



BD, votre partenaire préanalytique

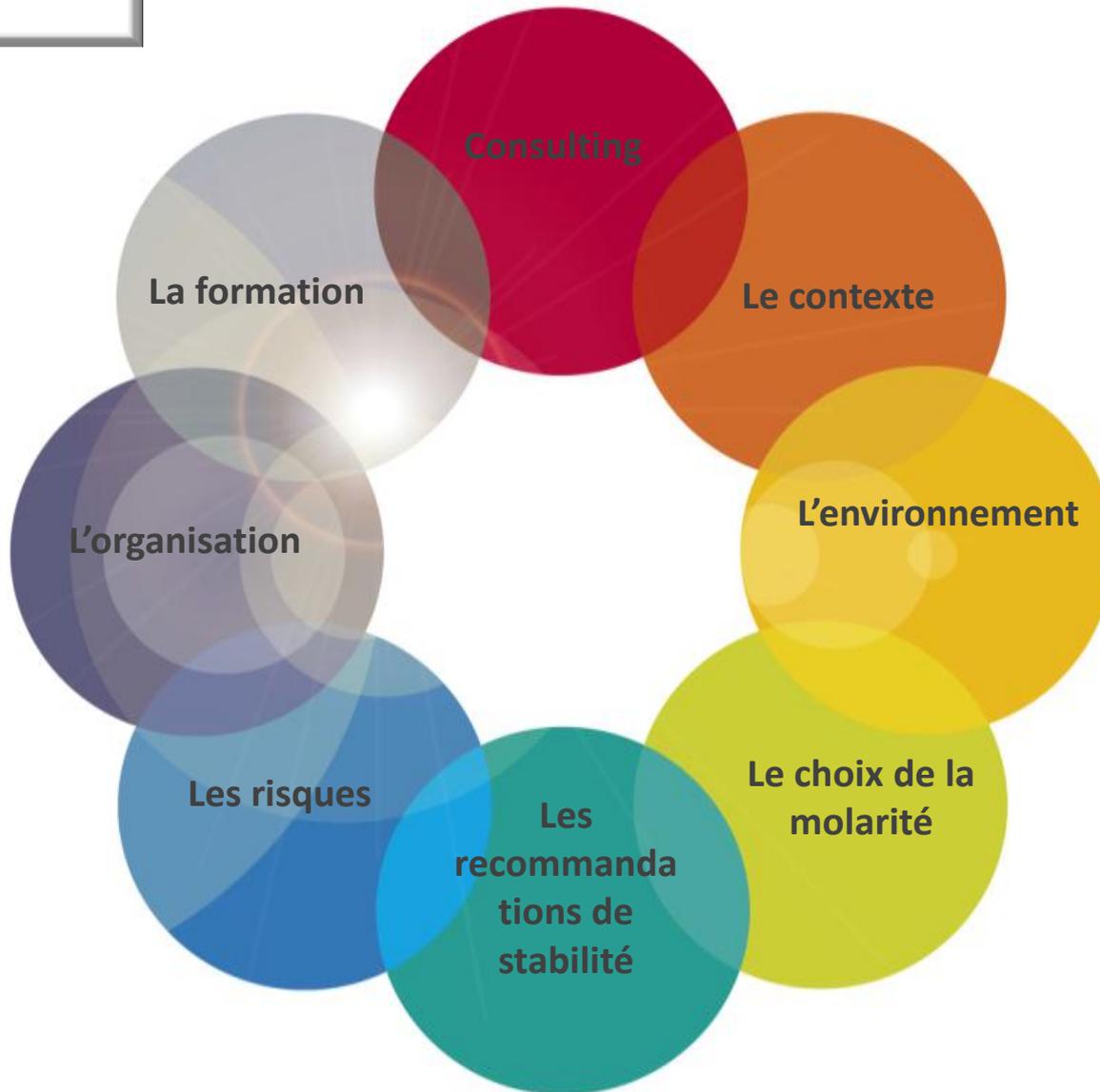


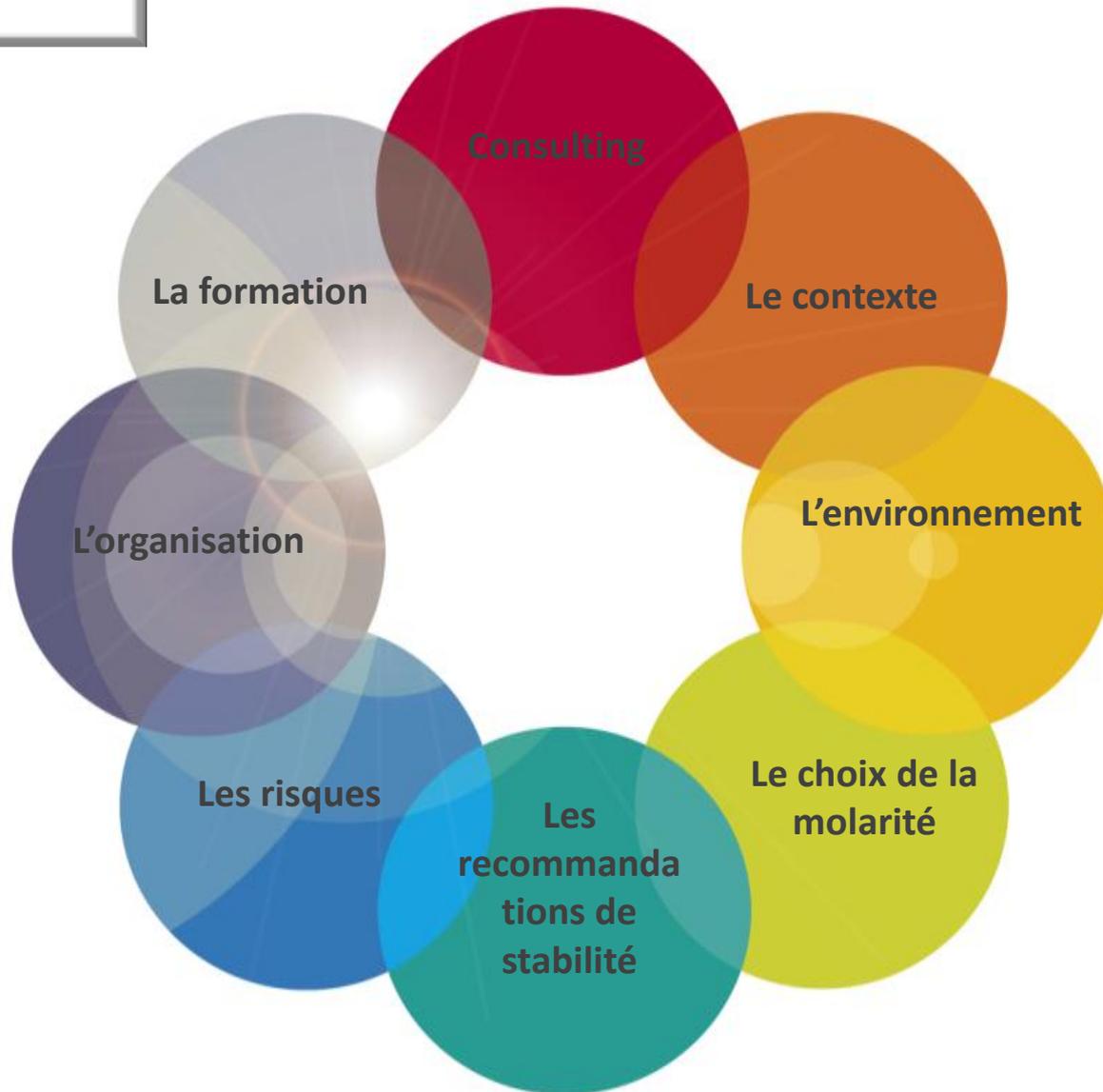
Quelles stabilités en Hémostasie?



Laurent DUBOS
Consultant
Preanalytique







Les réformes de la biologie ont conduit les laboratoires privés, mais aussi hospitaliers, à consolider leurs moyens .

Les délais de transports sont devenus des facteurs déterminants dans la phase pré-analytique

Face à cette mise en commun des moyens, des interrogations persistent.

Le contexte économique nécessite de faire des choix.



BD Laboratory
Consulting Services®

L'environnement



- Nous savons que certains facteurs de coagulation sont connus pour être labiles.
- L'expérience montre que dans l'assurance qualité des examens biologiques la maîtrise de la phase préanalytique est devenue déterminante.
- Certaines recommandations restent particulièrement difficiles à respecter et posent des problèmes logistiques.
- C'est pourquoi il est légitime de s'interroger sur :

Le choix de la molarité ?

Le choix des conditions de traitement ?

Les délais de transports acceptables ?

Comment peut on s'assurer de leurs respects ?



BD Laboratory
Consulting Services®

**Le choix de la
molarité**



- Que nous dit le GEHT ?

Anticoagulant

L'anticoagulant de référence est le citrate de sodium.

La concentration recommandée pour la coagulation est 0,109 mole (3,2%).

Le citrate doit être tamponné pour maintenir le pH entre 5,1 et 5,3 pour garantir un pH du plasma entre 7,3 et 7,45.

Le rapport anticoagulant/sang est de 1 volume d'anticoagulant pour 9 volumes de sang.



