

Université Pierre et Marie Curie
Paris 6

MEMOIRE
POUR L'OBTENTION DU DIPLOME UNIVERSITAIRE
« ASSURANCE QUALITE AU LABORATOIRE
DE BIOLOGIE MEDICALE »

HABILITATION DU SECTEUR HEMOSTASE

Yolande LEMEILLE
Année 2010-2011

NOTE AU LECTEUR

« Les mémoires des stagiaires du « Diplôme Universitaire » « Assurance Qualité du laboratoire de biologie médicale » sont des travaux réalisés pendant l'année de formation.

Les opinions exprimées n'engagent que les auteurs.

Les travaux ne peuvent faire l'objet d'une publication en tout, ou partie, sans l'accord de l'auteur et du responsable du DU concerné. »

Auteur :

Dr Yolande LEMEILLE

Pharmacien biologiste assistant spécialiste – Responsable assurance qualité

Laboratoire central - Centre Hospitalier Sainte Anne

1 rue Cabanis, 75014 PARIS

REMERCIEMENTS

Je remercie le Docteur Michel VAUBOURDOLLE et le Docteur Pascal PERNET de m'avoir accueillie au sein de leur enseignement.

Je remercie tous les intervenants du DU pour la qualité de leurs enseignements.

Je remercie le Dr PIKETTY et le Dr NIEL pour m'avoir permis de réaliser ce travail dans le laboratoire de biologie de l'hôpital Sainte Anne.

Je remercie enfin l'ensemble des techniciens et des biologistes pour leur participation.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	7
PRESENTATION DU LABORATOIRE	8
Organigramme du Laboratoire	8
Rôle au Laboratoire	9
Avancement dans l'accréditation du Laboratoire	9
INTERÊT ET OBJECTIFS	10
Norme ISO 15189	10
Etat des lieux en Janvier 2011	10
Objectifs.....	10
METHODOLOGIE	11
Rédaction des documents.....	11
Procédure générale d'habilitation-formation (Annexe I)	11
Fiches d'habilitation d'hémostase (Annexes II et III)	11
Fiches « Conduite à tenir en Hémostase » (Annexe IV)	12
Commentaires du système informatique du Laboratoire (Annexe V).....	13
Présentations power point (Annexes VI à X).....	13
Habilitation et formation du personnel.....	14
Calendrier de la méthodologie	14
RESULTATS	15
Rédaction des documents.....	15
Habilitation du personnel.....	15
ANALYSE ET INTERPRETATION	17
Objectifs	17
Difficultés rencontrées.....	17
CONCLUSION	19
BIBLIOGRAPHIE	20
ANNEXES	21

GLOSSAIRE

ACC : Anti Coagulant Circulant

CHSA : Centre Hospitalier Sainte Anne

CQ : Contrôle de qualité

CS : Complexes solubles

PDF : Produit de dégradation de la fibrine/ du fibrinogène

TCA : Temps de Céphaline Activée

TP : Taux de Prothrombine

INTRODUCTION

Selon la norme EN ISO 15189 (§ 5.1- Personnel), les laboratoires de Biologie médicale sont tenus de s'assurer que l'ensemble du personnel est habilité aux tâches exercées selon des dispositions pré-établies et des critères si possible objectifs, et que cette habilitation est périodiquement revue.

Le travail de ce mémoire porte sur l'habilitation du personnel (techniciens et biologistes) sur le secteur Hémostase au laboratoire de Biologie du Centre Hospitalier Sainte Anne. L'habilitation du personnel sur ce secteur permettra d'assurer et de suivre les compétences pour réaliser les examens et les valider. L'objectif à long terme est que tout le personnel concerné soit habilité.

Après une présentation du laboratoire, les objectifs et la méthodologie de cette habilitation seront vus en détail ; enfin les résultats et les problématiques rencontrés seront traités.

PRESENTATION DU LABORATOIRE

Le Laboratoire Central de Biologie est situé dans l'enceinte du Centre Hospitalier Sainte-Anne (CHSA), 1 rue Cabanis, 75014 Paris. Le CHSA construit en 1867 est aujourd'hui un pôle de référence en Psychiatrie et en Neurosciences. Le Laboratoire Central existe depuis le début des années 1970. Il appartient au Pôle Médico-Technique de l'Hôpital, incluant également le Laboratoire d'Anatomopathologie et la Pharmacie.

Le Laboratoire Central répond aux demandes d'examens de routine et d'urgence de l'ensemble des services cliniques de l'Hôpital (psychiatrie, Neurologie/Neurovasculaire, Neurochirurgie et Neuroréanimation) ainsi que ceux d'Hôpitaux et structures médicales partenaires (Hôpital H. EY, Polyclinique Wurtz...). C'est un service pluridisciplinaire, ouvert 24h/24, 7 jours/7. Le personnel médical participe à la permanence des soins en assurant des astreintes opérationnelles. Le Laboratoire participe, une fois tous les 6 jours, à la grande garde de Neurochirurgie de l'Île de France.

Les prestations du Laboratoire couvrent les domaines suivants :

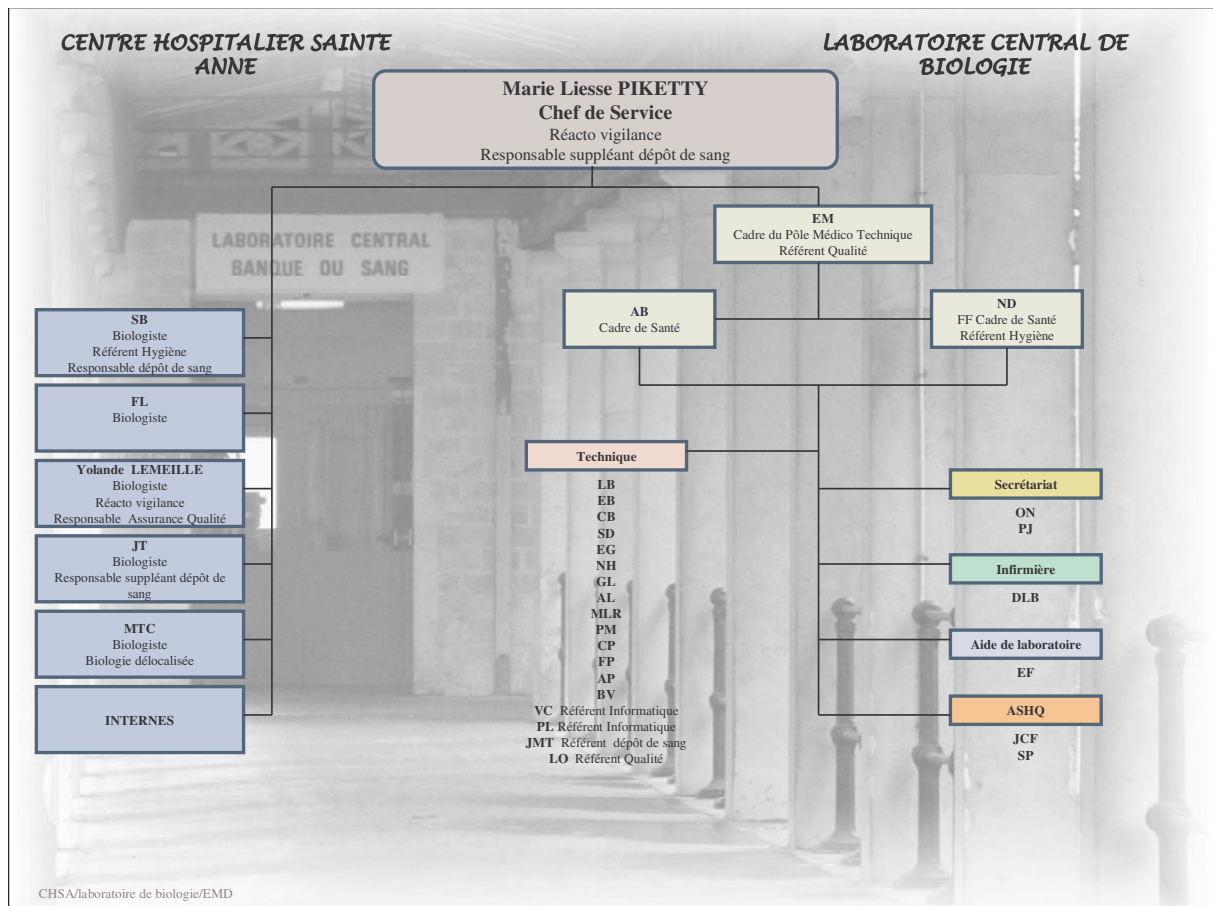
- Activités de base : **Biochimie, Hématologie, Hémostase, Microbiologie, Sérologie, Hormonologie et Immunohématologie.**
- Activités spécifiques : **Pharmacologie, Toxicologie, Hormonologie, Immunochimie du LCR, Bilans de thrombose.**
- Activités transversales : **Dépôt de sang et Hygiène environnementale**

Pour le secteur Hémostase, le laboratoire possède depuis mars 2009 deux automates : un **ACL TOP 500** et un **ACL 7000** (automate de secours) de chez Instrument Laboratory. Depuis août 2011, l'ACL 7000 a été remplacé par un **ACL ELITE**. Les prestations du Laboratoire couvrent les examens suivants :

- Hémostase de routine: TP, TCA, Fibrinogène, DDimères, héparinémie/activité anti-Xa, Facteur V, PDF, complexes solubles ;
- Hémostase « spécialisée »: facteurs, bilans de thrombose/ACC.

Organigramme du Laboratoire

Le Laboratoire est sous la direction du Chef de service le Docteur Marie Liesse PIKETTY. L'équipe est composée de 33 personnes. L'organisation générale du laboratoire est définie par l'organigramme (page suivante). Les responsabilités sont définies pour l'ensemble du personnel.



Organigramme du Laboratoire central au 14/08/2011

Rôle au Laboratoire

J'ai une formation de pharmacien biologiste et je suis assistante spécialiste depuis Novembre 2009 au Laboratoire de Biologie du CHSA. Le secteur Hémostase a été placé sous ma responsabilité. Je suis également responsable assurance qualité, étant aidée par un cadre référent qualité et un technicien référent qualité.

