation collégiale des risques</i>	82
1.3.1	Quantification individuelle.....	82
1.3.2	Calcul collégial d'une criticité.....	83
1.4	<i>Analyses des données</i>	84
1.4.1	Hierarchisation des risques phase par phase.....	84
1.4.1.1	Par activité.....	84
1.4.1.2	Par risque.....	84
1.4.2	Hierarchisation des risques sur l'ensemble des phases.....	84
1.5	<i>Exploitation de l'ensemble des résultats</i>	85
2	RESULTAT DE L'ANALYSE DE RISQUES	86
2.1	<i>Phase pré-analytique</i>	86
2.1.1	Les risques identifiés et leur criticité	86
2.1.2	Les activités majeures de la phase pré-analytique	88
2.1.3	Classement des risques de la phase pré analytique	91
2.2	<i>Phase analytique</i>	94
2.2.1	Les risques identifiés et leur criticité	94
2.2.2	Les activités majeures de la phase analytique	95
2.2.3	Classement des risques de la phase analytique.....	97
2.3	<i>Phase Post-analytique</i>	99
2.3.1	Les risques identifiés et leur criticité	99
2.3.2	Les activités majeures de la phase post-analytique.....	101
2.3.3	Classement des risques de la phase post-analytique	102
2.4	<i>Ensemble des risques identifiés au sein du processus de réalisation des examens - Application de la loi de Pareto</i>	104

B. ETUDES EXPERIMENTALES 107

1	RISQUES INHERENTS A LA CONSERVATION EN SANG TOTAL DES ECHANTILLONS DE PATIENTS	
	TRAITES PAR HEPARINE NON FRACTIONNEE.....	107
1.1	<i>Objectifs de l'étude</i>	107
1.2	<i>Matériel et méthode</i>	108
1.3	<i>Résultats</i>	112
1.3.1	Résultats bruts	112

1.3.2	Comparaison à T0 entre tube citraté et tube CTAD (patients sous Héparine Non Fractionnée et volontaires sains).....	113
1.3.3	Comparaison entre T0 et T4 sur chacun des types de tube (patients sous Héparine Non Fractionnée).....	117
1.3.3.1	Tubes citratés	117
1.3.3.2	Tubes CTAD.....	119
1.3.4	Synthèse des résultats	120
1.4	<i>Discussion autour du choix de la nature de l'anticoagulant dans les tubes destinés aux bilans de coagulation.....</i>	120
1.4.1	TCA et délai d'attente en sang total.....	121
1.4.2	Héparinémie et délai d'attente en sang total.....	122
1.4.3	Autres paramètres testés et délai d'attente en sang total.....	123
1.4.4	Biais de l'étude.....	124
1.5	<i>Apport de l'étude de l'impact de la nature de l'anticoagulant dans les tubes destinés aux bilans de coagulation.....</i>	124
2	RISQUES INHERENTS A LA CONSERVATION DES PLASMAS DES PATIENTS AVEC OU SANS TRAITEMENT ANTICOAGULANT.....	126
2.1	<i>Objectif.....</i>	126
2.2	<i>Matériel et méthode.....</i>	126
2.3	<i>Résultats</i>	130
2.3.1	Evolution des résultats de chaque examen au cours du temps	130
2.3.1.1	Taux de prothrombine (TP)	130
2.3.1.1.1	Plasmas de patient avec un TP supérieur à 70%.....	130
2.3.1.1.2	Plasmas de patient avec un TP inférieur à 70%.....	132
2.3.1.1.3	TP/INR : synthèse des conditions d'attente acceptables après centrifugation	133
2.3.1.2	Temps de céphaline avec activateur (TCA)	134
2.3.1.2.1	Plasmas de patients avec un ratio TCA inférieur à 1,20	134
2.3.1.2.2	Plasmas de patients avec ratio TCA supérieur à 1,20.....	135
2.3.1.2.3	TCA : synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation.....	140
2.3.1.3	Taux de fibrinogène.....	140
2.3.1.4	Taux de facteur V.....	143
2.3.1.5	Taux de facteur VIII.....	145
2.3.1	Synthèse des délais acceptable par rapport à l'heure de prélèvement	147

<i>2.4 Discussion sur les dispositions techniques proposées en termes de délai et de température autour de la mise en sécurité des plasmas centrifugé</i>	<i>149</i>
<i>2.5 Apport de l'étude de l'impact des délais d'attente et de la température de conservation des plasmas.....</i>	<i>152</i>

PARTIE 3 : DISCUSSION AUTOUR DE L'ANALYSE DE RISQUES EN HEMOSTASE AU SEIN DES HOSPICES CIVILS DE LYON	156
CONCLUSION.....	161
BIBLIOGRAPHIE	163
ANNEXES.....	170

Liste des tableaux

Tableau 1: Liste des paramètres à étudier pour la vérification des méthodes en portée A quantitative. D'après le SH GTA 04 du COFRAC (14).....	35
Tableau 2 : Les quatre questions de base de l'AMDEC. D'après Landy G (17).....	38
Tableau 3 : Tableau de synthèse de la démarche AMDEC. D'après Landy G (17).....	41
Tableau 4 : Tableau d'identification des risques de la démarche EP23.	46
Tableau 5 : Echelle EP23 de quantification de la fréquence d'apparition du mode de défaillance	47
Tableau 6 : Echelle EP23 de quantification de la gravité du mode de défaillance.....	47
Tableau 7 : Tableau décisionnel donné par l'EP23 d'estimation du risque résiduel.....	47
Tableau 8 : Comparaison méthodologique de trois analyses de risques AMDEC.	49
Tableau 9 : Pourcentage d'erreurs par phase du processus de réalisation selon différentes études. D'après Plebani et al. (27).....	52
Tableau 10 : Recommandations du GEHT, 2015 (32) et du CLSI, 2008 (33) sur le pré-analytique en Hémostase.....	55
Tableau 11 : Fréquences et types d'erreurs pré-analytiques de l'étude de <i>Salvagno et al</i> en 2008	57
Tableau 12 : Fréquences et types d'erreurs pré-analytiques revus à partir de l'étude de <i>Romero et al</i> en 2005	58
Tableau 13: Recommandations du CLSI sur la conservation pré-analytique et post-analytique d'examen d'hémostase (33).....	61
Tableau 14 : Données de la littérature (40-45) vs du CLSI (33) : conservation post-analytique des échantillons plasmatiques.	63
Tableau 15 : Activité du laboratoire d'HEH pour ses analyses de TP et TCA rapportées en pourcentage à l'activité totale du laboratoire.	66
Tableau 16 : Partie 1 : descriptif des études évaluant le tube CTAD (50, 52-54, 56).....	72
Tableau 17 : Partie 2 : résultats des études évaluant le tube CTAD (50, 52-54, 56).....	73
Tableau 18 : Participants à l'analyse de risques Hémostase du LBMMS.....	78
Tableau 19 : Exemple d'une activité pour laquelle sont associés des risques.....	80
Tableau 20 : Score en 1-5-10 pour la quantification AMDEC des risques	82
Tableau 21 : Tableau des risques au sein des activités de la phase pré-analytique (activité soulignée) associés à leur criticité respective.....	87
Tableau 22 : Les risques du pré-analytique classés.....	92
Tableau 23 : Tableau des risques au sein des activités de la phase analytique (activité soulignée) associés à leurs criticités respectives.....	94

Tableau 24: Risques relatifs à l'activité "Réactifs, consommables, CIQ" classés par ordre de criticité.....	97
Tableau 25 : Les risques de la phase analytique classés.	98
Tableau 26 : Tableau des risques au sein des activités de la phase post-analytique (activité soulignée) associés à leurs criticités respectives	100
Tableau 27 : Risques relatifs aux activités majeures de la phase post-analytique classés par ordre de criticité.....	102
Tableau 28 : Les risques de la phase post-analytique classés..	103
Tableau 29 : Tableau de synthèse des 3 phases du processus de réalisation d'un TP/TCA en hémostase	104
Tableau 30 : Risques issus de l'analyse sur l'ensemble du processus de réalisation d'un TP/TCA, identifiés comme à prioriser grâce à la loi de Pareto (criticité supérieure à 37,5).	106
Tableau 31 : Ecart type de fidélité intermédiaire (SD) de chacun des tests pour chaque contrôle de qualité (normal et anormal) et différences acceptables à 2.8SD correspondants aux critères analytiques décisionnels.....	111
Tableau 32 : Résultats obtenus, juste après centrifugation (T0), des tests TP, TCA, fibrinogène, facteur V et facteur VIII sur les échantillons étudiés	113
Tableau 33 : Résultats des activités anti-Xa et de TCA après 4 heures de conservation en sang total (T4) des échantillons des patients traités par Héparine Non Fractionnée	113
Tableau 34 : Résultats des tests statistiques pour les analyses TP - fibrinogène - FV - FVIII entre tube Citraté et tube CTAD	114
Tableau 35 : Analyse des différences statistiques, de l'impact analytique et de l'impact clinique à T0 entre le tube citraté et le tube CTAD sur le ratio TCA, le TCA et l'héparinémie (anti-Xa)	115
Tableau 36 : Analyse des différences statistiques, de l'impact analytique et de l'impact clinique entre T0 et T4 sur tube citraté pour le ratio TCA, le TCA et l'héparinémie (anti-Xa)	118
Tableau 37 : Analyse des différences statistiques, de l'impact analytique et de l'impact clinique entre T0 et T4 sur tube CTAD pour le ratio TCA, le TCA et l'héparinémie (anti-Xa).....	119
Tableau 38 : Résumé des différences statistiques et de l'impact clinique de l'étude selon les différentes conditions (temps et tubes).....	120
Tableau 39 : Nombre d'échantillons et profils des patients rentant dans l'étude.....	127
Tableau 40: Ecart type de fidélité intermédiaire (SD) pour chacun des examens et chaque contrôle de qualité (normal et anormal) - Limites acceptables à 2.8SD correspondants aux critères décisionnels de l'étude	128
Tableau 41 : Synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour un résultat de TP ou d'INR selon le profil du patient.....	133

Tableau 42 : Synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour un résultat de TCA selon le profil du patient.....	140
Tableau 43 : Synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour un résultat en taux de fibrinogène selon le profil du patient.....	142
Tableau 44 ; Synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour un résultat de taux de facteur V selon le profil du patient.	145
Tableau 45 : Synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour un résultat de facteur VIII.....	147
Tableau 46 : Délais d'attente acceptables d'un point de vue analytique en fonction des conditions de conservation et des profils de patients	148
Tableau 47 : Synthèse des délais acceptables de ré-analyse des plasmas conservés non-décantés en post-analytique à 18°C par rapport à l'heure de prélèvement	154

Liste des figures

Figure 1 : Problématisations, concepts sous-jacents et compréhensions contingentes du « <i>risque</i> ». D'après Magne L (7).....	28
Figure 2 : Evolution du concept de la Qualité (13).....	31
Figure 3 : Enchaînement logique d'une cause à ces effets	39
Figure 4 : Insertion de la logique PDCA dans l'AMDEC. D'après Landy G (17).....	40
Figure 5 : Diagramme d'Ishikawa.....	46
Figure 6 : Cycle du processus de validation analytique en biologie médicale. D'après Kitchen et al. (24).....	50
Figure 7 : Décroissance du taux d'erreurs analytiques dans le temps.....	52
Figure 8 : Pourcentage en volume d'activité à accréditer en fonction du temps pour être conforme à la loi du 30 mai 2013 n° 2013-442.....	64
Figure 9 : Méthodologie globale de l'analyse de risques collégiale.....	77
Figure 10 : Process Map en Hémostase.	81
Figure 11 : Méthodologie de la quantification des risques individuelle puis collective.	83
Figure 12 : Représentation de la loi de Pareto (80/20).....	85
Figure 13 : Diagramme de Pareto revu (58).....	86
Figure 14 : Poids relatif de chaque activité du pré-analytique sur la qualité du résultat d'examen (en pourcentage de la criticité globale)	89
Figure 15 : Risques relatifs à l'activité "Recueil de l'échantillon" en pourcentage de la criticité globale de cette activité.....	89
Figure 16 : Risques relatifs à l'activité "Acheminement des tubes au laboratoire" en pourcentage de la criticité globale de cette activité.	90
Figure 17 : Risques relatifs à l'activité "Conservation pré-analytique des échantillons" en pourcentage de la criticité globale de cette activité.....	90
Figure 18 : Risques relatifs à l'activité "Remplissage des bons de demande par les unités de soin" en pourcentage de la criticité globale de cette activité.....	91
Figure 19 : Poids relatif de chaque activité de la phase analytique sur la qualité du résultat d'examen (en pourcentage de la criticité globale)	96
Figure 20 : Risques relatifs à l'activité "Libération technique des résultats" en pourcentage de la criticité globale de cette activité.....	96
Figure 21: Poids relatif de chaque activité de la phase post-analytique sur la qualité du résultat d'examen (en pourcentage de la criticité globale)	101
Figure 22: Diagramme de Pareto correspondant à notre analyse de risques sur TP/TCA en hémostase	105
Figure 23 : Méthodologie de l'étude sur les tubes CTAD et le suivi des patients sous héparine	110

Figure 24 : Algorithme décisionnel de l'étude sur les tubes CTAD	112
Figure 25 : Bland et Altman du ratio TCA et de l'héparinémie (anti-Xa) entre le tube citraté et tube CTAD à T0 des patients traités par HNF	116
Figure 26 : Bland et Altman des moyennes des différences en Ratio TCA et anti-Xa obtenus sur tubes citratés conservés 4 heures en sang total à température ambiante	118
Figure 27 : Bland et Altman des moyennes des différences en Ratio TCA et anti-Xa obtenus sur tubes CTAD conservés 4 heures en sang total à température ambiante.....	119
Figure 28: Représentation graphique et box plot	129
Figure 29 : Représentation graphique des différences de résultats de TP (%) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux normaux soit de sujets sains soit de patients traités par héparine et pour des tubes conservés à 4°C.....	131
Figure 30 : Représentation graphique des différences de résultats de TP (%) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des TP normaux soit de sujets sains (TP < 100%) soit de patients traités par héparine et pour des tubes conservés à 18°C	132
Figure 31 : Représentations graphiques des différences de résultats d'INR à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients traités par AVK et des tubes conservés à chacune des conditions de température (Température ambiante, 4°C et 18°C).....	133
Figure 32 : Représentation graphique des différences de résultats de TCA (s) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des ratios TCA < 1.20 et pour des tubes conservés à 4°C	134
Figure 33 : Représentation graphique des différences de résultats de TCA (s) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des ratios TCA < 1.20 et pour des tubes conservés à 18°C	135
Figure 34 : Représentation graphique des différences de résultats de TCA (s) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des ratios TCA > 1.20 du fait d'un par AVK et pour des tubes conservés à 4°C.....	136
Figure 35 : Représentation graphique des différences de résultats de TCA (s) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des ratios TCA > 1.20 du fait d'un traitement par AVK et pour des tubes conservés à 18°C	137
Figure 36 : Représentation graphique des différences de résultats de TCA (s) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des ratios TCA > 1.20 du fait d'un traitement par héparine et pour des tubes conservés à 4°C	138
Figure 37 : Représentation graphique des différences de résultats de TCA (s) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des ratios TCA > 1.20 du fait d'un traitement par héparine et pour des tubes conservés à 18°C	139
Figure 38 : Impact de la mesure du TCA sous héparine à T0 sur sa décroissance à T2	139

Figure 39 : Représentation graphique des différences de résultats de taux de fibrinogène (g/L) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux de fibrinogène > 2g/L et pour des tubes conservés à 4°C.....	141
Figure 40 : Représentation graphique des différences de résultats de taux de fibrinogène (g/L) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux de fibrinogène > 2g/L et pour des tubes conservés à 18°C.....	142
Figure 41 : Représentation graphique des différences de résultats de taux de facteur V (%) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux normaux et pour des tubes conservés à 4°C.....	143
Figure 42 : Représentation graphique des différences de résultats de taux de facteur V (%) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux normaux et pour des tubes conservés à 18°C.....	144
Figure 43 : Représentation graphique des différences de résultats de taux de facteur VIII (%) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux normaux et pour des tubes conservés à 4°C.....	146
Figure 44 : Représentation graphique des différences de résultats de taux de facteur VIII (%) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux normaux et pour des tubes conservés à 4°C.....	147

Liste des abréviations

AFNOR	Association Française de Normalisation
AMDEC	Analyse des Modes de Défaillance, de leurs Effets et de leur Criticité
AMPc	Adénosine Monophosphate Cyclique
AVK	Anti-vitamine K
CBE	Centre de Biologie des hôpitaux Est
CBN	Centre de Biologie de l'hôpital de la Croix Rousse ou Centre de Biologie Nord
CBS	Centre de Biologie de l'hôpital Lyon Sud
CIQ	Contrôle de Qualité Interne
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
COFRAC	Comité français d'accréditation
CSP	Code de la Santé Publique
CTAD	Citrate, théophylline, adénosine, dipyridamole
EEQ	Evaluation externe de la qualité
EN	European Norm
Fg	Fibrinogène
FMECA	Failure Mode and Effect and Critically Analysis
FORM	Formulaire
FV	Facteur V
FVIII	Facteur VIII
GBEA	Guide de Bonne Exécution des Actes de biologie médicale
GEHT	Groupe francophone d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose
GTA	Guide Technique d'Accréditation
HBPM	Héparine de Bas Poids Moléculaire
HCL	Hospices Civils de Lyon
HEH	Hôpital Edouard Herriot
HNF	Héparine Non Fractionnée
HPST	Hôpital, Patients, Santé et Territoires
INR	International Normalized Ratio
IPR	Indice de Priorité de Risque
ISO	International Organization for Standardization
LBMMS	Laboratoire de Biologie Médicale Multi-Sites des Hospices civils de Lyon
NF	Norme Française
PDCA	Plan, Do, Act, Check
PF4	Facteur 4 Plaquettaire ou Platelet factor 4
PPACK	D-phénylalanine-proline-arginine-chlorométhylcétone
PTPP	Plateaux Techniques Polyvalents Partagés

QCP	Plan de Contrôle Qualité
REF	Document de Référence
RPN	Risk Priority Number
SD	Ecart type de fidélité intermédiaire
SGL	Logiciel de Gestion de laboratoire
SH	Santé humaine
TA	Température Ambiante
TCA	Temps de Céphaline avec Activateur
TP	Taux de Prothrombine
VWF	Facteur Willebrand
4°C	Température Réfrigérée

Introduction

L'accréditation des laboratoires de biologie médicale est obligatoire en France depuis l'ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010. L'ordonnance a été ratifiée par la loi n° 2013-442 du 30 mai 2013 portant sur la réforme de la biologie médicale (article L6221-1 du Code de la Santé Publique (CSP)) (1). Ce texte donne un cadre législatif et réglementaire à la pratique des laboratoires. Il possède trois axes principaux. Le 1^{er} axe est la promotion de la dimension médicale de la discipline. Le 2^{ème} axe est l'obligation d'accréditation. L'objectif est de garantir la mise en conformité du laboratoire avec les exigences techniques et managériales dictées dans la norme NF EN ISO 15189 (Norme Française, European Norm, International Organization for Standardization) (2). Le 3^{ème} axe correspond à l'harmonisation de la biologie médicale publique et libérale par un respect collectif à des exigences spécifiques de qualité et de compétences au sein de tous les laboratoires.

Le COFRAC (Comité français d'accréditation), seule instance nationale d'accréditation, a élaboré en complément un manuel d'accréditation opposable appelé le SH REF 02 (Document de Référence) (3). Ce référentiel détaille les exigences techniques et managériales de la norme au regard des exigences du CSP. Il redéfinit l'examen de biologie médicale comme un « *acte médical* » englobant les phases pré-analytique, analytique et post-analytique qui sont toutes sous la responsabilité du biologiste.

Le dossier de validation de méthode, obligatoire pour accréditer un examen, est construit dans l'esprit de ces deux référentiels opposables : la norme 15189 et le SH REF 02. C'est dans un formulaire spécifique appelé SH FORM 43 que les biologistes doivent notamment prouver une réflexion sur l'ensemble des activités à risque sur la qualité analytique des examens. Hormis une description analytique relative aux performances de la méthode il est en effet demandé une analyse exhaustive des risques pour la sécurité analytique sur l'ensemble du processus de réalisation des examens de biologie médicale.

A l'horizon 2016 les laboratoires doivent être accrédités sur 50% de l'activité de l'ensemble des actes réalisés. Au sein du Laboratoire de Biologie Médicale Multi-Sites

des Hospices civils de Lyon (LBMMS), la discipline Hémostase participe à ce périmètre d'accréditation avec les examens TP (Taux de Prothrombine) et TCA (Temps de Céphaline avec Activateur). Cette démarche s'inscrit dans un processus de réorganisation de la biologie médicale au sein des Hospices Civils de Lyon (HCL) avec une volonté d'harmoniser les pratiques.

Ce travail décrit l'analyse de risques complète et collégiale réalisée sur les processus pré-analytique, analytique et post-analytique. La finalité est d'aboutir à l'élaboration d'un plan d'action ayant pour objectif de réduire la criticité des activités identifiées comme critiques sur les résultats des deux examens : TP et TCA.

En complément de cette réflexion théorique et pratique autour de la gestion des risques, nous avons mis en œuvre des études expérimentales pour affiner le choix des dispositions à prendre pour réduire la criticité des activités identifiées. A cet effet nous avons mené des travaux autour du choix de l'anticoagulant dans les tubes de coagulation sur la phase pré-analytique et autour de la conservation des plasmas en phase post-analytique. En vue de décliner à terme cette approche sur les autres examens d'hémostase de la famille COAGBM du COFRAC, nous avons inclu dans la partie expérimentale le dosage des taux de fibrinogène, facteur V et facteur VIII ainsi que la mesure des héparinémies.

« Le savoir-faire et le hasard sont d'importants facteurs de limitation du risque, mais le risque est normalement consciemment calculé. Dans tous les contextes de confiance, le risque acceptable dépend du « savoir induit » et il y a presque toujours équilibre entre confiance et calcul du risque. Le risque « acceptable » - le danger minimal - varie selon les contextes, mais c'est généralement la base de la confiance »

Giddens A. Les conséquences de la modernité. Paris : Harmattan ; 1994 (4)

Partie 1 : Données bibliographiques

1 L'Analyse de risques sur le processus de réalisation d'un examen

1.1 Le risque : définition et concept

1.1.1 Définition du mot « risque »

Une définition du risque donnée par l'AFNOR (Association Française de Normalisation) en 2003 est la suivante « *évènement dont l'apparition n'est pas certaine et dont la manifestation est susceptible d'affecter les objectifs du projet* » (5).

Sémantiquement, le risque renvoie à un ensemble assez varié dont quatre mots combinés permettent d'en éclaircir le sens : aléa, danger, opportunité, incertitude (6). Nous retrouvons dans ces termes les origines du mot mais également les notions que son utilisation évoque. Plus qu'une réalité, le risque représente les préoccupations qu'a l'homme dans son environnement. Il cherche à poser un jugement sur une situation dont l'issue n'est pas certaine et possiblement dommageable. Un risque est cependant identifiable et quantifiable.

1.1.2 Histoire du mot « risque »

L'origine du mot « *risque* » est obscure : l'hypothétique racine n'est pas clairement définie et est le seul point d'accord de tous les experts à ce sujet. La racine latine incertaine serait apparentée à « *resicare* » désignant « *enlever en coupant* », « *rogner* », « *retrancher* » mais l'origine de ce mot ne serait peut-être pas latine mais arabe (6).

Ce mot, quotidien aujourd'hui et fréquemment utilisé ne l'était pas autrefois. Avant le Moyen-âge, le mot « *risque* » n'existait pas, pas plus que le concept qu'il évoque aujourd'hui, « *Au début, il n'y eut pas de risque, parce que le risque était de partout...* » (6). L'homme était impuissant : les catastrophes, infortunes sont le fruit du destin, de forces maléfiques ou divines.

Avec la révolution commerciale du Moyen-âge, l'Europe chrétienne développe son économie, ses échanges commerciaux avec les pays du Nord et ceux de la méditerranée. C'est d'ailleurs chez les marchands italiens que l'on retrouve les premières notions relatives au risque sur le continent. Le vocabulaire du XIIème siècle en est la démonstration avec les mots « *péril* », « *aventure* », « *danger* », « *fortune* », « *hasard* », « *chance* », « *opportunité* ». Puis au XIVème siècle, apparaît le mot « *risque* » dont la connotation actuelle ne se stabilisera en français qu'au XVIème, son utilisation ayant presque quintuplé aujourd'hui en défaveur des termes ci-dessus (7).

La progression croissante de la notion de risque est liée à une sécularisation de la société où la religion n'explique pas et ne gouverne pas tout. L'utilisation grandissante de cette notion est également en lien avec le développement des activités commerciales qui amènent à entreprendre, agir, prendre des risques. Le fait d'avoir conscience que le risque est présent pousse chacun à trouver une solution, pas toujours efficace mais rationnelle.

L'évolution moderne du mot se retrouve dans la vision active, intentionnelle de l'homme du XXème siècle, qui, grâce à la modernité, veut être acteur de sa propre destinée. Le développement des technologies, la compréhension et la maîtrise du monde qui l'entoure placent le risque non pas comme une fatalité mais comme étant au cœur de l'activité de l'Homme. Ainsi, plus l'Homme crée des activités, plus l'Homme engendre des risques.

1.1.3 Le risque : bon ou mauvais ?

Le risque, à la différence du danger, n'aura pas forcément des conséquences négatives. Nous retrouvons cette idée dans l'expression commune « *qui ne risque rien, n'a rien* », où ce qui est attendu peut-être un gain, une réussite ou à l'inverse une perte, un échec. Le danger est intrinsèquement de mauvais augure alors que le risque a un caractère potentiel (6).

Par ailleurs, le risque, plus profond que l'incertitude, présume un jugement d'une situation et de ses conséquences malgré une part d'inconnu. Nous nous retrouvons devant une incertitude partielle où se mêlent des faits et des connaissances qui permettent d'évaluer une situation mais pas totalement du fait du hasard et des aléas (6). De cette façon, se poser la question « *de se risquer* » dans tel ou tel projet suppose que nous ayons déterminé des objectifs dont nous avons évalué le potentiel au-delà de

l'incertitude qu'il suppose pour en faire ressortir une opportunité. La figure 1 reprend l'ensemble sémiologique du terme relié à ses conséquences.

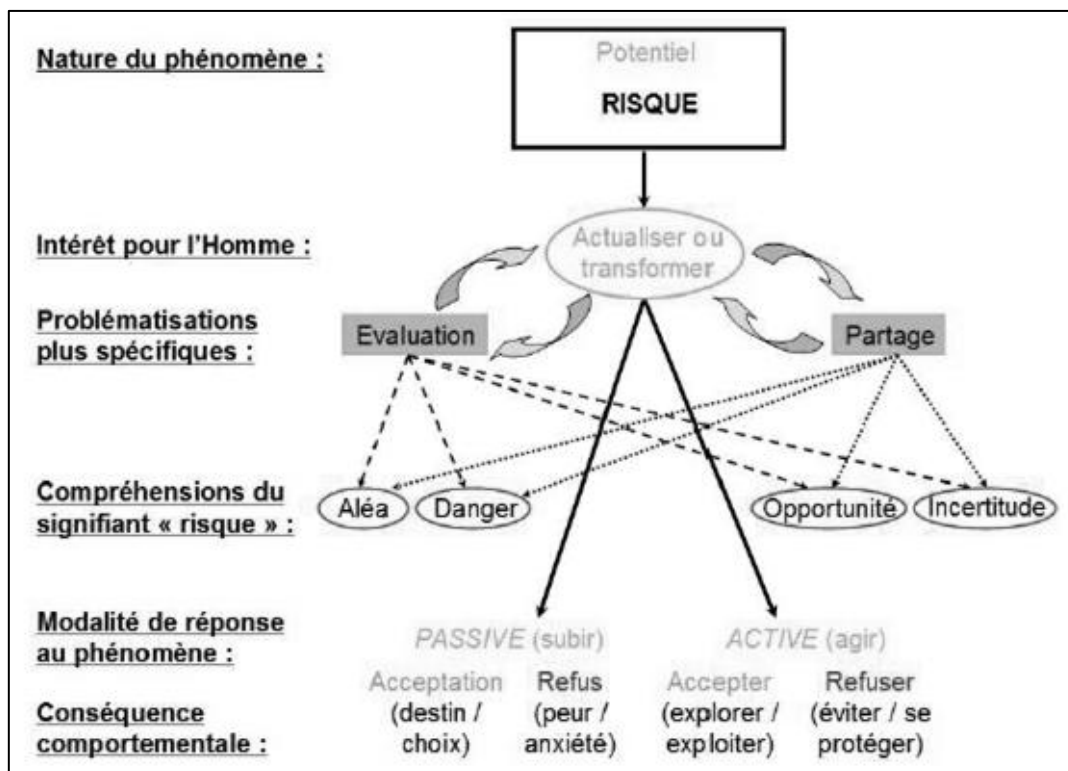


Figure 1 : Problématisations, concepts sous-jacents et compréhensions contingentes du « risque ». D'après Magne L (7)

Ainsi, le risque pousse chacun à formaliser, à évaluer par une simple réflexion ou par des modèles une intention. La notion de risque sous-entend une volonté d'aller au-delà. Dans notre pratique quotidienne, « le risque est en soit une réelle question pour le management [...] à tel point que le management du risque en viendrait presque parfois à désigner le management lui-même » (7).

1.2 Notion de risque et accréditation des laboratoires de biologie médicale

1.2.1 Le cadre réglementaire

1.2.1.1 La réforme de la biologie médicale

Une réforme de la biologie médicale est en cours depuis la parution de la loi Hôpital, Patients, Santé et Territoires (HPST) en 2009. L'ordonnance n° 2010-49 du 13

janvier 2010 relative à la biologie médicale et complétée par la loi n° 2013-442 du 30 mai 2013 donne un cadre législatif et réglementaire à la pratique des laboratoires. Les trois objectifs phares de cette loi sont la médicalisation, l'accréditation obligatoire et l'harmonisation de la biologie médicale publique et libérale (8).

La médicalisation est affirmée dans la loi en insistant sur le caractère médical de la profession, sur les missions du biologiste et les responsabilités qui en découlent. Le biologiste est responsable de l'ensemble du processus de réalisation des examens.

« Un examen de biologie médicale est un acte médical qui concourt à la prévention, au dépistage, au diagnostic ou à l'évaluation du risque de survenue d'états pathologiques, à la décision et à la prise en charge thérapeutique, à la détermination ou au suivi de l'état physiologique ou physiopathologique de l'être humain » (Art. L6211-1 CSP) (9)

« Un examen de biologie médicale est réalisé par un biologiste médical ou, pour certaines phases, sous sa responsabilité » (Art. L6211-7 CSP) (10).

« Un examen de biologie médicale se déroule en trois phases : la phase pré-analytique [...] La phase analytique [...] La phase post-analytique » (Art. L6211-2 CSP) (11).

L'accréditation des laboratoires de biologie médicale est obligatoire sur l'ensemble des activités réalisées.

« Un laboratoire de biologie médicale ne peut réaliser d'examen de biologie médicale sans accréditation. L'accréditation porte sur les trois phases, définies à l'article L. 6211-2, de l'ensemble des examens de biologie médicale réalisés par le laboratoire » (Art. 6221-1 CSP) (12).

Cette obligation d'accréditation a vocation à assurer un service rendu au patient égal et de qualité optimal sur l'ensemble du territoire français. Elle prouve la conformité d'une structure à des exigences spécifiques dictées par une norme internationale : la norme NF EN ISO 15189.

Les recommandations de cette norme sont reprises dans le manuel d'accréditation opposable, le SH REF 02, qui détaille, pour la France, les exigences

techniques et managériales au regard des exigences du Code de la Santé publique. L'organisme qui rédige ce guide et bien d'autres, aidant les laboratoires dans leur démarche, est le COFRAC. Il est l'unique organisme national d'accréditation en France, sa section « santé humaine » est responsable des évaluations.

1.2.1.2 La norme ISO 15189

1.2.1.2.1 Généralités

La norme ISO 15189 est une norme internationale, rédigée par l'organisme international de normalisation et spécifique aux laboratoires de biologie médicale. Son application est obligatoire en France et chaque laboratoire doit se conformer à cette norme pour l'ensemble de ses actes à l'horizon de novembre 2020.

« A compter du 1er novembre 2020, les laboratoires de biologie médicale ne peuvent fonctionner sans disposer d'une accréditation portant sur 100 % des examens de biologie médicale qu'ils réalisent. » (Article 8 - loi n° 2013-442 du 30 mai 2013) (1).

La norme version 2012, basée sur l'ISO 17025 et sur l'ISO 9001, correspond à la deuxième version de la norme 15189. La différence avec la version précédente repose sur le concept de la qualité qu'elle véhicule.

Historiquement, comme le présente la figure 2 sur l'évolution de la qualité, aucun référentiel n'existait, l'amélioration était spontanée pour la maîtrise d'un produit donné. Puis, le Guide de Bonne Exécution des Actes de biologie médicale (GBEA) en 1994, 1999 et 2002 a permis de poser le principe de l'assurance qualité garantissant une maîtrise du procédé mais basée encore sur l'obéissance à des règles et sur la mise en œuvres d'actions curatives. C'est grâce à la norme 15189 version 2007 qu'une réelle démarche de management de la qualité, impliquant des actions préventives et correctives a été mise en place. Mais cette version dissociait encore qualité et processus. Le lien est fait dans la version 2012 de cette même norme où l'« approche processus » et la gestion des risques permettent un management des laboratoires par la qualité.

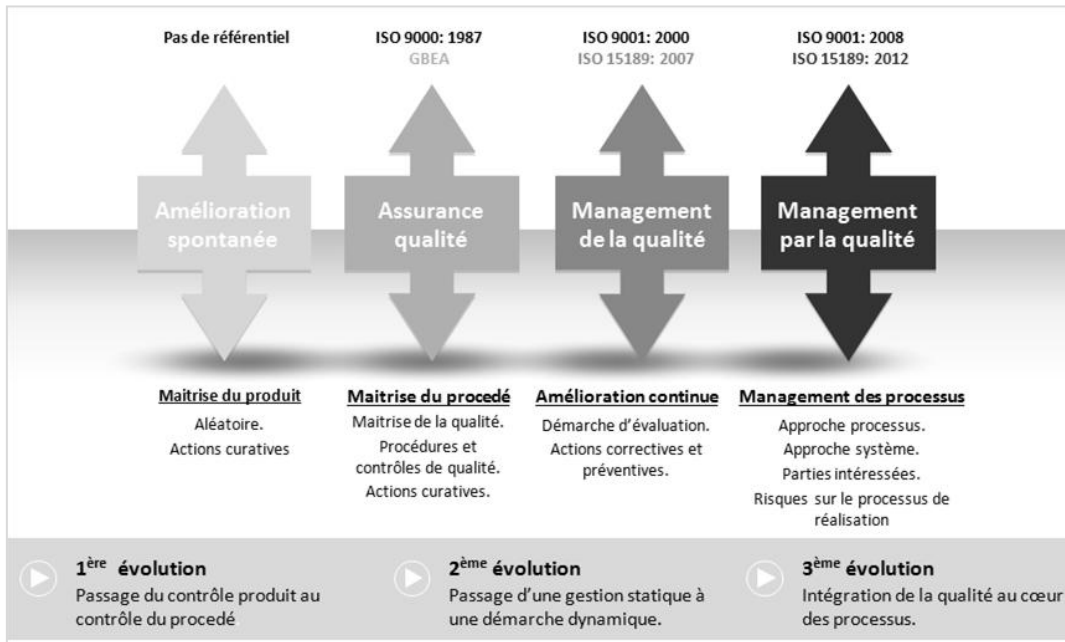


Figure 2 : Evolution du concept de la Qualité (13)

1.2.1.2.2 Le risque dans la norme

La notion de risque dans l'accréditation des laboratoires de biologie médicale a pris d'autant plus d'importance depuis son apparition dans la version 2012 de la norme ISO 15189. Ce terme apparaît en titre et en toute lettre dans le paragraphe 4.14.6 « Gestion des risques ». Ce mot n'est d'ailleurs ni présent dans l'ISO 17025 ni dans l'ISO 9001 qui la fondent. Il est également absent de la version 2007 de la norme 15189.

Dans les paragraphes 4 (exigences relatives au management) et 5 (exigences techniques) qui font le cœur de la norme ISO 15189, le terme est retrouvé neuf fois dans le texte.

- Dans la partie 4 des exigences relatives au management, le mot est cité à six reprises (2) :

- 4.11 Actions préventives : « *Les actions préventives peuvent inclure l'analyse des données, y compris les analyses de tendances et de **risques** et l'évaluation externe de la qualité (essais d'aptitude)* »

- 4.12 Amélioration continue : « *Les activités d'amélioration doivent être menées dans des domaines à la priorité la plus élevée en fonction des évaluations des **risques** ».*
- 4.13 Maîtrise des enregistrements : « *Les enregistrements doivent au moins inclure [...] les enregistrements relatifs à la gestion des **risques** »*
- 4.14 Evaluation et audits : 4.14.6 Gestion des **risques** : « *Le laboratoire doit évaluer l'impact des processus de travail et défaillances potentielles sur la sécurité des résultats des examens et doit modifier les processus pour réduire ou éliminer les **risques** identifiés, et documenter les décisions et actions menées »*
- 4.15 Revue de direction : 4.15.2 Éléments d'entrée de la revue : « *Les éléments d'entrée de la revue de direction doivent comporter au minimum les informations des résultats des évaluations suivantes: [...] gestion des **risques** »*
- Dans la partie 5 concernant les exigences techniques, nous retrouvons trois fois le mot risque (2):
 - 5.4.4 Prélèvement et manipulation des échantillons primaires : 5.4.4.1 Généralités : « *Des procédures spéciales, incluant les procédures les plus invasives ou celles présentant un **risque** plus important de complications suite à la procédure, exigent une explication plus détaillée et, dans certains cas, un consentement écrit »*
 - 5.5.3 Documentation des procédures analytiques « *Si le laboratoire envisage de modifier une procédure analytique existante de sorte que les résultats ou leur interprétation **risquent** de différer de manière significative, les implications doivent être expliquées aux utilisateurs par écrit, après avoir validé la procédure »*

- 5.6.2 Contrôle qualité : 5.6.2.2 Matériaux de contrôle qualité : « *Les matériaux de contrôle de qualité doivent être régulièrement inspectés en fonction de la stabilité de la procédure et du **risque** de nuisance sur le patient en raison d'un résultat erroné* »

La notion de risque et de sa gestion apparaît donc tout au long du document. Cette notion pose des questions sur tout ce qui conditionne le rendu de résultats d'examens de qualité analytique acceptable.

1.2.2 Prise en compte de la notion de risque dans la démarche d'accréditation

1.2.2.1 La gestion des risques dans le guide SH GTA 04

La procédure de vérification des méthodes consiste à évaluer les performances techniques des méthodes une fois mises en œuvre dans leur environnement. Elle contrôle également la mise en conformité avec les exigences relatives à leur utilisation. Cette démarche concourt à l'accréditation des laboratoires. Pour aider les biologistes, le guide SH GTA 04 (14), guide technique de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes en biologie médicale, rédigé par le COFRAC, explicite les exigences attendues par rapport à la norme.

Initialement, la vérification des méthodes répondait prioritairement aux exigences 5.3, 5.4 et 5.5 de la norme qui concerne le « matériel de laboratoire, réactifs et consommables », le « processus pré-analytique » et le « processus analytique ».

Récemment, en avril 2015, pour réaffirmer la notion de risque inscrite dans la norme 15189, le COFRAC a réédité son guide. Désormais l'analyse de risques est au cœur de la vérification des méthodes. Un paragraphe entier sur la « gestion des risques » (paragraphe 8) a été inclus en rapport avec le point 4.16.1 de la norme qui porte le même titre.

1.2.2.2 La vérification des méthodes

1.2.2.2.1 Performances techniques

Une connaissance aussi précise que possible de la technique à accréditer est importante. Nous présentons dans ce paragraphe uniquement les points à aborder dans la vérification de méthodes quantitatives correspondant à une portée flexible standard A d'adoption de méthodes « fournisseur ».

L'ensemble du dossier de vérification des méthodes est formalisé au sein du SH FORM 043 (Formulaire) (15) qui a été remanié en avril 2015 en même temps que le guide SH GTA 04 qui lui fait référence.

Il doit être renseigné dans ce dossier :

- Un descriptif de la méthode
- Une analyse des risques inhérents à l'ensemble du processus pour en prouver la maîtrise
- Des critères de performance adaptés aux exigences relatives à l'utilisation des méthodes. Les paramètres à vérifier pour étudier les performances analytiques des analyses de portée A quantitatives sont données dans le tableau 1 issu du SH GTA 04. Leurs justifications reposent sur des données bibliographiques (données fournisseurs, articles, recommandations,...) et de vérifications expérimentales au sein du laboratoire avec exploitation statistique des résultats.
- Une conclusion sur l'aptitude de la méthode pour une utilisation dans le laboratoire.

Tableau 1: Liste des paramètres à étudier pour la vérification des méthodes en portée A quantitative. D'après le SH GTA 04 du COFRAC (14).

CRITERES A EVALUER	Vérification (portée A)		Validation (portée B)	
	Méthode quantitative	Méthode qualitative	Méthode quantitative	Méthode qualitative
Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire)	Essai	Essai	Essai	Essai
Justesse/exactitude (approche)	Essai	Essai	Essai	Essai
Incertitudes/facteurs de variabilité et évaluation	Essai	Maîtrise des facteurs de variabilité	Essai	Maîtrise des facteurs de variabilité
Comparaison avec méthode déjà utilisée au laboratoire ou autre méthode du laboratoire (appareil en miroir ⁹ , EBMD) et analyse des discordances ¹⁰	Essai	Essai	Essai	Essai
Intervalle de mesure (Limite de quantification et limites de linéarité)	Bibliographie	/	Essai	/
Interférences (lipémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments, ...)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
Robustesse	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
Stabilité réactifs (après ouverture, embarqués)	Bibliographie	Bibliographie	Essai	Essai
Intervalle de référence (valeurs usuelles)	Bibliographie (fournisseur ou autre, s'assure de la cohérence avec l'état de l'art)	Bibliographie	Essai	Essai
Limite de détection	/	Bibliographie	/	Essai
Spécificité/sensibilité analytique	/	Bibliographie	/	Essai
Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude ¹¹ de la méthode ou du système analytique.				

1.2.2.2.2 Maîtrise des risques

L'AFNOR définit l'analyse de risques en 2003 comme étant le « processus d'identification, d'estimation et d'évaluation des risques afin de décider du traitement des risques retenus » (5). Plus récemment, le guide ISO ISO/CEI 51 (2014) reprend cette même idée : « utilisation systématique des informations disponibles pour identifier les dangers et estimer le risque » (16).

Le guide SH GTA 04 propose une méthodologie de réflexion autour de cette maîtrise des risques au laboratoire dont la finalité est la sécurité du patient.

« Le laboratoire doit tout mettre en œuvre pour réduire et/ou éliminer les risques potentiels identifiés. Les risques potentiels dans un laboratoire de biologie médicale sont de fournir des résultats erronés, trop tardifs, inexacts ou accompagnés d'une interprétation inappropriée pouvant avoir un impact sur le diagnostic ou le traitement médical » (14).

Cette réflexion repose sur des étapes clés, citées dans le document, que nous détaillerons par la suite :

- Identification des risques
- Estimation des risques (gravité, fréquence et détectabilité)
- Moyens de maîtrise.

Sont ensuite proposés des axes d'approche pour chaque étape puis un tableau de maîtrise (donné pour exemple). La différence majeure avec l'ancienne version du guide, qui incluait déjà ce tableau, est l'apparition d'une échelle de criticité des risques qui sert au classement des risques pour un traitement et une mise en place d'actions en priorité sur les points les plus à critiques.

« L'estimation du risque permet de hiérarchiser / prioriser les actions de maîtrise à mettre en place. Le laboratoire pourra ainsi établir une échelle de criticité tenant compte notamment de la fréquence et de la gravité des événements indésirables afin de les maîtriser. Le laboratoire s'appuiera sur des actions préventives destinées à les réduire ou à les éliminer. » (14)

Ainsi, dans une optique plus globale de management de la qualité au sein des laboratoires de biologie médicale, hormis l'aspect réglementaire, l'analyse de risques s'inscrit dans une démarche d'amélioration continue. Elle permet de constituer ainsi un outil de pilotage du système de management de la qualité. On ne parle alors plus de « management de la qualité » mais de « management par la qualité » des laboratoires de biologie médicale.

1.3 Référentiels d'aide à l'élaboration d'une analyse de risques

La réalisation d'analyse de risques fait partie intégrante de la gestion des processus dans les milieux industriels. Il existe des aides méthodologiques reconnues comme la méthode AMDEC (Analyse des Modes de Défaillance, de leurs Effets et de leur Criticité). Dans le domaine de la santé, des référentiels spécifiques comme l'EP23 du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) ont été rédigés pour la gestion des risques dans les laboratoires de biologie médicale.