Recommandations pour les Prélèvements destinés aux test d'hémostase : 2007
Le groupe de travail coordonné par [Catherine Boinot](#) et composé de B. Delahousse, C. Droulle, M.F. Hurtaud, B. Polack et A. Robert a mis à jour les données concernant les variables préanalytiques.

- CLSI H21-A5

5.3.1.3 Anticoagulant

The anticoagulant recommended for use in coagulation assays should be 105 to 109 mmol/L, 3.13% to 3.2% (commonly described as 3.2%) of the dihydrate form of trisodium citrate ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), buffered or nonbuffered.^o In addition, 129 mmol/L, 3.8% (commonly described as 3.8%) of the dihydrate form of trisodium citrate may also be used. Laboratories should standardize to one concentration of sodium citrate, as variation of normal ranges may occur between these two concentrations (3.2% vs 3.8%). APTT and PT results tend to vary between citrate concentrations, especially when results fall outside the reference interval. As 3.8% sodium citrate concentration binds more assay-added calcium than 3.2%, clotting times tend to be longer in 3.8% vs 3.2% sodium citrate.^{22,23}

- Laboratory hematology practice 2012

Anticoagulant type and concentration

Sodium citrate is the anticoagulant of choice for most hemostasis testing. Some tube manufacturers standardize the color of the evacuated tube stopper to the type of additive or lack thereof and in this instance, sodium citrate is the type of anticoagulant found in a light-blue stopper tube. The World Health Organization (WHO) and Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) recommend 105–109 mmol/L, 3.13–3.2% (commonly described as 3.2%), of the dihydrate form of trisodium citrate ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), buffered or nonbuffered, rather than 129 mmol/L, 3.8% (commonly described as 3.8%), although either is acceptable for hemostasis testing [7.11]. In order to reduce variability in coagulation test results, it is important to standardize to only one anticoagulant concentration within a laboratory system. This is because clotting times, such as the APTT and PT may vary between the two different concentrations of sodium citrate, particularly if the clotting time is prolonged (Table



**World Health
Organization**

WHO/BS/2011.2165

ENGLISH ONLY

EXPERT COMMITTEE ON BIOLOGICAL STANDARDIZATION
Geneva, 17 - 21 October 2011

6.3.1.3. Citrate Concentration

It is well known that citrate concentration can affect the PT, especially of high INR plasmas (73, 74). Furthermore, citrate concentration has a variable effect on the ISI, but the magnitude of the effect is not the same for all reagents and instruments (74-77). The recommended citrate concentration for the collection of blood (1 volume of citrate solution + 9 volumes of blood) for PT is 0.109 M (3.2%), although concentrations in the range 0.105 – 0.11M can be accepted (76), and the citrate concentration of certified plasmas should be as close as possible to that in fresh plasma collected in the above anticoagulant (69). Citrate concentrations of 0.129 M (3.8%) should not be used for PT tests.

- Mais pourquoi recommande t on la basse molarité ?



Une question clinique ? On répond !

Pourquoi la molarité basse (3.2%) est-elle recommandée ?

- La molarité basse est plus proche de la molarité du plasma.
- Un milieu isotonique évite les chocs osmotiques.
- Un milieu isotonique augmente la tolérance au sous-remplissage, impact moindre que sur un tube à molarité 3.8%.



BD Laboratory
Consulting Services®

**Les
recommandations
de stabilité: sang
total**



- Que nous dit le GEHT : Avant centrifugation

Délai entre le prélèvement et la réalisation des tests

Le délai est idéalement de 1 à 2 heures et ne doit pas dépasser 4 heures (6 heures à température ambiante est cependant acceptable pour le TQuick). Si ceci ne peut pas être respecté, la centrifugation des prélèvements doit être effectuée et le plasma décanté et congelé.

	Recommandé	Acceptable	Non conforme
Délai	< 2 h < 4 h si CTAD	< 4 h < 6 h pour TP	> 4 h > 6 h pour TP



Recommandations pour les Prélèvements destinés aux test d'hémostase : 2007
 Le groupe de travail coordonné par [Catherine Boinot](#) et composé de B. Delahousse, C. Droulle, M.F. Hurtaud, B. Polack et A. Robert a mis à jour les données concernant les variables préanalytiques.

- Quoi d'autre?