Avancement dans l'accréditation du Laboratoire

Le Laboratoire est adhérent à Bioqualité depuis Mai 2010 et l'accréditation du Laboratoire passera par la qualification 36 mois Bioqualité (voie B).

INTERÊT ET OBJECTIFS

Norme ISO 15189

Le chapitre « 5.1-Personnel » de la Norme porte sur les exigences techniques du personnel :

§ 5.1.11 : « La compétence de chaque membre du personnel pour remplir les tâches imparties doit être évaluées à l'issue de la formation puis périodiquement par la suite. Un recyclage et une réévaluation doivent être effectués si nécessaire. »

Etat des lieux en Janvier 2011

En début d'année, aucune habilitation n'avait été commencée sur aucune paillasse.

6 biologistes, 1 interne et 18 techniciens peuvent être amenés à valider techniquement ou biologiquement des résultats d'hémostase. Deux techniciens et moi-même sommes référents de ce secteur et nous avons pu bénéficier d'une formation spécifique de 3 jours en 2010 par le fournisseur des automates et des réactifs Instrument Laboratory.

L'activité sur le secteur se découpe selon les horaires du Laboratoire :

- 8h à 17h : activité de journée
- 17h-21h et 21h-8h : activité de veille/nuit

Les examens d'hémostase de routine (TP, TCA, TCK, Fibrinogène, DDimères, PDF, CS, héparinémie, activité anti-Xa, Facteur V) sont réalisés 24h/24h.

Les examens d'hémostase « spécialisée » (bilan de thrombose (recherche d'anticoagulant circulant lupique, protéine C, protéine S, Antithrombine III), dosage des facteurs (voie endogène et voie exogène)) sont réalisés en journée.

Objectifs

L'objectif est 100% d'habilitation pour les techniciens et les biologistes en 2011.

METHODOLOGIE

Rédaction des documents

La première phase de l'habilitation a été de rédiger les documents manquants au niveau du laboratoire :

- Création d'une « Procédure générale d'habilitation-formation » (Annexe I) ;
- Création de fiches d'habilitation d'hémostase avec l'aide des technicien référents du secteur. (Annexes II et III) ;
- Création de fiches « Conduite à tenir en Hémostase » (Annexe IV) ;
- Mise à jour des commentaires du système informatique du Laboratoire (Annexe V) ;
- Création de petites présentations power point (Annexes VI à X).

Procédure générale d'habilitation-formation (Annexe I)

Chaque processus du laboratoire doit être décrit par une procédure générale. Nous avons donc rédigé une procédure expliquant les modalités de formation et d'habilitation de l'ensemble du personnel du laboratoire.

Cette procédure décrit notamment comment se passe l'habilitation du personnel en s'appuyant sur les fiches d'habilitation, le binôme avec une personne déjà habilitée sur le secteur et la formation par les référents du secteur (biologistes et techniciens). Elle indique que les habilitations sont revues chaque année et que toute absence supérieure à 4 mois entraîne une réévaluation. Ces fiches sont ensuite archivées dans un dossier personnel conservé par le chef de service (pour les biologistes) ou par les cadres (pour les techniciens).

La procédure décrit également les modalités de formations internes d'un fournisseur à l'arrivée d'un nouvel automate ou logiciel. Elle fait également référence au plan de formation du centre hospitalier.

Fiches d'habilitation d'hémostase (Annexes II et III)

Concernant la fiche d'habilitation, une fiche « technique » et une fiche « biologique » ont été créées. Chacune des fiches est divisée en trois parties : hémostase de routine, hémostase spécialisée et hémostase référent. Le premier niveau correspond aux examens pouvant être demandés 24h/24h. Le deuxième niveau correspond à une activité de journée (bilan de thromboses et dosage de facteurs). Le troisième niveau est celui de référent et nécessite d'avoir assisté à la formation par le fournisseur (3 jours sur le site Instrument Laboratory).

Les fiches contiennent plusieurs items :

- L'automate : fonctionnement général de l'appareil, comment réaliser une analyse (etc...) ;
- Le logiciel : se connecter, gérer les résultats de patients, les contrôles de qualité internes, les réactifs, les calibrations, les maintenances, les alarmes (etc...) ;
- Les documents disponibles à la paillasse : modes opératoires, conduites à tenir, manuels du fournisseur (etc...) ;
- Les présentations power points : rappels d'hémostase et principes des tests.

La fiche « biologiste » reprend une partie des items de la fiche « techniciens » mais les différents points technique/automate sont vus plus rapidement. Le biologiste de routine doit surtout savoir lire les CQI, retrouver un résultat de patient et savoir interpréter ce résultat sur l'automate (repassage, dilution...). En revanche, les présentations power point sont plus complètes pour aider à l'interprétation biologique des résultats.

La notion de suivi d'habilitation devait à l'origine aboutir sur un «quizz/entretien d'habilitation» et a finalement été simplifiée en deux éléments. Le premier est un quota par année de nombre de jours de présence au secteur Hémostase pour les techniciens et un nombre de jours de validation pour les biologistes. Le second est une question sur la conduite à tenir face à un résultat perturbé. Le suivi d'habilitation permet également de s'entretenir avec les différents personnels et de remettre à jour certains points.

Fiches « Conduite à tenir en Hémostase » (Annexe IV)

La fiche « Conduite à tenir en Hémostase » reprend les consignes de base de validation technique (vérifier le remplissage du tube avant de le mettre sur l'automate) et les principales actions que le technicien doit savoir en cas de résultat perturbé (TP ou TCA allongés, TP ou TCA raccourcis, Fibrinogène bas, DDimères positifs) : vérifier le traitement du patient, recontrôler le résultat, vérifier la présence d'un caillot. L'automate est relié à un logiciel intermédiaire (TAD Bayer®). Le résultat brut est d'abord transmis au TAD puis au logiciel LMX du laboratoire. Des bornes de repassages ont été paramétrées sur le TAD et correspondent aux valeurs d'hémostase perturbées (exemples : TP<75%, ratio TCA>1.2). Le technicien est donc alerté si un résultat a besoin d'être contrôlé. En rouge sont notées les valeurs à téléphoner impérativement : TP<15%, TCA >180 secondes, héparinémie >0.7 UI/mL, activité anti-Xa >1.5 UI/mL, fibrinogène <1 g/L, suspicion de CIVD.

Cette fiche permet d'harmoniser les pratiques techniques et biologiques entre tout le personnel du laboratoire. Elle est également utile en horaire de veille et de nuit où le technicien est seul au laboratoire ; il peut se référer à cette fiche en cas de problème et appeler le biologiste d'astreinte si besoin.

La fiche a été rédigée sous trois formes différentes : logigramme, tableau, flèches. J'ai effectué un premier sondage en Mai auprès des techniciens pour savoir sous quelle forme ils préféraient la fiche. Les réponses ont été égales sur les trois types de présentation. Cette fiche sera donc laissée sous trois formes. Etant à l'essai avec l'habilitation, elle n'a pas encore été mise sous format qualité.

Commentaires du système informatique du Laboratoire (Annexe V)

Les commentaires LMX du laboratoire ont été mis à jour et certains ont été modifiés ou rajoutés. Ils permettent de gagner du temps sur le rendu du résultat et d'harmoniser les pratiques entre biologistes. Les techniciens peuvent également se servir de ces commentaires (prélèvement hémolysé, absence de caillots...). Si besoin, les biologistes peuvent aussi écrire un commentaire en texte libre.

Présentations power point (Annexes VI à X)

Cinq présentations power points ont été créées afin pour l'habilitation en Hémostase. Ces présentations ont pour but de faire des rappels (physiologie de l'hémostase, traitements...), d'expliquer les principes des tests et de revoir les conduites à tenir en cas de résultats perturbés. Pour des raisons de simplicité, les premières diapositives des présentations sont les mêmes pour les techniciens et les biologistes. Après la diapositive « *fin du diaporama technique* », le power point est complété avec un diaporama destiné aux biologistes et apportant des notions supplémentaires pouvant être utile à la validation biologique et au dialogue clinico-biologique.

La première présentation est destinée au niveau « hémostase de routine », c'est-à-dire à toute personne techniquant ou validant de l'hémostase. Elle reprend les notions de base d'hémostase (cascade de coagulation), de fibrinolyse, les principes des tests courant comme le TP ou le TCA, ainsi que les principales causes d'allongement des temps de coagulation et les résultats urgents à téléphoner.

Cette première formation est complétée par une présentation sur les traitements anticoagulants anti-vitamines K et héparines : différents médicaments et leurs effets, suivi des traitements, principes des tests. Les biologistes ont en plus un rappel sur la thrombopénie induite à l'héparine et des notions sur les nouveaux traitements anticoagulants (Xarelto® et Praxada®) pouvant interférer sur les tests d'hémostase.

Les trois autres diaporamas power points sont liés à l'habilitation en « hémostase spécialisée », c'est-à-dire hémostase de journée avec possibilité de doser des facteurs et de faire des bilans de thrombose ou des recherches d'anticoagulant circulant lupique.

La présentation sur les facteurs explique notamment les interférences possibles avec les ACC et les dilutions faites par l'automate. Les biologistes ont un rappel sur la demi-vie des facteurs de coagulation et des rappels sur les anticorps anti-facteurs ou les déficits en facteurs. La présentation sur les bilans de thrombose reprend notamment les principes des tests effectués (résistance à la protéine C activée, dosage de l'antithrombine, dosage de la protéine C, dosage de la protéine S libre) et les interférences possibles. La présentation sur la recherche des anticoagulants circulants explique la différence entre un anticorps anti-facteur et un ACC lupique et les principes des tests pour les mettre en évidence.

Habilitation et formation du personnel

L'habilitation du personnel a commencé au niveau de la paillasse en juillet 2011. Dès qu'un technicien travaillait sur le secteur Hémostase, l'habilitation débutait : remplissage des premiers items de la grille, notamment sur le fonctionnement de l'automate, et présentation « Hémostase de routine ». L'habilitation des biologistes s'est réalisée selon les disponibilités de chacun.

