

HEMATOLOGIE ET HEMOSTASE

HEMATOLOGIE

Groupage sanguin ABO-RH1 (RhD)

Lucienne MANNESSIER. EFS Nord de France. Site de Lille.

Détermination des autres antigènes érythrocytaires (phénotypage étendu)

Lucienne MANNESSIER. EFS Nord de France. Site de Lille.

Biopsie médullaire

Jean-Marie GIRARDEL CH BELFORT-MONTBELIARD

Cytogénétique sanguine et/ou médullaire

Jean-Marie GIRARDEL - CH BELFORT-MONTBELIARD

Epreuve directe de compatibilité au laboratoire (EDC)

Lucienne MANNESSIER. EFS Nord de France. Site de Lille.

Recherche de drépanocytes - Test de falciformation

Jean-Marie GIRARDEL - CH BELFORT-MONTBELIARD

Facteur II ou Prothrombine (mesure de l'activité)

François DEPASSE - LCL

Facteur V ou Proaccéléline (mesure de l'activité)

François DEPASSE - LCL

Facteur VII ou Proconvertine (mesure de l'activité)

François DEPASSE - LCL

Facteur VIII ou FACTEUR ANTI-HEMOPHILIQUE A (mesure de l'activité)

François DEPASSE - LCL

Facteur X ou Facteur Stuart (mesure de l'activité)

François DEPASSE - LCL

FIBRINOGENE FONCTIONNEL

François DEPASSE - LCL

Corps de HEINZ

Jean-Marie GIRARDEL - CH BELFORT-MONTBELIARD

Hématies fœtales

Jean-Marie GIRARDEL - CH BELFORT-MONTBELIARD

Populations lymphocytaires immunophénotypage

Jean-Marie GIRARDEL - CH BELFORT-MONTBELIARD

Myélogramme

Jean-Marie GIRARDEL - CH BELFORT-MONTBELIARD

Hémogramme (Numération formule sanguine)

Jean-Marie GIRARDEL - CH BELFORT-MONTBELIARD

Numération plaquettaire isolée

Jean-Marie GIRARDEL - CH BELFORT-MONTBELIARD

Phénotypage érythrocytaire RH-KEL1 (RH-KELL)

Lucienne MANNESSIER. EFS Nord de France. Site de Lille.

Phosphatases alcalines leucocytaires

Jean-Marie GIRARDEL - CH BELFORT-MONTBELIARD

Recherche, identification, titrage et dosage pondéral des anticorps anti-érythrocytaires (RAI)

Lucienne MANNESSIER - EFS Nord de France, Site de Lille.

Réticulocytes

Jean-Marie GIRARDEL - CH BELFORT-MONTBELIARD

Temps de céphaline + activateur (TCA)

François DEPASSE - LCL

Temps de thrombine
François DEPASSE - LCL

Test direct à l'antiglobuline (TDA)
Lucienne MANNESSIER. EFS Nord de France. Site de Lille.

Taux de prothrombine – Temps de quick – INR
François DEPASSE - LCL

Vitesse de sédimentation
Jean-Marie GIRARDEL - CH BELFORT-MONTBELIARD

HEMOSTASE

ACTIVITE ANTI-Xa
François DEPASSE - LCL

D-DIMERES
François DEPASSE - LCL

FACTEUR WILLEBRAND
François DEPASSE - LCL

RESISTANCE A LA PROTEINE C ACTIVEE
François DEPASSE - LCL

TEMPS DE SAIGNEMENT - TEMPS D'OCCLUSION PLAQUETTAIRE
François DEPASSE - LCL

GROUPAGE SANGUIN ABO-RH1 (RhD)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

Le groupage sanguin ABO-RH1 couplé au phénotype RH-KEL1 est obligatoire avant toute transfusion avérée ou potentielle, chez la femme enceinte et le nouveau-né issu d'une mère RH :-1 (RhD négatif).

BIOPATHOLOGIE

L'âge : chez le nouveau-né, les antigènes ABO sont mal développés et les anticorps anti-ABO sont absents. De même chez le sujet âgé les antigènes ABO et les anticorps anti-ABO peuvent être affaiblis.

L'âge de la grossesse : une hémorragie foeto-maternelle peut fausser le groupage RH1.

La pathologie du patient (AHAI, maladies des agglutinines froides, myélome, Waldenström) peut entraîner de fausses réactions positives ou négatives lors du groupage sanguin ABO-RH1

Les traitements en cours doivent être signalés car certains médicaments peuvent entraîner une auto-immunisation, des phénomènes de rouleaux... pouvant perturber le groupage ABO-RH1.

Une image de double population peut être observée en raison de transfusion non isogroupe ou d'exsanguino-transfusion, de greffe de moelle osseuse ou de cellules souches. Le groupage sanguin ABO-RH1 doit être réalisé à distance des transfusions (3 à 4 mois), la date de la transfusion doit donc être mentionnée

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

La détermination du groupe sanguin ABO-RH1 doit impérativement être réalisée sur un échantillon de sang prélevé sur anticoagulant : citrate ou EDTA sec (en raison de l'automatisation) et en quantité suffisante pour pouvoir effectuer

Prélèvement

Contraintes : aucune.

Des contrôles et des examens complémentaires.

Pour être valide, un groupage sanguin ABO-RH1 doit être effectué sur 2 prélèvements effectués à des moments réellement différents.

Cas particulier des nouveau-nés : le bon de demande d'examen doit mentionner en plus l'identité complète de la mère et son statut immuno-hématologique (groupes sanguins ABO-RH1, phénotypes RH-KEL1, résultat et date de la dernière RAI).

Les résultats antérieurs des typages érythrocytaires doivent être fournis si le laboratoire n'a pas effectué les premières analyses.

Particularités

Le sang du nouveau-né prélevé au cordon risque d'être contaminé par du sang maternel, ou souillé par de la gelée de Wharton entraînant de fausses réactions positives ou encore contenir des caillots rendant impossible l'automatisation de l'analyse.

Une agglutination faible ou absente lors du groupage sanguin ABO peut être observée après une transfusion incompatible ABO, ou lors de certaines hémopathies malignes.

Les prélèvements hémolysés sont à éviter, car la lyse affaiblit les réactions d'agglutination et les rend difficiles à interpréter.

Transmission

Le groupage sanguin ABO-RH1 est déterminé sur un prélèvement stérile de moins de 7 jours et conservé dans de bonnes conditions à +4°C.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

DETERMINATION DES AUTRES ANTIGENES ERYTHROCYTAIRES (PHENOTYPAGE ETENDU)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques.

La détermination des autres antigènes érythrocytaires, en particulier, ceux possédant un fort pouvoir immunogène et correspondant au phénotype étendu : FY1 (Fya), FY2 (Fyb), JK1 (Jka), JK2 (Jkb), MNS3 (S) et MNS4 (s) (si possible) est obligatoire dans les cas d'allo-immunisation complexe, proposé, à titre préventif, chez certains polytransfusés itératifs et à l'initiative du biologiste lors de l'identification d'un anticorps anti-érythrocytaire.

BIOPATHOLOGIE

La pathologie du patient (AHAI, maladies des agglutinines froides, myélome, Waldenström) peut entraîner de fausses réactions positives ou négatives lors du phénotypage érythrocytaire du patient.

Les traitements en cours doivent être indiqués car certains médicaments peuvent entraîner une auto-immunisation, des phénomènes de rouleaux ... pouvant perturber la détermination des divers antigènes érythrocytaires.

Une image de double population peut être observée en raison de transfusion non isogroupe ou d'exsanguino-transfusion, de greffe de moelle osseuse ou de cellules souches. Le phénotypage érythrocytaire doit être réalisé à distance des transfusions (3 à 4 mois), la date de la transfusion doit donc être mentionnée.

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

La détermination doit impérativement être réalisée sur un échantillon de sang prélevé sur anticoagulant : citrate ou EDTA sec (en raison de l'automatisation) et en quantité suffisante pour pouvoir effectuer des contrôles et des examens complémentaires.

Prélèvement

Contraintes : aucune.

Pour être valide, un phénotype étendu doit être effectué sur 2 prélèvements effectués à des moments réellement différents.

Cas particulier des nouveau-nés : le bon de demande d'examen doit mentionner en plus l'identité complète de la mère et son statut immuno-hématologique (groupes sanguins ABO-RH1, phénotypes érythrocytaires, résultat et date de la dernière RAI).

Les résultats antérieurs des groupages sanguins ABO-RH1 et phénotypages érythrocytaires doivent être fournis si le laboratoire n'a pas effectué les premières analyses.

Particularités

Le sang du nouveau-né prélevé au cordon risque d'être contaminé par du sang maternel, ou souillé par de la gelée de Wharton entraînant de fausses réactions positives ou encore contenir des caillots rendant impossible l'automatisation de l'analyse

Les prélèvements hémolysés sont à éviter, car la lyse affaiblit les réactions d'agglutination et les rend difficiles à interpréter

La détermination du phénotype étendu est couplée au groupage sanguin ABO-RH1 et au phénotypage RH-KEL1 lors d'un bilan pré-transfusionnel ou pré-natal.

Transmission

Le phénotypage étendu est réalisé sur un prélèvement stérile de moins de 7 jours et conservé dans de bonnes conditions à +4°C

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels

BIOPSIE MEDULLAIRE

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Préciser les traitements en cours, en particulier toxiques, anticoagulants.

Prescription motivée et/ou concertée : la biopsie est indiquée chaque fois qu'il y a suspicion d'un défaut ou d'un déficit de la synthèse médullaire : aplasie, hémopathie, polycythémie, immunoglobulinopathies .

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Fragment d'os spongieux, formée d'une zone corticale et d'une zone médullaire recueillie dans le liquide de fixation.

Prélèvement

Acte médico-chirurgical effectué à l'aide d'un trocard de YAMSHIDI à usage unique, au niveau d'une crête iliaque, après anesthésie locale.

Particularités

La connaissance d'un hémogramme contemporain est nécessaire.

La PBO est contre-indiquée chez les patients sous anticoagulants ou thrombopéniques sévères.

Lors de la PBO, si le biologiste n'effectue pas lui-même la ponction, sa présence est souhaitable pour réaliser des empreintes médullaires avant la fixation du fragment osseux

Transmission

Dans les plus brefs délais au laboratoire d'anatomocytopathologie.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

CYTOGENETIQUE SANGUINE et/ou MEDULLAIRE

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Prescription motivée et concertée d'un caryotype
Hémopathie

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Sang total ou matériel médullaire prélevés sur Héparine

Prélèvement

Dans des conditions d'asepsie optimales
Le prélèvement médullaire est un geste médical

Particularités

Pour être étudiée et interprétée dans de bonnes conditions, la cellularité concernée par le caryotype, doit être suffisante, contrôlée par un hémogramme ou un myélogramme contemporains.

