

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD
FACULTE DE MEDECINE
DR. B. BENZERDJEB - TLEMCEEN



وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد
كلية الطب
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME :

Rédaction et mise en place des modes opératoires dans l'unité d'hémostase
selon la norme ISO 9001

Présenté par :

FEROUI Samia
HACHIM Asma

Soutenu le : 22/09/2021

Le Jury

Présidente : Dr N.BRIKCI NIGASSA Maitre assistante en biophysique médicale

Membre : Dr F.ADDA Maitre assistante en hémobiole

Encadrant : Pr K.ALLAL TAOULI Professeur hospitalo-universitaire en hémobiole

Co-Encadrant : Dr I.GAOUAR Assistante en hémobiole

Année universitaire : 2020/2021

REMERCIEMENTS

« Le premier ennemi de la connaissance n'est pas l'ignorance, c'est l'illusion de la connaissance »

-Stephen Hawking-

A Dieu le tout puissant

*Qui nous a donné le courage, la force, et la patience
d'achever ce modeste travail.*

A notre maitre et encadreur de la thèse : Pr K.ALLAL TAOULI

Et notre Co encadreur : Dr I.GAOUR BOUABDALLAH

*Nous avons eu le privilège de travailler parmi votre
équipe et apprécier vos qualités et vos valeurs.*

*Veillez trouver ici l'expression de notre
respectueuse considération pour toutes vos qualités
scientifiques et humaines.*

Nous remercions également : Dr BRIKCI NIGASSA et Dr ADDA

*Pour avoir aimablement accepté de faire partie de
notre jury de thèse.*

Nos remerciements les plus sincères :

*Sont adressés à tous nos professeurs pour leur
générosité et dévouement dont ils ont su faire
preuve.*

DÉDICACE :

A mes très chers parents : Toute l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers vous. Ce travail est le résultat des sacrifices dont vous m'avez fait preuve, de l'encouragement et le soutien que vous ne cessez de manifester. Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, vos prières et vos bénédictions ont illuminé ma vie. J'implore Dieu, tout puissant, de vous accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur, je vous aime.

A mon mari Fethallah : Pour l'amour et l'affection qui nous unissent. Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour ton soutien durant mon parcours. Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser le rêve tant attendu.

A ma sœur Amina : Aucune dédicace ne peut exprimer mon amour et ma gratitude de t'avoir comme sœur, je n'oublierais jamais ton encouragement et ton soutien le long de mes études, je t'estime beaucoup et je t'aime beaucoup. Je ne pourrais jamais imaginer la vie sans toi.

A mes frères Mohammed et Abdellatif : En signe de l'affection et du grand amour que je vous porte, les mots sont insuffisants pour exprimer ma profonde estime. Vous étiez toujours là pour moi, que Dieu vous protège, vous accorde santé, succès et plein de bonheur dans votre vie.

A la mémoire de mes grands-parents Kaddour, Yamina, Fatima, Yamna et Zhor : Si je suis là c'est grâce à vos prières. Puisse Dieu vous avoir en sa sainte miséricorde.

A ma 2^{ème} petite famille : Abderezzak, Nadjia, Zhor, Nourhane et Abdelhadi, je profite de la présente occasion pour vous remercier pour tout le soutien, la sympathie et l'amour que vous m'accordez.

A mon cher oncle et ma chère tante paternels Ali et Khadidja : Merci pour tout et que Dieu vous donne bonne santé et longue vie parmi nous.

A mes chers oncles et tantes maternels : Fouad, Rachid et Hasnia, que Dieu le tout puissant vous comble de santé, de bonheur et vous prouve une longue vie pleine de joie.

A ma chère tante Khadidja et mon cher oncle Mourad : Merci pour la joie et le bonheur que vous m'avez procuré. Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

A mes chères cousines : Radia, Amel, Sabrina, Imène, Sarah, Lilia je vous aime énormément.

A mon très cher cousin : Achour Abdelkader, merci pour tout ce que tu as fait pour moi.

A mes beaux-parents Abderrahmene et Nadia : que Dieu vous donne bonne santé et longue vie.

A ma meilleure amie Karima : En souvenir des moments heureux passés ensemble, avec mes vœux sincères de réussite, bonheur, santé et de prospérité.

A mes amies : Sara, Asma, Zouleykha, Ikram, Hadjer, Fatima, Soumia.

A mon binôme Samia : je tiens à te remercier pour ton soutien et ce lien tout particulier qui s'est créé entre nous, sans toi rien n'aurait été pareil.

A monsieur le professeur Laarfi.Y et tout le personnel du service d'hémobiologie à l'hôpital central de l'armée Ain Naadja : Votre modestie et votre simplicité font de vous en plus de vos qualités professionnelles, une référence de bon sens de compétence.

HACHIM Asma



DEDICACES



*A mes très chers
parents*

*Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour
et de l'affection dont ils ne cessent de me combler.*

Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A mes chères sœurs

Sarah et Nadia

A tous mes amis

Surtout STAMBOULI Ghizlène et TCHOUAR Nesrine.

*Aux familles : **FEROUI** et **DEKMOUS**, Je vous suis très*

reconnaissante pour vos efforts déployés.

FEROUI Samia

Table des matières

Table des matières.....	I
Liste des abréviations.....	VIII
Liste des tableaux.....	IX
Liste des figures.....	X
Introduction.....	01
Objectif du travail.....	02
Partie théorique : Recherche bibliographique	03
Chapitre I : Généralités sur l'hémostase	04
1. Historique	04
1.1. Histoire de la coagulation	04
1.2. Généralités sur l'hémostase	06
2. Différentes étapes de l'hémostase	07
2.1. Hémostase primaire	07
2.1.1. Définition	07
2.1.2. Les autres intervenants	07
2.1.2.1. La paroi vasculaire	07
2.1.2.1.1. Anatomie de la paroi vasculaire	07
2.1.2.1.2. Les cellules endothéliales	08
2.1.2.2. Les plaquettes	09
2.1.2.2.1. Structure des plaquettes	09
2.1.2.2.2. La membrane plaquettaire	09
2.1.2.2.3. Le cytoplasme plaquettaire	10

2.1.2.2.4. Les granulations	10
2.1.2.3. Facteur de Willebrand	11
2.1.2.4. Fibrinogène	11
2.1.3. Déroulement de l'hémostase primaire	11
2.2. La coagulation plasmatique	13
2.2.1. Définition	13
2.2.2. Les acteurs intervenants	13
2.2.3. Déroulement de l'hémostase primaire	15
2.2.3.1. La coagulation plasmatique in vivo	15
2.3. La fibrinolyse	17
2.3.1. Définition	17
2.3.2. Les acteurs intervenants	17
2.3.2.1. La plasmine	17
2.3.2.2. Activation de la plasminogène	17
2.3.2.3. Les inhibiteurs de la fibrinolyse	18
2.3.3. Déroulement	18
Chapitre II : Automatisation	19
1. Historique	19
2. Critères de choix d'un automate	21
2.1. Le cahier des clauses techniques	22
3. Automatisation en hémostase	22
3.1. Automatisation en phase pré analytique	23
3.1.1. Définition	23
3.1.2. Les systèmes d'automatisation de la phase pré analytique	23

3.1.2.1.	Automatisation total d'un laboratoire	23
3.1.2.2.	Automatisation en ilots	24
3.1.2.3.	Automatisation modulaire	25
3.1.3.	Intérêt de l'automatisation de la phase pré analytique	26
3.2.	Automatisation de la phase post analytique	26
3.2.1.	Définition	26
3.2.2.	Intérêt de l'automatisation de la phase post analytique	27
3.3.	Automatisation de la phase analytique	27
3.3.1.	L'exploration de l'hémostase primaire	27
3.3.1.1.	Automate de numération plaquettaire	27
3.3.1.2.	Le PFA-100 (platelet function analyzer)	28
3.3.1.3.	L'agrégomètre	29
3.3.1.3.1.	L'agrégométrie par variation de la transmission lumineuse ...	29
3.3.1.3.2.	L'agrégométrie par impédancemétrie	30
3.3.1.3.3.	Agrégométrie par bioluminescence	30
3.3.2.	Exploration de la coagulation plasmatique et la fibrinolyse	31
3.3.2.1.	Analyseur de coagulation semi-automatique : SStart® 4	31
3.3.2.2.	Analyseur de coagulation automatique	32
3.3.2.2.1.	STA satellite	32
3.3.2.2.2.	STA Compact Max® 2	33
4.	Avantages et inconvénients de l'automatisation en hémostase	35
4.1.	Avantages de l'automatisation	35
4.2.	Inconvénients de l'automatisation	36
	Chapitre III : Norme ISO 9001 en hémostase	37
1.	Contexte «Qualité» en hémostase	37

2. Définition du système de management qualité	37
3. Outils et référentiels applicable en hémostasie	38
3.1. GBEA : Guide des Bonnes Exécutions des Analyses	38
3.2. Les normes ISO	38
3.2.1. Définition	38
3.2.2. ISO 15189	39
3.2.3. ISO 17025	40
3.2.3.1. Contenu de la norme ISO 17025	40
3.2.4. ISO 9001	41
3.2.4.1. Structure de la norme ISO 9001	42
3.2.4.2. Nouveauté sur la Norme ISO 9001 : version 2015	43
3.2.4.3. Avantages de la Norme ISO 9001 version 2015 par rapport à la version 2008	45
La partie pratique :	47
I. Matériels	48
1. STA Compact Max® 2	48
1.1. Caractéristiques de STA Compact Max® 2	48
1.2. Qualification de l'équipement	49
1.3. Les éléments de STA Compact Max® 2	49
1.4. Le fonctionnement de STA Compact Max® 2	51
2. Réactifs de STA Compact Max® 2	53
2.1. Tests de routine	53
2.1.1. Taux de prothrombine : le temps de Quick	53

2.1.2.	Temps de céphaline plus activateur	54
2.1.3.	Fibrinogène	54
2.1.4.	Thrombine	54
2.2.	Dosage des facteurs	55
2.3.	Exploration de la fibrine	56
2.4.	Exploration de la thrombophilie	56
2.5.	Hémostase primaire	57
2.6.	Etalons, contrôles et réactifs auxiliaires	58
3.	Logiciel intégré	59
3.1.	Définition	59
3.2.	L'algorithme du logiciel et directives appliquées	59
4.	Les prélèvements	59
II.	Méthodes	60
1.	Préparation du STA compact	60
2.	Chargements des produits et échantillons	60
3.	Déchargements des échantillons et des produits	61
3.1.	Déchargement des échantillons ou des produits	61
3.1.1.	Déchargement avec identification positive	61
3.1.2.	Déchargement sans identification positive	62
4.	Lancement des analyses (fermeture du tiroir échantillons ou produits)	62
5.	Calibration	62
6.	Contrôle de qualité	63
6.1.	Contrôle de qualité interne	63

1.2.1.	Définition d'une non-conformité en hémostase	81
1.2.2.	Registre des non conformités	81
1.3.	Incident et accident	82
1.3.1.	Panne de courant	82
1.3.2.	Panne informatique	82
2.	Modèle de gestion de la qualité en hémostase selon la norme ISO 9001	82
2.1.	Mise en œuvre de la Norme ISO 9001	83
3.	Outils pour une démarche d'amélioration continue	84
3.1.	Cartographie interactive des processus	84
3.2.	Outil d'autodiagnostic	84
IV.	Discussion	85
1.	Processus du système de gestion de la qualité	85
1.1.	Catégories de processus	85
1.2.	Cartographie des processus	86
2.	Contrôle qualité interne	86
	Conclusion et perspectives	88
	Références bibliographiques	90
	Annexes	96

Liste des abréviations :

ISO : organisation internationale de normalisation

TP : Taux de Prothrombine

TQ : Temps de Quick

TCA : Temps de Céphaline Activé

TCK : Temps de Céphaline Kaolin

AVK : Anti Vitamine K

VWF : Facteur Von Willbrand

IL : Interleukine

TNF : Tumor Necrosis Facteur

Gp : Glycoprotéine

OPTMQ : Ordre Professionnel des Technologistes Médicaux du Québec

SNBH : Syndicat National des Biologistes des Hôpitaux

GFHT : Groupe Français d'étude sur l'Hémostase et la Thombose

ABC : Annales des Biologies Cliniques 2019

AT : Anti Thrombine

ADP : Adénosine diphosphate

ATP: Adénosine triphosphate

TXA2: Thromboxane A2

FT: Facteur Tissulaire

t-PA: Activateur Tissulaire du Plasminogène

u-Pa : Activateur Urinaire du Plasminogène

PAI : l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène

PDF : Produit de Dégradation de la Fibrine

PFA-100 : Platelet Function Analyser

PRP : Plasma Riche en Plaquettes

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

GBEA: Guide des Bonnes Exécutions des Analyses

HIS: Structure de Haut Niveau

Liste des tableaux

Tableau 01 : Facteurs et protéines de la coagulation	15
Tableau 02 : Réactifs et principe de dosages des facteurs	55
Tableau 03 : Réactifs et principe du dosage de la fibrine	56
Tableau 04 : Réactifs utilisés pour l'exploration de la fibrinolyse	56
Tableau 05 : Réactifs et principe de l'exploration de l'hémostase primaire	57
Tableau 06 : Les consommables du STA compact	58
Tableau 07 : contrôle de calibration	63
Tableau 08 : contrôle de qualité interne	64
Tableau 09 : Paramètres de routine dosés par la méthode chronométrique	67
Tableau 10 : Autres paramètres dosés par la méthode chronométrique	67
Tableau 11 : Paramètres dosés par méthode chromogénique	69
Tableau 12 : Paramètres dosés par méthode chromogénique	70

Liste des figures

Figure 01 : Historique de la coagulation	06
Figure 02 : Les trois phases de l'hémostase	07
Figure 03 : Structure de la paroi vasculaire	08
Figure 04 : Représentation schématique de la cellule plaquettaire	09
Figure 05 : Structure tri nodulaire du fibrinogène	11
Figure 06 : Schéma de la coagulation plasmatique in vivo	17
Figure 07 : schéma représentatif des acteurs intervenants dans la fibrinolyse	19
Figure 08 : Automatisation totale du laboratoire	24
Figure 09 : Automatisation en îlot	25
Figure 10 : Principe de fonctionnement de PFA-100	29
Figure 11 : Principe de l'agrégométrie par variation de la transmission lumineuse	30
Figure 12 : Start-4	32
Figure 13 : STA Satellite ®	33
Figure 14 : STA Compact Max® 2	35
FIGURE 15 : contenu de la norme ISO 15189	40
Figure 16 : HLS : la structure universelle des normes de management	41
Figure 17 : Schéma réunissant les référentiels Qualité d'un laboratoire de biologie médicale.....	42
Figure 18 : Le cycle PDCA de Deming	42
Figure 19 : Les exigences dans les articles et paragraphes de la norme ISO 9001 2015	44
Figure 20 : Evolution de la norme ISO 9001 version 2015	45
Figure 21 : STA Compact Max® 2	48
Figure 22 : STA Compact : vue globale de l'automate	49
Figure 23 : Structure interne du STA Compact	50
Figure 24 : STA Compact : vue de profil droit	50
Figure 25 : Cycle analytique sur STA Compact	51
Figure 26 : Tiroir échantillon	52
Figure 27 : Plaque de mesure	53

Figure 28 : Ensemble cuvette + bille avec bobine motrice et bobine de mesure	65
Figure 29 : Méthode électromécanique utilisant un champ électromagnétique	66
Figure 30 : Représentation de Levey-Jennings	80
Figure 31 : Distribution des prélèvements non conformes dans l'hémostase	81
Figure 32 : Schéma récapitulatif de la mise en œuvre de la norme ISO 9001	83
Figure 33 : Diagramme logique d'application d'une série de contrôle dans le procédé multi-règles de Westgard	87

INTRODUCTION :

L'hémostase est l'ensemble des mécanismes biochimiques et cellulaires permettant de maintenir un flux sanguin régulier, elle assure ainsi la prévention de saignement spontané et l'arrêt des hémorragies. Ce processus est déclenché par le développement d'une brèche vasculaire, il vise à son obturation et au colmatage de la fuite sanguine par trois étapes distinctes intriquées et dépendantes l'une de l'autre : l'hémostase primaire, la coagulation plasmatique et la fibrinolyse (1).

L'exploration quotidienne de ces trois phases en laboratoire d'hémostase fait appel à des techniques très variables en fonction de l'étape du processus hémostatique que l'on souhaite explorer : Pendant très longtemps, les tests d'hémostase ont été réalisés au bain-marie à 37°C en se basant sur la détection visuelle d'un trouble lié à l'apparition du caillot de fibrine apprécié après positionnement du tube en verre en position horizontale (2). Ce test étant subjectif et dépendant de l'expérience du manipulateur ainsi que son acuité visuelle à détecter l'apparition du trouble et changement de la consistance du mélange plasma/réactif a suggéré l'apparition de nouveaux appareils semi-automatiques dans les années 1970 qui ; quant à eux ; utilisaient des principes photométriques ou mécaniques pour détecter la fibrine.

C'est au début des années 1990 que sont apparus les premiers vrais automates d'hémostase capables de travailler à partir du tube primaire jusqu'au rendu de résultat sans intervention humaine. Cela a par ailleurs pour conséquence majeure d'augmenter le niveau de précision et de diminuer considérablement le risque d'erreur permettant ainsi l'obtention de résultats fiables, conformes, et harmoniser à l'échelle internationale (3).

Dans un souci d'améliorer en permanence la qualité des résultats obtenus, ces derniers doivent être conformes aux exigences des bonnes pratiques de laboratoire. Pour ce faire des normes ISO 9001 sont apparues dans le but de standardiser les modes opératoires par le biais d'un système de management de la qualité.

La qualité d'un résultat dépend de celle des trois phases du processus de production du résultat, c'est-à-dire les phases pré analytique, analytique et post analytique. Afin de se conformer aux exigences établies, le laboratoire doit mettre en place un système de gestion de la qualité, ce qui comprend la définition d'un plan organisationnel et d'une structure de gestion de la qualité qui couvrent tout le processus (4). Les exigences du système de la qualité applicables à tous les secteurs d'activité du laboratoire de biologie médicale sont

décrites dans le document des normes ISO. Ces normes serviront de guide pour la mise en place et l'amélioration de la qualité des procédures effectuées dans un environnement sécuritaire et efficace au laboratoire d'hémostase.

Il est donc évident d'avoir une mise à jour régulière de l'évolution actuelle de réglementation dans le domaine de la gestion de la qualité. Dans ce mémoire, nous tenterons de répondre à la question suivante : les modes opératoires utilisés dans l'unité d'hémostase dans le laboratoire d'hémobiologie au CHU Tlemcen permettent-ils d'avoir la qualité exigée par les normes ISO 9001 ? En d'autres termes on doit s'assurer d'une part une meilleure démarche des analyses et d'autre part le bon fonctionnement des automates disponibles au laboratoire «STA compact».

Objectif du travail :

Notre travail est basé sur un objectif principal et un objectif secondaire.

L'objectif principal : rédaction des procédures opératoires en hémostase selon la norme ISO 9001

L'objectif secondaire est : mise en place d'un système de control analytique interne au laboratoire d'hémostase.

Partie théorique : Recherche bibliographique

I. Chapitre I : Généralités sur l'hémostase

1. Historique :

1.1 Histoire de la coagulation (5) :

∞**1628 (la circulation sanguine)** : WILLIAM HARVEY un médecin anglais et professeur d'anatomie et de chirurgie décrit des lois qui régissent la circulation sanguine dans son livre intitulé : « exercice anatomique sur les mouvements du cœur et du sang sur les animaux »

∞**1835 (le facteur tissulaire)** : ANDREW BUCHANAN Docteur de l'université de Glasgow pose le concept révolutionnaire qu'il existe un élément spécifique du sang capable d'initier la coagulation. Il nomme ici ; sans le savoir ; le facteur tissulaire.

∞**1882(les plaquettes)** : GIULIO BIZZOZERO un biologiste italien observe au microscope les plaquettes dans le sang animal et humain. il a notamment montré que la plaquette est le premier élément du sang à adhérer aux vaisseaux endommagés, à s'agréger entre elles et à participer à la formation du caillot de fibrine.

∞**1905 (1^{ère} description de la coagulation)** : PAUL MORAWITZ médecin allemand propose une théorie pour expliquer le phénomène de la coagulation dans lequel quatre acteurs sont cités comme nécessaire et suffisant : la thrombokine, la prothrombine, le fibrinogène et le calcium. Cette théorie pose les bases de la cascade de la coagulation.

∞**1916 (l'héparine)** : l'américain JAY MC LEAN extrait l'héparine à partir du foie de chien. L'héparine est utilisée en pratique clinique à partir de 1935. Depuis, la mortalité des évènements thrombotiques a chuté de 18%. L'héparine est très utilisée de nos jours, son suivi peut se faire soit avec TCA soit avec l'activité anti-Xa.

∞**1935(le taux de prothrombine)** : ARMAND QUICK médecin et chimiste américain décrit le test de mesure du temps de coagulation. Il l'a appelé « Taux de Prothrombine » (TP) car il pensait que seuls la prothrombine et le fibrinogène intervenaient dans le test. Ce test est également appelé « temps de Quick » et est le test le plus pratiqué en hémostase.

∞**1939 (l'anti vitamines K)** : la molécule « dicoumarol » est extraite et identifiée à partir de feuilles de trèfles moisies, après l'observation d'un nombre important de décès par

hémorragie chez des vaches ayant ingéré la plante. Initialement utilisé comme raticide, il est ensuite utilisé en clinique comme anticoagulant, avant d'être supplanté par l'un de ces dérivés : la warfarine.

∞**1953(le TCA)** : RD LANGDELL, RH WAGNER et KM BRINKHOUS décrivent le temps de céphaline plus activateur. Ce test a été développé afin de pouvoir différencier les plasmas de patients normaux et hémophiles, alors que le TP n'en était pas capable. L'introduction du TCA en pratique clinique, en combinaison avec le TP, a permis le diagnostic de plusieurs anomalies de l'hémostase et a défini une nouvelle ère dans l'histoire de la coagulation.

∞**1954(les facteurs de la coagulation)** : la majorité des facteurs de la coagulation ont été découverts au cours des années 1940 et 1950. Initialement appelé par les noms des malades, la dénomination par les chiffres romains s'est imposée en 1954 afin d'en simplifier l'usage.

∞**1964 (la cascade de coagulation)** : proposition par deux équipes indépendantes, du concept de la cascade de coagulation. Ce schéma rend compte de l'activation séquentielle des différents facteurs de la coagulation aboutissant à la formation du caillot de fibrine. La boucle d'amplification permet notamment d'expliquer la rapidité et l'ampleur du phénomène de la coagulation.

∞**80's (l'automatisation des tests d'hémostase)** : sortie du premier analyseur d'hémostase de stago, le ST888. Ce semi-automate a marqué le démarrage de l'automatisation pour l'étude de l'hémostase. Depuis, la discipline n'a cessé d'évoluer, tant par l'implémentation de nouveaux tests, que par l'amélioration des performances des dosages.

∞**90's (les chaînes automatisées)** : la fin des années 90 est marquée par l'intégration des premières chaînes entièrement automatisées dans les laboratoires d'analyses médicales. Ces chaînes robotisées comprennent des analyseurs de biochimie, d'immunologie, de cytologie et bien sûr d'hémostase. Les années 90 sont aussi celles de l'essor des techniques chromogéniques et immunologiques en hémostase présentes notamment dans le bilan de thrombose, le dépistage d'anticoagulants circulants et le dosage des D-dimères.

∞**2008 (les anticoagulants oraux directs)** : mise sur le marché de nouveaux médicaments anticoagulants nommés « anticoagulants oraux directs ». Ces médicaments (Dabigatran, Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban) offrent une alternative aux AVK et héparines. Ils ont pour avantage d'être utilisables à doses fixes, et sans surveillance biologique régulière sauf (cas particuliers).

∞**2018 (les tests de génération de thrombine)** : le test de génération de thrombine, inventé

en 1953, est disponible sur automate 100% standardisé, le ST GENESIA. Majoritairement utilisé en recherche, ce test pourra maintenant servir à des fins cliniques, dans les pathologies hémorragiques et thrombotiques, mais aussi pour la gestion des médicaments anticoagulants.

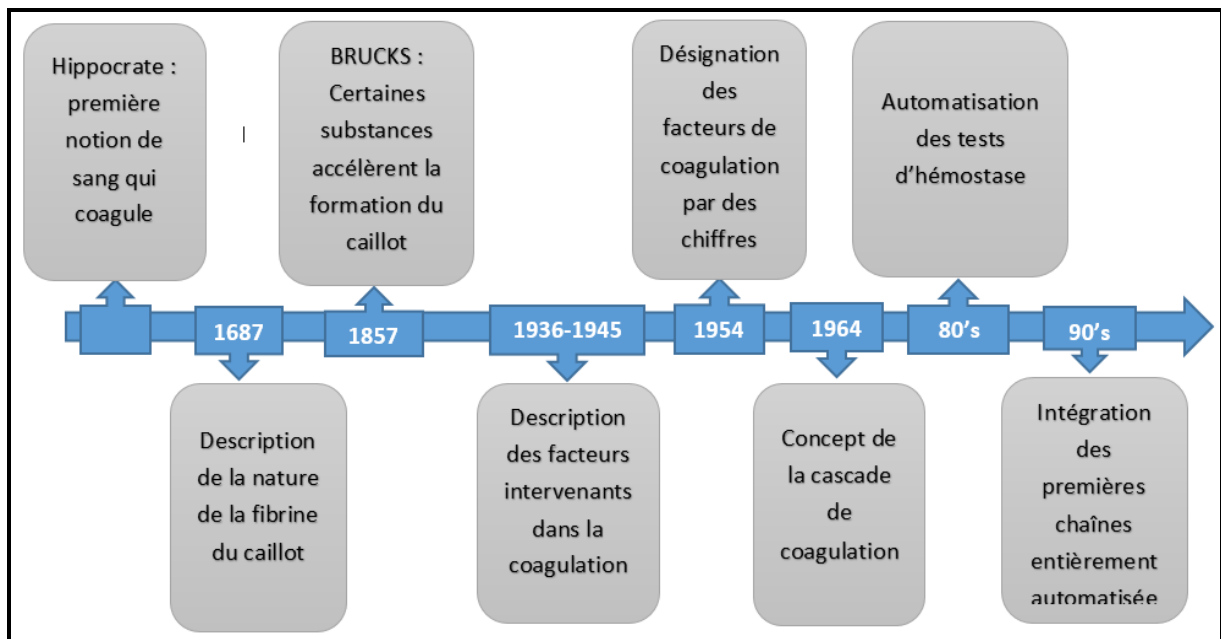


Figure 01 : Historique de la coagulation

1.2. Généralité sur l'hémostase :

L'hémostase est un processus physiologique qui permet la prévention et l'arrêt des hémorragies en cas de lésion de la paroi vasculaire. Elle joue aussi un rôle dans le maintien de la fluidité sanguine par la mise en jeu de systèmes inhibiteurs (6).

Les phénomènes physiologiques de l'hémostase se décomposent en trois parties successives artificiellement distinctes mais en réalité intriquées (**figure2**) :

- ~ L'hémostase primaire : aboutit à la formation du thrombus blanc
- ~La coagulation : consolide ce premier thrombus
- ~La fibrinolyse : permet la dissolution du caillot.

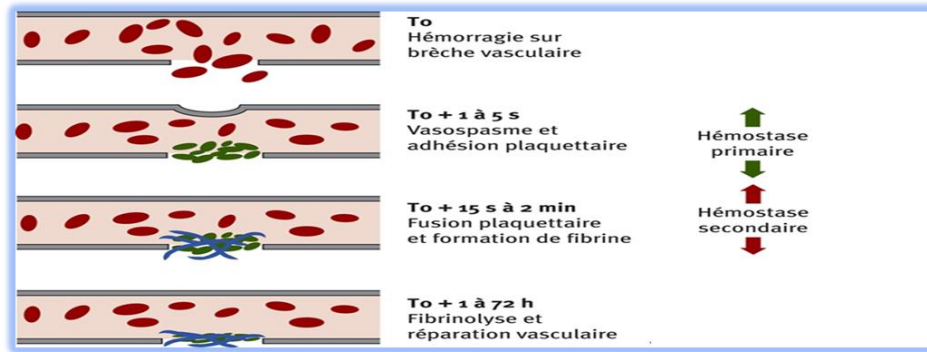


Figure 02 : Les trois phases de l'hémostase

2. Différente étapes de l'hémostase :

2.1. Hémostase primaire :

2.1.1 Définition :

Il s'agit de l'ensemble des mécanismes physiologiques conduisant à l'obturation initiale de la brèche vasculaire et aux premières étapes de sa réparation. Le clou plaquettaire, ou thrombus blanc, est le produit final de l'hémostase primaire qui est secondairement consolidé par la mise en œuvre des processus de la coagulation. Quatre acteurs principaux dominent cette phase : les composants de la paroi vasculaire, les plaquettes sanguines, et deux protéines plasmatiques qui sont le fibrinogène et le facteur Will- brand (VWF) (3).