Calendrier de la méthodologie

Un calendrier prévisionnel a été rédigé en début d'année notamment pour planifier la rédaction des documents.

Quoi	Quand	Qui
Création de la procédure générale d'habilitation-formation	Mai 2011	YL + biologistes +référénts qualité
Création de la fiche d'habilitation sous forme de documents qualité	Mai 2011	YL + référénts secteur Hémostase
Fiche « conduite à tenir en hémostase » à la paillasse	Mai 2011	YL + biologistes
Paramétrage et harmonisation de la validation biologique	Juin-Juillet 2011	YL + biologistes
Habilitation des techniciens	Juillet 2011 → Déc 2011	YL + référénts secteur Hémostase
Habilitation des biologistes	Juillet 2011 → Déc 2011	YL

Calendrier de la méthodologie de l'Habilitation du secteur Hémostase

RESULTATS

Rédaction des documents

Tous les documents nécessaires à l'habilitation ont pu être rédigés. La procédure générale d'habilitation a été rédigée avec les biologistes et les cadres du laboratoire.

Les fiches d'habilitation ont été rédigées par les techniciens référents du secteur et par moi-même.

Habilitation du personnel

L'habilitation du personnel a commencé au niveau de la paillasse en juillet 2011. Une nouvelle technicienne a été embauchée fin Juin et a travaillé sur le secteur Hémostase Juillet et Août 2011. Elle a donc pu être habilitée sur les deux niveaux d'hémostase : routine et hémostase spécialisée.

Les autres techniciens ont été habilités au fur et à mesure pendant l'été, en général lorsqu'ils étaient en horaire de veille, et donc utilisaient l'automate d'hémostase. Pour la plupart des techniciens, les premiers items de la grille ont été vus (fonctionnement général de l'automate et du logiciel) et la présentation « Rappel d'hémostase » a été faite. L'automate ACL TOP 500, étant en mis en place au laboratoire depuis Mars 2009, la plupart des techniciens connaissaient bien son utilisation. L'habilitation a notamment permis de remettre certains points à jour, d'harmoniser les pratiques avec la fiche de conduite à tenir et de faire des rappels avec les présentations power point.

Le principal changement a été l'automate de secours. L'ACL 7000 a été remplacé par un ACL ELITE fin juillet. Deux jours de formation pour les techniciens ont eu lieu au moment de l'installation et un troisième jour est prévu en octobre 2011. Un nouveau mode opératoire est en rédaction par la technicienne nouvellement embauchée. Pour compléter la formation, tous les techniciens sont amenés à tester au moins une fois l'automate (passage d'un CQ et d'un prélèvement de patient) et à faire part de leur suggestion sur le mode opératoire si besoin.

Début septembre, les techniciens ont recommencé à tourner sur le secteur en horaire de journée. Ils restent en général une semaine complète sur le secteur et l'habilitation a pu continuer pour tous.

Au 15 septembre, 44% des techniciens et 33% des biologistes ont débuté l'habilitation, quatre techniciens ont été habilités (un niveau « hémostase spécialisée » et trois niveaux « hémostase routine »).

L'objectif est d'habiliter 100% des techniciens et des biologistes. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Nom	Habilité ? (oui/non)	Niveau	% de personnes habilitées	Objectifs
18 Techniciens				
LB (pharmacologie)	oui	routine	44% en cours ou habilités	100%
EB				
CB (pharmacologie)				
VC	En cours			
SD	oui	spécialisé		
EG	En cours			
NH	En cours			
GL	oui	routine		
PL				
AL (pharmacologie)				
CP	En cours			
FP				
APH				
BV				
PM (nuit)				
JMT				
LO	oui	routine		
ML (nuit)				
6 Biologistes				
PN			33% en cours	100%
SB				
FL	En cours			
JT				
MBL				
Interne RM	En cours			

Etat des lieux en Septembre 2011

ANALYSE ET INTERPRETATION

Objectifs

L'objectif initial est d'habiliter 100% des techniciens et des biologistes. Les techniciens sont polyvalents et travaillent sur tous les secteurs du laboratoire. Ils peuvent être amenés à effectuer des examens d'hémostase spécialisés. L'objectif est donc de 100% niveau hémostase spécialisée pour tous les techniciens, excepté ceux en horaires de nuit. L'objectif pour fin octobre est 100% d'habilitation en hémostase routine et d'ici fin décembre 100% en spécialisée.

Difficultés rencontrées

Manque de temps/disponibilité

La principale difficulté rencontrée est le problème de disponibilité des différents acteurs (personne formatrice et personne formée). L'habilitation prend du temps : remplissage de la fiche, présentations power point, entraînement sur le nouvel automate de secours (etc...). Or les techniciens et biologistes sont souvent occupés par d'autres activités de routine et il n'est pas facile de trouver un moment de libre, autant pour la personne formée que pour le formateur. Cette difficulté a été accentuée par le fait que la nouvelle technicienne embauchée a occupé le poste d'hémostase en juillet et en août alors qu'en temps normal, tous les techniciens tournent sur tous les secteurs. Il n'a donc pas été facile de trouver des moments de libre pour aller se reformer sur un secteur différent de celui occupé en routine. L'habilitation se fait en plusieurs fois mais nécessite du temps et surtout du calme, ce qui est difficile à avoir sur un plateau technique. L'habilitation « hémostase routine » de l'ACL TOP prend au minimum 30 minutes et dépend des connaissances de la personne. Les présentations power point sont assez courtes et peuvent être effectuées chacune en 10-15 minutes. Elles sont faites si possible devant plusieurs techniciens pour gagner du temps.

La deuxième difficulté a été l'arrivée de l'ACL ELITE. Le temps disponible des techniciens a été mis prioritairement pour se former à ce nouvel automate. L'entraînement sur celui-ci nécessite au moins 30 minutes par personne. Tous les techniciens doivent savoir passer un CQ et un patient.

Techniciens de nuit

Au laboratoire, deux techniciens travaillent exclusivement en horaires de nuit (21h à 7h). A ce jour, l'habilitation n'a pas été débutée. Ces deux techniciens passent chaque année quelques jours en horaires de journée afin de se reformer sur les différents secteurs. Leur passage en horaire de journée devrait se faire en octobre 2011, leur habilitation en « Hémostase routine » sera faite à cette occasion.

Techniciens du secteur de Pharmacologie

Le laboratoire de Biologie est un laboratoire polyvalent mais avec des secteurs très spécialisés comme le secteur de Pharmacologie qui effectue les dosages de psychotropes. Ce secteur étant très spécialisé, seuls trois techniciens sont formés et y travaillent. Ils tournent donc assez peu sur les autres secteurs. Mi-septembre, une technicienne de Pharmacologie est venue travailler sur le plateau technique et a pu être habilitée en Hémostase. Pour les autres, l'habilitation se fera au moment de leur passage sur le plateau technique.

CONCLUSION

Afin de répondre aux exigences de la Norme EN ISO 15189, le Laboratoire de Biologie du CHSA a commencé les habilitations du personnel par le secteur Hémostase en 2011.

Divers documents qualité ont été rédigés avec l'aide des référents du secteur : procédure générale d'habilitation, conduites à tenir, grilles d'habilitation, présentations power point. L'habilitation en Hémostase a permis de faire le point sur ce secteur et de clarifier certains éléments (utilisation des automates, conduite à tenir...), de faire des rappels très utiles (présentations power point) et d'harmoniser les pratiques.

La principale difficulté est le manque de temps et de disponibilité des personnes formées et des formateurs (routine du laboratoire à gérer, problème des techniciens en horaire de nuit et des techniciens travaillant au secteur de Pharmacologie). L'objectif de 100% d'habilitation n'a pas été atteint en septembre 2011 (44% d'habilitation des techniciens commencée). Il devrait l'être en Décembre 2011. Le suivi de ces habilitations pourra ensuite se faire chaque année.


D'autres secteurs du laboratoire vont bientôt commencer leur habilitation. Courant 2011, les techniciens référents des différents secteurs ont rassemblé les différents points à connaître afin de créer de nouvelles fiches d'habilitation. Ces habilitations seront suivies chaque année.

BIBLIOGRAPHIE

- Norme EN ISO 15189 (§ 5.1- Personnel)
- SH REF 02 « Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale »
- « Guide des analyses spécialisées (5^{ème} édition) » - Laboratoire Cerba
- CATHERINE Cédric, « Formation, qualification et habilitation du personnel sur un poste automatisé d'allergologie : l'Immunocap 250 », Mémoire pour l'obtention du diplôme universitaire « Assurance qualité au laboratoire de biologie médicale, Paris VI », 2008-2009.
- RUSE Etienne, « Amélioration du processus d'intégration et de formation continue du personnel », Mémoire pour l'obtention du diplôme universitaire « Assurance qualité au laboratoire de biologie médicale, Paris VI », 2009-2010.
- SORLUT Natacha, « La gestion des compétences du personnel », Mémoire pour l'obtention du diplôme universitaire « Assurance qualité au laboratoire de biologie médicale, Paris VI », 2008-2009.
- <http://site.geht.org/Accueil/>

ANNEXES

Annexe I : Procédure générale d'habilitation et formation

	PROCEDURE	OPC-LABO-PRO 33
	Habilitation et formation du personnel au laboratoire central	Personnel 1/2 Version 1 Date de diffusion : 12/05/2011

Date de création : 10/02/2011	Date de mise à jour : 06/05/2011
Date de validation : 06/05/2011	

Rédaction	Validation	Vérification
Yolande LEMEILLE Biologiste référent qualité	Marie Liesse PIKETTY Biologiste Chef de service	Edith MOUCHET Cadre Référent qualité

Personnel concerné	Lieux de diffusion
• Personnel médical et médico technique	• Classeur Qualité secteur Personnel

1 Objet et domaine d'application

Ce document qualité est destiné à expliquer les modalités de formation et d'habilitation de l'ensemble du personnel du Laboratoire.

2 Documents de référence

- Norme ISO 15189 : 2007 , « chapitre 5.1 : Personnel »

3 Description de la procédure

3.1 Nouveau personnel au Laboratoire

Tout nouveau personnel au laboratoire bénéficie d'une présentation et visite du laboratoire ainsi qu'une remise de documents (consignes de sécurité, utilisation du logiciel informatique, engagement au respect de la confidentialité...).