Transmission

Les échantillons doivent être transmis dans les 24 heures, à la température ambiante, accompagnés de la fiche de suivi médical et de l'hémogramme et/ou du myélogramme correspondant.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

EPREUVE DIRECTE DE COMPATIBILITE AU LABORATOIRE (EDC)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques.

L'EDC d'unités de sang phénotypé RH-KEL1 a minima est obligatoire chez tout patient présentant ou ayant présenté un ou plusieurs allo-anticorps anti-érythrocytaires. Elle doit être pratiquée de façon sécurisée vis à vis de la tubulure correctement identifiée du concentré globulaire antigéno-compatible avec les anticorps du patient. En cas de RAI positive, les anticorps doivent donc être identifiés extemporanément, afin de choisir des unités de sang qualifiées phénotypées et dépourvues de l'antigène correspondant aux anticorps identifiés.

BIOPATHOLOGIE

La fréquence des RAI positives augmente chez les femmes enceintes multipares ainsi qu'au cours du dernier trimestre de la grossesse, chez les polytransfusés et dans certaines pathologies comme les connectivites, les cirrhoses...

La pathologie du patient (AHAI, maladies des agglutinines froides, myélome, Waldenström) peut entraîner de fausses réactions positives lors de la RAI et de l'EDC.

Les traitements en cours doivent être signalés car certains médicaments peuvent entraîner une auto-immunisation, des phénomènes de rouleaux...pouvant perturber l'EDC.

L'injection d' « immunoglobuline anti-D » avec la date doit être mentionnée.

Les transfusions incompatibles peuvent neutraliser partiellement ou totalement les anticorps éventuellement présents. La notion de transfusion avec la date doit être mentionnée.

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

L'EDC doit être réalisée sur un échantillon de sang prélevé sur anticoagulant : citrate ou EDTA sec et en quantité suffisante pour pouvoir effectuer des contrôles et examens complémentaires.

Prélèvement

Contraintes : aucune.

Cas particulier des nouveau-nés : le bon de demande d'examen doit mentionner en plus l'identité complète de la mère et son statut immuno-hématologiques (groupes sanguins ABO-RH1, phénotypes RH-KEL1, résultat et date de la dernière RAI).

Les résultats antérieurs de RAI doivent être fournis si le laboratoire n'a pas effectué les analyses antérieures ou si l'identité n'est pas strictement identique à celle fournie antérieurement.

Particularités

Les prélèvements hémolysés sont à éviter, car la lyse affaiblie les réactions d'agglutination et les rend difficiles à interpréter

Transmission

La RAI doit être pratiquée extemporanément sur le même prélèvement stérile (et non pipeté) de moins de 3 jours et conservé dans de bonnes conditions à +4°C

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

RECHERCHE DE DREPANOCYTES TEST DE FALCIFORMATION

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Origine géographique : la drépanocytose est présente dans 5 à 20 % des populations originaires d'Afrique occidentale et d'Afrique centrale et dans quelques familles des Antilles et du pourtour méditerranéen.

Manifestations microthrombotiques

Anémies hémolytiques

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Sang total EDTA.

Prélèvement

Serrage garrot limité afin d'éviter une hémococoncentration.

Le jeûne est inutile, l'augmentation post-prandiale des hématies restant modérée par rapport aux fourchettes de normalité.

Particularités

La drépanocytose est observée dans des régions d'endémie palustre. L'hémoglobine S n'est pas favorable au développement du plasmodium falciparum.

Transmission

Dans les 3 à 4 heures à température ambiante.

Eviter les chocs thermiques et mécaniques

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

FACTEUR II ou PROTHROMBINE (mesure de l'activité)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Variation de l'activité avec l'âge : les taux de facteur II sont plus bas chez le nouveau-né à terme ou prématuré. Les valeurs de l'adulte sont atteintes entre l'âge de six mois et l'âge d'un an. Les taux de facteur II sont augmentés au cours de la grossesse et des traitements oestro-progestatifs. Le facteur II est un facteur vitamine K dépendant : les taux sont abaissés en cas de carence en vitamine K ou de traitement AVK. Les taux de facteur II sont abaissés en cas d'insuffisance hépato-cellulaire et de CIVD (coagulation intra-vasculaire disséminée).

Il a été montré à l'échelon de groupes de patients définis que les taux de facteur II sont plus élevés chez les sujets porteurs de la mutation G20210A du gène de la prothrombine que chez les sujets normaux (il existe néanmoins un recouvrement important entre les deux populations, ce qui rend le dosage du facteur II inutilisable en pratique comme test de dépistage de la présence de cette mutation).

Renseignements cliniques indispensables

- diagnostic d'un syndrome hémorragique
- exploration systématique suite à une anomalie du temps de Quick
- enquête familiale
- diagnostic d'une carence en vitamine K ou d'une intoxication par les AVK

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillons

Le dosage est réalisé exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole). Tout autre anticoagulant est proscrit.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de Mc Gann : volume d'anticoagulant (mL) = 0,00185 x volume final (mL) x [100 – hématocrite (%)] d'Ingram volume d'anticoagulant (mL) = volume de sang (mL) x [100 – hématocrite (%)] / [595 – hématocrite (%)]

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation de tubes en verre siliconé est recommandée. L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène). La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges).

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins de une minute (recommandation du GEHT).

L'analyse doit être effectuée dans les deux heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine.

Prélèvement

En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé.

Le prélèvement est effectué chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

L'échantillon de sang destiné au dosage du facteur II doit être prélevé après écoulement des premiers millilitres de sang (qui peuvent être utilisés pour d'autres analyses) et avant d'autres échantillons prélevés sur d'autres anticoagulants.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Particularités

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.

Le dosage est couplé à celui du temps de Quick (ou taux de prothrombine) et, le cas échéant, à celui des autres facteurs de la voie extrinsèque (V, VII, X) ou des autres facteurs vitamine K dépendants (VII, IX, X), à un bilan de CIVD (facteurs V et VII, PDF / D-dimères, numération du chiffre de plaquettes) ou biochimique d'insuffisance hépato-cellulaire.

Transmission

Transport en position verticale.

Éviter toute agitation intempestive.

Tubes conservés bouchés à température ambiante.

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement.

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C.

L'analyse doit être effectuée dans les deux heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. À défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

FACTEUR V ou PREACCELERINE

(Mesure de l'activité)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Les taux de facteur V sont augmentés au cours de la grossesse. Ils sont abaissés en cas d'insuffisance hépato-cellulaire et de CIVD (coagulation intra-vasculaire disséminée).

Renseignements cliniques indispensables :

- diagnostic d'un syndrome hémorragique
- exploration systématique suite à une anomalie du temps de Quick
- enquête familiale
- suivi des atteintes hépatiques...

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Le dosage est réalisé exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole). Tout autre anticoagulant est proscrit.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de Mc Gann : volume d'anticoagulant (mL) = 0,00185 x volume final (mL) x [100 – hématocrite (%)] ou d'Ingram : volume d'anticoagulant (mL) = volume de sang (mL) x [100 – hématocrite (%)] / [595 – hématocrite (%)]

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation de tubes en verre siliconé est recommandée. L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène). La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges).

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins de une minute (recommandation du GEHT).

L'échantillon de sang destiné au dosage du facteur II doit être prélevé après écoulement des premiers millilitres de sang (qui peuvent être utilisés pour d'autres analyses) et avant d'autres échantillons prélevés sur d'autres anticoagulants.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang. Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Prélèvement

En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé.

Le prélèvement est effectué chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

Particularités

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.

Le dosage est couplé à celui du temps de Quick (ou taux de prothrombine) et, le cas échéant, à celui des autres facteurs de la voie extrinsèque (II, VII, X), à un bilan de CIVD (facteurs II et VII, PDF / D-dimères, numération du chiffre de plaquettes) ou biochimique d'insuffisance hépatocellulaire.

Transmission

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive.

Tubes conservés bouchés à température ambiante.

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C.

L'analyse doit être effectuée dans les deux heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

FACTEUR VII ou PROCONVERTINE

(mesure de l'activité)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Variation de l'activité avec l'âge : les taux de facteur VII sont plus bas chez le nouveau-né à terme ou prématuré. Les valeurs de l'adulte sont atteintes entre l'âge de six mois et l'âge d'un an. Les taux de facteur VII sont augmentés au cours de la grossesse et des traitements oestro-progestatifs. Le facteur VII est un facteur vitamine K dépendant : les taux sont abaissés en cas de carence en vitamine K ou de traitement AVK. Les taux de facteur VII sont abaissés en cas d'insuffisance hépato-cellulaire et de CIVD (coagulation intra-vasculaire disséminée).

Renseignements cliniques indispensables :

- diagnostic d'un syndrome hémorragique,
- exploration systématique suite à une anomalie du temps de Quick,
- enquête familiale,
- diagnostic d'une carence en vitamine K ou d'une intoxication par les AVK.

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Le dosage est réalisé exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de Mc Gann : volume d'anticoagulant (mL) = 0,00185 x volume final (mL) x [100 – hématocrite (%)] d'Ingram : volume d'anticoagulant (mL) = volume de sang (mL) x [100 – hématocrite (%)] / [595 – hématocrite (%)]

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation de tubes en verre siliconé est recommandée. L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène). La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges).

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins d'une minute (recommandation du GEHT).

L'échantillon de sang destiné au dosage du facteur II doit être prélevé après écoulement des premiers millilitres de sang (qui peuvent être utilisés pour d'autres analyses) et avant d'autres échantillons prélevés sur d'autres anticoagulants.

Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole). Tout autre anticoagulant est proscrit.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant

Prélèvement

En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé.

Le prélèvement est effectué chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

Particularités

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.

Le dosage est couplé à celui du temps de Quick (ou taux de prothrombine) et, le cas échéant, à celui des autres facteurs de la voie extrinsèque (II, V, X) ou des autres facteurs vitamine K dépendants (II, IX, X), à un bilan de CIVD (facteurs II et V, PDF / D-dimères, numération du chiffre de plaquettes) ou biochimique d'insuffisance hépato-cellulaire.

Transmission

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive.

Tubes conservés bouchés à température ambiante.

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement.

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C.

L'analyse doit être effectuée dans les deux heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

FACTEUR VIII ou FACTEUR ANTI-HEMOPHILIQUE A

(mesure de l'activité)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Variation de l'activité avec l'âge : les taux de facteur VIII sont élevés au moment de la naissance et se normalisent vers le 10^{ème} jour de vie. Les taux de facteur VIII sont augmentés au cours de la grossesse et des traitements oestro-progestatifs. Les taux de facteur VIII sont abaissés en cas d'hémophilie A, dans la plupart des formes de maladie de Willebrand (diagnostic différentiel) et en cas d'inhibiteur spécifique dirigé contre le facteur VIII (anti-VIII)

Renseignements cliniques indispensables :

- diagnostic d'un syndrome hémorragique
- exploration systématique suite à une anomalie du temps de céphaline + activateur
- enquête familiale

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillons

Le dosage est réalisé exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole). Tout autre anticoagulant est proscrit.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de Mc Gann : volume d'anticoagulant (mL) = 0,00185 x volume final (mL) x [100 – hématocrite (%)] d'Ingram : volume d'anticoagulant (mL) = volume de sang (mL) x [100 – hématocrite (%)] / [595 – hématocrite (%)].