2.1.2. Les acteurs intervenants :

2.1.2.1. La paroi vasculaire :

2.1.2.1.1. Anatomie de la paroi vasculaire :

La composition anatomique des vaisseaux repose sur un assemblage de plusieurs couches cellulaires et non cellulaires variant selon la nature et le calibre vasculaire. On retrouve, de dedans en dehors, la monocouche de cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et la couche externe de tissu conjonctif ou adventice (**figure3**). La propriété fondamentale de la paroi vasculaire, qui sous-tend l'équilibre physiologique des mécanismes de l'hémostase, est l'hémocompatibilité de la cellule endothéliale au repos qui est ainsi

thromborésistante en prévenant l'activation du système de la coagulation. En revanche, la cellule endothéliale activée et surtout les structures sous- endothéliales sont hautement thrombogènes. Toute rupture de l'intégrité de la couche endothéliale met ainsi à nu les structures sous- endothéliales qui, en contact direct avec le sang circulant, induisent les phénomènes de l'hémostase primaire et de la coagulation à l'origine d'un thrombus (3).

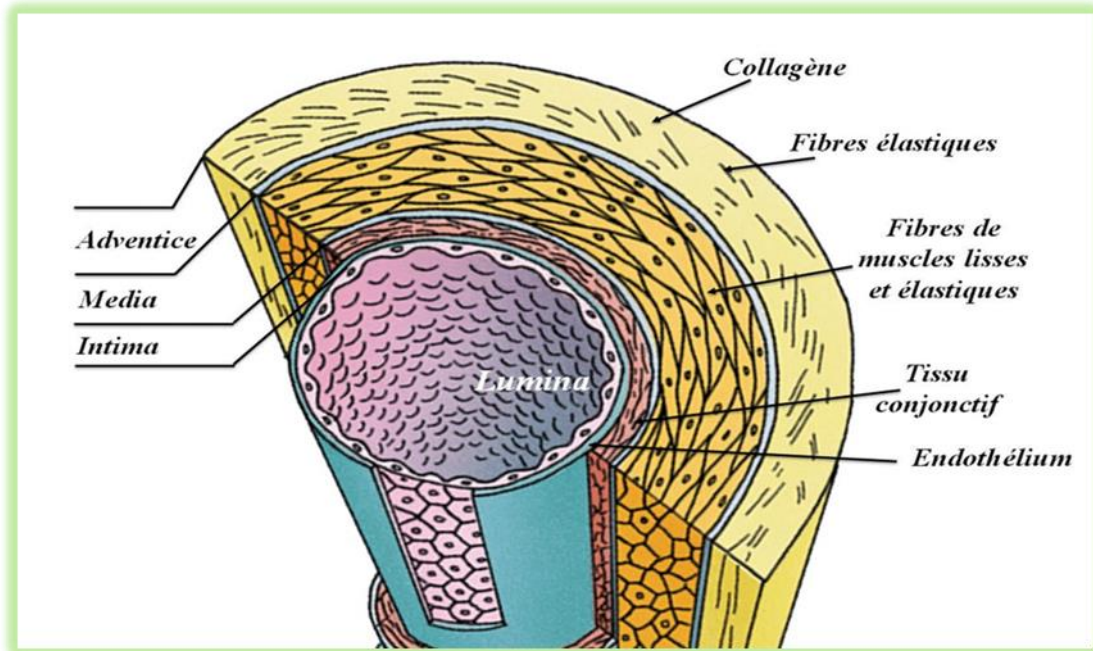


Figure 03 : Structure de la paroi vasculaire

2.1.2.1.2. Les cellules endothéliales :

Les cellules endothéliales sont arrimées sur une couche de macromolécules qu'elles synthétisent elles-mêmes et qui sont très thrombogènes : collagène, fibronectine, laminine, VWF, glycosaminoglycanes. La thromborésistance de la face interne de la cellule endothéliale est assurée par des propriétés actives et passives qui sont la charge ionique négative de la membrane, l'agencement antiadhésif des protéines de surface, la production locale de médiateurs antiagrégants plaquettaires, d'inhibiteurs de la coagulation ou encore d'activateurs de la fibrinolyse. La thrombogénicité de la cellule endothéliale s'exprime à travers la modulation de ces- propriétés induite par divers médiateurs activateurs tels que les endotoxines bactériennes, les cytokines pro-inflammatoires (interleukine [IL-1], tumor necrosis factor [TNF]) ou encore la thrombine. La cellule endothéliale activée exprime des

protéines prothrombotiques (phospholipides, facteur tissulaire...) à sa surface membranaire, déclenchant ainsi les phénomènes d'adhésion/ agrégation plaquettaire ou les réactions de la coagulation (3).

2.1.2.2. Les plaquettes :

2.1.2.2.1. Structure des plaquettes :

Il s'agit de cellules anucléées de 2 à 3 µm de diamètre et d'un volume de 8 à 10 fl, produites dans la moelle osseuse par le biais d'une fragmentation cytoplasmique de leurs précurseurs mégacaryocytaires. Le taux de plaquettes sanguines varie de 150 à 400 10⁹/l, le tiers du pool plaquettaire périphérique étant séquestré dans la rate ; elles ont une durée de vie de 8 à 10 jours.

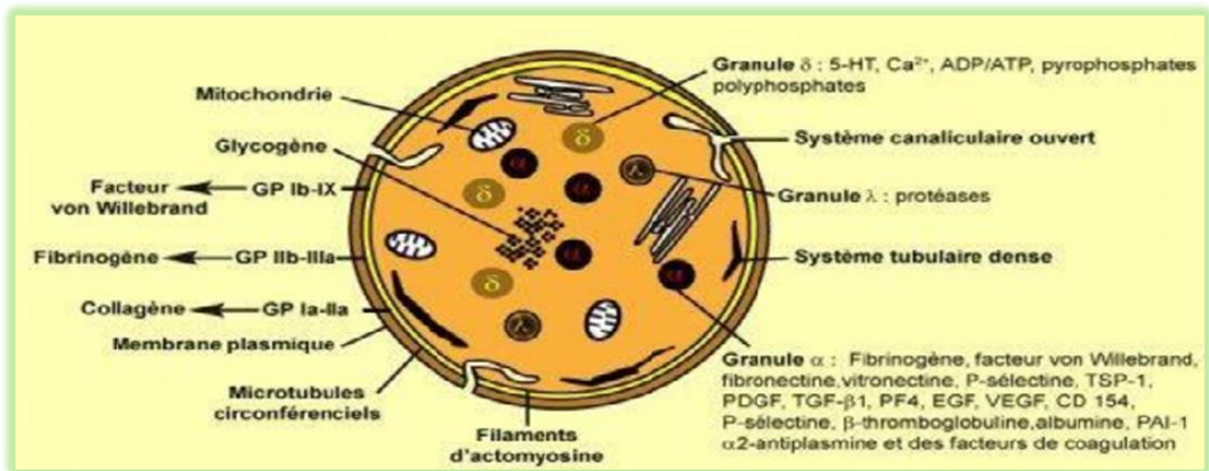


Figure 04 : Représentation schématique de la cellule plaquettaire

2.1.2.2.2. La membrane plaquettaire :

La membrane plaquettaire est classiquement constituée, comme toute membrane cellulaire, d'une bicouche phospholipidique au sein de laquelle viennent s'arrimer des glycoprotéines hydrophobes riches en acide sialique tel que la phosphatidyl serine déterminant la charge négative. Les phospholipides constituent 80 % des lipides membranaires et sont polarisés au niveau du feuillet interne lorsque la plaquette est au repos. À l'état d'activation plaquettaire,

les phospholipides sont exposés sur le versant externe de la membrane, au contact des composants plasmatiques, assurant ainsi leur fonction pro coagulante. Les glycoprotéines ancrées dans la membrane jouent un rôle de récepteur dont la fonction est de transmettre un signal vers les structures cytoplasmiques, contractiles ou sécrétrices par exemple. Les glycoprotéines dont les fonctions sont les mieux connues sont le complexe gpIb/IX, récepteur de VWF impliqué dans l'adhésion plaquettaire à l'endothélium, et le complexe gpIIb/IIIa, récepteur du fibrinogène impliqué dans le processus d'agrégation plaquettaire (7).

2.1.2.2.3. Le cytoplasme plaquettaire :

Un système membranaire complexe intra cytoplasmique caractérise la cellule plaquettaire et ses fonctions de sécrétion. Le système canaliculaire ouvert, dont le rôle est de permettre l'augmentation de la surface d'échange avec le milieu extérieur permettant ainsi un meilleur déversement et stockage des substances des granulations plaquettaires. Le système tubulaire dense n'est pas ouvert sur l'extérieur et consiste en un lieu de stockage du Ca⁺⁺ utilisé par les structures contractiles (7).

Les microtubules et les microfibrilles représentent l'appareil contractile de la cellule plaquettaire.

2.1.2.2.4. Les granulations intra-cytoplasmiques :

Trois types de granules intra cytoplasmiques sont individualisables, dont le rôle réside dans le stockage de nombreuses substances spécifiques à chacune d'entre elles.

Les granules alpha sont les plus abondants et sont mis en évidence par leur teinte azurophile en coloration par le May-Grünwald- Giemsa en microscopie optique. Ils contiennent des facteurs de la coagulation, des cytokines tel que : PDGF, TGF, EGF, ainsi que des substances adhésives tel que : fibrinogène, fibronectine et thrombospondine.

Les granules denses sont les moins nombreux, de l'ordre de 5 à 10 par cellule ; individualisables en microscopie électronique, ils contiennent des substances proagrégantes et vasoactives (adénosine diphosphate [ADP], adénosine triphosphate [ATP], sérotonine, histamine, Ca⁺⁺...).

Les lysosomes, enfin, sont le lieu de stockage de diverses enzymes à activité antibactérienne ou protéolytique tel que phosphatase acide, protéase, collagénase... (7)

2.1.2.3. Facteur Von Willebrand :

Il s'agit d'une protéine synthétisée à la fois par les cellules endothéliales et par les mégacaryocytes. Son rôle est double : il permet dans l'hémostase primaire l'adhésion des plaquettes aux cellules endothéliales activées, ou au sous-endothélium, via son récepteur plaquettaire gpIb/IX (12,13). Ce rôle s'exprime essentiellement lors des contraintes hémodynamiques fortes. Dans la coagulation plasmatique, le VWF représente en outre la protéine transporteuse du facteur VIII coagulant, ou facteur anti hémophilique A(7).

2.1.2.4. Fibrinogène :

Il s'agit d'une protéine soluble synthétisée par le foie, substrat final de la coagulation qui est transformé en fibrine insoluble par la thrombine. Le fibrinogène exerce en outre un rôle important au niveau de l'hémostase primaire en assurant les ponts moléculaires inter plaquettaires à l'origine des agrégats plaquettaires(12,14).

Le fibrinogène, également appelé facteur I (FI) dans la cascade de coagulation, est une glycoprotéine adhésive fibreuse. Elle est présente dans le plasma à des concentrations allant de 2 à 4 mg/ml (fourchette normale).

Sa structure est tri nodulaire, elle est constituée de trois domaines alignés (figure5). La partie centrale de la molécule (région E) est légèrement plus petite (environ 5nm de diamètre) tandis que les régions extérieures (régions D) présentent un diamètre de 6nm pour former une structure d'environ 45nm de long (22,23).

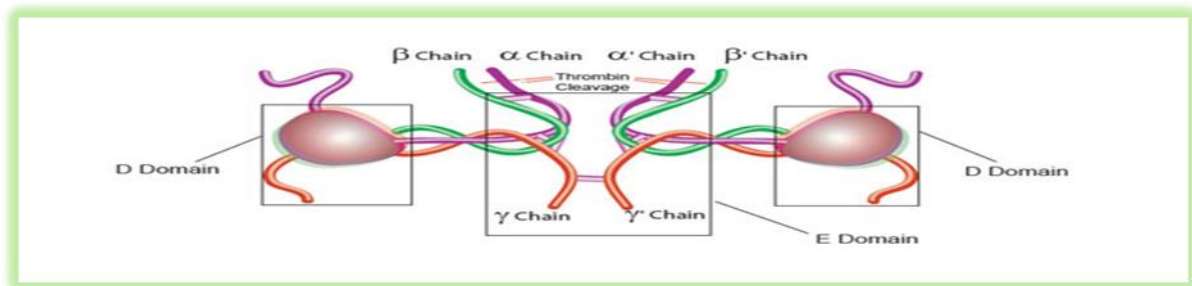


Figure 05 : Structure tri nodulaire du fibrinogène

2.1.3. Déroulement de l'hémostase primaire :

L'hémostase primaire met en œuvre une barrière hémostatique d'urgence par la constitution d'un « clou plaquettaire », ou thrombus blanc, venant obstruer la brèche vasculaire.

Elle est théoriquement constituée d'un temps vasculaire et un temps plaquettaire.

- Temps vasculaire :

Le temps vasculaire est l'étape initiale après formation d'une brèche vasculaire : il en résulte une vasoconstriction réduisant le calibre vasculaire qui ralentit le débit sanguin, permettant une réduction des pertes et une certaine stase circulatoire qui favorise la mise en œuvre des différentes étapes de l'hémostase. La vasoconstriction réflexe est induite par l'élasticité de la tunique sous-endothéliale des cellules musculaires lisses, mais aussi par le système nerveux neurovégétatif innervant les structures vasculaires. De nombreuses substances sécrétées par les cellules endothéliales ou les plaquettes activées, comme la sérotonine, l'endothéline ou le TXA₂, entretiennent ou accroissent la vasoconstriction (8).

- Temps plaquettaire :

◇ **Adhésion plaquettaire** : Il s'agit d'un phénomène passif induit par la rencontre des plaquettes circulantes avec les structures sous-endothéliales hautement thrombogènes comme le collagène, mises à nu par la rupture de la couche endothéliale (11). Les plaquettes vont se fixer au collagène sous-endothélial de manière soit directe par la glycoprotéine Ia/IIa, soit indirecte par l'intermédiaire du facteur Von Willebrand qui établit un pont entre la glycoprotéine plaquettaire et le sous-endothélium (9).

◇ **Activation plaquettaire** : L'activation des cellules plaquettaires est caractérisée par deux phénomènes principaux, leur changement de forme et leur activation métabolique. Il s'agit de processus actifs nécessitant de l'énergie, sous forme d'ATP dérivant du métabolisme du glucose, et la disponibilité intra cytoplasmique des ions calcium (Ca⁺⁺) indispensables à l'activation du système contractile actine-myosine. Discoïdes à l'état de repos, les plaquettes activées deviennent sphériques, émettent des pseudopodes et s'étalent sur la surface d'adhésion (10). Les granules intra cytoplasmiques fusionnent avec le système canaliculaire ouvert et y libèrent leur contenu, qui se déverse ainsi dans le plasma environnant. Ce phénomène de sécrétion plaquettaire, libère de nombreuses substances proagrégantes (ADP, fibrinogène, sérotonine), procoagulantes (facteur V, VWF, fibrinogène) ou vasomotrices (sérotonine, NO, TXA₂) créant les conditions favorables à la coagulation plasmatique. Par ailleurs la plaquette activée génère de nombreuses substances pharmacologiquement actives à partir de ses phospholipides membranaires comme l'acide arachidonique. Celui-ci est métabolisé par la phospholipase A₂ pour aboutir à la TXA₂, puissant agent vasoconstricteur et proagrégant.

Un autre phénomène essentiel se déroulant au cours de la phase d'activation plaquettaire est le phénomène de « flip-flop » membranaire, permettant aux phospholipides chargés négativement, notamment la phosphatidylsérine, de s'extérioriser et de devenir disponibles pour la fixation des facteurs de la coagulation vitamine K-dépendants, amplifiant les processus enzymatiques de la cascade de la coagulation.

◇ **Agrégation plaquettaire** : les glycoprotéines IIb /IIIa de surface, lors de l'activation plaquettaire subissent une modification conformationnelle qui leur permet de fixer le fibrinogène en présence de calcium, l'agrégation est une interaction des plaquettes entre elles, créant un premier thrombus composé de plaquettes et de fibrinogène qui se consolidera ensuite : le thrombus blanc (15).

2.2. Coagulation plasmatique :

2.2.1. Définition :

La coagulation est le processus qui permet la consolidation de thrombus, obtenu à la fin de l'hémostase primaire, grâce à la génération de thrombine qui stabilise l'agrégat plaquettaire et transformant le fibrinogène en fibrine permettant ainsi la gélification du plasma (12).

2.2.2. Les acteurs intervenants :

- **Eléments cellulaires :**

La coagulation ne peut se dérouler sans la présence de cellules ou de substances originaires de ces cellules. Les cellules les plus importantes dans la coagulation sont les cellules endothéliales, les monocytes et les plaquettes et les cellules périvasculaires (15).

- **Eléments non cellulaires :**

Facteurs de coagulation et leurs inhibiteurs : les facteurs de coagulation sont des pro-enzymes toutes synthétisées par le foie. Il existe toujours au moins deux formes pour ces facteurs : une forme non active (exemples, facteur VII : proconvertine ; facteur II : prothrombine) et une forme active (exemples, facteur VII activé : convertine ; facteur II activé : thrombine).

Chaque facteur, à l'état activé, pourra, soit activer un autre facteur, soit modifier certaines

protéines impliquées ou non dans la coagulation. Le seul substrat vrai de la coagulation est le fibrinogène (15)

Les facteurs de la coagulation sont divisés en précurseurs (pro-enzymes ou zymogènes) de sérine-protéases (facteurs II, VII, IX, X, XI, XII), en cofacteurs (facteurs V, VIII) et en substrat (fibrinogène).

La vitamine K intervient au stade terminal de la synthèse de 4 facteurs de la coagulation (facteurs II, VII, IX, X = facteurs vitamine K dépendants) en leur faisant acquérir la capacité de se complexer avec le calcium et les phospholipides.

Pour que l'activation enzymatique des facteurs de la coagulation se déroule normalement, la présence de phospholipides et de calcium est nécessaire. Les phospholipides proviennent de deux sources principales, les plaquettes et les tissus (thromboplastine tissulaire). Le calcium est nécessaire à la plupart des étapes d'activation enzymatique de la coagulation. La coagulation aboutit, après une cascade de réactions enzymatiques, à la conversion du fibrinogène soluble en fibrine insoluble. L'apparition de filaments de fibrine à la surface des plaquettes vient consolider le clou hémostatique et aboutit à la formation du caillot (1).

Facteurs	Nom	Fonction	Vit K dépendance
<i>Facteurs de la coagulation</i>			
<i>I</i>	Fibrinogène	Substrat	
<i>II</i>	Prothrombine	Zymogène	+
<i>V</i>	Proaccélélerine	Cofacteur	
<i>VII</i>	Proconvertine	Zymogène	+
<i>VIII</i>	Facteur antihémophilique A	Cofacteur	
<i>IX</i>	Facteur antihémophilique B	Zymogène	+
<i>X</i>	Facteur Stuart	Zymogène	+
<i>XI</i>	Facteur Rosenthal	Zymogène	
<i>XII</i>	Facteur Hageman	Zymogène	
<i>XIII</i>	Facteur stabilisant de la fibrine	Zymogène	
<i>Facteur tissulaire</i>		Récepteur VII a	
<i>Facteurs inhibiteurs</i>			
<i>Antithrombine</i>		Inhibiteur	
<i>Protéine C</i>		Zymogène	+
<i>Protéine S</i>		Cofacteur	+
<i>Thrombomoduline</i>		Récepteur IIa	

Tableau 01 : Facteurs et protéines de la coagulation

2.2.3. Déroulement de la coagulation plasmatique :

2.2.3.1. Coagulation plasmatique in vivo :

Elle se caractérise par une phase d'initiation suivie d'une phase d'amplification et de propagation.

a) La phase d'initiation :

L'élément déclenchant de la coagulation in vivo est le facteur tissulaire FT (une glycoprotéine exprimée à la surface des cellules extravasculaires). La rupture de la barrière endothéliale permet au facteur VII plasmatique, présent en faibles concentrations sous forme activée, d'accéder au facteur tissulaire. Le complexe facteur VII activé – FT, ainsi formé, enclenche le processus de coagulation (16). Le complexe [FT- facteur VII activé] peut activer le facteur IX et le facteur X, il active un petit nombre de molécules de facteur X en facteur X activé, ce dernier initie rapidement l'activation d'un petit nombre de molécules de prothrombine avec génération de premières traces de thrombine (17).

b) La phase d'amplification :

Le facteur X activé en présence de facteur V activé de phospholipides des membranes cellulaires, et de calcium, s'appelle le complexe prothrombinase. Le complexe prothrombinase active la prothrombine en thrombine. La thrombine est une enzyme extrêmement puissante. Son principal substrat est le fibrinogène. La thrombine, outre son action sur le fibrinogène, catalyse sa propre génération en favorisant la génération des facteurs VIII, V et XI activés. Elle active également le facteur XIII qui va stabiliser le caillot de fibrine (15). C'est à la surface des plaquettes que se produit la phase d'amplification, les plaquettes sanguines exposent à leur surface des phospholipides chargés négativement au niveau desquels se fixent et s'activent en cascade les divers facteurs (16).

c) La phase de propagation :

La présence à la surface des plaquettes de concentrations élevées de facteurs activés permet la génération explosive de quantités importantes de thrombine qui va activer en boucle les facteurs XI, VIII, V, et surtout la conversion du fibrinogène soluble en fibrine insoluble (17).

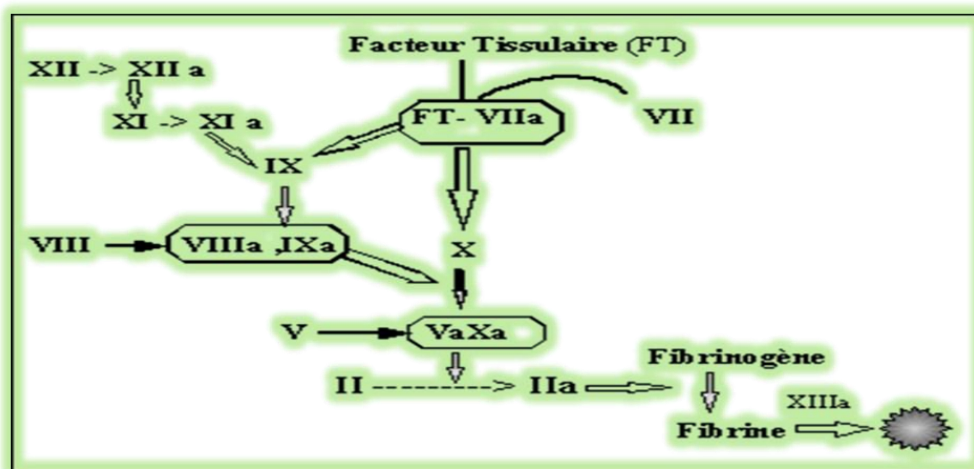


Figure 06 : Schéma de la coagulation plasmatique in vivo

2.3. Fibrinolyse :

2.3.1. Définition :

La fibrinolyse est un processus physiologique permettant la solubilisation du thrombus fibrineux (18). Elle est bâtie selon la même conception que le système de la coagulation comprenant des molécules à activité protéolytique, qui agissent sur un substrat, contrôlées par un système d'activateurs et d'inhibiteurs permettant une régulation physiologique très précise (3).

2.3.2. Les acteurs intervenants :

2.3.2.1. La plasmine :

La plasmine est une peptidase dérivant d'un précurseur inactif ; le plasminogène ; qui catalyse l'hydrolyse des liaisons peptidiques situées préférentiellement après un résidu de lysine ou un résidu d'arginine. Elle possède à cet égard une plus grande sélectivité que la trypsine, elle est de ce fait l'enzyme centrale de la fibrinolyse (3).

2.3.2.2. Les activateurs du plasminogène :

La fibrinolyse est contrôlée par deux systèmes équilibrés d'activation et d'inhibition de l'activité de la plasmine. Les activateurs principaux du plasminogène sont le t-PA (activateur tissulaire du plasminogène) et la pro-urokinase.

Le t-PA est une sérine protéase d'origine endothéliale dont l'activité protéolytique sur le plasminogène est déclenchée lors de son adsorption sur la fibrine. La sécrétion vasculaire de t-PA est initiée par de nombreux stimuli d'activation de la cellule endothéliale : thrombine, cytokines pro-inflammatoires, anoxie, acidose, stase...

La pro-urokinase ou activateur urinaire du plasminogène (u-PA), est le second activateur du plasminogène présent dans de nombreux tissus mais dont le rôle physiologique est moins connu que celui de la t-PA (20).

2.3.2.3. Les inhibiteurs de la fibrinolyse :

Les inhibiteurs de la fibrinolyse comportent des inhibiteurs de la plasmine proprement dits et des inhibiteurs de l'activité du plasminogène.

L'alpha-2-antiplasmine est la principale protéine à activité antiplasmine ; il s'agit d'une glycoprotéine synthétisée par la cellule hépatique qui neutralise la plasmine plasmatique circulante non liée à la fibrine (19).

Le PAI de type 1 ou PAI-1 est le principal inhibiteur des activateurs du plasminogène (PAI) ; il s'agit d'une glycoprotéine synthétisée par la cellule endothéliale qui inhibe le t-PA et l'u-PA par formation d'un complexe covalent. Le PAI-1 est majoritairement localisé dans les granules alpha des plaquettes, et est libéré lors de l'activation plaquettaire qui initie le processus de l'hémostase.

Le PAI de type 2 (PAI-2) est un autre inhibiteur synthétisé par le placenta au cours de la grossesse (7).

2.3.3. Déroulement de la fibrinolyse :

On distingue deux étapes :

◇ L'activation du plasminogène en plasmine

◇ La dégradation des substrats par la plasmine

Activation du Plasminogène en plasmine :

Le plasminogène possède une grande affinité pour la fibrine, et s'y fixe par un récepteur spécifique aux côtés de son activateur, permettant ainsi la génération locale de plasmine via le démasquage des sites protéolytiques (14).

Dégradation des substrats par la plasmine :

La plasmine protéolyse le fibrinogène et la fibrine en divers fragments de tailles variables, identifiés comme les produits de dégradation de la fibrine, ou PDF, qui sont quantifiables dans le plasma. Le taux de PDF plasmatiques est ainsi un reflet de l'activité de la plasmine et donc de l'activation de la coagulation. Les PDF sont emportés dans le courant plasmatique et épurés au niveau du foie par le système macrophagique (14).

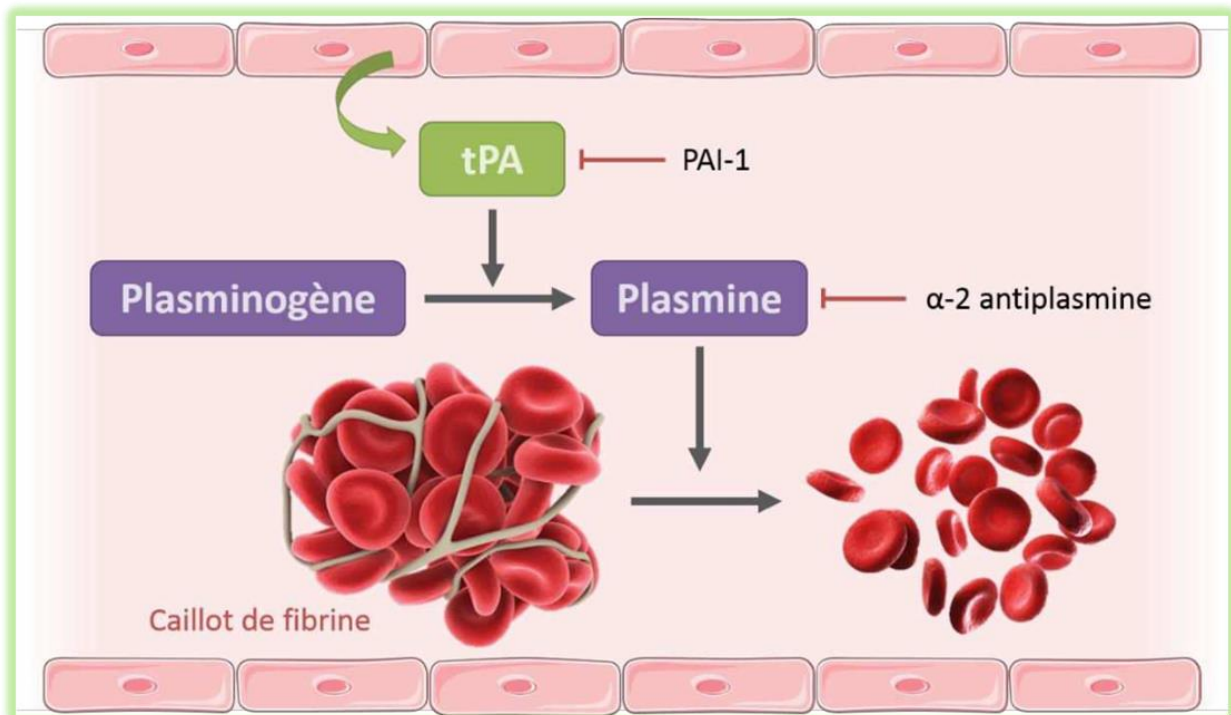


Figure 07 : schéma représentatif des acteurs intervenants dans la fibrinolyse

II. Chapitre II : Automatisation en hémostasie

1. Historique :

Le terme « automate » apparu en 1532, est défini comme étant un appareil mû par un mécanisme intérieur et imitant les mouvements de l'être humain. L'automatisation est considérée comme étape d'un progrès technique ou apparaissent des dispositifs techniques susceptible de seconder l'homme ; non seulement dans ses efforts musculaires ; mais

également dans son travail intellectuel de surveillance et de contrôle (24, 25).