OPC-LABO-PRO 31 « Procédure d'accueil de tout nouveau personnel au Laboratoire central de biologie »

Tout nouveau personnel travaille d'abord en binôme avec une personne habilitée sur le secteur concerné.

3.2 Habilitation du personnel pour chaque secteur

Une personne ne peut réaliser une tâche dans le laboratoire que si elle a été préalablement habilitée et dispose donc des compétences nécessaires pour cette tâche.

Chaque secteur dispose d'une ou plusieurs fiches d'habilitations (différents niveaux d'habilitation) qui se présentent en général sous forme de grilles. Les différents items demandés sont remplis au fur et à mesure de la formation par la personne formatrice, si possible le biologiste référent du secteur. L'habilitation est ensuite validée par les référents du secteur.

OPC-LABO-FE 50 « Fiche d'habilitation du personnel »

Les habilitations sont révisées chaque année par un référent du secteur, ainsi que suite à une absence prolongée (arrêt de travail >4 mois ou congé maternité). Le suivi annuel d'habilitation tient compte du temps passé dans le secteur concerné et permet de réviser les points critiques du secteur.

3.3 Formations internes et externes au Laboratoire


Formations internes

Pour tout nouvel automate ou tout nouveau logiciel informatique au Laboratoire, une formation minimale est demandée au fournisseur pour tous les membres du personnel concerné.

Formations externes

Le Pôle Formation du CH Sainte-Anne organise chaque année un plan de formation pour tout le personnel hospitalier.

Les formations pour devenir référent technique d'un automate sont organisées selon l'offre du fournisseur et après discussion entre techniciens et cadres selon les compétences recherchées.

	PROCEDURE	OPC-LABO-PRO 33
	Habilitation et formation du personnel au laboratoire central	<i>Personnel</i> 2/2 Version 1 Date de diffusion : 12/05/2011

Les biologistes référents d'un secteur sont amenés à faire ces formations spécifiques si possible.
Les biologistes participent au développement professionnel continu (DPC) selon l'obligation de formation.

3.4 Enregistrement et archivage des compétences

Un dossier individuel pour chaque personne travaillant au laboratoire est conservé par les cadres ou par le chef de service (pour les biologistes). Il s'y trouve les attestations des :

- habilitations des différents secteurs
- formations internes au CH Sainte-Anne (formation incendie, formation risques chimiques, formation AGFSU...)
- formations externes au CH Sainte-Anne (formation fournisseurs, journées de formation biologique...)

Des entretiens d'évaluation des techniciens sont réalisés chaque année pour faire un point sur le poste occupé, un bilan de la période précédente et pour fixer des objectifs pour la période suivante (plan de formations à établir).

Les diplômes, qualifications professionnelles et CV sont conservés par la Direction des Ressources Humaines du CH Sainte-Anne.

4 Responsabilités

Cette procédure est sous la responsabilité du chef de service et du cadre référent du secteur.

5 Enregistrement/Archivage

La présente procédure est archivée dans le classeur du secteur concerné au laboratoire central de Biologie.

De plus, il est disponible sur informatique en suivant le chemin d'accès suivant : Poste de travail → Labo-central sur « srdragon » (S :) → Documents qualité → DOCUMENTS QUALITE VALIDES → ANALYTIQUE → *Personnel*

*Pour tout commentaire (cohérence, compréhension, ...) de ce document,
vous pouvez vous adresser au rédacteur*

FIN DE LA PROCEDURE

Annexe II : Fiches d'habilitation « Hémostase Technicien »

	FICHE D'ENREGISTREMENT	OPC-LABO-FE 50
	Fiche d'habilitation du personnel	Personnel 1/2 Version 1 Date de diffusion : 12/05/2011

Habilitation à : Hémostase Technicien

Personne formée	Evaluateur/Formateur	Biologiste Référent
Nom et visa	Nom et visa	Yolande LEMEILLE
Le :	Le :	Le :

Compétences évaluées	A vu		A fait avec assistance		Sait faire seul	
	Personne formée	Evaluateur	Personne formée	Evaluateur	Personne formée	Evaluateur
HEMOSTASE ROUTINE						
Automate ACL TOP 500						
<u>Généralités</u>						
Cheminement de l'échantillon dans l'appareil						
Passer un tube bouchon fermé/bouchon ouvert						
Se connecter au logiciel						
Fenêtre des résultats : filtrer, trier, imprimer, courbe de réaction, réactifs utilisés, valider, exporter						
<u>Réactifs</u>						
Préparer les réactifs (stockage : frigo, chambre froide, réserve)						
Logiciel réactifs : nombre de tests, durée de péremption, lot réactifs, couleurs indicatives						
Enregistrer nouveau lot de réactifs/ lot courant/lot alternatif <i>Attention : réactifs à enlever de l'automate avant changement lot !</i>						
<u>Calibration</u>						
Lancer une calibration/Menu calibration						
Valider une calibration/Modifier un point de calibration (voir biologiste)						
<u>CQ</u>						
Logiciel CQ : Lancer les CQI (puis utiliser la gomme)						
Interpréter les CQI/Supprimer un point de CQI						
Nouveau lot : valeur cible à rentrer manuellement ou douchette						
<u>Maintenance</u>						
Logiciel de maintenance : types de maintenance (quotidienne, hebdomadaire), sauvegarde						
Carton de secours dans réserve si problème						
<u>Alarmes</u>						
Connaître les alertes de l'automate : alarme matériel, alarme calibration, alarme CQI, alarme maintenance, alarme instrument, alarme connexion						
Menu diagnostic : actop actop <i>Attention : pour aller au menu diagnostic, le capot doit être ouvert si arrêt d'urgence</i>						
Cahier technique : Changer l'aiguille échantillon, problème cuvettes,						
Techniques manuelles (FS test et PDF)						
Stockage réactif						
MO complexes solubles et PDF						
Feuille de paillasse (<i>tracer nom + lot</i>) /rangement résultats/ retranscription SIL						
Automate ACL de secours						
Passer un CQ/ un patient						
Rendu des résultats sur le SIL et calcul de l'INR (si ACL 7000)						
Maintenance et sauvegarde						

Rédacteur : Yolande LEMEILLE, Annick PROD'HOMME



FICHE D'ENREGISTREMENT

OPC-LABO-FE 50
 Personnel
 2/2
 Version 1
 Date de diffusion : 12/05/2011

Fiche d'habilitation du personnel

Habilitation à : Hémostase Technicien

Présentations power point						
Hémostase de routine						
Traitements anticoagulants						
Liste des documents disponibles à la paillasse						
Classeur qualité, CAT, manuels fournisseur...						
HEMOSTASE SPECIALISEE						
ACL TOP 500						
Recherche d'ACC : MO, réactifs, CQ, feuille de paillasse (SCT, LAC, Rosner)						
Bilan de thrombose : MO, calibration réactif, CQ						
Dosage des facteurs : réactifs, calibration, CQ, parallélisme						
Logiciel IL : résultats filtrés						
Présentations power point						
ACC						
Bilan de thrombose						
Dosage des facteurs						
HEMOSTASE REFERENT						
Formation IL						

Habilité le .././.... par le biologiste référent.
 Niveau jusqu'à .././....

SUIVI D'HABILITATION :

Questions	Réponse	Critères d'habilitation	Actions
Nombre de jours de présence à la paillasse en 2012		Minimum 20 jours/an	
Questions :			
Avez-vous besoin de vous reformer sur certains points ?		Connaissances automates : CQ, Calibration, Réactifs, Passage des tubes	
Que faites-vous devant un TCA allongé ? Connaissez-vous les valeurs d'hémostase à téléphoner ?		Fiche CAT en hémostase doit être connue	

Réhabilité le .././.... par le biologiste référent.
 Niveau jusqu'à .././....

FIN DE LA FICHE D'ENREGISTREMENT

Annexe III : Fiches d'habilitation « Hémostase Biologiste »

	FICHE D'ENREGISTREMENT	OPC-LABO-FE 50
	Fiche d'habilitation du personnel	Personnel 1/2 Version 1 Date de diffusion : 12/05/2011

Habilitation à : Hémostase Biologiste

Personne formée	Evaluateur/Formateur	Biologiste Référent
Nom et visa	Nom et visa	Yolande LEMEILLE
Le :	Le :	Le :

Compétences évaluées	A vu		A fait avec assistance		Sait faire seul	
	Personne formée	Evaluateur	Personne formée	Evaluateur	Personne formée	Evaluateur
HEMOSTASE ROUTINE						
Automate ACL TOP 500						
<u>Généralités</u>						
Cheminement de l'échantillon dans l'appareil						
Passer un tube bouchon fermé/bouchon ouvert						
Se connecter au logiciel						
Fenêtre des résultats : filtrer, trier, imprimer, courbe de réaction, réactifs utilisés						
<u>Réactifs</u>						
Logiciel réactifs : nombre de tests, durée de péremption, lot réactifs, couleurs indicatives						
<u>Calibration</u>						
Valider une calibration/Modifier un point de calibration (voir le biologiste)						
<u>CQ</u>						
Logiciel CQ : Interpréter les CQI/Supprimer un point de CQI						
<u>Maintenance</u>						
Logiciel de maintenance : types de maintenance, puits, cuvettes, sauvegarde						
<u>Alarmes</u>						
Connaître les alertes de l'automate : alarme matériel, alarme calibration, alarme CQI, alarme maintenance, alarme instrument, alarme connexion						
Techniques manuelles (FS test et PDF)						
Stockage réactif						
MO complexes solubles et PDF						
Feuille de paillasse/rangement résultats/ retranscription SIL						
Automate ACL de secours						
Présentation automate (examens, résultats, CQ)						
Rendu des résultats sur le SIL et calcul de l'INR (si ACL 7000)						
Présentations power point						
Hémostase de routine (biologiste)						
Traitements anticoagulants (biologiste)						
Liste des documents disponibles à la paillasse						
Classeur qualité, CAT, manuels fournisseur, liste des commentaires...						
HEMOSTASE SPECIALISEE						
ACL TOP 500						
Validation recherche d'ACC : feuille de validation ACC ; réactifs, CQ, feuille de paillasse (SCT, LAC, Rosner)						
Validation bilan de thrombose : feuille de validation BT, calibration réactif, CQ						
Dosage des facteurs : CQ, parallélisme						
Logiciel IL : résultats filtrés						

Rédacteur : Y. LEMEILLE



FICHE D'ENREGISTREMENT

OPC-LABO-FE 50

Personnel

2/2

Version 1

Date de diffusion : 12/05/2011

Fiche d'habilitation du personnel

Habilitation à : Hémostase Biologiste

Présentations power point						
ACC et facteurs (biologiste)						
Bilan de thrombose (biologiste)						
HEMOSTASE REFERENT						
Formation IL						

Habilité le .././.... par le biologiste référent.