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation de tubes en verre siliconé est recommandée. L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène). La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges).

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins d'une minute (recommandation du GEHT).

L'échantillon de sang destiné au dosage du facteur II doit être prélevé après écoulement des premiers millilitres de sang (qui peuvent être utilisés pour d'autres analyses) et avant d'autres échantillons prélevés sur d'autres anticoagulants.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Prélèvement

En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé.

Le prélèvement est effectué chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

Particularités

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.
L'absence de micro-caillots doit être vérifiée

Le dosage est couplé à la mesure du temps de céphaline + activateur ou à la recherche d'anticoagulant circulant et, le cas échéant, à celui des autres facteurs de la voie intrinsèque (IX, XI, XII) et, éventuellement du facteur Willebrand.

Selon la céphaline utilisée pour le dosage, une interférence plus ou moins importante peut abaisser artificiellement le résultat de la mesure du taux de facteur VIII en présence d'un anticoagulant circulant de type lupique (antiphospholipides) : devant un résultat abaissé, le dosage doit être répété sur des dilutions plus importantes du plasma à tester afin de tenter de lever cette interférence.

Un taux anormalement bas de facteur VIII chez un patient sans antécédent hémorragique doit faire suspecter la présence d'un inhibiteur spécifique dirigé contre le facteur VIII qui nécessite une prise en charge immédiate par un centre d'hémophilie (d'autant plus que le patient a des hématomes ou de saignements)

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Transmission

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive.

Tubes conservés bouchés à température ambiante.

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement.

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C.

L'analyse doit être effectuée dans les deux heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

FACTEUR X ou FACTEUR STUART

(mesure de l'activité)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Variation de l'activité avec l'âge : les taux de facteur X sont plus bas chez le nouveau-né à terme ou prématuré. Les valeurs de l'adulte sont atteintes entre l'âge de six mois et l'âge d'un an.

Les taux de facteur X sont augmentés au cours de la grossesse.

Le facteur X est un facteur vitamine K dépendant : les taux sont abaissés en cas de carence en vitamine K ou de traitement AVK.

Les taux de facteur X sont abaissés en cas d'insuffisance hépato-cellulaire et de CIVD (coagulation intra-vasculaire disséminée).

Renseignements cliniques indispensables :

- diagnostic d'un syndrome hémorragique
- exploration systématique suite à une anomalie du temps de Quick
- enquête familiale
- diagnostic d'une carence en vitamine K ou d'une intoxication par les AVK

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Le dosage est réalisé exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole). Tout autre anticoagulant est proscrit.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de Mc Gann : volume d'anticoagulant (mL) = 0,00185 x volume final (mL) x [100 – hématocrite (%)] ou d'Ingram : volume d'anticoagulant (mL) = volume de sang (mL) x [100 – hématocrite (%)] / [595 – hématocrite (%)]

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée.

Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation de tubes en verre silicisé est recommandée.

L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène).

La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges).

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins d'une minute (recommandation du GEHT).

L'échantillon de sang destiné au dosage du facteur II doit être prélevé après écoulement des premiers millilitres de sang (qui peuvent être utilisés pour d'autres analyses) et avant d'autres échantillons prélevés sur d'autres anticoagulants.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Prélèvement

En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé. Le prélèvement est effectué chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

Particularités

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.

L'absence de micro caillots doit être vérifiée.

Le dosage est couplé à celui du temps de Quick (ou taux de prothrombine) et, le cas échéant, à celui des autres facteurs de la voie extrinsèque (II, V, VII) ou des autres facteurs vitamine K dépendants (II, VII, IX) ou biochimique d'insuffisance hépato-cellulaire.

Transmission

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive.

Tubes conservés bouchés à température ambiante.

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C.

L'analyse doit être effectuée dans les deux heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

FIBRINOGENE FONCTIONNEL

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Le taux de fibrinogène augmente progressivement au cours de la grossesse.

Le taux de fibrinogène fonctionnel est abaissé dans les hypofibrinogénémies (dans lesquelles le taux de fibrinogène antigène est abaissé dans les mêmes proportions que l'activité) et dans dysfibrinogénémie (dans lesquelles le taux de fibrinogène antigène est normal, mais l'activité abaissée). Le taux de fibrinogène est abaissé en cas d'insuffisance hépato-cellulaire ou de CIVD (coagulation intra-vasculaire disséminée). Le taux de fibrinogène est abaissé au cours de traitements thrombolytiques. Le taux de fibrinogène augmente au cours des syndromes inflammatoires. Le taux de fibrinogène augmente au cours des syndromes néphrotiques. le taux de fibrinogène est augmenté chez les patients VIH séro-positifs et plus encore chez les patients infectés par le VIH.

Renseignements cliniques indispensables :

- diagnostic d'un syndrome hémorragique
- bilan systématique ou pré-opératoire
- insuffisance hépato-cellulaire
- CIVD
- autres, à la discrétion du clinicien

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Dosage exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole). Tout autre anticoagulant est proscrit.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de Mc Gann : volume d'anticoagulant (mL) = 0,00185 x volume final (mL) x [100 – hématocrite (%)] ou d'Ingram : volume d'anticoagulant (mL) = volume de sang (mL) x [100 – hématocrite (%)] / [595 – hématocrite (%)

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation de tubes en verre siliconé est recommandée. Des tubes à double paroi verre siliconé – matière plastique peuvent également être utilisés ; ils présentent l'avantage d'une meilleure résistance aux chocs. L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène) La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (en particulier le TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges).

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins de une minute (recommandation du GEHT).

Prélèvement

En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé.

Le prélèvement est effectué en théorie chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

L'échantillon de sang destiné à la mesure du fibrinogène doit être prélevé après écoulement des premiers millilitres de sang (qui peuvent être utilisés pour d'autres analyses) et avant d'autres échantillons prélevés sur d'autres anticoagulants.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Particularités

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.

L'absence de micro-caillots doit être vérifiée.

Le dosage est couplé le cas échéant, à celui du taux de prothrombine, du TCA, à un bilan de CIVD (facteurs V et VII, PDF / D-dimères, numération du chiffre de plaquettes) ou biochimique d'insuffisance hépato-cellulaire ou de syndrome inflammatoire.

Transmission

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive.

Les tubes sont conservés bouchés à température ambiante, à condition que celle-ci reste dans des limites acceptables.

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement.

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C. L'analyse doit être effectuée dans les quatre heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

CORPS de HEINZ

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Exploration étiologique de certaines anémies hémolytiques et intoxications.

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Sang total prélevé sur EDTA.

Prélèvement

Serrage garrot limité afin d'éviter une hémococoncentration.

Le jeûne est inutile, l'augmentation post-prandiale des hématies restant modérée par rapport aux fourchettes de normalité.

Particularités

Demande couplée à un hémogramme

Transmission

Pas d'exigences particulières

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

HEMATIES FOETALES

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Grossesses antérieures
Injection d'Immunoglobulines anti D
Groupe sanguin et phénotype Rhésus
Agglutinines irrégulières

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Sang prélevé sur EDTA
Prélèvement
Sang veineux (quantité réduite – tube pédiatrique)
Frottis sanguin extemporané possible

Particularités

Examen pratiqué en fin de grossesse ou dans les 3 premiers jours du post-partum.
Dosage pondéral Ig anti-D associé.

Transmission

Conservation +4° plusieurs jours avant coloration

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

POPULATIONS LYMPHOCYTAIRES IMMUNOPHENOTYPAGE

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Des variations circadiennes importantes sont mises en évidence pour les populations lymphocytaires T et B normales.

Ces variations circadiennes peuvent être modifiées chez les sujets VIH + et par la thérapie antirétrovirale pour les sujets VIH.

L'âge, le stress, le nyctémère peuvent modifier le rapport CD4/CD8.

Prescription motivée et concertée, accompagnée d'une demande d'Hémogramme.

Hémopathie

Statut VIH

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Sang total prélevé sur EDTA

Prélèvement

A horaire fixe au cours du suivi des patients, si possible le matin à 8 heures

Serrage du garrot limité.

Particularités

Accompagner l'échantillon du résultat d'un hémogramme contemporain du prélèvement.

Transmission

A la température ambiante dans les 24 heures

Les échantillons prélevés pour immunophénotypage sont stables 30 heures à la température ambiante.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

MYELOGRAMME

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Préciser les traitements en cours, en particulier avec toxicité médullaire. Anticoagulants. Transfusion récente (hémodilution possible)

Prescription motivée et/ou concertée :

Hémopathies – anémie, aplasie, hémolyse, polycythémie, dysglobulinémie, Leishmaniose

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Étalements et / ou écrasements extemporanés de matériel médullaire sur lame

Matériel médullaire prélevé sur une goutte d'EDTA (facultatif)

Prélèvement

Acte médical pratiqué selon protocole clinico-biologique précisé sur chaque site (anesthésie locale facultative)

Le préleveur doit savoir effectuer des frottis impeccables, sinon il doit solliciter le concours du laboratoire

Des trocarts à usage unique sont obligatoires chez les patients qu'il y ait certitude, suspicion ou méconnaissance du statut VIH+ VHC+ ou infectieux.

Particularités

Préciser les intolérances à l'iode et aux anesthésiques locaux.

Le myélogramme est déconseillé chez les patients hypocoagulés.

Le myélogramme est contre-indiqué en cas de défibrination.

La connaissance d'un hémogramme contemporain est indispensable pour l'interprétation d'un myélogramme

La ponction sternale est risquée voire dangereuse chez l'enfant avant 8 ans ; d'autres points de ponctions (pilon tibial avant 6 mois, apophyses épineuses et crêtes iliaques sont préférables)

Il faut être prudent lors de ponctions sternales (ostéoporose) chez le sujet âgé.

Transmission

Les étalements-écrasements extemporanés ou le matériel médullaire prélevé sur EDTA doivent être transmis le plus rapidement possible au laboratoire.

Les frottis réalisés extemporanément sont identifiés, placés à l'abri de tout contact extérieur, et transmis rapidement au laboratoire.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

HEMOGRAMME (NUMERATION FORMULE SANGUINE)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Age : les variations de la leucocytose et de l'hémoglobine sont importantes chez l'enfant avec une hyperleucocytose avec polynucléose chez le nouveau-né ; prédominance lymphocytaire à un an et modification progressive jusqu'aux chiffres de l'adulte vers 12 ans. Variations importantes de l'hémoglobine chez l'enfant avec augmentation notable chez le nouveau-né, diminution entre 3 et 6 mois et remontée jusqu'au chiffre adulte avec stabilisation entre 10 et 12 ans sans qu'il y ait une limite d'âge stricte.