L'automatisation dans le domaine de l'hémostase a évolué au cours du XX^{ème} siècle. Ainsi, l'étude de l'hémostase se basant auparavant sur la détection visuelle du caillot, est aujourd'hui automatisée, grâce à l'évolution des technologies dans le secteur de biologie médicale.

L'une des premières tentatives de connaître le temps de coagulation était en 1878, développée par Vierordt : il mélangea une goutte de sang reçue dans un tube de verre capillaire contenant un crin blanc de cheval bien dégraissé et nota le moment où il se recouvre d'un dépôt fibrineux (21).

Parmi les premiers systèmes de détection de la coagulation qui mesure d'une manière indirecte la viscosité, était le coagulomètre développé par Brodie et Russell en 1897. Ce dispositif, utilise une goutte suspendue de sang veineux sur une lame de verre dans laquelle les érythrocytes ont été mis en mouvement par un courant d'air soufflé par intermittence sur le bord de la goutte. Le point final est alors déterminé par examen au microscope, au moment où le mouvement d'érythrocytes est arrêté augmentant ainsi la viscosité du sang (26).

En 1910, Koffmann a développé le coaguloviscosimètre : cet appareil détecte la formation du caillot sanguin par simple changement de la viscosité du sang. En effet lors de la coagulation, un changement de tension est généré, il sera par la suite enregistré par un système de lecture (26, 27).

Le néphélomètre a vu le jour en 1920, cet instrument mesure la dispersion de la lumière de 90 degrés dans une suspension colloïdale (27). En 1936, Baldes et Nygaard avaient développé un coagulomètre fondé sur une technique photoélectrique, constitué d'un bain-marie à 37,5°C, et une cellule photoélectrique. Cet instrument original devrait être utilisé dans une pièce sombre pour éviter l'intervention d'une lumière parasite. Il a subi par la suite d'autres améliorations le rendant plus stable (26).

Les années 1950 ont vu le développement de la « BBL Fibromètre » , cet instrument emploie une méthode électromécanique de détection des caillots, ayant permis aux laboratoires la transition de l'inclinaison manuelle du tube, vers une méthode semi-automatique plus précise (27), où le spécimen et le réactif étaient mélangés manuellement et l'appareil enregistrerait l'apparition du caillot (28).

Les instruments d'hémostase actuels se reposent sur les principes de détection de caillot des premiers systèmes d'analyse : Soit ils observent la formation d'un caillot (appareil à détection photo-optique), soit ils détectent le caillot par "sensation" (appareil à détection électromécanique basé sur le changement de la viscosité lors de la coagulation). Néanmoins Ces instruments ont été améliorés pour éliminer les variations dans le pipetage et la détection du point final. Ils permettent également de faire plusieurs analyses effectuées simultanément sur le même spécimen (27, 29).

C'est au début des années 1990 que sont apparus les premiers vrais automates d'hémostase capables de travailler et partir du tube primaire jusqu'au rendu de résultat sans intervention humaine (31). Le marché des gros automates d'hémostase est représenté par deux appareils français (le STA® de chez Diagnostica Stago et l'Hemolab® de chez bioMérieux), deux appareils allemands (le KC40 de chez Amelung et le Fibrintimer automatique, BFA), un appareil américain (la série Electra 1000 de MLA), un italien (le Futura IL) et un japonais (la série CA de Sysmex). Parmi toutes les machines citées, deux se sont taillés la part du lion dans le marché français jusqu'à présent, il s'agit du STA® (très majoritaire au niveau des CHU), et de l'Hemolab® (majoritaire au niveau du marché privé).

Ces appareils sont des analyseurs multiparamétriques, accessibles en continu et adaptés à la fois aux techniques colorimétriques, chromométriques et immunonéphélométriques (automates mixtes) (30).

2. Critères de choix d'un automate :

Le souci principal d'un laboratoire est de choisir l'équipement de coagulation qui fournit des résultats appropriés malgré les restrictions budgétaires (32). De tels instruments exigent de l'entretien technique régulier, la mise à jour des connaissances et des contrôles du système, puisqu'une erreur ou une défaillance peut influencer de façon décisive un certain nombre de facteurs. Les systèmes de contrôle qui garantissent la fiabilité analytique sont par conséquent obligatoires (27, 33, 34, 35, 36).

Lors de l'évaluation précédant l'achat d'un nouvel équipement, on doit comparer d'abord les analyseurs en fonction de critères tels que :

- ◇ Les performances analytiques de la machine et la qualité de sa base de données
- ◇ La période d'inactivité et fiabilité

- ◇ Le délai de réponse aux demandes de réparation
- ◇ Le coût de l'équipement et des éléments jetables
- ◇ La cadence
- ◇ La largeur de menu de tests
- ◇ La disponibilité de services d'entretien (maintenance) adéquats dans un délai approprié
- ◇ Le processus de validation et temps de traitement
- ◇ La flexibilité en ce qui concerne l'usage de réactifs d'autres fabricants
- ◇ La possibilité d'ajouter de nouveaux protocoles de tests
- ◇ Les exigences particulières (eau, électricité, évacuation des déchets)
- ◇ Les exigences de sécurité
- ◇ La facilité d'implémentation en termes d'espace et de bruit
- ◇ La facilité d'utilisation des programmes informatiques associés, sa connectivité aux autres modules du laboratoire et au système SIL (système informatique du laboratoire).

2.1. Le cahier des clauses techniques :

Le cahier des clauses techniques est un document contractuel conçu pour constituer une aide pour l'ingénieur biomédical dans la rédaction des appels d'offre et le choix des analyseurs pour les laboratoires d'analyses médicales.

Les différents chapitres auxquels chaque fournisseur doit apporter des réponses les plus précises possibles sont (37, 38) :

- ◇ Caractéristiques générales de l'analyseur
- ◇ Caractéristiques informatiques
- ◇ Système de traitement et d'identification des échantillons
- ◇ Système de traitement et de gestion du milieu réactionnel
- ◇ Système de traitement des mesures

- ◇ Système de traitement et d'exploitation des informations
- ◇ Système de traitement de la connexion
- ◇ Assurance qualité
- ◇ Installation, utilisation de l'analyseur
- ◇ SAV (Service après-vente)

3. Automatisation en hémostase

3.1. Automatisation en phase pré-analytique :

3.1.1 Définition :

Les conditions pré-analytiques constituent un volet majeur d'assurance de la fiabilité et de la validité des résultats en hémostase. Elles constituent les sources les plus importantes des résultats erronés ou non interprétables. La maîtrise et les efforts de standardisation de ces conditions pré-analytiques sont primordiaux pour assurer la qualité de l'exploration en hémostase (39) ainsi l'automatisation de la phase pré-analytique permet une réduction de la durée de cette phase qui représente deux-tiers du temps qui s'écoule entre le prélèvement et le retour du résultat au médecin prescripteur, et permet d'accroître l'efficacité et la rentabilité du laboratoire (40).

L'offre industrielle est multiple et évolutive. Il existe depuis quelques années des machines qui simplifient l'étape de pré-analyse en automatisant les étapes de centrifugation, de débouchage, d'aliquotage, de rebouchage, de triage... (41)

3.1.2. Les systèmes d'automatisation de la phase pré-analytique :

L'automatisation s'applique à trois optiques pour la phase pré-analytique :

3.1.2.1. Automatisation total d'un laboratoire :

Il s'agit du regroupement et de la robotisation, au sein d'un plateau commun inter spécialités, de toutes les activités de biologie « usuelle », y compris la chaîne pré-analytique. Les

activités « spécialisées » et « référentes » étant maintenues au sein des différentes unités fonctionnelles du laboratoire (45, 46, 47, 48,49).

Les échantillons sont embarqués sur des modules de robotique depuis le tri des tubes à l'arrivée du laboratoire jusqu'au stockage en fin de chaîne. L'activité manuelle se résume au pilotage du système et à la gestion des analyses non automatisées.

Le terme automatisation totale englobe à la fois l'automatisation du pré-analytique, connexion de cette chaîne aux automates analytiques, puis automatisation des tâches post-analytiques : identification des tubes par lecture codent à barres, déchargement des chaînes analytiques, rebouchage des tubes, gestion des redosages et tests complémentaires, tri des tubes après analyse, stockage des tubes après analyse.

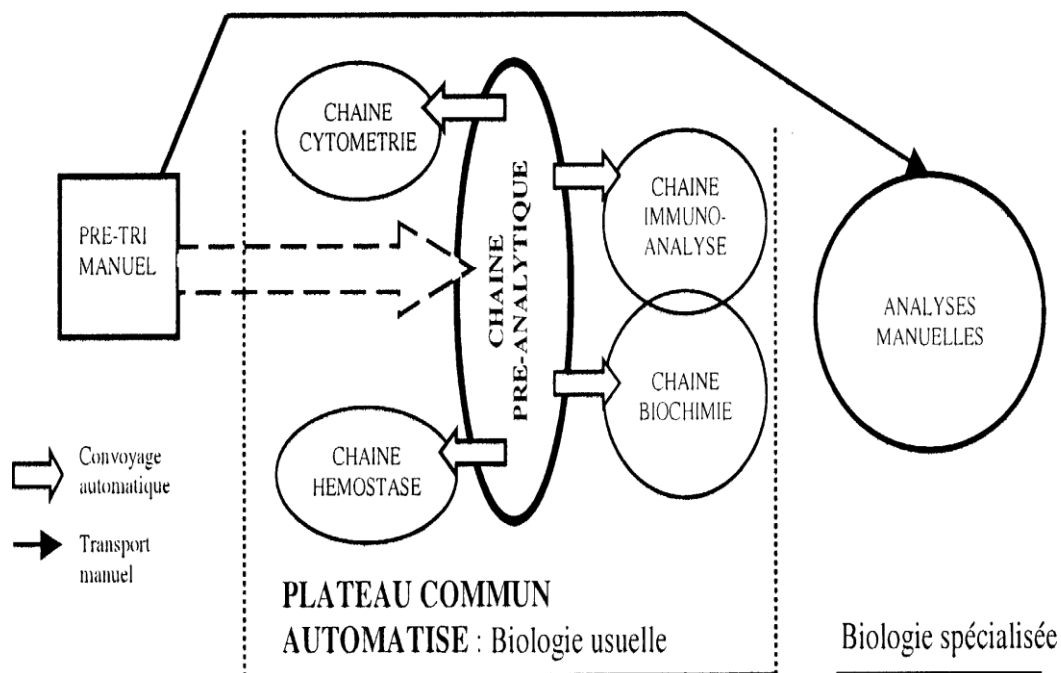


Figure 08 : Automatisation totale du laboratoire

3.1.2.2. Automatisation en ilots :

Un ilot d'automatisation est une cellule autonome de production automatisée, qui ne fait pas partie d'un système d'ensemble. Cet ilot permet d'automatiser une tâche (pouvant être caractérisée elle-même par plusieurs tâches) spécifique permettant ainsi de suppléer au

personnel sur certains secteurs pour des travaux difficiles, dangereux ou répétitifs.

Ce modèle repose sur la création d'îlots ou modules d'automatisations intégrées pour chacune des chaînes de production à fort volume d'activité (biochimie, immunohématologie, hémostase, sérologies bactériennes), chaque îlot incluant généralement son propre traitement pré-analytique. Il n'y a pas de plateforme commune.

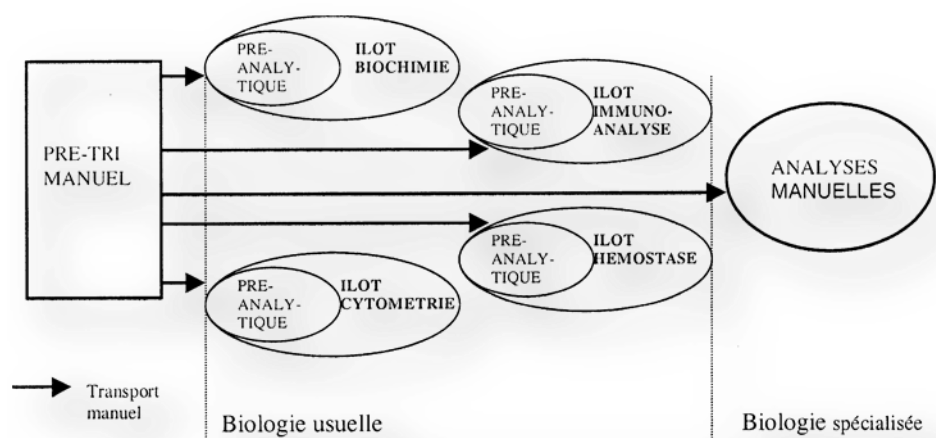


Figure 09 : Automatisation en îlot

3.1.2.3. Automatisation modulaire :

Un système modulaire est constitué de modules librement combinables. L'utilisateur détermine le type et le nombre de modules qui correspond à son volume d'activité présent, l'évolutivité se faisant simplement par ajout ou retrait de modules. Ces systèmes modulaires sont proposés par la plupart des entreprises du secteur des laboratoires.

Ainsi, les laboratoires mettent en commun le traitement pré-analytique des échantillons au sein d'une plateforme robotisée. Chaque unité conserve sa chaîne analytique sans regroupement inter spécialités.

Ce système représente une alternative intéressante pour les laboratoires hospitaliers de taille intermédiaire car il permet d'apporter les bénéfices de la robotisation au secteur qui en est le plus demandeur : le pré-analytique.

L'automatisation de la phase pré-analytique, sans bouleverser l'organisation des structures en place, se rapporte à une démarche de robotisation progressive ; la seconde étape pouvant être l'ajout d'îlots avec une réorganisation spatiale des locaux. Cette démarche correspond à une stratégie d'équipement plus rationnelle en rapport avec les contraintes économiques d'investissement des établissements publics de santé (42, 43, 48, 107).

3.1.3 Intérêt de l'automatisation de la phase pré-analytique :

L'automatisation de la phase pré-analytique a pour objectif (40, 42) :

- une optimisation de la régulation des flux de prélèvements arrivant aux postes d'analyse en assurant un délai constant lors de l'étape pré-analytique, et permettant au laboratoire de s'engager sur une durée précise de traitement.
- un gain de temps pour la centrifugation en automatisant le chargement et le déchargement des plots.
- une vérification automatique de la conformité du prélèvement : volume, indices de la qualité du prélèvement (absence d'hémolyse, de lactescence).
- un débouchage automatique des tubes avec une amélioration des conditions d'hygiène et sécurité biologique.
- un aliquotage sécurisé avec des portoirs spécifiques dédiés aux automates.
- une diminution du risque d'erreurs ou de contaminations éventuelles du personnel (43, 44).
- une traçabilité parfaite des prélèvements, des « ré- analyses » ou des tests réflexes.
- une gestion de la mise en sérothèque.

3.2. Automatisation de la phase post-analytique :

3.2.1. Définition :

Elle concerne la validation technique et biologique des résultats, la transmission de ceux-ci aux prescripteurs ou aux patients. Elle inclut également les règles de traitement des échantillons après analyse, leur conservation après aliquotage ou pas et leur élimination.

L'opération d'aliquotage de l'échantillon primaire peut être effectuée avant l'analyse (pour libérer rapidement des aliquots en vue de dosages spécialisés) ou après analyse (pour analyse secondaires, sérotypage).

L'automatisation de cette phase comporte (50) :

- Rebouchage / débouchage
- Stockage automatisé + 4°C et élimination automatique
- Unité préparatrice pour échantillons stockés à -20°C et -80°C
- Stockage / déstockage automatisé / informatisé à - 20° C et -80° C

3.2.2. Intérêt de l'automatisation de la phase post-analytique :

L'automatisation de la phase post analytique permet (51) :

◇D'automatiser l'archivage des tubes, leur récupération éventuelle (en cas de besoin : Notamment lorsqu'un praticien réclame (souvent en urgence) une analyse complémentaire) et leur élimination.

◇De garantir la qualité des échantillons conservés grâce à la régulation thermique dans la zone de conservation.

◇ D'améliorer la sécurité du personnel.

◇D'obtenir une meilleure traçabilité.

3.3. Automatisation de la phase analytique :

3.3.1. L'exploration de l'hémostase primaire :

3.3.1.1. Automate de numération plaquettaire :

La numération plaquettaire est aujourd'hui largement automatisée. L'automate mesure le taux plaquettaire, le volume plaquettaire moyen et reproduit la courbe de répartition des thrombocytes.

Les plaquettes sont dénombrées par mesure d'impédance, par diffraction laser et/ou par fluorescence. Le résultat est donné à partir de l'analyse de plusieurs milliers d'éléments.

*Par mesure d'impédance, elles sont souvent décomptées sur la même dilution que les hématies mais dans des canaux correspondant à de plus faibles volumes, allant de 2-12 fL pour la limite inférieure à 20-40 fL pour la limite supérieure (52,53). La répartition des volumes plaquettaires se fait selon la loi de Gauss. C'est une courbe de distribution en forme de cloche, passant par un maximum et symétrique autour de son axe.

* La diffraction laser utilise la cytométrie en flux : les particules d'un échantillon de sang dilué sont aspirées et cheminent individuellement dans un capillaire. Chaque particule traverse un faisceau lumineux et va à la fois interrompre ce faisceau (chaque interruption correspond au passage d'une particule, ce qui permet ultérieurement d'en obtenir le nombre) et diffracter ce faisceau lumineux. La quantité de lumière diffractée à 1, 2, 3 ou même 4 angles (selon les automates) est proportionnelle au volume (54).

* Par fluorescence : C'est une technique immunologique qui dénombre les plaquettes marquées par un anticorps monoclonal anti-plaquettes (CD61). Cette technique trouve tout son intérêt dans les situations de forte thrombopénie ou elle apporte une grande précision (54).

3.3.1.2. Le PFA-100 (platelet function analyzer) :

Le PFA-100 est un automate qui permet d'évaluer la capacité fonctionnelle des plaquettes sur sang citraté en simulant des conditions rencontrées in vivo lors d'une brèche vasculaire(55,56). L'échantillon est aspiré à travers un capillaire qui débouche sur une membrane recouverte de collagène ainsi que d'un activateur plaquettaire : l'épinéphrine ou l'ADP. Il existe donc deux TOP (temps d'occlusion plaquettaire) en fonction de l'agoniste utilisé : CEPI (collagène/épinéphrine) et CADP (collagène/ADP). La membrane est pourvue d'un orifice et le sang ainsi aspiré est soumis à des taux de cisaillement élevés. L'ensemble propose donc de reproduire in vitro le comportement du sang dans un vaisseau de petit diamètre lésé, la membrane faisant office de matrice extracellulaire. Dans ces conditions rhéologiques, l'occlusion de l'orifice dépend de deux paramètres : les plaquettes et le facteur Willebrand (57).

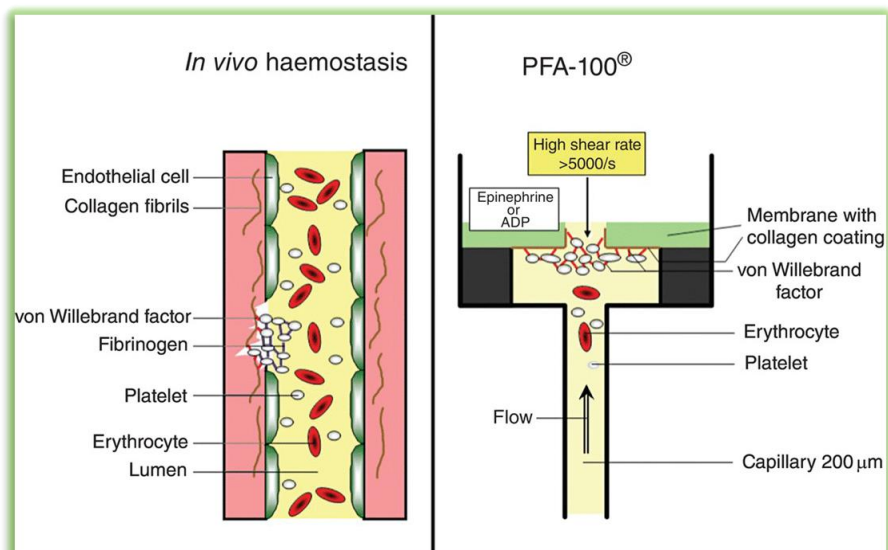


Figure 10 : Principe de fonctionnement de PFA-100

3.3.1.3 L'agrégomètre :

Deux grands groupes d'agrégomètres peuvent être identifiés selon qu'ils sont destinés à l'analyse d'un plasma riche en plaquettes (PRP) ou de sang total. Les premiers sont fondés sur les observations de Boni qui rapportait en 1963 que l'agrégation des plaquettes d'un PRP s'associait à un éclaircissement du milieu donc à une diminution de l'absorbance (58). Du fait de l'opacité du milieu réactionnel, ce principe ne peut être utilisé dans le cas de l'analyse en sang total. Les agrégomètres en sang total reposent sur les variations d'impédance du milieu après agrégation des plaquettes.

3.3.1.3.1 L'agrégométrie par variation de la transmission lumineuse :

L'agrégométrie par turbidimétrie est considérée comme la technique de référence d'évaluation de la fonction plaquettaire (59, 60). L'agrégomètre est un photomètre constitué d'une source lumineuse avec un socle pouvant recevoir une ou plusieurs cuvettes en verre siliconé couplé à un agitateur magnétique pour maintenir les cellules en suspension.

Une cellule photoélectrique reçoit le faisceau lumineux après son passage à travers la suspension, la variation du signal lumineux est alors enregistrée et transmise à un ordinateur pour être transcrite en courbe d'agrégation.

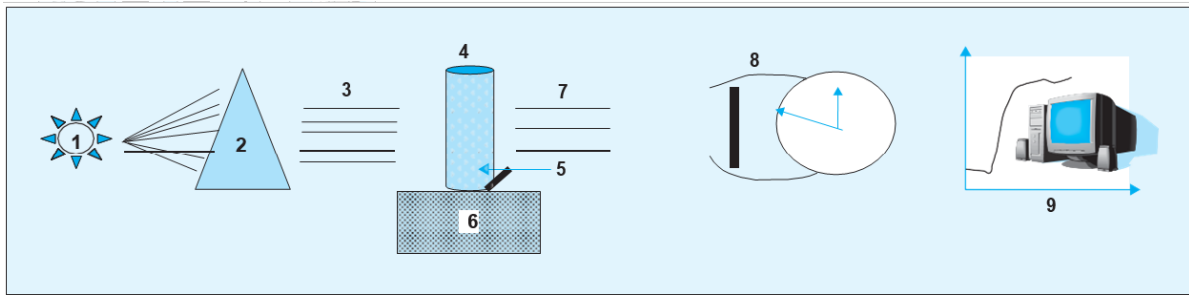


Figure 11 : Principe de l'agrégométrie par variation de la transmission lumineuse.

1- Source lumineuse polychromatique ; 2- Filtre mono- chromatique ; 3- Faisceau monochromatique ; 4- Cuve contenant du PRP ; 5- Barreau métallique ; 6- Moteur rotatif 100 tours/min ; 7- Lumière transmise ; 8- Diode photoélectrique ; 9- Enregistreur.

3.3.1.3.2. L'agrégométrie par impédancemétrie :

Cette méthode consiste à évaluer la réponse plaquettaire en sang total citraté : on mesure la variation d'impédance entre deux électrodes immergées dans un échantillon de sang total citraté sans ajustement préalable de la suspension plaquettaire. L'adhésion des plaquettes activées sur les électrodes est responsable d'une variation de la différence de potentiel entre les deux électrodes et détermine le pourcentage d'agrégation (61)

3.3.1.3.3. Agrégométrie par bioluminescence :

Le lumiagrégomètre correspond à une variante de l'agrégomètre à variation de transmission lumineuse permettant de mesurer la sécrétion granulaire en parallèle de l'agrégation plaquettaire. Cette méthode est basée sur le dosage de l'ATP par bioluminescence libérée des granules delta réagissant avec des agents extraits de la Luciole : la réactive luciférine et luciférase avec une décarboxylation oxydative de la luciférine générant une émission lumineuse. Le lumiagrégomètre utilise une diode qui émet une lumière dans l'infrarouge LED détectée par un phototransistor tandis que la mesure de la luminescence résultant de la sécrétion d'ATP est réalisée grâce à un tube photomultiplicateur disposé à angle droit du faisceau du LED (61).

3.3.2. Exploration de la coagulation plasmatique et la fibrinolyse :

3.3.2.1 Analyseur de coagulation semi-automatique : STart® 4 (62)

Issu de la famille STart, analyseurs de coagulation semi-automatiques, le start-4 est conçu avec 4 canaux de lecture. Il est un analyseur de paillasse efficace, intégré avec méthode brevetée Stago de détection électromécanique du caillot (viscosité-based system detection) qui effectue des méthodes de coagulation, chromogènes et des dosages immunologique en mode d'accès aléatoire.

Cette méthode élimine les interférences lipidiques, ictériques ou d'autres échantillons ou réactifs optiquement denses.

L'analyseur offre des dosages programmables et préprogrammés avec stockage courbe, 4stations d'incubation indépendamment temporisés, relié électroniquement à pipette multiple, de 40 caractères d'affichage à cristaux liquides et une imprimante thermique interne.

Sa légèreté, sa taille compacte le rend idéal pour les tests à faible volume de charge moyenne ou en tant que soutien pour une systématisation de détection du caillot optique.

* **Paramètres dosés (62)** : TCA, Fibrinogène, Temps de thrombine, Temps de reptilase, Facteurs de coagulation, L'héparine non fractionnée et de bas poids moléculaire, L'activité antithrombine III, L'activité de la protéine C et la protéine S, Antigène de la protéine S, Antigène facteur VWF, L'activité du plasminogène et L'activité anti plasmine, APCR...



Figure 12 : Start-4

3.3.2.2 Analyseur de coagulation automatique :

3.3.2.2.1 STA satellite(62) :

Le STA Satellite®, automate d'Hémostase de paillasse, permet la réalisation simultanée des tests chromométriques, colorimétriques et immunologiques.

Performant, fiable, robuste et d'une grande praticabilité, le STA Satellite® combine un encombrement réduit avec une capacité de chargement échantillons, réactifs et cuvettes permettant une grande autonomie de travail, il permet des tests en routine pour un maximum de 40 patients par jour. Il travaille sur tube ouvert et il est adapté pour des laboratoires avec une petite activité ou pour les laboratoires d'urgence.

* Paramètre (62) : TP, TCA, Fibrinogène, Temps de thrombine, Anti X activé, Antithrombine, D-Dimères, Anti X activé, Antithrombine.

*Caractéristiques de STA Satellite® :

- Fiabilité des prélèvements grâce à son Pipeteur Double Résolution (PDR).
- Excellentes répétabilité et reproductibilité.
- Identification positive pour les échantillons et les réactifs.

- Maintenance utilisateur réduite liée à des innovations techniques uniques (PDR, LED).
- Grande traçabilité grâce à une gestion complète des réactifs STA® code-à-barrés disponibles avec précalibration.
- Gestion du contrôle qualité sur un an.
- Système de détection viscosimétrique : absence d'interférence des plasmas colorés, précision extrême sur les caillots faibles, standardisation des instruments de la gamme STA®.



Figure 13 : STA Satellite ®

3.3.2.2.2. STA Compact Max® 2 (62) :

La gamme d'instruments de la « Génération Max » s'étend avec le STA Compact Max® 2. Trois ans après le lancement du STA Compact Max®, la seconde génération de cet instrument intègre désormais le nouveau logiciel STA Coag Expert®, ce qui lui permet d'être totalement standardisé avec le STA R Max®, pour une utilisation optimisée dans les laboratoires.

Conçu pour les laboratoires d'activité intermédiaire, le STA Compact Max® 2 a vu sa robustesse renforcée afin de réduire les opérations de maintenance pour l'utilisateur. Ses nouvelles fonctionnalités logicielles renforceront l'expertise des laboratoires : des règles d'expertise permettent de standardiser la validation des résultats patients et des procédures de traçabilité complètes ont été intégrées pour répondre aux exigences de qualité. La gestion des échantillons et des réactifs a également été repensée et rationalisée : grâce à un nouveau module de perçage des bouchons, davantage de tubes sont compatibles. En outre, le logiciel offre plus de souplesse dans la gestion de lots multiples et des courbes de calibration.

*Principe : Système de détection viscosimétrique pour les tests chronométriques et optique pour les tests chromogéniques et immunologiques (**34, 62, 63, 64**).

* Paramètres (**62**) : TP, TCA , Fibrinogène, Temps de thrombine, facteurs de coagulation, Anti X activé, Anti II activé, Protéine C, Protéine S, Antithrombine, D-Dimères, Monomères de fibrine, Résistance à la protéine C activée, Lupus anti coagulant, plasminogène, TAFI,

*Caractéristiques du Système STA Compact Max®2 :

- Capacité de chargement accrue : 96 échantillons, 45 réactifs, 1 000 cuvettes à bord.
- Véritable gestion des urgences, sans impact sur la cadence de l'instrument.
- Gestion automatique des dilutions, redosages, tests réflexes, et ajout d'analyses.
- Disponible 24h/24, 7J/7, sans délai de redémarrage.
- Optimisation et réduction des opérations de maintenance par l'utilisateur.
- Interface utilisateur intuitive et standardisée au sein de la Génération Max.
- Traçabilité accrue pour répondre aux exigences de qualité.
- Sécurité de l'opérateur grâce à un nouveau module de perçage des bouchons de 4eme génération (en option).
- Gamme complète de tests et précalibration pour tous les tests de routine.
- Système de détection viscosimétrique : des résultats fiables et précis rendu immédiatement pour tout type de plasma coloré, une précision extrême pour la détection de caillots faibles et une standardisation entre les systèmes Stago.