Niveau jusqu'à .././....

SUIVI D'HABILITATION :

Questions	Réponse	Critères d'habilitation	Actions
Nombre de jours de validation		Minimum 20 jours/an	
Questions :			
Avez-vous besoin de vous reformer sur certains points ?		Connaissances validation ACC, BT...	
Que faites-vous devant un TCA allongé ? Connaissez-vous les valeurs d'hémostase à téléphoner ?		Fiche CAT en hémostase doit être connue	

Réhabilité le .././....

Niveau jusqu'à .././....

FIN DE LA FICHE D'ENREGISTREMENT

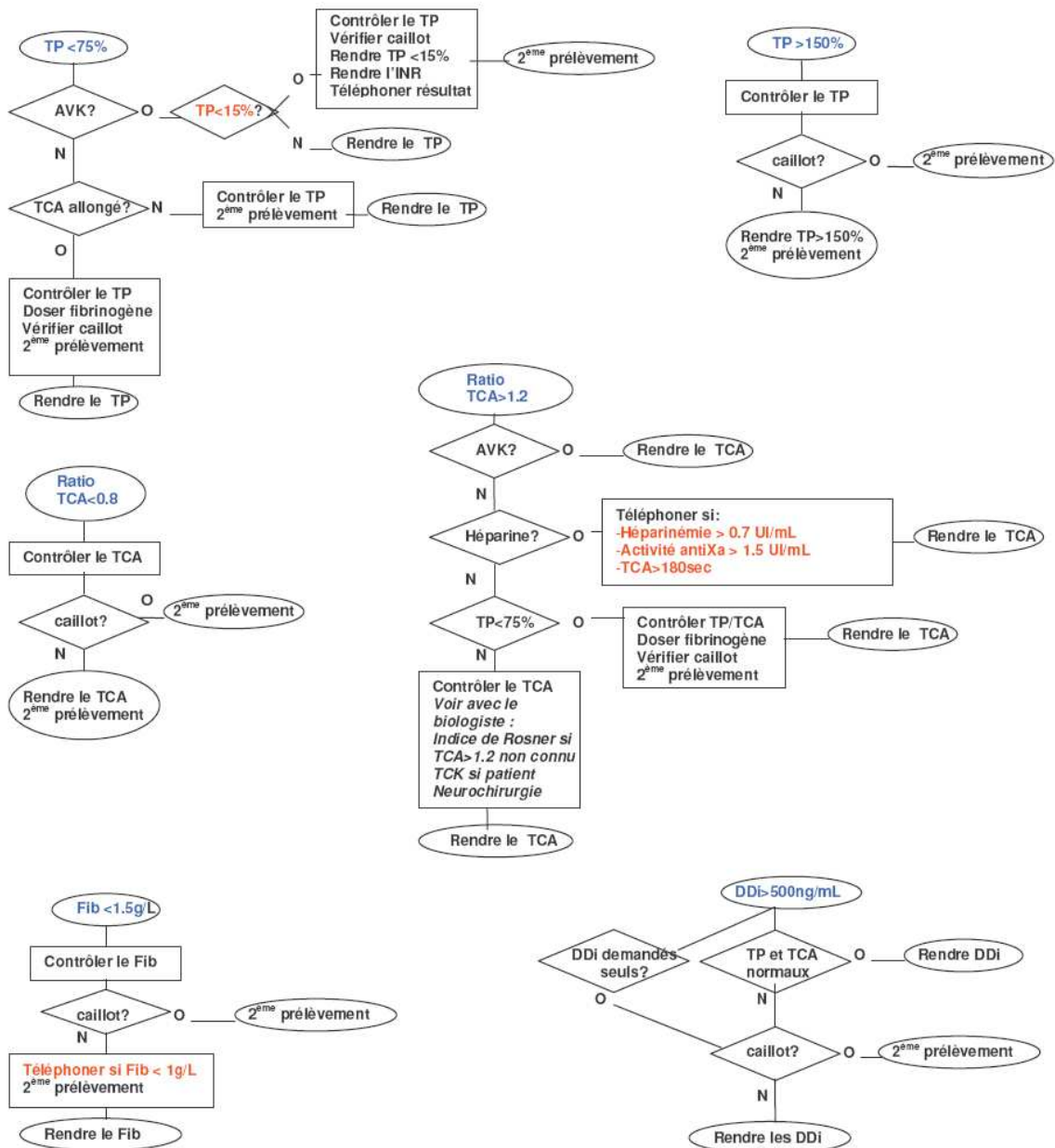
Annexe IV : Fiche conduite à tenir en Hémostase

Conduite à tenir secteur Hémostase

1/ Remplissage du tube >80%

2/ Hémolyse 0 à +.

Si hémolyse ++ ou plus : faire l'analyse, commentaire LMX et demander un 2ème prélèvement.



Rouge = Résultats à téléphoner

PDF > 5µg/mL + DDi >500ng/mL + Complexes solubles positifs + TP et TCA allongés = suspicion de CIVD

Annexe V : Commentaires Hémostase sur Système informatique du laboratoire

Code	Niveau	Type	Format
COFAC	Commentaire facteurs	Libre	Cumulé
COCOA	Après le TP ou le TCA	Codé	Cumulé
CCOA	Après le TP ou le TCA	Codé	Cumulé
COACC	Après recherche ACC : systématique	Codé	Libre
COTHR	Après le bilan de thrombose	Codé	Libre

Code	Titre abrégé	Texte
COA1	Hémolysé	Prélèvement hémolysé pouvant entraîner une activation de la coagulation. Résultat à contrôler sur un 2 ^{ème} prélèvement.
COA2	Qte insuf	Insuffisant
COA3	Coagulé	Coagulé
COA4	Pvt Activé	Pvt activé, à contrôler.
COA5	Souil hep	Souillure à l'héparine probable
COA6	Hypovit K ?	Hypovitaminose K ?
COA7	Trt AVK ?	Trt AVK ?
COA8	Trt HEP ?	Trt HEP ?
COA9	Hémodil ?	Hémodilution
COA10	Coag à cont	Un prélèvement de contrôle est souhaitable
COA11	TCA long	TCA allongé. En l'absence de traitement anticoagulant, une recherche d'anticoagulant circulant associée à une exploration de la voie endogène est souhaitable.
COA12	TCA à cont	TCA à contrôler
COA13	TP à cont	TP à contrôler
COA14	TCA verif	TCA vérifié
COA15	TP verif	TP vérifié
COA16	Lactescent	Lactescent
COA17	Tube verif	Absence de caillot dans le tube


Annexe VI : Power point de formation - *Rappels d'hémostase*

Centre Hospitalier Sainte-Anne

Rappels d'hémostase

TP, TCA, TCK, Fibrinogène, Facteur V, DDimères, Bilan CIVD

Y. LEMEILLE
Mai 2011
Laboratoire Central, Hôpital Sainte-Anne




Hémostase

- Hémostase Primaire:**
 - Lésion endothélium → **Caillot de plaquettes**
- Coagulation:**
 - Formation **caillot de fibrine**
 - Fibrinogène soluble → fibrine insoluble
- Fibrinolyse:**
 - Dissolution des dépôts de fibrine par plasmine


Coagulation

Coagulation:

- Formation **caillot de fibrine**
- Fibrinogène soluble → fibrine insoluble



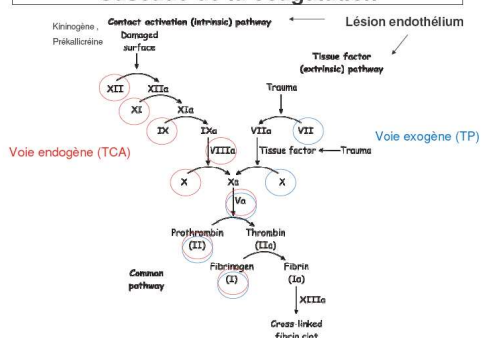
« Pro-coagulation »:
Facteurs II, V, VIII....



« Anticoagulation »:
Prot C, Prot S, Antithrombine....