Sexe : l'hémoglobine est physiologiquement plus basse chez la femme.

Grossesse : L'hémoglobine est physiologiquement abaissée de 0,5 g/ pendant la grossesse. La leucocytose s'élève au cours du 3ème trimestre avec polynucléose.

Origine géographique :

- On constate une neutropénie modérée chez les noirs d'Afrique, des Caraïbes et chez les juifs yéménites.
- En dehors des hémoglobinopathies et hémoglobinoses avérées, une polyglobulie microcytaire peut être observée chez les populations originaires du pourtour méditerranéen.

Des augmentations importantes de l'hémoglobine sont possibles en altitude, proportionnelles à l'altitude et à la durée du séjour.

Modifications induites : Un exercice physique intense peut entraîner une élévation du nombre des globules rouges et de la leucocytose.

Les chiffres de la leucocytose s'élèvent au cours du stress, pendant l'exposition au froid, la tachycardie paroxystique, l'exposition au soleil et aux rayons UV.

L'augmentation de la leucocytose avec polynucléose est possible chez les fumeurs.

L'augmentation du VGM est fréquente dans l'éthylisme chronique.

Traitement et surveillance thérapeutique :

Transfusions récentes

Saignées thérapeutiques récentes

Médicaments cytopéniants

Facteurs de croissance médullaire (G-CSF – EPO)

Renseignements cliniques :

Etat fébrile

Organomégalie

Hémopathie connue

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Sang total prélevé sur EDTA

Prélèvement

Serrage garrot limité afin d'éviter une hémococoncentration.

Vérifier l'absence de micro-caillots

Le jeûne est inutile, l'augmentation post-prandiale des leucocytes et des plaquettes reste modérée par rapport aux fourchettes de normalité.

Particularités

Homogénéiser par retournements successifs du tube sitôt le prélèvement.

Transmission

Dans les 3 à 4 heures à température ambiante, les paramètres restant parfaitement stables 6 heures après le prélèvement.

Eviter les chocs thermiques et mécaniques.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

NUMERATION PLAQUETTAIRE ISOLEE

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Transfusions plaquettaires récentes
Médicaments cytopéniants

Etat fébrile
Organomégalie
Hémopathie thrombopéniante ou thrombocythémique

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Sang total prélevé sur EDTA

Sang total prélevé sur citrate : mention obligatoire car le citrate induit une dilution.

Prélèvement

Serrage garrot limité afin d'éviter une hémococoncentration.

Le jeûne est inutile, l'augmentation post-prandiale des leucocytes et des plaquettes restant modérée par rapport aux fourchettes de normalité

Particularités

La numération plaquettaire, bien qu'elle puisse être prescrite isolément, est le plus souvent couplée à une numération sanguine formule leucocytaire (hémogramme)

Vérification microscopique des plaquettes si il y a un doute sur les résultats.

Transmission

Dans les 3 à 4 heures à température ambiante, les paramètres restant parfaitement stables. 6 heures après le prélèvement.

Eviter les chocs thermiques et mécaniques.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

PHENOTYPAGE ERYTHROCYTAIRE RH-KEL1 (Rh-Kell)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques.

Le phénotypage RH-KEL1 couplé au groupage sanguin ABO-RH1 est obligatoire avant toute transfusion avérée ou potentielle, chez la femme enceinte, chez les polytransfusés et à l'initiative du biologiste lors de l'identification d'un anticorps anti-érythrocytaire.

BIOPATHOLOGIE

La pathologie du patient (AHAI, maladies des agglutinines froides, myélome, Waldenström) peut entraîner de fausses réactions positives ou négatives lors du phénotypage érythrocytaire du patient.

Les traitements en cours doivent être signalés car certains médicaments peuvent entraîner une auto-immunisation, des phénomènes de rouleaux...pouvant perturber le phénotypage RH-KEL1.

Une image de double population peut être observée en raison de transfusion non isogroupe ou d'exsanguino-transfusion, de greffe de moelle osseuse ou de cellules souches. Le phénotypage RH-KEL1 doit être réalisé à distance des transfusions (3 à 4 mois), la notion de transfusion avec la date doit donc être mentionnée.

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

La détermination du phénotype RH-KEL1 doit impérativement être réalisée sur un échantillon de sang prélevé sur anticoagulant : citrate ou EDTA sec (en raison de l'automatisation) et en quantité suffisante pour pouvoir effectuer des contrôles et des examens complémentaires.

Prélèvement

Contraintes : aucune

Pour être valide, un phénotypage RH-KEL1 doit être effectué sur 2 prélèvements effectués à des moments réellement différents.

Cas particulier des nouveau-nés : le bon de demande d'examen doit mentionner en plus l'identité complète de la mère et son statut immuno-hématologique (groupes sanguins ABO-RH1, phénotypes RH-KEL1, résultat et date de la dernière RAI).

Les résultats antérieurs des typages érythrocytaires doivent être fournis si le laboratoire n'a pas effectué les premières analyses.

Particularités

Le sang du nouveau-né prélevé au cordon risque d'être contaminé par du sang maternel, ou souillé par de la gelée de Wharton entraînant de fausses réactions positives ou encore contenir des caillots rendant impossible l'automatisation de l'analyse

Les prélèvements hémolysés sont à éviter, car la lyse affaiblit les réactions d'agglutination et les rend difficiles à interpréter

Transmission

Le phénotype RH-KEL1 est déterminé sur un prélèvement stérile de moins de 7 jours et conservé dans de bonnes conditions à +4°C

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

PHOSPHATASES ALCALINES LEUCOCYTAIRES

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

BIOPATHOLOGIE

Etat fébrile
Organomégalie
Hémopathie connue
Hyperleucocytose/ polynucléose avec ou sans myélémie

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Sang total EDTA ou sang natif périphérique étalé sur lame

Prélèvement

Serrage garrot limité afin d'éviter une hémococoncentration

Le jeûne est inutile, l'augmentation post-prandiale des leucocytes et des plaquettes restant modérée par rapport aux fourchettes de normalité.

Prélèvement capillaire au bout du doigt si étalement extemporané sur lame.

Particularités

Demande couplée à un hémogramme

Transmission

Prise en charge du prélèvement EDTA et des frottis éventuels dans la demi heure après le prélèvement.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

RECHERCHE, IDENTIFICATION, TITRAGE ET DOSAGE PONDERAL DES ANTICORPS ANTI-ERYTHROCYTAIRES (RAI)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

La RAI est obligatoire avant toute transfusion avérée ou potentielle, chez la femme enceinte quel que soit son groupe RH1 (RhD), chez les polytransfusés et après transfusion dans le cadre de l'hémovigilance.

BIOPATHOLOGIE

La grossesse doit être mentionnée car en cas de RAI positive, l'identification doit être extemporanée, et couplée au titrage et au dosage pondéral.

La fréquence des RAI positives augmente chez les femmes enceintes multipares ainsi qu'au cours du dernier trimestre de la grossesse, chez les polytransfusés et dans certaines pathologies comme les connectivites, les cirrhoses...

La pathologie du patient (AHAI, maladies des agglutinines froides, myélome, Waldenström) peut entraîner de fausses réactions positives lors de la RAI.

Les traitements en cours doivent être signalés car certains médicaments peuvent entraîner une auto-immunisation, des phénomènes de rouleaux...pouvant perturber la RAI.

L'injection d' « immunoglobuline anti-D » avec la date doit être mentionnée, pour éviter de rendre à tort : présence d'anticorps d'immunisation active.

Les transfusions incompatibles de concentrés érythrocytaires peuvent neutraliser partiellement ou totalement les anticorps éventuellement présents. La date de la transfusion ainsi que la quantité transfusée doivent être mentionnées.

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

La RAI doit être réalisée sur un échantillon de sang prélevé sur anticoagulant : citrate ou EDTA sec. Quant au dosage pondéral, il doit impérativement être réalisé sur un échantillon de sang prélevé sur tube sec.

Le volume et le nombre de récipients de recueil doivent être suffisants pour effectuer des contrôles, des examens complémentaires et pourvoir la sérothèque.

Prélèvement

Contraintes : aucune

Cas particulier des nouveau-nés : le bon de demande d'examen doit mentionner en plus l'identité complète de la mère et son statut immuno-hématologique (groupes sanguins ABO-RH1, phénotypes RH-KEL1, résultat et date de la dernière RAI).

Les résultats antérieurs de RAI doivent être fournis si le laboratoire n'a pas effectué les analyses antérieures ou si l'identité n'est pas strictement identique à celle fournie antérieurement.

Particularités

Les prélèvements hémolysés sont à éviter, car la lyse affaiblie les réactions d'agglutination et les rend difficiles à interpréter

Transmission

La RAI est réalisée sur un prélèvement stérile (et non pipeté) de moins de 3 jours et conservé dans de bonnes conditions à +4°C

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

RETICULOCYTES

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques.

BIOPATHOLOGIE

La réticulocytose est la traduction du taux de restauration du nombre de globules rouges
Crise réticulocytaire dans les anémies macrocytaires carencielles traitées par Vit. B12
EPO
Dialysés rénaux
Transfusion : la mesure des réticulocytes est inutile
Paramètre hématologique non informatif dans les états non anémiques

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Sang total prélevé sur EDTA (la numération des réticulocytes est couplée à celle des hématies et en règle automatisée)

Prélèvement

Serrage limité du garrot afin d'éviter une hémococoncentration
Le jeûne est inutile, l'augmentation post-prandiale des hématies et réticulocytes reste modérée par rapport aux fourchettes de normalité.

Particularités

Demande couplée à un hémogramme
Les fourchettes de normalités bien qu'étant larges, les modalités techniques manuelles de comptage doivent être mentionnées, celles-ci entraînant des coefficients de variations élevés

Transmission

Stabilité identique de la réticulocytose et des paramètres de l'hémogramme : six heures ; éviter les chocs thermiques ou mécaniques.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

TEMPS DE CEPHALINE + ACTIVATEUR (TCA)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

Le temps de céphaline + activateur est le temps de coagulation d'un plasma citraté recalciifié en présence phospholipides apportés en tant que substitut plaquettaire par la céphaline. L'activateur utilisé est de nature variable : kaolin, silice micronisée, acide ellagique...Lorsque cet activateur est le kaolin, le TCA est appelé TCK. Le résultat est exprimé en secondes par rapport au temps de coagulation d'un plasma témoin normal. Le TCA est sensible aux déficits en facteurs de la voie dite « intrinsèque » de la coagulation (facteurs VIII, IX, XI, XII), en prékallitréine et kininogène de haut poids moléculaire, ainsi, dans une moindre mesure, qu'aux déficits en facteurs II, V, X et en fibrinogène. Le TCA a également été proposé pour le suivi des traitements par l'héparine non fractionnée et pour le diagnostic des anticoagulants circulants de type lupique.