1.3.1 AMDEC

Les données sur l'AMDEC sont tirées du guide pratique publié par l'AFNOR (17). La méthode AMDEC convient très bien à l'analyse de risques dans le sens où le but est de rendre un système de plus en plus fiable. Elle apporte :

- Une autre vision du système d'étude
- Une structuration de la démarche préventive d'un établissement. C'est un outil de base de la prévention, un support de réflexion, de décision et d'amélioration
- Une dynamique performante pour des équipes de travail. Cela participe à l'amélioration continue comme demandée dans les systèmes de management de la qualité organisés suivant l'ISO 9001 (v 2000) et donc indirectement la norme 15189 des laboratoires de biologie médicale.

1.3.1.1 *Historique de la méthode AMDEC*

Il s'agissait initialement d'une méthode d'analyse préventive utilisée pour analyser les problèmes potentiels. Dans les années 1950, ce raisonnement est appelé FMECA (Failure Mode and Effect and Critically Analysis) et s'applique dans l'industrie aérospatiale et militaire américaine. Le but était de parvenir à une sécurité de fonctionnement.

Entre 1960 et 1970, cette méthode se popularise en France au sein des industries de l'automobile, nucléaire et chimique sous le nom francisé d'AMDEC. La dimension d'estimation de la criticité des risques est alors rajoutée. Actuellement, cette méthode est toujours très répandue dans l'industrie et largement introduite dans des normes de qualité (normes ISO 9000) pour faciliter la mise en place d'un système de management de qualité d'une structure.

1.3.1.2 *Méthodologie*

Cette méthode est essentiellement prédictive. Elle permet d'imaginer les dysfonctionnements qui peuvent survenir. La réflexion porte sur la décomposition, de manière systématique, d'un système afin :

- D'identifier les risques potentiels
- D'en évaluer leurs probabilités et les conséquences

- De déterminer des actions pouvant réduire ces risques.

Dans les pré-requis à la démarche AMDEC, il est indispensable de bien connaître le système soumis à analyse avec l'environnement correspondant. La méthodologie se décompose ensuite en quatre étapes :

1. Constitution d'un groupe de travail
2. Evaluation des modes de défaillance potentielle
3. Evaluation des défaillances et calcul de criticité
4. Hiérarchisation des modes de défaillance potentielle

- 1. Constitution d'un groupe de travail

La réflexion repose sur un travail collégial. La création d'un groupe multidisciplinaire et impliqué est nécessaire, l'expérience de chaque participant permettant de réduire les subjectivités propres à chacun. La finalité du projet doit être clairement expliquée et la planification de réunions doit en permettre son aboutissement. Ce travail implique donc une présence régulière de tous les acteurs. Les réunions doivent être pilotées par un animateur chargé de rythmer et de stimuler les échanges.

- 2. Evaluation des modes de défaillance potentielle

L'évaluation des modes de défaillance potentielle repose sur la réponse à 4 questions résumées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Les quatre questions de base de l'AMDEC. D'après Landy G (17).

Modes de défaillance potentielle	Effets possibles	Causes possibles	Plan de surveillance
Qu'est-ce qui pourrait aller mal ?	Quels pourraient être les effets ?	Quelles pourraient être les causes ?	Comment faire pour voir ça ?

La suite logique de cette réflexion est la suivante : une (des) causes indui(sen)t des modes de défaillance responsables d'effet(s) (Figure 3).



Figure 3 : Enchaînement logique d'une cause à ces effets

- Un « *mode de défaillance potentielle* » est la recherche de base de l'AMDEC. La question sous-jacente est « *Qu'est ce qui pourrait aller mal ?* ». Il s'agit d'identifier de manière exhaustive les « *problèmes potentiels* », c'est-à-dire de quelle manière une fonction ne peut continuer à se faire correctement. Cette question initiale doit être murement analysée et réfléchie. Le questionnement exhaustif permet d'anticiper les problèmes qui pourraient rendre plus difficile la démarche initiale, nuire au client final ou avoir des conséquences économiques non attendues.

- Les « *causes possibles* » identifient qu'elles pourraient être les anomalies conduisant à la défaillance du système. Plusieurs causes peuvent être responsables d'un mode de défaillance et une même cause peut intervenir dans différents modes de défaillance.

- Les « *effets possibles* » sont les conséquences du problème et sa concrétisation. Ils peuvent être immédiats ou différés, directs ou indirects et conduire eux-mêmes à un nouveau mode de défaillance.

- Le plan de surveillance (« *Comment faire pour voir ça ?* ») est un point important de l'AMDEC puisqu'il permet de mettre en avant les moyens de détection des modes de défaillance, de juger de la pertinence des actions proposées et de leur efficacité.

A ce titre, la roue de Deming s'intègre pleinement dans la logique AMDEC et ainsi à l'amélioration continue. Le PDCA « *Plan, Do, Act, Check* » appliqué à l'AMDEC est présenté en figure 4. L'AMDEC est un processus itératif et vivant tout au long de la vie du processus.

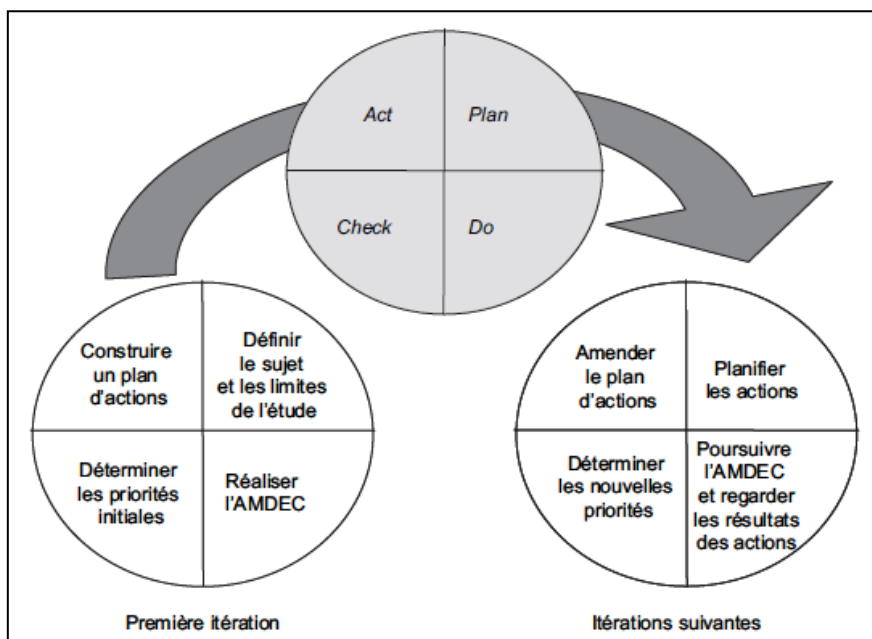


Figure 4 : Insertion de la logique PDCA dans l'AMDEC. D'après Landy G (17)

L'intérêt de l'AMDEC est d'identifier et de mettre en place :

- Des « *mesures de secours* » pour diminuer la gravité des effets
- Des « *mesures préventives* » pour limiter la survenue et la fréquence des problèmes.

Pour cela, les actions peuvent être :

- Correctives : actions courtes de remise en route rapide faisant suite à la survenue d'un risque au moment présent
- Préventives : actions planifiées avant que le dysfonctionnement ne se produise
- Amélioratives : actions modifiant totalement ou partiellement une étape afin de faire disparaître le problème.

- 3. Evaluation des défaillances et calcul de criticité

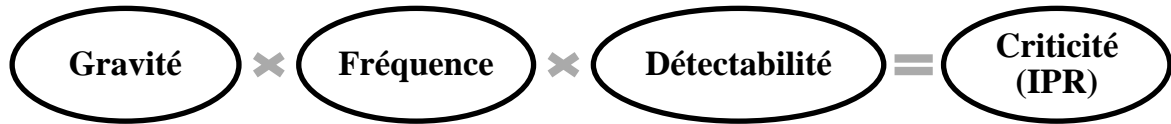
Bien que l'AMDEC défende l'exhaustivité, cette méthode a pour finalité de déterminer des priorités dans les actions à mettre en place. Ce point repose sur le calcul d'une Criticité (« C » du sigle français AMDEC) appelé aussi IPR (Indice de Priorité de Risque - ou RPN : Risk Priority Number).

Chaque mode de défaillance est quantifié grâce à trois items :

- La gravité de son (ses) effet(s)

- L'occurrence/fréquence de sa (ses) cause(s)
- La détectabilité mise en relation avec les plans d'actions actuels ou envisagés

La quantification repose sur le calcul du produit suivant :



L'échelle de cotation à appliquer sur chacun de ces items n'est pas imposée par l'AMDEC. Le groupe de travail AMDEC doit faire ses propres cotations en fonction de son procédé et de ses préoccupations. La cotation « 0 » n'existant pas (le risque zéro n'existe pas), l'échelle est généralement choisie entre 1 et 10.

La cotation de chaque mode de défaillance doit être attribuée de manière indépendante les unes des autres et de manière cohérente.

Le guide pratique AMDEC fournit un tableau de synthèse à remplir qui reprend la méthodologie associée à la quantification des problèmes potentiels (Tableau 3).

Tableau 3 : Tableau de synthèse de la démarche AMDEC. D'après Landy G (17)

Modes de défaillance potentielle	Effets potentiels	Gravité	Causes possibles	Occurrence	Plan de surveillance	Non-détection	IPR
Qu'est-ce qui pourrait aller mal ?	Quels pourraient être les effets ?	Quelle est la gravité relative des effets ?	Quelles pourraient être les causes ?	Quelle est la probabilité relative d'apparition des causes ?	Comment faire pour voir ça ?	Quelle est l'efficacité relative des contrôles ?	Quelle est la priorité des points listés ?

- 4. Hiérarchisation des modes de défaillance potentielle

L'IPR permet d'effectuer une hiérarchisation des activités en termes de criticité. En soit, la valeur de l'IPR n'est pas importante. C'est la différence avec les autres scores (par exemple entre 20 et 200) qui permet d'identifier les modes de défaillance les plus critiques et de déterminer ce qui doit être maîtrisé en priorité. Pour les identifier plus finement par la suite, il est aussi possible de s'intéresser plus précisément à la cotation de chaque item (gravité, fréquence, détectabilité).

Le guide AMDEC questionne sur le seuil à fixer pour isoler ces points. D'après le guide, un seuil critique arbitrairement défini est décevant car il peut orienter vers une diminution non-objective d'une cotation pour en diminuer l'IPR correspondant. Ainsi, en dessous du seuil, le problème ne serait alors plus à traiter. Dans la démarche d'amélioration continue, le guide propose alors de travailler sur les 10% d'IPR les plus élevés et ce de manière itérative.

1.3.1.3 Avantages et inconvénients

- Les avantages des méthodes proposées par le guide AMDEC sont :
 - La recherche de la satisfaction du client correspondant à une bonne prise en charge du patient
 - C'est un outil de pilotage de l'amélioration continue : une revue régulière de l'AMDEC dans la roue de Deming participe au dynamisme de la méthode (obtention de résultats puis détermination d'objectifs à atteindre)
 - Il s'agit d'un outil d'amélioration de la communication : l'AMDEC est le fruit d'un travail de groupe avec des participants les plus variés, qui échangent sur leurs pratiques et utilisent leur bon sens dans une même logique. L'AMDEC concerne tout le monde
 - Le but est l'amélioration de la stabilité du processus, produit, procédé. La mise en avant des faiblesses du processus, ses points les plus critiques, permet de mieux le comprendre, d'en améliorer sa maîtrise et de le rendre moins dangereux
 - La démarche permet une réduction des coûts : au sein d'une structure, il faut savoir où sont les failles et ainsi où affecter les ressources pour réduire les risques à visée préventive. De cette façon, il est possible de réduire également le coût des actions curatives
 - L'AMDEC permet également une optimisation des contrôles puisqu'il est illusoire de pouvoir tout surveiller
 - La connaissance du processus dans son intégralité facilite l'élimination des causes de défaillance grâce à la mise en place du plan d'action et des actions préventives

- Enfin, un dernier avantage est le passage d'une culture orale à une culture écrite permettant d'implémenter son système de management de la qualité notamment de documents utiles.
- Les inconvénients

Les difficultés de la méthode AMDEC sont présentées comme étant :

- L'importance de connaître son procédé, processus, produit qui est l'objet de la démarche
- Il s'agit au démarrage d'une méthode fastidieuse, chronophage et consommatrice de ressources humaines mais dont la finalité est de gagner du temps pour la suite
- La démarche a un coût et les moyens d'amélioration continue qui en découlent également.

1.3.1.4 AMDEC et laboratoire de biologie médicale hospitalière

A l'hôpital, la méthode AMDEC a pour vocation de réduire la criticité des activités en lien avec la prise en charge des patients. Il peut s'agir d'établissements de santé ou bien d'autres secteurs comme la biologie médicale. Pour les laboratoires, il s'agit d'évaluer les modes de défaillance potentielle impactant la qualité des résultats d'examens et par voie de conséquence, la prise en charge des patients. Le guide SH GTA 04 du 4 avril 2015 met en avant la méthode AMDEC pour la maîtrise des risques. Il définit les risques potentiels comme étant ceux qui peuvent « *fournir des résultats erronés, trop tardifs, inexacts ou accompagnés d'une interprétation inappropriée pouvant avoir un impact sur le diagnostic ou le traitement médical* ».

Dans une logique de construction de plateaux techniques centralisés, les laboratoires doivent en premier lieu s'assurer que les résultats rendus reflètent l'état réel du patient au moment du prélèvement. Ils doivent pour cela réfléchir pour une gestion optimum des échantillons, dès leur prélèvement, afin de rendre des résultats non erronés pour une prise en charge médicale du patient la meilleure possible.

L'identification de risques, leur estimation selon les cotations de l'AMDEC (gravité, fréquence, détectabilité) et leur hiérarchisation est demandée dans les dossiers de validation de méthode. La finalité est une maîtrise des risques par la mise en place d'actions appropriées.

1.3.2 EP23

1.3.2.1 Concept

L'EP23 « *Laboratory Quality Control based on Risk Management ; Approved Guideline* » est un document produit par le CLSI en 2011 (18). Il apporte des éléments de réponse au contrôle de la qualité dans les laboratoires grâce à une analyse par gestion des risques. Son élaboration s'est étalée sur une période de 6 ans et fait suite à la prise de conscience que la qualité des résultats d'examens rendus ne dépend pas uniquement de la maîtrise et de la gestion des résultats de contrôle de qualité. Les contrôles de qualité internes et externes permettent d'apprécier spécifiquement la maîtrise de la phase analytique. La finalité de la méthodologie de l'EP23 n'est pas l'analyse de risques en elle-même mais l'élaboration d'un plan de contrôle qualité (QCP) adapté pour atténuer et prévenir les erreurs dans les laboratoires de biologie, et notamment ceux des automates de biologie délocalisés.

1.3.2.2 Méthodologie

Le point d'entrée de la méthode EP23 est la phase analytique de production de résultats d'examens. A partir de cette porte d'entrée, il faut étendre la réflexion aux autres phases et ceci en quatre étapes (19,20) :

- 1- Obtention d'informations à propos du système analytique
- 2- Evaluation des risques dans le processus
- 3- Développement du QCP
- 4- Exécution et suivi du plan

- 1. Obtention d'informations

Les différentes sources d'information peuvent être les données fournies par le fournisseur du système de mesure (mode de détection, interférences,...), celles existantes au laboratoire ou en lien avec son environnement (procédures, types d'échantillons reçus, fréquences des contrôles, moyens de transport...) ou bien des données relatives à l'utilisation clinique des résultats (screening, diagnostic, suivi...). Les renseignements peuvent également provenir de publications et d'exigences réglementaires.

- 2. Evaluation des risques dans le processus

Comme lors de l'AMDEC, le point de départ est l'identification des modes de défaillance. Pour les identifier, différentes méthodes existent et peuvent être utilisées de manière conjointe:

- L'élaboration d'un « *process map* » permet de visualiser son procédé dans son ensemble et de pointer les étapes critiques
- La méthode des 5M (citée également dans l'AMDEC) consiste à identifier les risques et à les trier en fonction de la classe à laquelle ils appartiennent :
 - Milieu : Lieu de travail, environnement, organisation
 - Méthode : Procédures, Modes opératoires
 - Matière : échantillons biologiques
 - Matériel et prestations : réactifs, équipements
 - Main d'œuvre : ressources humaines.

Le diagramme d'Ishikawa ou diagramme de « cause-effet » est la représentation graphique de la méthode en 5M (Figure 5).

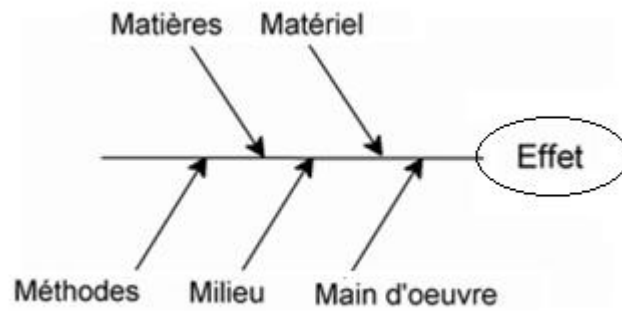


Figure 5 : Diagramme d'Ishikawa

A partir des risques identifiés, l'EP23 propose un tableau à remplir. Celui-ci consiste à développer les moyens existants et les limites qui subsistent. Le contrôle effectif ou non du risque est alors posé et des actions peuvent être alors entreprises. Un risque résiduel est enfin estimé selon un mode binaire : acceptable / non-acceptable (Tableau 4).

Tableau 4 : Tableau d'identification des risques de la démarche EP23.

Mode de défaillance ciblée (risque)	Détection par le système / Actions recommandées	Limites	Contrôle suffisant du processus ?	Actions du QCP pour répondre aux limites du système	Risque résiduel acceptable ? (oui/non)
-------------------------------------	---	---------	-----------------------------------	---	--

L'estimation du risque résiduel repose sur deux paramètres :

- La probabilité de son apparition
- La gravité du préjudice

L'échelle d'évaluation est imposée par l'EP23. Pour ces deux points, ils sont présentés dans les tableaux 5 et 6.

Le tableau 7 à double entrée permet de statuer sur le risque (acceptable / non acceptable). Ce tableau est aussi utilisé après mise en place d'action pour déterminer ce qu'on appelle alors le risque résiduel.

Tableau 5 : Echelle EP23 de quantification de la fréquence d'apparition du mode de défaillance

Probabilité d'apparition	
Fréquent	Une fois par semaine
Probable	Une fois par mois
Occasionnel	Une fois par an
Rare	Une fois sur plusieurs années
Improbable	Une fois dans la vie du système

Tableau 6 : Echelle EP23 de quantification de la gravité du mode de défaillance

Gravité	
Négligeable	Inconvénient ou inconfort temporaire
Mineur	Domage temporaire ou ne nécessitant pas l'intervention d'un professionnel de santé
Sérieux	Domage nécessitant l'intervention d'un professionnel de santé
Critique	Domage permanent ou traitement à vie
Catastrophique	Mort du patient

Tableau 7 : Tableau décisionnel donné par l'EP23 d'estimation du risque résiduel

Probabilité	Gravité du dommage				
	Négligeable	Mineur	Sérieux	Critique	Catastrophique
Fréquent	Non acceptable	Non acceptable	Non acceptable	Non acceptable	Non acceptable
Probable	Acceptable	Non acceptable	Non acceptable	Non acceptable	Non acceptable
Occasionnel	Acceptable	Acceptable	Non acceptable	Non acceptable	Non acceptable
Rare	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Non acceptable
Improbable	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable

- 3. Développement d'un plan de contrôle qualité

A l'aide des méthodes d'identification citées auparavant (Process map, 5M), il est possible d'identifier des points de surveillance qui participent à la « boîte à outil » du contrôle qualité du processus. Le laboratoire identifie par exemple ce qu'il faut

contrôler à la réception d'un prélèvement ou les opérations permettant de valider le système analytique. D'autres moyens sont cités également en prévention des risques comme la formation, les maintenances ou le système documentaire.

- 4. Exécution et suivi du QCP

Une fois les éléments du plan d'action identifiés et approuvés, son suivi et son efficacité sont contrôlés périodiquement. Aucun QCP n'est parfait et celui-ci doit évoluer (identification de nouvelles causes d'erreur, retour sur les plaintes des cliniciens et les causes des risques).

1.3.3 Comparaison AMDEC / EP23

Ces deux méthodes ont la même finalité : identifier des risques de manière participative pour ensuite les corriger et maîtriser le processus de réalisation des examens. Cependant, nous notons des différences dans :

- La portée du document : l'AMDEC s'adresse à des industriels alors que l'EP23 s'adresse spécifiquement à des laboratoires de biologie médicale
- La porte d'entrée d'identification des modes de défaillance est différente : processus analytique dans le cadre de l'EP23 et processus non-imposé pour l'AMDEC
- La quantification est qualitative dans l'EP23 et quantitative pour l'AMDEC
- Les échelles de quantification sont imposées dans l'EP23 alors qu'elles résultent du choix des participants pour l'AMDEC
- La finalité de l'AMDEC est le calcul de la criticité des risques et de définir un plan de réduction des criticités en mode PDCA. L'EP23 a également vocation à mettre en place un plan d'action mais non pas de réduction de la criticité des risques mais de réduction du risque résiduel final sur le résultat d'examen (passage de l'état non acceptable à l'état acceptable).

1.3.4 Revues d'analyses AMDEC tirées de la littérature

Dans le domaine médical, des analyses de risque utilisant la méthodologie de l'AMDEC sont publiées. Cependant, aucune en biologie médicale ne va au bout de la

démarche basée sur la quantification et la hiérarchisation des risques. Nous avons néanmoins retrouvé une thèse de Pharmacie en bactériologie présentant une validation de méthode avec une analyse AMDEC de la maîtrise des précédés (21). D'autres domaines médicaux ont quant à eux déjà l'expérience de telles analyses comme en radiologie ou en pharmacie (22,23). Le tableau 8 présente les différentes méthodologies d'analyses AMDEC élaborées par ces disciplines ainsi que celle de la thèse en Bactériologie. Il reprend de manière succincte différents points qui seront abordés dans la discussion de ce travail : composition du groupe de travail, cotation des risques et seuil d'IPR fixé comme à risque pour une activité. Nous montrerons qu'il existe des différences en termes d'appropriation de la méthode.

Tableau 8 : Comparaison méthodologique de trois analyses de risques AMDEC.

	Biologie Bactériologie (21)	Pharmacie Circuit des DM (22)	Radiologie (23)
Composants	<u>Par Processus</u> - Pré-analytique - Analytique - Post-analytique	<u>Par étapes</u> 10 étapes	<u>Par Processus</u> 4 processus
Participants	- Nombre ? - Personnel du laboratoire	- Nombre ? - Responsables de chaque étape	- 4 à 8 - Participants impliqués dans les processus
Cotation des risques	- <i>A priori</i>	- <i>A priori</i> - Moyenne des réponses individuelles	- <i>A priori</i> - Cotation collective
Gravité	1-3-6-10	1-3-5	1-2-3-4-5-6
Fréquence	1-3-6-10	1-2-3-4	1-2-3-4-5-6
DéTECTABILITÉ	1-3-6-10	1-3-5	1-2-3-4
Seuil d'IPR	Non défini	- 0 à 10 : acceptable en l'état pour le patient - 11 à 30 : acceptable sous contrôle pour le patient - 31 à 100 : risque direct inacceptable pour le patient	3 seuils non précisés en termes d'IPR : - Risque acceptable - Risque Tolérable - Risque inacceptable

1.4 Réalisation des examens : les phases et leur criticité

1.4.1 Le processus de réalisation

Une définition du processus donnée par l'AFNOR en 2007 est la suivante : « ensemble d'activités corrélées ou interactives qui transforment des éléments d'entrée en éléments de sortie » (17). Le biologiste est responsable, en vertu de l'article L.6211-1, de l'ensemble du processus de réalisation. Sommairement, à partir d'un prélèvement

et d'une prescription associée à un patient (éléments d'entrée), il doit transmettre des résultats aux cliniciens (éléments de sortie).

La figure 6 reprend l'ensemble du cycle de réalisation d'un examen. Les définitions des trois phases qui composent ce processus sont données dans la loi (11):

« 1° **La phase pré-analytique**, qui comprend le prélèvement d'un échantillon biologique sur un être humain, le recueil des éléments cliniques pertinents, la préparation, le transport et la conservation de l'échantillon biologique jusqu'à l'endroit où il est analysé ;

2° **La phase analytique**, qui est le processus technique permettant l'obtention d'un résultat d'analyse biologique ;

3° **La phase post-analytique**, qui comprend la validation, l'interprétation contextuelle du résultat ainsi que la communication appropriée du résultat au prescripteur et, dans les conditions fixées à l'article L. 1111-2, au patient, dans un délai compatible avec l'état de l'art. »

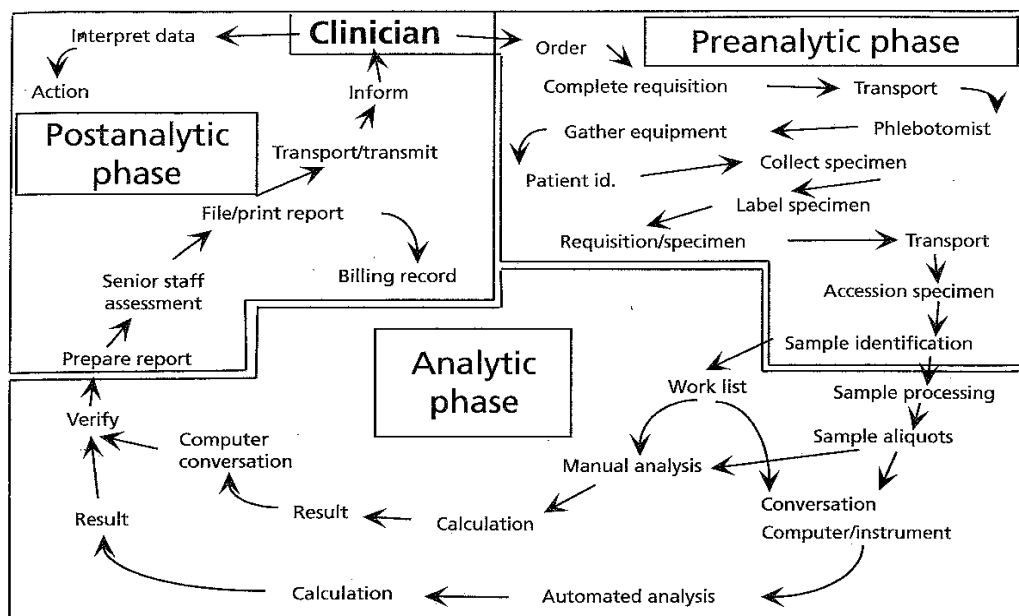


Figure 6 : Cycle du processus de validation analytique en biologie médicale. D'après Kitchen et al. (24)

1.4.2 Données de la littérature sur la criticité de l'ensemble du processus

1.4.2.1 Les enjeux

La production d'actes en biologie médicale est en expansion avec une augmentation de 91 % entre 2003 et 2013 (25). Quinze actes représentent à eux seuls 49% des dépenses de la sécurité sociale et du volume de la biologie avec en quatrième position l'INR (International Normalized Ratio) (25).

Le rôle du laboratoire de biologie médicale est capital dans le parcours de soin d'un patient. Il concourt au diagnostic de 60% à 70% des pathologies en ville et à l'hôpital, au suivi de leur traitement et à leur prise en charge médicale (hospitalisation, chirurgie, prescription médicamenteuse,...) (26).

Ainsi, il est important de rendre des résultats d'examens auxquels nous pouvons avoir confiance. Pour cela, l'ensemble du macro-processus de réalisation doit-être maîtrisé : une incidence, même faible, d'erreurs au sein du processus de réalisation peut avoir des conséquences importantes sur la prise en charge des patients.

1.4.2.2 Historique

Les erreurs de laboratoire sont définies comme étant tout défaut survenant entre la prescription d'examens et son interprétation par le clinicien. La conscience de leur existence, leur détection et la mise en œuvre d'actions pour les éviter est ainsi un travail d'autant plus important et pertinent de nos jours.

Il est possible d'identifier trois périodes dans l'histoire de la biologie médicale en termes de maîtrise du processus de réalisation : « *l'ancienne ère* » de 1947 aux années 1990, « *l'ère moyenne* » dans les années 90, « *l'ère moderne* » depuis 2000 (27).

- « *L'ancienne ère* », de 1947 aux années 90, s'est préoccupée de l'identification et de la diminution des erreurs analytiques. Dans les années 1947, est apparu le premier contrôle de qualité externe qui a permis de mettre en évidence des erreurs aberrantes pour des tests de routine (27). Dans les années 1990, un groupe de laboratoires australiens a reporté de nombreuses erreurs de retranscription des résultats. D'autres publications relatent des erreurs instrumentales (27). Du point de

vue analytique, l'étude de l'évaluation des taux d'erreur dans le temps montre un progrès considérable de la performance des méthodes (Figure 7). La décroissance observée est la conséquence de nombreuses avancées : automatisation des procédés, standardisation des méthodes, arrivée des technologies de communication, définition de meilleures règles de contrôle de qualité interne, création croissante de programmes de contrôle de qualité externe efficace et meilleure formation du personnel.

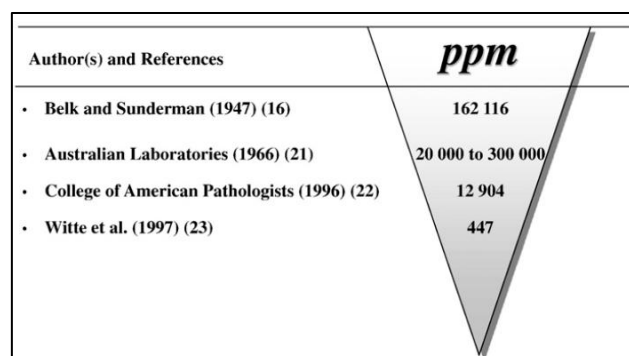


Figure 7 : Décroissance du taux d'erreurs analytiques dans le temps (ppm= part per million = taux pour un million de tests). D'après Plebani et al. (27)

- Au cours de « l'ère moyenne », c'est la décomposition du macro-processus de réalisation qui a permis de cerner les phases les plus critiques. Diverses études montrent systématiquement une criticité plus importante de la phase pré-analytique. Comme présentée dans le tableau 9, entre 1991 et 2007, cette phase regroupe 45.5% à 71% des erreurs. Pour les autres phases, il a été évalué 11 à 47.2% d'erreurs pour la phase post-analytique et 7.3 à 18% pour la phase analytique (27).

Tableau 9 : Pourcentage d'erreurs par phase du processus de réalisation selon différentes études. D'après Plebani et al. (27)

Year	Author(s)	Pre	Intra analytic	Post
•1991	Ross et al.	45.5	7.3	47.2
•1997	Plebani et al.	68.2	13.3	18.5
•2003	Astion et al.	71.0	18.0	11.0
•2007	Carraro et al.	61.9	15.0	23.1

Cette répartition s'explique notamment par le fait que la phase analytique a bénéficié de plus d'attention pendant l'ancienne ère. Les phases pré et post-analytiques font intervenir des facteurs confondants (personne, environnement...) concernant souvent des activités réalisées en dehors du laboratoire. Ces étapes sont ainsi plus

difficiles à maîtriser. Il existe un « *mur* » à abolir pour apporter plus d'interface entre les services de soins et le laboratoire. En effet, 80% des erreurs sur le résultat d'examen trouvent leur origine en dehors du laboratoire (27). Une solution à ces difficultés a été de développer des examens délocalisés. Ces tests au plus près des patients sont des tests rapides de première intention, *a priori* bien maîtrisés sur le versant analytique et avec peu de contraintes pour les phases pré et post-analytiques pour pouvoir être utilisés par du personnel non-techniciens (personnels soignants, patient lui-même). La rédaction de référentiels et des documents d'aide à leur maîtrises ont également vu le jour (27).

– « *L'ère moderne* » affine encore plus le macro-processus de réalisation en identifiant deux phases extrêmes. La phase pré-pré-analytique correspondant aux étapes avant le prélèvement en lui-même. Elle concerne notamment le choix par le médecin des examens à effectuer en fonction du contexte clinique. La phase post-post-analytique s'intéresse quant à elle à l'interprétation finale du résultat et à son utilisation. Ces phases, encore moins sous le contrôle du laboratoire de biologie, seraient encore plus critiques notamment en termes de fréquence de survenue de problème (27).

Ainsi sur le processus de réalisation d'examen, le taux d'erreurs est estimé entre 0.012 et 0.6% des tests (28). Selon les études, ce chiffre varie en fonction de l'année de l'étude, des méthodes utilisées pour identifier les erreurs, leur nombre et leur nature. Entrent également en ligne de compte le laboratoire où s'est déroulée l'étude ainsi que les services prescripteurs, la population de patients, les spécimens analysés et le volume d'échantillons analysés (29).

1.4.3 La phase pré-analytique en hémostase

1.4.3.1 Types d'erreurs et recommandations

Avec un taux d'erreur compris entre 60% et 70%, la phase pré-analytique représente 19% du coût d'une analyse et consomme 37% du temps du processus de réalisation (30).

Les sources d'erreurs sont multiples (communes entre les différentes disciplines de biologie médicale) et concernent principalement (31) :

- Les étapes de la préparation du patient : variabilité biologique, conditions environnementales, lieu de ponction,...
- La prise de sang en elle-même : identification du patient, de ses prélèvements, le matériel (aiguilles, tubes,...), techniques de prélèvements (garrot, ordre des tubes, remplissage agitation des prélèvements,...), contamination potentielle,...
- Le transport des prélèvements : délai d'acheminement, conditions de température et de transport (pneumatique, maintien vertical des tubes...)
- La préparation des tubes dans le laboratoire ainsi que leur stockage : prétraitement, délai d'analyse, conditions de conservation, préparation d'aliquots...

Afin d'apporter une aide dans la maîtrise du processus pré-analytique, des référentiels ont été produits. Les deux référentiels utilisés par les laboratoires d'hémostase sont :

- Le document du GEHT, le Groupe francophone d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose dont les recommandations de 1998 ont été réévaluée en 2015 (32) ;
- Le document du CLSI (H21-A5) dont les recommandations internationales ont été produites pour la dernière édition (5^{ème}) en 2008 (33).

Ces documents renseignent sur la collecte des échantillons, le transport, les délais d'analyse... Le tableau 10 reprend les recommandations les plus importantes du GEHT et du CLSI.

Tableau 10 : Recommandations du GEHT, 2015 (32) et du CLSI, 2008 (33) sur le pré-analytique en Hémostasie.

CTAD : Citrate, théophylline, adénosine, dipyridamole – PPACK : D-phénylalanine-proline-arginine-chlorométhylcétone - TA : température ambiante

	GEHT (2015)		CLSI (2008)
	Recommandé	Acceptable	-
Généralités	Le matin, au repos, non à jeun mais après un repas léger	-	Identification (patient / tube) ++
Tube	Tube sous "vide", stérile Citrate : PET étanche CTAD : PET ou verre siliconé Bouchon inerte Volume résiduel d'air <20% Respect strict des dates de préemption	Verre siliconé	Tube sous "vide" Verre siliconé ou plastique Matériel non-actif (polypropylène) Tubes pédiatriques +/- tube de purge
Anticoagulant	Citrate 3,2% CTAD dont 3,2% de citrate	Citrate 0,129M (3,8%)	Citrate 3,2% (0,105 ou 0,109 M) Citrate 3,8% (0,129 M) CTAD PPACK (spécialisé) Autres types (spécialisé)
pH du plasma anti coagulé	7,3 à 7,45	-	-
Hématocrite l/l	0,20 à 0,55	Résultats sous réserves >0,55 ou ajustement de la concentration en citrate si <0,2	< 0,55 (calcul à appliquer si >)
Taille de l'aiguille	19 à 22 gauge	23 gauge en pédiatrie	19-21 gauge
Garrot	<1min	Entre 1 à 3 min	
Site de ponction	Veineux Eloigné de toute perfusion	Artériel Prélèvement sur cathéter après rejet de 5 à 10ml	Veineux
Place du tube	2ème tube Après le tube de "purge" Ou après un tube sec sans activateur Ou après des hémocultures	1er tube (tests courant de coagulation) ou en cas d'utilisation d'aiguille épicroânienne si bon volume de remplissage	Ordre : référence à d'autres documents du CLSI Après tube de "purge" (si présent) qui peut être un tube sans activateurs ou un autre tube de coagulation (pour purger)

Remplissage	≥ 90% Homogénéisation dès la fin du remplissage par retournement	≥ 80%	> 90% Agitation douce après remplissage (3 à 6 fois)
Transport	15 à 25°C Non réfrigéré Minimiser les chocs	-	18 °C à 25 °C (=Température ambiante) < 1h Pneumatique : prévention des chocs
Délai avant le test	<u>Recommandations de 2007 non réévaluées en 2015</u> (34)		TP, TCA +/- héparine, TCA pour VWF et FVIII analyses, "autres" tests
	<2h <4h si CTAD	<4h <6h pour T de Quick	<ul style="list-style-type: none"> • TP : 24h en sang total – TA // 24h plasma -TA • TCA : 4h sang total - TA // 4h plasma - 2 °C-8°C ou TA
Centrifugation standard	2000 à 2500g ET au moins 10 min 1500 à 2000 g ET au moins 15min 15-25°C Rotor godets mobiles Freins désactivés Taux de plaquettes résiduelles <10 G/L Contrôle 1fois/an	Ponctuellement sans système de refroidissement Rotor angulaire à angle fixe Frein (puissance minimum)	1500g, 15 min Autres conditions à tester Taux de plaquettes résiduelles <10 G/L
Double centrifugation	Pour les Anticoagulants circulants, la résistance à la protéine C activée et avant congélation	-	Possible Avant congélation
Température de centrifugation	Thermostatée 15 à 25°C	-	18 °C to 25 °C
Congélation	Rapide à au moins -70°C	Rapide à au moins -20°C	-20°C / -70°C
Conservation	Au moins -70°C Tube non mouillable avec bouchons à vis capacité adaptée au volume du plasma	Au moins -20°C (<15 jours)	-20°C : 2 semaines -70°C : 2 mois
Transport d'échantillon congelé	Carboglance	Glance ou accumulateur de froid	-
Décongélation	Rapide à 37°C au bain-marie avec immersion complète Temps adapté au volume de plasma de l'aliquot	-	Rapide à 37°C

D'autres variables pré-analytiques non présentées dans ce tableau sont importantes comme le renseignement de l'heure de prélèvement sur les bons de demande, la notion de traitement et la bonne identification des tubes. Par ailleurs, juste après l'étape de centrifugation, d'autres critères de conformité du prélèvement peuvent être étudiés comme le niveau de remplissage ou l'existence d'une hémolyse. Le CLSI propose d'ailleurs d'écarter ces tubes hémolysés (33). Si il existe un risque potentiel d'activation de la coagulation, l'hémolyse induit un allongement ou un raccourcissement des temps de coagulation selon les études (35,36). On trouve dans cet exemple la justification de bonnes pratiques de prélèvement pour une bonne qualité analytique des tests.

1.4.3.2 Fréquence des erreurs : données de la littérature

Peu d'études ont évalué quelles sont les erreurs les plus fréquemment rencontrées sur le pré-analytique en hémostase. Deux études sont reportées ici.

Une étude en 2008 (Italie) a observé sur deux ans la nature de ces erreurs, leurs fréquences et leurs répartitions selon les services (Tableau 11) (37). Leur première conclusion est que les erreurs pré-analytiques concernent 5,5% de leurs prélèvements en hémostase. Le service le plus concerné est celui de pédiatrie (10%). Sur ces 5.5%, le problème le plus fréquent est l'absence de tube (49,3%). Puis, sont recensés l'hémolyse (19,5%), les échantillons coagulés (14.2%) et le volume insuffisant (13.7%). Le secteur pédiatrique est celui qui concentre 63.6% des prélèvements coagulés et le service des urgences 68.1% des prélèvements hémolysés (37).

Tableau 11 : Fréquences et types d'erreurs pré-analytiques de l'étude de Salvagno *et al* en 2008

	All samples n (%)	Emergency department n (%)	Intensive care unit n (%)	Surgical departments n (%)	Clinical departments n (%)	Paediatric departments n (%)
Total requests	65 283	4955	7815	31 702	18 879	1932
Pre-analytical problems	3 617 (5.5)	285 (5.8)	424 (5.4)	1 544 (4.9)	1 169 (6.2)	195 (10.1)
Sample not received	1 784 (49.3)	36 (12.6)	284 (67.0)	780 (50.5)	648 (55.4)	36 (18.5)
Inappropriate container	57 (1.6)	7 (2.5)	6 (1.4)	22 (1.4)	17 (1.5)	5 (2.6)
Inappropriate volume	494 (13.7)	18 (6.3)	24 (5.7)	275 (17.8)	165 (14.1)	12 (6.2)
Haemolysis	706 (19.5)	194 (68.1)	67 (15.8)	222 (14.4)	207 (17.7)	16 (8.2)
Icterus	11 (0.3)	0 (0.0)	4 (0.9)	2 (0.1)	5 (0.4)	0 (0.0)
Lipaemia	11 (0.3)	0 (0.0)	3 (0.7)	2 (0.1)	5 (0.4)	2 (1.0)
Clotting	513 (14.2)	28 (9.8)	31 (7.3)	234 (15.2)	96 (8.2)	124 (63.6)
Contamination	41 (1.1)	1 (0.4)	5 (1.2)	7 (0.5)	28 (2.4)	0 (0.0)

The relative prevalence of the pre-analytical variables was related to the total number of problems recorded for each single hospital department.

Une étude s'est également intéressée en 2005 (Espagne) à ces problématiques, sur une durée de un mois, en confondant des bilans d'hémostase (un cinquième des tubes) avec ceux de biochimie et d'immuno-hématologie (38). En exploitant leurs données concernant les prélèvements d'hémostase, il est estimé un taux d'erreur pré-analytique de 3.6% en hémostase. Sur ces prélèvements rejetés, nous notons 32.7% d'échantillons hémolysés, 31.2% de tubes mal remplis, 13.7% de tubes coagulés, 13.7% de tubes absents et enfin 8.8% de type inadéquat (Tableau 12) (38).

Tableau 12 : Fréquences et types d'erreurs pré-analytiques revus à partir de l'étude de *Romero et al* en 2005

Nombre de tubes en Hémostase	Erreurs pré-analytiques	Taux d'erreur pré-analytiques
5715	205	3.6 %

	Prélèvements hémolysés	Tube absent	Volume insuffisant	Tubes coagulés	Mauvais type de tube
n = 205	67	28	64	28	18
%	32,7	13,7	31,2	13,7	8,8

Ces deux études se sont beaucoup intéressées au prélèvement en lui-même. Elles n'ont pour autant évalué que cinq paramètres relatifs à l'échantillon. Cependant, d'autres variables auraient pu être prises en compte tel que notamment le remplissage des tubes, les délais d'acheminement ou les erreurs d'identitovigilance.

1.4.3.3 Conséquences

La prescription d'un bilan de coagulation par un médecin peut présenter de nombreux intérêts : dépistage d'anomalies dans le cadre d'un bilan préopératoire, exploration d'une symptomatologie hémorragique ou thrombotique, suivi de traitements anticoagulants... Il existe des tests de première intention, globaux, qui en cas d'anomalies sont à l'origine d'explorations ultérieures guidées par la clinique des patients. La qualité et la fiabilité des résultats rendus est donc primordiale. En effet, rendre des résultats faussement normaux peut amener à ignorer des hypothèses diagnostics. A l'inverse, rendre des résultats faussement anormaux peut entraîner la poursuite d'investigations alors inutiles. Les erreurs sont ainsi préjudiciables d'un point de vue médical et économique.

Les données de l'étude de *Goldschmidt et Lent* en 1995 reprise en 2002 par *Bonini P et al.* estime (sans donnée réelle) que 75% des erreurs produisent des résultats rentrant dans les valeurs de référence (29). Le laboratoire ne peut alors mettre en évidence l'erreur sur la seule interprétation du bilan sans notion médicale associée. Il est rapporté que 12,5% des résultats erronés, facilement détectables, sont tellement aberrants qu'ils ne peuvent conduire à une interprétation cohérente. Les 12,5% de résultats erronés restants peuvent avoir un réel impact sur la prise en charge des patients. En hémostase, la non-maîtrise du processus de réalisation est responsable de 9% à 15% de résultats erronés à l'origine d'erreurs de diagnostic et de 2% à 7% de résultats aberrants à l'origine de soins inappropriés (39).

1.4.3.4 Prévention des erreurs

Une des conclusions communes à l'ensemble des études qui s'intéressent aux erreurs pré-analytiques est que cette phase est d'autant plus critique qu'elle se déroule en majorité en dehors des laboratoires de biologie : 80% des erreurs trouvent leur origine en dehors des laboratoires (29). Des stratégies sont avancées dans l'article de *Lippi G et al* en 2001 pour prévenir ces erreurs notamment sur ces étapes à risques (31).