Facteurs = **Protéines synthétisées par le foie (Enzymes et leurs cofacteurs...)**

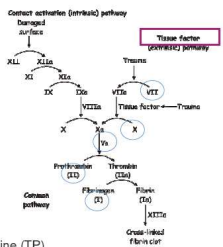
Cascade de la coagulation



Voie endogène (TCA) | Voie exogène (TP)

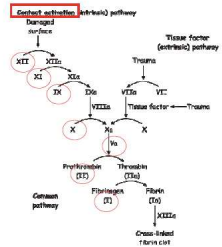
Dosage Temps de Quick (TQ)

- Plasma 37°C citraté pauvre en plaquettes
- + Recombiplastin2G® (thromboplastine = **facteur tissulaire** recombinant + phospholipides)
- + Ca2+
- + Polybrène (inhibiteur héparine)
- Mesure absorbance formation du caillot
- N: 75-150%
- Temps de Quick (TQ) → Taux de prothrombine (TP)



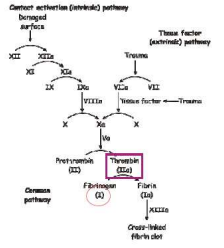
Dosage Temps de Céphaline Activée (TCA) ou Temps de Céphaline Kaolin (TCK)

- Plasma 37°C citraté pauvre en plaquettes
- + Céphaline (phospholipides peu concentrés)
- + **Activateur de la phase contact** (silice, kaolin)
- + Ca2+
- Ratio N: 0,8-1,2
- TCA:** sensible aux déficits en facteurs et aux ACC
- TCK:** sensible aux déficits en facteurs et peu sensible aux ACC



Dosage Fibrinogène

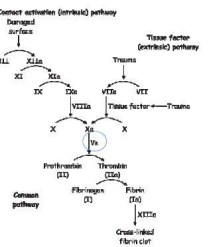
- Plasma 37°C citraté pauvre en plaquettes contenant **Fibrinogène**
- + **Thrombine activée IIa**
- + Ca2+
- N: 1,8 - 4 g/L



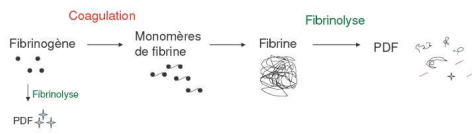
Dosage Facteur V

TP avec:

- Plasma 37°C citraté pauvre en plaquettes avec **Facteur V**
- + Plasma pauvre en facteur V
- N: 70-150%

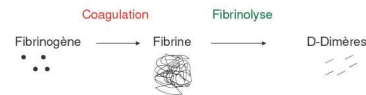


Produits de dégradation de fibrinogène/fibrine



- PDF : Produits de la dégradation de la fibrine et/ou du fibrinogène
- **D-Dimères**: font partie des produits de dégradation de la fibrine
- **Complexes solubles**: monomères de fibrine qui forment des complexes solubles avec le fibrinogène et/ou les PDF

Dosage D-Dimères



- Dosage: particules de latex avec Ac anti-DDi → agglutination → mesure absorbance

• **D-Dimères = caillot**
 ⇒ **DDi < 500 ng/mL = Diagnostic d'exclusion thrombose**

- **Positif**: CIVD, sujets âgés, chirurgie, inflammation, cancer, grossesse...

Bilan de CIVD: Coagulation intravasculaire disséminée

- Chirurgie, Choc septique, Cancer...

- **Activation +++ coag°**
 → Consommation des facteurs !
 → Fibrinolyse secondaire

- **PDF**
 - Plasma + latex Ac → agg°

- **Complexes solubles**
 (Test à l'éthanol ou FS test)
 - Plasma + latex Ac → agg°

	CIVD
Fibrinogène	abaissé
TP TCA	allongés ++
Plaquettes	abaissées
PDF	+
D-Dimères	+
Complexes solubles	+/-
V	abaissé

Qualité du prélèvement en hémostase

- **Délai**
 Acheminement: maximum 4h !
- **Remplissage**
 → quantité d'anticoagulant citrate
- **Température ambiante**
 (activation ou destruction de certains facteurs)
- **Hémolyse > ++**
 → coagulation peut être activée
- **Caillot**
 Activation de la coagulation: TCA raccourci, TP augmenté
 OU consommation de tous les facteurs: TCA, TP allongés

→ 2ème prélèvement de contrôle!

Résultats urgents à téléphoner

- **Traitement?**
- **Pas de caillot?**
- **TP < 15%** (surdosage AVK?)
- **TCA > 180 secondes** (contamination par héparine?)
- **Fib < 1g/L**
- **CIVD +**
 (PDF +, Complexes solubles +, DDi +, TP et TCA allongés)

Principales causes d'allongement des temps de coagulation

- **Allongement du TP:**
 - Début TT AVK
 - Déficit en facteur VII
- **Allongement du TCA**
 - Héparine
 - ACC
 - Déficits en facteurs de la voie endogène (VIII, IX, XI, XII)
- **Allongement du TP et TCA**
 - AVK
 - Insuffisance hépatocellulaire (Facteur V, bilan hépatique)
 - CIVD
 - Déficits en facteurs communs (V, X, II, Fibrinogène)
- **Fibrinogène:**
 - Augmentation du fibrinogène: inflammation
 - Diminution du fibrinogène: CIVD, IHC, bilan post fibrinolyse...

Annexe VII: Power point de formation - Traitements anticoagulants

Centre hospitalier Sainte-Anne

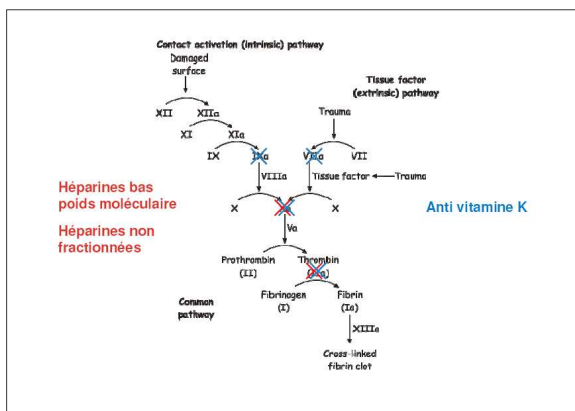
Traitements anticoagulants

Y. LEMEILLE
Mai 2011
Laboratoire Central, Hôpital Sainte-Anne

Source: cours YL, Ann Biol Clin 2009; 67 (5): 525-34

Traitements anticoagulants

- Anti-vitamine K
 - Préviscan 20mg
 - Coumadin 5mg
 - Gabar
- Héparines HNF et HBPM
 - Lovenox
 - Orgaron
- Autres TT...



Surveillance d'un traitement AVK

- TT anti-vitamine K:
 - Voie orale
 - COUMADINE®, SINTROM®, PREVISCAN®
- Inhibition de la synthèse hépatique des facteurs de la coagulation vitamine K dépendants:
 - II, VII, IX, X, prot C, prot S

Surveillance d'un traitement AVK

INR= (TQ malade/TQ témoin)^{ISI}

INR: International Normalised Ratio
ISI = Indice de sensibilité internationale de la Thromboplastine (0,98 au laboratoire)

Standardisation des résultats

Indications	INR
• Prévention ou traitement thrombose	2-3
• Prothèse valvulaire mécanique	3-4,5
• Embolies récidivantes	

Relai héparine - AVK:
Héparine: effet anticoagulant rapide
AVK: effet anticoagulant lent (introduit dès le 1er jour)

Surveillance d'un traitement par héparines

- Polymères de sucres
 - HNF = Héparine non fractionnées
 - Calciparine, Héparine sodique
 - HBPM = Héparine bas poids moléculaire
 - Lovenox
- Anticoagulants: **potentialise l'effet de l'antithrombine**

héparine + ATIII → Inhibition Facteurs Xa et IIa

	HNF	HBPM
Activité anti-IIa	+++	+
Activité anti-Xa	+++	+++
Dosage	Héparinémie	Activité anti-Xa

Mesure de l'activité de l'héparine

- Plasma citraté
- Dosage chromogène: réactifs

(Plasma + Héparine) + AT → [Héparine - AT]

[Héparine - AT] + FXa (excès) → [Héparine - AT - FXa] + FXa (résiduel)

Substrat chromogène + FXa (résiduel) → Peptide + produit chromogène (mesure DO)

Surveillance du traitement par héparine

	TT	Produit	Heure de prélèvement	Héparinémie/Activité anti-Xa	TCA
HNF	Curatif	HEPARINE SODIQUE® IV	Indifférent	Héparinémie 0.3 à 0.6 UI/mL	Allongé
		CALCIPARINE® SC	Mi chemin entre 2 injections ou avant l'injection suivante		
HBPM	Curatif	LOVENOX® SC	Pas de surveillance ou 3 à 4h après injection	Activité anti-Xa 0.5 à 1.5 UI/mL	Peu ou pas mesuré

Nouveaux traitements anticoagulants



Fin de la partie technique

Surveillance du traitement par héparine

	TT	Produit	Heure du prélèvement	Héparinémie/ Activité anti-Xa	TCA ratio
HNF	TT préventif	CALCIPARINE®	Heure de prélèvement mi chemin entre 2 injections	Héparinémie 0.1 à 0.15 UI/mL	1 à 1.5
		HEPARINE SODIQUE®	indifférent	0.3 à 0.6 UI/mL	1.5 à 3
	TT curatif	CALCIPARINE®	Heure de prélèvement mi chemin entre 2 injections ou avant l'injection suivante	0.3 à 0.6 UI/mL	1.5 à 3

Numération des plaquettes: 2x/semaine

Thrombopénie induite à l'héparine

- Baisse des plaquettes
- TIH type 1
 - Transitoire et modérée (apparition 1-5j)
- TIH type 2
 - Grave et apparition tardive (5 -13 j)
 - Mécanisme immuno-allergique
 - Anticorps anti PF4

Nouveaux anticoagulant

- Avenir:
 - Meilleure efficacité
 - Plus grande sécurité → pas de surveillance (problème d'allongement de certains tests TP, TCA)
 - Facilité d'utilisation → per os

Nouveaux anticoagulant

- Héparine Activité anti-Xa cas particuliers
 - Danaparoïde sodique = ORGARAN® si TIH
 - Anti-IIa directs Pas d'activité anti-Xa
 - Hirudine = Revasc®, Lépirudine = Refludan®
 - Anti-Xa indirects (besoin AT)
 - Fondaparinux = ARIXTRA®
 - Anti-Xa directs
 - Rivaroxaban = XARELTO®
- Activité anti-Xa si gamme étalon spéciale

TT	Administration	Action	surveillance	TP	TCA	Activité anti-Xa
Danaparoïde	SC ou IV	Anti Xa et anti-IIa	Oui	Non	Allongé?	Oui Gamme étalon?
Lépirudine	IV	Anti IIa	Oui?	Allongé	Allongé (conc? faible)	Non
Dabigatran	Per os	Anti-IIa	Non	Allongé	Allongé +/-	Non
Fondaparinux	SC	Anti-Xa indirect	Non	Non	Non	Oui si gamme étalon spéciale
Rivaroxaban	Per os	Anti-Xa directs	Non?	allongé	oui?	Oui si gamme étalon spéciale