BIOPATHOLOGIE

Diagnostic d'un syndrome hémorragique
Bilan systématique ou pré-opératoire
Insuffisance hépato-cellulaire
CIVD
Suivi des traitements par héparine non fractionnée
Recherche d'un anticoagulant circulant

Les taux de facteurs IX, XI, XII, prékallitréine et kininogène de haut poids moléculaire et, facteurs II, VII, X sont bas comparativement à ceux de l'adulte chez le nouveau-né prématuré et le nouveau-né à terme : le TCA est allongé en proportion du taux de ces facteurs et de la sensibilité du réactif utilisé. Le taux de ces facteurs se normalise en général vers l'âge de 6 mois. Compte tenu du fait que le TCA est plus court au fur et à mesure que l'âge du patient augmente, il est fréquent que chez le jeune enfant le TCA soit un peu plus long que le témoin (qui est constitué d'un pool de plasmas normaux obtenu chez des adultes).

Le TCA est allongé en cas de déficit constitutionnel ou acquis en facteurs VIII, IX, XI, XII, et dans une moindre mesure en facteurs II, V, X et/ou en fibrinogène. Le TCA est allongé en présence d'un inhibiteur spécifique dirigé contre un facteur de la voie intrinsèque de la coagulation (anti-VIII ou anti-IX).

Le TCA est allongé en cas d'insuffisance hépato-cellulaire ou de CIVD (coagulation intra-vasculaire disséminée). Le TCA peut être allongé en cas de carence en vitamine K ainsi qu'au cours des traitements par AVK.

Le TCA est utilisé dans le suivi du traitement par l'héparine non fractionnée ; la sensibilité est néanmoins variable d'un réactif à l'autre et il y a lieu de vérifier la zone thérapeutique en fonction du réactif utilisé. Le TCA est peu ou pas allongé au cours des traitements par les héparines de bas poids moléculaire ; l'allongement est fonction de la sensibilité du réactif utilisé, de la préparation et de la posologie d'héparine de bas poids moléculaire utilisée. Aux dosages utilisés en prophylaxie, l'allongement est minime ou nul pour toutes les héparines de bas poids moléculaire.

Le TCA est allongé au cours des traitements par l'hirudine (ou ses dérivés).

Le TCA est allongé au cours des traitements par le mélagatran / ximélagatran.

Le TCA n'est pas allongé au cours des traitements par le fondaparinux aux concentrations thérapeutiques.

La sensibilité du TCA aux anticoagulants circulants de type lupique est variable d'un réactif à l'autre.

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Mesure exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole), en particulier dans le cas du suivi d'un traitement par l'héparine non fractionnée pour éviter la neutralisation in vitro de l'héparine par le facteur 4 plaquettaire. Tout autre anticoagulant est proscrit.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de Mc Gann : volume d'anticoagulant (mL) = 0,00185 x volume final (mL) x [100 – hématocrite (%)] ou d'Ingram : volume d'anticoagulant (mL) = volume de sang (mL) x [100 – hématocrite (%)] / [595 – hématocrite (%)]

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation de tubes en verre siliconé est recommandée. Des tubes à double paroi verre siliconé – matière plastique peuvent également être utilisés ; ils présentent l'avantage d'une meilleure résistance aux chocs. L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène). La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (en particulier le TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges).

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins de une minute (recommandation du GEHT).

Prélèvement

En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé.

Le prélèvement est effectué en théorie chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

L'échantillon de sang destiné à la mesure du TCA doit être prélevé après écoulement des premiers millilitres de sang (qui peuvent être utilisés pour d'autres analyses) et avant d'autres échantillons prélevés sur d'autres anticoagulants.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Le TCA mesuré peut être plus court que celui du témoin normal en cas de problème de prélèvement (activation de la coagulation in vitro), en cas de taux élevé de facteur VIII (syndrome inflammatoire, grossesse) et chez certains patients ayant une résistance à la protéine C activée.

Particularités

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.

L'absence de micro-caillots doit être vérifiée.

Le dosage est couplé le cas échéant, à celui du taux de prothrombine, des facteurs de la voie intrinsèque (VIII, IX, XI, XII), à un bilan de CIVD (facteurs V et VII, PDF / D-dimères, numération du chiffre de plaquettes) ou biochimique d'insuffisance hépato-cellulaire.

Transmission

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive

Tubes conservés bouchés à température ambiante, à condition que celle-ci reste dans des limites acceptables.

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement.

L'utilisation de tubes CTAD permet d'éviter la neutralisation de l'héparine par le facteur 4 plaquettaire et de prolonger le délai admissible entre le prélèvement et le traitement de l'échantillon par le laboratoire.

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C.

L'analyse doit être effectuée dans les deux heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

TEMPS DE THROMBINE

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

Le temps de thrombine est le temps de coagulation d'un plasma citraté en présence d'une quantité définie de thrombine calcique. Le résultat s'exprime en secondes, par rapport au temps de coagulation d'un plasma témoin normal. Le temps de thrombine explore la fibrinoformation. Il est insensible aux déficits en facteur XIII.

BIOPATHOLOGIE

Diagnostic d'un syndrome hémorragique

Bilan systématique ou pré-opératoire

Insuffisance hépato-cellulaire

CIVD

Suivi d'un traitement par l'héparine non fractionnée ou d'un traitement thrombolytique

Allongement

Le temps de thrombine est allongé dans les hypofibrinogénémies (dans lesquelles le fibrinogène fonctionnel et le fibrinogène antigène sont abaissés dans les mêmes proportions) et dysfibrinogénémies (dans lesquelles le taux de fibrinogène fonctionnel est abaissé tandis que le taux de fibrinogène antigène est normal).

Le temps de thrombine est allongé en cas d'insuffisance hépato-cellulaire ou de CIVD (coagulation intra-vasculaire disséminée).

Le temps de thrombine est allongé en présence d'héparine non fractionnée.

Le temps de thrombine est peu ou pas allongé en présence d'héparine de bas poids moléculaire : l'allongement dépend de la sensibilité du réactif et de la préparation d'héparine de bas poids moléculaire utilisée.

Le temps de thrombine est allongé en présence d'inhibiteurs spécifiques de la thrombine (anti-thrombines) tels que l'hirudine (ou ses dérivés) ou certains nouveaux médicaments antithrombotiques (mélagatran / ximélagatran).

Le temps de thrombine est allongé en présence de taux significativement élevés de produits de dégradation de la fibrine et au cours des traitements fibrinolytiques.

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Dosage exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole). Tout autre anticoagulant est proscrit.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de Mc Gann : volume d'anticoagulant (mL) = $0,00185 \times \text{volume final (mL)} \times [100 - \text{hématocrite (\%)}]$ ou d'Ingram : volume d'anticoagulant (mL) = $\text{volume de sang (mL)} \times [100 - \text{hématocrite (\%)}] / [595 - \text{hématocrite (\%)}]$

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation de tubes en verre siliconé est recommandée. Des tubes à double paroi verre siliconé – matière plastique peuvent également être utilisés ; ils présentent l'avantage d'une meilleure résistance aux chocs.

L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène).

La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (en particulier le TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges).

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins de une minute (recommandation du GEHT).

L'échantillon de sang destiné à la mesure du temps de thrombine doit être prélevé après écoulement des premiers millilitres de sang (qui peuvent être utilisés pour d'autres analyses) et avant d'autres échantillons prélevés sur d'autres anticoagulants.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Prélèvement

En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé.

Le prélèvement est effectué en théorie chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

Particularités

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.

L'absence de micro-caillots doit être vérifiée.

Le dosage est couplé le cas échéant, à celui du taux de prothrombine, du TCA, à un bilan de CIVD (facteurs V et VII, PDF / D-dimères, numération du chiffre de plaquettes) ou biochimique d'insuffisance hépato-cellulaire.

Transmission

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive

Les tubes peuvent être conservés bouchés à température ambiante dans des limites acceptables

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement.

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C.

L'analyse doit être effectuée dans les quatre heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

TEST DIRECT A L'ANTIGLOBULINE (TDA)

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques.

Le test direct à l'antiglobuline permet le dépistage des auto et/ou allo anticorps IgG ainsi que des fractions du complément fixés in vivo sur les globules rouges. Il est recommandé chez les patients en cas de syndrome hémolytique clinique ou biologique ou encore en cas de réaction transfusionnelle. Il est recommandé aussi chez le nouveau-né pour déceler une éventuelle incompatibilité foeto-maternelle ainsi que chez les patients anémiés pour démontrer l'origine auto-immune de l'anémie hémolytique et chez ceux présentant d'autres maladies auto-immunes.

BIOPATHOLOGIE

L'âge du patient doit être mentionné car en cas de TDA positif, s'il s'agit d'un nouveau-né anémié, la transfusion ne pourra être réalisée qu'après avoir effectué une RAI et une EDC avec le plasma (ou le sérum) maternel.

La pathologie du patient (myélome, Waldenström) peut entraîner de fausses réactions positives lors de la détermination du TDA.

Une image de double population peut être observée en raison de transfusion incompatible dans le système ABO ou chez un patient possédant un anticorps anti-érythrocytaire. La notion de transfusion avec la date doit donc être mentionnée.

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

La détermination du TDA doit impérativement être réalisée sur un échantillon de sang prélevé sur anticoagulant : citrate ou EDTA sec et en quantité suffisante pour effectuer des contrôles et/ou des examens complémentaires.

Prélèvement

Contraintes : aucune.

Cas particulier des nouveau-nés : le bon de demande d'examen doit mentionner en plus l'identité complète de la mère et son statut immuno-hématologique (groupes sanguins ABO-RH1, phénotypes RH-KEL1, résultat et date de la dernière RAI).

Particularités

Le sang du nouveau-né prélevé au cordon risque d'être contaminé par du sang maternel, ou souillé par de la gelée de Wharton entraînant de fausses réactions positives ou encore contenir des caillots rendant impossible l'automatisation de l'analyse.

Les prélèvements hémolysés sont à éviter, car la lyse affaiblit les réactions d'agglutination et les rend difficiles à interpréter.

Transmission

Le TDA est réalisé sur un prélèvement stérile de moins de 2 jours et conservé dans de bonnes conditions à +4°C

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

TAUX DE PROTHROMBINE – TEMPS DE QUICK – INR

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques.

Le temps de Quick est le temps de coagulation d'un plasma citraté recalcifié en présence de facteur tissulaire et de phospholipides apportés en large excès par le réactif thromboplastine. Ce temps s'exprime en secondes, par rapport au temps obtenu pour un plasma témoin.