Le premier outil est la rédaction de procédures claires. Mettre à disposition une information écrite facilement accessible aux préleveurs leur rappelant comment contrôler l'identité d'un patient, comment collecter les échantillons, comment les faire parvenir au laboratoire, selon quelles conditions, permet de réduire les risques et de rassurer les infirmiers quant à leur pratique. Au laboratoire également, les procédures d'enregistrement, de prétraitement des tubes doivent être à disposition des techniciens.

A l'information écrite, il faut ajouter une information orale pour l'ensemble du personnel de santé :

- Communication à l'égard des prescripteurs sur les examens à prescrire et les délais de réalisation correspondants
- Communication avec les préleveurs sur les techniques, le remplissage des bons de demande via des formations.

La formation du personnel préleveur est indispensable. Des données montrent que les prélèvements des patients hospitalisés font état d'un taux d'erreurs plus élevé que celui

des patients en ambulatoire (25). Cela peut-être expliqué par le fait que l'acte est réalisé en dehors des services cliniques par des techniciens ou biologistes connaissant parfois mieux les critères de conformité d'un prélèvement. Le rendement est également plus faible que celui imposé aux infirmières dans les services de soins avec moins de tubes à prélever et notamment moins d'analyses spécialisées. Une sensibilisation et un suivi régulier des infirmiers aux bonnes pratiques de prélèvements est indispensable.

Les autres mesures sont la mise en place d'indicateurs sous la forme de diagramme de progrès en ciblant les services et les étapes qui posent le plus problème. L'automatisation de certaines phases peut également améliorer les prestations. Des solutions existent ou sont en cours d'étude et concernent :

- La bonne identification des patients : utilisation de code à barre
- La bonne prescription : bracelet patient avec code à barres scanné par l'infirmière permettant l'impression d'étiquettes spécifiques en fonction des examens à analyser ; utilisation d'un logiciel de prescription connectée limitant les erreurs d'enregistrement des demandes
- L'utilisation de système de transport adapté : système pneumatique, enceinte thermostatée, chaîne robotisée au sein du laboratoire
- L'utilisation des modules pré-analytiques détectant les tubes mal remplis, l'aspect et les bulles à la surface du plasma.

1.4.4 La phase post-analytique en hémostase

1.4.4.1 Données des référentiels

Comme présenté précédemment en termes de criticité des différentes phases, la phase post-analytique présente moins de risques que la phase pré-analytique. De ce fait, moins de recommandations existent sur ce processus du point de vue biologique. Pour reprendre les deux référentiels principaux en Hémostase, le GEHT ne s'intéresse qu'à la gestion pré-analytique des échantillons et ne donne aucune recommandation sur la phase post-analytique. Le CLSI lui, évoque des considérations post-analytiques mais se limite aux recommandations concernant le stockage des échantillons qui est considéré critique en Hémostase.

Les délais acceptables d'analyse des échantillons sont présentés dans le tableau 13 pour les deux examens principaux, le TP (Taux de prothrombine) et le TCA (Temps de Céphaline avec Activateur), et pour les « autres » tests (33). Les stabilités post-analytiques sur du plasma sont données à température ambiante (+18°C à +25°C) et entre 2°C et 8°C par rapport à l'heure de prélèvement :

- TP : conservation à température ambiante uniquement et pendant 24h
- TCA : conservation de 4 heures pour les deux conditions de température quelle que soit l'indication de réalisation de l'examen (TCA simple et de suivi de traitement par Héparine Non Fractionnée ou pour une analyse de facteur VIII et de facteur Willebrand (VWF))
- Autres tests : conservation de 4 heures pour les deux conditions de température

Tableau 13: Recommandations du CLSI sur la conservation pré-analytique et post-analytique d'examens d'hémostase (33)

Assay	Stored as Whole Blood			Processed and Plasma Aliquoted			
	Room Temp	Refrigerated	Frozen	Room Temp	Refrigerated	Frozen -20 °C**	Frozen -70 °C or colder**
PT	Up to 24 hr	Unacceptable	Unacceptable	Up to 24 hr	Unacceptable	2 wk	12 mo
APTT	Up to 4 hr	Unknown	Unacceptable	4 hr	4 hr	2 wk	12 mo
APTT-For UFH analysis	1 hr	Unknown	Unacceptable	4 hr	4 hr	*** 2 wk	*** Unknown
APTT-For VWF and VIII Analysis	4 hr	Unacceptable	Unacceptable	4 hr	4 hr	** 2 wk	** 6 mo
Other	4 hr	Unknown	Unacceptable	4 hr	4 hr	Depends on analyte; see Appendix B	

Placing whole blood specimens directly on ice or in an ice water bath simulates refrigeration.

**Must be thoroughly mixed before testing

***Should be platelet-poor

1.4.4.2 Données de la littérature

En précisant ces délais, le CLSI reste cependant ouvert en notant qu'un laboratoire peut ne pas suivre ses recommandations à condition qu'il détermine par des études appropriées et validées ses propres règles. Par cette démarche, un laboratoire

prend en compte les paramètres liés à son environnement (utilisation d'un pneumatique pour l'acheminement des tubes, types de tubes, programmes de centrifugation du laboratoire,...) et à sa population de patients (patients hospitalisés anticoagulés, patients non traités mais avec des troubles de l'hémostase).

Nous retrouvons dans la littérature, de nombreuses études qui ont entrepris cette démarche. La synthèse de leurs résultats est présentée dans le tableau 14. Des discordances sont observées parfois du fait de leurs méthodologies différentes : population d'études, prise en charge pré-analytique, décantation du plasma ou non, critères décisionnels.

Les différences majeures avec les données du CLSI sont les suivantes :

- TP :
 - o Etude avec succès de la conservation à température réfrigérée : stabilité de 24h à cette température (40–43)
 - o Etude spécifique de patients sous AVK (anti-vitamine K) pour trois études : stabilité de 24h entre 2°C et 8°C ou à température ambiante (40,43)
- TCA
 - o Sans traitement héparinique : délai de 2 à 12h selon les études et les températures d'étude (entre 2°C et 8°C ou à température ambiante) (40–45)
 - o Avec traitement héparinique : une seule étude citée ici a intégré des patients sous Héparine Non Fractionnée (HNF). Le délai est par ailleurs plus strict que le CLSI à température ambiante en donnant moins de 1h à la réalisation du test (43)
- Autres paramètres :
 - o Fibrinogène (Fg) : stabilité de 24h entre 2°C et 8°C ou à température ambiante (40,41).
 - o Facteur VIII (FVIII) : stabilité de 2h entre 2°C et 8°C ou à température ambiante (40).

Tableau 14 : Données de la littérature (40-45) vs du CLSI (33) : conservation post-analytique des échantillons plasmatiques.

TA = température ambiante, 4°C = température réfrigérée, nb = nombre, plq = plaquettes, ttt = traitement, Imp = Impossible, rpm = rotations par minute, T°C = température

Date	Auteurs	Nombre de patients	Population	Types de tubes	Programme centrifugeuse	Méthodologie	Critère décisionnel		TP	INR	TCA	Fg	FV	FVIII
2008	CLSI (33)	-	-	-	-	Centrifugation < 1h Plasma aliquoté Conservation : 4°C et TA	-	4°C	Imp.	-	4h	4h	4h	4h
								TA	24h		4h-HNF: 4h	4h	4h	4h
2014	Feng et al. (40)	72 (patients de l'hôpital)	Asymptomatiques	0,109M 5,4mL	10 min 3000g T°C ?	Centrifugé immédiatement Plasma aliquoté Analysé à 0/2/4/6/8/12/24h Conservation : 4°C et 25°C	>10% de variation pour +/- 25% des patients	4°C	24h	24h	12h	24h	-	2h
								TA	24h	24h	8h	24h	-	2h
2013	Zhao Y, Lv G. (41)	160 patients hospitalisés:80 pour chaque T°C	Normaux sans ttt anticoagulant	0.109M 5mL	10 min 3000 rpm T°C ?	Centrifugé immédiatement Plasma non-décanté Analysé à 0/4/8/24h	>10% de variation	4°C	24h	-	8h	24h	-	-
								TA	24h	-	8h	24h	-	-
2000	Rao et al. (42)	36 (prisonniers)	Normaux et perturbés (sans ttt anticoagulant)	0,129M 2,7 mL	10 min 1500 rpm T°C ?	Centrifugé immédiatement, Plasma aliquoté Analysé à 0/6/12/24 Conservation : 4°C et TA	Décision statistique : test de Fisher	4°C	24h	-	12h	-	-	-
								TA	24h	-	12h	-	-	-
1998	Adcock et al (43)	4 groupes (83 tubes)	- Sains - Hospitalisés sans ttt - Sous AVK - Sous HNF	Non renseigné	15 min 2500g T°C ?	Centrifugé immédiatement Plasma non-décanté Analysé à 1/4/6/8/24h Conservation : 20-22°C, 4°C	>10% de variation	4°C	24h	24h	8h - HNF: <4h	-	-	-
								TA	24h	24h	8h-HNF: < 1h	-	-	-
2012	Saghir et al (44)	33 (volontaires du labo et étudiants)	Sains sans ttt anticoagulant	0.109M 10mL	15 min 2500 rpm T°C ?	Centrifugé immédiatement Plasma aliquoté Analysé à TP 0/4/8 /24h, TCA 0/2/5/8h Conservation : 4°C et TA	Décision statistique : test de Student	4°C	Imp.	-	2h	-	-	-
								TA	4h	-	2h	-	-	-
2005	Van Geest-Daalderop JHH et al (45)	40 environ (patients hémostase clinique)	Patients sous AVK	0,109M 0,106M	Pas d'impact considéré (T°C /nb de plq/durée)	Centrifugé immédiatement Plasma non-décanté Analysé à 0,5/1/3/6/24h Conservation : TA	>10% de variation pour +/- 25% des patients	TA	-	6h	-	-	-	-

Les risques inhérents à l'intégralité du processus (pré-analytique, analytique et post-analytique) doivent ainsi être connus. Pour cela, la réalisation d'une étude des risques sur toutes les phases du processus de réalisation permet de (ré)-identifier les points critiques et d'évaluer les dispositions actuelles et à mettre en place pour réduire la criticité des activités. Cette démarche participant au système de management de la qualité doit faire partie intégrante du travail au sein du laboratoire.

2 Paramètres étudiés

2.1 Participation de la discipline hémostasie à l'accréditation du LBMMS

Les échéances et objectifs du LBMMS des HCL sont données dans la loi n° 2013-442 du 30 mai 2013 (1) portant réforme de la biologie médicale (Figure 8). Ils guident les laboratoires dans leur processus en leur donnant des échéances réglementaires. L'accréditation complète du laboratoire se déroule en trois phases et consiste en l'accréditation :

- De 50 % des actes pour le 1^{er} novembre 2016
- De 70 % pour le 1^{er} novembre 2018
- De 100% pour le 1^{er} novembre 2020

Les laboratoires doivent anticiper les échéances afin d'être accrédités sur l'ensemble des examens de façon à ne pas entraîner un arrêt de leur activité à l'horizon 2020.

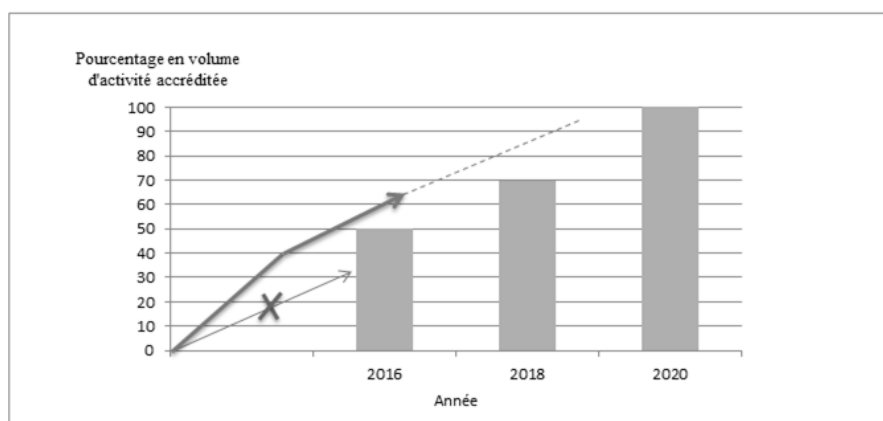


Figure 8 : Pourcentage en volume d'activité à accréditer en fonction du temps pour être conforme à la loi du 30 mai 2013 n° 2013-442

Pour l'échéance à 50% d'accréditation de 2016, le laboratoire doit présenter au minimum un examen de chaque famille (Décret n° 2015-205 du 23 février 2015) (46), une famille correspondant à une « activité à compétence technique cohérente et identifiée par le COFRAC dont les limites sont usuellement reconnues et acceptées par les pairs » (47). Par exemple, l'hémostase sous le nom COAGBM participe à la composition d'une famille.

Au sein du LBMMS, les examens de cette discipline sont produits par quatre sites analytiques appartenant aux laboratoires de biologie des différents hôpitaux de Lyon :

- L'hôpital Edouard Herriot (HEH)
- Le centre de biologie de l'hôpital Lyon Sud (CBS)
- Le centre de biologie de l'hôpital de la Croix Rousse ou centre de biologie Nord (CBN)
- Le centre de biologie des hôpitaux Est (CBE).

Tous ces laboratoires réalisent les examens de routine dits de plateaux techniques polyvalents partagés (PTPP). Les examens spécialisés sont au laboratoire d'hématologie du CBE.

Les deux examens choisis en hémostase pour représenter 50% du volume d'activités sont : le temps de Quick (secondes, TP en % et INR) et le temps de céphaline avec activateur (TCA en secondes et ratio TCA).

2.2 Examens rentrant dans le périmètre de l'échéance de 2016

2.2.1 Critères de choix

Les deux paramètres rentrant dans le périmètre d'accréditation pour l'échéance de 2016 sont le TP et le TCA. Ce sont les deux tests globaux utilisés dans les bilans de première intention d'exploration de l'hémostase d'un patient. Ce sont des tests courants et fréquents. Ils comptabilisent à eux seuls plus de la moitié des examens des laboratoires d'hémostase. Comme exemple, le tableau 15 présente l'activité en TP/TCA du laboratoire d'HEH sur les trois premiers mois de 2015. Le TP et le TCA réunis représentent dans ce laboratoire plus de 60% des examens réalisés. Dans la stratégie

diagnostique, une perturbation d'un ou des deux tests implique des explorations ultérieures plus spécialisées avec notamment des dosages isolés des facteurs de la coagulation.

Par ailleurs, ces deux paramètres sont réalisés de manière automatisée. L'accréditation de méthodes à l'aide d'un système analytique, automate et réactif, d'un même fournisseur facilite la démarche en appliquant une portée flexible A relative à l'adoption d'une méthode reconnue. Au LBMMS, les automates de coagulation sont des ACL TOP 700 CTS (Instrumentation Laboratory, Werfen) utilisés avec les réactifs du même fournisseur, thromboplastine (Recombiplastin 2G[®]) pour le TP et céphaline (Synthasil[®]) pour le TCA.

Tableau 15 : Activité du laboratoire d'HEH pour ses analyses de TP et TCA rapportées en pourcentage à l'activité totale du laboratoire.

Période	Janvier 2015	Février 2015	Mars 2015
Totalité des examens (HEH)	26593	22590	24374
Nombre de TP	8398	7223	7637
% d'activité	31,6 %	32,0 %	31,3 %
Nombre de TCA	8562	7394	7857
% d'activité	32,2 %	32,7 %	32,2 %
TP + TCA : % d'activité	63.8 %	64.7 %	63.5 %

2.2.2 Taux de prothrombine

Le taux de prothrombine (TP) exprimé en pourcentage est l'expression courante du TQ, temps de Quick rendu en secondes. Ce test mesure le temps de coagulation à 37°C d'un plasma citaté, pauvre en plaquettes, recalcifié en présence de thromboplastine (facteur tissulaire et phospholipides). L'INR est une autre manière d'exprimer ce temps et permet de standardiser le résultat pour le suivi des patients sous AVK.

Par ailleurs, en pratique courante, une diminution isolée du TP s'explique en première intention par un dosage en facteur V pour poser des hypothèses diagnostiques.

2.2.3 Temps de céphaline avec activateur

Le temps de céphaline avec activateur (TCA), exprimé en secondes, est le temps de coagulation d'un plasma citraté, déplaqueté, recalcifié en présence de céphaline (phospholipides avec un activateur de la phase contact comme la silice).

En pratique courante, un allongement de ce temps est observé dans le suivi des patients sous héparine. En cas d'absence d'explication évidente de l'allongement, l'exploration repose entre autre sur le dosage du facteur VIII.

2.3 Examens d'hémostase étudiés hors échéance 2016

Les autres paramètres étudiés au cours de ce travail ne font pas partie du panel d'examens de l'échéance de 2016. Cependant, ce sont des tests de routine fréquemment réalisés pour discuter des anomalies identifiées sur les tests de dépistage que sont le TP et le TCA. Par ailleurs, ils font partie de la même famille COAGBM du COFRAC qui devra être accréditée en intégralité pour 2020.

2.3.1 Suivi des patients sous héparine : TCA et héparinémie

2.3.1.1 Le suivi biologique du traitement par Héparine Non fractionnée (HNF)

Un traitement anticoagulant suppose une connaissance parfaite entre la dose de médicament et l'effet thérapeutique que cette dose engendre, ceci sans négliger les effets indésirables qui peuvent apparaître. Le suivi correct d'un traitement anticoagulant par héparine est donc important pour une bonne prise en charge du patient.

Deux grands types d'héparine peuvent être utilisés, les HNF, Héparine Non Fractionnée et les HBPM, Héparine de Bas Poids Moléculaire. Elles diffèrent d'un point de vue structurel sur la longueur de leurs chaînes polysaccharidiques. En plus d'un suivi régulier des plaquettes du patient (HNF, HBPM suivant les cas), une mesure de l'efficacité du traitement in vivo se justifie. Deux tests existent, le TCA et l'activité anti-Xa ou héparinémie (48)

Plus particulièrement, en ce qui concerne les HNF, le suivi biologique quotidien est indispensable du fait d'une pharmacocinétique non prédictible. Il existe une grande variabilité inter-individuelle compte tenu d'une liaison aux protéines plasmatiques et d'une demi-vie variant en fonction de la dose administrée. Un contrôle quotidien par la mesure du TCA ou de l'activité anti-Xa doit ainsi être effectué et réalisé en fonction :

- Du mode et du schéma d'administration
- Du type d'HNF utilisée.

L'héparinémie est mesurée au pic d'activité selon un schéma horaire défini dépendant de l'héparine utilisée (48).

2.3.1.2 Choix de l'examen à réaliser dans ce suivi

Les deux examens de suivi biologique du traitement par HNF sont le TCA et l'héparinémie. Quand le choix est possible entre TCA et héparinémie, les intérêts du TCA sont sa simplicité d'exécution, sa robustesse, son coût et sa disponibilité : ce test est réalisable 24 heures sur 24 dans tous les laboratoires.

Cependant, le TCA est un test global et son allongement peut ne pas être spécifique d'un traitement par héparine. Le dosage de l'activité anti-Xa est alors justifié. L'héparinémie est ainsi réalisée pour le suivi du traitement par HNF en cas :

- D'anomalies préexistantes du TCA,
- Chez les malades de réanimation,
- Dans les syndromes inflammatoires marqués (48).

L'autre inconvénient du TCA est que l'allongement du TCA est variable en fonction de la céphaline utilisée. Les ratios souhaités correspondant à la zone thérapeutique sont donc à définir et vérifier régulièrement par les laboratoires (49).

La mesure de l'héparinémie est donc plus spécifique de l'activité de l'héparine et présente l'avantage d'être réalisable quel que soit le TCA de départ. Elle est cependant plus onéreuse pour le laboratoire.

Le principe de dosage repose sur la mesure de l'activité anti-Xa de l'héparine. L'inhibition, par l'héparine du prélèvement, d'une quantité connue et en excès de facteur Xa, aboutit à une concentration résiduelle en facteur Xa. Cette activité résiduelle

est alors mesurée par une méthode chromogénique. Elle sera inversement proportionnelle à la concentration d'héparine dans le tube.

2.3.1.3 Contraintes biologiques du suivi héparinique

Une surveillance biologique du traitement par héparine doit répondre à des exigences pré-analytiques plus exigeantes que celles demandées pour le bilan de coagulation standard. Il est indispensable de s'affranchir d'une contamination par de l'héparine non thérapeutique (mauvais ordre de prélèvement des tubes, contamination par rinçage des tubulures à l'héparine) et de maîtriser le délai d'acheminement des échantillons. En effet, l'activation plaquettaire se produisant *in vitro* est responsable d'une libération croissante de facteur 4 plaquettaire (Platelet factor 4, PF4) dans le tube qui interfère sur les tests d'hémostase (51).

Le PF4 est une protéine synthétisée par les mégacaryocytes qui est ensuite stockée dans les granules α des plaquettes. Structuellement, il est constitué de nombreux acides aminés basiques qui lui confèrent une charge globale positive expliquant son interaction avec des glycosaminoglycanes à charge négative. *In vivo*, une fois libéré par activation plaquettaire, il est capable de fixer les héparanes sulfates des cellules endothéliales et d'inhiber leur prolifération. Il intervient également dans l'inhibition de l'angiogénèse et dans le processus inflammatoire en favorisant, par chimiotactisme, la dégranulation des polynucléaires neutrophiles et des monocytes (50,51).

Les héparines, du même groupe polysaccharidique que l'héparane sulfate, contiennent elles aussi des charges négatives. Le PF4 possède donc aussi une affinité pour ces molécules. Cette affinité est d'autant plus élevée qu'elle dépend du degré plus important de sulfatation des molécules (51).

Au niveau biologique, cette liaison est responsable d'une neutralisation de l'héparine observée *in vitro* (50,52). De manière empirique, l'existence d'une molécule, en lien avec les plaquettes, capable de sous-estimer l'héparine *in vitro* avait été mise en évidence en 1948 (52). Du sang de plasma de patients thrombopéniques présentait une activité héparinique plus élevée que celle observée chez des patients avec un taux de plaquette normal. Ultérieurement, d'autres protéines secrétées par les plaquettes autres

que le PF4 ont démontré une affinité pour l'héparine mais c'est le PF4 qui a prouvé la plus haute affinité et l'effet le plus puissant (52).

Ainsi, la contrainte pré-analytique du TCA sous héparine et de l'héparinémie concerne essentiellement leurs délais de réalisation. Les recommandations existantes sont celles du CLSI et sont dépendantes du type d'anticoagulant présent dans le tube de prélèvement. En effet, deux types peuvent être utilisés : le tube citrate conventionnel ou le tube CTAD constitué du mélange citrate, théophylline, adénosine et dipyridamole. (33). Le risque, en cas de non-respect des délais de conservation en sang total des échantillons selon le tube, est de s'exposer, par neutralisation de l'effet anticoagulant de l'héparine in vitro, à un raccourcissement du TCA ainsi qu'à une sous-estimation de l'activité anti-Xa (53).

2.3.1.1 Tubes citratés conventionnels et tubes CTAD

L'utilisation des tubes CTAD à la place des tubes citratés conventionnels est admise par le CLSI. Les tubes CTAD présentent l'avantage par rapport aux tubes citratés de stabiliser les plaquettes. En effet, la prévention de l'agrégation et de la dégranulation des plaquettes est obtenue en augmentant la concentration en adénosine monophosphate cyclique (AMPc) dans les plaquettes (54). Le mélange CTAD agit en ce sens grâce à :

- L'adénosine et l'action synergique du dipyridamole stimulant l'enzyme productrice d'AMP cyclique à partir de l'ATP : l'adényl-cyclase,
- La théophylline et le dipyridamole inhibant l'activité de l'enzyme qui dégrade l'AMPc en 5'AMP : la phosphodiesterase (55).

Ainsi cet anticoagulant constitué de citrate, chélatant le calcium, associé à ces trois molécules permet une conservation en sang total jusqu'à 4 heures au lieu de 1 heure en tube citraté classique (33). Néanmoins le tube CTAD est plus cher et son utilisation adéquate doit prendre en compte un certain nombre de contraintes :

- Nécessité à priori de disposer de deux types de tubes (citratés et CTAD) dans les services de soins à l'hôpital : CTAD pour le suivi du traitement par héparine et citrate pour l'exploration conventionnelle de la coagulation

- Anticoagulant particulièrement sensible à la lumière : les tubes doivent rester dans leur emballage étanche aux rayons lumineux jusqu'à leur utilisation ce qui nécessite une attention particulière quant à leur stockage / utilisation dans les services de soins (gestion du pré-analytique).
- Tubes en verre : non recommandés pour un passage sur les chaînes automatisées.

Les tableaux 16 et 17 résument les données de cinq études portant sur la qualification et l'intérêt du tube CTAD en Hémostase. Ces études se sont intéressées aux deux types de tubes concernant les :

- Conditions d'élévation du taux de PF4 in vitro, en fonction du temps, de la température et/ou du type de tube et l'évaluation de son impact sur l'héparine présente dans un échantillon,
- Variations de l'héparinémie et du TCA, en fonction du temps, de la température, et/ou du type de tube.

Au final, la revue de la littérature conclut sur l'intérêt que présente l'utilisation de CTAD comme anticoagulant dans les tubes de coagulation par rapport au citrate. Il a été démontré :

- Une implication du PF4 dans la neutralisation de l'héparine : quand le taux de PF4 augmente, l'héparinémie diminue (52) et le TCA se raccourcit (53)
- Des variations de TCA rendues entre tube citrate et tube CTAD : TCA plus longs sur tube CTAD (53,54)
- Des variations d'héparinémie rendues entre ces tubes : héparinémies supérieures sur tube CTAD (50,54)
- L'absence d'impact sur d'autres tests : TP, TCA, fibrinogène, facteur V et facteur VIII (50,56).

Tableau 16 : Partie 1 : descriptif des études évaluant le tube CTAD (50, 52-54, 56).

T°C = température, TA = température ambiante.

CTAD * : 0,11 M acide citrique; 15 mM Theophylline; 37 mM Adénosine; 0,198mM Dipyridamole; pH 5.0

CTAD** : 27,5 mM acide citrique; 15 mM Theophylline; 3,74 mM Adénosine; 0,20 mM Dipyridamole

Date	Auteurs	Nombres de patients	Héparine	Types de tubes	Programme centrifugeuse	Méthodologie	Critère de décisionnel
1983	Contant G et al. (54)	10 Donneurs sains 39 Patients sous héparine	HNF	- Citrate 0,11 M - Mélange préparé de CTAD*	2000g 15 min 12°C + Test à différentes T°C de centrifugation	- 1ère centrifugation : 30 min après conservation à température ambiante (20-25°C) - T0 : dosages juste après la centrifugation - Txh : dosages à xh après le T0 (jusqu'à T5h) - TCA (Diagnostic Stago) - Héparinémie : anti-IIa	Wilcoxon's T test (apparié) Régression
1984	Levine SP et al. (52)	Donneurs sains Patients sous héparine (nombre ?)	HNF	- Citrate 3,8% non Vacutainer - Citrate Vacutainer	1ère : 12000g 10min 4°C Autres : 1500g 10min 22°C	- Centrifugation après prélèvement: - 30 min max, conservation dans la glace - 10 ou 60 min, conservation TA - TCA (Ortho Diagnostic Systems) - Héparinémie : anti-Xa	Student T test
1987	Van den Besselaar P et al. (53)	15 à 23 Patients sous héparine	HNF	- Citrate 0,109 M - CTAD* - Selon les expériences : Vacutainer ou non	940g 30 min TA + Test à différentes T°C de centrifugation	- 1ère centrifugation : conservation moins de 1h à température ambiante (22°C) - Txh : dosages à xh du prélèvement (jusqu'à T5h) - TCA (General diagnostics)	Student T test 95% (apparié)
2003	Yokota M et al. (56)	20 Donneurs sains	Pas d'héparine	- Citrate - CTAD	1300g 20min T°C non spécifiée	- Centrifugation après 1h à TA - Dosages du plasma à 3h du prélèvement (T°C de conservation ?)	Régression
2010	Toulon P et al. (50)	106 Patients non anti coagulés 98 Patients sous HNF	HNF	- Citrate 0,109 M - CTAD** (remplissage partiel)	3000g 15min 12°C	- Analyses dans les 2 heures après le prélèvement (température de conservation ? Délai entre prélèvement et centrifugation ?) - 4 centres différents : réactifs IL et Stago - Héparinémies : anti-Xa	- Wilcoxon's T test (apparié) (1) - Régression (Passing Bablock) (3) - Coefficient de corrélation de Spearman - Différence (Bland et Altman) (2) --> Impact Clinique ?

Tableau 17 : Partie 2 : résultats des études évaluant le tube CTAD (50, 52-54, 56).

Date	Auteurs	Observations	Conclusions
1983	Contant G et al. (54)	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Intérêt de l'association</u> : C + T + A + D - <u>Intérêt de la concentration en Dipyridamole</u> : 0,198 mM - <u>Anti-IIa</u> : influence du temps après conservation en sang total et de la T°C : <ul style="list-style-type: none"> - n= 39 patients - T0 : CTAD > Citrate (significativement) - T5h : CTAD > Citrate (pas de test statistique) - <u>TCA</u> : influence du temps après centrifugation (plasma) de 0 à 2h à TA: <ul style="list-style-type: none"> - n= 40 patients - T0 à T2 : CTAD > Citrate (pas de test statistique) - T2 : différence entre CTAD et Citrate la plus marquée (pas de test statistique) 	<ul style="list-style-type: none"> - Intérêt du CTAD chez les patients traités : <ul style="list-style-type: none"> - Anti-IIa dès T0 (après 1ère centrifugation) statistiquement prouvé - TCA à partir de T2h (de la centrifugation) non statistiquement prouvé
1984	Levine SP et al. (52)	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Plasma sain + héparine ex vivo</u> : <ul style="list-style-type: none"> - Quand PF4 ↑ : neutralisation héparine patient ↑ (Anti-Xa et TCA) - <u>Plasma patient sous héparine + PF4 in vivo ou ex vivo</u> : <ul style="list-style-type: none"> - Quand PF4 ↑ : neutralisation héparine patient visible sur Anti-Xa (↓) mais pas sur le TCA (↔) 	<ul style="list-style-type: none"> - Effet du PF4 chez des patients traités : <ul style="list-style-type: none"> - Uniquement sur l'anti-Xa (n=6) - Pas sur le TCA (n=21) - Biais de l'étude : tests réalisés sur 1h uniquement
1987	Van den Besselaar P et al. (53)	<ul style="list-style-type: none"> - <u>TCA</u> : Influence du temps après conservation en sang total : <ul style="list-style-type: none"> - n= 23 patients - T3h : CTAD > Citrate (significativement) - <u>TCA</u> : Influence du temps après conservation en plasma : <ul style="list-style-type: none"> - n= 23 patients - T5h : CTAD > Citrate (significativement) - <u>TCA</u> : Influence de la T°C : <ul style="list-style-type: none"> - n= 15 patients - 22°C Citrate : raccourcissement TCA // 4°C Citrate : Allongement TCA - 22°C CTAD : TCA stable // 4°C CTAD : Allongement TCA 	<ul style="list-style-type: none"> - TCA sous héparine : meilleure conservation <ul style="list-style-type: none"> - En sang total - A 22°C - Sur CTAD max 5-6h (ou Citrate < 3h après le prélèvement) - A réaliser immédiatement après la centrifugation - Explication sur les variations de TCA sous héparine: <ul style="list-style-type: none"> - Raccourcissement du TCA lié à la libération de PF4 par les plaquettes - Raccourcissement inhibé par le CTAD - Allongement TCA par inactivation des facteurs V et VIII <ul style="list-style-type: none"> - Mais à 4°C cet effet est plus modéré.... - Intervention d'autres facteurs ?
2003	Yokota M et al. (56)	<ul style="list-style-type: none"> - <u>A T3h</u> : n= 20 <ul style="list-style-type: none"> - TP : CTAD = Citrate ($r^2 > 0,9$) - TCA : CTAD = Citrate ($r^2 > 0,9$) - Fibrinogène : CTAD = Citrate ($r^2 > 0,9$) 	<ul style="list-style-type: none"> - Pas de différence TP / TCA (sans héparine) / Fg : CTAD = Citrate

2010	Toulon P et al. (50)	<ul style="list-style-type: none"> - <u>Patients non traités</u> : CTAD / Citrate <ul style="list-style-type: none"> - FV FVIII : pas de différence (1) - TP / TCA / Fg : différence (1) sans impact clinique (2) - <u>Patients sous HNF</u> : CTAD / Citrate <ul style="list-style-type: none"> - TCA / Fg / FV: pas de différence (1) - TP : différence (1) sans impact clinique (2) - Anti-Xa : CTAD > Citrate <ul style="list-style-type: none"> ▫ Différence (1) ▫ Différence (2) : <ul style="list-style-type: none"> ▫ Général (93,5% des patients) : sans impact clinique (2) : + 0,02 U/mL ▫ 6 patients : avec impact clinique : <ul style="list-style-type: none"> - 5 où CTAD > 0,3 U/mL et Citrate < 0,3 U/mL - 1 où CTAD < 0,3 U/mL et Citrate > 0,3 U/mL - <u>Patients sous HNF</u> : CTAD / Citrate <ul style="list-style-type: none"> - TCA : droite de régression (3) : r= +0,960 - Anti-Xa : droite de régression (3) : r= +0,975 	<ul style="list-style-type: none"> - Tubes CTAD vs Citrate <ul style="list-style-type: none"> - Patients non traités : <ul style="list-style-type: none"> ▫ TP - TCA - Fg - FV - FVIII : pas de différences - Patients sous HNF : <ul style="list-style-type: none"> ▫ TP - TCA - Fg - FV : pas de différences ▫ Anti-Xa : des cas avec impact clinique : <ul style="list-style-type: none"> --> Intérêt du CTAD - Les tubes CTAD à remplissage partiel peuvent être utilisés pour le suivi des patients sous héparine et les tests de coagulation de routine (hors FVIII non testé ici).
------	-------------------------	--	--

2.3.2 Mesure des taux de fibrinogène, facteur V et facteur VIII

Le fibrinogène (facteur I) appartient au bilan standard en hémostase. Il s'agit du substrat final de la cascade de la coagulation transformé par la thrombine en fibrine pour former le caillot. Son dosage repose sur l'exploration de cette dernière étape de la coagulation par ajout sur un plasma citraté, déplaqué et recalcifié à 37°C d'un excès de thrombine (technique de Von Clauss). Son unité est le g/L.

Le facteur V et le facteur VIII (= facteur antihémophilique A) sont tous les deux des facteurs intervenants dans la cascade de la coagulation. Leurs dosages reposent respectivement sur la réalisation d'un TP ou d'un TCA auquel est apporté tous les facteurs de la coagulation sauf celui que l'on souhaite explorer (ajout d'un déficient en facteur V ou en facteur VIII). Les résultats sont rendus en pourcentage.

3 Objectifs du travail réalisé

Dans la partie « Gestion des risques », paragraphe 1.14.6 de la norme NF EN ISO 15189, il est noté que « *le laboratoire doit évaluer l'impact des processus de travail et défaillances potentielles sur la sécurité des résultats des examens et doit modifier les processus pour réduire ou éliminer les risques identifiés, et documenter les décisions et actions menées* ». Cette exigence a été clairement mise en avant dans la dernière version du SH GTA 04 d'avril 2015 ainsi que dans le formulaire SH FORM 43. Une maîtrise des risques reposant sur une analyse de risques exhaustive et quantitative est attendue.

L'objectif premier est de réaliser une analyse de risques complète sur les trois phases du processus (pré-analytique, analytique et post-analytique) de rendu d'un TP et d'un TCA. Ce travail, exigé dans le processus de vérification de ces méthodes, participe à la démarche d'accréditation du laboratoire de biologie médicale des Hospices civils de Lyon. Cette étude permettra d'aboutir à l'élaboration d'un plan d'action dont la vocation sera la mise en place de dispositions, sur l'ensemble des sites, visant à réduire la criticité des activités critiques inhérentes à la production de ces résultats d'examen. Ce travail répond ainsi à la logique d'un système de management de la qualité unique du LBMMS. Enfin, il pourra avoir valeur d'exemple au sens où aucune étude en Hémostase n'a été publiée à ce sujet.

L'objectif secondaire de ce travail a été de répondre à des problématiques identifiées par l'analyse de risques. Il a été ainsi proposé et évalué des dispositions pouvant réduire la criticité des activités pointées en amont par l'analyse de risques. Evaluées par des études expérimentales, elles ont permis de discuter notamment du paramétrage optimal des chaînes robotisées au sein des plateaux techniques. Sur ces points, les études ont porté sur un bilan plus complet en hémostase comprenant la mesure des taux de fibrinogène, des taux de facteur V, VIII et de l'héparinémie.

Partie 2 : Travail personnel d'analyse de risques documentée par des études expérimentales

A. Analyse de risques en Hémostase

Dans cette partie, nous présentons la méthodologie et les résultats, découlant des principes des méthodes AMDEC et EP23 utilisées pour réaliser l'analyse de risques des examens d'hémostase TP et TCA.

1 Matériel et méthode de l'analyse de risques

1.1 Méthodologie générale du travail transversal

Ce travail a été mené selon une « approche processus ». Ceci consiste à identifier des activités à risques étape par étapes, dans la continuité du processus de réalisation d'un examen de biologie médicale. En d'autres termes, notre travail a suivi les trois phases de réalisation d'un TP et d'un TCA : phase pré-analytique, analytique et post-analytique.

L'analyse a été menée en quatre étapes pour chaque phase du processus :

- 1. Identification des risques
- 2. Quantification des risques
- 3. Analyses des données
- 4. Exploitation de l'ensemble des résultats

Une cinquième étape a porté sur la compilation des phases (Figure 9).

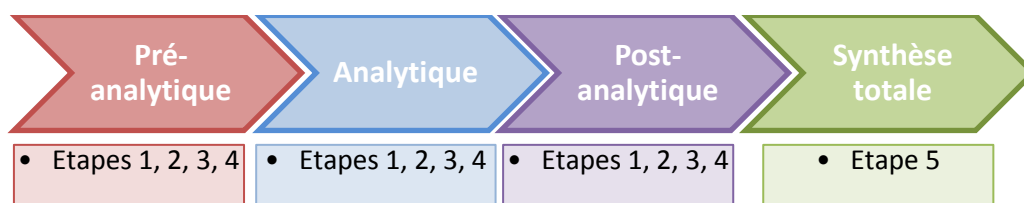


Figure 9 : Méthodologie globale de l'analyse de risques collégiale

- **Etape 1 : Identification des risques**
 - 1a : énumération exhaustive des activités propres à chaque processus

- 1b : attribution à chaque activité de risques associés
- 1c : validation collégiale de la grille.

La partie « identification » des risques a été initiée par le personnel du laboratoire de l'hôpital Edouard Herriot puis un travail transversal avec les différents sites a été entrepris. L'ensemble du personnel de la discipline Hémostase du LBMMS a été convié à se prononcer qu'il soit technicien, cadre, interne ou biologiste sur les activités conduisant à la production de résultats de TP et TCA. Les participants ont eu la possibilité de s'appuyer sur les fiches processus élaborées dans le cadre de la démarche qualité multidisciplinaire du LBMMS. A la relecture des fiches processus, ils ont pu apporter librement une contribution complémentaire reflet de leur expérience de terrain.

- **Etape 2 : Quantification des risques**

Après validation de la grille, la quantification des risques est réalisée par chaque participant

Pour chaque processus, nous avons recueilli la contribution d'au moins un intervenant de chaque site (CBE, CBS, CBN, HEH). Nous avons également consulté des personnes extérieures au LBMMS avec notamment la participation du directeur qualité de notre premier fournisseur critique, la société Werfen, et pour la partie post-analytique d'internes de services clinique. Les participants par phase ainsi que leur fonction sont présentés dans le tableau 18.

Tableau 18 : Participants à l'analyse de risques Hémostase du LBMMS

	Total	Biologistes	Interne en Biologie	Techniciennes	Autres fonctions
Pré-analytique	13	8	2	2	Directeur Qualité Werfen
Analytique	15	8	2	4	Directeur Qualité Werfen
Post-analytique	18	8	2	4	Directeur Qualité Werfen Cadre de santé 2 Internes en médecine

- **Etape 3 : Analyse des données**

Travail de synthèse des criticités estimées par l'ensemble des participants.

- **Etape 4 : Exploitation de l'ensemble des résultats**

Présentation des résultats au cours de réunions régulières relatives à chaque phase. Des discussions autour de l'analyse de risques avec prises de décisions ont clôturé ces réunions.

Ce travail a réuni à trois reprises le personnel du laboratoire multi-sites d'Hémostase. Du personnel de Werfen ainsi que des qualitatifs du LBMMS ont également exprimé leur point de vue.

- **Etape 5 : Compilation des phases**

Une dernière réunion de compilation des résultats de l'analyse de risque complète avec présentation des modalités de construction du plan d'action a également été réalisée.

1.2 Identification des risques au sein d'activités

L'identification des activités a été réalisée de manière exhaustive et méthodique. Avant de nous focaliser sur chacune des phases, nous avons élaboré le PocessMap, dans l'esprit de l'EP23, représentant une vue d'ensemble du macro-processus de réalisation des analyses en Hémostase. Ce dernier est présenté en figure 10. Il est complété par le positionnement des différentes phases pré-ana-, ana- et post-analytique, et par une analyse succincte en 5M. Son étude nous permet d'identifier des activités auxquelles nous pouvons associer ultérieurement des risques.

La réalisation d'un examen de coagulation repose sur une maîtrise parfaite de ses équipements. Les automates réalisant les analyses demandées doivent être approvisionnés en réactifs et consommables de bonne qualité et leurs techniques doivent-être validées. Le contrôle de la qualification de l'automate est optimisé grâce à la réalisation de maintenances quotidiennes, une gestion maîtrisée des réactifs, Contrôles de Qualité Interne (CIQ), consommables. Il doit y avoir une définition et une calibration des méthodes avec un suivi régulier et rigoureux via un contrôle de la qualité analytique journalier ainsi que sur le long terme.

La matière première constituée des échantillons sanguins est également vérifiée et traitée de manière à être conforme aux contraintes de la discipline. Cet item concerne le prélèvement en lui-même mais aussi la demande qui lui est associée, son transport, la

maîtrise de sa mise en sécurité au sein du laboratoire et de son prétraitement. Le test en lui-même ne peut être lancé qu'une fois le contrôle de l'ensemble, automate et réactif, est validé.

La maîtrise de la partie analytique pure repose sur la validation technique du résultat rendu par l'automate. Un problème survenant au cours de l'examen nécessite la mise en place d'actions correctives. Les actions correctives peuvent être simples et évidentes s'il s'agit d'un manquement au bon fonctionnement de l'automate (manque de réactifs), à l'interprétation de résultats (études des courbes réactionnelles) ou plus complexes si elles mettent en évidence un dysfonctionnement majeur de l'automate ou un échantillon non conforme. Parfois même, aucune action ne peut être réalisée pour produire un résultat si le problème survient sur une phase qui n'est pas sous le contrôle direct du laboratoire (échantillon coagulé).

Après la validation technique, intervient la validation biologique, plus globale, qui s'intéresse au résultat en lui-même, confronté à l'ensemble des demandes et à l'intérêt clinique. Un dialogue avec les cliniciens peut s'avérer nécessaire. Le prélèvement ainsi que les données doivent être mis en sécurité et la transmission des résultats optimisée.

L'ensemble du processus dépend également du personnel. Sa qualification est connue et réévaluée régulièrement et leur pratique quotidienne doit reposer sur une documentation adaptée et utile. Enfin, l'environnement du macro-processus analytique est un point majeur puisqu'il induit des contraintes organisationnelles et techniques.

Une fois le processus parfaitement défini, nous avons pu travailler phase par phase en reprenant le cheminement du tube. Par phase, nous avons identifié, au sein des activités, les risques sous-jacents. Une réflexion à l'aide du 5M pour chaque activité nous a permis d'être le plus exhaustif possible. Le tableau 19 donne un exemple d'une activité pour laquelle nous avons identifié les risques associés.