Figure 14 : STA Compact Max® 2

4. Avantages et inconvénients de l'automatisation en hémostase

L'automatisation d'un laboratoire de biologie médicale est une opération complexe : les solutions les mieux adaptées sont différentes d'un laboratoire à l'autre.

La première étude à réaliser lorsque l'on veut s'automatiser doit viser à dégager les points forts et les points faibles de l'organisation du laboratoire. La deuxième étude doit récapituler les objectifs précis, ambitieux, mais réalistes, que peut se fixer le laboratoire.

1.1. Avantages de l'automatisation (33, 65) :

- Réduction du temps de réponse de l'analyse.
- Possibilité d'exécuter différents tests sur un même échantillon.
- Amélioration la reproductibilité et l'exactitude de tests.
- Facilitation du stockage de données et les systèmes de recherche au moyen de logiciels informatiques.
- Dilution automatique des échantillons, des étalons et des contrôles.
- Possibilité d'offrir un système d'alarme avertissant l'opérateur dépassements de critères préétablis, qui peuvent indiquer des problèmes dans l'équipement (par exemple : quantité trop faible de réactif, défaillance sur le plan de la température, volume d'échantillon trop petit et erreurs dans le contrôle de qualité).

- Renforcement de la sécurité biologique pour le personnel grâce à l'échantillonnage à partir d'un tube fermé, ce qui augmente la sûreté et l'efficacité.
- Gain financier en réduisant les coûts d'échantillons et de réactifs.

1.2. Inconvénients de l'automatisation :

- Coût élevé d'investissement.
- Coût de l'entretien et de la maintenance(66) : Durant toute la phase de maintenance, le système n'est pas opérationnel. Plus cette phase est longue, plus elle est coûteuse dû à l'indisponibilité du système.
- Dépendance aux technologies, aux fabricants(67).
- Installation nécessitant plus d'emplacement (68) : les locaux doivent être adaptés ou adaptables
- Mise en place d'une solution de secours performante (en cas de panne)
- Etude préalable de l'évolutivité des machines
- Réflexion sur les conséquences de l'automatisation pour le personnel (redéploiement, polyvalence...)

III. Chapitre III : Norme ISO 9001 en hémostasie

1. Contexte «Qualité» en hémostasie :

Le laboratoire est un système complexe, impliquant beaucoup d'étapes dans la réalisation des activités ainsi qu'un grand nombre de personnes. La complexité du système exige que tous les processus et procédures soient exécutés correctement. Par conséquent, un modèle de système de gestion de la qualité englobant le système dans son ensemble est primordial afin d'assurer un bon fonctionnement du laboratoire (70).

De plus, les exigences réglementaires sont de plus en plus prégnantes sur les activités quotidiennes et des preuves sont souvent attendues comme garanties de la qualité et de la sécurité des soins, la qualité devient alors un facteur crucial pour assurer la pérennité et la survie des organisations. L'amélioration de la performance de l'organisation peut passer par la mise en place et l'amélioration d'un système de management de la qualité à l'aide des nombreux référentiels existants (69).

2. Définition du système de management qualité :

Un système de gestion de la qualité peut être défini comme les « actions coordonnées dirigeant et contrôlant les activités d'une organisation vis-à-vis de la qualité ». Cette définition est celle utilisée par l'International Organization for Standardization (ISO) et par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Ces deux groupes sont internationalement reconnus comme des organisations de normalisation pour les laboratoires (71). Ceci est intimement lié à la définition du système qualité « ensemble de structures organisationnelles, ressources, processus et procédures nécessaires à la mise en place de la gestion de la qualité ».

Dans un système de gestion de la qualité, tous les aspects de l'activité du laboratoire, incluant l'organisation de la structure, les méthodes, et les procédures doivent être étudiés, afin d'assurer la qualité.

Un des premiers concepts de la gestion de la qualité a été le contrôle de qualité du produit. Shewhart a développé une méthode de contrôle statistique (de la qualité) des processus dans les années 20, formant ainsi la base des procédures de contrôle qualité au laboratoire. D'autres chercheurs et innovateurs tels qu'Arman Feigenbaum, Kaoru Ishikawa, et Genichi Taguchi

ont enrichi ces concepts. Les travaux les plus récents et les plus importants pour le laboratoire sont les travaux de Galvin sur la réduction des erreurs à micro échelle (71).

3. Outils et référentiels applicable en hémostasie :

Les référentiels-qualité sont multiples, ils ont pour objectif d'améliorer la qualité et de garantir la fiabilité des examens de biologie médicale réalisés ; ils peuvent être sous forme de guides, normes et de rapports, ils forment l'ensemble des exigences qui permettent à une structure de se positionner par rapport à ces besoins et objectifs.

3.1. GBEA : Guide des Bonnes Exécutions des Analyses :

L'entrée dans la démarche de la qualité des laboratoires a tout d'abord été instaurée par le Guide des Bonnes Exécutions des Analyses : dès 1994, le GBEA a imposé aux laboratoires de biologie médicale la mise en place d'une réflexion et d'une formalisation des pratiques dans un cadre obligatoire et réglementaire (72).

La parution du GBEA s'inscrit dans un contexte général de politique d'assurance de qualité qui implique tous les secteurs de l'économie, prônant des principes d'évaluation et de standardisation des pratiques professionnelles.

Le GBEA fait du système assurance qualité un élément essentiel : il souligne l'importance de s'assurer que les procédures en vigueur sont écrites, vérifiées, approuvées, datées et mises en œuvre par le personnel. De plus, le GBEA demande clairement la mise en place d'un système d'assurance qualité incluant la gestion des documents.

Le besoin de fournir aux patients des résultats fiables, l'évolution de la biologie médicale dans le parcours de soin du patient, ainsi que la nécessité de traçabilité des examens rendus ont abouti à l'apparition des normes européennes citées ci-après.

3.2. Les normes ISO :

3.2.1. Définition :

L'Organisation internationale de normalisation, désignée par le sigle ISO, est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation qui vise à promouvoir le développement de normes et permet de s'assurer qu'un produit ou un service respecte certaines exigences.

3.2.2. ISO 15189 :

La norme ISO 15189, Laboratoires médicaux - Exigences relatives à la qualité et à la compétence (71), a été publiée pour la première fois en 2003 et révisée en 2007, puis en 2012. Elle spécifie les exigences de qualité et de compétence applicable aux laboratoires de biologie médicale, elle est fondée sur l'ISO 17025 (78) et sur l'ISO9001 (77).

L'ISO 15189:2012 peut être utilisée par les laboratoires de biologie médicale qui élaborent leurs systèmes de management de la qualité et évaluent leur propre compétence. Les clients des laboratoires, les autorités règlementaires ainsi que les organismes d'accréditation engagés dans des activités de confirmation ou de reconnaissance de la compétence des laboratoires de biologie médicale peuvent également l'utiliser.

La norme ISO 15189 n'est pas un outil destiné uniquement à répondre aux exigences d'accréditation ou à apporter des solutions rapides aux erreurs individuelles. Au contraire, les laboratoires qui appliquent la norme ISO 15189 s'efforcent de (74, 75) :

- Créer des systèmes aussi résistants que possible aux défaillances, qui détecteront les erreurs avant qu'elles ne deviennent un problème et réduiront les erreurs en faisant les choses correctement dès la première fois
- Identifier les opportunités d'amélioration à tout moment
- Impliquer et responsabiliser leur personnel en le faisant participer à la résolution des problèmes et à la mise en œuvre des solutions

L'ISO 15189 encourage la pleine participation et l'utilisation des capacités de tous les employés à tous les niveaux pour améliorer l'organisation. Dans un laboratoire accrédité selon la norme ISO 15189, l'objectif est l'amélioration continue, et que les membres du personnel sachent exactement ce qu'ils doivent faire, comment le faire, qui est responsable d'un processus et où trouver toutes les informations nécessaires pour effectuer leur travail.

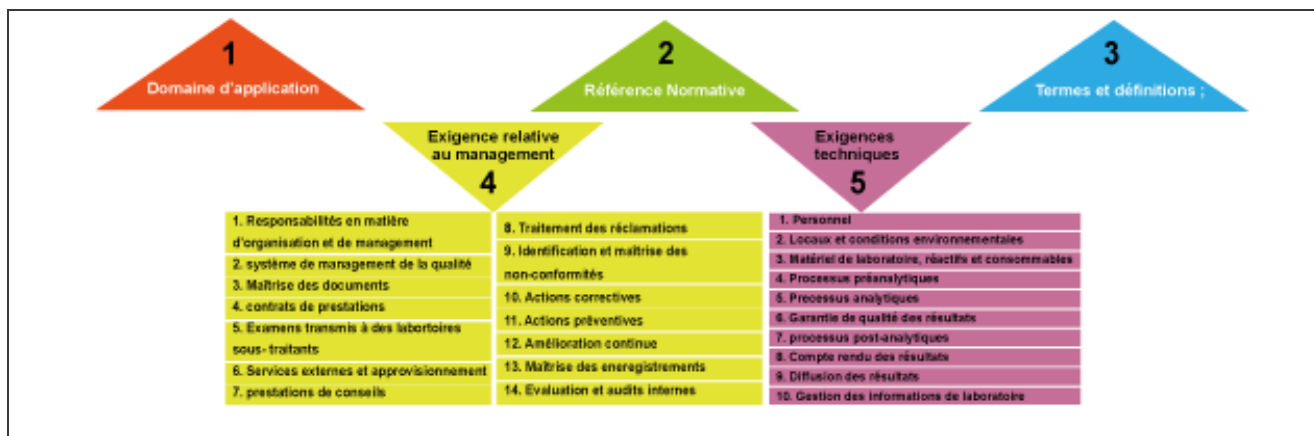


FIGURE 15 : contenu de la norme ISO 15189

3.2.3 ISO 17025 :

La norme ISO 17025 introduit la notion suivante : « Assurer la validité des résultats » (82), elle permet aux laboratoires de démontrer leur capacité à produire des résultats valides en établissant les exigences générales de compétence, d'impartialité et de cohérence des activités des laboratoires (79, 80). Elle contribue également à faciliter la coopération entre les laboratoires et d'autres organismes en assurant une meilleure acceptation des résultats dans différents pays facilitant ainsi le commerce internationale (79,81).

3.2.3.1 Contenu de la norme ISO 17025 :

Contrairement à d'autres normes de gestion ISO, comme les normes ISO 14001 et ISO 31000, la ISO/IEC 17025 ne suit pas la structure de haut niveau (HLS). Elle possède sa propre division, en 8 chapitres :

1. Domaine d'application.
2. Références normatives.
3. Termes et définitions.
4. Exigences générales.
5. Exigences structurelles.
6. Exigences relatives aux ressources.
7. Exigences relatives aux processus.

8. Exigences relatives au système de gestion.

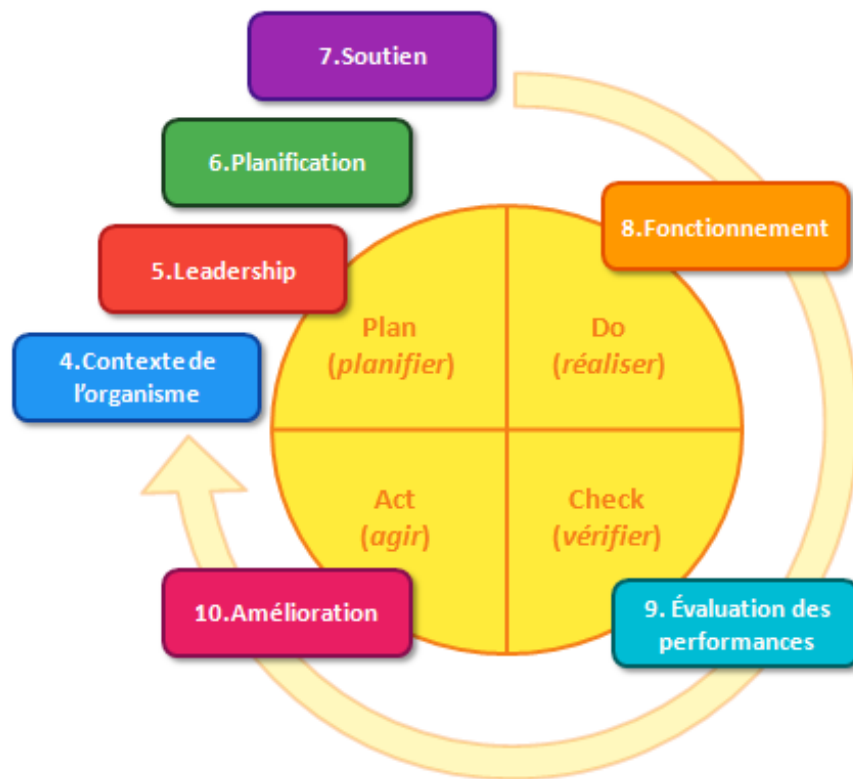


Figure 16 : HLS : la structure universelle des normes de management

3.2.4. ISO 9001 :

La norme ISO 9001 donne les exigences organisationnelles requises pour l'existence d'un système de gestion de la qualité. Elle fournit aux entreprises un cadre qui permet une approche systématique de la gestion de leurs processus de façon à produire régulièrement des produits (et des services) qui répondent aux attentes de leurs clients... ainsi satisfaits !

L'ISO 9001:2008 est la norme qui fournit l'ensemble des exigences pour un système de management de la qualité. C'est la seule norme de la famille ISO 9000 selon laquelle les entreprises peuvent être certifiées – bien que la certification ne soit pas obligatoire pour pouvoir appliquer le référentiel. Les autres normes de la famille ISO 9000 couvrent des aspects spécifiques comme les principes essentiels et le vocabulaire, l'amélioration de la performance, la documentation, la formation ou les aspects financiers (83).

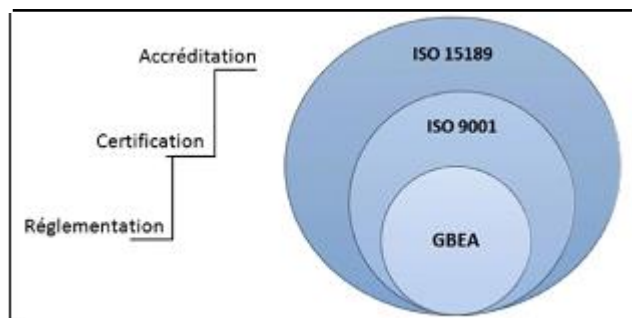


Figure 17 : Schéma réunissant les référentiels Qualité d'un laboratoire de biologie médicale

3.2.4.1. Structure de la norme ISO 9001 :

La norme de management de la qualité ISO 9001 est un outil de contrôle. Elle se base sur le cycle PDCA pour l'amélioration des processus de l'organisation. En effet, l'ISO 9001 prescrit l'analyse corrective des actions après leur planification, leur mise en œuvre et leur mesure rigoureuses. Cette séquence à quatre étapes relève du cycle PDCA de l'amélioration continue, popularisé par le qualificateur William Deming (84).

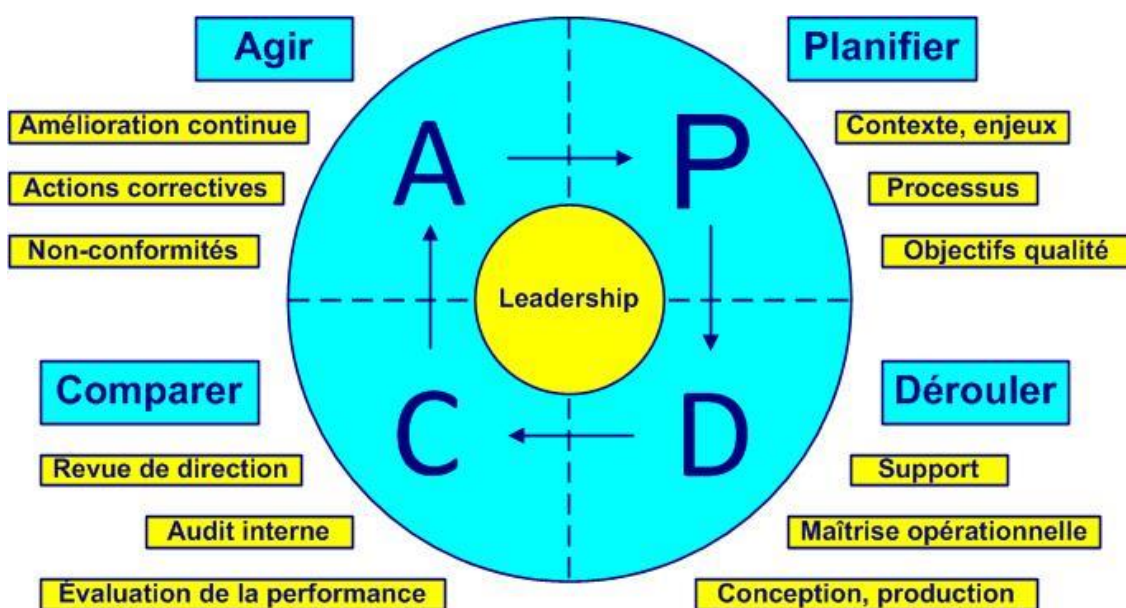


Figure 18 : Le cycle PDCA de Deming

Les 8 principes de management sur lesquels l'ISO 9001 est appuyée sont (83) :

*L'orientation client ;

*L'engagement de la hiérarchie ;

*L'implication du personnel ;

*L'approche processus ;

*La gestion par approche système ;

*L'amélioration continue ;

*L'approche factuelle pour la prise de décision ;

*Les relations mutuellement bénéficiaires avec les fournisseurs.

3.2.4.2. Nouveauté sur la Norme ISO 9001 : version 2015

La norme résulte des acquis et de l'évolution conjugués des techniques, de l'expérience et du fruit de la recherche. Du fait de cette constante évolution, les normes ont une durée de vie limitée et doivent être révisées régulièrement (85). Pour la norme ISO 9001, cette révision a lieu à peu près tous les sept ans : La présente version corrigée de l'ISO 9001:2015 ne comporte que des modifications rédactionnelles.

Les 309 exigences des articles 4 à 10 de l'ISO 9001 version 2015 sont réparties comme suit :

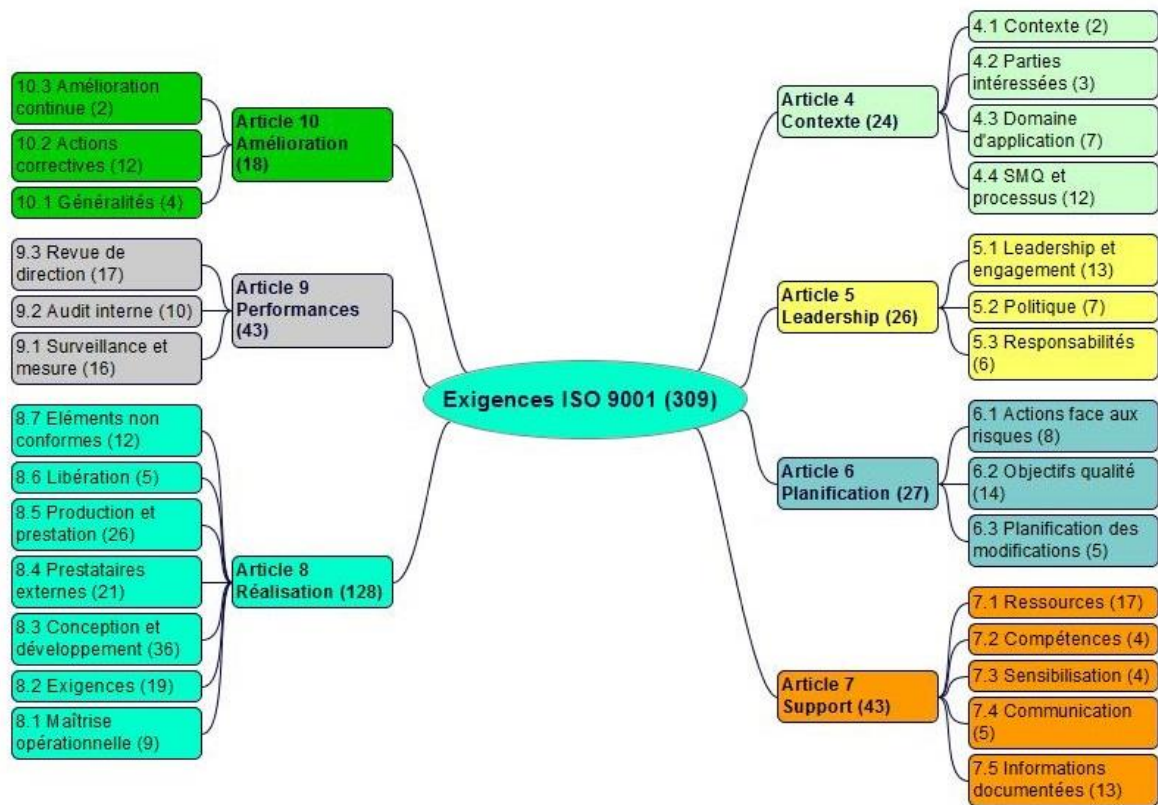


Figure 19 : Les exigences dans les articles et paragraphes de la norme ISO 9001 2015

Les évolutions de l'ISO 9001 interrogent sur son statut d'outil de contrôle et sur le cadre approprié pour l'appréhender. Ce point est essentiel pour contribuer à une meilleure compréhension du phénomène de normalisation et de ses implications pour les organisations (92).

Evolutions de la norme ISO 9001 version 2015				
Anticipation des besoins et attentes par une meilleure prise en compte des risques et opportunités	Alignement du système qualité aux pratiques managériales pour soutenir la stratégie	Maîtrise de la relation avec les fournisseurs, les sous-traitants, pour créer de la valeur pour les clients	Evaluation et amélioration des performances du système de management de la qualité	Simplification et accélération des synergies avec les autres systèmes de management ISO
Synthèses des évolutions de l'ISO 9001 version 2015				
L'ISO 9001 v2015 vise à inscrire l'appréhension des risques et des opportunités d'amélioration dans une démarche systématique et rigoureuse adossée au cycle PDCA	L'ISO 9001 v2015 vise à inscrire l'appréhension de la stratégie au travers des processus opérationnels.	L'ISO 9001 v2015 vise l'appréhension de la chaîne de valeur au profit du client	L'ISO 9001 v2015 vise à systématiser l'appréhension de la performance dans l'organisme	L'ISO 9001 v2015 vise à améliorer la cohérence entre les normes ISO de management

Figure 20 : Evolution de la norme ISO 9001 version 2015

3.2.4.3. Avantages de la Norme ISO 9001 version 2015 par rapport à la version 2008 :

* **Anticiper les besoins et les attentes en incitant notamment à une meilleure prise en compte des risques et des opportunités (86)** : La prise en compte des besoins et des attentes des parties intéressées était déjà une préoccupation de l'ISO. Toutefois, ces éléments ne figurent pas explicitement dans la norme ISO 9001 version 2008. Ils constituent la cible de la norme ISO 90044. Cette norme s'inscrit en prolongement de l'ISO 9001 version 2008, en appréhendant une perspective du management de la qualité plus large. Le management des risques n'est pas non plus l'objet de la norme ISO 9001 version 2008.

* **Aligner la démarche qualité aux pratiques managériales pour mieux servir la stratégie de l'organisation (87, 88)** : La version 2008 de la norme ISO 9001 mentionne que l'adoption d'un SMQ relève d'une décision stratégique. Cependant, la préoccupation de la stratégie dans le management de la qualité n'est pas prescrite dans la version 2008. La version 2015 de la norme ISO 9001 vise à aligner la stratégie avec le management de la qualité. Par exemple,

avec la version 2015, le déploiement de la politique qualité et des objectifs associés sera relié à la stratégie globale de l'organisation.

*** Maîtriser l'intégralité de la chaîne (fournisseurs, sous-traitants...) pour créer de la valeur pour les clients (89) :** La chaîne de valeur n'est pas centrale dans la version 2008 de l'ISO 9001. Or, en prenant en compte les différentes parties prenantes de la chaîne de valeur (les fournisseurs, les clients), l'organisme est en mesure de définir le produit/service par rapport au marché et aux objectifs de l'entreprise, et de répercuter les besoins des clients. Ainsi, la version 2015 de la norme ISO 9001 ambitionne d'inscrire dans l'organisme le raisonnement en termes de chaîne de valeur du produit/service pour le client. Ce raisonnement suppose une proximité renforcée avec les fournisseurs.

*** Evaluer et améliorer les performances du système de management de la qualité (90) :** La notion de performance est explicite dans la version 2008 de l'ISO 9001, elle est globale et indéterminée. Implicitement, elle renvoie à la satisfaction du client. Or, il s'agit là d'un aspect essentiel cristallisant une des principales critiques adressées à la norme : la mesure de la performance qu'elle produit. Ainsi, la version 2015 de la norme ISO 9001 ambitionne la mesure et l'amélioration systématiques de la performance de la qualité.

*** Simplifier et accélérer les synergies avec les différents systèmes de management (qualité, environnement, énergie, sécurité...) (91) :** Historiquement, la norme ISO 9001 constitue la base d'autres normes de management, tels l'environnement, la sécurité. Par exemple, la norme ISO 14001 de management environnemental partage la même approche et les mêmes principes avec l'ISO 9001. Le cycle PDCA de l'amélioration continue et l'approche processus promus par la norme ISO 9001 structurent les autres normes de management ISO. Ainsi, la version 2015 de la norme ISO 9001 ambitionne d'améliorer la cohérence avec les autres systèmes de management.

Partie pratique

I. Matériels

1. STA Compact Max® 2 :

Le STA Compact® est un automate des laboratoires d'activité intermédiaire conçu pour réaliser des tests in vitro destinés au diagnostic des pathologies liées à l'hémostase ainsi pour aider à la surveillance des traitements anticoagulants. Il est intégré d'un logiciel STA Coag Expert® lui permettant plus de souplesse dans la gestion de lots multiples et des courbes de calibrations pouvant travailler 24h/24h.



Figure 21 : STA Compact Max® 2

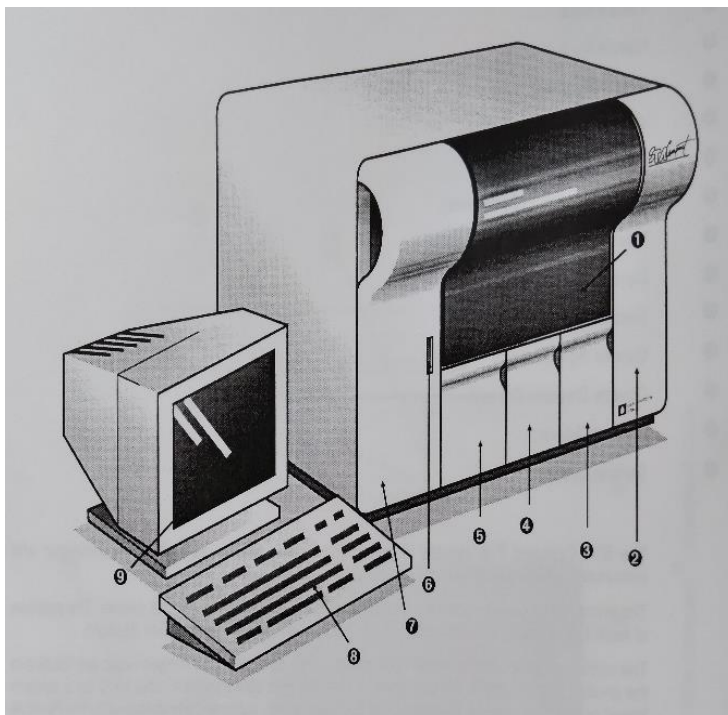
1.1. Caractéristiques de STA Compact Max® 2 :

- Capacité de chargement : 96 échantillons, 45 réactifs, 1000 cuvettes à bord
- Identification positive des échantillons et des réactifs
- Gestion automatique des dilutions, redosages, tests reflex et ajouts d'analyses
- Optimisation et réduction des opérations de maintenance par l'utilisateur
- Sécurité de l'opérateur grâce à un nouveau module de perçage des bouchons
- Une précision extrême pour la détection de caillots faibles

1.2. Qualification de l'équipement :

La qualification des matériels ou équipements est, dans le contexte actuel des systèmes de management de la qualité, une étape cruciale incontournable pour les équipements ayant une influence sur le produit fini ou le résultat final. Elle consiste à démontrer qu'un matériel fonctionne correctement et donne réellement les résultats attendus (97). Ainsi, le STA Compact ne peut être installé que par un représentant de SAV. De même, si le STA Compact® doit être déplacé, ceci doit être impérativement fait par un représentant du SAV qui dispose des éléments nécessaires pour la manipulation de l'instrument.