Annexe VIII : Power point de formation - Dosage des facteurs

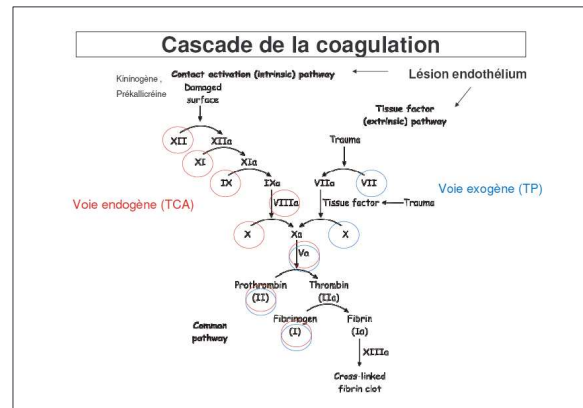
Centre Hospitalier Sainte-Anne

Dosage des facteurs

- voie endogène (VIII, IX, XI, XII)
- voie exogène (II, V, VII, X)

Y. LEMEILLE
Mai 2011
Laboratoire Central, Hôpital Sainte-Anne

Sources: cours YL, Polycopié Formation IL, Guide des analyses spécialisées Carbs, Hématologie biologique Faculté médecine Angers, ABC 2011, 69 (2) : 217-222



Dosage Facteur V

TP avec:

- Plasma 37°C citraté pauvre en plaquettes avec **Facteur V**
- + Plasma pauvre en facteur V
- N: 70-150%

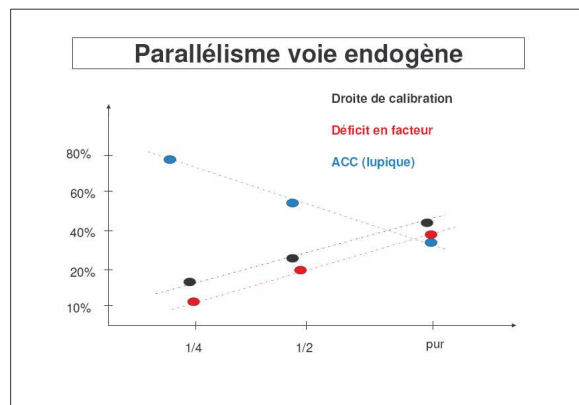
Parallélisme voie endogène

- VIII < 60%
- IX < 60%
- XI < 50%
- XII < 50%

Lancement automatique du **parallélisme**:
Pur, Dilution 1/2, Dilution 1/4

Si besoin: lancer manuellement dilution 1/80 et 1/160

- Dilution = permet de diminuer l'interférence possible d'un anticoagulant circulant type lupique.



	Déficit en facteurs	ACC lupique	ACC anti facteur
Dilutions	Taux de facteurs restent bas	Taux de facteurs se normalisent	Taux de facteurs restent bas (fortes dilutions?)
M+T	Rosner <12	Rosner >15	
Clinique	(sauf déficit en XII)		

Déficit en facteurs

- Diminution importante de tous ou **plusieurs facteurs**
 - **Atteinte hépatique sévère**
 - **CIVD**
 - **ACC lupique gênant le dosage**
- Diminution importante des facteurs II VII IX X, sans diminution du V
 - **Hypovitaminose K**
- Déficit **isolé** en facteur:
 - **Déficit vrai**
 - **Anticorps anti-facteur**

M+T sur le TCA → indice de Rosner pour voir si présence d'inhibiteur

Si baisse TP: **Dilution au 1/20** pour enlever interférence éventuelle

Si baisse TCA: **parallélisme**

Fin du diaporama technique

Rappels

- Facteurs synthétisés dans le foie
 - Différents types de dosage
 - Dosage de l'activité fonctionnelle
 - Dosage chromométrique (méthode de coagulation)
 - Dosage chromogénique (avec un substrat chromogène)
 - VIIIc
 - Dosage immunologique
 - VIII Ag
- Anomalie quantitative ou anomalie qualitative

Facteurs	Demi-vie physiologique	Taux minimum pour hémostase post-op	Normale
Fibrinogène	4 - 6 j	1 g/L	1,8 - 4 g/L
F II	3 - 4 j	30 - 40%	70 - 140%
F VIII	10 - 14 h	30 - 50%	
F IX	20 - 28 h	30 - 50%	
F XI	48h	? (30% à 50%?)	
F X	48 - 60 h	10 - 20%	
F V	15 - 24 h	10 - 15%	
F VII	4 - 6 h	5 - 10%	
F XIII	3 - 7 j	1 - 3%	
F XII	50 - 70 h	0%	
Système contact (PK, KHPM)	-	0%	

Déficit en facteurs

- Diminution importante de tous ou plusieurs facteurs
 - Atteinte hépatique sévère
 - CVD
 - ACC lupique gênant le dosage
- Diminution importante des facteurs II VII IX X, sans diminution du V
 - Hypovitaminose K (traitement AVK, malabsorption, carences d'apport, augmentation du catabolisme par les barbituriques ou les anti-épileptiques, hépatite aiguë,...)
- Déficit isolé en facteur:
 - Déficit vrai
 - Anticorps anti-facteur

M+T sur le TCA → indice de Rosner pour voir si présence d'inhibiteur
 Dosage du **facteur sur le mélange M+T** pour voir si Ac anti-facteur

Dilution de l'interférence éventuelle: TP **dilution au 1/20, TCA parallélisme**

Inhibiteur + → **titrage** par méthode Bethesda

Exemple : Diagnostic d'un anticorps anti-FVIII

- **M+T** (incubation 2h à 37°C mieux)
 Indice de Rosner >15 → Présence d'un **inhibiteur**
- Mise en évidence d'un **déficit isolé en F VIII**
 Taux diminué de F VIII non corrigé par la dilution du plasma du malade
- Mise en évidence de l'**Ac anti-VIII**
 Mélanges:
 - Malade + pool → chauffage 30min à 56°C (libération de l'Ac) → **VIII**
 - Tampon + pool → **VIII** (50% en théorie)
 - (**VIII / VIII**) *100 = taux de facteur VIII corrigé
 - VIII corrigé <75% en faveur d'un anti-facteur
- **Titration** de l'Ac anti-VIII
 Dilution du plasma inhibant 50% du facteur VIII → Unité Bethesda
 1UB = quantité d'Ac présent dans 1mL plasma inhibant 50% du facteur

Voie endogène

F	Trouble	μ	Taux	Clinique	Maladies associées	TT
VIII	Déficit	1/5000 ♂	Sévère <1% Modéré 1-4% Mineure 5-30%	🔴	Hémophilie A Groupe O, Willebrand	FVIII rec
	Ac anti VIII	Le + μ		🔴	AlloAc (suite au TT) AutoAc (MAI, ATB, IgG, postpartum...)	Complexe prothrombinique ou FVII Ig, échanges plasmatiques, corticoïdes
IX	Déficit	1/30000 ♂		🔴	Hémophilie B	
	Ac anti VIX	rare		🔴	Cancer, MAI	
XI	Déficit		Grave 15-20% chir? 20-70%	Non lié au taux 🔴	G	Hemoeven
	Ac anti XI	Très rare		🔴	LED, cancer, virus, ATB	GC
XII	Déficit	2.3%	hét 15-80% hom 1%	🔴		

Voie exogène

F	Trouble	μ	Taux	Clinique	Maladies associées	TT (ou Ac disparaissent tous seuls)
II	Déficit	1/10 ⁶		🔴		Kaskadi®
	Ac anti II	rare		🔴	LED, virus, Lymphome...	GC, immuno-
VII	Déficit	1/10 ⁶	hét >20-30% hom <10%	Non lié au taux 🔴		
	Ac anti VII	rare		🔴		
	½ vie courte!			🔴	IHC, Vit K, Inf ^s severe	
V	Déficit	1/10 ⁶	hét >20-30% hom <10-15%	🔴		PFC
	Ac anti V	rare		🔴	Cancer, MAI, chir, inf ^s , ATB, T ^s PFC	Plq, complexe prothrombinique, GC, immuno-
X	Déficit	1/10 ⁶		Fn ^s mutation, attention chir 🔴		Kaskadi®
	Déficit acquis	rare		🔴	Amylose (substance amyloïde capte le X)	

Annexe IX : Power point de formation - Bilan de thrombose

Centre Hospitalier Sainte-Anne

Bilan de thrombose

- Protéine C
- Protéine S
- Antithrombine
- Résistance à la protéine C activée
- ACC lupique (2ème power point)


Y. LEMEILLE
Mai 2011
Laboratoire Central, Hôpital Sainte-Anne

Sources: cours YL, Polygraph Formation IL

Thrombophilie

Pro-coagulation:
Facteurs

VIII ↗
Mutations V (RPCs, V Leiden)
Mutations II (G20210-A)



Anti-coagulation:

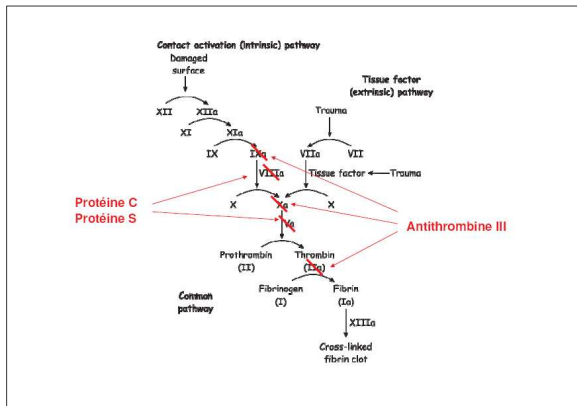
Prot C, Prot S, ATIII ↘

Thrombophilie
= anomalie de l'hémostase prédisposant aux thromboses

Clinique
TVP, embolie pulmonaire, AVC, problèmes obstétricaux; ATCD familiaux

Autres facteurs de risque:
Hyperhomocystéinémie, Syndrome des anti-phospholipides/ACC lupique, immobilisation, chirurgie....

TT préventif si besoin: AVK



Résistance à la protéine C activée

- Mesures du TCA en présence d'un excès de plasma déficient en facteur V avec ou sans ajout de protéine C.