Tableau 19 : Exemple d'une activité pour laquelle sont associés des risques

ACTIVITE	RISQUES ASSOCIEES	
Transport		
Acheminement au laboratoire	Milieu	> 2 h pour le TQ et le TCA simplex
		> 1 h pour le TCA de suivi TT héparine
		Température d'acheminement non entre 18 et 22 °C
		Conservation au réfrigérateur des tubes primaires
		Délai non respecté pour des échantillons prétraités
	Méthode	Etapes de prétraitement mal faites (double centrifugation / congélation)

PROCESS MAP EN HEMOSTASE

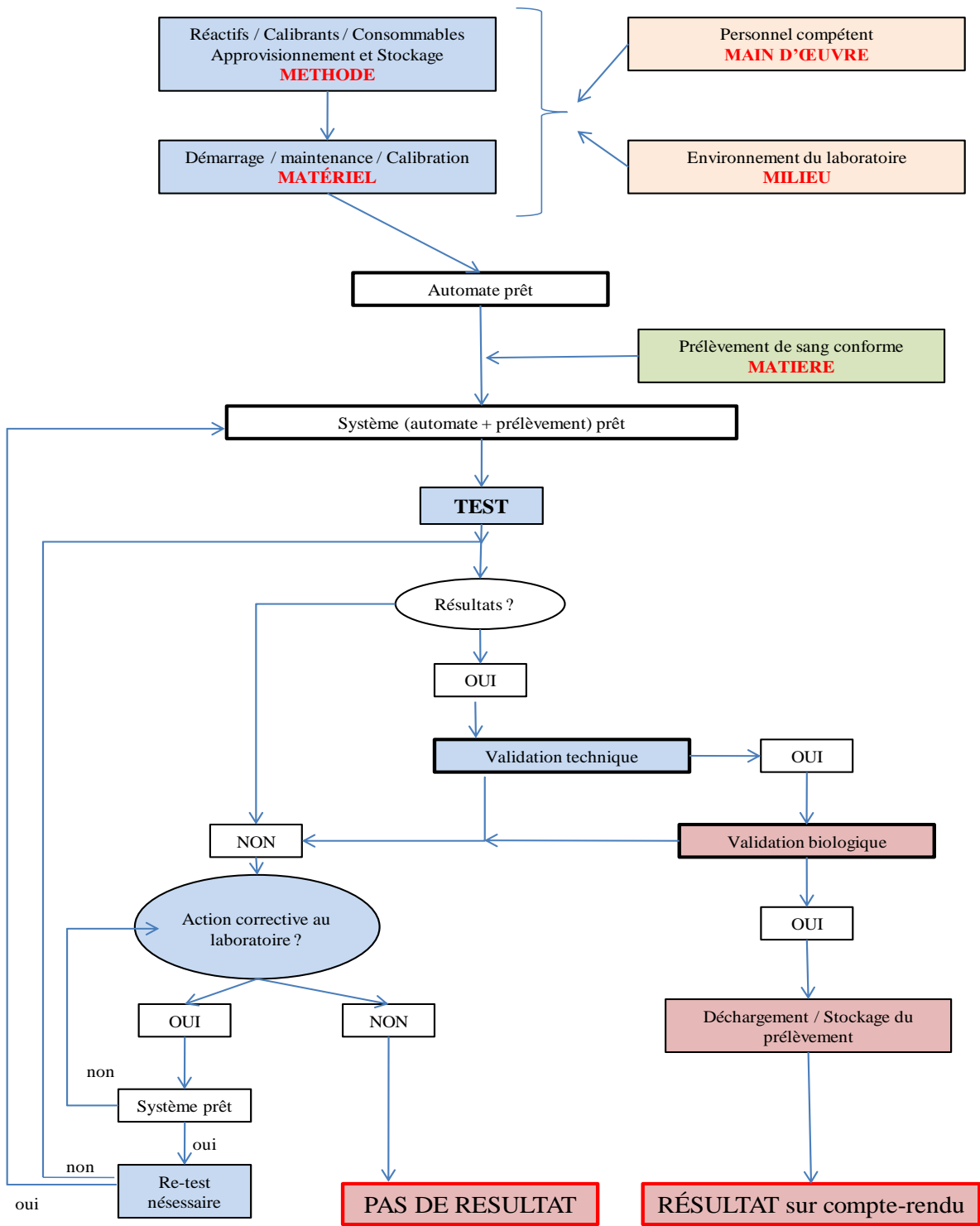


Figure 10 : Process Map en Hémostase. Légende

Phase pré-analytique		Phase analytique	
Phase post-analytique		Toutes les phases	

1.3 Evaluation collégiale des risques

1.3.1 Quantification individuelle

Après validation de la grille d'un processus par les participants de l'étude, une quantification de chaque risque a été réalisée individuellement selon la méthode AMDEC.

L'indice de criticité pour un risque repose sur l'estimation de sa gravité, fréquence et détectabilité par chacun des participants. Ces trois points ont été quantifiés selon les consignes suivantes :

- Score de 1, 5 ou 10 selon l'échelle déterminée dans le tableau 20. Initialement, une cotation en 1-3-6-10 a été utilisée pour la partie pré-analytique mais les réponses ont été réévaluées en 1-5-10 ultérieurement pour répondre à des problèmes de compréhension et ainsi faciliter cette première approche par analyse de risques pour l'ensemble des participants
- Chaque risque est à quantifier individuellement
- Chaque score est à donner indépendamment des autres
- Chaque participant s'est prononcé à la hauteur de son expérience en hémostase.

Tableau 20 : Score en 1-5-10 pour la quantification AMDEC des risques

	Gravité	Fréquence	Détectabilité
1	Pas d'impact	Rare	Facile
5	Impact modéré	Courant	Délicate
10	Impact grave	Très fréquent	Très difficile

Chaque participant a porté initialement une appréciation sur le risque en termes de sécurité analytique sur le résultat d'examen et en termes d'impact sur la prise en charge médicale du patient. L'impact sur la prise en charge médicale du patient a été écarté des discussions du fait de la complexité et de l'hétérogénéité des contextes physiopathologiques. Le travail a donc été mené fondamentalement autour de la sécurité analytique des résultats rendus. Tous les participants ont bien intégré qu'il fallait évaluer l'impact sur la qualité du résultat qui doit refléter l'état réel du patient au

moment du prélèvement. Ceci est le pré requis indispensable à la bonne prise en charge médicale du patient dans tout contexte physiopathologique.

1.3.2 Calcul collégial d'une criticité

A ce stade, nous avons disposé pour chaque participant, d'un calcul de criticité *a priori* pour chaque risque. La médiane de l'ensemble des réponses pour chaque risque a été calculée à l'aide d'un fichier EXCEL et la dispersion des valeurs estimée à l'aide du 3^{ème} quartile. Notons qu'en cas de réponse incomplète d'un participant concernant un risque, nous avons fait le choix de renseigner la médiane de la criticité du risque en question définie par l'ensemble des participants.

La synthèse des étapes aboutissant au calcul de la médiane de criticité d'un risque est présentée en figure 11.

POUR CHAQUE PHASE DU PROCESSUS ANALYTIQUE ET POUR CHAQUE RISQUE IDENTIFIE

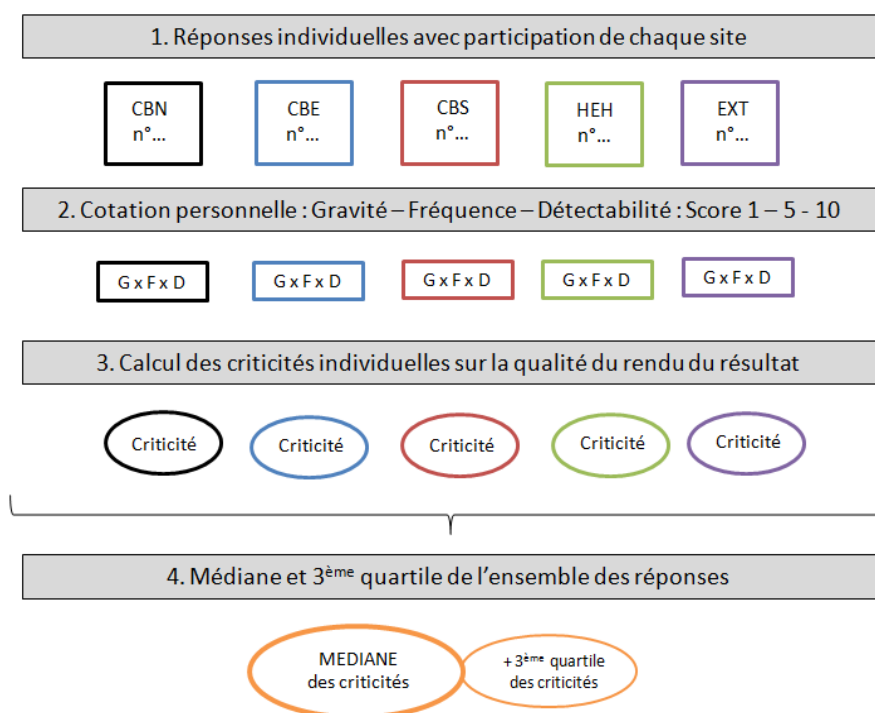


Figure 11 : Méthodologie de la quantification des risques individuelle puis collective.
G=gravité, F=fréquence, D=détectabilité, EXT=partie intéressée hors LBMMS

1.4 Analyses des données

1.4.1 Hiérarchisation des risques phase par phase

L'analyse intersite des données a pu être réalisée avec les valeurs des médianes intégrant les réponses de tous les participants.

1.4.1.1 Par activité

Une première analyse des données s'est intéressée aux activités de chaque phase. Tout d'abord, la somme des criticités des risques composant une activité a été calculée afin de connaître la criticité de chaque activité. Ces dernières ont ainsi pu être :

- Pondérées en pourcentage de la criticité totale de la phase étudiée
- Classées par ordre de criticité décroissante pour une phase.

Puis, pour les activités les plus critiques, nous avons porté notre attention sur les risques qui lui sont associés. Nous avons pu identifier les risques ayant un poids important au sein de chaque activité critique.

1.4.1.2 Par risque

La deuxième analyse a porté sur les risques en eux-mêmes indépendamment de leur activité. L'ensemble des risques, pour une phase, ont été classés par criticité décroissante et une analyse de leur répartition a été réalisée.

1.4.2 Hiérarchisation des risques sur l'ensemble des phases

Une compilation de l'ensemble des risques (pré-analytique, analytique et post-analytique) composant le processus de réalisation d'un TP/TCA a été produite sur EXCEL. L'ensemble des risques ont été classés par criticité décroissante.

1.5 Exploitation de l'ensemble des résultats

Une fois hiérarchisés, nous avons identifié les risques les plus critiques des trois phases de réalisation d'un TP et d'un TCA. Pour cela, aucun seuil fixe de criticité n'a été fixé de façon arbitraire. Nous avons utilisé la loi de Pareto comme outil statistique.

Cette loi est le fruit du travail d'un économiste et sociologue italien Vilfredo Pareto (1848-1923). Son étude sociologique réalisée initialement en Italie sur les inégalités des revenus l'avait amené au constat que 20% de la population italienne détenait 80% des richesses. Bien plus qu'une observation ponctuelle, il s'agissait en fait d'une régularité statistique que l'on observe dans de nombreux domaines (57). Cette loi des 80/20 exprime ainsi qu'à 20% des causes correspondent 80% des occurrences (58). Dans notre système, 20% des risques représentent 80% de la criticité (Figure 12).

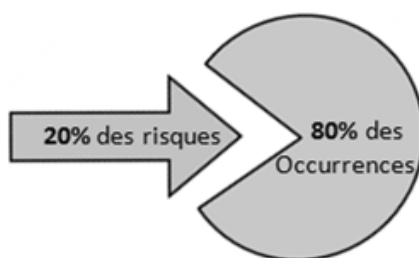


Figure 12 : Représentation de la loi de Pareto (80/20)

Une représentation graphique de loi de Pareto, le diagramme de Pareto permet également de visualiser la portée de cet outil. Un exemple est présenté en figure 13. Ce diagramme se construit en mettant en ordonnée le pourcentage de la criticité d'un risque par rapport à la criticité totale et en abscisse les risques correspondant classés par criticité décroissante. La ligne rouge représente la criticité cumulée des risques. Sur cette figure, donnée comme exemple, les causes A et B représentent à elles seules 80% des criticités et correspondent à 20% des risques (2 sur 8).

A partir des risques critiques (20% de la loi de Pareto), nous avons pu établir les activités critiques et les formaliser au sein des SH FORM 43 de nos méthodes TP et TCA.

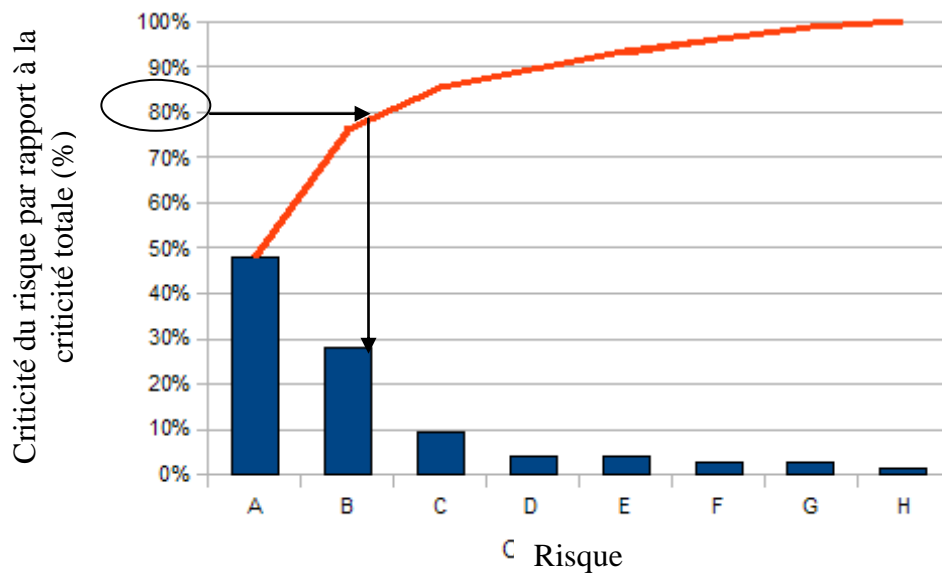


Figure 13 : Diagramme de Pareto revu (58)

L'ensemble des résultats par phase et pour tout le processus sur l'analyse de risques sont présentés dans le paragraphe suivant.

2 Résultat de l'analyse de risques

2.1 Phase pré-analytique

2.1.1 Les risques identifiés et leur criticité

Au niveau de la phase pré-analytique, nous avons identifié 48 risques regroupés au sein de 15 activités. Le tableau 21 reprend l'ensemble associant à la criticité médiane de chaque risque le poids relatif de l'activité correspondante dont il est issu.

Tableau 21 : Tableau des risques au sein des activités de la phase pré-analytique (activité soulignée) associés à leur criticité respective

Activités (Etapas selon AFNOR)	5 M	Points critiques à maîtriser : risques associés	Criticité	Poids de l'activité (En % du total)
Prescription				
<u>Remplissage des bons de demande (unités de soin)</u>	Main d'œuvre	Absence de bon / mauvais bon	5	9.7%
		Absence d'étiquette patient	5	
		Prescripteur et/ou préleveur non renseignés	10	
		Date et/ou heure non renseignées	50	
		Prescripteur et/ou préleveur mal renseignés	25	
		Date et/ou heure mal renseignées	125	
		Traitements, données cliniques mal renseignés	50	
		Analyses mal renseignées	50	
<u>Enregistrement des demandes (laboratoire)</u>	Main d'œuvre	Non-respect prescriptions : traitements, données cliniques	50	2.3%
		Non-respect prescriptions : analyses	25	
<u>Prestation de conseil pré ana biologiste permanence médicale</u>		Prescription inadaptée	37,5	1.1%
Prélèvement				
<u>Identitovigilance</u>	Méthode	Prélèvement arrivé non étiqueté	5	3.3%
		Discordance identité bon / tubes	5	
		Bon et tubes étiquetés au mauvais patient	50	
		RTE/laboratoire : erreur d'identité au re-étiquetage	50	
<u>Recueil de l'échantillon</u>	Main d'œuvre	Prélèvement difficile - Garrot trop prolongé	250	32.7%
		Patient non à jeun, perfusion d'intra lipides	112,5	
		Tube citraté souillé par de l'héparine (Mauvais ordre de prélèvement / Transfert de tube)	125	
	Matière	Tube hémolysé induit par l'agitation du tube	125	
		Tube coagulé	250	
		Tube mal rempli	125	
		Tube périmé	50	
		Mauvais tube : tube EDTA	10	
		Mauvais tube : tube sec	10	
		Mauvais tube : tube CTAD	25	
<u>Réception du prélèvement</u>		Tube absent	5	0.5%
		Tube cassé	5	
		Tube souillé	5	
Transport				
<u>Acheminement au laboratoire</u>	Milieu	> 2 h pour le TQ et le TCA simplex	125	19.6%
		> 1 h pour le TCA de suivi TT héparine	250	
		Température d'acheminement non entre 18 et 22 °C*	125	
		Conservation au réfrigérateur des tubes primaires	50	
		Délai non respecté pour des échantillons pré-traités	50	
	Méthode	Etapas de prétraitement mal faites (double centrifugation / congélation)	50	
Mise en sécurité de l'échantillon				
<u>Gestion des prélèvements urgents</u>	Méthode	Retard de prise en charge	25	0.8%
<u>Centrifugation</u>		Température : trop haute	50	3.8%
		Température : trop basse	25	
		Vitesse / temps	25	
		Suivi métrologique et entretien	25	
<u>Congélation</u>		Plasma de mauvaise qualité	50	1.5%
<u>Conservation pré analytique échantillons</u>	Milieu	> 4 h pour le TQ et le TCA simplex	125	12.8%
		> 1 h pour le TCA de suivi TT héparine	250	

		Température non entre 18 et 22 °C	50	
Non conformités pré-analytique				
Traçabilité des non conformités	Méthode	Absence : pas d'amélioration possible	37,5	1.9%
Analyse des non conformités		Absence : pas de dynamique d'amélioration continue	25	
Documentation				
Rédaction / Gestion des documents	Méthode	Absence de formalisation / documents non à jour	125	7.6%
Divers				
Contrat avec transporteurs échantillons	Méthode	Absents / non validés	75	2.3%
Panne informatique GLIMS	Matériel	Impact sur tout le processus	5	0.1%

* Dans ce tableau, il est recommandé d'acheminer entre 18 et 22°C les prélèvements. En 2015, le GEHT a édité une recommandation plus étendue allant de 15 à 25°C proche de ce qui est préconisé par le CLSI. Le travail ayant été mené initialement selon les recommandations de 2007, cette modification n'a pas été prise en compte dans l'analyse de risques présentée ici.

2.1.2 Les activités majeures de la phase pré-analytique

Les quatre activités de la phase pré-analytique les plus à risques sont par ordre décroissant (Figure 14):

- Le recueil de l'échantillon (32.7%)
- L'acheminement des prélèvements au laboratoire (19.6%)
- La conservation pré-analytique des échantillons (12.8%)
- Le remplissage des bons de demande par les unités de soin (9.7%).

Ces items concernent principalement les activités gérées en dehors du laboratoire. Ceux sous la compétence directe du laboratoire se classent ensuite comme l'enregistrement ou le traitement des tubes (congélation, centrifugation).

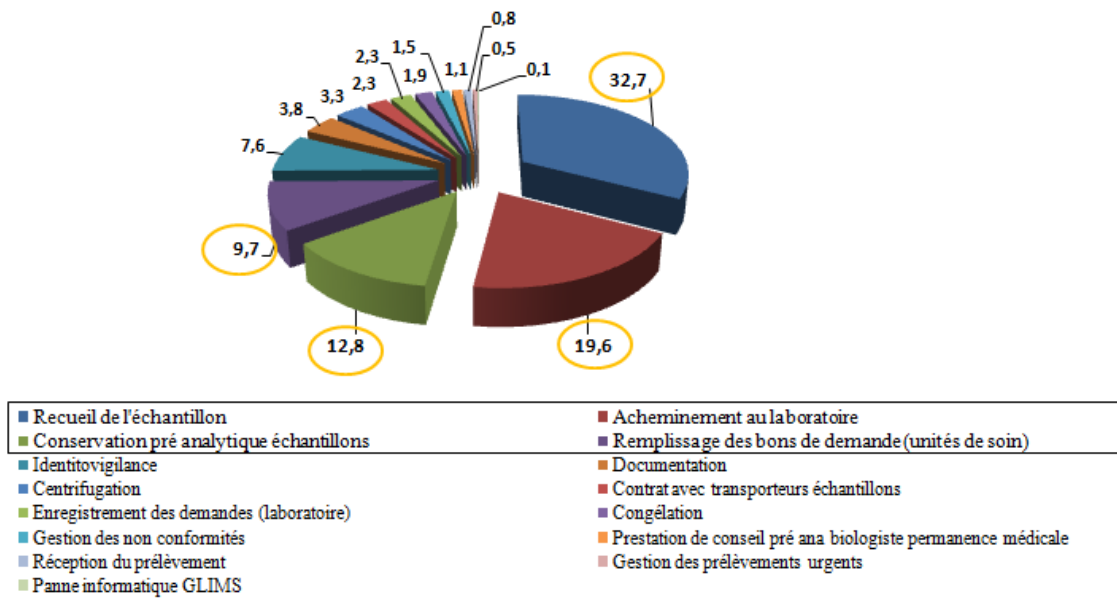


Figure 14 : Poids relatif de chaque activité du pré-analytique sur la qualité du résultat d'examen (en pourcentage de la criticité globale)

- Au sein de l'activité « Recueil des échantillons », deux risques prédominent avec 23.1% de poids respectif dans cet item (Figure 15). Il s'agit des risques suivants :
 - Prélèvements difficiles avec pose prolongée d'un garrot
 - Tube citraté partiellement coagulé.

Les risques se positionnant ensuite concernent la problématique des interférences analytiques (hémolyse, lipémie, héparine non thérapeutique). Les erreurs de type de tube ont une plus faible criticité.

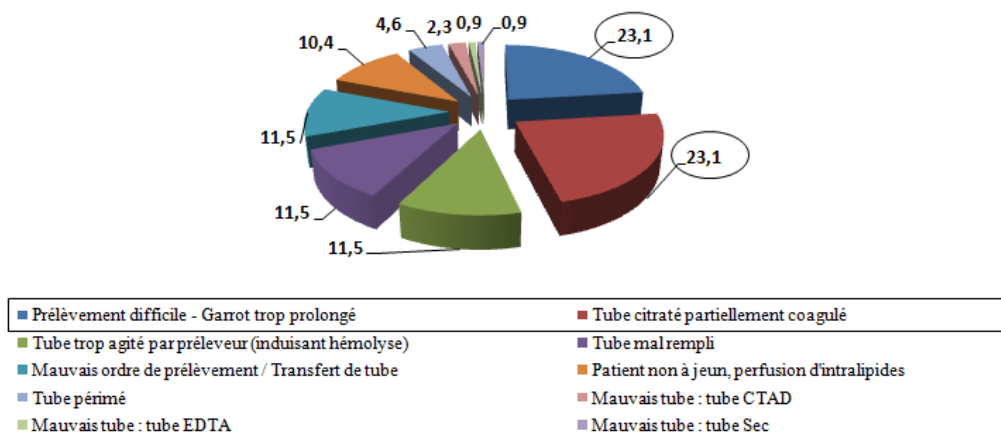


Figure 15 : Risques relatifs à l'activité "Recueil de l'échantillon" en pourcentage de la criticité globale de cette activité

▪ Au sein de l'activité « Acheminement des tubes au laboratoire », les risques majeurs concernent le délai de réception des échantillons primaires. Plus particulièrement, le délai de transport des tubes prélevés dans le cadre du suivi du traitement par héparine (TCA) est le plus critique (37.4%). Un délai d'une heure est recommandé alors qu'un délai de deux heures est renseigné aux services de soins pour un TCA (sans héparine) ou un TP. Ce dernier délai est le second risque et participe pour 18.7% de poids de cette activité, tout comme le risque « Température d'acheminement non entre 18-22°C ». (Figure 16).

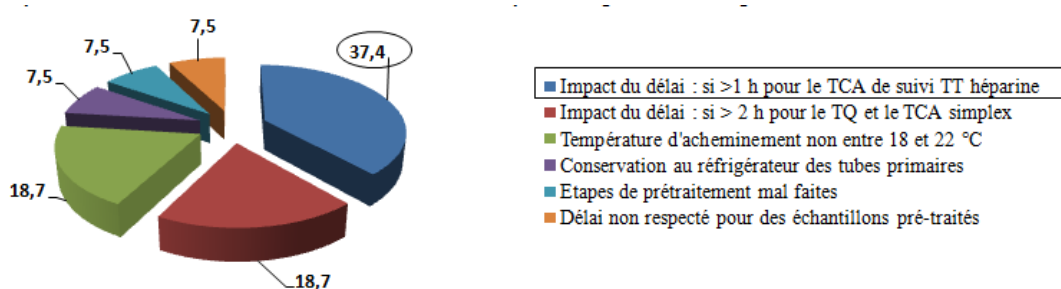


Figure 16 : Risques relatifs à l'activité "Acheminement des tubes au laboratoire" en pourcentage de la criticité globale de cette activité.

▪ Au sein de l'activité « Conservation pré-analytique des échantillons », le risque prédominant concerne le délai de prise en charge des échantillons des patients sous héparine. Un délai d'une heure à partir du prélèvement est recommandé pour rendre un résultat. Ce risque représente 90.6% du poids de cet item. La prise en charge de ces échantillons est la plus critique puisqu'un délai prolongé de quatre heures est acceptable pour les autres paramètres (TCA sans traitement et le TP). La condition de conservation en termes de « température » a peu d'impact (Figure 17).

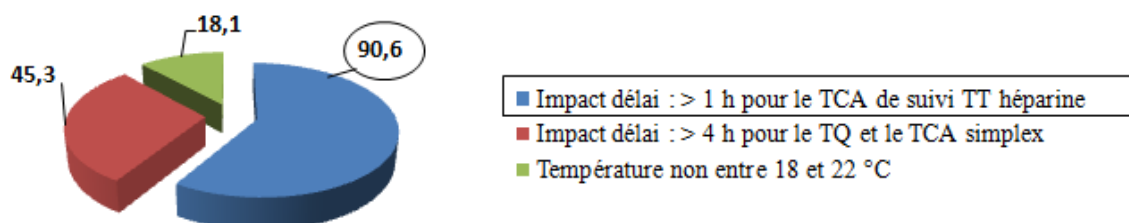


Figure 17 : Risques relatifs à l'activité "Conservation pré-analytique des échantillons" en pourcentage de la criticité globale de cette activité.

- Au sein de l'activité « Remplissage des bons dans les unités de soin », le risque majeur est la présence, mais mal renseignée, d'une date et/ou heure (45.8%) (Figure 18). L'information erronée, invérifiable par le laboratoire, ne peut être remise en cause. Les éléments non renseignés sont ensuite moins critiques.

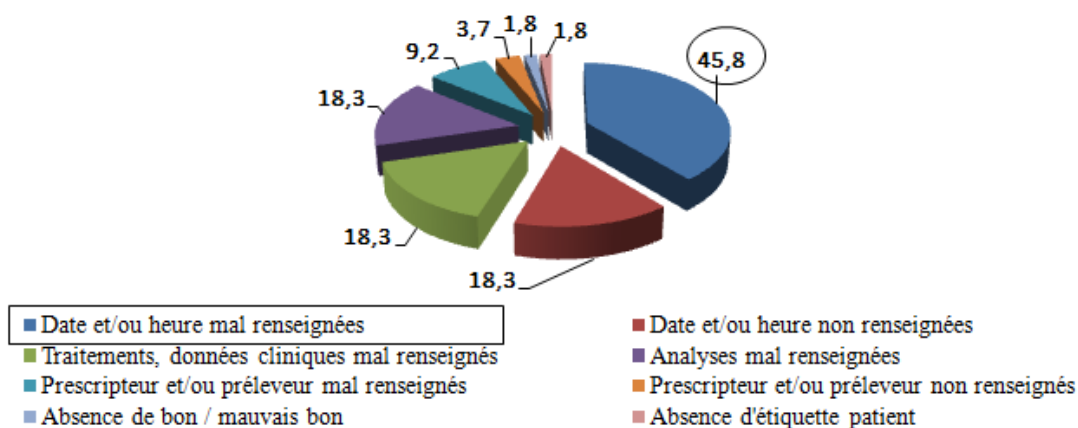


Figure 18 : Risques relatifs à l'activité "Remplissage des bons de demande par les unités de soin" en pourcentage de la criticité globale de cette activité.

2.1.3 Classement des risques de la phase pré analytique

L'ensemble des risques classés par criticité décroissante sont présentés tableau 22.

Tableau 22 : Les risques du pré-analytique classés. Chaque couleur correspond à une des 15 activités.

Activités (Etapas selon AFNOR)	Points critiques à maîtriser : risques associés	Criticité
Acheminement au laboratoire	> 1 h pour le TCA de suivi TT héparine	250
Conservation pré analytique échantillons	> 1 h pour le TCA de suivi TT héparine	250
Recueil de l'échantillon	Prélèvement difficile - Garrot trop prolongé	250
Recueil de l'échantillon	Tube coagulé	250
Rédaction / Gestion des documents	Absence de formalisation / documents non à jour	250
Remplissage des bons de demande (unités de soin)	Date et/ou heure mal renseignées	125
Recueil de l'échantillon	Tube citraté souillé par de l'héparine (Mauvais ordre de prélèvement / Transfert de tube)	125
Recueil de l'échantillon	Tube hémolysé induit par l'agitation du tube	125
Recueil de l'échantillon	Tube mal rempli	125
Acheminement au laboratoire	> 2 h pour le TQ et le TCA simplex	125
Acheminement au laboratoire	Température d'acheminement non entre 18 et 22 °C	125
Conservation pré analytique échantillons	> 4 h pour le TQ et le TCA simplex	125
Recueil de l'échantillon	Patient non à jeun, perfusion d'intra lipides	112,5
Contrat avec transporteurs échantillons	Absents / non validés	75
Remplissage des bons de demande (unités de soin)	Date et/ou heure non renseignées	50
Remplissage des bons de demande (unités de soin)	Traitements, données cliniques mal renseignés	50
Remplissage des bons de demande (unités de soin)	Analyses mal renseignées	50
Enregistrement des demandes (laboratoire)	Non-respect prescriptions : traitements, données cliniques	50
Identitovigilance	Bon et tubes étiquetés au mauvais patient	50
Identitovigilance	RTE/laboratoire : erreur d'identité au re-étiquetage	50
Recueil de l'échantillon	Tube périmé	50
Acheminement au laboratoire	Conservation au réfrigérateur des tubes primaires	50
Acheminement au laboratoire	Délai non respecté pour des échantillons pré-traités	50
Acheminement au laboratoire	Etapas de prétraitement mal faites (double centrifugation / congélation)	50
Centrifugation	Température : trop haute	50
Congélation	Plasma de mauvaise qualité	50
Conservation pré analytique échantillons	Température non entre 18 et 22 °C	50
Prestation de conseil pré ana biologiste permanence médicale	Prescription inadaptée	37,5
Traçabilité des non conformités	Absence : Pas d'amélioration possible	37,5
Remplissage des bons de demande (unités de soin)	Prescripteur et/ou préleveur mal renseignés	25
Enregistrement des demandes (laboratoire)	Non-respect prescriptions : analyses	25
Recueil de l'échantillon	Mauvais tube : tube CTAD	25
Gestion des prélèvements urgents	Retard de prise en charge	25
Centrifugation	Température : trop basse	25
Centrifugation	Vitesse / temps	25
Centrifugation	Suivi métrologique et entretien	25
Analyse des non conformités	Absence : pas de dynamique d'amélioration continue	25
Remplissage des bons de demande (unités de soin)	Prescripteur et/ou préleveur non renseignés	10
Recueil de l'échantillon	Mauvais tube : tube EDTA	10
Recueil de l'échantillon	Mauvais tube : tube sec	10
Remplissage des bons de demande (unités de soin)	Absence de bon / mauvais bon	5
Remplissage des bons de demande (unités de soin)	Absence d'étiquette patient	5
Identitovigilance	Prélèvement arrivé non étiqueté	5
Identitovigilance	Discordance identité bon / tubes	5
Réception du prélèvement	Tube absent	5
Réception du prélèvement	Tube cassé	5
Réception du prélèvement	Tube souillé	5
Panne informatique GLIMS	Impact sur tous le processus	5

64% de criticité

Les risques s'échelonnent de 250 à 5 de criticité sur la phase pré-analytique.

La médiane de l'ensemble est évaluée à 50 et le 75^{ème} percentile à 125. Les IPR supérieurs ou égaux à 125, soit 25% des risques, représentent 64% de la criticité de cette phase.

Les cinq risques avec le score le plus élevé de 250 sont :

- Pour deux d'entre eux, relatifs aux prélèvements des patients traités par héparine et pour lesquels un TCA est demandé :
 - o Délai d'acheminement (> 1h)
 - o Conservation pré-analytique des tubes (> 1h)
- Pour deux autres, relatifs au recueil de l'échantillon :
 - o Prélèvement difficile
 - o Tube coagulé
- Pour le dernier, relatif à la mise à disposition de documentations récentes concernant cette phase pré-analytique.

Puis, apparaissent d'autres risques, à 125 de criticité, identifiés au sein des activités présentées précédemment sur :

- Le remplissage des bons de demande et la présence d'une date et/ou heure erronée(s),
- Le recueil de l'échantillon induisant des interférences analytiques (héparine non thérapeutique, hémolyse) ou des résultats erronés (tube mal rempli),
- Le délai d'acheminement des tubes pour le TCA sans héparine et le TP (>2h) et leur délai de conservation pré-analytique (>4h),
- La température d'acheminement des prélèvements au laboratoire,

Enfin, sur cette phase, apparaît dans la première moitié des risques :

- Une autre interférence analytique causée par la lipémie (112.5 de criticité)
- La notion de mise en place de contrats validés avec les transporteurs (75 de criticité).

2.2 Phase analytique

2.2.1 Les risques identifiés et leur criticité

Sur la phase analytique, nous avons identifié 14 activités pour lesquelles nous avons listés 56 risques. Le tableau 23 reprend l'ensemble associé à la criticité médiane de chaque risque et le poids relatif de l'activité correspondante.

Tableau 23 : Tableau des risques au sein des activités de la phase analytique (activité soulignée) associés à leurs criticités respectives

Activités (Etapas selon AFNOR)	5 M	Points critiques à maîtriser : risques associés	Criticité	Poids de l'activité (En % du total)
Automates				
Suivi qualification	Matériel	Contraintes d'installation, d'environnement	1	6.3%
		Pannes électriques	1	
		Pannes automate - Fluidique/optique	50	
		Pannes automate - Mécanique	1	
Maintenance		Problème de maintenances : perte d'exactitude sur les résultats	5	
Solution technique de recours		Mauvaise gestion de la solution technique de recours : retard de rendu des résultats	5	
Réactifs, consommables, CIQ				
Gestion matériel	Milieu	Problèmes de conservation	50	18.6%
	Matériel	Problèmes de commandes	1	
		Problèmes de déstockage / réception	1	
		Problèmes de volume à bord	5	
		Problèmes des stabilités à bord	25	
Utilisation des réactifs (TCA) prêts à l'emploi	Méthode	Mauvaise utilisation du réactif (TCA) prêt à l'emploi	50	
Utilisation des réactifs préparés de façon extemporanée (réactif TP et CIQ)		Mauvaise reconstitution des Réactifs (TP) préparés de façon extemporanée	50	
		Mauvaise reconstitution des CIQ préparés de façon extemporanée	5	
Détermination des méthodes				
Calibration des méthodes	Méthode	Mauvaise calibration des méthodes	10	3.1%
Définition des méthodes		Mauvaise détermination des valeurs de référence	1	
		Mauvaise détermination des temps témoins	10	
		Mauvaise validation des méthodes	10	
Management des contrôles de qualité				
Passage des CIQ	Méthode	Mauvaise définition série (fréquence de passage des CIQ)	25	8.4%
		Absence de contrôle des résultats rendus	10	
Interprétation technique des résultats de CIQ		Absence de pilotage des méthodes	10	
		Absence de détection des erreurs aléatoires	10	
		Absence de détection des dérives persistantes	10	
Approbation Supervision des résultats de CIQ		Perte de contrôle statistique de la méthode	10	
Etudes d'impact sur les résultats patients		Mauvaise prise en charge des patients	10	
Libération technique des résultats				
	Méthode	Non efficience rendu résultats	5	42.7%
		Mauvaise utilisation de PGP	50	
		Mauvais interprétation des codes erreurs	50	
	Matière	Plasma Hémolysé	25	
		Plasma lipémique	25	
		Prélèvement coagulé	50	

		Hématocrite > 55 %	25	
		Tube citraté mal rempli	125	
		Présence de bulles	50	
		Prélèvement décongelé	25	
Gestion des non conformités analytiques				
Tracabilité des non conformités	Méthode	Absence : pas d'amélioration possible	25	3%
Analyse des non conformités		Absence : pas de dynamique d'amélioration continue	5	
Gestion de la documentation				
Rédaction de documents	Méthode	Absence de formalisation	10	2%
Suivi des documents		Documents non à jour	10	
Suivi analytique sur le long terme (CIQ et EEQ (Evaluation externe de la qualité))				
Suivi démarrage des méthodes au changement de lots réactifs et CIQ	Méthode	Résultats aberrants	10	6.5%
Suivi des SD de fidélité intermédiaire en termes de suivi d'acceptabilité des méthodes		Absence de pilotage des méthodes	5	
Révision des cibles et SD des cartes de contrôle (statistiques de la gestion des CIQ)		Perte de contrôle statistique de la méthode	5	
Contrôle exactitude des méthodes EEQ		Absence de pilotage des méthodes	10	
Calcul des incertitudes de mesure		Absence de pilotage des méthodes	5	
Vérification de la transférabilité des résultats en intra et inter site		Absence de pilotage des méthodes	25	
Préparation revue de processus analytique		Absence de pilotage des méthodes	1	
Planification changement de lots réactifs et CIQ		Non efficience rendu résultats	5	
Gestion de la relation avec les fournisseurs				
Réacto-vigilance	Matériel	Retrait de lots	10	3%
Relation avec les fournisseurs Analyse des problèmes (avec Evaluation)	Méthode	Pas de plan d'amélioration	10	
Suivi des plans d'action amélioration performances analytiques		Pas de plan d'amélioration	5	
Evaluation des organismes d'EEQ via l'analyse critique des retours d'EEQ		Pas de plan d'amélioration	5	
Divers				
Identitovigilance : prélèvement sans code-barres	Matière	Erreur d'identification manuelle de la demande sur l'automate	50	5%
Gestion de prélèvements urgents	Méthode	Retard de rendu des résultats	5	0.5%
Panne informatique PGP	Matériel	Erreur, Retard dans le rendu des résultats	5	0.5%
Hygiène et sécurité	Main d'œuvre	Arrêt maladie du personnel	1	0.1%
Google imaginaire (Analyse critique des pratiques et référentiels)		Ne pas laisser du temps à la créativité	5	0.5%

2.2.2 Les activités majeures de la phase analytique

Deux activités ressortent en termes de criticité au niveau de la phase analytique (Figure 19):

- La libération technique des résultats (42.7%)
- Le matériel « réactifs, consommables, CIQ » (18.6%).

Les activités, « Management des contrôles de qualité », « Suivi analytique sur le long terme », « Détermination des méthodes » concernant le suivi des méthodes et les activités concernant les «Automates » apparaissent ensuite en termes de criticité.

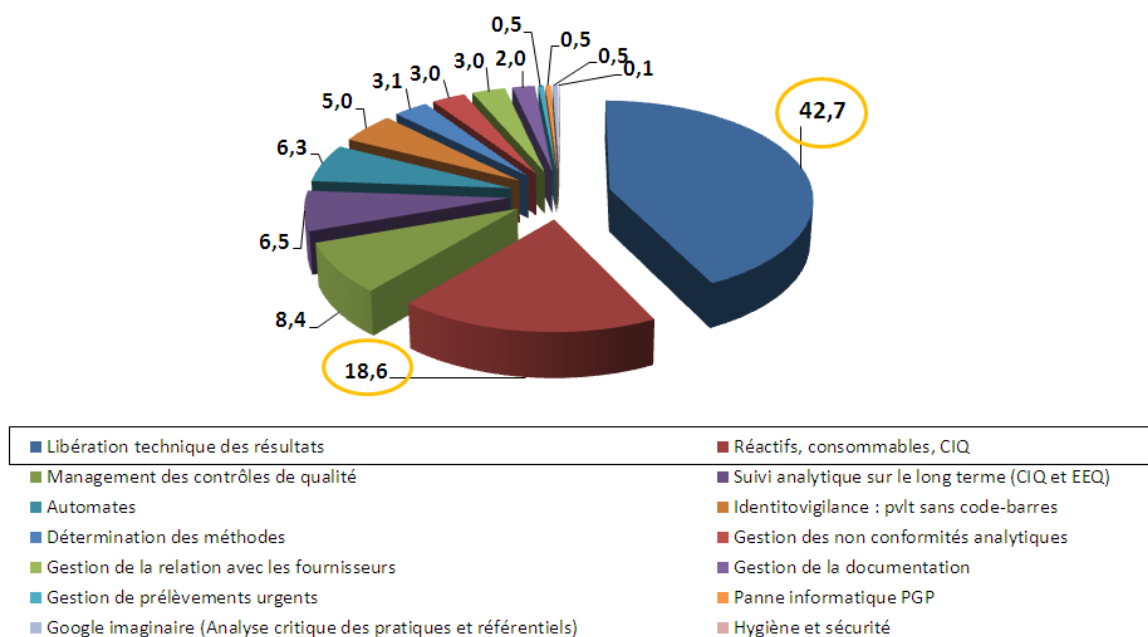


Figure 19 : Poids relatif de chaque activité de la phase analytique sur la qualité du résultat d'examen (en pourcentage de la criticité globale)

▪ Au sein de l'activité « Libération technique des résultats », le risque prédominant concerne l'impact analytique du rendu des résultats sur tube mal rempli (29.1%). Puis, sont classés les risques liés à la gestion humaine du logiciel PGP et des codes erreurs ainsi que d'autres interférences analytiques liés à la présence de coagulum dans le tube ou de bulles sur le plasma (11.6% du poids de la criticité pour chacun de ces risques) (Figure 20).

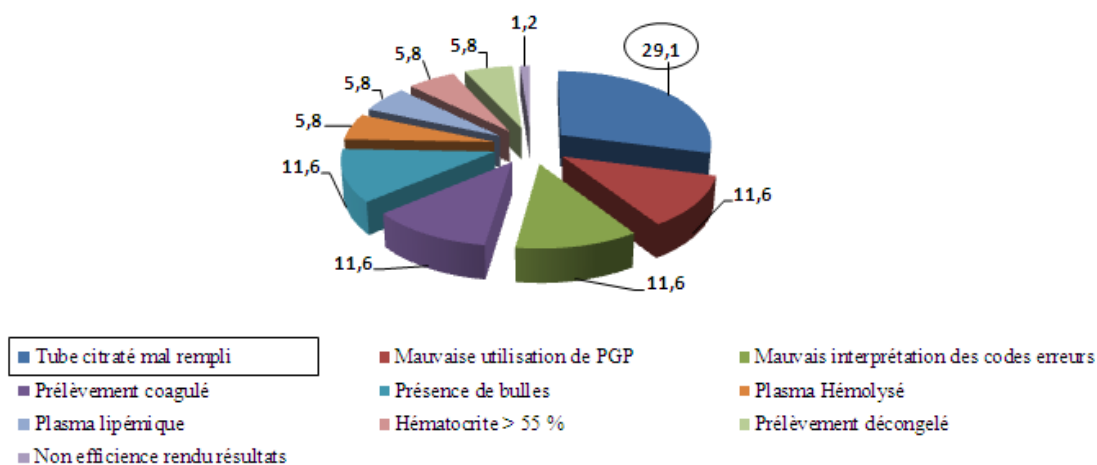


Figure 20 : Risques relatifs à l'activité "Libération technique des résultats" en pourcentage de la criticité globale de cette activité.

- Au sein de l'activité gestion « Réactifs, consommables, CIQ », les risques relatifs à la gestion humaine du matériel sont les plus critiques : problème de conservation des flacons en dehors de l'automate et problème d'utilisation des réactifs soit prêts à l'emploi (TCA) soit à reconstituer (TP). La gestion du matériel par l'automate est moins critique mais le suivi des stabilités à bord en est le point faible (IPR = 25) (Tableau 24).

Tableau 24: Risques relatifs à l'activité "Réactifs, consommables, CIQ" classés par ordre de criticité.

Réactifs, consommables, CIQ		
Gestion matériel	Problèmes de conservation	50
Utilisation des réactifs (TCA) prêts à l'emploi	Mauvaise utilisation du réactif (TCA) prêt à l'emploi	50
Utilisation des réactifs préparés de façon extemporanée (réactif TP et CIQ)	Mauvaise reconstitution des Réactifs (TP) préparés de façon extemporanée	50
Gestion matériel	Problèmes de stabilité à bord	25
Gestion matériel	Problèmes des volumes à bord	5
Utilisation des réactifs préparés de façon extemporanée (réactif TP et CIQ)	Mauvaise reconstitution des CIQ préparés de façon extemporanée	5
Gestion matériel	Problèmes de commandes	1
Gestion matériel	Problèmes de déstockage / réception	1

2.2.3 Classement des risques de la phase analytique

Les risques de la phase analytique classés par criticité décroissante sont présentés tableau 25. Les risques ont des criticités comprises entre 125 et 1. La médiane est de 10 et le 75^{ème} percentile de 25. Aussi, les risques les plus critiques, contenus dans les 25 derniers percentiles, représentent 76% de la criticité globale de cette phase.

Le risque au score le plus élevé de 125 correspond à :

- La libération technique de résultats sur des tubes citratés mal remplis.

