

SUJETS ABORDÉS

- ✓ Résultats inattendus sur un échantillon à tester individuel
- ✓ Résultats de CIQ hors limites
- ✓ Comment mener des investigations sur les résultats hors consensus dans les enquêtes d'évaluation externe de la qualité

Résultats inattendus sur un échantillon à tester individuel : dans tous les laboratoires surviennent des problèmes liés aux tests de coagulation, quels que soient les méthodes, les réactifs et les équipements utilisés. Il est possible que des résultats soient inexacts à la suite de problèmes liés à un échantillon en particulier. Cela peut être la conséquence d'un prélèvement ou d'une conservation inadéquat de l'échantillon avant l'analyse. Ces points sont abordés dans la partie 3 de ce manuel. Des recommandations sur la vérification des variables pré-analytiques sont également disponibles, spécifiquement liées à l'hémophilie et aux troubles connexes (Kitchen *et al.*, 2020), de même que sur le prélèvement des échantillons (Kitchen *et al.*, 2021a) et leur traitement (Kitchen *et al.*, 2021b) quant à tous les aspects des tests de laboratoire d'analyse de la coagulation, et ne sont pas détaillées plus avant ici. Des problèmes spécifiques peuvent survenir lors de l'analyse d'un échantillon, en lien avec la manipulation du réactif ou de l'échantillon, et ce malgré une analyse réussie des échantillons adjacents juste avant ou juste après l'échantillon dont le résultat est sujet à caution. De nombreux analyseurs font appel à une sonde pour aspirer automatiquement les échantillons et ces sondes s'abaissent parfois jusqu'à détection d'un liquide, puis aspirent un volume approprié pour effectuer le test. La présence de bulles à la surface de l'échantillon peut entraîner l'échantillonnage d'un volume insuffisant et donner des résultats faussement anormaux (allongement ou activité faible) dans des dosages calibrés. Un pipetage erroné des réactifs peut également conduire à des résultats inexacts, par exemple, si une sonde n'est plus alignée. Cela affecterait probablement les résultats de plusieurs échantillons. Il peut être utile d'analyser le même échantillon à 10 reprises pour évaluer la fidélité de mesure, susceptible d'être compromise en cas de désalignement des sondes. Les zones de réactifs sur les analyseurs sont généralement maintenues à une température constante, souvent refroidies en dessous de la température ambiante, mais avec des mélanges réactionnels chauffés à 37 °C pendant l'analyse. La plupart des résultats des tests de coagulation dépendent fortement de la température. Par conséquent, toute dérive en dehors d'une plage acceptable étroite quant au refroidissement des réagents ou au préchauffage particulier des mélanges réactionnels peut entraîner des résultats inexacts. Les faux résultats normaux sont beaucoup plus rares que les faux résultats anormaux et sont souvent constatés par rapport à un faux raccourcissement du TCA à la suite de problèmes pré-analytiques (hémolyse *in vitro* entre autres). Les coagulomètres entièrement automatisés font souvent appel à des solutions de lavage/nettoyage qui rincent les sondes entre les opérations de pipetage successives. Ce processus est supposé éviter le transfert d'échantillon ou de réactif d'un test au mélange réactionnel suivant, mais il arrive que de tels événements se produisent. Par exemple, un transfert partiel d'échantillon dans le mélange suivant s'est déjà produit en relation avec des composants pathologiques (anticorps antiphospholipides ou paraprotéines) ou des médicaments (dont l'émicizumab). Cela peut provoquer un faux raccourcissement du TCA. Des composés réactifs tels que le neutralisant de l'héparine ont été transférés dans les échantillons suivants, ce qui pourrait entraîner une perte d'activité de l'héparine si elle est présente dans l'échantillon. Les effets de transfert de réactifs ont été largement éradiqués par l'utilisation combinée de réactifs et d'instruments du même fabricant. Il pourrait plus probablement y avoir un problème si le réactif d'un fabricant est utilisé sur l'analyseur d'un autre fabricant et si l'utilisation de cette combinaison n'a pas été validée. Il