Absence de résistance

TCA: Plasma + FV patient

Ratio > 2,3 → TCA normal

Résistance à la Prot C Mutation FV

TCA: Plasma + Prot C + FV patient

Ratio < 2,3 → TCA peu allongé

PCR

Antithrombine III

- Dosage chromogène quantitatif

Plasma (AT) + héparine + FXa

AT- héparine + FXa

AT- héparine- FXa + FXa résiduel

AT = 80-120%

FXa résiduel + substrat → produit coloré

Protéine C

- Dosage chromogène quantitatif

Plasma (Prot C) + activateur de la Prot C

Prot C activée

Prot C activée + substrat → produit coloré

Prot C = 70-140%

Protéine S libre

- Dosage quantitatif par méthode immunologique latex
- Prot S libre = fraction active (40% Prot S totale)

Plasma (Prot S) + Latex-C4BP

Latex-Ac anti Prot S

agglutination

PS = 65-140%

Interférences bilan de thrombose

	AT III	Protéine C	Protéine S	Résistance à la Protéine C activée	Mutations V Leiden II G20210A
Héparine		Pas d'interférence à dose thérapeutique		Héparinémie/activité anti-Xa doit être < 1 UI/mL	
AVK	Pas d'interférence	↓	↓		Pas d'interférence
Estrogènes	↓	↑	↓		
Grossesse	↓	↑	↓		

Fin du diaporama technique

Fréquence des principaux facteurs de risque

	Patients thrombophiliques	Population générale
Déficit AT	1-2 %	0.01-0.03 %
Déficit Prot C	2-3 %	0.2-0.5 %
Déficit Prot S		
Facteur V Leiden	10-20 %	2-7 %
Mutation Facteur II	5-6 %	1-3 %
Augmentation F VIII	10-15 %	6-8 %

Autres facteurs de risques de thrombose

Homocystéine

- Acide aminé soufré dérivé du métabolisme de la méthionine
- Dosage par méthode immunoenzymatique
- Mutation gène MTHFR → **hyperhomocystéinémie**

Facteur VIII

- **FVIII augmenté >250%**
(augmentation chronique ou inflammation)

Syndrome des anti phospholipides

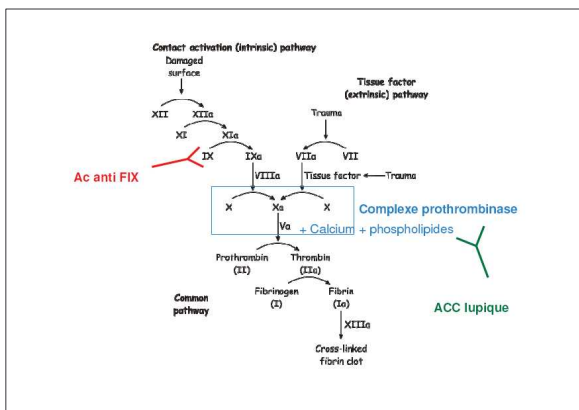
- **ACC lupique**
- **Ac anti cardiolipides, Ac anti-béta2GPI**

Annexe X : Power point de formation - Recherche d'anticoagulant circulant


Diagnostic des anticoagulants circulants
 Y. LEMEILLE
 Mai 2011
 Laboratoire Central, Hôpital Sainte-Anne

Anti Coagulant Circulant

- **Anticorps: Allongement d'un temps de coagulation**
- **ACC type lupique** = antiprothrombinase = lupus anti-coagulant
 - In vitro : allongement test de coagulation
 - In vivo : risque **thrombose**
- **ACC anti-facteur:**
 - In vitro : allongement test de coagulation
 - In vivo : risque **hémorragique**
 - (rares, hémophiles)



Diagnostic ACC type lupique

1. Allongement test de coagulation:
 - Augmentation sensibilité car faible concentration en phospholipides
 - **SCT- screen**
 - **LAC- screen**
2. Neutralisation par les phospholipides:
 - Correction du test de dépistage avec forte concentration en PL
 - **SCT-Confirm**
 - **LAC-Confirm** → Correction = ACC type lupique
3. Mise en évidence d'une activité inhibitrice: **M+T**
 - Indice de Rosner < 12: correction de l'allongement (déficit facteurs?)
 - Indice de Rosner > 15: non correction (ACC?)
4. Exclusion d'une anomalie associée:
 - Dosage des **facteurs** si TCA allongé

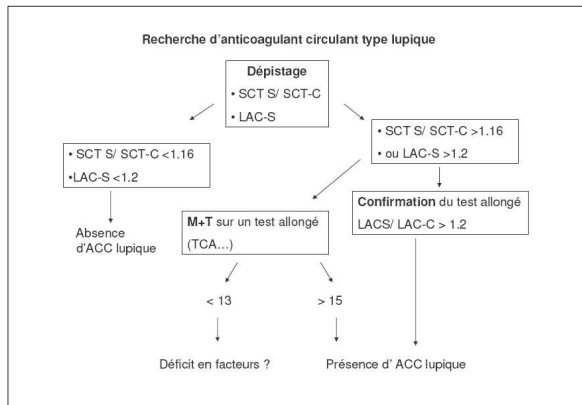
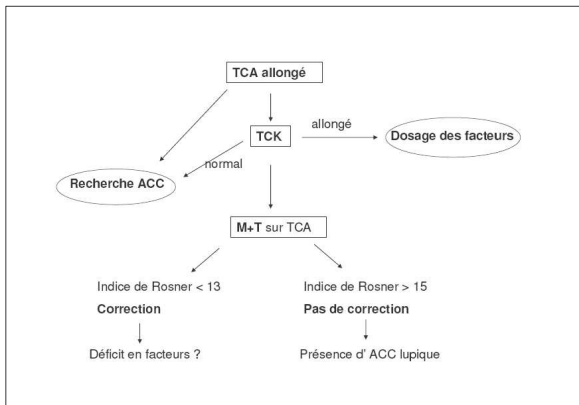
Tests utilisés au Laboratoire: SCT et LAC

- **SCT: Silica Clotting Time**
 Plasma patient + activateur phase contact (silice) + Ca²⁺ + PL
 - Screen/Confirm: Ratio (SCT-S patient/SCT-S témoin)/(SCT-C patient/ SCT-C témoin)
 - Ratio normalisé > 1.16 : LA présent
 - Ratio normalisé < 1.16 : absence de LA
- **LAC:**
 Plasma patient + venin de vipère Russell (active directement X) + Ca²⁺ + PL
 - Ratio dépistage < 1.2: absence d'ACC
 - Confirm: Ratio (LAC-S patient/LAC-S témoin)/(LAC-C patient/ LAC-C témoin)

Différence ACC type lupique et ACC anti-facteur

	ACC type lupique	ACC anti-facteur
Clinique	Thromboses	Hémorragies
Anticoagulant	Non spécifique	Spécifique d'un facteur
TCA	N ou allongé	Allongé
SCT screen	Allongé	Allongé
SCT confirm	Correction	Pas de correction
M+T	>15 (sans incubation)	≥15 (incubation 37 °C)
Facteurs	VIII IX	VIII IX
1/10	40% 45%	5% 100%
1/80	60% 50%	5% 100%
1/160	80% 70%	5% 100%

Ex: hémophilie acquise anti-facteur VIII



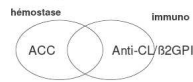
Fin du diaporama technique

Clinique des ACC type lupique

- Maladies auto-immunes (lupus, polyarthrite rhumatoïde)
- Lymphomes, LLC
- Cancers
- Infections virales (ACC transitoires)
- Médicaments (ATB, bêta bloquants...)

Syndromes des antiphospholipides

- Primaire ou secondaire à une maladie auto-immune
- Au moins 1 critère clinique:
 - Thromboses
 - Manifestations obstétricales (mort fœtales inexpliquées, éclampsie...)
- Au moins 1 critère biologique persistant plus de 12 sem:
 - ACC type lupique
 - Anticorps anti-cardiolipide
 - Anticorps anti-bêta2GPI



→ TT préventif: anticoagulants, corticoïdes...

Recommandations Sydney 2005

Diagnostic ACC type lupique

- Quels patients?
 - Bilan maladies auto-immunes
 - Bilan thromboses (+ troubles circulation suspects) → Neurologie (AVC)
 - Bilan troubles obstétricaux
 - Thrombopénies (lymphome? Maladie auto-immune?)
 - TCA allongé

Tests utilisés au Laboratoire: SCT et LAC

• SCT: Silica Clotting Time

Plasma patient + activateur phase contact (silice) + Ca²⁺ + PL

- Screen/Confirm: Ratio (SCT-S patient/SCT-S témoin)/(SCT-C patient/ SCT-C témoin)

- Ratio normalisé >1.16 : LA présent
- Ratio normalisé < 1.16 : absence de LA

• LAC:

Plasma patient + venin de vipère Russel (active directement X) + Ca²⁺ + PL

- Ratio dépistage < 1.2: absence d'ACC

- Confirm: Ratio (LAC-S patient/LAC-S témoin)/(LAC-C patient/ LAC-C témoin)
 - > 2: LA fortement présent
 - 1.5 à 2: LA modérément présent
 - 1.2 à 1.5: LA faiblement présent
 - < 1.2: absence de LA

Résumé

La norme EN ISO 15189 stipule qu'une personne ne peut réaliser une tâche dans le laboratoire que si elle a été préalablement habilitée (elle dispose alors des compétences nécessaires) pour cette tâche.

Afin de répondre à cette exigence, le Laboratoire de Biologie du Centre Hospitalier Sainte Anne a commencé les habilitations du personnel par le secteur Hémostase.

Divers documents qualité ont été rédigés avec l'aide des référents du secteur : procédure générale d'habilitation, conduites à tenir, grilles d'habilitation, présentations power point. L'habilitation en Hémostase a permis de faire le point sur ce secteur et de clarifier certains éléments (utilisation des automates, conduite à tenir...), de faire des rappels très utiles (présentations power point) et d'harmoniser les pratiques.

La principale difficulté est le manque de temps et de disponibilité des personnes formées et des formateurs. L'objectif de 100% d'habilitation n'a pas été atteint en Septembre 2011 (44% d'habilitation des techniciens commencée). Il devrait l'être en Décembre 2011. Le suivi de ces habilitations pourra ensuite se faire chaque année.

D'autres secteurs du laboratoire vont bientôt commencer leur habilitation.