Classiquement en France, c'est l'expression en pourcentage, appelée taux de prothrombine, qui est utilisée. Ce résultat en pourcentage est obtenu en reportant le temps de coagulation obtenu pour le plasma à tester sur la droite d'étalonnage obtenue en testant des dilutions successives d'un plasma témoin normal (droite de Thivolle) ; l'activité du plasma normal étant par définition de 100%, celle du plasma normal dilué au demi de 50% etc...

Pour la surveillance des traitements anticoagulants oraux par anti-vitamines K (AVK), l'expression en INR (International Normalized Ratio) est préférée à l'expression en secondes ou en pourcentage. L'expression en INR tient compte de la sensibilité du réactif utilisé et permet de limiter les différences observées entre deux laboratoires. S'agissant d'un rapport entre deux temps de coagulation (entre celui du plasma à tester et celui du plasma témoin) élevé à la puissance ISI (indice de sensibilité international spécifique de la thromboplastine utilisée), l'INR est un chiffre sans unité.

Le taux de prothrombine explore la voie dite « extrinsèque » de la coagulation : il est abaissé en cas de déficit constitutionnel ou acquis en facteurs II, V, VII, X et/ou en fibrinogène.

BIOPATHOLOGIE

Compte tenu de l'immaturation hépatique, et, le cas échéant, d'une éventuelle carence en vitamine K chez le nouveau-né à terme ou prématuré, les taux des facteurs vitamine K dépendants (II, VII, IX, X) sont abaissés ; le taux de prothrombine est susceptible d'être abaissé en proportion du déficit en facteurs II, VII et X observé.

Le taux de prothrombine est abaissé en cas de déficit constitutionnel ou acquis en facteurs II, V, VII, X et/ou en fibrinogène.

Le taux de prothrombine est abaissé en cas d'insuffisance hépato-cellulaire ou de CIVD (coagulation intra-vasculaire disséminée).

Le taux de prothrombine est abaissé en cas de carence en vitamine K ainsi qu'au cours des traitements par AVK. De nombreux médicaments sont susceptibles d'interférer dans le métabolisme des AVK et de potentialiser ou réduire l'effet anticoagulant des AVK (se référer au dictionnaire Vidal®) ; ces interférences peuvent conduire à des variations de l'INR.

Le taux de prothrombine est abaissé au cours des traitements par l'hirudine (et ses dérivés) ainsi que lors des traitements par le mélagatran / ximélagatran.

D'autres nouveaux médicaments anticoagulants en développement sont susceptibles de modifier le taux de prothrombine.

Le fondaparinux ne modifie pas le taux de prothrombine aux concentrations utilisées en thérapeutique.

La sensibilité du taux de prothrombine aux anticoagulants circulants de type lupique est en général faible et varie d'un réactif à l'autre.

Les réactifs contiennent en général un inhibiteur de l'héparine qui rend le taux de prothrombine insensible aux concentrations d'héparine habituellement observées dans les traitements par l'héparine ou les héparines de bas poids moléculaire (HBPM).

Renseignements cliniques indispensables - contexte de la demande :

- diagnostic d'un syndrome hémorragique
- bilan systématique ou pré-opératoire
- insuffisance hépato-cellulaire
- CIVD
- suivi des traitements par AVK
- diagnostic d'une carence en vitamine K ou d'une intoxication par les AVK
- autres, à la discrétion du clinicien

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Mesure exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole). Tout autre anticoagulant est proscrit.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de Mc Gann : volume d'anticoagulant (mL) = $0,00185 \times \text{volume final (mL)} \times [100 - \text{hématocrite (\%)}]$ ou d'Ingram : volume d'anticoagulant (mL) = $\text{volume de sang (mL)} \times [100 - \text{hématocrite (\%)}] / [595 - \text{hématocrite (\%)}]$

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation de tubes en verre silicé est recommandée. L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène). La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges).

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins d'une minute (recommandation du GEHT).

L'échantillon de sang destiné au dosage du taux de prothrombine doit être prélevé après écoulement des premiers millilitres de sang (qui peuvent être utilisés pour d'autres analyses) et avant d'autres échantillons prélevés sur d'autres anticoagulants.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Prélèvement

En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé.

Le prélèvement est effectué en théorie chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique courante. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

Particularités

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.

L'absence de micro-caillots doit être vérifiée.

L'INR est considéré comme un test robuste, à la différence du TCA.

La mesure est couplée le cas échéant, à celui des facteurs de la voie extrinsèque (II, V, VII, X) ou des facteurs vitamine K dépendants (II, VII, IX, X), à un bilan de CIVD (facteurs V et VII, PDF / D-dimères, numération du chiffre de plaquettes) ou biochimique d'insuffisance hépato-cellulaire.

Transmission

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive.

Tubes conservés bouchés à température ambiante, sous réserve que celle-ci reste dans des limites acceptables.

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement.

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C.

L'analyse doit être effectuée dans les quatre heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

VITESSE DE SEDIMENTATION

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques.

BIOPATHOLOGIE

Diagnostic d'un syndrome infectieux et/ou inflammatoire

La vitesse de sédimentation est légèrement accélérée chez l'enfant et le sujet de plus de 70 ans. La vitesse de sédimentation est modérément accélérée en fin de grossesse et en période menstruelle. La polyglobulie et la présence abondante de cryoglobulines empêchent toute sédimentation des hématies, quelle que soit la pathologie.

L'anémie en fonction de son importance, multiplie par 2 à 5 le chiffre de la V.S. L'hypofibrinémie, l'hypohaptoglobulinémie et l'agammaglobulinémie empêchent la V.S. d'augmenter. L'aspirine et les anti-inflammatoires non stéroïdiens diminuent artificiellement le chiffre de la V.S. Les oestrogènes augmentent la VS

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Echantillon

Sang citraté (1,6 ml de sang veineux sur 0,4 ml de citrate)

Prélèvement

La période post-prandiale élève légèrement la V.S.

Jeûne préférable

Particularités

La VS est augmentée par l'hémodilution

Transmission

Dans les deux heures à la température ambiante

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

HEMOSTASE

ACTIVITE ANTI-Xa

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques.

La mesure de l'activité anti-Xa consiste à mesurer la capacité des médicaments anti-coagulants possédant une activité anti-Xa à inhiber le facteur Xa et, par suite, la coagulation.

NABM : 0186

BIOPATHOLOGIE

L'activité anti-Xa est utilisée lors des traitements antithrombotiques mettant en jeu des médicaments possédant une activité anti-Xa spécifique (comme c'est le cas par exemple pour le fondaparinux) ou associée à d'autre(s) activité(s), par exemple anti-IIa pour l'héparine non fractionnée ou les héparines de bas-poids moléculaire

Préciser le nom du médicament son indication et la posologie.

Nature des tests et mode d'expression des résultats : (note jointe)

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Personnes, précautions standard : CDC Atlanta

Prélèvements, échantillons : GBEA III.- 2.1.

Echantillon

Mesure exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole), en particulier dans le cas du suivi d'un traitement par l'héparine non fractionnée pour éviter la neutralisation in vitro de l'héparine par le facteur 4 plaquettaire. Tout autre anticoagulant est proscrit.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de **Mc Gann** : volume d'anticoagulant (mL) = $0,00185 \times \text{volume final (mL)} \times [100 - \text{hématocrite (\%)}]$ ou d'**Ingram** : volume d'anticoagulant (mL) = $\text{volume de sang (mL)} \times [100 - \text{hématocrite (\%)}] / [595 - \text{hématocrite (\%)}]$

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée.

L'utilisation de tubes en verre siliconé est recommandée. Des tubes à double paroi verre siliconé – matière plastique peuvent également être utilisés ; ils présentent l'avantage d'une meilleure résistance aux chocs. L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène). La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (en particulier le TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

Prélèvement

L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges).

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins de une minute (recommandation du GEHT) .

Le prélèvement est effectué en théorie chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

Le prélèvement doit être effectué au moment du pic d'activité

L'horaire de prélèvement par rapport à l'injection doit également suivre les recommandations figurant dans le dictionnaire Vidal® . Ces horaires sont résumés dans le tableau I.

		Horaire de prélèvement
	Injection intra-veineuse continue	Heure indifférente, à partir de la 6 ^{ème} heure de traitement, puis 4 à 6 heures après chaque modification de posologie
	Injection discontinue sous-cutanée	A mi-distance entre deux injections
Héparines de bas poids moléculaire	Schéma thérapeutique à deux injections sous-cutanée par jour en curatif : <ul style="list-style-type: none"> • Enoxaparine (Lovenox®) • Dalteparine (Fragmine®) • Nadroparine (Fraxiparine®) 	3 à 4 heures après l'injection
	Schéma thérapeutique à une injection sous-cutanée par jour en curatif : <ul style="list-style-type: none"> • Tinzaparine (Innohep®) • Nadroparine (Fraxodi®) 	4 à 6 heures après l'injection

Tableau I : horaires de prélèvement pour mesure de l'activité anti-Xa

L'échantillon de sang destiné à la mesure de l'activité anti-Xa doit être prélevé après écoulement des premiers millilitres de sang (qui peuvent être utilisés pour d'autres analyses) et avant d'autres échantillons prélevés sur d'autres anticoagulants.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Particularités

L'activité anti-Xa est fonction de la préparation administrée, du mode d'administration et de la posologie utilisée en fonction de l'indication du traitement. Ces valeurs attendues sont précisées dans le dictionnaire Vidal® pour les principales indications nécessitant une mesure de l'activité anti-Xa.

La mesure de l'activité anti-Xa n'est en général pas recommandée en prophylaxie et est réservée à certaines circonstances cliniques (patient insuffisant rénal, sujet âgé, femme enceinte, sujet de poids écarté des normes).

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.

L'absence de micro-caillots doit être vérifiée.

Transmission

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive

Tubes conservés bouchés à température ambiante, à condition que celle-ci reste dans des limites acceptables.

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement.

L'utilisation de tubes CTAD permet d'éviter la neutralisation de l'héparine par le facteur 4 plaquettaire et de prolonger le délai admissible entre le prélèvement et le traitement de l'échantillon par le laboratoire.

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C.

L'analyse doit être effectuée dans les deux heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine..

NOTE :

Les tests sont le plus souvent des tests chromogéniques mettant en jeu des substrats différents selon le réactif utilisé ; plus rarement, il peut s'agir de tests chromométriques. Les tests diffèrent par ailleurs notamment par la quantité de facteur Xa apportée par le réactif et l'ajout ou non d'antithrombine exogène.

Le résultat est exprimé en unités internationales anti-Xa / mL de plasma, pour l'héparine non fractionnée ou les héparines de bas poids moléculaires pour lesquelles il existe un étalon international héparine non fractionnée et un étalon international héparine de bas poids moléculaire. Pour le danaparoïde de sodium, les résultats sont exprimés en unités anti-Xa danaparoïde de sodium /mL. Pour les nouveaux antithrombotiques à activité anti-Xa tels que la fondaparinux, les résultats doivent être exprimés en unités gravimétriques (ng ou µg de produit /mL par exemple).