est essentiel que les laboratoires respectent les instructions quant aux intervalles de l'entretien préventif afin de minimiser les risques de générer des résultats qui ne peuvent pas être communiqués en toute sécurité pour les décisions de prise en charge des patients. Il est important que les laboratoires reçoivent suffisamment d'informations cliniques/sur les patients pour que le personnel de laboratoire expérimenté puisse dans la mesure du possible identifier les résultats inattendus ou inhabituels. Tout résultat inattendu doit faire l'objet d'une nouvelle analyse afin d'exclure la possibilité d'une erreur analytique. Lorsque l'erreur d'analyse est exclue en tant qu'explication d'un résultat inattendu qui ne semble pas correspondre au tableau clinique du patient, un nouvel échantillon doit être obtenu pour confirmer le résultat.

Résultats de CIQ hors limites : comme décrit dans la partie 2 de ce manuel, il est utile de consigner sous forme de tableau les résultats de CIQ concernant chaque matériau de CIQ. De nombreux analyseurs ont recours à l'approche de Levey-Jennings comme le montre la figure 23. Il existe des systèmes de CIQ destinés à aider les laboratoires à résoudre les problèmes, tels que les règles de Westgard (www.westgard.com) qui s'appuient sur cinq règles de contrôle différentes. Ces systèmes déclenchent peu de fausses alarmes et contribuent à assurer la détection d'erreurs. En revanche, les modèles de test de CIQ requis pour une utilisation efficace de ces systèmes ne sont pas bien adaptés à une utilisation régulière dans la plupart des laboratoires d'analyse de la coagulation. Les conséquences cliniques potentielles d'une erreur biologique sur la prise en charge des patients atteints d'hémophilie et de troubles apparentés signifient qu'une approche prudente vis-à-vis des résultats de CIQ hors limites est plus sûre pour les patients. Pour cette raison, tout CIQ hors limites doit faire l'objet d'une évaluation et la communication des résultats aux patients doit être suspendue. Il est utile d'identifier le cas d'un CIQ hors limites pour éviter de futurs retards dans le traitement des échantillons. Si une nouvelle analyse sur le même flacon de matériau de CQ génère un résultat clairement dans la plage, l'analyseur peut avoir rencontré un problème. Pour évaluer cela, procéder à 10 analyses répétées sur le même échantillon. Un problème d'analyseur est à envisager s'il y a une grande variabilité entre les répliquats. Le plus souvent dans les tests de coagulation de routine, un test répété sur le même matériau est à nouveau hors limites, et le remplacement du matériau par un nouveau flacon ou aliquote génère un résultat dans la plage, confirmant que le matériau de CIQ était lui-même la source du problème. Dans ce cas, les résultats peuvent être communiqués en toute sécurité. Si, en revanche, l'analyse d'un nouveau flacon/aliquote de CIQ génère également un résultat hors limites similaire, il y a un problème avec le système, ce qui aura des répercussions sur les résultats. Dans ce cas, les réactifs utilisés doivent être remplacés successivement par un nouveau CIQ après chaque changement de réactif. Dès lors qu'un réactif de remplacement conduit à un résultat de CIQ dans la plage, le réactif était la source du problème. Cela doit être noté dans les dossiers de CIQ afin que des schémas puissent être identifiés et qu'une nouvelle évaluation de la stabilité et de l'utilisation des réactifs puisse être lancée. Si le remplacement de tous les réactifs concernés reste associé à des résultats hors limites, cet analyseur doit être retiré de l'utilisation en attendant son examen par le fabricant. Le laboratoire doit passer à un équipement de secours, idéalement un autre coagulomètre donnant les mêmes résultats ou, pour les tests avec point final de la coagulation, une technique manuelle (voir la partie 4 de ce manuel). Tout résultat obtenu depuis le précédent résultat de CIQ dans la plage doit être examiné, avec réanalyse, pour établir où le problème peut avoir débuté dans la séquence de test. Si les résultats des échantillons analysés après la communication du précédent CIQ dans la plage, le laboratoire doit retester et rappeler tous les résultats qui ne sont pas conformes, et doit également passer ses protocoles de CIQ en revue, car il ne devrait pas être nécessaire de rappeler les résultats des patients. La figure 23 reprend le diagramme de Levey-Jennings des résultats de CIQ du TCA. Les lignes rouges en pointillés indiquent les limites supérieure et inférieure de la plage acceptable pour ce matériau. La première série de résultats se situe dans la plage, à l'exception d'une sur la limite inférieure. La deuxième partie montre une hausse progressive des temps de coagulation. Cette tendance se produit si un composant du test change progressivement au fil du temps. Il est peu probable que cela se produise en ce qui concerne le matériau de CIQ du commerce lyophilisé et conservé conformément aux instructions du fabricant, mais cela peut se produire si le matériau a été préparé en local, comme décrit dans la partie 2. Les autres causes pourraient être un changement progressif de l'un des réactifs s'il n'est pas conservé de manière appropriée ou une dégradation progressive de certains aspects du système de détection de point final utilisé (p. ex.