Puis, se classent les risques à 50 d'IPR (certains déjà évoqués précédemment):

- Relatifs à la libération technique des résultats :
 - o Mauvaise utilisation de PGP
 - o Mauvais interprétation des codes erreurs automate
 - o Prélèvement coagulé
 - o Présence de bulles
- Relatifs au réactif, consommable et CIQ :
 - o Mauvaise utilisation du réactif prêt à l'emploi du TCA

- Mauvaise utilisation du réactif de TP préparé de façon extemporanée
- Problème de conservation
- Relatif à l'automate :
 - Survenue de pannes de l'automate impliquant la détection optique et fluïdique
- Relatif à l'identitovigilance :
 - Risque lié à l'identification manuelle des échantillons en cas d'absence de code à barres.

Tableau 25 : Les risques de la phase analytique classés. Chaque couleur correspond à une des 14 activités.

Activités (Étapes selon AFNOR)	Points critiques à maîtriser : risques associés	Criticité
Libération technique des résultats	Tube citraté mal rempli	125
Libération technique des résultats	Mauvaise utilisation de PGP	50
Libération technique des résultats	Mauvais interprétation des codes erreurs	50
Libération technique des résultats	Prélèvement coagulé	50
Libération technique des résultats	Présence de bulles	50
Réactifs, consommables, CIQ	Utilisation des réactifs (TCA) prêts à l'emploi : mauvaise utilisation du réactif (TCA) prêt à l'emploi	50
Réactifs, consommables, CIQ	Utilisation des réactifs préparés de façon extemporanée (réactif TP et CIQ) : mauvaise reconstitution des Réactifs (TP) préparés de façon extemporanée	50
Réactifs, consommables, CIQ	Gestion matériel : problèmes de conservation	50
Automates	Suivi qualification : pannes automate - Fluidique/optique	50
Identitovigilance : prélèvements sans code-barres	Erreur d'identification manuelle de la demande sur l'automate	50
Libération technique des résultats	Plasma Hémolysé	25
Libération technique des résultats	Plasma lipémique	25
Libération technique des résultats	Hématocrite > 55 %	25
Libération technique des résultats	Prélèvement décongelé	25
Réactifs, consommables, CIQ	Gestion matériel : problèmes de des Stabilités à bord	25
Management des contrôles de qualité	Passage des CIQ : mauvaise définition série (fréquence de passages des CIQ)	25
Gestion des non conformités analytiques	Traçabilité des non conformités : absence : pas d'amélioration possible	25
Suivi analytique sur le long terme (CIQ et EEQ)	Vérification de la transférabilité des résultats en intra et inter site : absence de pilotage des méthodes	25
Détermination des méthodes	Calibration des méthodes : mauvaise calibration des méthodes	10
Détermination des méthodes	Définition des méthodes : mauvaise détermination des temps témoins	10
Détermination des méthodes	Définition des méthodes : mauvaise validation des méthodes	10
Management des contrôles de qualité	Passage des CIQ : absence de contrôle des résultats rendus	10
Management des contrôles de qualité	Interprétation technique résultats CIQ : absence de pilotage des méthodes	10
Management des contrôles de qualité	Interprétation technique résultats CIQ : absence de détection des erreurs aléatoires	10
Management des contrôles de qualité	Interprétation technique résultats CIQ : absence de détection des dérives persistantes	10
Management des contrôles de qualité	Approbation Supervision résultats CIQ : perte de contrôle statistique de la méthode	10
Management des contrôles de qualité	Études d'impact sur les résultats patients : mauvaise prise en charge des patients	10
Gestion de la documentation	Rédaction de documents : absence de formalisation	10

76 % de criticité

Gestion de la documentation	Suivi des documents : documents non à jour	10
Suivi analytique sur le long terme (CIQ et EEQ)	Suivi démarrage des méthodes au changement de lots réactifs et CIQ : résultats aberrants	10
Suivi analytique sur le long terme (CIQ et EEQ)	Contrôle exactitude des méthodes EEQ : absence de pilotage des méthodes	10
Gestion de la relation avec les fournisseurs	Réacto-vigilance : retrait de lots	10
Gestion de la relation avec les fournisseurs	Relation avec les fournisseurs analyse des problèmes (avec Evaluation) : pas de plan d'amélioration	10
Automates	Maintenance : problème de maintenances : perte d'exactitude sur les résultats	5
Automates	Solution technique de recours : mauvaise gestion de la solution technique de secours : retard de rendu des résultats	5
Réactifs, consommables, CIQ	Gestion matériel : problèmes des volumes à bord	5
Réactifs, consommables, CIQ	Utilisation des réactifs préparés de façon extemporanée (réactif TP et CIQ) : mauvaise reconstitution des CIQ préparés de façon extemporanée	5
Libération technique des résultats	Non efficience rendu résultats	5
Gestion des non conformités analytiques	Analyses des non conformités : absence : pas de dynamique d'amélioration continue	5
Suivi analytique sur le long terme (CIQ et EEQ)	Suivi des SD de fidélité intermédiaire en termes de suivi d'acceptabilité des méthodes : absence de pilotage des méthodes	5
Suivi analytique sur le long terme (CIQ et EEQ)	Révision des cibles et SD des cartes de contrôle (statistiques de la gestion des CIQ) : perte de contrôle statistique de la méthode	5
Suivi analytique sur le long terme (CIQ et EEQ)	Calcul des incertitudes de mesure : absence de pilotage des méthodes	5
Suivi analytique sur le long terme (CIQ et EEQ)	Planification changement de lots réactifs et CIQ : non efficience rendu résultats	5
Gestion de la relation avec les fournisseurs	Suivi des plans d'action amélioration performances analytiques : pas de plan d'amélioration	5
Gestion de la relation avec les fournisseurs	Évaluation des organismes d'EEQ via l'analyse critique des retours d'EEQ : pas de plan d'amélioration	5
Gestion de prélèvements urgents	Retard de rendu des résultats : retard de rendu des résultats	5
Panne informatique PGP	Erreur, Retard dans le rendu des résultats : erreur, retard dans le rendu des résultats	5
Google imaginaire (Analyse critique des pratiques et référentiels)	Ne pas laisser du temps à la créativité : ne pas laisser du temps à la créativité	5
Automates	Suivi qualification : contraintes d'installation, d'environnement	1
Automates	Suivi qualification : pannes électriques	1
Automates	Suivi qualification : pannes automate - mécanique	1
Réactifs, consommables, CIQ	Gestion matériel : problèmes de commandes	1
Réactifs, consommables, CIQ	Gestion matériel : problèmes de déstockage / réception	1
Détermination des méthodes	Définition des méthodes ; mauvaise détermination des valeurs de référence	1
Suivi analytique sur le long terme (CIQ et EEQ)	Préparation revue de processus analytique : absence de pilotage des méthodes	1
Hygiène et sécurité	Arrêt maladie du personnel	1

2.3 Phase Post-analytique

2.3.1 Les risques identifiés et leur criticité

Sur la phase post-analytique, nous avons identifié 28 risques regroupés au sein de 8 activités. Le tableau 26 présente les risques et leurs criticités médianes calculées ainsi que le poids de chaque activité dans ce processus.

Tableau 26 : Tableau des risques au sein des activités de la phase post-analytique (activité soulignée) associés à leurs criticités respectives

Activités (Etapas selon AFNOR)	5 M	Points critiques à maîtriser : risques associés	Criticité	Poids de l'activité (En % du total)
Activité de validation biologique				
Expertise biologique des résultats	Main d'œuvre	Mauvaise interprétation par VALAB	5	19%
		Mauvaise interprétation par le biologiste : raisonnement biologique éloigné du contexte clinique	5	
		Mauvaise interprétation par le clinicien : raisonnement clinique éloigné de la connaissance biologique	6,25	
		Non harmonisation des commentaires	5	
		Pas de dialogue clinico-biologique : mauvaise prise en charge optimale du patient	5	
Prestations de conseil		Pas de dialogue pour améliorer la prestation rendue : besoin non ressenti par les prescripteurs / pas le temps	5	
Rencontres - Discussions avec prescripteurs				
Libération biologique des résultats	Méthode	Mauvaise gestion du flux des prélèvements	5	
		Communication des résultats urgents : non utilisation des moyens de communication (Téléphone) / service injoignable	5	
Transmission des résultats				
Planification vérification informatique	Méthode	Planification non programmée	10	32.3%
Suivi transmission automate middleware	Matériel	Problème informatique automate middleware : dégradation de résultats	10	
Suivi transmission middleware SGL (Logiciel de Gestion de laboratoire)		Problème informatique middleware SGL : dégradation de résultats	10	
Suivi transmission SGL Serveurs unités de soin		Problème informatique SGL Serveurs unités de soin : dégradation de résultats	30	
Communication des résultats	Méthode	Non communication des résultats (téléphone, fax et cristalnet)	5	
Respecter la confidentialité		Non-respect de la confidentialité	5	
Mise en sécurité de l'échantillon				
Conservation post analytique des prélèvements	Milieu	Perte des échantillons pour ré analyse / analyses complémentaires	10	33.4%
		Mauvaise température de conservation	10	
		Délai > 4 h le TCA simplex/HNF	17,5	
		Délai : TP impossible	10	
Congélation	Méthode	Plasma de mauvaise qualité	25	
Mise en sécurité des données				
Sauvegardes automatiques (données brutes)	Matériel	Perte de la traçabilité des données CIQ-patients-maintenance: fréquence	1	3.2%
		Perte de la traçabilité des données CIQ-patients-maintenance : lieu de conservation / mémoire disponible	1	
Archivage résultats (Compte rendu)		Perte de traçabilité transmission service prescripteur	5	
Documentation				
Rédaction de documents	Méthode	Absence de formalisation	5	4.6%
Suivi des documents		Documents non à jour	5	
Non conformités post-analytique				
Traçabilité des non conformités	Méthode	Absence : pas d'amélioration possible	5	4.6%
Analyse des non conformités		Absence : pas de dynamique d'amélioration continue	5	
Divers				
Pannes informatiques (PGP, GLIMS, Cristalnet)	Matériel	Erreur, retard dans le rendu des résultats	5	2.3%
Elimination des déchets	Milieu	Mauvaise gestion environnemental dans le laboratoire	1	0.5%

2.3.2 Les activités majeures de la phase post-analytique

Sur les huit activités identifiées, trois sont prépondérantes et sont relatives à :

- La mise en sécurité de l'échantillon (33.6%)
- La transmission des résultats (30.5%)
- L'activité de validation biologique (18%).

Les autres étapes sont moins critiques (Figure 21).

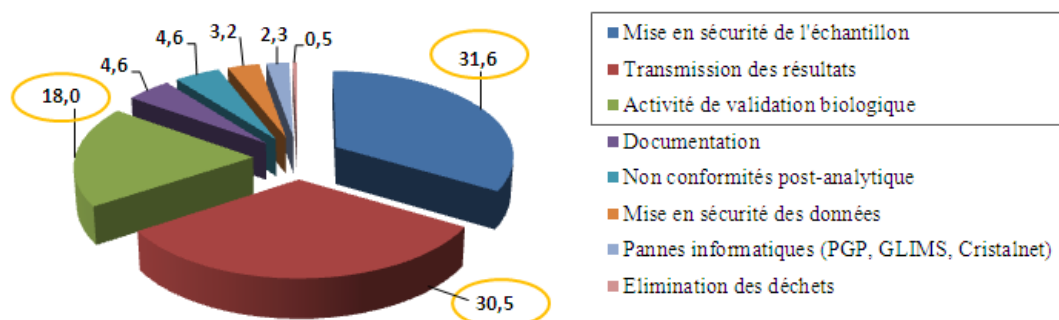


Figure 21: Poids relatif de chaque activité de la phase post-analytique sur la qualité du résultat d'examen (en pourcentage de la criticité globale)

■ Au sein de ces activités, même les risques majeurs ont des criticités faibles (moins de 30 en IPR) (Tableau 27). Les risques associés sont, au sein des activités, les suivants :

- « Validation biologique » :
 - Mauvaise interprétation par le clinicien des résultats transmis
- « Transmission des résultats » :
 - Dégradation des résultats entre notre logiciel de gestion des laboratoires (SGL : Glims) et les serveurs de gestion des résultats biologiques utilisés dans les services de soins.
- « Mise en sécurité de l'échantillon » :
 - Mauvais traitement des prélèvements avant congélation pouvant interférer sur les dosages après décongélation
 - Non-respect du délai de réanalyse des prélèvements en conservation post-analytique (>4h).

Tableau 27 : Risques relatifs aux activités majeures de la phase post-analytique classés par ordre de criticité.

Activité de validation biologique		
Expertise biologique des résultats	Mauvaise interprétation / clinicien	6,25
Rencontres - Discussions avec prescripteurs	Pas de dialogue pour améliorer la prestation rendue	5
Prestations de conseil	Identification d'une prise en charge optimale du patient	5
Libération biologique des résultats	Retard de rendu	5
Libération biologique des résultats	Communication des résultats urgents	5
Expertise biologique des résultats	Mauvaise interprétation / VALAB	5
Expertise biologique des résultats	Mauvaise interprétation / biologiste	5
Expertise biologique des résultats	Non harmonisation intersites des commentaires	5

Transmission des résultats		
Suivi transmission SGL Serveurs unités de soin	Dégradation de résultats	30
Planification vérification informatique	Dégradation de résultats. Non arrivée des résultats au bon prescripteur	10
Suivi transmission automate middleware	Dégradation de résultats	10
Suivi transmission middleware SGL	Dégradation de résultats	10
Communication des résultats	Non arrivée des résultats (téléphone, fax et cristalnet)	5
Respecter la confidentialité	Non-respect de la confidentialité	5

Mise en sécurité de l'échantillon		
Congélation	Plasma de mauvaise qualité : non suivi des procédures	25
Gestion post analytique des prélèvements	Impact du délai : si > 4 h le TCA simplex/HNF	17,5
Conservation post analytique des prélèvements	Perte des échantillons pour ré analyse / analyses complémentaires	10
Gestion post analytique des prélèvements	Température de conservation : conservation 2-6°C	10
Gestion post analytique des prélèvements	Impact du délai : TP impossible	10

2.3.3 Classement des risques de la phase post-analytique

Les risques de la phase post-analytique classés par criticité décroissante sont présentés tableau 28. Les criticités sont faibles et s'échelonnent de 30 à 1 sur cette phase.

La médiane est égale à 5 et le 75^{ème} percentile égal à 10. Dans les 25 derniers percentiles, les risques représentent 61% de la criticité globale de ce processus.

Le risque majeur (IPR = 30) de cette phase concerne :

- La transmission des résultats entre le logiciel du laboratoire et ceux du service de soin au cours duquel peut survenir une dégradation d'un résultat.

Les autres risques, avec moins de criticité, allant de 25 à 10, appartiennent à deux items :

- Activité de « Transmission des résultat » :
 - o Planification non programmée des vérifications informatiques
 - o Dégradation des résultats entre l'automate et le middleware (PGP)
 - o Dégradation des résultats entre le middleware PGP et le SGL (Glisms).
- Activité « Mise en sécurité de l'échantillon » :

- Congélation des prélèvements
- Conservation post-analytique des échantillons : impact du délai (> 4 heures pour un TCA / impossible pour un TP)
- Conservation post-analytique des échantillons : impact de la température
- Perte des tubes.

Tableau 28 : Les risques de la phase post-analytique classés. Chaque couleur correspond à une des 8 activités.

Activités (Étapes selon AFNOR)	Points critiques à maîtriser : risques associés	Criticité
Transmission des résultats	Suivi transmission SGL Serveurs unités de soin : problème informatique SGL Serveurs unités de soin : dégradation résultats	30
Mise en sécurité de l'échantillon	Congélation : plasma de mauvaise qualité	25
Mise en sécurité de l'échantillon	Conservation post analytique des prélèvements : délai > 4 h le TCA simplex/HNF	17,5
Transmission des résultats	Planification vérification informatique : planification non programmée	10
Transmission des résultats	Suivi transmission automate middleware : problème informatique automate middleware : Dégradation résultats	10
Transmission des résultats	Suivi transmission middleware SGL : problème informatique middleware SGL : dégradation résultats	10
Mise en sécurité de l'échantillon	Conservation post analytique des prélèvements : perte des échantillons pour réanalyse / analyses complémentaires	10
Mise en sécurité de l'échantillon	Conservation post analytique des prélèvements : mauvaise température de conservation	10
Mise en sécurité de l'échantillon	Conservation post analytique des prélèvements : délai : TP impossible	10
Activité de validation biologique	Expertise biologique des résultats : mauvaise interprétation par le clinicien : raisonnement clinique éloigné de la connaissance biologique	6,25
Activité de validation biologique	Expertise biologique des résultats : mauvaise interprétation par VALAB	5
Activité de validation biologique	Expertise biologique des résultats : mauvaise interprétation par le biologiste : raisonnement biologique éloigné du contexte clinique	5
Activité de validation biologique	Expertise biologique des résultats : non harmonisation des commentaires	5
Activité de validation biologique	Prestations de conseil : pas de dialogue clinico-biologique : mauvaise prise en charge optimale du patient	5
Activité de validation biologique	Rencontres - Discussions avec prescripteurs : pas de dialogue pour améliorer la prestation rendue : besoin non ressenti par les prescripteurs / Pas le temps	5
Activité de validation biologique	Libération biologique des résultats : mauvaise gestion du flux des prélèvements	5
Activité de validation biologique	Libération biologique des résultats : communication des résultats urgents : non utilisation des moyens de communication (Téléphone) / service injoignable	5
Transmission des résultats	Communication des résultats : non communication des résultats (téléphone, fax et cristalnet)	5
Transmission des résultats	Respecter la confidentialité : non-respect de la confidentialité	5
Mise en sécurité des données	Archivage résultats (Compte rendu) : perte de traçabilité transmission service prescripteur	5
Documentation	Rédaction de documents : absence de formalisation	5
Documentation	Suivi des documents : documents non à jour	5
Non conformités post-analytique	Traçabilité des non conformités : absence : pas d'amélioration possible	5
Non conformités post-analytique	Analyses des non conformités : absence : pas de dynamique d'amélioration continue	5
Pannes informatiques (PGP, GLIMS, Cristalnet)	Erreur, retard dans le rendu des résultats	5
Mise en sécurité des données	Sauvegardes automatées (données brutes) : perte de la traçabilité des données CIQ-patients-maintenance: fréquence	1
Mise en sécurité des données	Sauvegardes automatées (données brutes) : perte de la traçabilité des données CIQ-patients-maintenance : lieu de conservation /mémoire disponible	1
Élimination des déchets	Mauvaise gestion environnemental dans le laboratoire	1

61% de criticité

2.4 Ensemble des risques identifiés au sein du processus de réalisation des examens - Application de la loi de Pareto

En synthèse des résultats des trois phases présentés précédemment, nous avons identifié au total 37 activités regroupant 132 risques. La criticité de l'ensemble du macro-processus de réalisation du TP/TCA au sein de la discipline hémostasie est de 4532 (Tableau 29).

Le nombre d'activités et de risques est sensiblement le même entre les deux premières phases et diminue de moitié environ sur la phase post-analytique. Le poids du pré-analytique sur l'ensemble des trois phases est incontestable avec 73% de la criticité totale. Arrivent ensuite en termes de criticité la phase analytique (22%) puis celle de la phase post-analytique (5%).

Tableau 29 : Tableau de synthèse des 3 phases du processus de réalisation d'un TP/TCA en hémostasie

	Pré-analytique	Analytique	Post-analytique	Total
Nombre de réponses	13	15	18	-
Nombre d'activités	15	14	8	37
Nombre de risques	48	56	28	132
Criticité totale	3307	1008	217	4532
Criticité maximale	250	125	30	-
Poids de chaque processus	73%	22%	5%	100%

Afin d'identifier les risques à traiter en priorité, nous avons utilisé le principe de Pareto selon lequel 20% des activités représentent 80% de la criticité totale.

La figure 22, obtenue sous R, est le « diagramme de Pareto » correspondant à ce travail. Il permet d'illustrer le principe du même nom et d'expliquer la détermination du seuil de criticité utilisé. La construction de la figure a été la suivante. Tous d'abord, nous avons réuni les risques des trois phases que nous avons classés par IPR décroissants. Chaque risque a été représenté par une colonne verte dont la hauteur représente sa criticité propre. Puis la somme cumulée de la criticité, exprimée en pourcentage, a été tracé (ligne rouge). Au niveau du 80% de criticité cumulée, flèche noire, la flèche bleue permet de visualiser le seuil que l'on cherche à identifier selon la loi de Pareto (37.5). Ainsi, grâce à ce seuil, nous avons les risques les plus critiques de notre analyse : ceux avec un IPR supérieur à 37.5.

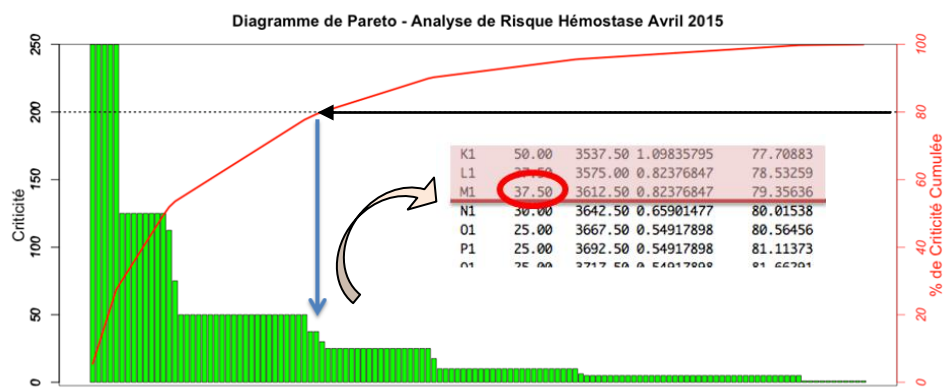


Figure 22: Diagramme de Pareto correspondant à notre analyse de risques sur TP/TCA en hémostase

Les 39 risques les plus critiques sont présentés dans le tableau 30. Ils sont associés à la phase pré-analytique majoritairement (28 sur 39) et secondairement à la phase analytique. Dans les tableaux 21 et 23, ces points critiques sont inscrits en rouge. Se positionnent notamment en premier les risques de la phase pré-analytique correspondant à des actes relatifs ou proches au prélèvement en lui-même (IRP à 250).

Nous aboutissons ainsi à l'objectif premier de ce travail c'est à dire à la réalisation d'une analyse de risques complète sur les trois phases du processus (pré-analytique, analytique et post-analytique) de rendu d'un TP et d'un TCA. Ce travail, exigé dans le processus de vérification de ces méthodes, participe à la démarche d'accréditation du laboratoire de biologie médicale des Hospices civils de Lyon. Il a été retranscrit dans les dossiers de vérification de méthodes de ces examens : les SH FORM 43 présentés au COFRAC (Annexe 1).

En complément et dans le prolongement de la réflexion, sur les risques identifiés dans chaque phase, il doit être proposé des dispositions permettant de réduire les criticités correspondantes. C'est l'objet de la partie expérimentale qui suit avec proposition de mise en place de dispositions dont la pertinence a été évaluée de façon expérimentale.

Tableau 30 : Risques issus de l'analyse sur l'ensemble du processus de réalisation d'un TP/TCA, identifiés comme à prioriser grâce à la loi de Pareto (criticité supérieure à 37,5).

(Risques de la phase pré-analytique sur fond rouge – Risques de la phase analytique sur fond violet)

Activités (Etapas selon AFNOR)	Points critiques à maîtriser : risques associés	Criticité
Acheminement au laboratoire	> 1 h pour le TCA de suivi TT héparine	250
Conservation pré analytique échantillons	> 1 h pour le TCA de suivi TT héparine	250
Recueil de l'échantillon	Prélèvement difficile - Garrot trop prolongé	250
Recueil de l'échantillon	Tube coagulé	250
Rédaction / Gestion des documents	Absence de formalisation / documents non à jour	250
Remplissage des bons de demande (unités de soin)	Date et/ou heure mal renseignées	125
Recueil de l'échantillon	Tube citraté souillé par de l'héparine (Mauvais ordre de prélèvement / Transfert de tube)	125
Recueil de l'échantillon	Tube hémolysé induit par l'agitation du tube	125
Recueil de l'échantillon	Tube mal rempli	125
Acheminement au laboratoire	> 2 h pour le TQ et le TCA simplex	125
Acheminement au laboratoire	Température d'acheminement non entre 18 et 22 °C	125
Conservation pré analytique échantillons	> 4 h pour le TQ et le TCA simplex	125
Libération technique des résultats	Tube citraté mal rempli	125
Recueil de l'échantillon	Patient non à jeun, perfusion d'intra lipides	112,5
Contrat avec transporteurs échantillons	Absents / non validés	75
Remplissage des bons de demande (unités de soin)	Date et/ou heure non renseignées	50
Remplissage des bons de demande (unités de soin)	Traitements, données cliniques mal renseignés	50
Remplissage des bons de demande (unités de soin)	Analyses mal renseignées	50
Enregistrement des demandes (laboratoire)	Non-respect prescriptions : traitements, données cliniques	50
Identitovigilance	Bon et tubes étiquetés au mauvais patient	50
Identitovigilance	RTE/laboratoire : erreur d'identité au re-étiquetage	50
Recueil de l'échantillon	Tube périmé	50
Acheminement au laboratoire	Conservation au réfrigérateur des tubes primaires	50
Acheminement au laboratoire	Délai non respecté pour des échantillons pré-traités	50
Acheminement au laboratoire	Etapas de prétraitement mal faites (double centrifugation / congélation)	50
Centrifugation	Température : trop haute	50
Congélation	Plasma de mauvaise qualité	50
Conservation pré analytique échantillons	Température non entre 18 et 22 °C	50
Libération technique des résultats	Mauvaise utilisation de PGP	50
Libération technique des résultats	Mauvaise interprétation des codes erreurs	50
Libération technique des résultats	Prélèvement coagulé	50
Libération technique des résultats	Présence de bulles	50
Réactifs, consommables, CIQ	Utilisation des réactifs (TCA) prêts à l'emploi : mauvaise utilisation du réactif (TCA) prêt à l'emploi	50
Réactifs, consommables, CIQ	Utilisation des réactifs préparés de façon extemporanée (réactif TP et CIQ) : mauvaise reconstitution des Réactifs (TP) préparés de façon extemporanée	50
Réactifs, consommables, CIQ	Gestion matériel : problèmes de conservation	50
Automates	Suivi qualification : pannes automate - fluide/optique	50
Identitovigilance : prélèvements sans code-barres	Erreur d'identification manuelle de la demande sur l'automate	50
Prestation de conseil pré ana biologiste permanence médicale	Prescription inadaptée	37,5
Traçabilité des non conformités	Absence : pas d'amélioration possible	37,5

B. Etudes expérimentales

Dans cette partie, nous présentons les études expérimentales menées en réponse à l'identification des risques en amont. Les activités concernées gravitent autour des notions clés de conservation et de mise en sécurité des échantillons avant et après analyse.

Au sein de la phase pré-analytique, les activités « Acheminement au laboratoire » et « Conservation des échantillons » sont critiques. Nous nous sommes intéressés aux risques avec les IPR les plus élevés de cette phase qui sont également les plus critiques de l'analyse de risques globale sur l'ensemble du processus (250 d'IPR). Il s'agit notamment des risques liés au **délai** de prise en charge des échantillons des patients traités par héparine.

Au sein de la phase post-analytique, l'activité « Mise en sécurité de l'échantillon » est la plus critique. Trois points associés à cet item sont parmi les risques majeurs de cette phase. Ils concernent :

- Le **délai** de conservation des plasmas pour le TP et le TCA (IPR à 17,5 pour le TCA et IPR à 10 pour le TP)
- La **température** de stockage des plasmas (IPR à 10).

Nous avons mené une étude expérimentale sur chacune de ces problématiques.

1 Risques inhérents à la conservation en sang total des échantillons de patients traités par Héparine Non Fractionnée

1.1 Objectifs de l'étude

L'objectif de cette première étude est de répondre à la question : « Comment maîtriser les délais d'acheminement et de gestion des échantillons des patients sous héparine pour leur suivi biologique ? ».

Une solution proposée par le CLSI est l'utilisation de tubes CTAD. Le délai est alors porté à 4 heures au lieu de 1 heure pour la réalisation du TCA et de l'héparinémie

sur tube citraté. Nous avons donc choisi d'évaluer le tube CTAD pour le suivi biologique de ces patients en le comparant avec le tube citraté classique.

Les deux objectifs ont été les suivants :

- Evaluation de l'intérêt du prélèvement sur tubes CTAD *vs* tubes citratés classiques en termes de préservation de la qualité analytique du TCA et de l'héparinémie sous HNF :
 - o A T0, juste après la centrifugation
 - o A T4, 4 heures après le prélèvement
- Etude de l'influence du prélèvement sur tube CTAD pour les résultats d'autres examens d'hémostase : TP, TCA (patients non traités par héparine), taux de fibrinogène, taux de facteur V et taux de facteur VIII.

En d'autres termes, l'orientation est de proposer éventuellement l'utilisation des tubes CTAD sur l'ensemble des bilans de coagulation (hors exploration plaquettaire) avec ou sans traitement coagulant associé. L'étude permet également d'évaluer la bonne utilisation des tubes CTAD dans les services cliniques.

Un poster présentant cette étude a été présenté au congrès du GEHT et du COMETH à Grenoble début octobre 2015 (Annexe2).

1.2 Matériel et méthode

Il s'agit d'une étude *in vitro* prospective réalisée au sein du laboratoire d'hémostase au centre Hospitalier de Lyon Sud.

Les deux types de tubes évalués ont été :

- Les tubes citratés tri sodiques 3.2%, 0.105M de 5mL (BD Vacutainer référence 367714) historiquement utilisé aux HCL
- Les tubes CTAD 3.2%, 0.109M de 2.7mL (BD Vacutainer référence 367562) (59).

Les échantillons de sang périphérique de huit patients traités par héparine ont été prélevés au sein du service de Réanimation de l'hôpital Lyon Sud (groupe

« Héparine »). Les avis favorables du CPP, comité de protection des personnes et de la CNIL, Commission nationale de l'informatique et des libertés ont été recueillis au préalable (Annexes 3 et 4). Au total, nous avons collecté 36 prélèvements de patients traités par HNF (Héparine Sodique) à dose curative (Anti-Xa > 0,05 U/mL). Pour chaque prélèvement, nous avons reçu quatre tubes : deux tubes CTAD et deux tubes citratés collectés au cours de la même ponction.

Parallèlement, un tube CTAD et un tube citraté, ont été recueillis chez 32 volontaires sains âgés de 23 à 63 ans (groupe « Sain »).

Tous les échantillons satisfaisaient aux exigences de remplissage (tubes conformes remplis à plus de 90%). Aucune sélection n'a été faite en fonction du sexe ou du groupe sanguin.

En ce qui concerne les patients hospitalisés et traités, dès réception au laboratoire des 4 tubes issus de la même ponction (< 40 min après prélèvement, 19 min en moyenne), deux bras différents ont été mis en œuvre :

- T0 : deux tubes, un CTAD et un citraté, ont été immédiatement doublement centrifugés, décantés et congelés
- T4 : deux autres tubes, un CTAD et un citraté, ont été doublement centrifugés, décantés et congelés mais après 4 heures de conservation en sang total à température ambiante.

Concernant les volontaires sains, les échantillons, un CTAD et un citraté, ont été traités comme ceux à T0 du groupe « Héparine ».

L'ensemble des plasmas ont été obtenus après double centrifugation 15 minutes à 2250 g à 20°C selon les recommandations du GEHT et du CLSI (32,33). Ils ont été congelés à -80°C puis décongelés selon les mêmes recommandations, rapidement (4 min) à 37°C avant analyse (32,33).

Les tests de coagulation, TP, TCA, facteur V, facteur VIII et Anti-Xa (Héparinémie, U/mL) ont été réalisés sur le même ACL TOP 700 CTS (Instrumentation Laboratory, Werfen). Les réactifs utilisés sont ceux du laboratoire (réactifs Werfen).

Pour le groupe « Héparine », les TCA et les mesures en activité anti-Xa ont été réalisés sur l'ensemble des prélèvements (n=36) à T0 et T4. Pour le TP, les taux de

fibrinogène et de facteurs, les dosages ont été réalisés uniquement à T0 et sur 20 prélèvements afin de limiter le nombre de tests de cette étude préliminaire.

Pour le groupe « Sain », l'ensemble des paramètres (hors héparinémie) ont été dosés sur les 32 prélèvements (T0).

La figure 23 reprend la méthodologie appliquée à cette étude.

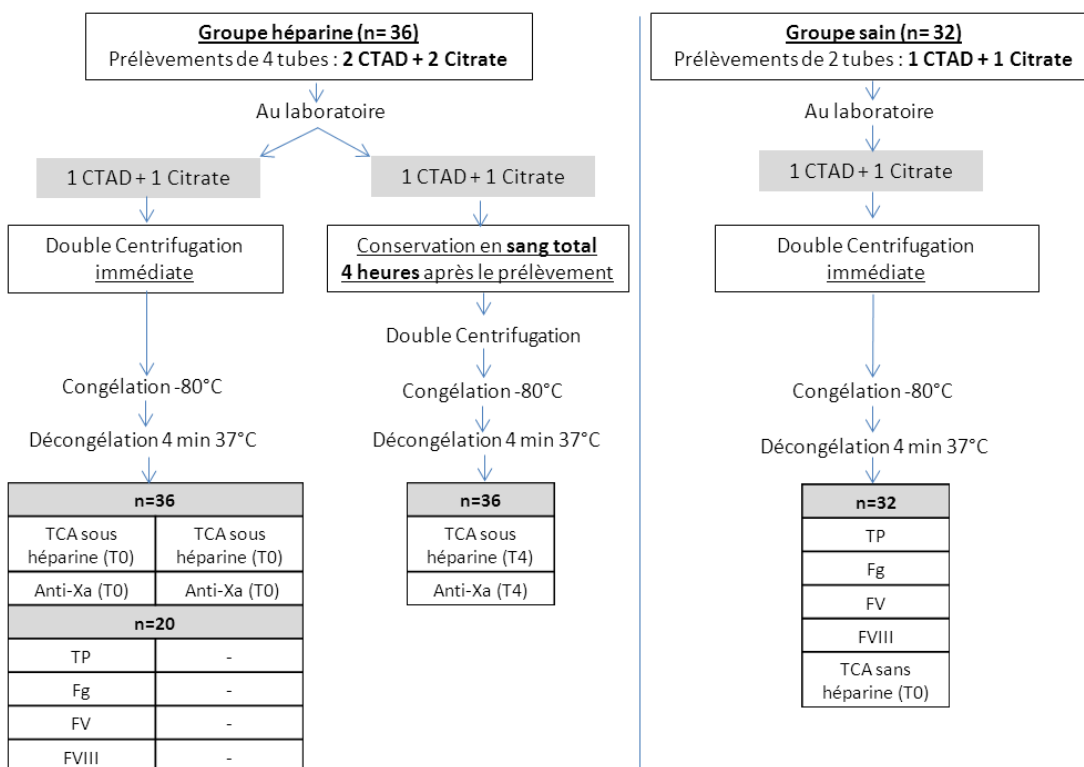


Figure 23 : Méthodologie de l'étude sur les tubes CTAD et le suivi des patients sous héparine

Analyses statistiques des différences

Afin de comparer les valeurs obtenues en TP, TCA, fibrinogène, facteur V, facteur VIII, anti-Xa entre les deux types de tubes, nous avons analysé les séries appariées (seuil de risque $\alpha = 5\%$) soit en test de Student si l'effectif était suffisant ($n > 30$) soit en test de Wilcoxon en cas d'effectif faible ($n < 30$).

Analyse de l'impact analytique des différences

Suite à cette analyse, en cas de différence statistique, nous avons utilisé comme critère décisionnel les recommandations de la norme NF ISO 5725-6 qui comparent des résultats en prenant en compte les variabilités analytiques du système de mesure. Deux valeurs ne sont pas différentes l'une de l'autre si leur différence est inférieure à 2.8 fois l'écart type de fidélité intermédiaire (SD) de la technique utilisée (2.8SD) (60). Pour évaluer cette variabilité, nous avons utilisé les SD définis sur les contrôles de qualité interne (CIQ) normaux et anormaux du laboratoire. Les SD ainsi que les différences acceptables (2.8SD) pour chaque test et chaque niveau de contrôle sont présentés dans le tableau 31. Nous avons également analysé les coefficients de régression et représenté les différences grâce à des graphiques de Bland et Altman.

Tableau 31 : Ecart type de fidélité intermédiaire (SD) de chacun des tests pour chaque contrôle de qualité (normal et anormal) et différences acceptables à 2.8SD correspondants aux critères analytiques décisionnels

	Moyenne/SD CIQ Normal	2.8SD CIQ normal Différences acceptables	Moyenne/SD CIQ Anormal	2.8SD CIQ anormal Différences acceptables
TP (%)	103 / 4	11	43 / 1.5	4
TCA (s)	29.9 / 0.69	2	47.1 / 0.80	2.2
Ratio TCA	1.03 / 0.02	0.06	1.62 / 0.03	0.08
Fg (g/L)	2.95 / 0.20	0.6	1.86 / 0.11	0.3
FV (%)	107.3 / 5	14	34.3 / 1.8	5
FVIII (%)	83.2 / 5.4	15	24.1 / 1.2	3
Héparine (U/ml)	0.4 / 0.02	0.06	-	-

Analyse de l'impact clinique des différences

Un autre critère a été utilisé pour commenter nos résultats : la pertinence clinique des différences observées. En effet, des variations d'un point de vue analytique peuvent être tolérées s'il n'existe aucun impact sur la prise en charge du patient. Ainsi nous avons regardé si des résultats interprétés comme pathologiques en tube citraté correspondaient bien à des résultats pathologiques en tube CTAD (même interrogation pour des résultats normaux). Concernant les héparinémies et les ratios TCA des patients sous héparine, nous avons vérifié, par rapport aux intervalles thérapeutiques attendus que les interprétations soient identiques entre les deux types de tube. Nous avons utilisé

comme intervalles thérapeutiques les zones thérapeutiques suivantes pour un traitement par HNF :

- Anti-Xa : 0.3-0.7 UI/mL (49,61)
- TCA : le ratio TCA doit être compris entre 1,9 et 4 (49).

L'algorithme décisionnel complet est présenté sur la figure 24.

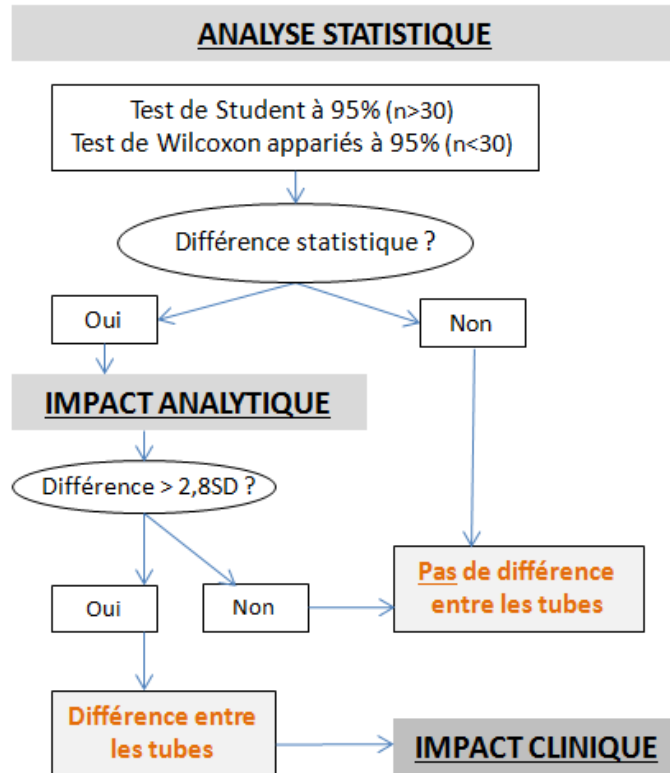


Figure 24 : Algorithme décisionnel de l'étude sur les tubes CTAD

1.3 Résultats

1.3.1 Résultats bruts

Les résultats en tube citraté classique et en tube CTAD des différents paramètres sont présentés tableau 32 pour le T0 et tableau 33 pour le T4.

Tableau 32 : Résultats obtenus, juste après centrifugation (T0), des tests TP, TCA, fibrinogène, facteur V et facteur VIII sur les échantillons étudiés

		Citrate T0			CTAD T0		
Test	Groupe	Volontaires sains	Patients sous HNF	Sains + HNF	Volontaires sains	Patients sous HNF	Sains + HNF
		n=32	n=20	n=52	n=32	n=20	n=52
TP (%)		111 [89–128]	75 [46–103]	97 [46–128]	111 [89–130]	78 [49–100]	98 [49–130]
Fibrinogène (g/)		2.60 [1.72–3.86]	4.99 [2.17–10.02]	3.52 [1.72–10.02]	2.60 [1.68–4.42]	5.37 [2.96–9.24]	3.69 [1.68–9.24]
Facteur V (%)		104.2 [74.8–154]	98.8 [40.2–161]	100.2 [40.2–161]	103.1 [74.8–154]	97.8 [43.8–147.4]	101.1 [43.8–154]
Facteur VIII (%)		104.8 [58.9–168.6]	200.3 [94.0–275.8]	141.6 [58.9–275.8]	104 [57–176.3]	207.2 [142.7–286.3]	143.7 [57–286.3]
		Citrate T0			CTAD T0		
Test	Groupe	Volontaires sains	Patients sous HNF	-	Volontaires sains	Patients sous HNF	-
		n=32	n=36		n=32	n=36	
TCA (s)		30 [26.5–34.5]	51.5 [35.5–81.3]	-	30.7 [27–34.5]	55.5 [37.4–87.5]	-
Ratio TCA		1.01 [0.89–1.16]	1.78 [1.22–2.80]	-	1.03 [0.91–1.16]	1.91 [1.49–3.02]	-
Anti-Xa (U/mL)		-	0.28 [0.08–0.47]	-	-	0.32 [0.13–0.49]	-

Tableau 33 : Résultats des activités anti-Xa et de TCA après 4 heures de conservation en sang total (T4) des échantillons des patients traités par Héparine Non Fractionnée

		Citraté T4	CTAD T4
Test	Groupe	Patients sous HNF n=36	
		TCA (s)	48.8 [35.3–78.2]
Ratio TCA		1.68 [1.22–2.70]	1.90 [1.13–3.62]
Anti-Xa (U/mL)		0.26 [0.08–0.41]	0.31 [0.11–0.54]

1.3.2 Comparaison à T0 entre tube citraté et tube CTAD (patients sous Héparine Non Fractionnée et volontaires sains)

Le tableau 34 reprend test par test, sauf pour le TCA et l'héparinémie des patients traités par HNF, les résultats des tests statistiques et de l'analyse des différences.

Pour les trois paramètres, TP, facteur V et facteur VIII, l'analyse statistique des données aboutit aux mêmes résultats qu'il s'agisse des témoins sains (n=32), des patients sous héparine pris isolément (n=20), ou bien de l'effectif complet (n=52). A T0, il n'existe ni différence statistique ni impact analytique entre les deux types de tubes pour ces tests.

Pour le fibrinogène, la différence est statistiquement significative sur l'effectif complet (p<0.05) mais pas pour chaque groupe pris isolément. Néanmoins, les différences sont inférieures au seuil de 2.8SD. Il n'y a donc pas d'impact analytique.

Pour le TCA des volontaires sains, une différence significative est observée sur le ratio et le temps brut (p<0.05). En revanche, comme pour le fibrinogène, les différences restent inférieures au seuil d'impact analytique préalablement défini.

Par ailleurs, pour l'ensemble de ces paramètres, la prise en charge médicale n'aurait pas été différente selon le tube prélevé. L'interprétation des résultats est identique : nous concluons à une absence d'impact clinique.

Tableau 34 : Résultats des tests statistiques pour les analyses TP - fibrinogène - FV - FVIII entre tube Citraté et tube CTAD

Test	Effectif	P-value	Différence statistique ?	Différence = (Citraté T0 -CTAD T0)	Impact analytique ?
TP (%)	<u>Total : n=52</u>	>0.05	Non	- 1%	Non
FV (%)	<u>Total : n=52</u>	>0.05	Non	+1.1%	Non
FVIII (%)	<u>Total : n=52</u>	>0.05	Non	- 2.1%	Non
Fibrinogène (g/L)	<u>Total : n=52</u> Sains : n=32 HNF : n=20	0.0444 >0.05 >0.05	Oui Non Non	- 0.17g/L - 0.04 g/L - 0.27 g/L	Non
TCA (s)	Sains : n=32	0.0003	Oui	- 0.7s	Non
Ratio TCA	Sains : n=32	0.0003	Oui	- 0.02	Non

Pour les patients traités par HNF, l'ensemble des résultats obtenus à T0 sont présentés tableau 35. Nous avons écarté le TCA en valeur brute de l'analyse de l'impact

clinique du fait que les surveillances de traitement par héparine sont basées sur le ratio TCA et l'héparinémie.

Entre les deux types de tube à T0, nous observons de bonnes corrélations en ratio TCA, TCA et anti-Xa ($r^2 > 0.75$). Les différences sont statistiquement significatives. La représentation des différences en Bland et Altman (figure 25) montre qu'elles sont toujours en faveur du CTAD.