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

D-DIMERES

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques

Les D-dimères sont des produits de dégradation spécifiques de la fibrine.

Le résultat est exprimé en ng/mL ou µg/mL ou µg/L. Il peut s'agir selon les réactifs soit d'unités équivalent-fibrinogène (FEU), soit d'unités D-dimères (DDU). Il n'existe pas de standard international.

Codes NABM : 0176 - 0177

BIOPATHOLOGIE

Les D-dimères augmentent dans de nombreuses circonstances comme la coagulation intra-vasculaire disséminée, la thrombose veineuse profonde ou l'embolie pulmonaire, mais aussi dans les états d'hypercoagulabilité, les syndromes inflammatoires,

la fibrillation auriculaire

les infections,

les hématomes,

les artériopathies, les cancers,

ainsi qu'au cours de la grossesse

et chez le sujet âgé.

Le dosage des D-dimères est utilisé pour le diagnostic de la coagulation intra-vasculaire disséminée et pour le diagnostic d'exclusion de thrombose veineuse profonde ou d'embolie pulmonaire récente datant de moins d'une semaine.

D'autres applications actuellement non validées sont en cours d'étude dans des protocoles de recherche telles que la prédiction du risque de récurrence d'accident thrombo-embolique ou la détermination a priori de la durée de traitement anti-coagulant.

Les traitements anti-coagulants (AVK, héparine) provoquent une diminution du taux des dimères

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Personnes, précautions standard : CDC Atlanta

Prélèvements, échantillons : GBEA III.- 2.1.

Echantillon

Mesure exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole), en particulier dans le cas du suivi d'un traitement par l'héparine non fractionnée pour éviter la neutralisation in vitro de l'héparine par le facteur 4 plaquettaire. Tout autre anticoagulant est proscrit.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de **Mc Gann** : volume d'anticoagulant (mL) = 0,00185 x volume final (mL) x [100 – hématocrite (%)] ou **Ingram** : volume d'anticoagulant (mL) = volume de sang (mL) x [100 – hématocrite (%)] / [595 – hématocrite (%)]

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation de tubes en verre silicé est recommandée. Des tubes à double paroi verre silicé – matière plastique peuvent également être utilisés ; ils présentent l'avantage d'une meilleure résistance aux chocs. L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène). La taille du tube doit être adaptée au

volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (en particulier le TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

Prélèvement

En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures). L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges). L'utilisation du garrot doit être limitée à moins de une minute (recommandation du GEHT).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé.

Le prélèvement est effectué en théorie chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

L'échantillon de sang destiné à la mesure du taux de D-dimères doit être prélevé après écoulement des premiers millilitres de sang (qui peuvent être utilisés pour d'autres analyses) et avant d'autres échantillons prélevés sur d'autres anticoagulants.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Particularités

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.

L'absence de micro-caillots doit être vérifiée.

Le dosage est couplé le cas échéant à un bilan de CIVD (facteurs V et VII, PDF, numération du chiffre de plaquettes).

Transmission

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive

Tubes conservés bouchés à température ambiante, à condition que celle-ci reste dans des limites acceptables.

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement.

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C.

L'analyse doit être effectuée dans les deux heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

FACTEUR WILLEBRAND

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques.

Le facteur Willebrand est synthétisé par les cellules endothéliales et les mégacaryocytes. C'est une glycoprotéine de poids moléculaire variable formée de multimères. Il joue un rôle dans l'hémostase primaire (adhésion plaquettaire au sous-endothélium) et se lie dans le plasma au facteur VIII qu'il protège de la protéolyse.

Le facteur Willebrand constitue une entité indépendante du facteur VIII et la terminologie de facteur VIII – related antigen (ou FVIIIIRAg) doit être abandonnée aujourd'hui.

Les examens réalisés en routine sont le dosage du facteur Willebrand antigène et de l'activité cofacteur de la ristocétine. D'autres analyses, plus spécialisées, telles que l'analyse des multimères du facteur Willebrand, l'analyse de la liaison du facteur VIII au facteur Willebrand, ou l'activité de liaison au collagène sont réservées à quelques laboratoires experts.

Code NABM : 0192

BIOPATHOLOGIE

Les taux de facteur Willebrand antigène et/ou activité cofacteur de la ristocétine sont abaissés dans certaines formes de maladie de Willebrand constitutionnelles ou acquises.

Les taux de facteur Willebrand antigène et cofacteur de la ristocétine sont en revanche normaux dans la maladie de Willebrand de type 2 Normandie, dans laquelle une anomalie de liaison du facteur Willebrand au facteur VIII est en cause et qui se traduit biologiquement par un taux bas de facteur VIII, posant le problème du diagnostic différentiel avec l'hémophilie A.

Les taux de facteur Willebrand augmentent au cours de la grossesse, avec l'âge, au cours des syndromes inflammatoires et des traitements estro-progestatifs.

Les taux de facteur Willebrand sont un peu plus bas chez les sujets de groupe sanguin O que chez les sujets de groupe sanguin non O.

Antécédents personnels ou familiaux de saignements, en particulier épistaxis, gingivorragies, ménorragies

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Personnes, précautions standard : CDC Atlanta

Prélèvements, échantillons : GBEA III.- 2.1.

Echantillon

Mesure exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole), en particulier dans le cas du suivi d'un traitement par l'héparine non fractionnée pour éviter la neutralisation in vitro de l'héparine par le facteur 4 plaquettaire. Tout autre anticoagulant est proscrit.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de **Mc Gann** : volume d'anticoagulant (mL) = 0,00185 x volume final (mL) x [100 – hématocrite (%)] ou d'**Ingram** : volume d'anticoagulant (mL) = volume de sang (mL) x [100 – hématocrite (%)] / [595 – hématocrite (%)]

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation

de tubes en verre siliconé est recommandée. Des tubes à double paroi verre siliconé – matière plastique peuvent également être utilisés ; ils présentent l'avantage d'une meilleure résistance aux chocs. L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène). La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (en particulier le TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

Prélèvement

L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges).

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins de une minute (recommandation du GEHT).

En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé.

Le prélèvement est effectué en théorie chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Particularités

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.

L'absence de micro-caillots doit être vérifiée.

Le dosage est couplé le cas échéant au TCA, aux facteurs de la voie intrinsèque de la coagulation, en particulier à celui du facteur VIII, ainsi qu'au temps de saignement dont la sensibilité peut s'avérer limitée à la maladie de Willebrand, selon la méthode utilisée et l'intensité de la maladie. L'utilisation du temps d'occlusion plaquettaire sur automate PFA-100 (Dade Behring) pourrait se révéler utile au diagnostic de la maladie de Willebrand.

Transmission

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive

Tubes conservés bouchés à température ambiante, à condition que celle-ci reste dans des limites acceptables.

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement.

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C.

L'analyse doit être effectuée dans les deux heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

RESISTANCE A LA PROTEINE C ACTIVEE

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques.

La protéine C activée constitue un inhibiteur physiologique de la coagulation, lequel, en présence d'un cofacteur, la protéine S et de phospholipides, inactive le facteur V activé et le facteur VIII activé. (Note jointe)

BIOPATHOLOGIE

La résistance à la protéine C activée est l'anomalie exposant à un risque de thrombose veineuse la plus fréquente : elle est retrouvée en France à l'état hétérozygote chez environ 5% des sujets de la population générale.

Elle expose à un risque relatif de thrombose veineuse de l'ordre de 5 lorsqu'elle est présente à l'état hétérozygote et de 50 lorsqu'elle est présente à l'état homozygote.

L'association est fréquente à d'autres thrombophilies, en particulier à la mutation G20210A du gène de la prothrombine.

La recherche de la résistance à la protéine C activée fait aujourd'hui partie du bilan de thrombophilie de première intention.

Précise : antécédents personnels ou familiaux de thrombose veineuse profonde, âge, grossesse, traitement anticoagulant (AVK, héparine non fractionnée, héparine de bas poids moléculaire)

PRELEVEMENT ET TRANSMISSION DES ECHANTILLONS

Personnes, précautions standard : CDC Atlanta

Prélèvements, échantillons : GBEA III.- 2.1.

Echantillon

Mesure exclusivement sur plasma citraté, après centrifugation du sang total obtenu par ponction veineuse.

Le sang doit être prélevé sur citrate à la concentration de 3,2% soit 0,109M (recueil sur citrate 3,8% soit 0,129M acceptable), 1 volume de citrate pour 9 volumes de sang. Le citrate doit être tamponné à pH 5,1 à 5,3 de façon à assurer un pH entre 7,3 et 7,45 dans l'échantillon plasmatique. Le sang peut également être recueilli sur tube CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole), en particulier dans le cas du suivi d'un traitement par l'héparine non fractionnée pour éviter la neutralisation in vitro de l'héparine par le facteur 4 plaquettaire. Tout autre anticoagulant est proscrit.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de **Mc Gann** : volume d'anticoagulant (mL) = 0,00185 x volume final (mL) x [100 – hématocrite (%)]

ou d'**Ingram** : volume d'anticoagulant (mL) = volume de sang (mL) x [100 – hématocrite (%)] / [595 – hématocrite (%)]

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation de tubes en verre siliconé est recommandée. Des tubes à double paroi verre siliconé – matière plastique peuvent également être utilisés ; ils présentent l'avantage d'une meilleure résistance aux chocs. L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène). La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (en particulier le TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

Prélèvement

L'aiguille doit avoir un diamètre compris entre 0,7 et 1 mm (19 à 22 gauges).

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins de une minute (recommandation du GEHT).
En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé.
Le prélèvement est effectué en théorie chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude. Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Particularités

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés.

L'absence de micro-caillots doit être vérifiée.

Le dosage est couplé le cas échéant à d'autres paramètres du « bilan thrombose » (protéine S, protéine C, antithrombine, recherche de mutation G20210A du gène de la prothrombine, homocystéine...).

La recherche d'anticoagulant circulant de type lupique est intéressante à double titre : d'une part pour compléter le bilan étiologique de thrombose, et, d'autre part pour mettre en évidence une éventuelle interférence de l'anticoagulant circulant dans le test de dépistage de résistance à la protéine C activée. Le dosage de facteur V et la mesure de l'activité anti-Xa peuvent également permettre de dépister une interférence.

Transmission

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive

Tubes conservés bouchés à température ambiante, à condition que celle-ci reste dans des limites acceptables.

Transmission au laboratoire dans l'heure suivant le prélèvement.

Les tubes doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement suivant une double centrifugation à 2.000g pendant 15 minutes à une température de 15 à 20°C.