dégradation de la source lumineuse d'un système photo-optique). Ce type de problème est rare avec les coagulomètres automatisés modernes.

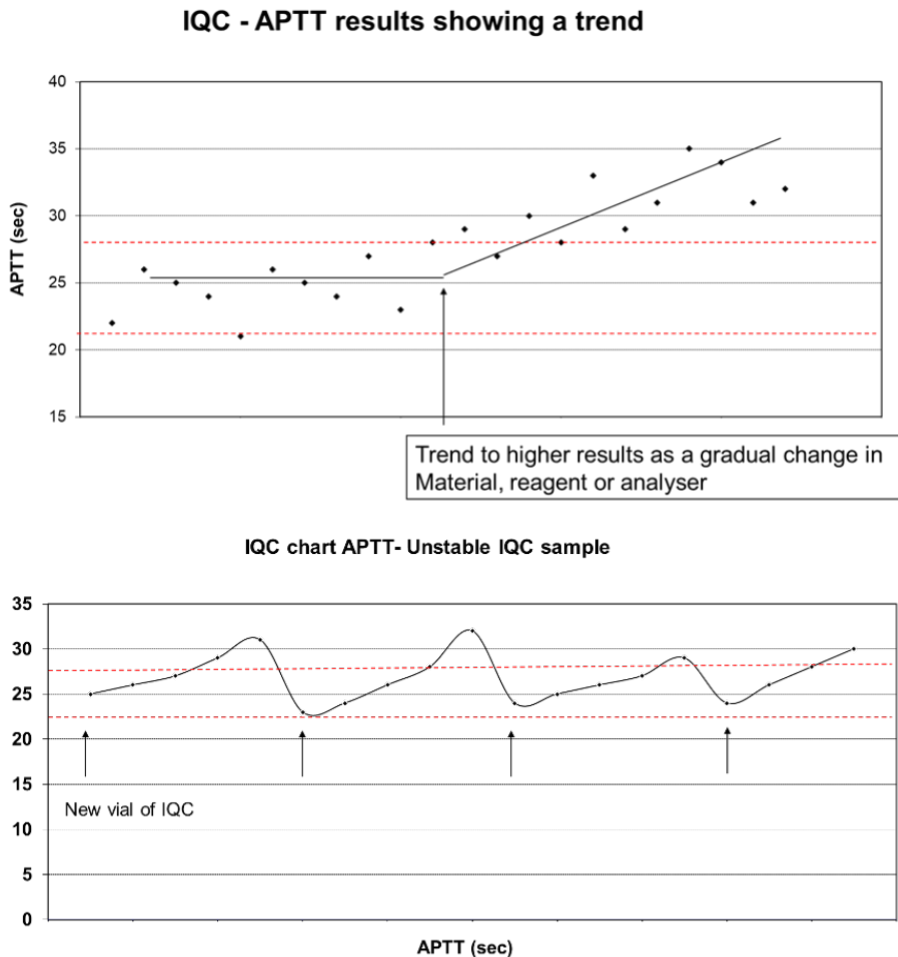


Figure 23. Diagramme de Levey-Jennings des résultats de TCA sur un matériau de CIQ instable. Les lignes rouges en pointillés indiquent les limites supérieure et inférieure de la plage acceptable pour ce matériau. Chaque flèche noire pleine indique le moment où un nouveau flacon de CIQ a été chargé sur l'analyseur. Pour chaque nouveau flacon, il y a une hausse progressive du TCA. Cet exemple est dû à un matériau de CIQ congelé préparé en local, qui était instable après la décongélation. Cela peut en principe également se produire après la reconstitution d'échantillons lyophilisés s'ils ne sont pas correctement préparés ou si l'eau utilisée pour la reconstitution est contaminée.

Comment mener des investigations sur les résultats hors consensus dans les enquêtes d'évaluation externe de la qualité : la participation à des essais d'aptitude ou à l'évaluation externe de la qualité (EEQ) est une exigence essentielle pour un laboratoire afin de s'assurer de l'exactitude des résultats qu'il fournit. Les organismes d'accréditation qui s'appuient sur les normes ISO (ISO 15189, 2022 par exemple) l'exigent pour tous les tests où l'EEQ est disponible. Il existe un programme international d'évaluation externe de la qualité (IEQAS) axé sur l'hémophilie et les troubles apparentés supervisé par la FMH (voir la partie 2 de ce manuel). Les résultats obtenus dans les exercices d'EEQ peuvent servir à identifier des problèmes importants liés à la fidélité et à l'exactitude des tests de coagulation, à condition que le matériau du programme d'EEQ soit interchangeable avec les échantillons de patients (c'est-à-dire se comporte de la même manière dans une méthode particulière que les échantillons de patients). Une résolution de problèmes efficace est importante en matière de résultats d'EEQ qui ne sont pas dans la plage qui fait consensus dans d'autres laboratoires, et ce de manière à assurer une prise en charge sûre des patients.