Les différences en valeur absolue sont de :

- 0,14 en ratio TCA soit de 4.0s en TCA brut (8% de différence en moyenne entre les tubes)
- 0.04 U/mL en héparinémie (16% de différence).

A T0, entre tube citraté et tube CTAD, un impact analytique est observé sur le TCA et non sur l'héparinémie.

Tableau 35 : Analyse des différences statistiques, de l'impact analytique et de l'impact clinique à T0 entre le tube citraté et le tube CTAD sur le ratio TCA, le TCA et l'héparinémie (anti-Xa)
*Pourcentage par rapport aux résultats en citraté T0

	Citraté T0 / CTAD T0					
	Ratio TCA		TCA (s)		Anti-Xa (U/mL)	
Population de patients traités (n=36)						
r^2	0.9157		0.9150		0.9315	
Différence statistique ?	Oui		Oui		Oui	
P-value (95%)	<0.0001		<0.0001		<0.0001	
Impact analytique ?	Oui		Oui		Non	
Différence (CTAD T0 – Citraté T0)	-0.14 (-8%*)		-4.0s (-8%*)		-0.04U/mL (-16%*)	
Sous-groupe de patients traités						
	Ratio TCA <1.9 n=25	Ratio TCA >1.9 n=11	TCA <55.1s n=25	TCA >55.1s n=11	Anti-Xa <0.3 U/mL n=20	Anti-Xa >0.3 U/mL n=16
Différence statistique ?	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
P-value (95%)	0.0002	0.0051	0.0002	0.0008	0.0004	0.0006
Impact analytique ?	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non
Différence (CTAD T0 – Citraté T0)	-0.10 (-6%*)	-0.23 (-10%*)	-2.9 s (-7%*)	-6.5 s (-10%*)	-0.04 U/ml (-20%*)	-0.03 U/mL (-12%*)
Impact clinique Interprétation discutable	3 patients sur 25		-		4 patients sur 20	

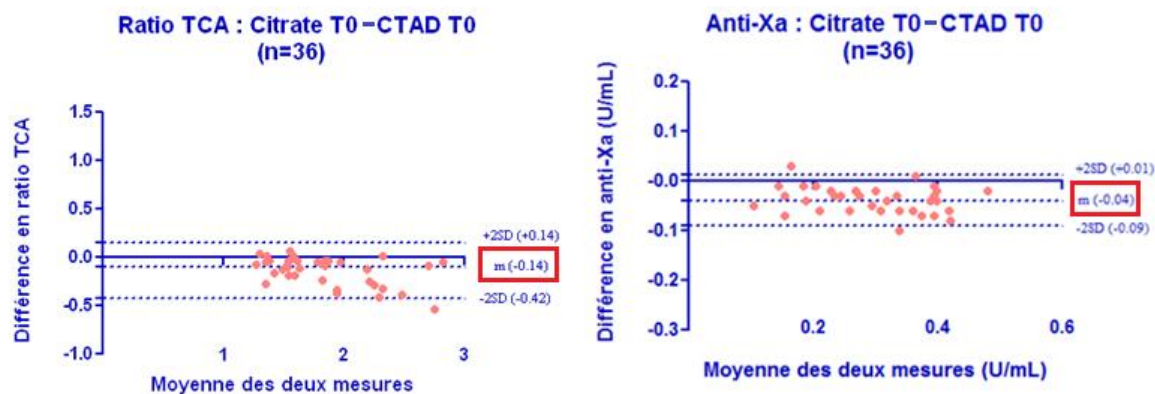


Figure 25 : Bland et Altman du ratio TCA et de l'héparinémie (anti-Xa) entre le tube citraté et tube CTAD à T0 des patients traités par HNF

Nous pouvons répartir nos patients en deux sous-groupes en fonction des résultats des mesures par rapport aux intervalles thérapeutiques :

- Patients en zone infra-thérapeutique :
 - o Ratio < 1.9 ou TCA < 55,1s ou anti-Xa < 0.3U/mL
- Patients en zone curative :
 - o $1.9 < \text{ratio} < 4.0$ ou TCA > 55,1s ou anti-Xa > 0.3U/mL

Pour ces sous-groupes, nous observons des différences statistiquement significatives de résultats à T0 entre les tubes citratés et tubes CTAD. Pour le TCA, il existe un impact analytique. Ceci n'est pas retrouvé pour les héparinémies.

Les différences à T0 sont toujours en faveur du tube CTAD et sont pour chaque sous-groupe les suivantes :

- En zone infra-thérapeutique :
 - o 0.10 en ratio (2.9s de TCA)
 - o 0.04 U/mL en anti-Xa
- En zone curative :
 - o 0.23 en ratio (6.5s)
 - o 0.03 U/mL en héparinémie

En termes d'impact clinique à T0 :

- Nous ne retrouvons pas d'impact chez les patients traités à visée curative : les interprétations cliniques sont les mêmes quel que soit le tube pour le TCA et pour l'héparinémie

- Quelques patients avec des résultats en dessous de la zone à visée curative présentent des mesures de TCA et d'anti-Xa supérieures sur tube CTAD :
 - o Ratio TCA : trois patients discordants : ratio supérieur au seuil de 1,9 en tube CTAD (1.71 vs 1.94; 1.76 vs 2.13 et 1.78 vs 2.11)
 - o Anti-Xa : quatre patients discordants : activités supérieures à 0,3 U/mL en tube CTAD (0.27 vs 0.32 ; 0.28 vs 0.34 ; 0.29 vs 0.31 et 0.29 vs 0.39).

1.3.3 Comparaison entre T0 et T4 sur chacun des types de tube (patients sous Héparine Non Fractionnée)

La comparaison concernant la conservation en sang total des tubes 4 heures après le prélèvement concerne uniquement les patients traités par HNF. Les résultats en ratio TCA, TCA et héparinémie sont présentés pour le tube citraté et le tube CTAD respectivement dans les tableaux 36 et 37.

1.3.3.1 Tubes citratés

Entre T0 et T4, sur tubes citratés, nous objectivons une bonne corrélation en ratio TCA, TCA et anti-Xa ($r^2 > 0.75$). Les résultats en ratios TCA et TCA, sont statistiquement différents. La différence représentée sur les Bland et Altman (Figure 26) montrent un résultat supérieur à T0 par rapport à T4 en ratio TCA de 0.09 (2.7s en TCA). Cette différence statistique n'est pas retrouvée pour l'héparinémie (différence en anti-Xa de 0.01 U/mL (Figure 26)).

Nous objectivons donc un impact analytique du délai d'attente sur les résultats de TCA et de ratio TCA sur tube citraté. Pour l'héparinémie, nous n'observons pas d'impact analytique après 4 heures d'attente.

Pour le TCA, les données des sous-groupes basées sur l'intervalle thérapeutique montrent que les différences observées concernent les patients avec des doses à visée curative. Dans ce cas, nous retrouvons une différence de 0.21 en ratio (6.2s de TCA) (9%). En termes d'impact clinique, ce sous-groupe comprend trois patients dont les résultats sont discordants : ratio TCA plus élevé à T0 qu'à T4 (ratio à 2.11 vs 1.88 à T4 ; 2.13 vs 1.89 et 2.17 vs 1.69)

Tableau 36 : Analyse des différences statistiques, de l'impact analytique et de l'impact clinique entre T0 et T4 sur tube citraté pour le ratio TCA, le TCA et l'héparinémie (anti-Xa)

*Pourcentage par rapport aux résultats en citraté T0

		Citrate T0 / Citrate T4					
		Ratio TCA		TCA (s)		Anti-Xa (U/mL)	
Population de patients traités (n=36)							
r^2		0.8588		0.8609		0.737	
Différence statistique ?		Oui		Oui		Non	
P-value (95%)		0.0010		0.0010		0.0857	
Impact analytique ?		Oui		Oui		Non	
Différence (Citrate T0 – Citrate T4)		+0.09 (+4%*)		+2.7s (+4%*)		+0.01U/mL (+4%*)	
Sous-groupe de patients traités							
		Ratio TCA <1.9 n=25	Ratio TCA >1.9 n=11	TCA <55.1s n=25	TCA >55.1s n=11	-	-
Différence statistique ?		Non	Oui	Non	Oui	-	-
P-value (95%)		0.0838	0.001	0.0978	0.001	-	-
Impact analytique ?		Non	Oui	Non	Oui	-	-
Différence (Citrate T0 – Citrate T4)		+0.04 (+2%*)	+0.21 (+9%*)	+1.2 s (+2%*)	+6.2 s (+9%*)	-	-
Impact clinique		-	3 patients sur 11	-	-	-	-
Interprétation discutable							

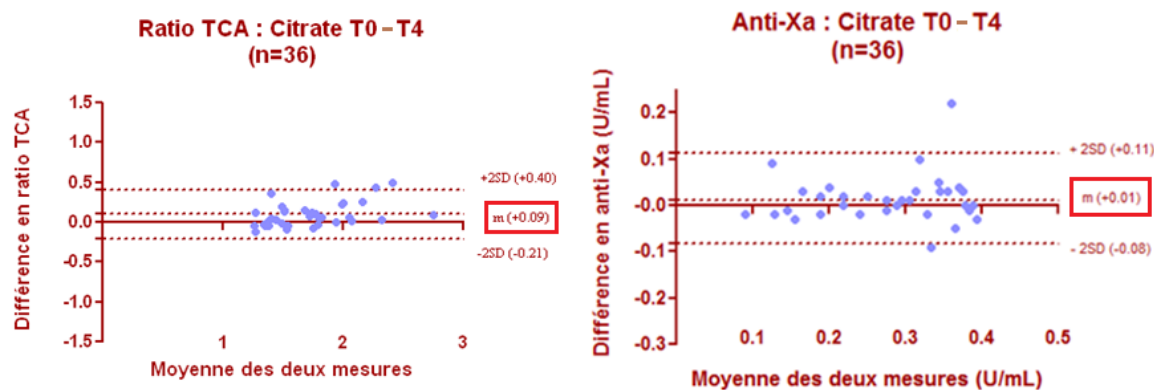


Figure 26 : Bland et Altman des moyennes des différences en Ratio TCA et anti-Xa obtenus sur tubes citratés conservés 4 heures en sang total à température ambiante

1.3.3.2 Tubes CTAD

Entre T0 et T4, sur tubes CTAD, nous retrouvons une bonne corrélation en ratio TCA, TCA et anti-Xa ($r^2 > 0.75$). Les différences en TCA, ratios TCA et en héparinémie ne sont pas statistiquement différentes. Ainsi, nous n'observons pas d'impact analytique (Tableau 37). Les différences représentées sur les Bland et Altman (figure 27) sont négligeables : mesures à T0 faiblement supérieures de celles à T4. Les différences en valeur absolues sont de :

- Ratio TCA : 0.01 (moins de 1s en TCA)
- Anti-Xa : 0.01U/mL.

Sur tube CTAD, un délai d'attente de 4 heures n'impacte pas d'un point de vue analytique les résultats en TCA et héparinémie. Par ailleurs, nous n'avons pas observé d'impact clinique.

Tableau 37 : Analyse des différences statistiques, de l'impact analytique et de l'impact clinique entre T0 et T4 sur tube CTAD pour le ratio TCA, le TCA et l'héparinémie (anti-Xa)

**Pourcentage par rapport aux résultats en CTAD T0

	CTAD T0 / CTAD T4		
	Ratio TCA	TCA (s)	Anti-Xa (U/mL)
Population de patients traités (n=36)			
r^2	0.7888	0.7874	0.8335
Différence statistique ?	Non	Non	Non
P-value (95%)	0.7433	0.7499	0.2246
Impact analytique ?	Non	Non	Non
Différence (CTAD T0 – CTAD T4)	+0.01 (+1% **)	+0.4s (+1% **)	+0.01U/mL (+4% **)

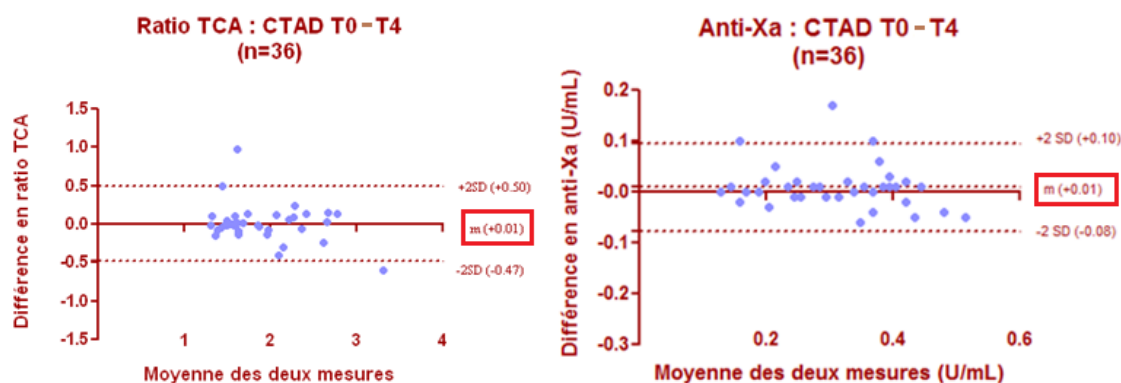


Figure 27 : Bland et Altman des moyennes des différences en Ratio TCA et anti-Xa obtenus sur tubes CTAD conservés 4 heures en sang total à température ambiante

1.3.4 Synthèse des résultats

Le tableau 38 présente un résumé de l'analyse des différences d'un point de vue statistique et analytique. Au regard du faible nombre de patients pour lesquels nous observons une incertitude quant à l'impact clinique, cette étude démontre les intérêts suivants :

- A T0 (moins de 1 heure après prélèvement) :
 - o Possibilité de réaliser uniquement les héparinémies sur les deux types de tube sans différence, ce qui n'est pas le cas pour le TCA
 - o Possibilité de réaliser les autres examens testés sur les deux tubes
- A T4 (après 4 heures d'attente en sang total et à température ambiante) : intérêt du tube CTAD par rapport au tube citraté pour la réalisation du TCA.

Tableau 38 : Résumé des différences statistiques et de l'impact clinique de l'étude selon les différentes conditions (temps et tubes)

	A T0			Entre TO et T4		Entre TO et T4	
	Tube Citraté / Tube CTAD			Tube Citraté		Tube CTAD	
	Ratio TCA	Anti-Xa	TP, Fg, FV, FVIII	Ratio TCA	Anti-Xa	Ratio TCA	Anti-Xa
Différence statistique	Oui	Oui	Oui / Non Selon les tests (cf. Tableau 34)	Oui	Non	Non	Non
Impact analytique	Oui	Non	Non	Oui	Non	Non	Non

1.4 Discussion autour du choix de la nature de l'anticoagulant dans les tubes destinés aux bilans de coagulation

Un suivi biologique optimal des patients sous héparine est indispensable pour être efficace sans effet indésirable. Cela nécessite de s'affranchir au maximum d'éventuelles variations liées à la phase pré-analytique. A ce sujet, le CLSI indique un délai pré-analytique très court, d'une heure en tube citraté classique pour mesurer le TCA et l'activité anti-Xa. Ce délai étant difficile à respecter, surtout pour les services de soins distants du laboratoire, le laboratoire peut préconiser l'utilisation d'un tube CTAD pour lequel le délai est prolongé à 4 heures (33).

1.4.1 TCA et délai d'attente en sang total

A T0, le ratio TCA est statistiquement et analytiquement différent entre les deux types de tubes.

Cette différence à T0 n'est pas retrouvée dans le travail de *Toulon P et al.* Dans cette étude, la plus comparable à la notre, nous notons une différence au niveau de la population étudiée. La particularité de notre étude par rapport à celle de *Toulon P et al* repose sur le fait que les dosages réalisés sur les plasmas de nos patients présentent des ratio TCA plus élevés en moyenne (1.78 et 1.91 en ratio sur tube citraté et CTAD contre 1.64 et 1.63 dans la publication) (50). Or, nous montrons que la différence entre tube CTAD et tube citraté à T0 est plus marquée chez des patients avec un ratio >1.9 . Ainsi, une population avec moins de patients et des TCA moins allongés peut avoir sous-estimé des variations d'un point de vue statistique dans l'étude de *Toulon P et al.*

Dans le travail de *Van den Besselaar P et al.*, une différence statistique est retrouvée sur le TCA entre les deux types de tube mais celle-ci est observée plus tardivement, en l'occurrence, après 3 heures de conservation en sang total (53).

Dans le travail de *Contant G et al.*, une différence de TCA en tube citraté et en tube CTAD est également observée et de manière plus marquée 2 heures après le prélèvement mais sans qu'il n'y ait eu une analyse statistique (simple courbe de corrélation) (54).

A T4, nous observons, uniquement sur tube citraté, une diminution statistiquement significative du ratio TCA avec un impact analytique. Cette diminution, temps dépendant mais également fonction de l'anticoagulant utilisé, est démontrée également dans l'étude de *Van den Besselaar P et al* sur des mesures réalisées 3 heures après le prélèvement (53) et même dès 1h30 dans un poster publié en 1991 par *Cordier et al.* (62). Pour autant, sur tube CTAD, nous ne retrouvons pas ces variations.

Le CLSI a repris toutes les recommandations proposées par l'étude très bien documentée de *Van den Besselaar P et al* (33,53). Dans ces recommandations, un délai de 1 heure d'attente en sang total est considéré comme acceptable en tube citraté contre 4 heures en tube CTAD. Notre étude invalide la possibilité d'accepter une heure d'attente

en sang total sur ce tube citraté. En effet, notre étude proscrit tout prélèvement de TCA destiné à la surveillance d'un traitement héparinique sur ce tube. Au regard des différences significatives observées dès T0 avec le tube citraté conventionnel, seul le tube CTAD garantit jusqu'à 4 heures après le prélèvement pour un résultat de TCA fiable et un suivi correct du traitement par Héparine Non Fractionnée.

1.4.2 Héparinémie et délai d'attente en sang total

La revue de la littérature concernant l'héparinémie présente des résultats similaires aux nôtres.

A T0, l'activité anti-Xa sur CTAD est statistiquement supérieure à celle mesurée sur tube citraté à T0. L'étude de *Contant G et al.* montre également cette différence mais en activité anti-IIa (54). Plus récemment, les résultats issus de l'article de *Toulon P et al.* montrent certes une différence de 0.02 U/mL en faveur du CTAD, mais, en conclusion, sans impact analytique car inférieure à la variabilité de 1SD fixée dans cette étude (50). Notre travail conclut à une différence plus importante de 0.04U/mL sans impact analytique selon notre critère (2.8SD). Par ailleurs, peu de patients, au seuil de la zone curative, sont discordants entre tube citraté et tube CTAD (6%, étude de *Toulon P et al.* (50) et 11% dans notre étude). Il existe donc peu d'impact sur la prise en charge des patients.

Nous ne montrons pas de différence statistique entre l'activité anti-Xa réalisée à T0 ou celle réalisée à T4 que ce soit sur tube CTAD ou sur tube citraté. De rares études documentent cette observation. Dans une étude, l'héparinémie diminue légèrement dans le temps (entre T0 et T5) mais sans analyse statistique complémentaire pour chaque type de tube (54). Une autre étude s'est intéressée uniquement au tube citraté en présentant des résultats significativement différents en anti-Xa 1h30 après le prélèvement (62).

Pour le CLSI, l'implication du PF4 dans la neutralisation de l'héparine, est un argument pour justifier un délai d'une heure en tube citraté classique pour une anti-Xa après conservation en sang total à température ambiante (même délai que le TCA) (33). Leur recommandation se base sur une étude publiée en 1998 (43) qui a étudié en

parallèle le TCA, l'héparinémie et le taux de PF4 après conservation en sang total. Seulement 3 patients traités par HNF ont été étudiés avec démonstration d'une diminution du TCA (significative à 2h) et de l'anti-Xa parallèlement à une augmentation du PF4 sur 24h, l'ensemble variant de manière importante dans les 4 premières heures. Une autre étude de 1987 démontre le rôle du PF4 dans la neutralisation de l'héparine (53). Sans différence statistique ni impact analytique sur la mesure d'anti-Xa entre T0 et T4 sur tube citraté, nos résultats sont radicalement différents de ces recommandations (n=36). En effet, dans notre étude, un délai de 4 heures est acceptable avant réalisation d'une héparinémie sur tube citraté classique (comme sur CTAD). L'absence d'impact analytique sur les héparinémies observées dans notre étude peut être expliquée par le réactif que nous utilisons au LBMMS pour mesurer les héparinémies. Il s'agit du réactif Hémosil[®] Liquide anti-Xa qui contient dans sa formulation du dextran (63). Or cette molécule permet de dissocier l'héparine du PF4, neutralisant ainsi l'effet inhibiteur du PF4 libéré par les plaquettes in vitro (64,65). Concrètement, l'utilisation d'un réactif contenant du dextran constitue une alternative à l'utilisation des tubes CTAD pour un suivi par héparinémie. Il faut cependant être attentif aux conséquences d'une telle association puisque de tels réactifs ne conviennent pas au suivi des patients traités par HNF pour une chirurgie cardiaque. En effet, le dextran antagonise aussi l'effet de la protamine (antidote de l'héparine) qui est injectée à ces patients et surestime ainsi la mesure en anti-Xa. Ceci peut conduire à des résultats ne correspondant pas à l'état physiologique et biologique réel du patient au moment du prélèvement.

1.4.3 Autres paramètres testés et délai d'attente en sang total

Pour l'ensemble des autres paramètres testés (TP, TCA sans héparine, fibrinogène, facteurs V et VIII), les résultats obtenus entre tube CTAD et tube citraté sont comparables et concordent bien avec les données de la littérature à T0 (50,56). Notons que l'absence de différence entre le TCA du groupe des témoins sains et entre les deux types de tubes valide notre interprétation des ratios TCA des patients traités. En effet, le temps témoin utilisé dans le calcul du ratio est le même pour les deux types de tubes.

1.4.4 Biais de l'étude

Nous devons cependant pondérer nos résultats par le fait que :

- Les intervalles thérapeutiques (1.9 – 4 en ratio TCA) ont été établis d'après des valeurs obtenues sur tubes citratés, potentiellement sous-estimés par rapport à des valeurs à établir sur tube CTAD.
- La congélation des prélèvements peut avoir également induit un biais. Une concentration résiduelle en plaquettes, même après double centrifugation, peut, par décongélation puis par lyse, libérer du PF4 induisant une sous-estimation de l'héparine sur tube congelé.
- Enfin, il aurait été intéressant de vérifier ces observations chez des patients avec des concentrations en héparine plus élevées.

1.5 Apport de l'étude de l'impact de la nature de l'anticoagulant dans les tubes destinés aux bilans de coagulation

Nous pouvons proposer des applications pratiques au suivi des patients sous Héparine pour répondre à la problématique du délai de réalisation des tests après conservation pré-analytique des tubes en sang total :

- Il est nécessaire de privilégier le tube CTAD dans cette indication :
 - o Surveillance d'un traitement héparine basée sur le TCA
 - o Activité anti-Xa
- L'utilisation d'un tube citraté :
 - o Est à proscrire pour la mesure du TCA chez un patient traité par HNF
 - o Est éventuellement acceptable pour le dosage de l'activité anti-Xa (réactif Hémosil® Liquide anti-Xa).

Compte tenu des avantages des tubes CTAD cités ci-dessus et d'une excellente concordance entre tubes CTAD et citratés pour les autres paramètres testés, il peut-être être judicieux de tester l'ensemble des examens de coagulation (à l'exception des tests basés sur la fonctionnalité plaquettaire) sur tubes CTAD.

Néanmoins, cette proposition d'une généralisation des tubes CTAD suscite d'autres problématiques inhérentes à des caractéristiques du tube :

- Ce type d'anticoagulant est actuellement conditionné dans des tubes en verre qui ne peuvent être convoyés par les chaînes automatisées présentes sur certains sites de biologie de Lyon (problème pour la centrifugation et pour l'encapsulation des échantillons après analyse) (tubes BD Vacutainer®)
- De nouvelles pratiques doivent être encadrées par des formations du personnel préleveur et au sein du laboratoire. Par exemple, la conservation de ces tubes à l'abri de la lumière dans leur lieu de stockage (services de soin notamment) est une contrainte nouvelle à maîtriser. (tubes BD Vacutainer® et Greiner Bio-One Vacuette®)

La mise en place de la prescription connectée pourrait permettre d'optimiser l'utilisation de ces tubes CTAD et ainsi d'améliorer le suivi des patients traités par héparine. En effet, lors de la prescription, le traitement anticoagulant obligatoirement renseigné par le prescripteur pourrait contraindre l'utilisation d'un tube CTAD.

Cette étude montre ainsi l'intérêt que présente les tubes CTAD par rapport aux tubes citratés classiques pour répondre à la problématique du délai de conservation en sang total des échantillons transmis dans le cadre du suivi des patients sous héparine. Leur utilisation pourrait donc être étendue à d'autres sites sous réserve de leur bon usage. Notons qu'en cas d'impossibilité de disposer de tube CTAD, notre étude suggère qu'il est préférable de réaliser des héparinémies et non des TCA sur tube citraté pour le suivi des patients traités par héparine à visée curative.

Il faut bien relever d'un point de vue pratique que notre étude identifie qu'il est possible de mesurer d'ores et déjà sur tube CTAD, TP, taux de fibrinogène ainsi que taux de facteurs V et VIII. Ceci présente un avantage réel pour les patients traités par héparine pour lesquels un seul tube CTAD peut-être ainsi prélevé pour le suivi de traitement par héparine et le bilan de coagulation standard complémentaire. Cela constituera un réel intérêt s'il est fait ultérieurement la démonstration que cette possibilité s'étend aux autres paramètres de la famille COAGBM.

2 Risques inhérents à la conservation des plasmas des patients avec ou sans traitement anticoagulant

2.1 Objectif

L'objectif est de répondre aux risques identifiés au sein de la phase post-analytique concernant la mise en sécurité des échantillons. L'étude consiste à évaluer l'impact des délais d'attente et de la température de conservation des échantillons plasmatiques sur les résultats d'examen au regard d'une (ré)-analyse et ou ajout d'un examen complémentaire de la même famille COAGBM.

A l'exception du TP, le CLSI recommande que le délai entre le prélèvement et la réalisation des examens de la famille COAGBM n'excède pas 4 heures. Ces 4 heures comprennent l'étape d'acheminement en sang total, l'étape de centrifugation et enfin le délai d'attente du plasma avant la réalisation des mesures. Cependant, le CLSI énonce qu'il faut tenir compte des spécificités propres à l'environnement de chaque laboratoire en termes de gestion de l'ensemble des activités du processus de réalisation. La centrifugation identifie une transition entre deux activités : l'acheminement en sang total et la mise en sécurité des plasmas prêts à être (ré) analysés.

Dans un premier temps, nous avons évalué l'impact du délai d'attente à différentes températures sur le résultat d'examen obtenu juste après la centrifugation ceci indépendamment du délai d'acheminement. Dans un second temps nous avons inclu dans cette même évaluation le délai d'acheminement en sang total que nous avons strictement imposé, aux services cliniques, de deux heures maximum comme la discipline Hémostase des HCL le préconise dans le catalogue des examens du LBMMS (66).

2.2 Matériel et méthode

Il s'agit d'une étude in vitro prospective réalisée au sein du laboratoire d'hémostase de l'Hôpital Edouard Herriot à Lyon.

Nous avons réalisé des mesures de TP, TCA, taux de fibrinogène, de facteur V et de facteur VIII. Les plasmas ont été analysés immédiatement après centrifugation (T0). Ils ont été ensuite ré-analysés respectivement 2 heures (T2), 4 heures (T4), 8 heures (T8) et enfin 12 heures (T12) après la centrifugation.

Nous avons mené cette évaluation d'impact du délai d'attente des plasmas en tubes non décantés dans trois conditions différentes de conservation des plasmas : dans une enceinte réfrigérée ($4 \pm 2^\circ\text{C}$), dans une enceinte thermostatée à $18 \pm 2^\circ\text{C}$ et enfin à température ambiante.

Nous avons été attentifs à équilibrer au mieux les effectifs de patients d'un point de vue quantitatif mais également qualitatif à 4 et 18°C , afin de pouvoir comparer nos populations (Tableau 39).

Tableau 39 : Nombre d'échantillons et profils des patients rentrant dans l'étude

Modes de conservation des plasmas	Température ambiante	$4 \pm 2^\circ\text{C}$	$18 \pm 2^\circ\text{C}$
Profils biologiques			
Patients traités par AVK	2	12	10
Patients avec taux de facteur V abaissé	1	2	2
Patients traités par HNF	2	10	8
Patients traités par HBPM	0	2	2
Patients avec taux de fibrinogène abaissé	0	1	1
Patients de service de Réanimation	0	1	0
Sujets sains non traités	10	10	11
Nombre total de sujets inclus	15	38	34

Les échantillons ont été prélevés par ponction veineuse périphérique sur :

- Tubes citratés tri sodiques 0.105M de 5mL (BD Vacutainer référence 367714)
- Tubes citratés tri sodique 0.109M de 1.8mL (BD Vacutainer référence 368273).

Le prélèvement des patients hospitalisés ainsi que le remplissage des bons de demande (avec nature des traitements et date/heure de prélèvement) ont été réalisés dans les services de soins par les infirmières. Les tubes ont été centrifugés selon le protocole de centrifugation du laboratoire qui répond aux exigences du GEHT et du CLSI (15 minutes, 2500 g, 20°C) puis conservés sur culot globulaire non décantés tout au long de l'étude. Les tests ont été réalisés en séries.

Modalités d'analyse des différences

En raison d'effectifs trop restreints sur certains profils de patients, nous n'avons pas réalisé de tests statistiques d'analyse de séries appariées.

Nous nous sommes appuyés sur les recommandations de la norme NF ISO 5725-6 qui comparent des résultats en prenant en compte les variabilités analytiques du système de mesure (2.8SD) à l'instar de la précédente étude expérimentale sur les prélèvements de patients traités par HNF (Tableau 40).

Cependant, une variante a également été apportée dans l'analyse des impacts analytiques. Pour pondérer le fait que la recommandation de la norme NF ISO 5725-6 devient critiquable quand les résultats à comparer sont très éloignés des valeurs cibles des CIQ de référence en termes de SD de fidélités intermédiaires utilisés, nous avons nuancé cette règle décisionnelle en lui faisant prendre une dimension statistique. En l'occurrence, nous avons introduit une condition de non-acceptabilité si le 10^{ème} ou le 90^{ème} percentile de notre population d'étude dépasse ce seuil de 2.8SD. En raisonnant de la sorte, et en considérant qu'un plasma de patient ne peut, sur un même test, appartenir à la fois au dix premier 10^{ème} et au dix dernier 90^{ème} de la population d'étude simultanément, nous n'acceptons donc que 10% de patient au-dessus (ou au-dessous) du seuil des 2.8SD. En somme, les 10^{ème} et 90^{ème} percentiles de la population étudiée pour chaque durée de conservation doivent être dans les bornes de +/-2.8SD pour considérer qu'il n'y a pas d'impact analytique.

Par exemple, nous considérons l'existence d'un impact analytique si pour plus de 10 % des patients à taux normal de facteur V les différences sont inférieures ou supérieures au seuil calculé de 18 % (Tableau 40).

Tableau 40: Ecart type de fidélité intermédiaire (SD) pour chacun des examens et chaque contrôle de qualité (normal et anormal) - Limites acceptables à 2.8SD correspondants aux critères décisionnels de l'étude

	Moyenne/SD CIQ Normal	2.8SD CIQ normal Limites acceptables du 10^{ème} et 90^{ème} percentile	Moyenne/SD CIQ Anormal	2.8SD CIQ anormal Limites acceptables du 10^{ème} et 90^{ème} percentile
TP (%)	103 / 3.55	+/- 10	43 / 2.00	+/- 6
INR	-	-	3.5 / 0.186	+/- 0.5
TCA (s)	29.9 / 0.36	+/- 1	47.1 / 0.70	+/- 2
Fg (g/L)	2.95 / 0.21	+/- 0.6	1.86 / 0.14	+/- 0.4
FV (%)	107.3 / 6.45	+/- 18	34.3 / 1.60	+/- 5
FVIII (%)	83.2 / 6.00	+/- 17	24.1 / 2.00	+/- 6

Excepté pour les études en température ambiante, nous avons choisi une présentation graphique de nos résultats. Un exemple figure 28 explique l'interprétation des schémas:

- Ordonnée : différence de résultats entre T_i et T_0 (heures)
- Abscisse : durée de conservation T_i (heures) par rapport à T_0
- Lignes en pointillée rouge : limites acceptables en $\pm 2.8SD$ correspondant à la population étudiée (résultats normaux ou résultats pathologiques)
- Box plot : répartition de nos patients avec représentation des percentiles. Sont tracés le 10^{ème} et le 90^{ème} percentile utilisés pour la décision de l'existence ou non d'un impact analytique.

Dans l'exemple de la figure, le 90^{ème} percentile dépasse la limite, nous considérons donc un impact analytique.

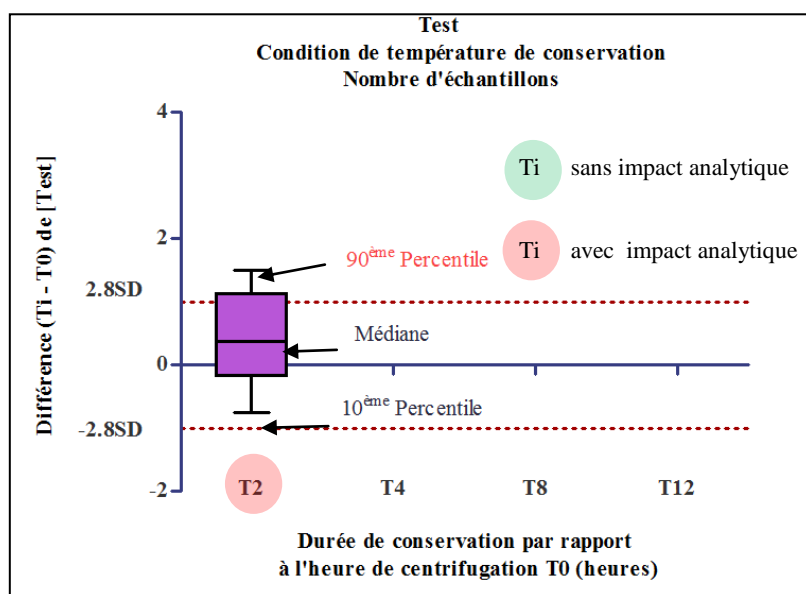


Figure 28: Représentation graphique et box plot

Nous avons également réalisé une analyse des différences en prenant connaissance de l'existence ou non d'un traitement. Ainsi, nous avons associé explicitement à l'étude d'impact analytique, une étude d'impact clinique.

2.3 Résultats

2.3.1 Evolution des résultats de chaque examen au cours du temps

2.3.1.1 Taux de prothrombine (TP)

L'analyse des données doit prendre en compte la présence ou non d'un traitement anticoagulant. Nous avons ainsi analysé nos données selon deux groupes :

- Patients sans traitement AVK : résultats avec TP normaux à T0 (TP > 70%)
- Patients traités par AVK : résultats avec TP diminués (TP < 70%) interprétés grâce à leurs INR.

Enfin, une troisième catégorie est envisageable puisque ce test est sensible aux diminutions du taux de facteur V. Nous avons pu observer quelques patients avec ce profil (TP < 70%).

2.3.1.1.1 Plasmas de patient avec un TP supérieur à 70%

Conservation à Température ambiante (TA)

Nous observons peu de variabilité dans le temps pour des plasmas conservés à température ambiante (n=10, sujets sains). Les mesures en TP augmentent faiblement : +4% de médiane à T8 et T12. A partir de T8, nous observons un impact analytique. Le délai d'attente acceptable est donc de 4 heures après la centrifugation à cette température.

Conservation à 4°C ± 2°C

Sur l'échantillonnage (n=23), nous devons identifier deux groupes de plasmas (Figure 29) :

- Plasmas de patients traités par héparine présentant un allongement du TCA (n=11) : médianes des différences en TP à T_i inférieure aux dosages à T0 et diminuant continuellement dans le temps
- Plasmas de sujets sains ne présentant pas d'allongement du TCA (n=12) : médianes des différences en TP à T_i légèrement inférieures à celle de T0 puis égale à T12.

Pour ces deux groupes, nous observons dès T2 un impact analytique.

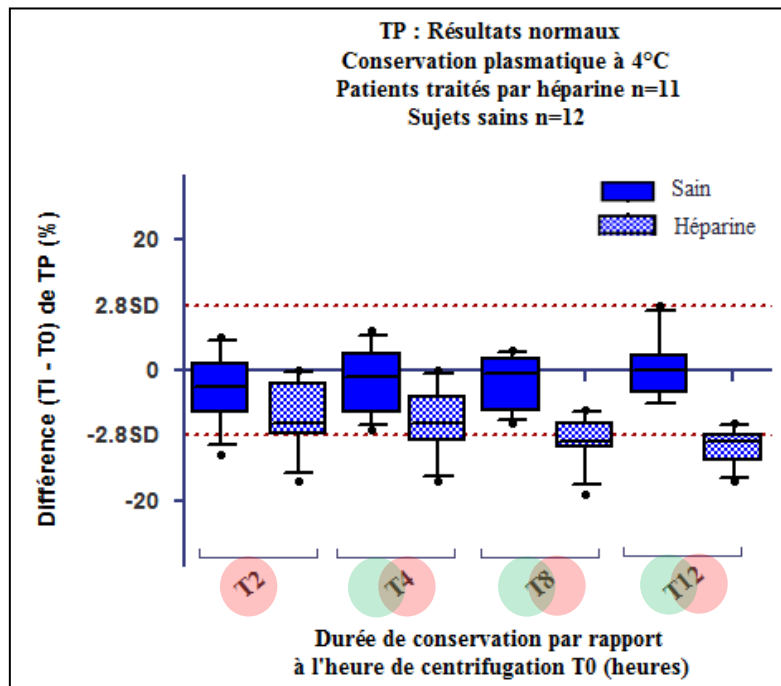


Figure 29 : Représentation graphique des différences de résultats de TP (%) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux normaux soit de sujets sains soit de patients traités par héparine et pour des tubes conservés à 4°C

Conservation à 18°C ± 2°C

Nous distinguons également les deux groupes de plasmas avec des TP normaux (Figure 30) :

- Plasmas de patients traités par héparine présentant un allongement du TCA (n=9): médianes des différences en TP stables dans le temps sans impact analytique jusqu'à 8 heures
- Plasmas de sujets sains ne présentant pas d'allongement du TCA (n=6) : augmentation croissante des différences en TP dans le temps. Ceci n'est plus observé en écartant de cet échantillonnage les plasmas des sujets sains avec des TP supérieurs à 100% où la variabilité de la méthode est plus importante. Le délai d'attente acceptable est alors de plus de 12 heures après la centrifugation.

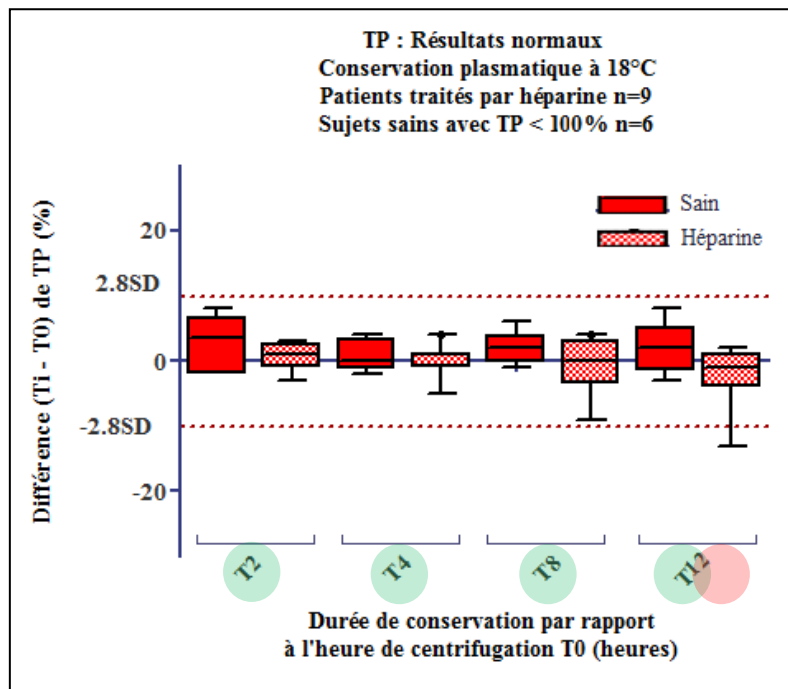


Figure 30 : Représentation graphique des différences de résultats de TP (%) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des TP normaux soit de sujets sains (TP < 100%) soit de patients traités par héparine et pour des tubes conservés à 18°C

2.3.1.1.2 Plasmas de patient avec un TP inférieur à 70%

Patients avec taux de facteur V diminué

Peu d'échantillons ont été analysés dans cette condition : un à température ambiante et deux pour chacune des deux autres conditions de température. Nous n'observons aucun impact analytique pour ces plasmas. Cependant, l'effectif faible ne nous permet pas de conclure de manière définitive.

Patients traités par AVK

Aucun impact analytique n'a été observé quelle que soit la durée de conservation et quelle que soit la température de stockage des plasmas pour la mesure de l'INR (Figure 31).

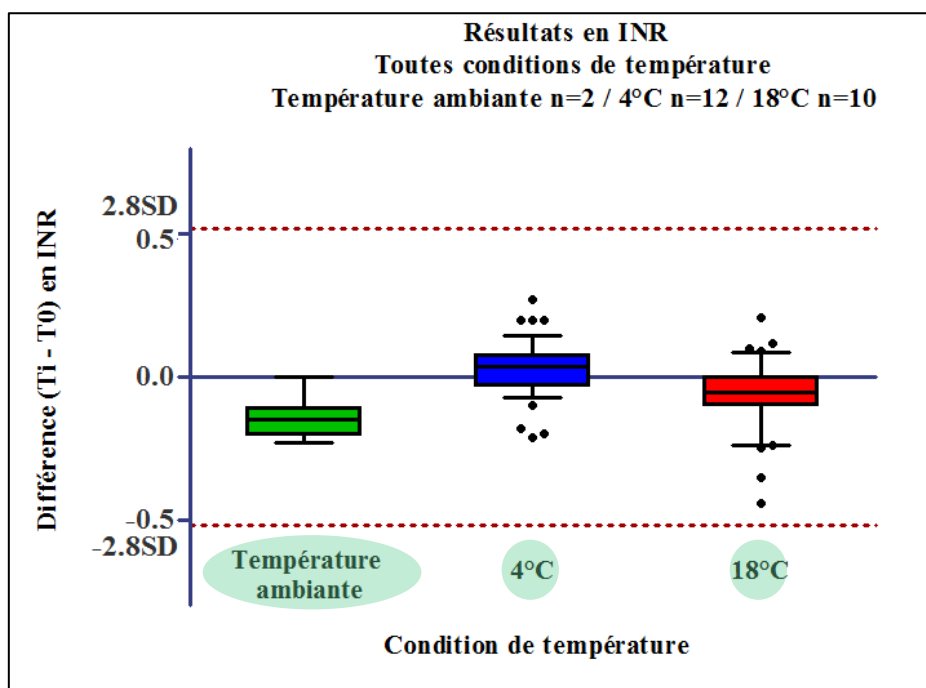


Figure 31 : Représentations graphiques des différences de résultats d'INR à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients traités par AVK et des tubes conservés à chacune des conditions de température (Température ambiante, 4°C et 18°C)

2.3.1.1.3 TP/INR : synthèse des conditions d'attente acceptables après centrifugation

Le tableau 41 fait la synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour la mesure du TP et de l'INR sur des plasmas conservés dans les trois conditions de température testées.

Tableau 41 : Synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour un résultat de TP ou d'INR selon le profil du patient

Condition de température de conservation		Température Ambiante		4 ± 2°C		18 ± 2°C	
		n		n		n	
TP > 70%	Patients sains	10	4h	12	< 2h	6	12h
	Patients traités par héparine	2	-	11	< 2h	9	8h
INR	Patients traités par AVK	2	12h	12	12h	10	12h
TP < 70%	Patients avec taux de FV abaissé	1	12h	2	12h	2	12h

2.3.1.2 Temps de céphaline avec activateur (TCA)

Pour étudier l'impact du délai d'attente et de la température de conservation sur les résultats de TCA, il est nécessaire de différencier les plasmas des patients avec :

- Un ratio TCA inférieur à 1,2 : patients sains ou traités par AVK
- Un ratio TCA supérieur à 1.2 : patients traités par anticoagulant (AVK ou héparine).

2.3.1.2.1 Plasmas de patients avec un ratio TCA inférieur à 1,20

Conservation à Température ambiante (TA)

Aucun impact analytique n'est observé jusqu'à T4 à température ambiante. De plus, à T8 et T12, il existe une variabilité individuelle importante (n=8)

Conservation à 4°C ± 2°C

Sur un effectif de 15 plasmas conservés à 4°C, dès T2, nous observons un impact analytique (Figure 32). La médiane des différences entre T0 et Ti heures augmente progressivement dans le temps avec une hausse de +0.2s à T2, +0.2s à T4, +0,6s à T8 et +1,1s à T12.