1.3. Les éléments de STA Compact Max® 2 :



- 1-Face avant,
- 2- Portillon droit (accès au pipeteur et à la bobine de cuvettes)
- 3- Tiroir poubelle cuvettes
- 4- Tiroir produits
- 5- Tiroirs échantillons
- 6- Lecteur codes à barres
- 7- Portillon gauche (accès au lecteur de disquettes)
- 8- Clavier
- 9- Ecran couleur VGA

Figure 22 : STA Compact : vue globale de l'automate

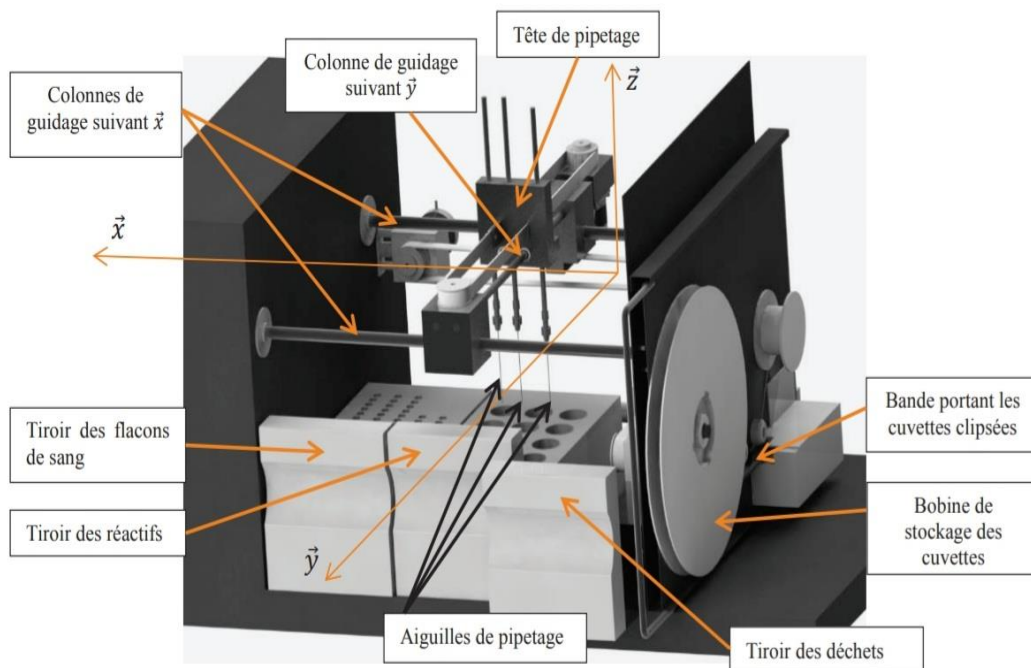
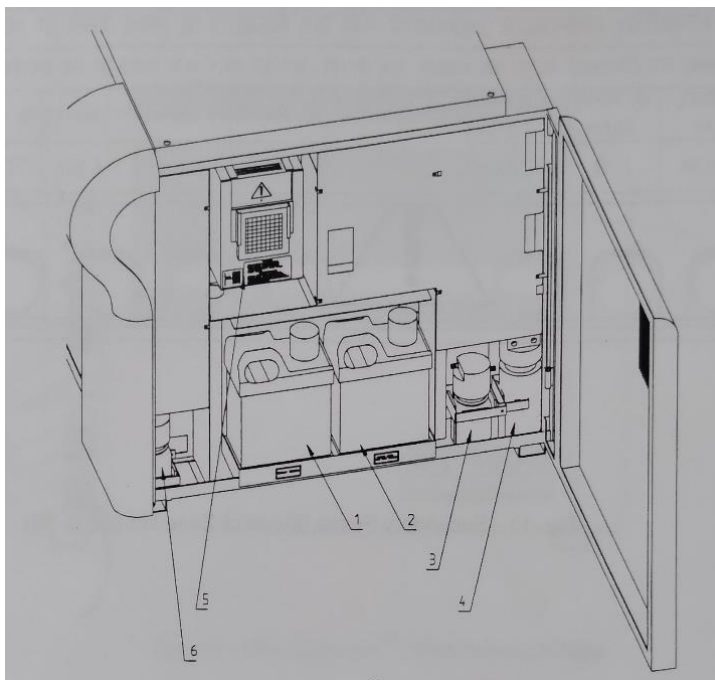
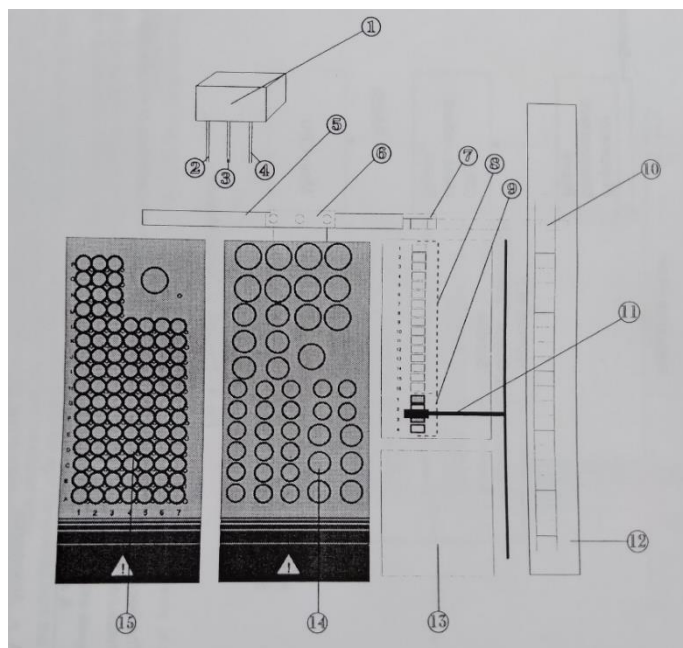


Figure 23 : Structure interne du STA Compact



- 1- Bidon de STA® - Cleaner Solution
- 2- Poubelle liquide
- 3- Réservoir Tampon
- 4- Réservoir de rinçage
- 5- Boitier photométrie (pour le changement de lampe)
- 6- Réservoir Peltier

Figure 24 : STA Compact : vue de profil droit



- 1- Tête de pipetage équipée de 3 aiguilles
- 2- Aiguille n°1 (échantillons)
- 3- Aiguille n°2
- 4- Aiguille n°3
- 5- Vérin pneumatique
- 6- Puits de rinçage
- 7- Station de mesure
- 8- Zone d'incubation (16 positions)
- 9- Zone de mesure (4 positions)
- 10- Station approvisionnement en cuvettes
- 11- Tête de préhension
- 12- Tiroir bobine de cuvettes
- 13- Tiroir poubelle cuvettes
- 14- Tiroir produits
- 15- Tiroir échantillon

Figure 25 : Cycle analytique sur STA Compact

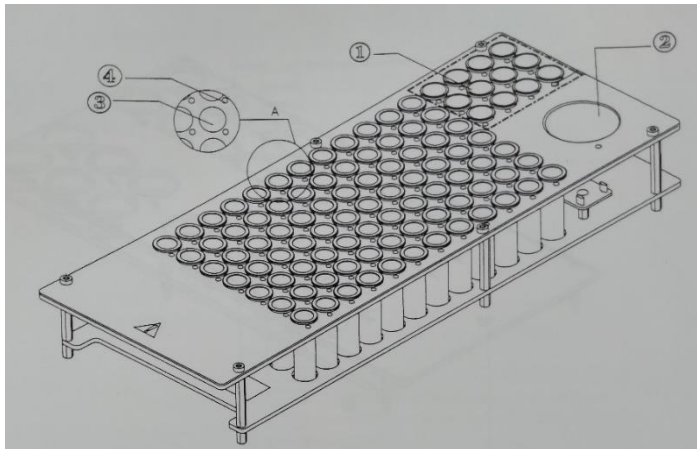
1.4. Le fonctionnement de STA Compact Max® 2 :

Les tubes primaires et les tampons de dilution sont chargés dans le tiroir échantillons où leur position est automatiquement reconnue par le système d'identification positive.

Les flacons de plasmas de contrôle, de plasmas de calibration ou de réactifs sont placés dans le tiroir produits où leur température est maintenue entre 15°C et 19°C. Leurs positions sont également reconnues par le système d'identification positive.

Etape 1 : préparation (98) :

Les flacons de plasma sanguin à analyser sont placés dans un tiroir, de même que les flacons de réactifs. Afin de garantir la stérilité, les flacons sont fermés par un opercule qui sera percé par l'aiguille de prélèvement. Des cuvettes, contenant une bille, sont au préalable clipsées sur une bande, elle-même enroulée sur une bobine de stockage. Pour chaque test, une cuvette (et sa bille) est déclipée et placée dans la zone d'étuvage à l'aide d'un vérin.



- 1- zone pour tubes pédiatriques
- 2- position pour flacon de diluant
- 3- position pour tube 5 ml
- 4- LED de statut: ON= tube en cours, OFF = rien, clignotant = tube à retirer

Figure 26 : Tiroir échantillons

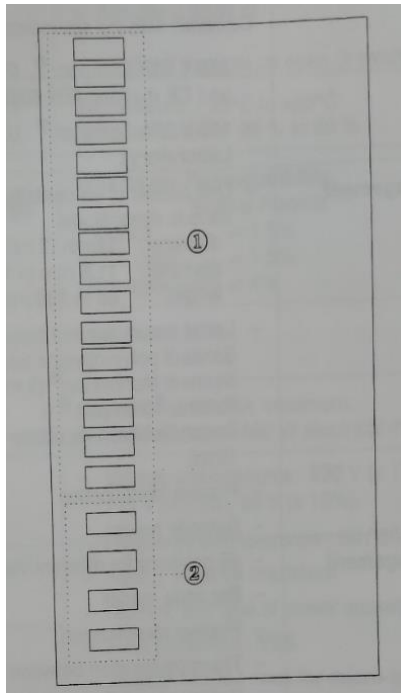
Etape 2 : prélèvement des produits (98)

Les aiguilles de prélèvement des doses de plasma et de réactifs sont reliées à la tête de pipetage. Elles peuvent avoir un mouvement de translation verticale par rapport à cette tête. Deux types de réactifs sont utilisés. La tête de pipetage possède donc trois aiguilles : une pour le sang et une par type de réactif.

Successivement, pour chaque produit (plasma puis réactifs), la tête de pipetage est positionnée au-dessus du flacon approprié, l'aiguille correspondante prélève la quantité nécessaire, puis l'ensemble tête de pipetage/aiguilles vient déposer le produit dans la cuvette d'analyse. Les aiguilles sont ensuite plongées dans un flacon de nettoyage. L'aspiration et le refoulement des liquides (plasma et réactifs) se font à l'aide d'une même seringue de pipetage motorisée.

Etape 3 : mesure (98)

Lorsque le mélange est réalisé dans la cuvette, celle-ci est placée dans la zone de mesure. Deux bobines motrices provoquent l'oscillation de la bille. Deux autres bobines, l'une émettrice et l'autre réceptrice, effectuent la mesure des amplitudes d'oscillation. Le test terminé, la cuvette est placée dans un tiroir à déchets. Le système est connecté à un poste informatique permettant les échanges d'ordres et de comptes-rendus avec le manipulateur.



- 1- Zone d'incubation, 16 positions
- 2- Zone de mesure, 4 têtes de mesure

Figure 27 : Plaque de mesure

2. Réactifs de STA Compact Max® 2 :

2.1. Tests de routine :

2.1.1. Taux de prothrombine : le temps de Quick

Il permet d'étudier globalement l'activité des facteurs de la coagulation II, V, VII et X ainsi que le fibrinogène. Un traitement anticoagulant par les anti vitamines K (AVK) demande une surveillance biologique, celle-ci est habituellement réalisée à l'aide du temps de Quick.

L'expression des résultats en INR est recommandée pour la surveillance du traitement AVK chez les patients.



Réactifs pour automate :

* STA® - Néoplastine® R (CI 10/ CI 15/ CI Plus 5/ CI Plus 10/ R15)

Réactifs pour semi automate :

* Néoplastine® R (CI Plus5/ CI Plus 10)

2.1.2. Temps de céphaline plus activateur :

Il permet d'étudier globalement l'activité des facteurs de la coagulation XII, XI, IX, VIII, X, V et II ainsi que le fibrinogène.



Réactif pour automate :

- *STA®- PTT Automate 5
- *STA®-C.K.Prest® 5
- * STA®-Cephascreen® (4/10)

Réactif pour semi automate :

- *C.K.Prest® (2/5)
- *PTT-LA

Plasma témoin : Pool Norm

2.1.3. Fibrinogène :

Le fibrinogène ou « facteur I » est un facteur de la coagulation, protéine du plasma sanguin qui se transforme en fibrine lors de la coagulation.



Réactifs pour automate :

- * STA®- Liquid Fib

Réactifs pour semi automate :

- *Fibri-Prest® (Automate2/ Automate5)

2.1.4. Thrombine :

Le temps de thrombine permet d'explorer la fibrinofomation soit une évaluation globale de la fibrine.



Réactifs pour automate :

- * STA®-Thrombin (2/10)
- * STA®-Reptilase®

2.2. Dosage des facteurs :

La voie explorée	Principe du dosage	Présentation du produit
Voie extrinsèque	Le principe du dosage consiste à mesurer, en présence de STA®-Néoplastine®, le temps de coagulation d'un système où tous les facteurs sont présents et en excès (apportés par le STA®-ImmunoDef ou STA®-Deficient) à l'exception du facteur à doser dans l'échantillon	*STA®-ImmunoDef II *STA®-Deficient II *STA®-Deficient V *STA®-Deficient VII *STA®-Deficient X
Voie intrinsèque	Le principe du dosage consiste à mesurer, en présence de céphaline et d'activateur, le temps de coagulation d'un système où tous les facteurs sont présents et en excès (apportés par le STA®-ImmunoDef ou STA®-Deficient) à l'exception du facteur à doser dans l'échantillon.	*STA®-ImmunoDef VII *STA®-ImmunoDef IX *STA®-ImmunoDef XI *STA®-ImmunoDef XII *STA®-Deficient VIII *STA®-Deficient IX *STA®-Deficient XI
Autres techniques	Dosage chromométrique du facteur VII activé	Staclot® VIIa-rTF
	Dosage du complexe VIIa Antithrombine par ELISA	Asserachrom® VIIa-AT
	Dosage du facteur VII: Ag par ELISA	Asserachrom® VII: Ag
	Dosage de la capacité de liaison du facteur Von Willebrand au facteur VIII par ELISA	Asserachrom® VWF:FVIII B
	Dosage du facteur IX: Ag par ELISA	Asserachrom® IX: Ag
	Dosage du facteur X:Ag par ELISA	Asserachrom® X:Ag

Tableau 02 : Réactifs et principe de dosages des facteurs

2.3. Exploration de la fibrine :

Formation de la fibrine : monomère de fibrine	Dosage immuno-turbidimétrique quantitatif des monomères de fibrine	STA®-Liatest® FM
Dégradation de la fibrine : D-Dimères	Dosage immuno-turbidimétrique quantitatif des D-Dimères	STA®-Liatest® D-Di Plus
Fibrinolyse	Dosage colorimétrique du plasminogène	STA®-Stachrom® Plasminogen
	Dosage de l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) par ELISA	Asserachrom® tPA
	Dosage colorimétrique de l'antiplasmine	STA®-Stachrom® Antiplasmin

Tableau 03 : Réactifs et principe du dosage de la fibrine

2.4. Exploration de la thrombophilie :

La molécule dosée	Principe du dosage	Réactifs utilisés
Anti thrombine AT	Dosage colorimétrique de l'antithrombine	STA®-Stachrom® AT III 3
	Dosage immunologique quantitatif de l'antithrombine	Liatest® AT III
Protéine C	Dosage chromométrique de la protéine C	STA®-Staclot® Protein C
	Dosage colorimétrique de la protéine C	STA®-Stachrom® Protein C
Résistance de la Protéine C activée	Détection chromométrique de la résistance à la protéine C activée	STA®-Staclot® APC-R
Protéine S	Dosage chromométrique de la protéine S	STA®-Staclot® Protein S
	Dosage immuno-turbidimétrique quantitatif de la protéine S libre	STA®-Liatest® Free Protein S 2
	Dosage de la protéine S totale par ELISA	Asserachrom® Total Protein S

C4b-BP	Dosage immunologique quantitatif de la C4b-B	Liatest® C4b-BP
Lupus Anticoagulants (LA)	Dépistage des Lupus Anticoagulants par le temps de venin de vipère Russel dilué	STA®-Staclot® DRVV Screen 2
	Réactif TCA sensibilisé pour la détection des Lupus Anticoagulants (LA)	PTT-LA
	Temps de Céphaline + activateur de neutralisation par des phospholipides	Staclot® LA
Anticorps Antiphospholipides (APL)	Recherche des Anticorps Antiphospholipides (APA) par ELISA	Asserachrom® APA Screen
	Détermination des Anticorps Antiphospholipides (APA) IgG et IgM par ELISA	Asserachrom® APA IgG,M

Tableau 04 : Réactifs utilisés pour l'exploration de la fibrinolyse

2.5. Hémostase primaire :

Facteur VWE et Marqueur d'Activation	Dosage immuno-turbidimétrique quantitatif du facteur Von Willebrand	STA®-Liatest® VWF:Ag
	Dosage du facteur Von Willebrand par ELISA	Asserachrom® VWF:Ag
	Dosage de la capacité de liaison du facteur Von Willebrand au collagène par ELISA	Asserachrom® VWF:CB
	Dosage de la capacité de liaison du facteur Von Willebrand au facteur VIII par ELISA	Asserachrom® VWF:FVIII
	Dosage du facteur 4 plaquettaire (PF4) par ELISA	Asserachrom® PF4
	Dosage de la β -thromboglobuline (β -TG) par ELISA	Asserachrom® β -TG

Tableau 05 : Réactifs et principe de l'exploration de l'hémostase primaire

2.6. Etalons, contrôles et réactifs auxiliaires :

Plasma de calibration	Plasma de calibration pour les dosages de TP, fibrinogène, facteurs (II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII), AT, PC et PS fonctionnelles, plasminogène, antiplasmine	STA®-Unicalibrator
	Plasma de calibration pour le dosage immuno-turbidimétrique du VWF:Ag (STA®-Liatest® VWF:Ag)	STA®-VWF:Ag Calibrator
	Plasmas de calibration pour le dosage immuno-turbidimétrique des monomères de fibrine (STA®- Liatest® FM)	STA®-FM Calibrator
Contrôles	Plasmas de contrôle normal et anormal titrés en TP, TCA, TCK, fibrinogène, temps de thrombine (N) et AT fonctionnelle	STA®-Coag Control N+P
	Plasmas de contrôle normal et anormal titrés en TP, TCA, TCK, fibrinogène, temps de thrombine (N), temps de reptilase (N), facteurs (II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII), AT, PC, PS fonctionnelles, plasminogène, et antiplasmine	STA®-System Control N+P
	Plasmas de contrôle normal et anormal pour les dosages immuno-turbidimétriques du facteur Von Willebrand, des D-Dimères, de la Protéine S libre par technique STA®-Liatest®	STA®-Liatest® Control N+P
	Plasmas de contrôle pour le dosage des lupus anti-coagulants (STA®-Staclot® DRVV et Staclot® LA)	STA®-Control LA 1+2

Tableau 06 : Les consommables du STA compact

Réactifs auxiliaires : STA®-Desorb U, STA®-Cleaner Solution, STA®-CaCl₂ 0,025 M, STA®-Owren-Koller, PEG 25%, Asserachrom® Washing Solution

3. Logiciel intégré :

3.1 Définition :

Le STA Coag Expert® permet d'automatiser les procédures du laboratoire telles que les dilutions séquentielles pour le dosage des facteurs de coagulation, les tests réflex, les relances automatiques et les contrôles "delta checks", afin d'assurer l'obtention de résultats fiables et standardisés tant pour les tests de routine que pour les tests spécialisés (62). Les outils d'accréditation, les journaux de maintenance automatisés et le stockage de cinq années d'archives patient et CQ à bord permettent de disposer des meilleurs outils du secteur pour répondre aux exigences réglementaires.

3.2. L'algorithme du logiciel et directives appliquées :

STA Coag Expert® est un logiciel pour les analyseurs Stago STA R Max et STA Compact Max (Stago, Asnières, France) qui comprend un algorithme LAC, des règles mathématiques spécifiques pour le lancement automatique des tests de dépistage, de mélange et de confirmation sans nécessiter l'intervention du technicien de laboratoire. Les seuils locaux sont des paramètres définis par l'utilisateur dans le logiciel, qui sont configurés lors de l'installation du logiciel. Les résultats des tests sont calculés et interprétés par l'algorithme et des recommandations d'actions pour les différents résultats sont proposées. L'algorithme LAC a été développé par Stago en collaboration avec un groupe d'experts, conformément aux directives de l'ISTH (99).⁴ L'application d'autres directives (par exemple celles du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) aurait affecté la structure de l'algorithme puisque les directives diffèrent sur certains points. Les principaux points qui auraient été différents sont les suivants : l'ordre du dépistage, le mélange, l'étape de confirmation, le choix des tests et la normalisation des résultats (100).

4. Les prélèvements :

Les échantillons sanguins ont été amenés des différents services du centre hospitalier et universitaire de Tlemcen, notamment service de cardiologie, service d'hématologie et service de pédiatrie ainsi que des échantillons externes des patients non hospitalisés. L'échantillon sanguin est obtenu par ponction veineuse franche, sur tube citrate trisodique 0,109M (3,2%),

dans un rapport de 9 volumes de sang pour un volume d'anticoagulant.

Ils sont acheminés rapidement au laboratoire dans un délai d'une heure. Les examens sont réalisés sur du plasma citraté pauvre en plaquettes, obtenu après centrifugation à 2500g/minute pendant 15 minutes.

I. Méthodes

STA Compact est un analyseur de paillasse permettant la réalisation des dosages d'Hémostase de routine et spécialisés, parfaitement adapté aux activités moyennes de laboratoires II permet la réalisation simultanée des tests chronométriques, colorimétriques et immunologiques, avec chargement aléatoire des échantillons (**93**).

L'ergonomie et l'expertise à bord de la station de travail améliorent l'efficacité et la productivité du laboratoire et assurent une prise en main rapide.

1. Préparation du STA compact :

Après avoir mis le STA compact en marche par l'interrupteur marche/arrêt, l'appareil procède à diverses vérifications au niveau des logiciels et de l'automatisme. Un message sera affiché en cas de détection d'erreur.

Il faut attendre 25 minutes pour que la température du tiroir des produits soit stabilisée.

Une fois la vérification est terminée, on accède au tableau de bord qui permet d'accéder à toutes les opérations sur STA CCOMPACT.

Il est nécessaire de vérifier la bobine cuvette, sac poubelle de cuvette (changé systématiquement pour chaque changement de bobine cuvette) et le liquide de lavage STA®-Cleaner Solution, pour éviter toute alerte d'erreur au cour de l'analyse. L'appareil devra subir des maintenances régulières par le personnel qualifié du laboratoire.

2. Chargements des produits et échantillons :

Une fois les réactifs sont prêts à l'emploi, on fait passer le code-barres imprimé sur l'étiquette du flacon devant le lecteur code-barres du STA Compact®. On valide le volume du réactif indiqué sur l'appareil. Puis, on place le réactif dans le tiroir produit du STA Compact ®.

Le bip émis alors par l'instrument indique que l'identification et la position du réactif sont bien enregistrées par le STA Compact ®.

Le chargement des échantillons se fait en mentionnant sur l'écran du STA Compact le nom et le prénom du malade puis on place le tube dans le tiroir échantillons, la position du tube sera reconnue automatiquement par le STA Compact.

Si l'identification positive n'est plus fonctionnelle (totalement ou partiellement) sur le tiroir échantillons ou sur le tiroir produits, la position des tubes ou flacons peut être saisie manuellement.

On vérifie avant tout chargement les points suivants :

- Pour les échantillons, on utilise juste les tubes centrifugés (**95, 96**), on vérifie que le plasma soit en quantité suffisante et qu'il n'y a pas de caillot ou micro caillot qui puisse troubler le résultat.
- Pour les réactifs et les autres produits (contrôles, calibreurs, diluants et solutions décontaminantes), on observe s'il y a présence de mousse en surface, si oui on l'élimine.

Si la gestion de détection de niveau a été neutralisée pour une ou plusieurs aiguilles, un message d'avertissement s'affichera à l'ouverture du tiroir concerné (tiroir échantillons, pour aiguille N°1, tiroirs produits pour les trois aiguilles).

3. Déchargements des échantillons et des produits :

3.1. Déchargement des échantillons ou des produits :

3.1.1. Déchargement avec identification positive :

Cette procédure n'est possible que pour les échantillons ou les produits chargés avec identification positive : soit reconnaissance automatique de la position de chargement dans le tiroir par le STA Compact®.

Les LED adjacentes au tube (flacon) clignotent :

- Pour les échantillons dont les dossiers correspondants sont terminés,
- Pour les produits qui ne sont plus valables en volume oui et en stabilité.

3.1.2. Déchargement sans identification positive :

Cette méthode de déchargement n'est possible que pour les produits ou échantillons présents dans le tiroir actuellement ouvert. Elle est absolument nécessaire pour les produits ou échantillons chargés sans identification positive.

4. Lancement des analyses (fermeture du tiroir échantillons ou produits) :

Le lancement ou l'arrêt des tests peut aussi être déterminé à partir du menu Etat. Dès qu'on confirme le lancement des tests, le traitement des échantillons se fait ainsi :

- Pipetage des calibreurs pour tous les tests,
- Pipetage des contrôles de calibration pour tous les tests,
- Pipetage des contrôles de qualité pour tous les tests,
- Pipetage des échantillons urgents,
- Pipetage des échantillons pour tous les tests suivant l'ordre chronologique de chargement.

5. Calibration :

La calibration est réalisée obligatoirement à chaque nouveau lot de réactif et peut être effectuée suivant 7 modes différents.

A chaque nouveau numéro lot, les concentrations des étalons et/ou la valeur des seuils pour les contrôles de calibration des produits de la ligne STA® de Diagnostica Stago sont lues par l'intermédiaire de la lecture des feuilles de codes à barres se trouvant dans chaque boîte de produit.

L'utilisation des contrôles de calibration permet de valider automatiquement les calibrations.

On a obligatoirement 2 niveaux de contrôles de calibration car un seul niveau ne permet pas de valider de manière fiable une pente.

Les étalons sont lancés soit en simple, soit en double suivant le type de détermination choisie dans les écrans CONFIGURATION DE TESTS.

Quand ils sont définis, les contrôles de calibration sont lancés soit en simple, soit en double suivant le type de l'échantillon.

Dès que les résultats des contrôles de calibration sont obtenus, ils sont comparés à leurs plages d'acceptation ; si ceux-ci sont en dehors, le STA Compact® relance alors automatiquement des contrôles suivant le principe ci-dessous :

1" lancement	Résultat (s)	Relance automatique STA Compact ®
Contrôle lancé en simple	En dehors de la plage définie	Relance du contrôle en double
Contrôle lancé en double	1 des 2 résultats est en dehors de la plage définie	Relance du contrôle en simple

Tableau 07 : contrôle de calibration

La calibration peut être non validée automatiquement dans deux cas :

- Calibration non validée à cause de contrôles de calibration hors normes,
- Calibration non validée due à l'absence de contrôles de calibration.

Correction du point 100%:

Cette option n'est proposée que dans le cas de tests chronométriques avec % comme unité principale et avec l'échelle des mesures en linéaire et l'échelle de concentration en inverse.

Elle permet de déplacer parallèlement à elle-même la courbe de calibration de façon à ce qu'elle passe par le nouveau point donné en seconde et qui correspond à 100%.

6. Contrôle de qualité :

6.1. Contrôle de qualité interne :

Pour chaque test (TP, TCA et fibrinogène), on effectue des contrôles de qualité à intervalle

régulier, au moins une fois par série d'analyses, mais minimum une fois par jour (94), aussi lors de :

- Changement de lots de réactifs,
- Nouvel étalonnage,
- Changement de pipettes,
- Survenue de problèmes techniques et après chaque service,
- Changement de personnel (nouveau collaborateur),
- Et dans tous les cas où il est jugé nécessaire ou en cas de doute sur les résultats obtenus.

Les réactifs utilisés pour le contrôle sont STA®System Control N et STA®-System Control P.

Les résultats des contrôles de qualité sont reportés sur le diagramme de Levey-Jennings et sont interprétés suivant les règles de Westgard.

Quand on change des contrôles avec un nouveau lot, les valeurs de l'ancien lot sont automatiquement effacées, le lot précédent devient l'ancien lot et le nouveau lot le lot courant.

Les contrôles de qualité sont lancés soit en simple, soit en double suivant le type de détermination choisi pour l'échantillon. Dès que les résultats d'un contrôle de qualité sont obtenus, ils sont comparés à la plage d'acceptation, si ceux-ci sont en dehors, le STA Compact relance alors automatiquement d'autres contrôles suivant le principe ci-dessous :

1^{er} lancement	Résultat (s)	Relance automatique STA Compact ®
Contrôle lancé en simple	En dehors de la plage définie	Relance du contrôle en double
Contrôle lancé en double	1 des 2 résultats est en dehors de la plage définie	Relance du contrôle en simple

Tableau 08 : contrôle de qualité interne

S'il est confirmé que le contrôle de qualité est en dehors de la plage d'acceptation, tous les résultats des patients pour le test concerné seront accompagnés du message d'alarme « Contrôle de qualité : hors normes ou non fait ». Si on décide d'accepter les résultats d'un

contrôle de qualité déclaré hors norme, tous les résultats des patients pour le test concerné seront accompagnés du message d'alarme «Contrôle de qualité : validation forcée ».