Lors de l'examen de résultats d'EEQ aberrants, un certain nombre de points doivent être pris en compte. Un résultat local en dehors de la cible dérivée des résultats d'autres centres est moins préoccupant si la différence n'est pas suffisamment importante pour avoir des conséquences sur la prise en charge des patients. Une différence cliniquement significative est beaucoup plus problématique qu'une différence statistique qui ne devrait pas modifier le diagnostic ou la prise en charge d'un patient.

Il conviendrait d'étudier plus avant un résultat unique nettement différent de la moyenne ou de la médiane des résultats d'autres centres, dans la mesure où la prise en charge des patients serait affectée. Cela pourrait inclure ce qui suit :

- i) Vérifier que l'échantillon a été correctement stocké à réception et reconstitué de manière correcte et que le test a été effectué conformément à la procédure écrite pour cette méthode. Si le problème est considéré comme limité à l'analyse de l'échantillon d'EEQ, les résultats des patients ne devraient pas être affectés.
- ii) Vérifier que le CIQ était satisfaisant au moment où le test d'EEQ a été effectué. Si ce n'est pas le cas, il y a probablement eu un problème qui pourrait affecter les résultats des patients, qu'il faut donc examiner.
- iii) Prendre en compte les particularités de l'échantillon à tester. L'obtention de résultats anormaux pourrait être la conséquence d'une anomalie spécifique de l'échantillon d'EEQ.

Lorsqu'un laboratoire constate des résultats aberrants dans un certain nombre d'enquêtes consécutives, une investigation est nécessaire et doit tenir compte de la relation entre les résultats en local et la moyenne ou la médiane des résultats d'autres centres utilisant une méthodologie similaire. En plus des investigations après un seul résultat aberrant mentionné ci-dessus, il faut tenir compte des points suivants :