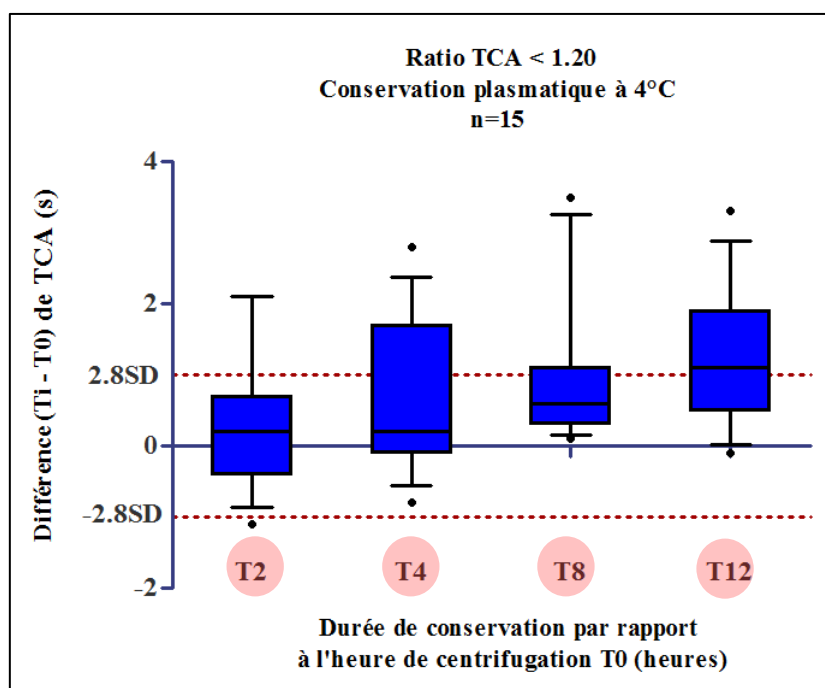


Figure 32 : Représentation graphique des différences de résultats de TCA (s) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des ratios TCA < 1.20 et pour des tubes conservés à 4°C

Conservation à 18°C ± 2°C

A 18°C, la médiane des différences est plus stable dans le temps qu'à 4°C (Figure 33). Cependant, un impact analytique est observé dès T2.

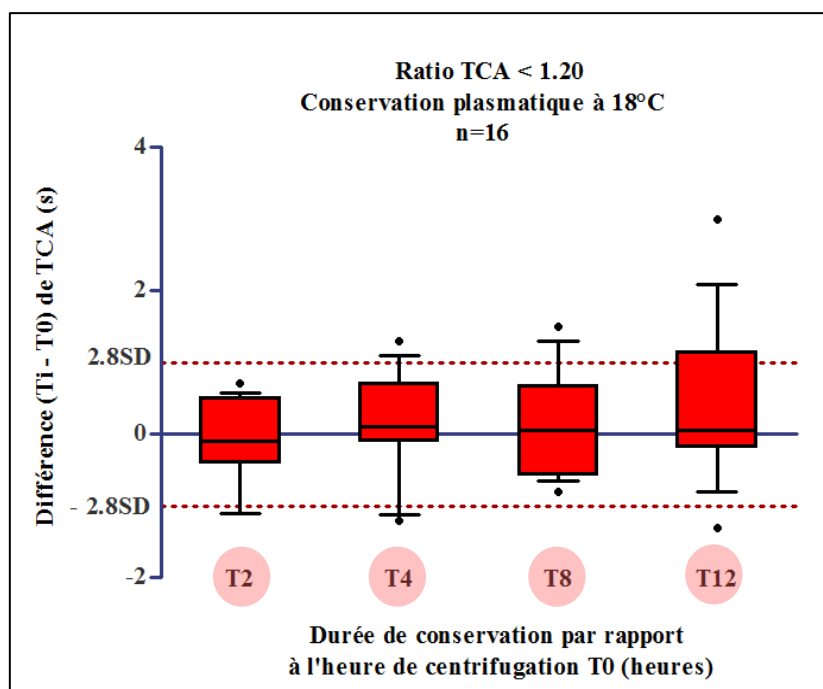


Figure 33 : Représentation graphique des différences de résultats de TCA (s) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des ratios TCA < 1.20 et pour des tubes conservés à 18°C

2.3.1.2.2 Plasmas de patients avec ratio TCA supérieur à 1,20

Patients traités par AVK

Conservation à Température ambiante (TA)

Un seul échantillon de patient traité par AVK a été analysé à température ambiante sans impact analytique jusqu'à T8 mais il ne permet pas à lui seul de tirer une conclusion.

Conservation à 4°C ± 2°C

Conservés à 4°C, une dérive avec allongement du TCA est observée sur les plasmas des patients traités par AVK (n=9). Nous objectivons un impact analytique dès T2 (Figure 34). Dans le temps, l'allongement est en médiane de +1s à T2, +0,9s à T4, +1,4s à T8, +1,9s à T12 par rapport à T0.

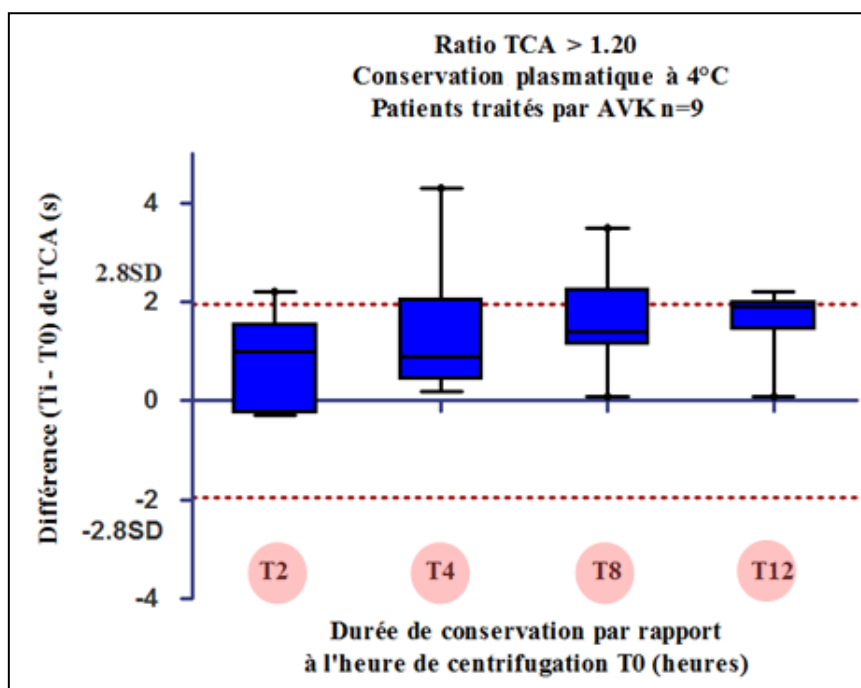


Figure 34 : Représentation graphique des différences de résultats de TCA (s) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des ratios TCA > 1.20 du fait d'un par AVK et pour des tubes conservés à 4°C

Conservation à 18°C ± 2°C

A 18°C, nous observons une relative stabilité de la valeur du TCA des plasmas de patients traités par AVK (Figure 35). Jusqu'à T4, aucun impact analytique n'est relevé. Pour les temps suivants, certains plasmas ont des valeurs de TCA qui augmentent alors que pour d'autres échantillons, nous observons des valeurs qui diminuent. La médiane a tendance à augmenter : +0,6 s à T8 et +0,5 s à T12 par rapport à T0.

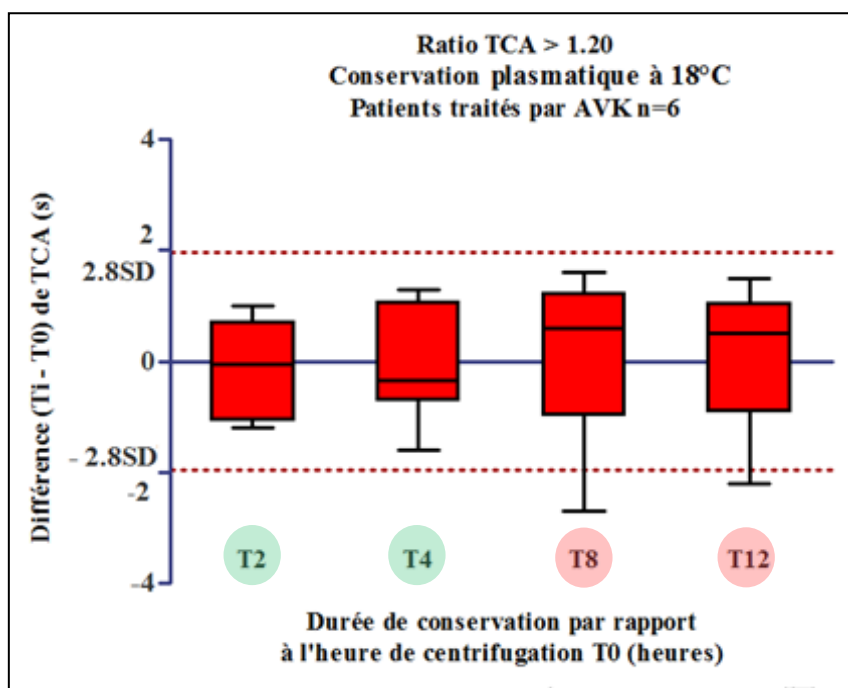


Figure 35 : Représentation graphique des différences de résultats de TCA (s) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des ratios TCA > 1.20 du fait d'un traitement par AVK et pour des tubes conservés à 18°C

Patients traités par héparine

Conservation à Température ambiante (TA)

Dès T2, une diminution importante de la valeur du TCA est observée sur les deux échantillons conservés à température ambiante : -2,6s sur un des échantillons et -7,1s sur l'autre. Cette diminution se poursuit ensuite avec à T12 une perte en moyenne de 6,7s sur ces deux échantillons. L'effectif est cependant trop faible pour conclure.

Conservation à 4°C ± 2°C

Sur les 12 échantillons de patients traités par héparine (deux sous HBPM et dix sous HNF), nous observons, dès T2, un impact analytique ainsi qu'une variabilité inter-individuelle (Figure 36). Majoritairement, les valeurs du TCA diminuent. La médiane des différences est de -0,4s à T2, -0,4s à T4, -2,1s à T8 et -3,1s à T12 par rapport à T0.

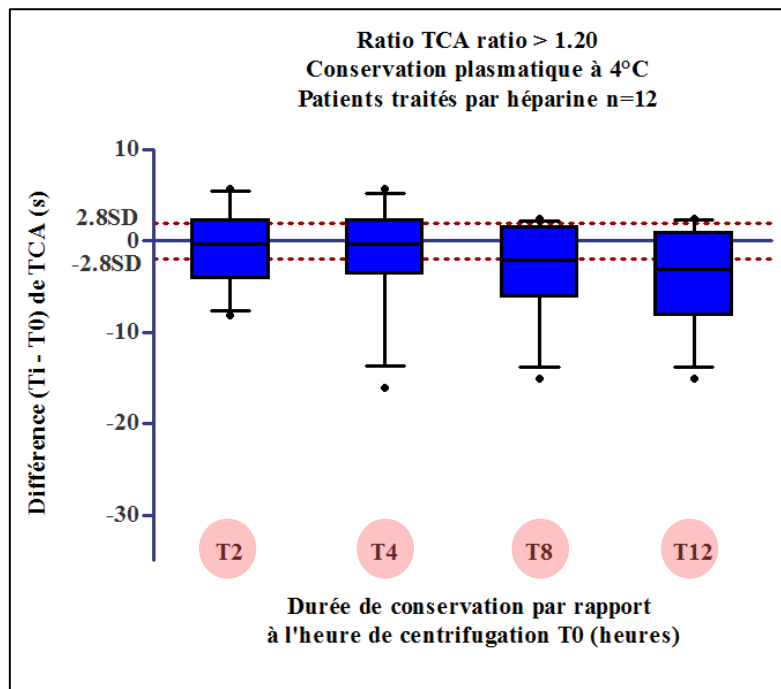


Figure 36 : Représentation graphique des différences de résultats de TCA (s) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des ratios TCA > 1.20 du fait d'un traitement par héparine et pour des tubes conservés à 4°C

Conservation à 18°C ± 2°C

A 18°C, la cinétique de diminution du TCA est régulière sur les 10 échantillons (Figure 37). Dès T2, il existe un impact analytique. La diminution est en médiane de -0,8s à T2, -2,3s à T4, -2,5s à T8 et -3,1s à T12 par rapport à T0. Nous observons de plus, une dispersion de plus en plus importante des différences en TCA selon les patients : certains échantillons présentent des valeurs de TCA diminuant fortement dans le temps alors que pour d'autres échantillons cela est moins le cas.

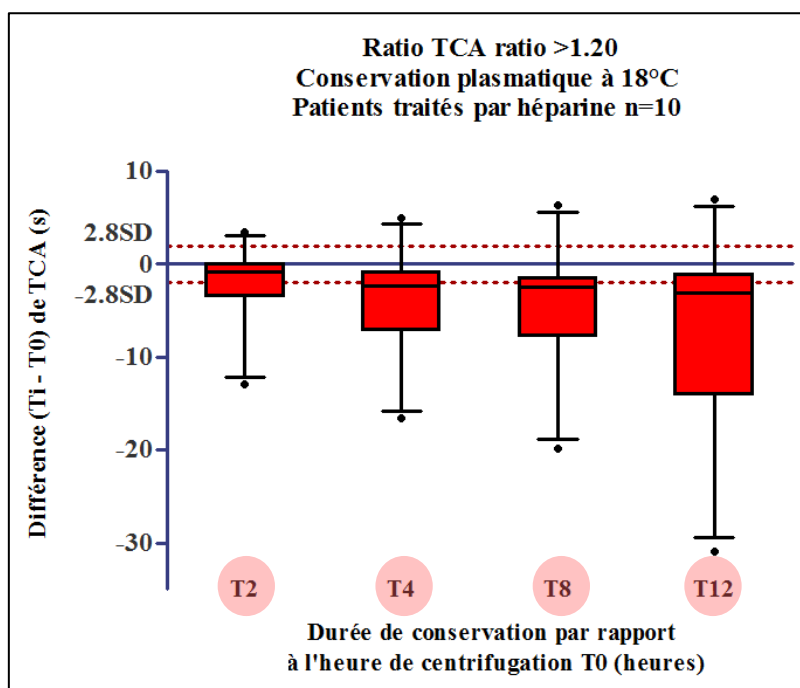


Figure 37 : Représentation graphique des différences de résultats de TCA (s) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des ratios TCA > 1.20 du fait d'un traitement par héparine et pour des tubes conservés à 18°C

Impact de la mesure du TCA sous héparine à T0 sur sa décroissance à T2

La figure 38 présente la diminution du TCA à T2 (différence entre T0 et T2) en fonction du TCA mesuré immédiatement après centrifugation. Nous observons que plus le TCA à T0 est élevé, plus la différence entre T0 et T2 est grande. Le raccourcissement est proportionnel au TCA de départ.

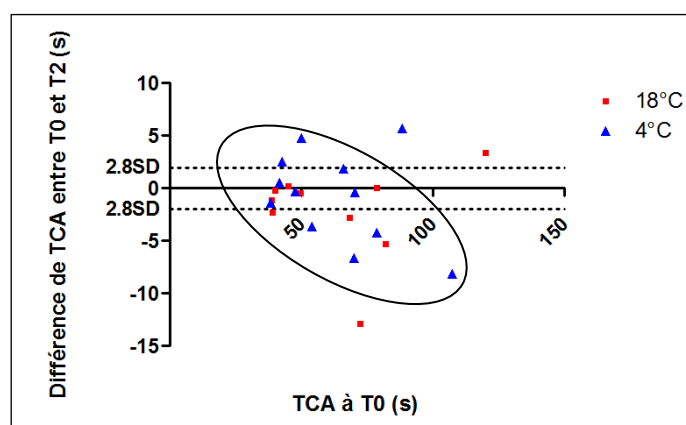


Figure 38 : Impact de la mesure du TCA sous héparine à T0 sur sa décroissance à T2

2.3.1.2.3 TCA : synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation

Le tableau 42 fait la synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour la mesure du TCA dans des plasmas conservés dans les trois conditions de température testées.

Tableau 42 : Synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour un résultat de TCA selon le profil du patient

Condition de température de conservation		Température Ambiante		4 ± 2°C		18 ± 2°C	
		n		n		n	
Ratio TCA < 1,2	Patients sains ou traités par AVK	8	4h	15	< 2h	16	< 2h
Ratio TCA > 1,2	Patients traités par AVK	1	-	9	< 2h	6	4h
	Patients traités par Héparine	2	< 2h	12	< 2h	10	< 2h

2.3.1.3 Taux de fibrinogène

Pour étudier l'impact du délai d'attente et de la température de conservation sur les résultats des taux de fibrinogène, il est nécessaire de différencier les plasmas des patients avec des taux supérieur à 2g/L de ceux inférieur à 2g/L.

Conservation à Température ambiante (TA)

Pour les 10 plasmas analysés, nous n'observons aucun impact analytique à cette température.

Conservation à 4°C ± 2°C

Les taux de fibrinogène sur des plasmas conservés à 4°C ne sont pas stables dans le temps (n=35). De plus, nous notons une variabilité inter-indivuelle importante : des taux augmentent alors que d'autres diminuent (Figure 39). Dès T4, nous sommes au dessus du seuil analytique fixé.

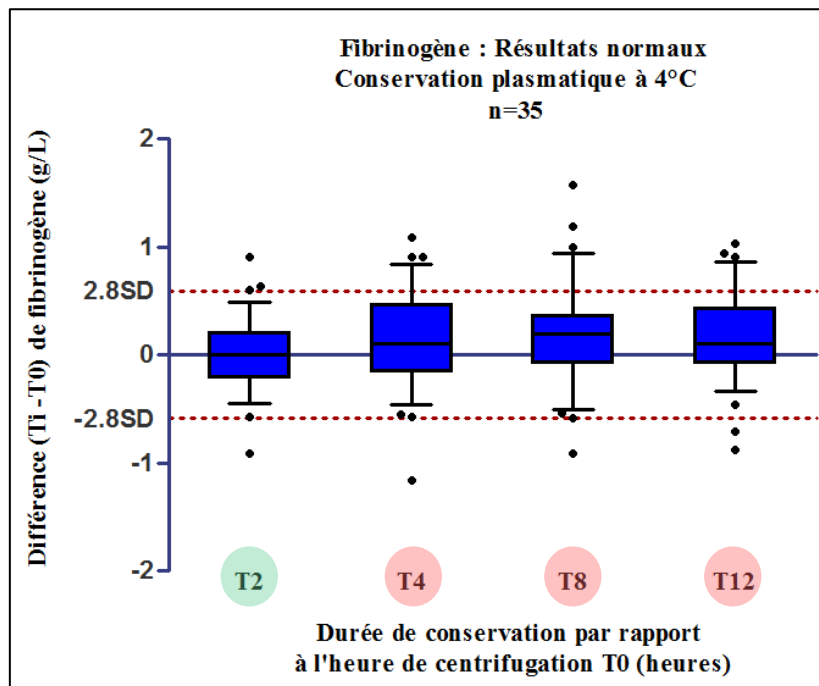


Figure 39 : Représentation graphique des différences de résultats de taux de fibrinogène (g/L) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux de fibrinogène > 2g/L et pour des tubes conservés à 4°C

Conservation à 18°C ± 2°C

La conservation à 18°C a été testée sur 31 échantillons mais deux présentaient des taux supérieurs à 10g/L où la variabilité analytique est importante. Nous avons donc exploités nos données sur 29 échantillons. A cette température, jusqu'à T4 nous n'observons pas d'impact analytique (Figure 40).

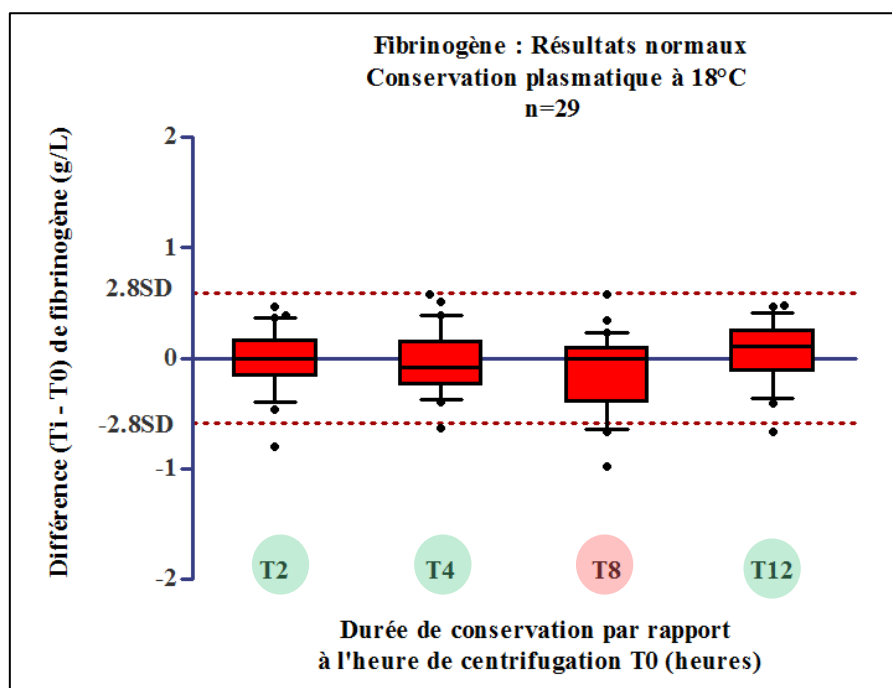


Figure 40 : Représentation graphique des différences de résultats de taux de fibrinogène (g/L) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux de fibrinogène > 2g/L et pour des tubes conservés à 18°C

Taux de fibrinogènes bas

Nous n'avons étudié qu'un prélèvement à 4°C et qu'un à 18°C avec des taux faibles en fibrinogène (1.7g/L et 1.0 g/L). L'effectif n'est pas assez important pour conclure mais nous n'observons aucun impact analytique.

Fibrinogène : Synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation

Le tableau 43 fait la synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour la mesure des taux de fibrinogène dans des plasmas conservés dans les trois conditions de température testées.

Tableau 43 : Synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour un résultat en taux de fibrinogène selon le profil du patient

Condition de température de conservation / Profil de patients	Température Ambiante		4 ± 2°C		18 ± 2°C	
	n		n		n	
Taux > 2g/L	10	12h	35	2h	29	4h
Taux < 2 g/L	0	-	1	12h	1	12h

2.3.1.4 Taux de facteur V

Pour étudier l'impact du délai d'attente et de la température de conservation sur les résultats des taux de facteur V, il est nécessaire de différencier les plasmas des patients avec des taux de facteur V normaux de ceux avec des taux abaissés, inférieurs à 62% (limite basse des valeurs de référence en facteur V au laboratoire).

Conservation à Température ambiante (TA)

Ausun impact analytique n'a été identifié pour des plasmas conservés à température ambiante (n=9).

Conservation à 4°C ± 2°C

Dès T2, la différence des mesures est supérieure au seuil analytique fixé (n=28) (Figure 41). Par ailleurs, nous observons des cinétiques différentes selon les plasmas mais avec majoritairement une diminution des taux de facteur V dans le temps.

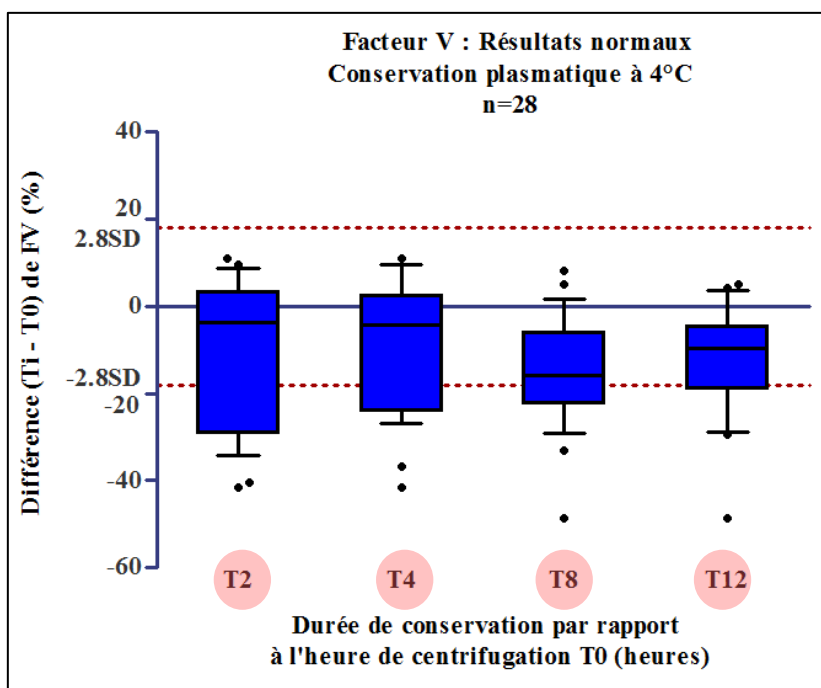


Figure 41 : Représentation graphique des différences de résultats de taux de facteur V (%) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux normaux et pour des tubes conservés à 4°C

Conservation à 18°C ± 2°C

Ausun impact analytique n'est observé pour des mesures de taux de facteur V sur des plasmas conservés à 18°C (n=28). La dispersion des valeurs est plus faible qu'à 4°C mais avec soit une augmentation soit une diminution des taux dans le temps selon les patients (Figure 42).

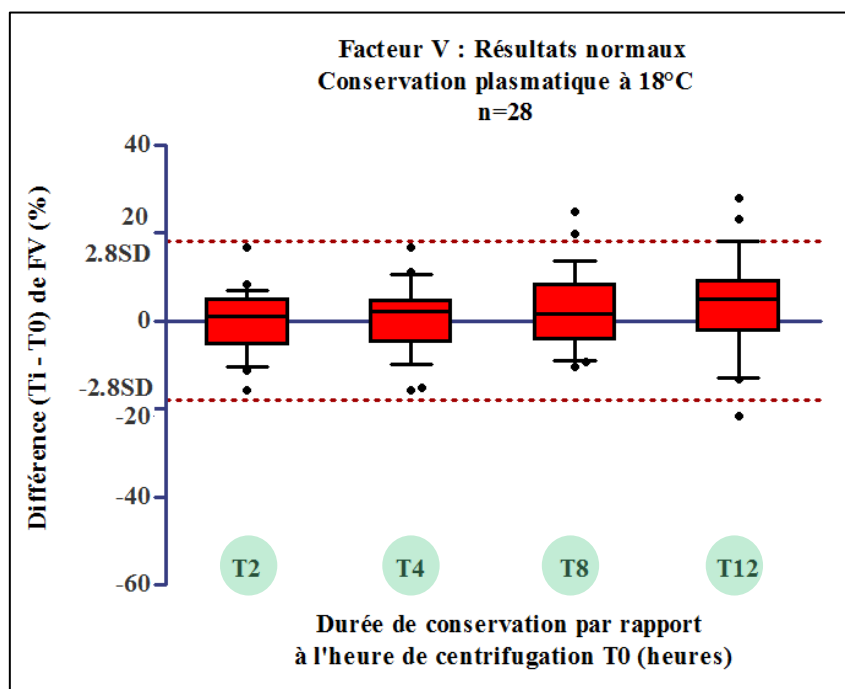


Figure 42 : Représentation graphique des différences de résultats de taux de facteur V (%) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux normaux et pour des tubes conservés à 18°C

Taux de facteur V diminué

L'effectif de plasmas avec des taux de facteur V abaissé dans cette étude est faible (un patient à TA, deux à 4°C et deux à 18°C). Sur ces échantillons, nous n'avons trouvé aucun impact analytique mais l'effectif est insuffisant pour conclure.

Facteur V : synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation

Le tableau 44 fait la synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour la mesure des taux de facteur V sur des plasmas conservés dans les trois conditions de température testées.

Tableau 44 ; Synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour un résultat de taux de facteur V selon le profil du patient.

Condition de température de conservation Profil de patients	Température Ambiante		4 ± 2°C		18 ± 2°C	
	n		n		n	
Taux > 62%	9	12 h	28	< 2h	28	12h
Taux < 62%	1	-	2	12h	2	12h

2.3.1.5 Taux de facteur VIII

Pour étudier l'impact du délai d'attente et de la température de conservation sur les résultats des taux de facteur VIII, nous avons étudié uniquement des plasmas de patients avec des taux normaux.

Conservation à Température ambiante (TA)

Nous observons une diminution rapide du taux de facteur VIII dans le temps des plasmas conservés à température ambiante (n=10). Dès T2, il existe un impact analytique. La médiane des différences est de -8,8% à T2, -28% à T4, -29% à T8 et -36% à T12 par rapport à T0.

Conservation à 4°C ± 2°C

Nous observons à 4 °C la même cinétique qu'à température ambiante avec une diminution rapide dès T2 du taux de facteur VIII dans les plasmas (Figure 43). Nous objectivons un impact analytique dès cette première mesure. La perte en taux de facteur est en médiane de -1% à T2, -11% à T4, -27% à T8 et -38% à T12 (n=30).

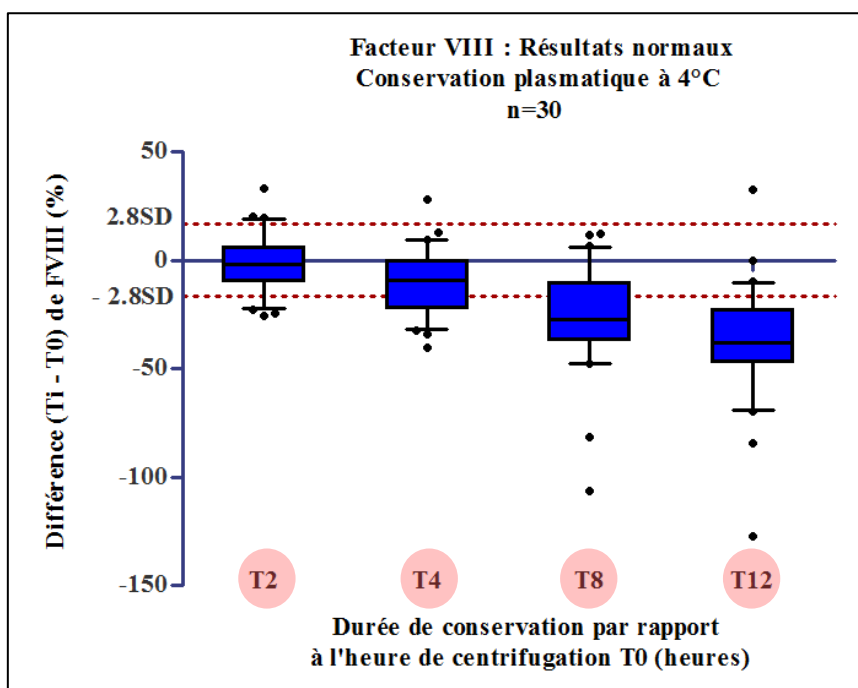


Figure 43 : Représentation graphique des différences de résultats de taux de facteur VIII (%) à Ti par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux normaux et pour des tubes conservés à 4°C

Conservation à 18°C ± 2°C

A 18°C, comme précédemment, le taux de facteur VIII diminue rapidement dans le temps (Figure 44). Dès T2, nous observons un impact analytique. La perte en taux de facteur VIII à T2 est de -10,7% en médiane, -15% à T4, -24% à T8 et -37% à T12 (n=30).

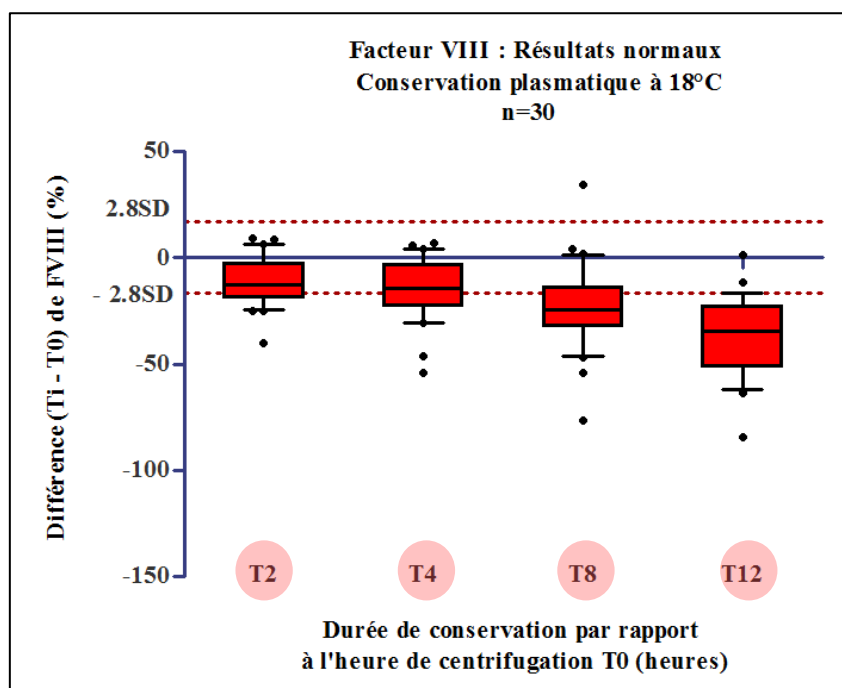


Figure 44 : Représentation graphique des différences de résultats de taux de facteur VIII (%) à T1 par rapport à T0 pour des plasmas de patients avec des taux normaux et pour des tubes conservés à 4°C

Facteur VIII : synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation

Le tableau 45 fait la synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour la mesure des taux de facteur VIII dans des plasmas conservés dans les trois conditions de température testées.

Tableau 45 : Synthèse des délais d'attente acceptables après centrifugation pour un résultat de facteur VIII

Condition de température de conservation	Température Ambiante		4 ± 2°C		18 ± 2°C	
	n		n		n	
Profil de patients						
Taux normaux	10	< 2h	30	< 2h	30	< 2h

2.3.1 Synthèse des délais acceptable par rapport à l'heure de prélèvement

Nous avons déterminé le délai d'attente acceptable pour une (ré)-analyse par rapport à l'heure de centrifugation. Cependant, l'appréciation finale de l'impact des délais d'attente sur la qualité analytique des résultats doit intégrer le délai d'acheminement en sang total, c'est-à-dire, l'heure de prélèvement. Il faut en effet que

le résultat de l'examen soit le plus possible le reflet de l'état physiologique du patient au moment du prélèvement.

Les délais d'attente acceptables, sans impact analytique, dans les trois conditions de conservation par rapport à l'heure de prélèvement et pour chaque examen sont ainsi présentés dans le tableau 46.

La conservation des plasmas à 18°C permet des mesures dans des délais d'attente plus longs ou similaires de ceux à 4°C.

Tableau 46 : Délais d'attente acceptables d'un point de vue analytique en fonction des conditions de conservation et des profils de patients

Test	Condition de température de conservation		Température Ambiante		4 ± 2°C		18 ± 2°C	
	Profil de patients		n		n		n	
TP	TP > 70%	Patients sains	10	6h	12	< 4h	6	14h
		Patients traités par héparine	2	-	11	< 4h	9	10h
	INR	Patients traités par AVK	2	14h	12	14h	10	14h
	TP < 70%	Patients avec taux de FV abaissés	1	14h	2	(14h)	2	(14h)
TCA	Ratio TCA < 1,2	Patients sains ou traités par AVK	8	6h	15	< 4h	16	< 4h
	Ratio TCA > 1,2	Patients traités par AVK	1	-	9	< 4h	6	6h
		Patients traités par héparine	2	< 4h	12	< 4h	10	< 4h
Fg	Taux > 2g/L		10	14h	35	4h	29	6h
	Taux < 2g/l		0		1	(14h)	1	(14h)
FV	Taux > 62%		9	14 h	28	<4h	28	14h
	Taux < 62%		1	-	2	(14h)	2	(14h)
FVIII	Taux normaux		10	< 4h	30	< 4h	30	< 4h

2.4 Discussion sur les dispositions techniques proposées en termes de délai et de température autour de la mise en sécurité des plasmas centrifugé

Diverses études ont été réalisées autour de la criticité de la phase post-analytique concernant la qualité analytique des résultats rendus en hémostase en lien avec la mise en sécurité des échantillons après centrifugation (40-45).

Notre étude n'est pas redondante par rapport aux publications dans le sens où elle associe en plus à la notion d'impact analytique celle de l'impact clinique de l'interprétation des résultats par rapport aux profils pathologiques ou thérapeutiques des patients. En effet, émettre des préconisations en termes de gestion des échantillons dans un laboratoire, nécessite de ne pas oublier la pertinence clinique de chaque examen : des variations d'un point de vue analytique peuvent être tolérées s'il n'existe aucun impact sur la prise en charge du patient selon son profil physiologique ou thérapeutique.

L'interprétation de nos résultats a été rendu difficile par le fait que les différentes études publiées sont hétérogènes d'un point de vue méthodologique. Ces divergences concernent les programmes de centrifugation, les délais d'attente, les critères décisionnels et surtout la définition des intervalles de température (Tableau 14 page 63). Sur ce point, certains travaux ne détaillent pas les températures concernées (42) d'autres présentent des intervalles mais différents selon l'étude, 18-25° (33), 20-22°C (43), 18-24°C (45), 20.1-24.4°C (44) ou bien une température fixe, 25°C (40). Cette observation concerne également la température réfrigérée avec des intervalles allant de 2°C à 8°C. Les températures différentes amènent donc à nuancer la comparabilité des résultats. En ce qui concerne notre travail, les intervalles de température sont de 4°C +/- 2°C et 18°C +/- 2°C.

Nous avons également été confrontés lors de la réalisation de cette étude à des impacts pré-analytiques dont la criticité dans le processus de réalisation des examens en hémostase avait été mise en avant dans l'analyse de risques. Il s'agit des risques liés à un remplissage des heures de prélèvement erroné par les infirmières et lié aux délais d'acheminement des tubes en dehors des délais recommandés par le CLSI (30min pour une centrifugation dans l'heure après le prélèvement) (33). Pour s'affranchir du biais lié au remplissage des bons de demande pour l'étude de la conservation à 18°C, une coopération avec les services cliniques (gériatrie, médecine interne et chirurgie vasculaire) a été mise en place et un remplissage exact des heures de prélèvements a été

obtenu. Les résultats obtenus à 4°C comporte donc un biais, à nuancer dans l'interprétation des résultats par rapport à ceux collectés à 18°C.

Pour le TP, nous confirmons qu'il faut proscrire toute conservation au réfrigérateur comme indiqué dans les recommandations du CLSI et dans l'étude de *Saghir et al* (33,44). Il existe en effet à 4°C une auto-activation du facteur VII (43,67) ainsi qu'une thermolabilité du facteur V (68). Le CLSI ne recommande notamment que 4h de délai pour la réalisation d'un facteur V dans cette condition (33), ce qui semble déjà trop long d'un point de vue analytique selon nos résultats.

A température non réfrigérée, notre travail réalisé sur 14h va dans le sens de la recommandation du CLSI selon laquelle la conservation à température ambiante impacte peu sur un résultat de TP. Cette notion est également partagée par la plupart des études qui considèrent acceptables 24h à température ambiante (33,40–43). Nous documentons à 18°C qu'il n'existe aucun impact analytique jusqu'à 14h après le prélèvement. Ceci est d'autant plus vrai que le patient est non traité par de l'héparine.

Concernant les résultats d'INR des patients traités par AVK, ces derniers ne sont pas impactés dans notre étude comme cela est décrit majoritairement dans les publications (40,43).

A l'instar de ce qui est publié dans la littérature, nous faisons la démonstration que le TCA est l'examen le plus sensible aux délais d'attente qu'elle que soit la température.

Pour les patients sans traitement héparinique, les cinétiques observées à 4°C et à 18°C montrent qu'il existe un impact analytique dès 4h après le prélèvement. Ce délai diffère selon les études : 2h (44), 4h pour le CLSI (33) et jusqu'à 8-12h (40–43). Pour 77% des prélèvements, nous observons un allongement du TCA en absence d'héparine. Cette instabilité est à mettre en relation avec la cinétique du facteur VIII dans le plasma. Les taux diminuent de 38% en moyenne du fait de sa thermolabilité (moyenne sur les températures testées) (69). En ce sens, le CLSI recommande 4 heures de délai de réalisation d'une mesure de taux de facteur VIII après le prélèvement. Ceci, au vu de nos résultats et de l'étude *Feng L et al.*, n'est pas acceptable du point de vue analytique car correspondant à un délai trop long (40).

Pour les patients traités par héparine, aucune attente n'est acceptable quelque soit la température de conservation. Le CLSI, faisant la différence entre un TCA sous ou sans traitement HNF, ne recommande pas pour autant des délais différents : 4h à 4°C ou à température ambiante. Ce délai n'est pas assez restrictif au vu de nos résultats et des conclusions de l'étude d'*Adcock et al.* (43). Dès 4h après le prélèvement, nous identifions des variabilités à 4°C et 18°C. Nous avons pu par ailleurs observer pour les prélèvements héparinés un raccourcissement important du TCA proportionnel au TCA mesuré à T0. Ceci est cohérent avec tout ce que nous avons déjà décrit et sur le rôle joué par le PF4 libéré des plaquettes dans la neutralisation de l'héparine in vitro (53,54).

Pour le fibrinogène, examen du bilan de coagulation aux HCL, la stabilité dépend du milieu de conservation : instabilité à 4°C non retrouvée à 18°C. Une hypothèse envisageable sur la conservation à 4°C est la possible apparition de cryofibrinogène, complexe de fibrinogène, fibronectine, albumine et/ ou d'immunoglobulines, insoluble qui précipite au froid. Ce composé est retrouvé chez 0% à 7% des patients sains mais la prévalence augmente jusqu'à 13% chez les patients hospitalisés. Cette protéine méconnue n'est mise en évidence qu'en tube citraté laissé au froid entre 24 et 72h (70). Néanmoins, jusqu'à 4 heures après le prélèvement, sans impact analytique, nous sommes en accord avec les recommandations du CLSI (33).

Ainsi, nous avons identifié des délais d'attente restreints sur l'ensemble des examens pour éviter tout impact analytique. Néanmoins, tout examen confondu, les variations analytiques observées au-delà des limites acceptables ne vont pas explicitement modifier la prise en charge médicale des patients.

En effet, aucun résultat rendu pour un examen en TP, INR ou taux de facteur V immédiatement après la centrifugation ou 14 heures après le prélèvement n'auraient eu un impact différent sur la prise en charge des patients. Ceci est également observé pour les mesures des taux de facteur VIII mais nous avons étudié uniquement des patients avec des taux strictement normaux pour ce paramètre.

Pour le TCA, tous les plasmas considérés comme normaux le sont restés : ratio TCA supérieur à 1,20. Les patients dont les résultats ont montré des discordances par rapport à ce seuil sont les suivants :

- Un plasma de patient traité par héparine : ratio de 1,2 à T0 diminué à 1.17 à T2 (conservation à température ambiante). Dans le contexte de traitement par

héparine, ce patient était hors zone thérapeutique dès la première mesure du TCA.

- Trois plasmas de patients traités par AVK, deux à 18°C et un à 4°C, avec un ratio inférieur à 1.20 à T0 étaient supérieurs à T8 et T4. Dans le contexte de traitement AVK et sans variation majeure, il n'y a pas d'impact sur leur prise en charge thérapeutique.

Les variations en taux de fibrinogène rencontrées à 4°C et 18°C sont inférieures à 1g/L sauf pour trois dosages à T8 et T12 et n'entraînent aucune différence d'interprétation. L'impact analytique identifié et constaté initialement est à mettre sur le compte d'une méthode de dosage très précise (SD faible) dont les performances dépassent les attentes des prescripteurs.

Devant l'absence d'impact clinique évident, il serait ainsi possible d'être moins restrictif d'un point de vue analytique. Cependant, la prise en compte de ces données restrictives permettra d'éviter un impact clinique immédiat dans l'éventualité de la survenue d'une perte de contrôle des activités en amont de la mise en sécurité des échantillons. En d'autres termes, ce travail répond à l'esprit de la norme 15189 qui demande une mise en place de mesures préventives sur la survenue d'événements préjudiciables concernant la prise en charge des patients.

2.5 Apport de l'étude de l'impact des délais d'attente et de la température de conservation des plasmas

Ce travail s'inscrit dans une démarche de réorganisation de la biologie médicale lyonnaise et à plus grande ampleur d'une restructuration générale de la biologie. En effet, comme le laboratoire d'hémostase de l'hôpital Edouard Herriot dans lequel a été conduite l'étude, certains sites analytiques se regroupent sur des plateaux techniques plus grands. Une de ces nouvelles structures est le site de biologie médicale installé au Centre de Biologie Est (CBE) à Lyon. Sur de tels sites, où sont acheminés un nombre considérable de prélèvements (>5000 dossiers/jours), il est indispensable de se préoccuper de la maîtrise des activités pré-analytiques (délai d'acheminement, procédure de prise en charge au laboratoire) mais aussi que celles post-analytiques. Il s'agit d'apporter des éléments de réponse en termes de gestion sur le plateau technique des échantillons sur les :

- Conditions de conservation
- Règles de délais d'attente acceptables pour une (ré)-analyse.