NB : Si l'appareil signale que les résultats obtenus pour les contrôles se situent en dehors des fourchettes indiquées sur les papillons inclus dans le coffret STA®Coag Control N+P ou STA®System Control N+P, s'assurer du bon fonctionnement de tout le système : conditions opératoires, réactifs, plasmas à tester, etc. Si besoin, recommencer les tests.

7. Procédures opératoires de STA Compact :

Le STA Compact est un coagulomètre à détection viscosimétrique, il permet la réalisation des analyses d'hémostases basées des techniques chronométrique, colorimétrique et immunologique. Le but de cette étude est d'évaluer les procédures opératoires de l'automate d'hémostase STA Compact® en vue d'une vérification de méthode selon la norme ISO9001.

7.1. Méthodes de détection du caillot :

7.1.1. Technique chronométrique :

7.1.1.1. Principe de la technique (98) :

Le principe du test de chronométrie est le suivant : une dose de réactif est mélangée à une dose de plasma sanguin précédemment étuvée dans une cuvette contenant une bille ; l'ensemble est chauffé alors que la bille est mise en oscillation dans le mélange par un champ magnétique , on mesure alors l'amplitude de l'oscillation qui diminue sensiblement lors d'une variation de viscosité du mélange plasma-réactif , le temps écoulé jusqu'à la diminution des oscillations donne le temps de coagulation.

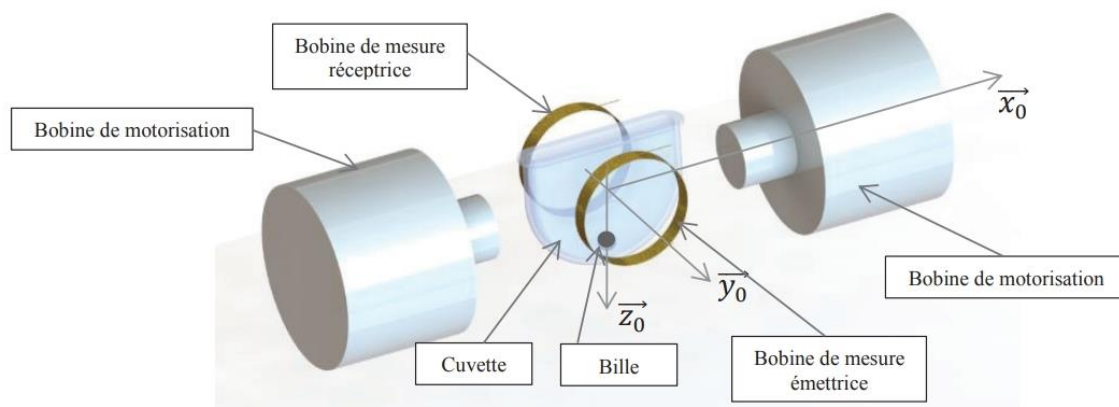


Figure 28 : Ensemble cuvette + bille avec bobine motrice et bobine de mesure

7.1.1.2. Principe du mode opératoire :

Il consiste à mesurer la variation de l'amplitude d'oscillation d'une bille placée dans la cuvette de mesure. La bille, roulant sans glisser sur le fond cylindrique de la cuvette, est mise en mouvement par un champ magnétique variable induit par deux bobines motrices placées de part et d'autre de la tête de mesure. L'amplitude des oscillations est mesurée par deux autres bobines, l'une émettrice, l'autre réceptrice. Après amplification du signal mesuré, on obtient un signal quasi-sinusoïdal, reflet de l'oscillation de la bille. A viscosité constante, on obtient un balancement pendulaire constant de la bille. Quand la viscosité augmente (phénomène de coagulation), l'amplitude d'oscillation de la bille varie.

Pour chaque mesure, le champ magnétique est ajusté en fonction de la viscosité initiale du milieu et du type de test (98).

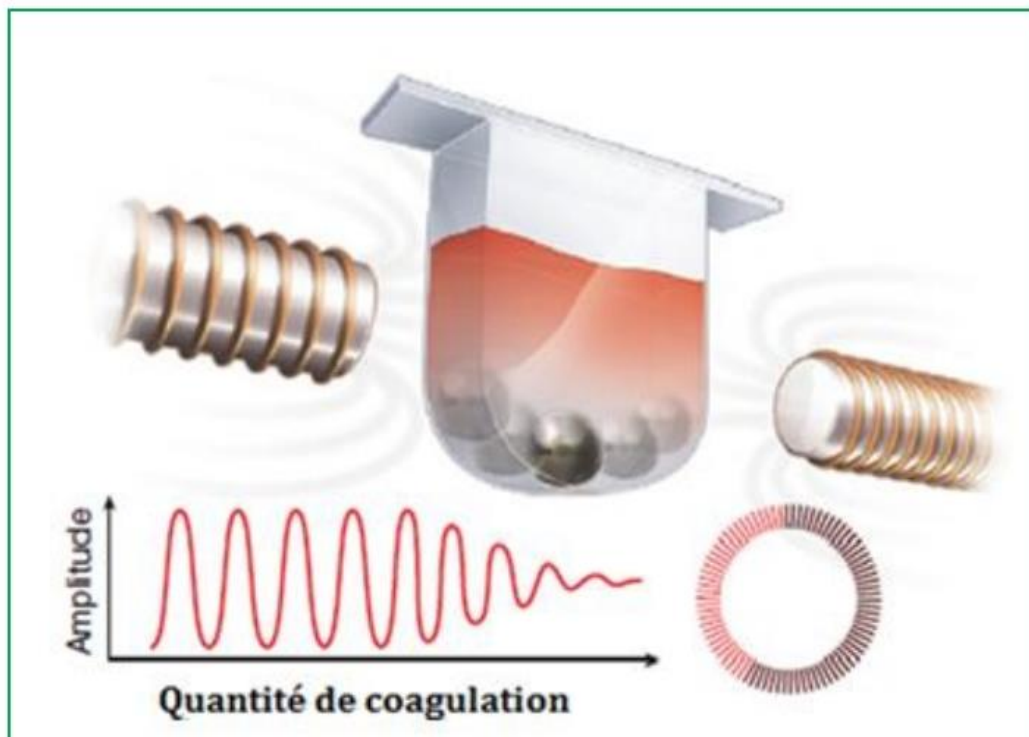


Figure 29 : Méthode électromécanique utilisant un champ électromagnétique

7.1.1.3. Les paramètres dosés par technique chronométrique :

7.1.1.3.1. Paramètres de routine :

Le paramètre dosé	La formule graphique	Les normes	Control normal	Control pathologique
TP : TPO10	$1/C=(0.12*t)-0.617$	70% - 100 %	86%	37%
TCA : PTT CK	Mode ratio ISI= 1.06	24 sec- 36 sec	25–33 sec	45-60 sec
Fibrinogène : Fib	$\text{Log [C]}= (-0.975*\text{log t})+1.563$	2-4 g/l	3.03 g/l	1.12 g/l
TP : PT+	$1/C=(0.154*t)-1.070$	70-100%	91%	39%
TCA : PTT- APTT	Mode ratio	26-40 sec	28-38 sec	48-63 sec
TCA : PTT- CPH4	Mode ratio	24-35 sec	26-37 sec	39-55 sec
Fib Prest	$\text{Log[C]}= (-1.029*\text{log t})+1.776$	2-4 g/l	2.86g/l	1.02 g/l

Tableau 09 : Paramètres de routine dosés par la méthode chronométrique

7.1.1.3.2. Autres paramètres :

Paramètre dosé	formule graphique	Les normes
UFH STA Clot Heparin	Régression linéaire	0 - 0.1 UI/ml
LMWH STA Clot Heparin	Régression linéaire	0 – 0.1 UI/ml
8 CK PREST	$\text{Log C}= (-5.746*\text{log t})+11.869$	60-150%
9CK PREST	$\text{Log C}= (-8.15*\text{log t})+15.612$	60-150%
8 PTTA	$\text{Log C}= (-5.781*\text{log t})+11.878$	60-150 %
9 PTTA	$\text{Log C}= (-5.75*\text{log t})+12.173$	60-150 %
11 PTTA	$\text{Log C}= (-6.637*\text{log t})+14.139$	60-150 %
11 CK PREST	$\text{Log C}= (-10.325*\text{log t})+19.348$	60-150 %
11 CEPHASCREEN 4/ ID 12 PTTA/ 8 CEPHASCREEN4/ ID 12 CK PREST/ 9 CEPHASCREEN 4/ ID 12 CEPHASCREEN 4	Régression linéaire	60-150 %
ID 8 CK PREST	$\text{Log C}=(-9.2*\text{log}(t)^2) + (27.4*\text{log } t)-17.3$	60-150 %

IDCK 11 PREST	$\text{Log } C = (1.3 \cdot \log(t)^2) - (12.8 \cdot \log t) + 21.9$	60-150 %
2 CL+ : facteur II	$\text{Log } C = (-2.405 \cdot \log t) + 5.173$	70-120 %
5CL+ : facteur V	Régression linéaire	70-120 %
7CL+ : facteur VII	$\text{Log } C = (-3.265 \cdot \log t) + 6.796$	55-170%
10CL+ : facteur X	$\text{Log } C = (-2.46 \cdot \log t) + 5.548$	70-120 %
STA CLOT PROTEIN C	$C = (2.106 \cdot t) - 148.76$	70-130 %
STA CLOT PROTEIN S	$C = (1.887 \cdot t) - 116.998$	55-140 %
DRVV SCREEN 2	Mode ratio	31-42 sec
FIBRIPREST AUTOMATE 5	Régression linéaire	2-4 g/l
NEOPLASTINE C	Précalibré	70-100 %
2 NEOPTIMAL 10	$\text{Log } C = (-2.058 \cdot \log t) + 4.911$	70-120 %
5 NEOPTIMAL 10	$\text{Log } C = (-3.413 \cdot \log t) + 7.098$	70-120 %
7 NEOPTIMAL 10	$\text{Log } C = (-2.826 \cdot \log t) + 6.326$	55-170 %
10 NEOPTIMAL 10	$\text{Log } C = (-2.192 \cdot \log t) + 5.284$	70-120

Tableau 10 : Autres paramètres dosés par la méthode chromométrique

7.1.2. Technique chromogénique :

7.1.2.1. Principe de la technique :

Le principe de la technique chromogénique ou amidolytique est basé sur le clivage d'une substance générant une couleur spécifique, appelée chromophore. En hémostase, le chromophore utilisé est la para-nitroaniline (pNA), ayant un pic d'absorbance à 405 nm. Le principe du test chromogène est fondé sur la liaison de la pNA à un oligopeptide synthétique (de 3 à 4 acides aminés) qui imitent la séquence cible du facteur de coagulation activé que nous voulons déterminer. Le facteur de la coagulation clive le substrat chromogène à un endroit précis dans une séquence définie d'acides aminés et libère la pNA.

L'intensité de la couleur jaune est proportionnelle à la quantité de pNA libérée. Celle-ci est mesurée par photodétection à une longueur d'onde de 405 nm. Plus la pNA est coupée et libérée, plus la capacité d'absorbance de l'échantillon augmente, ce qui entraîne des changements plus importants dans la densité optique de la solution (27, 29,30, 51).

7.1.2.2. Les paramètres dosés par méthode chromogénique :

Le paramètre dosé	La formule graphique	Les normes
LMWH-ROTACHROM HEP4 UFH LIQUID ANTI Xa4 HYBRID-LIQUID ANTI Xa4	Régression linéaire Premier point : 30 sec Dernier point : 60 sec	0 – 0.1UI/ml
UFH ROTACHROM HEP4	Regression linéaire Premier point : 30 sec Dernier point : 90 sec	0 – 0.1 UI/ml
LMWH LIQUID ANTI Xa4	$C = (-0.958 * \log d) - 0.369$	0 – 0.1UI/ml
HYBRID ROTACHROMHEP4 FONDA ROTACHROM HEP4	Régression linéaire	0 – 0.1 UI/ml
FONDA LIQUID ANTI Xa4	Régression linéaire Premier point : 60 sec Dernier point : 90 sec	0 – 0.1 µg/ml
RUXN-LIQUID ANTI Xa4	Régression linéaire Premier point : 60 sec Dernier point : 90 sec	0 – 25 ng/ml
LIQUID ANTI Xa /APBN	Régression linéaire Premier point : 10 sec Dernier point : 70 sec	0 – 23 ng/ml
ECA II/DBTN	Polynomiale d'ordre 2 Premier point : 70 sec Dernier point : 110 sec	0 – 15 ng/ml
STACHROM PLASMINOGEN	Régression linéaire Premier point : 20 sec Dernier point : 50 sec	80% – 120 %
STACHROM ANTIPLASMIN	Régression linéaire Premier point : 20 sec Dernier point : 60 sec	7% - 200%
STACHROM TAFI	Polynomiale d'ordre 2	55% - 155%
STACHROM AT III	$C = (-71.936 * \log d) + 161.127$	80% - 120%
STACHROM PC	Régression linéaire	70% - 130%

Tableau 11 : Paramètres dosés par méthode chromogénique

7.1.3. Méthode immunologique :

7.1.3.1 Principe de la technique :

Des microparticules de latex enrobées d'un anticorps spécifique contre l'analyte (l'antigène) à mesurer sont habituellement utilisées. Un faisceau de lumière monochromatique traverse une suspension de microparticules de latex. Lorsque la longueur d'onde est plus grande que le diamètre des particules en suspension, les particules absorbent une petite quantité de lumière. Cependant, lorsque les microparticules de latex enduites d'anticorps spécifique entrent en contact avec l'antigène présent dans la solution, elles adhèrent à l'anticorps en créant des liens entre les particules, ce qui produit leur agglutination. Lorsque le diamètre des particules agglutinées s'approche de la longueur d'onde du faisceau de lumière monochromatique, une plus grande quantité de lumière est absorbée. Cette augmentation de l'absorption de la lumière est proportionnelle à l'agglutination, qui, à son tour, est proportionnelle à la quantité d'antigène présent dans l'échantillon (51).

Cette technique présente l'avantage d'automatiser les méthodes manuelles chronophages et augmente le nombre de tests possibles. Néanmoins, le coût des instruments et des réactifs utilisés reste un facteur limitant de cette méthode

7.1.3.2. Les paramètres dosés par technique immunologiques :


Paramètre dosé	Formule graphique	Les normes
LIATEST D-DI 20 LIATEST D-D4	Mode : code barre Premier point : 12 sec Dernier point : 140 sec	0 – 0.5 µg/ml
LIATEST D-DI+4	$C = (302.6 * \log d^3) - (81.4 * d^2) + (23.7 * d) + 0.16$	0 – 0.5 µg/ml
LIATEST D-DI+20	$C = (364.6 * d^3) - (104.2 * d^2) + (26.9 * d) + 0.24$	0 – 0.5 µg/ml
LIATEST FM	Polynomiale d'ordre 3 Premier point : 14 sec Dernier point : 150 sec	0.1 – 6 µg/ml
LIATEST FDP	Polynomiale d'ordre 3 Premier point : 30 sec Dernier point : 300 sec	0 – 5 µg/ml
LIATEST VWF : Ag	$C = (422.975 * d) + 1.071$	50% - 160%
LIATEST FREE PS2	$C = (2748.1 * d^3) - (579.6 * d^2) + (511.8 * d) + 4.9$	60% - 140%
LIATEST FREE PS2 CAL	Polynomiale d'ordre	60% - 140%

Tableau 12 : Paramètres dosés par méthode chromogénique


7.2. Rédaction des modes opératoires :

7.2.1 Rédaction de procédures opératoires de la technique chronométrique :

7.2.1.1. Procédure opératoire du TCA :

	Laboratoire d'hémodiagnostic-unité d'hémostase- CHU Tlemcen	Nombre de page : 5
Norme ISO9001 : V2015	TCA : PTT CK	
Article 7.5 : information documentée		

CODE DOCUMENT : ISO 9001 V2015		
Valide :		Date effective : 01/08/2021
		Date d'expiration : 01/08/2022
Version rédigée : Modes opératoire en hémostase version 08/2021		
Distributeur :		Laboratoire d'hémodiagnostic/ unité d'hémostase
Numéro d'identification de la copie :		
Rédigée	Validée	Approuvé
Du 15 décembre 2020 au 15 mars 2021		
Interne en Pharmacie		Pr K.Allal

	Laboratoire d'hémiologie-unité d'hémostase- CHU Tlemcen	Nombre de page : 5
Norme ISO9001 : V2015	TCA : PTT CK	
Article 7.5 : information documentée		

1. Objectif :

Déterminer le temps de céphaline plus activateur TCA

2. Domaine d'application :

- Exploration de la voie extrinsèque de la coagulation
- Contexte préopératoire / examen de routine

3. Référentiels :


- Norme ISO 9001v2015
- Guide de l'hémostase de l'OPTMQ 2017
- Journal de Biologie Médicale / Volume 7-Numéro 25 / Avr-Juin 2018 : La démarche qualité au sein d'un laboratoire d'analyses de biologie médicale au Maroc 2018
- GFHT : Groupe Français d'étude sur l'Hémostase et la Thrombose 2017
- ABC : Annales de Biologie Clinique 2019
- colloque du Syndicat National des Biologistes des Hôpitaux 2005

4. Définitions et abréviations :

- ISO : International Organization for Standardization
- OPTMQ : Ordre Professionnel des Technologistes Médicaux du Québec
- SNBH : Syndicat National des Biologistes des Hôpitaux

5. Support d'information :

- Documentation fournie avec le réactif
- Le classeur technique de paillasse

	Laboratoire d'hémodiagnostic-unité d'hémostase- CHU Tlemcen	Nombre de page : 5
Norme ISO9001 : V2015	TCA : PTT CK	
Article 7.5 : information documentée		

6. Principe :

TCA : Déterminer le Temps de Céphaline plus Activateur en seconde explorant la voie extrinsèque : Facteur XII, XI, IX, VIII

7. Locaux :

Laboratoire d'hémodiagnostic, unité d'hémostase.

8. personnel :


* Validation biologique par le praticien spécialiste.

*Manipulation technique et validation analytique par le personnel qualifié (laborantin de santé publique ou biologiste)

9. méthode :

9.1 Déroulement de l'analyse :

- 50 µl de l'échantillon dilué (1/1) sont pipetés par l'aiguille N°1 et placée en position d'incubation
- 50 µl du réactifs STA CK PREST sont pipetés par l'aiguille N°2 et sont placés dans la cuvette correspondante
- l'incubation de la cuvette est lancée et dure 240 secondes

	Laboratoire d'hémiologie-unité d'hémostase- CHU Tlemcen	Nombre de page : 5
Norme ISO9001 : V2015	TCA : PTT CK	
Article 7.5 : information documentée		


- 50 µl de CaCl₂ 0.025M préalablement chauffés sont pipetés par l'aiguille N°3 et sont placés dans la cuvette correspondante en position de mesure
- chaque aiguille est rincée intérieurement et extérieurement dans leur puits de rinçage respectifs.

9.2 Contrôle de qualité interne :

- ces contrôles sont réalisés quotidiennement dans les mêmes conditions techniques que celles des échantillons
- Les résultats du contrôle du jour sont affichés avec divers codes de couleur :
 - (Bleu) : résultat compris dans la plage d'acceptation du contrôle de qualité,
 - (Rouge) : résultat en dehors de la plage d'acceptation du contrôle de qualité,
 - (Rouge) : résultat hors échelle

9.3 Interprétation et validation des résultats d'analyses :

- les résultats sont affichés en secondes par rapport à control normal (25 – 33 secondes) et un control pathologique (45 – 60 secondes)
- la validation analytique repose sur les résultats du QCI, les résultats d'analyses sont validés par le spécialiste avec son cachet

	Laboratoire d'hémiologie-unité d'hémostase- CHU Tlemcen	Nombre de page : 5
Norme ISO9001 : V2015	TCA : PTT CK	
Article 7.5 : information documentée		

10. Saisie des résultats :

Se fait automatiquement sur STA-Compact


11. Archivage :

Se fait à 3 niveaux :


- * Automatiquement sur STA-Compact
- * Registre bilan de routine
- * Secrétariat du service

7.2.2. Rédaction de procédures opératoires de la technique chromogénique :

7.2.2.1. Procédure opératoire de l'anti thrombine 3 (STACHROM AT 3) :

	Laboratoire d'hémiologie-unité d'hémostase- CHU Tlemcen	Nombre de page : 4
	Norme ISO9001 : V2015	
Article 7.5 : information documentée		

CODE DOCUMENT : ISO 9001V2015		
Valide :		Date effective : 01/08/2021 Date d'expiration : 01/08/2022
Version rédigée :		Modes opératoire en hémostase version08/2021
Distributeur :		Laboratoire d'hémiologie/ unité d'hémostase Numéro d'identification de la copie :
Rédigée	Validée	Approuvé
Du 15 décembre 2020 au 15 mars 2021		
Interne en Pharmacie		Pr K.Allal

	Laboratoire d'hémostase-unité d'hémostase- CHU Tlemcen	Nombre de page : 4
Norme ISO9001 : V2015	AT3 : STACHROM AT III	
Article 7.5 : information documentée		

1. Objectif :


Dosage chromogénique de l'anti thrombine III.

2. Domaine d'application :

- dépistage et diagnostic d'un déficit en antithrombine ;
- accidents thromboemboliques récurrents ;
- suivi d'un traitement de substitution ;
- non réponse au traitement à l'héparine

3. Référentiels :

- Norme ISO 9001v2015
- Guide de l'hémostase de l'OPTMQ 2017
- Journal de Biologie Médicale / Volume 7-Numéro 25 / Avr-Juin 2018 : La démarche qualité au sein d'un laboratoire d'analyses de biologie médicale au Maroc 2018
- GFHT : Groupe Français d'étude sur l'Hémostase et la Thrombose 2017
- ABC : Annales de Biologie Clinique 2019
- Colloque du Syndicat National des Biologistes des Hôpitaux 2005
- Catalogue hémostase France 015 Stago

	Laboratoire d'hémiobiologie-unité d'hémostase- CHU Tlemcen	Nombre de page : 4
Norme ISO9001 : V2015	AT3 : STACHROM AT III	
Article 7.5 : information documentée		

4. Définitions et abréviations :

- ISO : International Organization for Standardization
- OPTMQ : Ordre Professionnel des Technologistes Médicaux du Québec
- SNBH : Syndicat National des Biologistes des Hôpitaux

5. Support d'information :

- Documentation fournie avec le réactif
- Le classeur technique de paillasse

6. Principe :

Dosage colorimétrique de l'antithrombine III


7. Locaux :

Laboratoire d'hémiobiologie, unité d'hémostase.

8. personnel :

* Validation biologique par le praticien spécialiste.

*Manipulation technique et validation analytique par le personnel qualifié (laborantin de santé publique ou biologiste)

	Laboratoire d'hémiobiologie-unité d'hémostase- CHU Tlemcen	Nombre de page : 4
Norme ISO9001 : V2015	AT3 : STACHROM AT III	
Article 7.5 : information documentée		

9. méthode :

- 100 µl de l'échantillon dilué au 1/20 sont pipetés par l'aiguille N°1 et placés en position d'incubation
- 100 µl de Stachrom® AT III 3 sont pipetés par l'aiguille N°3 et sont placés dans la cuvette correspondante
- l'incubation de la cuvette est lancée et dure 60 secondes
- 100 µl de l'AT III Substrat préalablement chauffés sont pipetés par l'aiguille N° 3 et sont placés dans la cuvette correspondante en position mesure
- chaque aiguille est rincée intérieurement et extérieurement dans leur puits de rinçage respectifs

10. saisie des résultats :

- les résultats sont affichés en pourcentage par rapport à un control normal (100%) et un control pathologique (42%)
- la saisie des résultats se fait automatiquement sur STA Compact
- les résultats sont validés par le spécialiste avec son cachet

11. archivage :

Se fait à trois niveaux :

- automatiquement sur STA Compact
- registre des hémorragies/ registre de la thrombose
- secrétariat de service

III. Résultat

1. Vue d'ensemble de gestion de la qualité dans l'unité d'hémostase :

1.1. Contrôle qualité interne :

Le contrôle doit être analysé chaque jour en même temps que les échantillons des patients, après chaque étalonnage ou après une opération de maintenance lourde. Le laboratoire met en place une stratégie pour la fréquence de passage des contrôles et délimite sa propre notion de série (101). Dans l'unité d'hémostase le CIQ se fait quotidiennement alors que la calibration se fait pour chaque nouveau lot de réactifs. Les valeurs de contrôle de qualité (série par série ou jour après jour) sont représentées chronologiquement sous forme de graphique de Levey-Jennings :

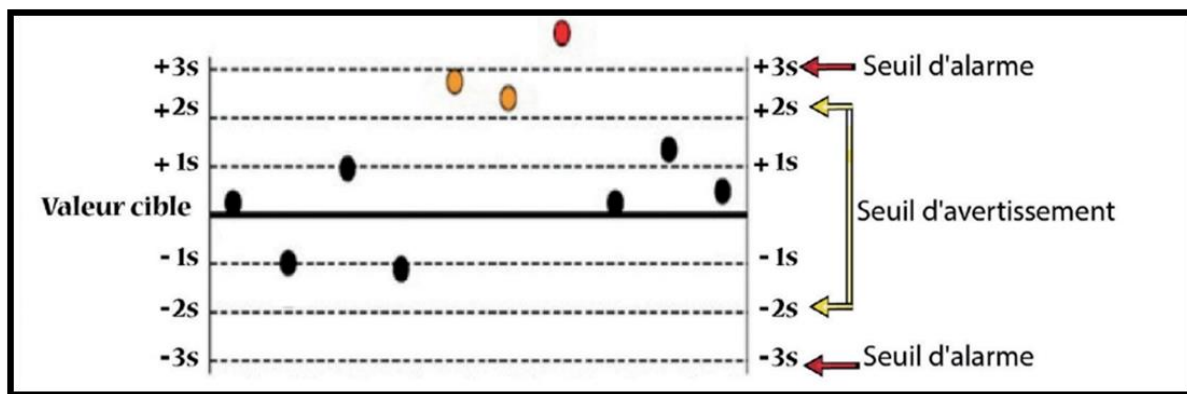


Figure 30 : Représentation de Levey-Jennings

Selon la norme il est préférable d'utiliser un matériau de CIQ mis au point et fabriqué indépendamment de toute trousse spécifique d'un dispositif médical de diagnostic in vitro et fourni isolément. En effet, les contrôles dépendant des fournisseurs sont conçus pour être utilisés uniquement sur leurs propres systèmes de tests. Ils sont souvent fabriqués à partir des mêmes matériaux que les solutions d'étalonnage. En conséquence, le contrôle peut mimer la solution d'étalonnage, le rendant moins sensible aux changements de performances du dispositif.

1.2. Gestion des non conformités :

1.2.1. Définition d'une non-conformité en hémostasie :

Une non-conformité est un écart par rapport à un point particulier du référentiel utilisé dans le système de gestion de la qualité. Certaines non-conformités affectent directement la fiabilité du résultat analytique et d'autres indirectement (102).

Plusieurs facteurs pré-analytiques peuvent générer des résultats de test erronés, les non conformités les plus rencontrées dans l'unité d'hémostasie sont représentées comme suite :

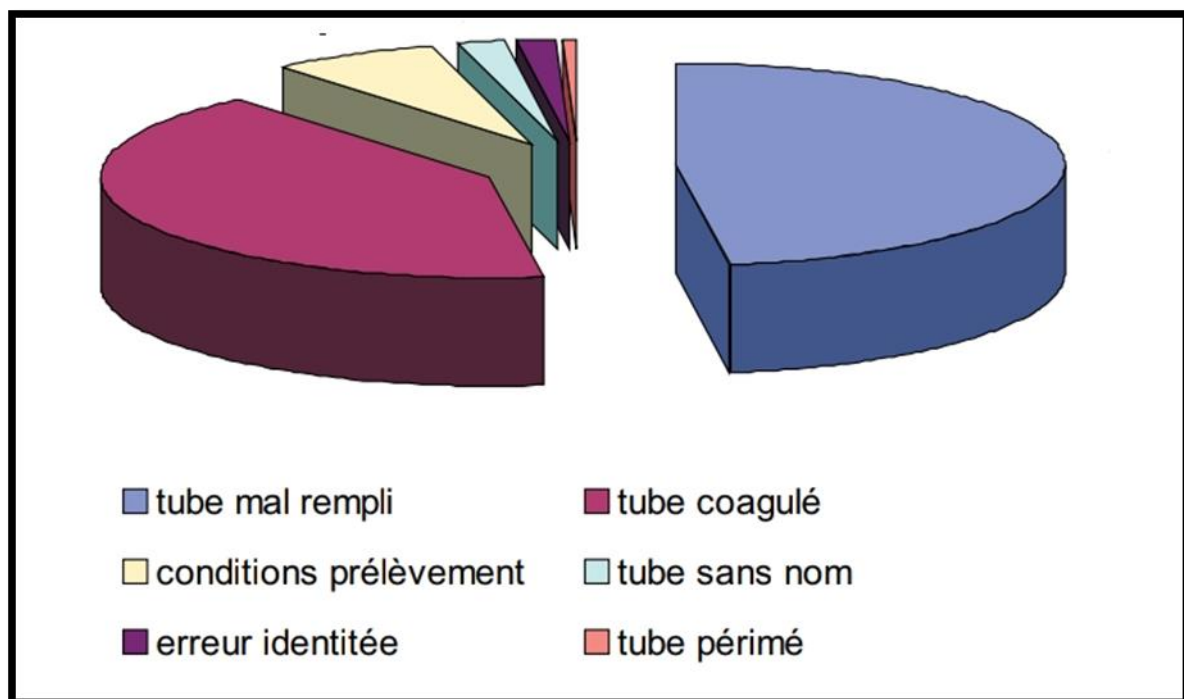


Figure 31 : Distribution des prélèvements non conformes dans l'hémostasie

1.2.2. Registre des non conformités :

L'enregistrement de non-conformités sert à décrire et à répertorier objectivement les problèmes qui surviennent au laboratoire ou à l'extérieur de celui-ci et qui peuvent avoir une incidence sur le service. Il sert aussi à consigner la cause et à noter la correction immédiate et/ou l'action corrective apportée. L'analyse de l'information recueillie dans l'enregistrement permet d'évaluer la nature des problèmes rencontrés et d'améliorer à long terme la qualité du service offert dans un processus d'amélioration de la qualité.