L'analyse doit être effectuée dans les deux heures suivant le prélèvement. En cas d'analyse différée, le plasma peut être congelé à -80°C. A défaut, il peut être congelé à -20°C pour une durée inférieure à une semaine.

NOTE :

L'inactivation du facteur V activé se fait par clivage au niveau d'un site principal en position 306, et de deux sites secondaires en position 506 et 679.

Chez les patients ayant une résistance à la protéine C activée, il existe une anomalie au niveau du site de clivage principal en 306, qui diminue l'activité protéolytique de la protéine C activée vis à vis du facteur V activé, se traduisant par un déséquilibre dans le sens d'une hypercoagulabilité.

Le diagnostic repose sur deux approches :

- une approche fonctionnelle basée sur des tests chronométriques de dépistage appelés tests de résistance à la protéine C activée,
- une approche moléculaire consistant à rechercher l'anomalie moléculaire principale responsable du phénotype de résistance à la protéine C activée au niveau du site de clivage principal du facteur V activé en position 306 par la protéine C activée

Cette fiche pré-analytique est limitée au test chronométrique de résistance à la protéine C activée.

Les tests de dépistage de résistance à la protéine C activée consistent à mesurer le temps de céphaline + activateur du plasma à étudier en présence de protéine C activée. En présence de

l'anomalie, les temps de coagulation sont plus longs que ceux observés en l'absence d'anomalie. Les résultats peuvent être exprimés en temps de coagulation (secondes) (tests en un temps), ou en rapport entre le temps de coagulation obtenu pour le plasma à étudier en présence de protéine C activée et le temps de coagulation obtenu pour le même plasma en absence de protéine C activée ou entre le plasma à étudier en présence de protéine C et celui d'un plasma témoin fourni par le fabricant (tests en deux temps). Les tests de première génération répondant à ce schéma réactionnel sont sensibles à l'héparine, aux traitements par anti-vitamine K, aux anticoagulants circulants, aux déficits sévères en protéine S et en facteur V, et les états d'hypercoagulabilité tels que ceux observés au cours de la grossesse peuvent conduire à des faux-positifs. Les résultats sont comparés à une valeur seuil fournie par le fabricant, qui peut dans certains cas varier d'un lot à l'autre. Dans certains cas, il peut exister une zone grise ne permettant pas de discriminer avec certitude les sujets ayant une résistance à la protéine C activée des sujets sains. Il n'existe en règle générale pas de relation entre le résultat du test de dépistage et le caractère hétéro- ou homozygote de l'anomalie moléculaire lorsque celle-ci est présente. Dans tous les cas, un test de dépistage positif doit amener à rechercher l'anomalie moléculaire, pour en confirmer la présence et en préciser le caractère hétéro- ou homozygote.

Les tests de seconde génération ont introduit une pré-dilution du plasma à étudier dans un plasma déficient en facteur V apportant l'ensemble des facteurs nécessaires à la réaction, à l'exception du facteur V dont la seule source demeure le plasma du patient à étudier. Cette amélioration a permis de limiter certaines interférences, et, en particulier, de permettre l'utilisation du test chez les patients traités par AVK.

La plupart des réactifs contiennent par ailleurs un inhibiteur de l'héparine permettant de réaliser le test chez des patients traités par héparine nonfractionnée ou héparine de bas poids moléculaire, tout du moins tant que l'activité anti-Xa ne dépasse pas une certaine valeur (en général de l'ordre de 1 unité anti-Xa/mL, valeur qui peut être dépassée dans certains schémas thérapeutiques

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.

TEMPS DE SAIGNEMENT

TEMPS D'OCCLUSION PLAQUETTAIRE

Les procédures communes aux prélèvements et particulières au laboratoire font l'objet d'instructions spécifiques.

La mesure du temps de saignement consiste à mesurer le temps nécessaire à l'arrêt d'une hémorragie provoquée par une incision « standardisée ».

Le temps de saignement renseigne sur la qualité de l'hémostase primaire.

Codes NABM : 0121 – 0171

BIOPATHOLOGIE

Le temps de saignement permet de mettre en évidence des anomalies de l'hémostase primaire : certaines thrombopathies et certaines formes de maladies de Willebrand...

Le test est sensible à la prise de certains médicaments anti-plaquettaires telles que l'aspirine, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, ou les anti-GPIIb/IIIa.

Les pièges du temps de saignement sont la thrombopénie (allonge le temps de saignement) ou la thrombocytémie (raccourcit le temps de saignement), la vasodilatation (allonge le temps de saignement) ou la vasoconstriction (raccourcit le temps de saignement) (température, enfant qui pleure...), une anémie importante (allonge le temps de saignement), une insuffisance rénale sévère (susceptible d'allonger le temps de saignement), un traitement par les β -lactamines (allongement du temps de saignement). La consommation d'ail peut également interférer dans le temps de saignement.

La mesure du temps d'occlusion plaquettaire à l'aide d'un automate dédié, le PFA-100, simulant une brèche vasculaire réalise un « temps de saignement in vitro ». Différents agonistes sont utilisés et la méthode semble performante pour le diagnostic de certaines formes de maladie de Willebrand et pour dépister une prise d'aspirine.

L'hémolyse peut interférer sur les résultats du temps d'occlusion plaquettaire

Renseignements cliniques indispensables :

antécédents hémorragiques personnels ou familiaux, âge, grossesse, traitement anti-plaquettaire (aspirine, AINS, anti-agrégants plaquettaires)

REALISATION / PRELEVEMENT – TRANSMISSION DE L'ECHANTILLON

Personnes, précautions standard : CDC Atlanta

Prélèvements, échantillons : GBEA III.- 2.1.

Réalisation du temps de saignement

Deux méthodes sont principalement utilisées :

- la méthode de Duke consiste à pratiquer une incision horizontale de 5 à 6 mm de longueur à l'aide d'une « micro-lance » au lobe de l'oreille préalablement désinfecté à l'éther. Un chronomètre est déclenché à l'apparition de la première goutte de sang et toutes les trente secondes le sang est absorbé avec un papier filtre, en prenant soin de ne pas toucher à l'incision, jusqu'à l'arrêt du saignement. Le temps de saignement est considéré comme normal avec cette méthode s'il est inférieur à 5 minutes et pathologique s'il est supérieur à 7 minutes. Cette méthode, assez mal standardisée, est également assez peu sensible.
- La méthode d'Ivy consiste à utiliser un brassard de tensiomètre de façon à assurer une contre-pression de 40 mm de mercure et à utiliser un dispositif d'incision standardisé permettant un meilleur contrôle de la longueur et de la profondeur de l'incision. Le sang est recueilli toutes les minutes à l'aide d'un papier filtre dans des conditions similaires à celles de la méthode de Duke. Le temps de saignement est normal s'il est inférieur à 7 minutes et pathologique au-delà de 10 minutes. La méthode d'Ivy est réputée plus sensible que la méthode de Duke.

Une variante consiste à remplacer l'incision horizontale par 3 points d'incision, puis à recueillir le sang dans les mêmes conditions que précédemment.

Une deuxième variante consiste à mesurer la quantité de sang écoulee.

Ces deux variantes sont peu utilisées en pratique.

Echantillon

Temps d'occlusion plaquettaire (PFA-100)

La mesure est effectuée exclusivement sur sang total citraté (0.129M ou 0.105M), après écoulement des premiers millilitres de sang dans un tube sec. Tout autre anticoagulant est proscrit. L'échantillon doit être analysé dans les quatre heures suivant le prélèvement et l'analyse ne peut pas être différée. 2 fois 800 µL de sang total sont au minimum nécessaires pour réaliser le test.

En cas d'hématocrite éloigné des normes (<30% ou >55%), le volume d'anticoagulant doit être adapté selon la formule de **Mc Gann** : volume d'anticoagulant (mL) = 0,00185 x volume final (mL) x [100 – hématocrite (%)] ou d'**Ingram** : volume d'anticoagulant (mL) = volume de sang (mL) x [100 – hématocrite (%)] / [595 – hématocrite (%)]

L'utilisation de tubes sous-vide est recommandée. Dans tous les cas : respecter le volume de sang à prélever. Une tolérance de 10% par rapport au volume nominal peut être acceptée. L'utilisation de tubes en verre siliconé est recommandée. Des tubes à double paroi verre siliconé – matière plastique peuvent également être utilisés ; ils présentent l'avantage d'une meilleure résistance aux chocs. L'utilisation de tubes en matière plastique est possible si elle a été validée (l'utilisation de polypropylène serait préférable à celle du polystyrène). La taille du tube doit être adaptée au volume de l'échantillon. Les tubes à remplissage partiel ont été incriminés pour certains tests (en particulier le TCA) et doivent donc être évités dans l'attente d'études plus complètes.

Prélèvement

Temps d'occlusion plaquettaire

En dehors du contexte de l'urgence, le prélèvement est en général effectué le matin (entre 7 et 11 heures).

Le sujet doit être de préférence à jeun : café, tabac et alcool doivent être évités dans l'heure qui précède le prélèvement. Un petit déjeuner sans matières grasses peut être autorisé.

Le prélèvement est effectué en théorie chez le patient en position couchée depuis 30 minutes. Cette précaution est négligée en pratique. Le prélèvement peut être effectué chez le patient en position assise.

Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude.

L'aiguille doit avoir un diamètre égal ou supérieur à 21 gauges.

L'utilisation du garrot doit être limitée à moins d'une minute.

Les prélèvements sur cathéters sont proscrits (risques de souillure par l'héparine et d'activation de la coagulation). En cas de nécessité absolue, le sang peut être prélevé sur cathéter après rejet des 5 à 10 premiers millilitres de sang.

Les tubes doivent être soigneusement agités par 8 à 10 retournements successifs afin d'homogénéiser le sang et l'anticoagulant.

Particularités

Le temps de saignement est utilisé pour explorer l'hémostase primaire chez des patients ayant des antécédents hémorragiques personnels ou familiaux.

Son intérêt en tant qu'examen systématique en pré-opératoire est discuté.

Le temps de saignement ne doit pas être réalisé chez un patient ayant une thrombopénie inférieure à 50 G/L, ni chez des sujets chez lesquels on retrouve une prise de médicament anti-plaquettaire dans les 7 à 10 jours précédant l'examen.

Les prélèvements lactescents ou hémolysés doivent être rejetés. L'absence de micro-caillots doit être vérifiée.

Transmission

Temps d'occlusion plaquettaire

Transport en position verticale.

Eviter toute agitation intempestive

Tubes conservés bouchés à température ambiante, à condition que celle-ci reste dans des limites acceptables.

L'analyse doit être effectuée dans les 4 heures suivant le prélèvement.

L'horodatage du prélèvement ou du recueil, de l'acheminement et de la réception de chaque échantillon au laboratoire ainsi que l'identification de toutes les personnes qui accomplissent ces tâches sont essentiels.