La nécessité de mettre au point cette étude d'impact de la température de conservation à 18°C des plasmas s'est posée du fait de la polyvalence du futur plateau technique du CBE qui regroupera l'hémostase et la cytologie. Les tubes EDTA peuvent être stockés entre 4°C et 25°C et une enceinte de stockage sera mise à disposition mais pour les deux disciplines. Il s'agit alors de choisir une température qui convient également aux tubes citratés de l'hémostase. Au regard de l'ensemble de nos résultats, et sans aucune évaluation publiée de cette température de conservation, ce travail valide l'utilisation d'une enceinte thermostatée à 18°C mutualisée avec le département d'hématologie cellulaire.

En ce qui concerne les ré-analyses, ce travail actuellement manuel est sous la responsabilité des techniciens. Prochainement, le logiciel de la chaîne pré-analytique du PTPP sera capable, en fonction de l'heure de prélèvement, de l'état du tube (urgent ou non) et des analyses demandées, de convoier efficacement les échantillons pour une ré-analyse. En ce sens, les règles décisionnelles définies au regard des résultats de cette étude seront implémentées dans ce logiciel. Les examens étudiés ici correspondent à la majeure partie des ajouts. En exemple, actuellement dans notre laboratoire, respectivement 35% et 18% de rajouts concernent le facteur V et TP.

La synthèse des délais acceptables en termes de (ré)-analyse par rapport à l'heure de prélèvement, représentant l'objectif ultime de ce travail, est présentée dans le tableau 47. Les délais sont établis pour une conservation à 18°C des plasmas centrifugés non décantés.

Pour le bilan de coagulation standard (TP, TCA et fibrinogène) sans notion de traitement anticoagulant, le délai d'attente le plus restrictif concerne le TCA. En adéquation avec les recommandations actuelles du CLSI et les données de l'étude autant du point de vue analytique que clinique, 4h après le prélèvement est un délai maximum acceptable de réalisation.

Concernant le suivi en INR des patients traités par AVK ainsi que la mesure des taux de facteur V, nous démontrons que ces examens ne sont pas impactés jusqu'à 14h après le prélèvement.

Le suivi des patients traités par héparine est une difficulté au laboratoire. Les recommandations du CLSI sont peu restrictives en post-analytique (4 heures de délais maximum) et ne concernent que les patients traités par HNF. Le délai est de plus identique à celui des patients non traités (4 heures de délais également). Au regard de nos résultats et de l'instabilité prouvée du TCA sous héparine, contrairement à ce qui est énoncé par le CLSI, aucun rajout ne peut être accepté pour ce test.

Enfin pour le facteur VIII, au regard de la cinétique de décroissance rapide de son taux, sans dérogation, la mesure ne peut être effectuée à posteriori. Cependant, en connaissance de la vitesse de décroissance du taux de facteur VIII, le biologiste pourra déroger, en connaissant le contexte clinique de la demande, jusqu'à 4 heures après le prélèvement. Si le taux est normal, il pourra exclure un déficit. Confronté à un taux bas, il sera contraint de redemander un prélèvement en sensibilisant le service prescripteur à la notion de maîtrise optimale de toutes les activités pré-analytiques.

Tableau 47 : Synthèse des délais acceptables de ré-analyse des plasmas conservés non-décantés en post-analytique à 18°C par rapport à l'heure de prélèvement

Bilan standard : TP- TCA- Fg sans notion de traitement anticoagulant	4 heures
INR de suivi de traitement par AVK	14 heures
TCA des patients traités par héparine (HNF + HBPM)	Pas de rajout
Taux de facteur V	14 heures
Taux de facteur VIII	Pas de rajout, sauf dérogations*

*< 4 heures pour une urgence avec demande impérative d'un nouveau prélèvement pour contrôle et validation des taux bas anormaux

Au final, cette étude expérimentale permet de fournir des éléments de maîtrise des risques post-analytiques de mise en sécurité des plasmas après une première analyse. D'autres études avec de nouveaux examens, des effectifs plus importants et/ou des patients en surdosage héparinique ou AVK pourront être inclus en complément.

D'ores et déjà, grâce à ces deux études expérimentales, nous posons de solide base pour une gestion maîtrisée des activités critiques pré-analytiques et post-analytiques pour la qualité du rendu des résultats d'examens réalisés en hémostase.

Partie 3 : Discussion autour de l'analyse de risques en hémostase au sein des Hospices civils de Lyon

Les laboratoires de biologie médicale français doivent être accrédités selon la norme internationale ISO 15189 sur l'ensemble des actes qu'ils réaliseront à l'horizon 2020. Cet objectif implique que les examens biologiques sont des actes médicaux de qualité sur lesquels le corps médical doit pouvoir s'appuyer en toute confiance pour une bonne prise en charge médicale de leurs patients. Sans remise en cause des fondements de la profession de biologiste médical, le label attribué par le COFRAC objective une compétence technique et managériale qui devient alors explicite et prouvée. Cette démarche réglementaire représente une charge de travail importante pour le laboratoire. Mais elle trouve pleinement sa place en termes d'aide à la formalisation d'une gestion optimale des laboratoires dans une ère où il s'agit d'utiliser au mieux les ressources au service d'une bonne prise en charge des patients.

Le cœur du métier du biologiste médical est de mettre à disposition des cliniciens des méthodes de réalisation d'examens parfaitement maîtrisées et validées au sens de la norme. A ce titre la norme demande une connaissance des méthodes au-delà des seules performances analytiques au regard du fait que le biologiste est responsable de toutes les phases du processus de réalisation. Les dossiers de validation de méthode doivent ainsi prouver que le biologiste a parfaitement identifié tous les points critiques de la phase pré analytique à la phase post analytique pouvant nuire à la sécurité analytique des résultats d'examens. En identifiant les points critiques sur l'ensemble du processus de réalisation, le biologiste peut prioriser les dispositions à mettre en place pour rendre pérenne un rendu de résultats d'examens de qualité. L'« approche processus » demandée par la norme identifie ainsi toutes les activités à valeur ajoutée. Associée à l'analyse de risque et à la hiérarchisation de la criticité de ces activités, cette démarche concourt à une gestion efficiente des laboratoires.

Une première approche par analyse des risques a été initiée par les unités d'hémostase des Hospices Civils de Lyon. Cette expérience a été possible au regard de la politique de la discipline d'uniformisation des systèmes analytiques dans un contexte de laboratoire unique en cours de restructuration. Il a ainsi été lancé une démarche d'harmonisation transversale des pratiques. Sans pouvoir s'appuyer sur des expériences équivalentes publiées en hémostase, cette démarche commune de validation des deux

examens courants dans l'esprit de la nouvelle version du SH GTA 04 a été réalisée par appropriation de la méthodologie AMDEC qui met en avant les analyses de bon sens d'appréciation de la criticité des activités. Pour ce faire, durant ce travail, nous avons mené notre analyse AMDEC selon les préconisations de la norme qui propose une gestion par « approche processus ». La discipline hémotase est ainsi parvenue, à terme, à une identification, quantification et hiérarchisation commune des risques inhérents à la production de leurs résultats d'examen de routine de la phase pré-analytique à la phase post-analytique. La méthodologie proposée par l'EP23 a été peu exploitée puisqu'elle aboutit à une analyse qualitative des risques insuffisante aux vues des attentes du COFRAC.

Dans la littérature, nous retrouvons des expériences équivalentes de mise en place de gestion par analyse des risques avec utilisation de la méthode AMDEC. Cependant il est difficile de discuter nos résultats au regard des domaines étrangers à la biologie médicale des publications qui ont été réalisées en radiologie et la pharmacie. Il est également difficile de discuter avec les résultats de l'analyse AMDEC décrite en bactériologie, discipline biologique très éloignée des spécificités de la famille COAGBM du COFRAC. Cependant, nous pouvons analyser comment chaque étude s'approprie la démarche.

Au début de notre étude, il a été difficile pour les participants d'adhérer à la méthode AMDEC où la quantification des risques reposant sur leur ressenti justifiait un sentiment de subjectivité de la méthode. Le caractère chronophage et la demande aux participants d'apprécier les activités sous l'angle restreint de la sécurité analytique des résultats d'examen nous a également exposé, au début de l'étude, à un certain scepticisme. Cependant, la pertinence de cette démarche initiale a été objectivée par la convergence des réponses entre les participants. Par ailleurs, au fur et à mesure des réunions, le nombre de participants, ainsi que leur motivation ont augmenté.

Par la suite, nous avons voulu aller au-delà de l'approche « *a priori* » potentiellement critiquable du fait du poids important de la grandeur « fréquence » des événements dans le calcul de la criticité des activités. Un travail complémentaire a donc été réalisé sur l'hôpital Edouard Herriot.

A l'aide d'une fiche de suivi de risques construite au regard des résultats de l'analyse des risques, il a été évalué sur 156 dossiers patients les fréquences réelles de survenue

des évènements correspondants aux risques identifiés par la méthodologie AMDEC et l'utilisation du principe de Pareto. Les fréquences mesurées ont été trouvées comparables à celles exprimées par les participants *a priori*. Il a été objectivé encore une fois le poids important de l'activité de conservation pré analytique des prélèvements pour une demande de TCA de suivi de traitement par héparine (criticité à 500 vs 250 *a priori*) ainsi que celui de l'activité d'acheminement au laboratoire de ces mêmes échantillons (criticité à 390 vs 250 *a priori*). Ainsi, comme le souligne la méthodologie AMDEC, la connaissance intime du processus par les participants garantit la pertinence des résultats de l'analyse de risques. Nous n'avons par ailleurs pas pu comparer les fréquences réelles observées à HEH avec les études publiées puisque notre analyse exhaustive a permis d'identifier et d'évaluer 24 points critiques contre seulement 4 à 5 dans les études (37,38). Les fréquences d'apparition des risques ne sont donc pas comparables.

La discussion peut porter également sur le choix de l'échelle de quantification de chaque item en termes de gravité, fréquence et détectabilité. L'utilisation d'un nombre pair de niveaux d'évaluation a été judicieusement choisie en radiologie afin de forcer les participants à prendre partie soit dans les valeurs hautes, soit dans les valeurs basses de l'échelle. Au regard d'une toute première expérience où les participants avaient des difficultés à choisir, nous leur avons facilité la tâche en réduisant l'échelle de cotation à un nombre impair. Ce choix n'a apparemment pas été pénalisant au regard de la superposition des résultats entre l'étude *a priori* et l'expérience factuelle réalisée sur l'hôpital Edouard Herriot.

Par ailleurs, du fait d'échelles de cotation spécifiques à chaque travail, nous ne pouvons comparer les IPR calculés entre les études. Cependant, il faut rappeler que ce n'est pas la valeur brute de l'IPR qui est intéressante mais bien la hiérarchisation des modes de défaillance des activités spécifiques à chaque discipline. Dans l'esprit d'une démarche d'amélioration continue, il s'agira de suivre l'évolution de la criticité du processus de réalisation en utilisant la même échelle de cotation.

Dans ce travail pilote, la question du seuil identifiant les risques à traiter à priorité a été sujette à de nombreuses discussions au sein des participants. Le guide propose de travailler sur un seuil variable fixé à 10% du seuil du mode de défaillance le plus critique. L'utilisation du principe de Pareto a permis de donner de la valeur ajoutée

à notre analyse AMDEC pour donner un caractère non subjectif à notre hiérarchisation des risques à traiter en première intention. Nous posons ainsi la règle de traiter en premier lieu les risques qui apparaissent à chaque révision de la criticité dans la liste des 20 % des risques les plus critiques. Notre choix se justifie également par la politique d'un seul et unique SMQ respectant les attentes de l'ensemble des disciplines et des processus support où un seuil arbitraire pouvait ne pas convenir à toutes les disciplines. Ce choix d'un seuil variable n'a pas été utilisé dans les autres analyses de risques en pharmacie ou en radiologie où il a été préféré à des seuils fixes. La méthodologie AMDEC indique bien par ailleurs que le choix du seuil de priorisation doit être laissé à l'appréciation des participants selon leur perception et au regard des contraintes de leur environnement.

Ce travail d'analyse de risques au sein du laboratoire multi-sites d'hémostase des HCL a suscité de nombreuses discussions impliquant l'ensemble de son personnel mais également des intervenants extérieurs. Le bon sens collégial a conduit les participants à bien reconsidérer que les examens automatisés TP/TCA sont analytiquement robustes. Les participants ont ainsi logiquement donné peu de poids à la phase post analytique en termes de criticité notamment au regard de la relative facilité d'interprétation des résultats de ces examens courants. Cette approche est donc implicitement très utile pour ré-identifier ce qu'il est important de maîtriser dans un laboratoire en termes d'activités sur lesquelles il s'agit d'affecter des ressources qui ne sont pas illimitées. A ce titre, cette approche apporte potentiellement une aide considérable en identifiant les activités sur lesquelles il faut plus particulièrement être vigilant sur les parcours de formation, qualification et habilitation des personnes.

Par ailleurs, comme cela est décrit dans la littérature, nous retrouvons la phase pré analytique comme la plus critique du processus de réalisation des examens (27). Nous objectivons ainsi que dans le cadre d'une réduction du nombre de plateaux techniques l'activité acheminement des prélèvements devient très critique et doit nécessiter des moyens suffisamment dimensionnés par rapport à cette criticité prouvée.

Ce travail préliminaire d'analyse de risques en hémostase est cependant amené à évoluer. La finalité de la démarche est de bâtir un plan d'action unique de réduction de la criticités des activités. L'analyse de risques, réalisée à un moment donné, doit donc être périodiquement réévaluée pour prendre en compte les améliorations apportées par

les dispositions mises en place à l'issue du premier plan d'action. Notre analyse très exhaustive du processus de réalisation avec identification des risques les plus critiques nous a permis de compléter les SH FORM 43 de la partie maîtrise des risques pour les analyses TP/TCA à accréditer pour 2016. Néanmoins, au vu de cette liste de 39 risques identifiés, maîtrisés ou partiellement maîtrisés, il sera important de revoir les risques pertinents à laisser dans l'analyse de risques globale pour éventuellement en réduire le nombre et en faciliter l'analyse régulière. Enfin, l'activité « formation, qualification et habilitation des personnes aux activités critiques » devra apparaître comme une activité critique en soi à la révision de l'analyse globale.

Les données de sortie pratiques de cette analyse des risques ont été l'identification et l'évaluation de dispositions permettant de répondre aux problèmes de mise en sécurité des échantillons en termes d'acheminement et de conservation des prélèvements en phase pré-analytique et post analytique lors de la ré analyse.

Dans l'environnement spécifique du LBMMS nous avons mené des études expérimentales documentant l'intérêt des tubes CTAD pour une conservation en sang total. Nous avons ensuite réévalué les délais acceptables de conservation des plasmas à différentes températures. Les résultats de ces études ont permis de poser une réflexion autour de la gestion des prélèvements sur les plateaux techniques dont le paramétrage des chaînes pré analytiques et amont dès leur prélèvement dans les services de soins pour le suivi des traitements par héparine. Nous avons apporté, par ces études, des réponses concrètes à des problèmes identifiés par l'analyse de risques et pour lesquels les données de la littérature n'apportaient pas de réponse univoque. Des dispositions ont été proposées au regard des trois niveaux d'approche qui font les spécificités du métier de biologiste médical. En effet, d'une approche initiale statistique, nous sommes passés à une étude d'impact analytique sur les résultats pour enfin implémenter la dimension clinique de l'impact des dispositions proposées.

Conclusion

THÈSE SOUTENUE PAR : Mlle JOUSSELME Emilie

La biologie médicale, indispensable à la prise en charge des patients, produit des actes médicaux nécessaires au diagnostic et au suivi des patients. La qualité analytique des résultats d'examen est garantie par l'accréditation obligatoire des laboratoires par le COFRAC (Comité français d'accréditation) selon la norme ISO 15189. En l'occurrence, pour accréditer les examens, les dossiers de validation de méthodes doivent impérativement intégrer une identification des risques liés aux activités nécessaires à l'ensemble du processus de réalisation non seulement de la phase analytique mais également de la phase pré analytique et post analytique. Cette démarche d'analyse des risques a été menée dans le cadre de la validation de méthode des examens TP (Taux de Prothrombine) et TCA (Temps de Céphaline avec Activateur) que la discipline Hémostase engage pour l'accréditation à 50% du laboratoire unique des Hospices Civils de Lyon en 2016.

L'analyse de risques collégiale réalisée à l'aide de la méthodologie AMDEC (Analyse des Modes de Défaillance, de leurs Effets et de leur Criticité) identifie 132 risques dont 39 ont été identifiés comme majeurs en termes de criticité. Ils sont présentés dans les SH FORM 43 de validation de méthode du TP et du TCA. Tous les risques ont été quantifiés puis hiérarchisés. L'exploitation des données souligne que la phase pré-analytique est la phase la plus critique du processus de réalisation. C'est dans cette phase qu'ont été recensés les risques à la criticité la plus élevée.

Au regard des risques majeurs identifiés sur chaque phase, des dispositions ont été proposées et évaluées à l'aide d'études expérimentales pour réduire la criticité des activités correspondantes. Nous avons documenté l'intérêt que peut représenter l'utilisation des tubes CTAD (Citrates, Théophylline, Adénosine, Dipyridamole) pour les activités d'acheminement et de conservation des prélèvements en sang total lors de la phase pré-analytique. Nous avons également évalué l'impact de différentes modalités de

conservation des tubes non décantés en termes de durée et de température en phase post analytique. Nous avons ainsi pu déterminer une température de conservation optimale des plasmas non décantés ainsi que des délais de (ré)-analyse acceptables pour cinq analyses d'hémostase de la famille COAGBM du COFRAC et ceci selon différents profils thérapeutiques ou pathologiques. Toutes les interprétations des résultats ont été menées au regard de l'existence d'un impact analytique mais également clinique. Ces études clinico-biologiques ont permis d'avancer des propositions techniques et organisationnelles en vue d'une gestion optimale des prélèvements sur les futurs plateaux techniques automatisés.

En conclusion, notre travail, reposant sur l'analyse des liens étroits entre les concepts de processus et de gestion des risques, illustre que la démarche de mise en conformité avec la norme ISO 15189 permet aux laboratoires de répondre aux enjeux de la biologie médicale en France en préservant la dimension médicale de l'activité. L'analyse de risques trouve pleinement sa place en termes d'aide à la formalisation d'une gestion optimale des laboratoires dans une ère où il s'agit d'utiliser au mieux les ressources au service d'une bonne prise en charge médicale des patients.

Le président du jury
(Nom et Signature) Christine Vinciguerra



Vu et permis d'imprimer – Lyon le ...8...12...15
Vu, la Directrice de l'ISPB
Faculté de pharmacie de Lyon
Pour le Président de l'Université Claude Bernard



Professeur Christine VINCIGUERRA

Bibliographie

1. Loi n° 2013-442 du 30 mai 2013 portant sur la réforme de la biologie médicale. 30 mai 2013.
2. AFNOR. Norme ISO 15189 : 2012. Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la qualité et la compétence. AFNOR ; 2012.
3. COFRAC. SH REF 02. Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicales selon la norme ISO 15189 : 2007. Révision 03. COFRAC ; 2013.
4. Giddens A. Les conséquences de la modernité. Paris : Harmattan; 1994.
5. AFNOR. Fascicule de documentation X50-117. Management de projet - Gestion du risque : management des risques d'un projet. AFNOR ; 2003.
6. Magne L. Risque : De quoi parle-t-on vraiment quand on utilise ce terme en management et sciences de gestion. Rapport de recherche. Paris ; 2015.
7. Magne L. Histoire sémantique du risque et de ses corrélats : suivre le fil d'Ariane étymologique et historique d'un mot clé du management contemporain. Rapport de recherche. Paris ; 2015.
8. Ministère des Affaires sociales, de la Santé et des Droits des femmes. Biologie médicale. <http://www.sante.gouv.fr/biologie-medicale.html> (consulté le 07.04.15).
9. Article L6211-1 du Code de la santé publique.
10. Article L6211-7 du Code de la santé publique.
11. Article L6211-2 du Code de la santé publique.
12. Article L6221-1 du Code de la santé publique.
13. Club des biologistes (2013 ; Lyon). L'évolution de la perception de la qualité. F. Sobas, M. Frétigny, Y. Peruccheti.

14. COFRAC. SH GTA 04 : Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) ou de validation (portée B) des méthodes de biologies médicales. Révision 01. COFRAC ; 2015.
15. COFRAC. SH FORM 043 : Fiche type de Vérification (portée A) / Validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale. Révision 02. COFRAC ; 2015.
16. OBP. ISO / CEI. Guide 51 : 2014 (fr). <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-iec:guide:51:ed-3:v1:fr> (consulté le 23 mars 2015).
17. Landy G. AMDEC - Guide pratique. 3ème édition. AFNOR ; 2011.
18. CLSI. EP23-A : Laboratory Quality controlled based on risk management; approved guideline. Clin Lab Stand Inst. CLSI document EP23-A. 2011;31(18).
19. Person NB. Developing risk-based Quality Control Plans: an overview of CLSI-EP23-A. Clin Lab Med. 2013;33:15-21.
20. CLSI. Workbook EP23-A-WB: A practical guide for laboratory Quality controlled based on risk management. Clin Lab Stand Inst. CLSI document EP23-A.
21. Lacour C. Validation de méthodes du TPHA et VDRL dans le diagnostic de la syphilis au laboratoire de bactériologie de l'hôpital de la croix rousse. Thèse d'exercice : Pharmacie : Lyon 1 ; 2013.
22. Joly L. La gestion des risques en pratique : Application d'une méthode AMDEC sur le circuit des dispositifs médicaux en dépôt et à l'essai au CHU de Nantes. Thèse d'exercice : Pharmacie : Nantes ; 2011.
23. Meyrieux C et al. Analyse des risques a priori du processus de prise en charge des patients en radiothérapie : exemple d'utilisation de la méthode Amdec. Cancer/ Radiothérapie. 2012;(16):613-8.
24. Kitchen S, Olson JD, Preston E. Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis. Wiley-Blackwell; 2009.
25. La direction de la Sécurité sociale. Rapport de la commission des comptes de la sécurité sociale - Résultats 2013 et prévisions 2014. 2014.

26. Cour des comptes - Sécurité sociale. Chapitre XIII - Les dépenses de biologie médicale. Paris ; 2013.
27. Plebani M. Exploring the iceberg of errors in laboratory medicine. *Clin Chim Acta*. 2009;404(1):16-23.
28. O' Kane M. The reporting, classification and grading of quality failures in the medical laboratory. *Clin Chim Acta*. 2009;404(1):28-31.
29. Bonini P et al. Errors in laboratory medicine. *Clin Chem*. 2002;48(5):691-8.
30. Da Rin G. Pre-analytical workstations: a tool for reducing laboratory errors. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2009;404(1):68-74.
31. Lippi G et al. Preanalytical quality improvement: from dream to reality. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49(7):1113-26.
32. GEHT. Tableau de synthèse des recommandations pré-analytiques 2015. http://site.geht.org/UserFiles/file/tableau_synthese_GEHT2015.pdf (consulté le 27.10.15)
33. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline—Fifth Edition. CLSI document H21-A5. *Clin Lab Stand Inst*. 2008;28(5).
34. GEHT. Tableau de synthèse des recommandations pré-analytiques 2007. http://site.geht.org/site/Pratiques-Professionnelles/Documents-GEHT/Variables-Preanalytiques/Recommandations-Variables-preanalytiques_69_722.html (consulté le 07.01.15)
35. Arora S, Kolte S, Dhupia J. Hemolyzed Samples Should be Processed for Coagulation Studies: The Study of Hemolysis Effects on Coagulation Parameters. *Ann Med Health Sci Res*. 2014;4(2):233-7.
36. Laga AC, Cheves TA, Sweeney JD. The Effect of Specimen Hemolysis on Coagulation Test Results. *Am J Clin Pathol*. 2006;126(5):748-55.

37. Salvagno GL et al. Prevalence and type of pre-analytical problems for inpatients samples in coagulation laboratory. *J Eval Clin Pract.* 2008;14(2):351-3.
38. Romero A et al. Identification of preanalytical mistakes in the stat section of the clinical laboratory. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43(9):974-5.
39. Favalaro EJ et al. Pre-analytical Variables in Coagulation Testing Associated With Diagnostic Errors in Hemostasis. *Lab Med.* 2012;43(2):1-10.
40. Feng L et al. Z. Effects of storage time and temperature on coagulation tests and factors in fresh plasma. *Sci Rep.* 2014;4:3868.
41. Zhao Y, Lv G. Influence of temperature and storage duration on measurement of activated partial thromboplastin time, D-dimers, fibrinogen, prothrombin time and thrombin time, in citrate-anticoagulated whole blood specimens. *Int J Lab Hematol.* 2013;35(5):566-70.
42. Rao LV, Okorodudu AO, Petersen JR, Elghetany MT. Stability of prothrombin time and activated partial thromboplastin time tests under different storage conditions. *Clin Chim Acta.* 2000;300(1-2):13-21.
43. Adcock D, Kressin D, Marlar RA. The effect of time and temperature variables on routine coagulation tests. *Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb.* 1998;9(6):463-70.
44. Saghir et al. Optimization of the storage conditions for coagulation screening tests. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2012;22:294-7.
45. Van Geest-Daalderop JHH et al. 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. *Clin Chem.* 2005;51(3):561-8.
46. Décret n° 2015-205 du 23 février 2015 relatif aux modalités de dépôt des demandes d'accréditation des laboratoires de biologie médicale prévues en application du I de l'article 7 de l'ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale. *J.O.F.R. Loi et décrets ; 25 février 2015 : 3354.*


47. COFRAC. SH-INF-50. Portées -Types d'accréditation. Révision 01. COFRAC ; 2013.
48. ANSM. Les anticoagulants en France en 2012 : Etat des lieux et surveillance. https://www.google.fr/search?q=rapport+ansm+2012+anticoagulant&ie=utf-8&oe=utf-8&gws_rd=cr&ei=8VCtVeT8IoGOU6qiv_AN (consulté le 20.06.15).
49. Douxfils J et al. Measurement of non-VKA oral anticoagulants versus classic ones: the appropriate use of hemostasis assays. *Thromb J.* 2014;12(1):24.
50. Toulon P, Abecassis L, Smahi M, Ternisien C. Monitoring treatments with unfractionated heparin: CTAD must be used instead of citrate as the anticoagulant solution when using partial-draw collection tubes. Results of a multicenter evaluation. *Thromb Res.* 2010;126(6):536-42.
51. Gruel Y, Pouplard C. Physiopathologie des thrombopénies et des thromboses induites par les héparines. *Hématologie.* 2002;8(4):241-52.
52. Levine SP, Sorenson RR, Harris MA, Knieriem LK. The effect of platelet factor 4 (PF4) on assays of plasma heparin. *Br J Haematol.* 1984;57(4):585-96.
53. Van den Besselaar P et al. Monitoring heparin therapy by the activated partial thromboplastin time--the effect of pre-analytical conditions. *Thromb Haemost. avr* 1987;57(2):226-31.
54. Contant G, Gouault-Heilmann M, Martinoli JL. Heparin inactivation during blood storage: its prevention by blood collection in citric acid, theophylline, adenosine, dipyridamole-C.T.A.D. mixture. *Thromb Res.* 1983;31(2):365-74.
55. Muller B, Komaz N, Lugnier C. Les phosphodiesterases des nucléotides cycliques. *Med Sci.* 1993;9(12):1335-41.
56. Yokota M et al. CTAD as a universal anticoagulant. *J Autom Methods Manag Chem.* 2003;25(1):17-20.
57. Le portail des ministères économiques et financiers. Vilfredo Pareto. <http://www.economie.gouv.fr/facileco/vilfredo-pareto> (consulté le 28.07.15).

58. Polytech'Marseille. Diagramme de Pareto .http://gii.polytech.up.univ-mrs.fr/deuterium/page_guide.php?num_page=42 (consulté le 28.07.15).
59. BD Diagnostics Preanalytical systems. Fiche Technique : Tubes BD Vacutainer avec solution CTAD avec bouchon sécurité BD Hémogard 367562 - 367599. 2009.
60. COFRAC. SH-GTA-01- Guide Technique d'Accréditation en biologie médicale. Révision 01. COFRAC ; 2015.
61. LBMMS Hémostase. MU-PostA-DE-002-02 : LBMMS Hémostase - Valeurs de référence. 2015.
62. Cordier B et al. Le délai entre prélèvement sanguin et centrifugation: source d'erreur lors de la surveillance biologique d'un traitement par l'héparine. *Rev Médecine Interne*. 1991;12(6, Suppl 1):S442.
63. Werfen. Notice technique : Hemosil® Liquid anti-Xa. Référence 0020302600. <http://www.werfen-accred.fr/index.php/hemostase/famille-acl-top/2-verification-des-methodes/informations-techniques-reactifs/notices-techniques/download/135/238/15> (consulté le 01.08.15).
64. GEHT. Héparine, dérivés hépariniques et antagonistes de la vitamine K. Maniement, surveillance biologique et gestion des complications. http://site.geht.org/UserFiles/file/Enseignement/Traitements_anticoagulants_heparines_AVK.pdf (consulté le 10.07.15).
65. Mouton C, Calderon J, Janvier G, Vergnes M-C. Dextran sulfate included in factor Xa assay reagent overestimates heparin activity in patients after heparin reversal by protamine. *Thromb Res*. 2003;111(4-5):273-9.
66. LBMMS HCL. Catalogue Biobook des actes de biologie des HCL. 2014.
67. Mitropoulos KA. Activation of factors XII and VII induced in citrated plasma in the presence of contact surface. *Thromb Res*. 1995;78(5):67-75.
68. Duga S, Asselta R, Tenchini ML. Coagulation factor V. *Int J Biochem Cell Biol*. 2004;36(8):1393-9.

69. Wang W, Wang YJ, Kelner DN. Coagulation factor VIII: structure and stability. *Int J Pharm.* 2003;259(1-2):1-15.
70. Michaud M. Cryoglobulinémie avec ou sans cryofibrinogénémie : des phénotypes différents ? Étude rétrospective au CHU de Toulouse. Thèse d'exercice : Médecine : Toulouse III ; 2013.

Annexes

Annexe 1 : Extrait du SH FORM 043 de juillet 2015 pour la validation de méthode du TCA sur un ACL TOP 700 CTS à HEH


 Hospices Civils de Lyon	Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale	GROUPEMENT HOSPITALIER EDOUARD HERRIOT LABORATOIRE HEMATOLOGIE
--	---	--

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)				
5M	Points critiques	Echelle de criticité ³	Éléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire


Selon la méthodologie présentée en annexe MU-ANA-DE-025 sur la maîtrise des risques TP/TCA du LBMMS Hémostase des HCL, les risques les plus critiques sont présentés dans le tableau ci-après. Il s'agit de risques dont la criticité a été évaluée supérieure ou égale à 37,5 et sur lesquels un plan d'action a été établi. Les autres risques pour chaque sous-processus pré-analytique, analytique et post-analytique sont présentés dans l'annexe avec leurs criticités respectives.

	Activités (Etapas selon AFNOR)	5 M	Points critiques à maîtrisés : risques associés	Criticité	Éléments à maîtriser	Moyens de maîtrise	
PHASE PRE-ANALYTIQUE	Prescription						
	Remplissage bons (unités de soin)	Main d'œuvre	Date et/ou heure non renseignées	50	Formation et information du personnel clinique (préleveurs ++)	LBMMS Manuel de prélèvement MU-PréA-PG-003-02	
			Date et/ou heure mal renseignées	125			
			Traitements, données cliniques mal renseignés	50			
			Analyses mal renseignées	50			
	Enregistrement des demandes (labo)	Main d'œuvre	Non-respect prescriptions : Traitements, données cliniques	50	Formation et information du personnel du laboratoire	LBMMS Procédure de gestion des demandes et des échantillons MU-PréA-PG-007-02	
			Prescription inadaptée	37,5			Dialogue avec les cliniciens
	Prestation de conseil pré ana biologiste permanence médicale						
	Prélèvement						
	Identitovigilance	Méthode	Bon et tubes étiquetés au mauvais patient	50	Formation et information du personnel (clinique et laboratoire) - Suivi des procédures.	Catalogue easily biobook des examens LBMMS Manuel de prélèvement MU-PréA-PG-003-02	
RTE/laboratoire : erreur d'identité au re-étiquetage			50				
Recueil de l'échantillon	Main d'œuvre	Prélèvement difficile - Garrot trop prolongé	250	Formation préleveurs - Contrôle à la réception du prélèvement - Contrôle lors de l'analyse des tubes.	Catalogue easily biobook des examens LBMMS Procédure de gestion des demandes et des échantillons MU-PréA-PG-007-02		
		Patient non à jeun, perfusion d'intralipides	112,5				
		Tube citraté souillé par de l'héparine (Mauvais ordre / Transfert de tube)	125				

³ A préciser par le laboratoire, par exemple 1 non critique – 5 très critique ;

 Hospices Civils de Lyon	Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale	GROUPEMENT HOSPITALIER EDOUARD HERRIOT
		LABORATOIRE HEMATOLOGIE

	Matière	Tube hémolysé induit par l'agitation du tube	125		Revue de la littérature : Pré-analytique en hémostase MU-PréA-DE-023-02
		Tube coagulé	250		
		Tube mal rempli	125		
		Tube périmé	50		
Transport					
Acheminement au laboratoire	Milieu	> 2 h pour le TCA simple et 24h pour le TQ	125	Formation et information préleveurs - Gestion logistique.	Contrat société RAC Catalogue easily biobook des examens LBMMS Procédure d'acheminement des prélèvements au RTE : MU-PréA-PG-004-01 LBMMS Procédure de transmission des échantillons : MU-PréA-PG-005-01
		> 1 h pour le TCA de suivi TT héparine	250		
		Température d'acheminement non maîtrisée	125		
		Conservation au réfrigérateur des tubes primaires	50		
	Méthode	Délai non respecté pour des échantillons prétraités	50	Information des laboratoires extérieurs - Gestion logistique.	
	Etapes de prétraitement mal faites (double centrifugation / congélation)	50	Hémostase : Délais maximum avant réalisation des examens MU-PréA-MT-005-01		
Mise en sécurité de l'échantillon					
Centrifugation Congélation	Méthode	Température : Trop haute	50	Maîtrise des équipements et des procédures. Maintenance et suivi régulier.	LBMMS Procédure de pré traitement et conservation des échantillons MU-PréA-PG-002-01 RTE : Liste programmes centrifugation MU-PréA-DE-028-03
		Plasma de mauvaise qualité	50		
Conservation pré analytique échantillons	Milieu	> 4 h pour le TQ et le TCA simple	125	Formation et information du personnel du laboratoire.	Hémostase : Délais maximum avant réalisation des examens MU-PréA-MT-005-01
		> 1 h pour le TCA de suivi TT héparine	250		
		Température environnement travail non maîtrisée	50		
Non conformités pré-analytique					
Traçabilité des non conformités	Méthode	Absence : Pas d'amélioration possible	37,5	Amélioration du SMQ	LBMMS : Gestion des non conformités des réclamations et des actions d'amélioration MU-SMQ-PG-01-003 LBMMS : Saisie des non conformités et réclamations dans Kallab MU-SMQ-IT-002-02
Documentation					
Rédaction / Gestion des documents	Méthode	Absence de formalisation / documents non à jour	125	Amélioration du SMQ	LBMMS : Procédure de gestion documentaire MU-INFO-PG-001-03

 Hospices Civils de Lyon	Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale	GROUPEMENT HOSPITALIER EDOUARD HERRIOT LABORATOIRE HEMATOLOGIE
--	---	--

	Divers					
	Contrat avec transporteurs échantillons	Méthode	Absents / non validés	75	Amélioration du SMQ	Contrat avec société RAC
PHASE ANALYTIQUE	Automates					
	Suivi qualification	Matériel	Pannes automate - Fluidique/optique	50	Maîtrise des équipements et des procédures. Maintenance et suivi régulier.	LBMS Procédure de commande installation réception gestion du matériel biomédical et des prestations MU-ACHAT-PG-010-01
	Réactifs, consommables, CIQ					
	Gestion matériel	Milieu	Problèmes de conservation	50	Respect des conditions données par le fournisseur - Suivi métrologique.	ACL TOP : Reconstitution Conservation des réactifs CIQ calibrateurs consommables MU-ACHAT-IT-027-01
	Utilisation des réactifs (TCA) prêts à l'emploi	Méthode	Mauvaise utilisation du réactif (TCA) prêt à l'emploi	50	Formation et information du personnel du laboratoire - Métrologie et respect des procédures.	ACL TOP : Reconstitution Conservation des réactifs CIQ calibrateurs consommables MU-ACHAT-IT-027-01
	Utilisation des réactifs préparés de façon extemporanée (TP et CIQ)		Mauvaise reconstitution des Réactifs (TP) (préparation extemporanée)	50		
	Libération technique des résultats					
		Méthode	Mauvaise utilisation de PGP	50	Formation du personnel du laboratoire - Suivi des procédures.	LBMS Hémostase Gestion des analyses en échec sur les ACL TOP MU-ANA-IT-034-01
			Mauvais interprétation des codes erreurs	50		
			Matière	Prélèvement coagulé		
	Tube citraté mal rempli			125		
		Présence de bulles	50			
Divers						
	Identitovigilance : prélèvement sans code-barres	Matière	Erreur d'identification manuelle de la demande sur l'automate	50	Formation et information du personnel du laboratoire	Qualification Werfen à l'utilisation de l'automate Parcours de formation qualification habilitation au poste ACL TOP

Annexe 3 : Lettre du CPP (Comité de protection des personnes) Sud-Est autorisant l'étude sur la phase pré-analytique d'évaluation des tubes CTAD

Comité de Protection des Personnes
SUD-EST IV

Centre Léon Bérard - 28 rue Laennec - 69373 LYON CEDEX 08

Président : Dr. David PEROI.
Vice-président : Mme Pascale CHIFFE-COSTANZO
Secrétaire général : Dr. Daniel ESPINOUSE

Docteur Marie-Odile GEAY-BAILLAT
Laboratoire d'Hématologie
Centre de Biologie Lyon Sud
165 chemin du Grand Revoyet
69495 PIERRE BENITE

N/Réf. : L15-71
Objet : Demande d'avis

Lyon, le 29 avril 2015

Madame,

Le Comité a reçu le 20 avril 2015 votre demande relative au projet de recherche intitulé "*Evaluation des tubes CTAD dans le cadre du suivi du traitement par héparine en comparaison avec les tubes citratés habituellement utilisés aux HCL*".

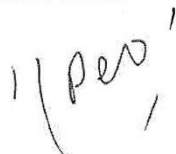
C'est une étude monocentrique, prospective, dont l'objectif principal est de comparer les résultats obtenus sur des tubes CTAD et des tubes citratés de patients sous héparine. Il s'agit de prélever deux tubes supplémentaires (un CTAD de 2.7ml et un tube citrate de 5ml) lors d'un prélèvement sanguin pour des analyses d'hémostase chez 40 patients traités par héparine, suivis à Lyon Sud dans le service de Réanimation. Les patients sont informés et signent un consentement.

Le Comité a examiné cette demande au cours de sa séance du 28 avril 2015. Au vu des informations fournies, il considère que cette recherche est non interventionnelle et ne nécessite pas l'avis d'un CPP pour être conduite en France.

Cet avis n'est que consultatif et n'a donc pas de valeur légale.

Membres présents à la séance : Dr. D. ESPINOUSE, Dr. D. PEROL, Dr. P. CONY-MAKHOUL, Mme N. FALETTE, Mme R. MARAVAL-GAGET (Cat. 1) ; Dr. M. LE GAL (Cat. 2) ; Mme C. KAPITZ (Cat. 5) ; Mme S. GANDREAU (Cat. 8) ; Dr. D. AZOULAY (Cat.9).

Le Président de séance,
Dr. David PEROL



Secrétariat : Odette MARITAZ

☎ 04 78 78 27 61 - ☎ 04 78 78 28 58 - E-mail : odette.maritaz@lyon.unicancer.fr

Annexe 4 : Lettre de la CNIL (Commission nationale de l'Informatique et des Libertés) autorisant l'étude sur la phase pré-analytique d'évaluation des tubes CTAD

CNIL



Hôpitaux de Lyon

Extrait du Registre des traitements HCL

Traitement N° 15-026	Etude CTAD Etude comparative de deux types de tubes d'hémostase pour le suivi du traitement des patients sous héparine.	
Type de formalité (renseigné par le CIL)	Inscription au registre	
Date de mise en oeuvre	Avril 2015	
Finalité principale	Montrer l'intérêt de l'utilisation des tubes CTAD en termes de rendu de résultats, par comparaison avec les tubes citratés encore largement utilisés aux HCL et pour lesquels les délais d'acheminement plus court sont difficiles à respecter. Ces tubes présentent un intérêt tout particulier dans le cadre du suivi des traitements par héparine.	
Détail des finalités du traitement	Comparaison des résultats rendus entre les tubes CTAD et les tubes citratés concernant les analyses suivantes : TP, TCA, Fibrinogène, facteur V, facteur VIII et héparinémie.	
Service chargé de la mise en oeuvre	Laboratoire d'Hématologie du centre de biologie Sud	
Fonction de la personne ou du service auprès duquel s'exerce le droit d'accès	Dr Marie-Odile Geay-Baillat	
Catégories de personnes concernées par le traitement, origine (HCL,...)	Patients hospitalisés à l'hôpital Lyon Sud (service de Réanimation) et suivi pour un traitement par héparine.	
Données traitées	Catégories de données traitées	Détails des données traitées
	Données cliniques :	Symptomatologie, résultats de bilans biologiques, traitements anticoagulants
Destinataires ou Catégories de destinataires	Catégories de destinataires	Données concernées
	Personnels (Biologistes, Internes) rattachés au service chargé de la mise en oeuvre.	Ensemble des données
Mesures de sécurité	Traitement des données après anonymisation.	
Durée de conservation (étude et archivage)	10 ans	
Création / Mise à jour (date, objet) <small>(Renseigné par le CIL)</small>	Création : 7/5/2015 Mise à jour :	

L'ISPB - Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1 n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses : ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

JOUSSELME Emilie

Analyse de risques sur le processus de réalisation d'examens en biologie médicale et étude de dispositions répondant à ces risques : application en Hémostase à la mesure du Taux de Prothrombine et du Temps de Céphaline avec Activateur.

Th. D. Pharm, Lyon 1, 2016, 177p.

RÉSUMÉ

Dans le cadre de l'accréditation à 50% des actes de biologie médicale pour 2016, le laboratoire d'hémostase multi-sites des HCL (Hospices Civils de Lyon) propose les examens TP (Taux de Prothrombine) et TCA (Temps de Céphaline avec Activateur). Outre une analyse des performances analytiques des méthodes, la dimension managériale de la maîtrise des risques doit être abordée à l'aide d'une analyse de risques exhaustive du processus de réalisation d'un examen. Cette dimension inscrite dans la norme ISO 15189 version 2012 est renforcée par la nouvelle version du SH GTA 04 d'avril 2015 du COFRAC (Comité français d'accréditation) qui propose la méthodologie AMDEC (Analyse des Modes de Défaillance, de leurs Effets et de leur criticité) pour une identification, quantification et hiérarchisation des risques.

Ce travail décrit l'analyse de risques complète et collégiale réalisée sur les processus pré-analytique, analytique et post-analytique. La finalité est d'aboutir à l'élaboration d'un plan d'action ayant pour objectif de réduire la criticité des activités identifiées comme critiques. En complément de cette réflexion théorique autour de la gestion des risques, nous avons mis en œuvre des études expérimentales pratiques pour affiner le choix des dispositions à prendre. Nous avons documenté l'intérêt des tubes CTAD (Citrates, Théophylline, Adénosine, Dipyridamole) pour une conservation en sang total des échantillons des patients traités par Héparine Non Fractionnée (HNF). Nous avons ensuite réévalué les délais acceptables de conservation de plasmas à différentes températures.

Ce travail préliminaire d'analyse de risques en hémostase a été implicitement très utile pour (ré)-identifier ce qu'il est important de maîtriser notamment en phase pré-analytique. En termes d'activités, il a permis de (ré)-identifier les activités sur lesquelles il s'agit d'affecter des ressources. Au final, cette approche par analyse de risques permet aux laboratoires de répondre aux enjeux de la biologie médicale en France en préservant la dimension médicale de l'activité.

MOTS CLÉS

Norme 15189 version 2012
Analyse de risques
Hémostase
CTAD
Conditions de conservation

JURY

Mme le Professeur VINCIGUERRA Christine, PU – PH
M. le Professeur NEGRIER Claude, PU – PH
M. le Docteur SOBAS Frédéric, PH
M. le Docteur NOUGIER Christophe, PH
Mme le Docteur GEAY-BAILLAT Marie-Odile, AS-CHU

DATE DE SOUTENANCE

Mercredi 20 Janvier 2016

ADRESSE DE L'AUTEUR

269 rue de Créqui – 69003 LYON