Dans l'unité d'hémostase du CHU, les non conformités sont enregistrés quotidiennement dans le registre de paillasse.

1.3. Incident et accident :

Lorsqu'il y a une interruption de service dont le délai est susceptible de compromettre les soins aux patients, ce dernier doit être avisé des retards éventuels et cette interruption doit être également signalée aux personnes désignées dans l'établissement (**Annexe2**).

1.3.1. Panne de courant (103) :

Le laboratoire doit décrire la procédure à suivre en cas de panne de courant. Cette procédure devrait comprendre, entre autres, les renseignements suivants :

- * la présence d'un système d'alimentation électrique d'urgence ;
- * la consignation de la situation et des mesures correctives prises ;
- * l'utilisation possible d'un appareil de soutien ;
- * la gestion des échantillons ;
- * la remise en marche.

1.3.2. Panne informatique :

Le laboratoire doit décrire la procédure à suivre en cas de panne informatique, planifiée ou non planifiée. Cette procédure devrait comprendre, entre autres, les renseignements suivants :

- * la description d'un plan de relève (de la demande de l'analyse jusqu'à l'acheminement du résultat) ;
- * la consignation de la situation et des mesures correctives prises ;
- * la sauvegarde des données ;
- * la remise en marche.

2. Modèle de gestion de la qualité en hémostase selon la norme ISO 9001 :

Dans un but d'amélioration continue de la qualité dans l'unité d'hémostase, nous avons

œuvrés dans ce mémoire de proposer un modèle de gestion de la qualité selon la Norme ISO 9001 version 2015. Toutes ces améliorations de la qualité peuvent être, au moyen de la norme ISO 9001, réalisées pour n'importe quel type d'entreprise, d'organisation de fabrication ou de service quels que soient ses activités ou effectifs.

2.1. Mise en œuvre de la Norme ISO 9001 :

Tout d'abord, par un diagnostic de l'organisation du laboratoire d'hémostase, évidemment. Il se fait en auditant les fonctions principales. Le diagnostic fera probablement apparaître un certain nombre de non conformités.

Parallèlement, il faudra mettre à plat tous les processus inhérents au métier du laboratoire ; ce, depuis la réception du prélèvement jusqu'à l'émission du résultat d'analyse médicale.

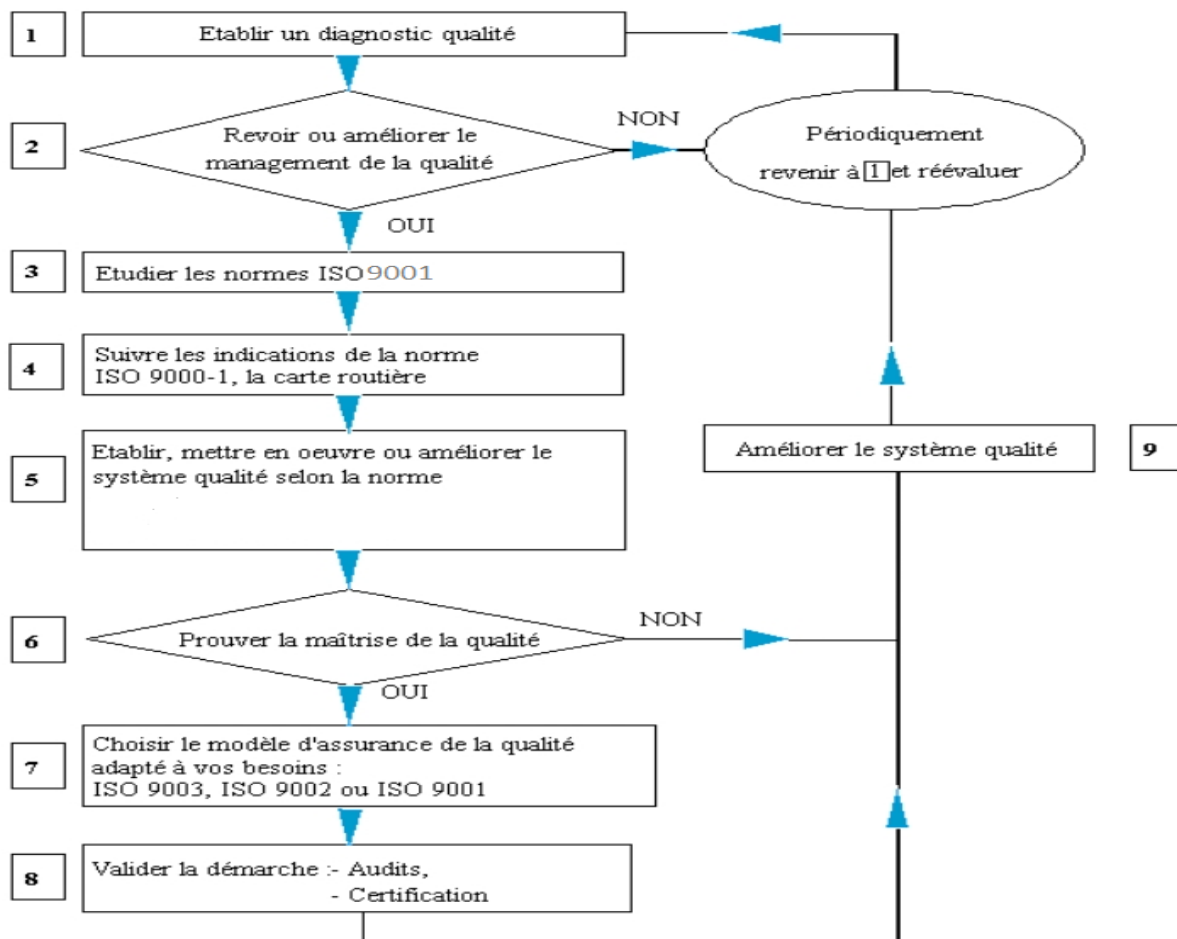


Figure 32 : Schéma récapitulatif de la mise en œuvre de la norme ISO 9001

3. Outils pour une démarche d'amélioration continue :

Pour accompagner et aider le laboratoire d'hémostase dans sa démarche d'amélioration continue, deux outils sont proposés :

* Une cartographie interactive des processus pour faciliter la compréhension de la norme par tout le personnel.

* Un outil d'autodiagnostic pour évaluer le niveau de conformité du système de management de la qualité du laboratoire aux exigences de la norme, identifier les axes prioritaires d'amélioration et se mettre à niveau.

3.1. Cartographie interactive des processus :

La cartographie interactive des processus représente une description exhaustive et illustrée de la norme ISO 9001. Pour harmoniser la mise en œuvre des processus et le déploiement de la norme, le choix est porté sur un outil web : le logiciel ScenariChain® (104), il est créé par l'UTC et permet de développer des fichiers facilement accessible et diffusable car son exploitation nécessite seulement un navigateur internet.

Pour l'élaboration de cette cartographie les principes et les exigences de la norme ont été identifiés et classés en 4 fonctions à savoir :

- Gouvernance : permettant de piloter le laboratoire, de définir et déployer la stratégie et de vérifier la cohérence des décisions prises vis-à-vis des objectifs poursuivis.
- Opérationnelle : liée à la conception et la réalisation du service offert par le laboratoire (à savoir l'analyse médicale des paramètres d'hémostase), elle crée la valeur ajoutée et contribue directement à la satisfaction du patient.
- Surveillance et Amélioration : fonction par laquelle tous les processus mis en œuvre sont contrôlés et améliorés en continu.
- Support : veille à la disponibilité des moyens nécessaires au bon fonctionnement des processus. Elle sert de soutien à toutes les activités du laboratoire.

3.2. Outil d'autodiagnostic :

L'outil d'autodiagnostic a pour objectif d'évaluer le niveau de respect des exigences de la

norme ISO 9001 version 2015, de visualiser les performances du système de management de la qualité grâce à des graphes radars et d'identifier les axes de progression afin d'entamer une démarche d'amélioration continue. Cet outil sous format d'Excel est structuré selon 3 grands axes. Il contient un formulaire d'exigences suivant le modèle de la norme ISO 9001 (105).

IV. Discussion

1. Processus du système de gestion de la qualité :

La norme ISO 9001 exige que lors de l'implantation d'un système de gestion de la qualité, les processus qui représentent l'ensemble des activités à accomplir pour produire les résultats visés doivent être décrits (**Annexe 6**). Le laboratoire doit déterminer les processus nécessaires, la séquence et l'interaction de ceux-ci, les critères et les méthodes pour assurer l'efficacité du fonctionnement et la maîtrise de ces processus.

1.1. Catégories de processus :

Les processus peuvent être divisés en quatre grandes catégories :

* **Les processus de gestion** : qui comprennent notamment la vision et la mission du laboratoire, les activités de la direction, la gestion financière, la gestion des ressources, les services de communication et d'information.

* **Les processus de soutien à la réalisation** : qui comprennent notamment les activités de contrôle (enregistrements qualité et techniques), la maîtrise des documents, l'entretien, l'informatique, les achats, la prévention des infections.

* **Les processus d'amélioration continue** : qui comprennent notamment les actions correctives et préventives, les non-conformités, les audits internes et externes, les indicateurs qualité, les analyses de données

* **Les processus de réalisation** : qui comprennent toutes les activités liées à la réalisation des services du laboratoire, soit les activités liées aux étapes préanalytique, analytique et postanalytique. Au laboratoire d'hémostase, le processus débute par l'ordonnance médicale et se termine par la transmission du rapport d'analyse (106).

Dans la prospective de notre étude, nous avons réalisé deux modèles de procédure

opérateur permettant de doser respectivement le TCA et l'AT III répondant aux exigences de la norme ISO 9001. Ceci restant une étape de toute une procédure de certification ISO pour le laboratoire d'hémostase.

1.2. Cartographie des processus :

La cartographie est un moyen de présentation graphique des processus qui permet de bien illustrer les activités et les éléments essentiels du système de gestion de la qualité et ainsi identifier les relations entre eux. Au laboratoire, les cartographies des processus pré-analytique (**Annexe 3**), analytique (**Annexe 4**) et post-analytique (**Annexe 5**) sont propres aux étapes de réalisation du système de production des analyses du laboratoire. Dans le cadre d'amélioration continue que nous proposons à travers ce mémoire, nous avons représenté des exemples de cartographie des processus pré-analytique, analytique et post-analytique.

2. Contrôle qualité interne :

La première étape était de superviser la reconstitution des sérums suivant les instructions du fournisseur selon les recommandations de l'OMS, qui a conduit à une diminution de la consommation des sérums de contrôle, une bonne conservation et une meilleure stabilité.

Les cartes de contrôle (graphique de Levey-Jennings) permettent d'apprécier la précision journalière avec une zone d'alerte en cas de défaillance consécutive à une détérioration des réactifs ou de l'appareil de dosage.

Afin d'éviter les faux rejets des résultats, le biologiste doit être vigilant des cas suivants :

La série analytique est considérée comme étant sous contrôle et les résultats des patients peuvent être rendus, si aucune valeur de contrôle n'excède la limite 2S.

Les données de contrôle sont vérifiées par rapport aux règles 13S, 22S, R4s et IOx, si une valeur de contrôle excède la limite 2S. Dans le cas où aucune de ces règles n'est violée, la série est estimée sous contrôle. Par contre si l'une d'entre elles est enfreinte, la série est déclarée hors contrôle.

Par l'application des multi-règles de Westgard, nous avons constaté une amélioration de la qualité des résultats par diminution :

- de la fréquence de calibration (parfois la durée de calibration recommandée par le fournisseur n'est pas exacte)
- de la fréquence de re-dosage des sérums de contrôles
- les faux rejets des résultats.

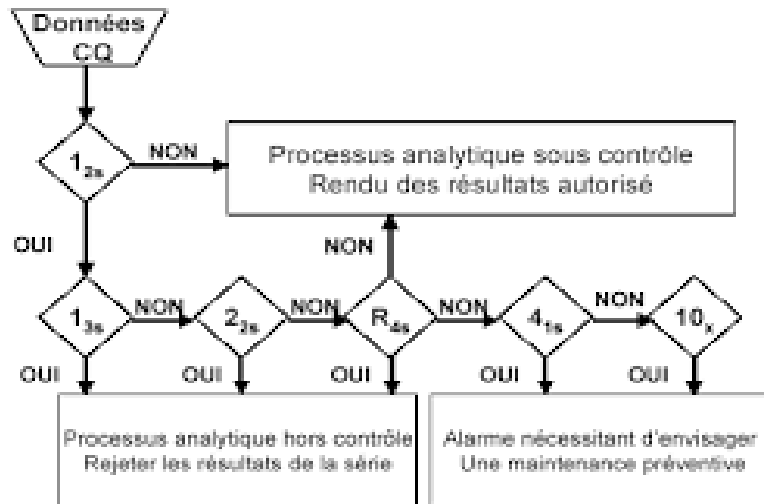


Figure 33 : Diagramme logique d'application d'une série de contrôle dans le procédé multi- règles de Westgard

Conclusion et prescriptives :

La qualité des résultats joue un rôle impératif pour juger le travail d'un laboratoire.

Les exigences particulières sur le plan de la qualité en biologie médicale visent toutes les étapes d'une analyse de laboratoire ou hors laboratoire : pré analytiques, analytiques et post analytiques. C'est en tenant compte de tous ces éléments et en conformité avec les pratiques généralement reconnues en laboratoire et des normes que ce travail a été élaboré. L'objectif est d'offrir des outils pour la mise en place de procédures visant à maintenir et à améliorer la qualité du service, ainsi que d'assurer la sécurité du personnel et du patient pour le laboratoire d'hémostase.

Au cours de notre travail, nous avons tenté d'initier une démarche d'amélioration continue en se référant aux exigences et normes décrites dans les manuels-qualité (ISO 17025, ISO 15189, ISO 9001V2015).

Afin de mener à bien notre étude, nous avons axé notre travail sur deux étapes qui conditionnent la qualité du résultat d'analyse médicale à savoir la rédaction d'une procédure opératoire et un contrôle qualité interne pour mieux apprécier la fiabilité des résultats d'analyse médicale rendus aux patients.

Le contrôle interne de cette qualité est un outil universellement reconnu pour garantir la fiabilité des examens de biologie médicale par l'application de plusieurs approches, il devient un point crucial de la démarche d'accréditation des laboratoires, à cet égard, nous avons constaté que le maintien d'un système qualité efficace repose sur une vigilance permanente : il est souvent plus difficile de faire vivre un système que de le mettre en place, c'est pourquoi les audits de surveillance sont d'excellents outils pour poursuivre une telle démarche.

L'application de cette dernière demande la mise en place de tout un système de réglementations normalisées (GBEA et normes ISO) qui n'est pas bien suivi en Algérie.

La qualité ne dépend pas uniquement de l'analyse technique et organisationnelle mais aussi sur l'investissement de l'ensemble du personnel qui est la clef de la pérennité d'une démarche qualité. Afin de faciliter la tâche aux personnels du service d'hémobiologie, nous avons préparé deux modèles de procédures opératoires répondant aux exigences de la norme ISO 9001 version 2015.

Les références bibliographiques

1. HEMOSTASE 2005-2006. Philippe de Moerloose Françoise Boehlen Service d'Angiologie et Hémostase Hôpitaux Universitaires et Faculté de Médecine de Genève.
2. FREYBURGER G., LABROUCHE S., L'automatisation en hémostase, Revue Française des Laboratoires, novembre 1996, N°288, article reçu le 20 décembre, accepté le 11 avril 1996.
3. Physiologie de l'hémostase The Normal Haemostatic Process
T. de Revel (Professeur agrégé du Val-de-Grâce, chef de service adjoint) a,*, K. Doghmi (Assistant des Hôpitaux des Armées, spécialiste d'hématologie) EMC-Dentisterie 1 (2004)
a,b a Service d'hématologie, Hôpital d'Instruction des Armées Percy, 101 avenue Henri-Barbusse, 92141 Clamart, France b Service d'hématologie, Hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc
4. GUIDE D'HÉMOSTASE. Ordre professionnel des technologues médicaux du Québec (OPTMQ) 2017
5. Stago.fr Histoire de la coagulation 10/2018
6. Duboeuf S, Pillon F. L'hémostase, quelques notions de physiologie. Actualités pharmaceutiques. Décembre 2010 ; 49 (501): 14-15
7. Boneu B, Cazenave JP. Introduction à l'étude de l'hémostase et de la thrombose. Reims: Boehringer Ingelheim; 1997
8. Sampol J, Arnoux D, Boutière B. Manuel d'hémostase. Paris: Elsevier; 1995.
9. Samama MM, Elalamy I, Achkar A, Conard J. Hémorragies et thromboses : du diagnostic aux traitements. Paris : Masson, 2009
10. Cattaneo M. Light transmission aggregometry and ATP release for the diagnostic assessment of platelet function. Semin thromb Hemost 2009;35:158-67
11. Pittilo RM, Machin SJ. Platelet-Vessel wall interactions. Springer Verlag, London. 1987.
12. Horellou HM, Flaujac C, Conard J, Samama MM. Hémostase: physiologie, exploration. In : Société Française de Médecine Vasculaire, Collège des enseignants de médecine vasculaire, Collège Français de Pathologie Vasculaire. Traité de médecine vasculaire. Tome 1: Principes de base, maladies artérielles. Paris: Elsevier Masson; 2010: 61-71.
13. Samama MM, Emile C, et al. Cahier de formation N° 20 Hémostase et Thrombose. Paris : Bioforma ; 2000.
14. De Revel T, Doghmi K. Physiologie de l'hémostase. EMC-Dentisterie. 2004; 1(1): 71-81.
15. Schved J.F. Hémostase : physiologie et exploration en pratique courante. In : Codine P, Kotzki N, Pélissier J. Coagulation, thrombose et médecine physique. Paris: Elsevier Masson; 2005: 1-9.
16. Hermans C, Dessomme B, Lambert C, Deneys V. Malformations veineuses et coagulopathie. Annales de chirurgie plastique esthétique. 2006 ; 51(4-5) : 388-393.
17. Elalamy I, Depasse F, Gerotziafas G, Samama MM. Physiologie de l'hémostase. In : Samama MM. Hémorragies et thromboses: Du diagnostic aux traitements. Paris: Elsevier Masson; 2009: 3-13.
18. Lasne D, Jude B, Susen S. Physiologie de l'hémostase. In : Martin C, Riou B, Vallet B. Physiologie humaine appliquée. Arnette; 2006 ; 169-178.

19. Gaussem P, Aiach M. Physiologie de la fibrinolyse. In : Vaubourdolle M. Biochimie, Hématologie. Wolters Kluwer; 2007 : 841-848.
20. Fourrier F. Fibrinolyse et fibrinogénolyse en réanimation. Réanimation. 2002 ; 11(5) : 341-8.
21. Léon F. Coagulation du sang. In : Alcan F. Dictionnaire de physiologie. 003. Tome III. Richet ; 830-859.
22. Torbet J, Freyssinet J-M, Hudry-Clergeon G. Oriented fibrin gels formed by polymerization in strong magnetic fields. Nature Publishing Group; 1981; 289: 91-3.
23. Freyssinet JM, Torbet J, Hudry-Clergeon G, Maret G. Fibrinogen and fibrin structure and fibrin formation measured by using magnetic orientation. Proc Natl Acad Sci U S A 1983; 80: 1616-20.
24. « Origines du mot » L'Automatisme d'Alfred-Georges Regner. Disponible sur: <http://automatisme-alfred-georges-regner.fr/lautomatisme/origines-du-mot/>.
25. Nquila F. « Automatisme en hématologie cellulaire » faculté de médecine et pharmacie de Rabat, rabat, 2016.
26. Koepke JA, Klee GG. Automated coagulation detection systems. Clinical and Laboratory Haematology. 1979; 1(2): 75-86.
27. McGlasson D-L. Coagulation Instrumentation. In: Rodak B-F, Fritsma G-A, Keohane E-M, Hematology: Clinical Principles and Applications. Elsevier; 2012:783-795.
28. Chakroun T, Elalamy I. Mesure chronométrique. Biologie médicale. 2004.
29. Johns CS: Coagulation instrumentation. In Rodak BG, Fritsma GA, Doig K, editors: Hematology: clinical principles and applications, ed 3, St Louis, 2007, Saunders, 714-728.
30. Arnoux D, Boutière Albanèse B. Techniques en hémostase. In : Sébahoun G. Hématologie clinique et biologique. Deuxième édition. Arnette ; 2005/4 : 563-568.
31. BOUNAMOUL N., MALVAUX S., CEDOU T., TRUCHAUD A. - Systèmes automatisés en hémostase : pour une standardisation des modes de détection. Spectra Biol., 1995, 93/3 : 40-53.
32. LIEN ABECASSIS, CHRISTELLE HAMON, Choix d'un automate d'hémostase, Revue Francophone des Laboratoires, juin 2007, N°393, article reçu le 28 février, accepté le 12 mars 2007.
33. Kitchen S, McCraw A, Echenagucia M. Le diagnostic de l'hémophilie et des autres troubles de coagulation. Manuel de laboratoire Deuxième édition. 2010. 144p
34. Cutté P. Hématologie De l'automate de NF à l'analyse cellulaire : Aboutissement de l'automatisation De l'hématologie. IRBM News 2008 ; 29 (3-4) : 24-31.
35. Vesseron S, Hyvert A, Margas J-M, Massei A. Congrès AACCC 2014. IRBM News. 2015; 36 (1) : 2-22.
36. Briggs C, Guthrie D, Hyde K, Mackie I, Parker N, Popek M, et al. Guidelines for point-of-care testing: haematology. British Journal of Haematology. 2008 ; 142(6) : 904-915
37. Abécassis L, Hamon C. Choix d'un automate d'hémostase. Revue Francophone des Laboratoires. 2007 ; 2007(393) : 25-35.
38. Gruson A, Roussi J, et les membres du Groupe de travail Automatisation en hémostase. Descriptif standardisé des analyseurs de biologie : analyseur et semi-analyseur d'hémostase. Annales de Biologie Clinique. 2008 ; 66(3) : 1-59.
39. Ellouze R, Guermazi S. Importance de l'étape préanalytique en hémostase. Annales de biologie clinique. 2013 ; 71(4) : 401-407.

40. Friess B, Le Hen A, Boutry M, Braconnier F, Gouget B. Mise en place d'un plateau technique de biologie à l'hôpital : le choix d'une plateforme pré-analytique robotisée. *ITBM-RBM*. 2003 ; 24(2): 59-68.
41. Daunizeau A, Perrier J-J. Automatisation et gain de productivité au laboratoire. *Spectra biologie*. 2006 ; n° 151 : 21-24.
42. Braconnier F. Réflexions sur la robotisation du pré-analytique en biologie médicale : une prochaine étape pour les laboratoires hospitaliers ?. *Spectra Biologie*. 2002 ; 21(122) : 37-45.
43. Gouget B. Phase pré-analytique, qualité des résultats de laboratoire et démarche qualité à l'hôpital. *RFL*. 1997 ; 292 : 44-6.
44. Plebani M, Carraro P. Mistakes in a stat laboratory: types a frequency. *Clin Chem*. 1997 ; 43(8) : 1348-51.
45. Bissel MG, Petersen JR. *Automated Integration of Clinical Laboratories: A Reference*. Washington, DC: AAAC Press; 1998.
46. Felder RA. *The Distributed Laboratory: Point-of-Care Services with Core Laboratory Management*. Point-of-Care Testing [chapter 5]. Washington, DC: AAAC Press; 1999.
47. Kost Gerald J, Wellsh J. *Handbook of Clinical Automation, Robotics, and Optimization*. New York: John Wiley & Sons, Inc; 1996.
48. Middletown SR. Developping an automatisisation concept that is right for your laboratory. *Clin Chem* 2000;46(5):757-63.
49. Wing AK. Laboratory automation and optimization: The role of architecture. *Clin Chem* 2000 2000;46(5):746-50.
50. Lessinger J-M. Les laboratoires de biologie médicale (LBM). Présentation de l'environnement hospitalier. 2011-2012. <http://www.lecomprime.com/blog/infos-etudiants/4eme-annee/2012/05/02/environnement-hospitalier-4eme-annee/?aid=7591&sa=1>. (consulté le 16/03/15).
51. cobas p501 post-analytical unit Automatiser le post-analytique, une clé pour l'accréditation? https://www.rochediagnostics.fr/Htdocs/media/pdf/publications/10MBIO_83_04-05_web.pdf. (consulté le 16/03/15).
52. Ardouni S. « HEMOGRAMME: AVANCEES ACTUELLES », thèse, UNIVERSITE MOHAMMED V - SOUISSI FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, casablanca, 2013.
53. « Hémogramme automatisé » Disponible sur: <https://docplayer.fr/17321104-Hemogramme-automatise.html>. [Consulté le: 09 - févr - 2020].
54. Tessier-Martreau A, Geneviève F, Godon A, Macchi L, Zandecki M. Anomalies et erreurs de détermination de l'hémogramme avec les automates d'hématologie cellulaire. *Annales de Biologie Clinique*. 2010 ; 68(4) : 393-407.
55. Elalamy I. PFA-100 (Dade Behring) : un analyseur global de la qualité fonctionnelle de l'hémostase primaire. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2007, 2007(393): 51-61.
56. Mammen E.F, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler C.M, et al. PFA-100 TM : a new method for assessment of platelet dysfunction, *Sem. Thromb. Hemost.* 24 (1998) : 195-202.
57. Stepanian A, Biron-Andréani C. Exploration de l'hémostase primaire. *Annales de Biologie Clinique*. 2001 ; 59(6) : 725-35.
58. Dine G, Genty V, Rehn Y, Brahimi S. Automatisation de l'exploration plaquettaire : présentation des systèmes technologiques disponibles en biologie clinique. *Bio tribune magazine*. 2009 ; 32(1) : 14-20.

59. Born GVR. Quantitative investigations into the aggregation of blood platelets. *J Physiol* 1962;162:67-8
60. O'Brien JR. Platelets aggregation part II: some results of a new method. *J Clin Pathol* 1062;15:452-5.
61. McGlasson DL, Fritsma GA. Whole blood platelet aggregometry and platelet function testing. *Semin Thromb Hemost* 2009;35:168-80
62. Stago. Catalogue hémostasie France 2017 Diagnostica Stago. <http://www.stago.fr/produits-services/catalogue/>. S.A.S. RCS Nanterre B305 151 409
63. Vesseron S, Rochais Y. État des lieux en hémostasie. *IRBM News*. 2012 ; 33 (3) : 36-49.
64. Fischer F, Appert A, Ferrero C, Maerfeld K, Bayle J. Évaluation du STA Compact sur les tests de coagulation de routine en pratique hospitalier. *Revue Francophone des Laboratoires*. 1997 ; 1997(292) : 171-178.
65. Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Méthodes automatisées. In: *Principes d'analyse instrumentale*, De Boeck, 2003 ; 830-846.
66. Ribot P. Vers l'intégration diagnostic/pronostic pour la maintenance des systèmes complexes. Université Paul Sabatier - Toulouse III. 2009, p150.
67. Méndez A, Brunner-Agten S, Kaeslin Meyer M, A Huber. Automation in Haemostasis. *Pipette-swiss laboratory medicine*. 2012; n°2: 15-17.
68. RABOBA J-L. Détermination manuelle des tests d'hémostasie. Mémoire de Diplôme d'Etude de Formations Spécialisé (DEFS) en Biologie Médicale. Faculté de médecine, Université d'antananarivo, 2004, n°72, 39p.
69. HAS, «Manuel de certification des établissements de santé v2010», Ed. Haute Autorité de Santé (HAS), avril 2011, www.has-sante.fr
70. Système de Gestion de la Qualité au Laboratoire - Outil de formation WHO/HSE/IHR/LYO/2009.1
71. Crosby PB. *Quality without tears: the art of hassle-free management*. New York (NY): McGraw-Hill; 1995.
72. "Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale." Editions Legifrance , Paris www.legifrance.gouv.fr, 26-Apr-2002.
73. La démarche qualité au sein d'un laboratoire d'analyses de biologie médicale au Maroc. *Journal de Biologie Médicale / Volume 7-Numéro 25 / Avr-Juin 2018*
74. ISO 15189. *Medical laboratories - Requirements for quality and competence*. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2012.
75. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Quality management system: A model for laboratory services; Approved guideline*. 4th ed. QMS01- A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011.
76. "NF EN ISO 15189 Laboratoires de biologie médicale - Exigences concernant la qualité et la compétence." Editions Afnor, Paris, www.afnor.org, 01-Dec-2012.
77. "NF EN ISO 9001- Systèmes de management de la qualité- Exigences." Editions Afnor, Paris, www.afnor.org, 15-Oct-2015.
78. "Exigences pour l'accréditation des laboratoires selon la norme NF EN ISO/IEC 17025:2017, Révision 13." Editions Afnor, Paris, www.afnor.org, 01-Nov-2019.
79. S. Tranchard, New edition of ISO/IEC 17025 just published, (1/12/17) <https://www.iso.org/news/ref2250.html> (Accessed on 21/04/18).
80. V. Agostini, Evolution of laboratory procedures for water quality analysis, A. Gilardoni (Ed.), *The Italian water industry*, Springer International Publishing AG, Berlin, 2018.