- i) L'impact clinique des résultats doit être évalué. Il est possible que, pour un dosage dont la fidélité est très bonne, un laboratoire puisse être constamment hors consensus, mais enregistre néanmoins des résultats relativement proches de la cible, sans conséquences cliniques. Il est également possible que si une plage de référence déterminée localement est utilisée, tout biais dans les résultats des patients est compensé par une plage de référence appropriée.
- ii) Les résultats constamment élevés ou constamment faibles par rapport au résultat moyen ou médian d'autres centres sont souvent liés à l'étalonnage. En règle générale, les laboratoires présentant de tels problèmes ont une courbe d'étalonnage établie dans le passé qui n'est pas appropriée pour les tests actuels, soit en raison d'un changement de numéro de lot d'un composant, soit parce que la variabilité quotidienne des résultats nécessite un nouvel étalonnage parallèlement à l'analyse des échantillons. Le réétalonnage résout généralement ce problème dans les centres qui s'appuient sur une courbe d'étalonnage obsolète. La possibilité qu'une puissance inappropriée ait été attribuée à l'étalon, bien que rare, doit être envisagée. Lorsqu'est étudiée la possibilité d'un problème lié à l'étalonnage, il peut être utile d'analyser un échantillon avec une valeur attribuée de manière indépendante test pour vérifier dans quelle mesure les résultats sont surestimés ou sous-estimés. Ce matériau peut également servir à effectuer un nouvel étalonnage. Le programme IEQAS de la FMH est habilité à fournir un flacon de l'étalon de plasma du comité scientifique et de normalisation de l'ISTH pour ce type d'investigation. Celui-ci a des valeurs attribuées pour un certain nombre de paramètres de coagulation différents. L'effet d'un nouvel étalonnage peut être évalué en analysant un petit groupe d'échantillons avant et après le nouvel étalonnage. L'étalon de plasma du comité scientifique et de normalisation n'est pas prévu pour une utilisation de routine dans l'étalonnage des méthodes de dosage locales.
- iii) Les résultats supérieurs à la moyenne ou à la médiane dans certaines enquêtes, et inférieurs à la moyenne ou à la médiane dans d'autres, suggèrent que la mesure n'est pas fidèle. Cela peut se produire en raison d'instruments mal entretenus, d'une manipulation inadéquate des réactifs (reconstitution, stockage, etc.), d'une instabilité des réactifs ou de problèmes liés à la formation ou aux compétences du personnel.

Dans la mesure du possible, l'analyse répétée d'échantillons après l'investigation et la mise en œuvre des améliorations requises est utile pour confirmer ou infirmer le succès des interventions. Il convient de procéder à l'examen rétrospectif des résultats des enquêtes d'EEQ antérieures, avant l'apparition de résultats aberrants, ainsi que des dossiers de laboratoire où les changements de lot sont consignés, des étalonnages, de l'entretien des instruments et des changements de méthodologie, afin d'évaluer si l'évolution des performances correspond à un éventuel changement apporté en interne. L'analyse des données d'EEQ et les rapports de performances sont par nature rétrospectifs, puisque l'analyse et l'établissement de rapports ont normalement lieu un certain temps après que les tests ont été effectués au laboratoire. Par conséquent, tout problème identifié peut avoir affecté les résultats des patients sur la même période. Le laboratoire doit examiner avec les cliniciens les anciens résultats de patients pour tous les tests où l'EEQ indique qu'une inexactitude cliniquement pertinente aurait pu être présente. Cet examen doit déterminer si le diagnostic ou la prise en charge aurait pu être affecté. Un nouveau test peut être nécessaire si le schéma des résultats aberrants a pu avoir un impact négatif sur les patients.

Références

Kitchen S, Adcock DM, Dauer R, Kristoffersen AH, Lippi G, Mackie I, Marlar RA, Nair S. International Council for Standardisation in Haematology (ICSH) recommendations for collection of blood samples for coagulation testing. *Int J Lab Hematol* 2021; 43(4): 571-580.

Kitchen S, Adcock DM, Dauer R, Kristoffersen AH, Lippi G, Mackie I, Marlar RA, Nair S. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for processing of blood samples for coagulation testing. *Int J Lab Hematol* 2021; 43(6): 1272-1283.

Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, Kitchen S, Sutherland M, Pipe SW et al. WFH guidelines for the management of hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia* 2020; 26 Suppl 6: 1-158.