81. U. Ricci, Establishment of an ISO 17025:2005 accredited forensic genetics laboratory in Italy, *Accred. Qual. Assur.* 19 (2014) 289-299.
82. NF EN ISO/CEI 17025. General requirement for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva: ISO, 2017.
83. Référentiels de management : l'ISO 9001, le management de la Qualité
<http://www.qualiteperformance.org/comprendre-la-qualite/referentiels-de-management-l-iso-9001-le-management-de-la-qualite>
84. EXIGENCES DE LA NORME ISO 9001 VERSION 2015. <https://www.pqb.fr/page-exigences-de-la-norme-iso-9001-version-2015-systeme-de-management-de-la-qualite.php>
85. LA NORME ISO 9001 VERSION 2015 : UNE ANALYSE `A L'AUNE DU CADRE DES SYST`EMES DE MANAGEMENT DE LA PERFORMANCE DE FERREIRA ET OTLEY (2009) Arnaud Eve, Pierre-Antoine Sprimont
86. Piot, C., Kermiche, L. (2009). A quoi servent les comités d'audit ? Un regard sur la recherche empirique. *Comptabilité - Contrôle – Audit – Numéro thématique*: 9-54.
87. Gervais, M. (2009). *Contrôle de gestion – 9e édition*. Paris: Economica.
88. Anthony, R. N. (1993). *La fonction contrôle de gestion*. Traduction de Jean-Loup Ardoin. Paris: Publi-Union.
89. Donaldson, K. M., Ishii, K., Sheppard, S. D. (2006). Customer Value Chain Analysis. *Research in Engineering Design* 16: 174-183.
90. Gauzente, C. (2000). Mesurer la performance des entreprises en l'absence d'indicateurs objectifs : quelle validité ? Analyse de la pertinence de certains indicateurs. *Finance Contrôle Stratégie* 3 (2): 145-165.
91. Castka, P., Balzarova M. A. (2008). The Impact of ISO 9000 and ISO 14000 on Standardisation of Social Responsibility – An Inside Perspective. *International Journal of Production Economics* 113: 74-87.
92. Boiral, O. (2012). ISO 9000 and Organizational Effectiveness: A Systematic Review. *The Quality Management Journal* 19 (3): 16-37.
93. FISCHER F., APPERT A., FERRERO C., MAERFELD K., BAYLE J., Evaluation du STA Compact sur les tests de coagulation de routine en pratique hospitalière, *Française des Laboratoires*, avril 1997, N° 292, article reçu le 20 septembre, accepté le 24 novembre 1996.
94. VASSAULT A., GRAFMEYER D., NAUDIN C., DUMONT G. - Protocole de validation de techniques. *Ann. Biol. Clin.*, 1986, 44 : 686-745.
95. Groupe de travail du GEHT. Recommandations pré-analytiques en hémostase, révision partielle. Octobre 2015. www.geht.org.
96. Woodhams B, Girardot O, Blanco MJ, Colesse G, Gourmelin Y. Stability of coagulation proteins in frozen plasma. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001;12:229-36.
97. Qualification des matériels. The qualification of the equipments. *Le Vacon* 2005
98. Concours communs polytechniques. EPREUVE SPECIFIQUE - FILIERE MP. SCIENCES INDUSTRIELLES 2015
99. Pengo V, Tripodi A, Reber G et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/ Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost*, 2009. 7(10):1737–1740.
100. Laboratory Clinical. Standards Institute. CLSI H60-A Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant. Approved guideline. 2014.

- 101.** CLSI, Statistical quality control for quantitative measurements : principles and definitions ; approved guideline C24-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, Pa,2015
- 102.** CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Nonconforming Event Management, Approved Guideline, CLSI document QMS11-A2, Wayne, PA, CLSI, 2015, 115 p.
- 103.** ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO15189 :2012(F) Laboratoires de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence. Troisième édition (version corrigée 2014-08-15), Genève, ISO, 2012, 56 p.
- 104.** Scenari – Platform, portail de la communauté Scenari. [En ligne]. Disponible sur : <http://scenari platform.org/>.
- 105.** A IDE AU DEPLOIEMENT ET OUTIL D’AUTODIAGNOSTIC DE LA NORME ISO 9001:2015. Université de Technologie Compiègne 2015/2016
- 106.** CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Quality Management System: A model for Laboratory Services; Approved Guideline - Fourth Edition, CLSI document QMS01- A4, Wayne, PA, CLSI, 2011, 143 p
- 107.** Fuks M. L’automatisation des laboratoires de biologie clinique. Décision Santé 1994;68:4–7.

ANNEXES

Annexe 1 : spécification technique du STA Compact®

Type	Analyseur multiparamétrique. Travaille patient par patient. Chronométrie, colorimétrie et immunologie.
Normes	Conformes aux normes : -pour STA Compact® 230V : marque GS (IEC1010, EN 55011) et marquage CE(EN 60601 et conformité à la loi allemande EMVG). -pour STA Compact® 115V: UL 3101-1 (Underwriters Laboratory).
Gestion des échantillons	-1 Tiroir de 96 primaires centrifugés : *Diamètre : 11 mm (3ml) (0.43po) *Diamètre : 11.6 à 13.4 mm (5 ml) (0.46 à 0.53 po) *Longueur: 65 à 100 mm (2.56 à 3.94 po) - Liste des tubes recommandés : Tube polypropylène de Sarstedt (5ml) Monovette® de Sarstedt (3 ml et 5 ml) Venoject® II de Terumo® Vacutainer ® Hemogard™ de Becton Dickinson (5ml et 10 ml) -Identification positive -Lecteur codes à barres
Gestion des produits	-45 positions avec des flacons de différentes dimensions -Lecteur codes à barres - Identification Positive -Thermostatisation entre 15°C et 19°C -Gestion de la stabilité et du volume.
Principe des mesures	-Source lumineuse : lampe tungstène-halogène -Modes d analyses : chronométrie, colorimétrie et immunologie -Chronométrie, modification de viscosité du milieu, détection par des capteurs électromagnétiques -Colorimétrie et immunologie, mesure de D.O 405 nm et 540 nm.
Pipeteur	-Basé sur 1 seringue de 250µl
Cuvettes	-Identique pour réaction et mesure -Sous forme de bobines de 1000 cuves avec billes en acier inoxydable, -Autorisant un mouvement pendulaire de la bille (brevet STAGO) -Volume maximum utilisable : 400 µl -Volume minimum : *150 µl chronométrie *250 µl photométrie
N° de brevets	-FR 8718348 -FR 8809151 -US 4918984 -JP 1939942 -EP 0325874

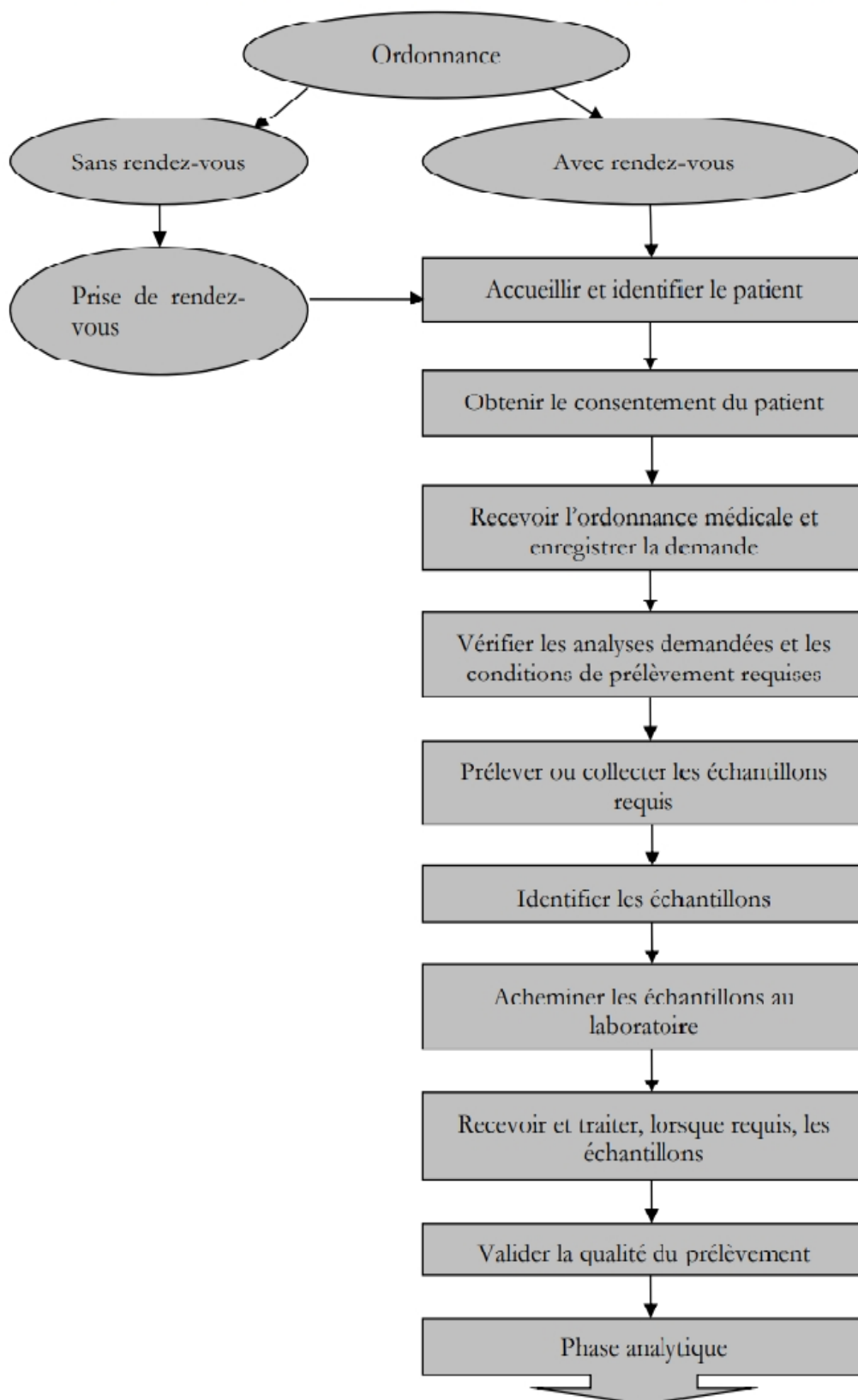
Conditions d'utilisation	-Résistance aux chocs : suivant les normes en vigueur -Température : +15°C à 35°C (59°F à 95° F) -Humidité : 20 à 80% -Altitude : <2000 m Pas de lumière incidente sur les tiroirs ouverts.												
Conditions de stockage	-Température : -20°C à +60°C -Humidité relative : 20 à 80%												
Conditions de transport	-Température : -20°C à +60°C (-4°F à +140°F) -Humidité relative : 20 à 80%												
performance	Répétabilité intra-essai avec des produits Diagnostica Stago : <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;"></td> <td style="text-align: center;">Plasmas normaux</td> <td style="text-align: right;">plasmas pathologiques</td> </tr> <tr> <td>TP (sec)</td> <td style="text-align: center;"><1.5%</td> <td style="text-align: right;"><2%</td> </tr> <tr> <td>TCA (sec)</td> <td style="text-align: center;"><1.5%</td> <td style="text-align: right;"><2%</td> </tr> <tr> <td>Fibrinogène (sec)</td> <td style="text-align: center;"><4%</td> <td style="text-align: right;"><5%</td> </tr> </table>		Plasmas normaux	plasmas pathologiques	TP (sec)	<1.5%	<2%	TCA (sec)	<1.5%	<2%	Fibrinogène (sec)	<4%	<5%
	Plasmas normaux	plasmas pathologiques											
TP (sec)	<1.5%	<2%											
TCA (sec)	<1.5%	<2%											
Fibrinogène (sec)	<4%	<5%											
Contamination inter - échantillons	Moins de 0.05%												
Environnement	Niveau sonore : 70 Dba au maximum Chaleur dégagée : 1400 W électrique au maximum												
Alimentation électrique	-Tension et tolérance : 230V (± 15%) ,210V (± 15%),115V(± 15%),95V(± 15%) -Fréquence et tolérance : 50/60Hz (47 à 65Hz) -Puissance : 1400VA maximum -Nombre et type de prise de courant : 1 prise 16A -Protection fusibles : oui -Nécessité onduleur pour microcoupure : non -Résultats de coupure franche : tests en cours perdus, possibilité d'altération du disque dur												
Classification	-Type de protection contre les chocs électriques : appareil de classe I. -Degré de protection contre les chocs électrique : appareil de type B -Degré de protection contre la pénétration nuisible d'eau : appareil ordinaire (appareil sous enveloppe sans protection contre de la pénétration d'eau) -Méthode de désinfection recommandée : (voir procédure de décontamination). -Degré de sécurité d'emploi : appareil non adapté à une utilisation en présence d'un mélange anesthésique inflammable avec de l'air, de l'oxygène ou du protoxyde d'azote. -mode de fonctionnement : Service continu												
Informatique	Disque dur : 40M octets minimum ; 8 microprocesseurs plus une unité centrale PC												
Lecteur de code à barres	Marque : Douchette WELCH ALLYN, modèle Scanteam 3700 Series. Principe de fonctionnement : lecture par CCD, éclairage par LED.												
Dimensions	Hauteur sans écran : 640 mm (25.2po) Largeur: 975mm (38.4po) Profondeur : 720mm en haut (28.3po)												

	657mm à la base (25.9po)
Ecran	Type : VGA couleur.
Espace à réserver	Hauteur : 996mm (39.2po) Largeur : 2530mm (99.6po) Profondeur : 1100mm (43.3po)
Clavier	Type : Cherry (AZERTY ou QWERTY) selon les langues (102 touches). Dimensions : 210 x 490mm (8.3 x 19.3 po) Homologué : GS, CSA, UL.
Poids	140 Kg

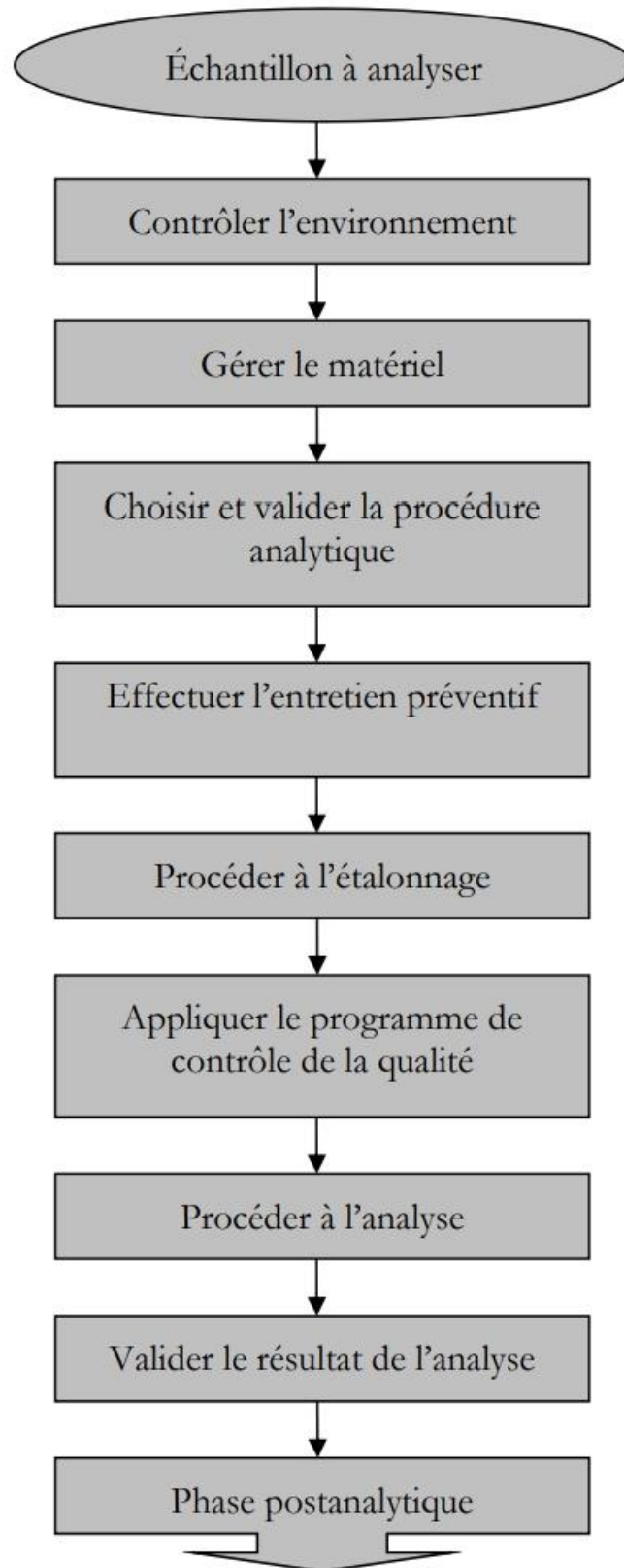
Annexe 2 : Exemple d'un formulaire d'enregistrement pour incident, accident ou non-conformité

CHU Tlemcen	N° DE L'ENREGISTREMENT : QC-ENR-001	VERSION : 1
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR :		APPROUVÉ PAR :
Enregistrement Incident, accident ou non-conformité		N°
Section 1		
Date de l'événement :	L'endroit :	L'heure :
Date de la découverte :	L'endroit :	Nom du déclarant :
Décrire l'incident, l'accident ou la non-conformité		
Rempli par :		
Décrire la (ou les) action(s) immédiate(s) de correction		
Rempli par :		
Département ou service responsable		
<input type="checkbox"/> Entrée de données <input type="checkbox"/> Prélèvement <input type="checkbox"/> Plainte de client <input type="checkbox"/> Plainte du personnel	<input type="checkbox"/> Achats, magasin <input type="checkbox"/> Informatique <input type="checkbox"/> Autres centres	<input type="checkbox"/> Contrôle de qualité <input type="checkbox"/> Équipement, matériel <input type="checkbox"/> Rapport d'analyse
		<input type="checkbox"/> Administration <input type="checkbox"/> Locaux, environnement <input type="checkbox"/> Transport <input type="checkbox"/> Autres
Section 2 Analyse de l'incident, de l'accident ou de la non-conformité par le superviseur		
Révisé par :		Date :
Suivi nécessaire : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non Si oui = Acheminer à :		
Section 3		
Conséquences de l'incident, de l'accident ou de la non-conformité		
<input type="checkbox"/> Document corrigé <input type="checkbox"/> Prélèvement - repris	<input type="checkbox"/> Équipement réparé <input type="checkbox"/> Rapport corrigé	<input type="checkbox"/> Autres (spécifiez)
Causes de l'incident, de l'accident ou de la non-conformité		
<input type="checkbox"/> Procédure déficiente <input type="checkbox"/> Prélèvement — inadéquat	<input type="checkbox"/> Formation <input type="checkbox"/> Réactif	<input type="checkbox"/> Locaux inadéquats <input type="checkbox"/> Accident
		<input type="checkbox"/> Autres (précisez)
Action corrective : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
Si oui = décrire et faire référence aux documents connexes		
Révisé par :		Date :
Action préventive : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
Si oui = décrire et faire référence aux documents connexes		
Révisé par :		Date :

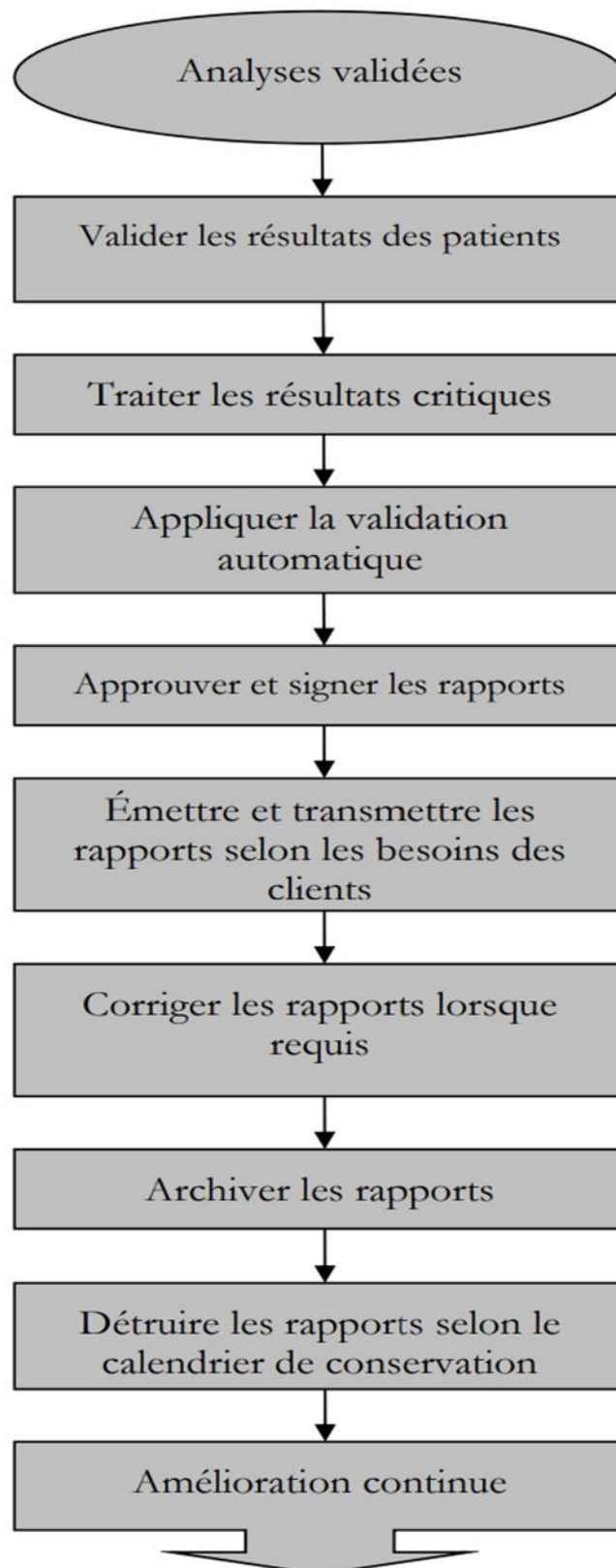
Annexe 3 : Exemple de cartographie du processus pré analytique



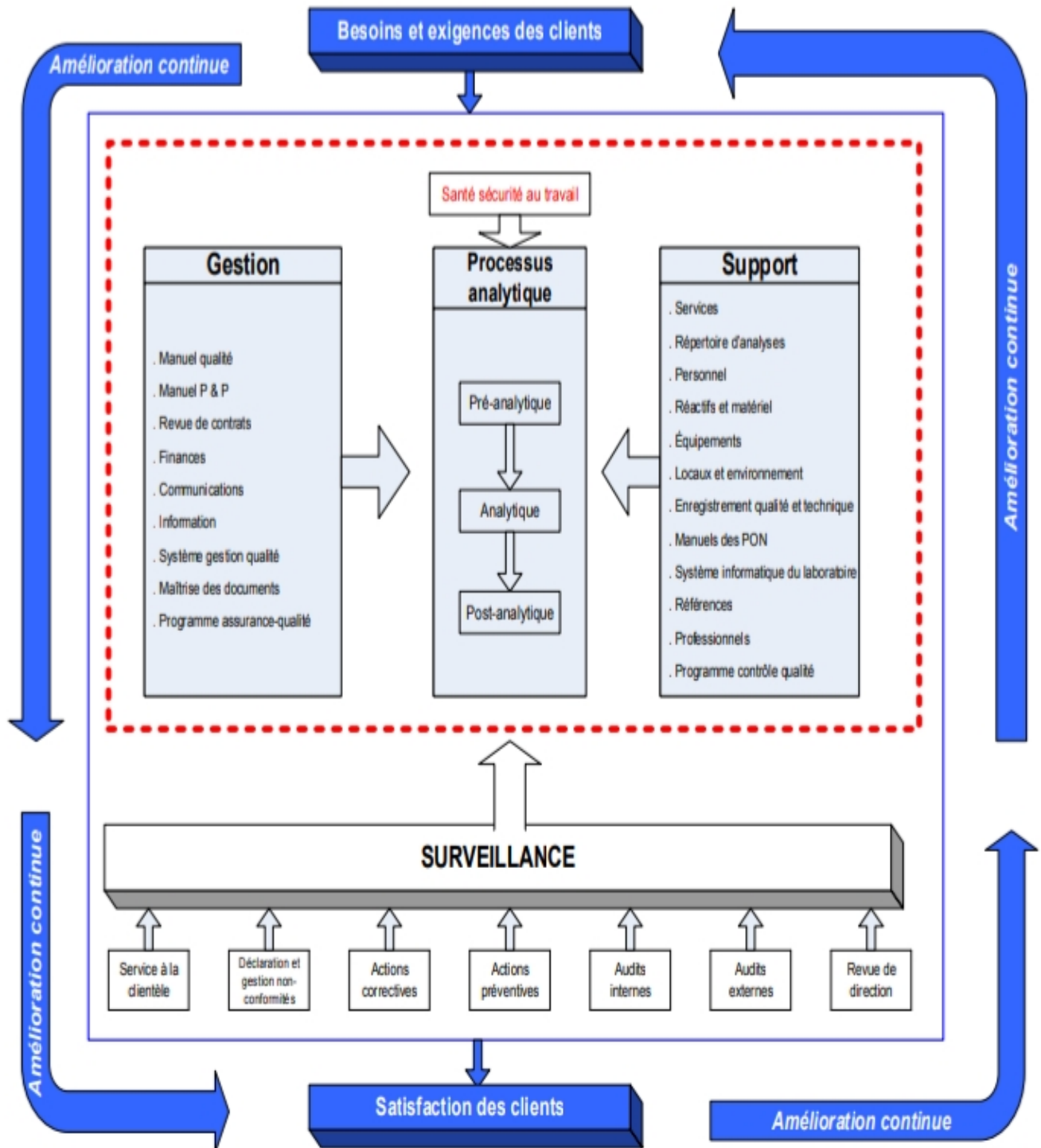
Annexe 4 : Exemple de cartographie du processus analytique



Annexe 5 : Exemple de cartographie du processus post-analytique



Annexe 6 : exemple de système de gestion de la qualité



Résumé :

L'automatisation trouve une application particulièrement justifiée dans le domaine d'hémostase dans lequel toute défaillance humaine peut avoir des conséquences dramatiques pour les patients. Le présent document est une évaluation des performances de l'automate STA Compact® du laboratoire d'hémobiochimie/unité hémostase du CHU Tlemcen en vue d'une mise en place d'un système de contrôle qualité afin d'assurer, dans les meilleurs délais, un résultat d'analyse de qualité. Outre la compétence du biologiste et la validation des techniques, l'utilisation et la gestion appropriée des contrôles de qualité (CIQ) permettent d'assurer la qualité de la prestation d'analyse et la fiabilité du résultat.

Le but de ce travail est d'exposer les démarches argumentées et documentées en vue d'une accréditation ISO 9001 par le biais de procédures opératoires permettant d'assurer un contrôle qualité à la phase analytique en hémostase afin d'apporter une confirmation et une preuve permanente de la validité des résultats rendus à un coût raisonnable.

Mots clés : automatisation-hémostase- contrôle qualité-accréditation- ISO 9001- procédures opératoires

Abstract:

Automation has a particularly justified application in the field of haemostasis, where any human failure can have dramatic consequences for patients. The present document is an evaluation of the performance of the STA Compact® automaton of the haemobiology laboratory/haemostasis unit of the Tlemcen University Hospital with a view to setting up a quality control system in order to ensure, as quickly as possible, a quality analysis result. In addition to the competence of the biologist and the validation of the techniques, the use and appropriate management of quality controls (QC) make it possible to ensure the quality of the analysis service and the reliability of the result.

The aim of this work is to set out the documented and argued steps towards ISO 9001 accreditation by means of operating procedures to ensure quality control at the analytical phase in haemostasis in order to provide confirmation and permanent proof of the validity of the results delivered at a reasonable cost.

Keywords: automation-hemostasis-quality control-accréditation- ISO 9001- operating procedures