Paramètre	Stabilité Sang Total température de pièce		
	type d'échantillon	CLSI H25-A5	Autre référentiels
TP	<i>Sang total Citraté</i>	24 heures	12 heures (4)
			24 heures (6)
			48 heures (5)
TCA	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	6 heures (1)
			8 heures (2)
			24 heures (3)
TT	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	
DD	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	6 heures (9)
			24 heures (3,6)
Fibrinogène	<i>Sang total Citraté</i>	24 heures	24 heures (2)

Les recommandations

Paramètre	Stabilité Sang Total température de pièce		
	type d'échantillon	CLSI H25-A5	Autre référentiels
F II	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	au moins 24 heures (2)
			au moins 48 h (3)
F V	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	au moins 8 heures (3)
			au moins 24 (2)
F VII	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	Au moins 24 h (3, 4)
F X	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	au moins 24 h (2)
			au moins 48 h (3,4)
F VIII	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	Au moins 4 h (3)
F IX	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	Au moins 24 h (4)
			Au moins 48 h (3)
F XI	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	Au moins 48 h (3)
F XII	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	
F VW	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	Au moins 48 h (3)
Antithrombi	<i>Sang total Citraté</i>	4 heures	Au moins 48 h (3)

- Et l'Héparine ?

Paramètre	Stabilité Sang Total température de pièce		
	type d'échantillon	CLSI H25-A5	Autre référentiels
HNF	<i>Sang total Citraté</i>	1 heure	2 heures (GEHT)
			2 heures (7)
	<i>Sang total CTAD</i>	4 heures	6 h (7)
HBPM	<i>Sang total Citraté</i>	1 heure	Au moins 4-6 h (8)

HNF: Héparine non fractionnée

HBPM: Héparine de bas poids moléculaire



BD Laboratory
Consulting Services®

Les risques



Les risques

- **Le non respect des conditions préanalytiques est un risque d'écart.**
- **Le défaut de maîtrise de la phase préanalytique ou des recommandations, peut conduire à une incertitude du résultat et à une mauvais prise en charge du patient.**
- **La tenue des non conformités permet de mettre en place des actions correctives et préventives.**

Alors que faire?

Quelles décisions prendre?

Quel bénéfice en tirer?

De plus l'environnement de travail soulève déjà son quotidien d'interrogations:

Le risques liés aux informations patients: Traitement, Posologie, Heure d'injection, heure du prélèvement. .. sont indispensables.

La gestion des non-conformités est une source de coûts supplémentaires.

Cela semble simple!!! Et pourtant....

TEXTES GÉNÉRAUX

MINISTÈRE DES AFFAIRES SOCIALES ET DE LA SANTÉ

Décision du 11 février 2013 de l'Union nationale des caisses d'assurance maladie relative à la liste des actes et prestations pris en charge par l'assurance maladie

Le biologiste médical devra s'informer, préalablement à la réalisation des examens d'hémostase, de l'existence éventuelle d'un traitement susceptible de retentir sur les résultats de ces examens (anticoagulant à dose préventive ou curative ou antiplaquettaire). Ces renseignements thérapeutiques étant indispensables, la recherche pré-analytique d'une contamination par héparine ou de tout autre anticoagulant interférant est comprise dans la cotation des examens et ne doit pas être facturée en supplément.



BD Laboratory
Consulting Services®

L'organisation



L'organisation

Devons nous systématiser le tube CTAD?

Quelles en seraient les avantages mais aussi les contraintes ?

Logistiques? Economiques?

Comment intégrer cela à votre organisation?

Cela permet-il vraiment d'apporter une solution à vos besoins?

Anticoagulant spécialisé

Pe mélange CTAD (citrate, théophylline, adénosine, dipyridamole) est sensible aux photons. Il convient de le stocker à l'abri de la lumière et de s'assurer auprès du fabricant que la concentration nominale des composants sensibles à la lumière soit préservée après stérilisation.

Ce tube est utile pour le dosage des héparines non fractionnées et l'étude des glycoprotéines de membranes plaquettaires en cytométrie en flux.

Ce tube ne permet pas l'étude des fonctions plaquettaires.

- Le GEHT rappelle que le CTAD est un anticoagulant spécialisé utile chez les patient sous HNF uniquement .
- (Prolonge la stabilité de l'échantillon de 4 heures au lieu de 2 heures).



Recommandations pour les Prélèvements destinés aux test d'hémostase : 2007
Le groupe de travail coordonné par [Catherine Boinot](#) et composé de B. Delahousse, C. Droulle, M.F. Hurtaud, B. Polack et A. Robert a mis à jour les données concernant les variables préanalytiques.



BD Laboratory
Consulting Services®

La Formation



La formation

Souvent, le manque de maîtrise préanalytique peut être compensé par de la formation.. ou de la communication.

Former et sensibiliser le personnel interne ou externe aux bonnes pratiques.

Insister sur la pertinence des informations cliniques peut améliorer certaines situations.

Connaitre c'est comprendre, comprendre c'est accepter.

La formation

Trois études ont démontré que plus des deux tiers (68%) des erreurs d'analyses de biologie médicale sont dues à des erreurs pré-analytiques (3, 4, 5). Ces erreurs préanalytiques ont aussi des répercussions sur l'efficacité de l'établissement en générant des coûts directs et indirects importants pour l'établissement (6,7).

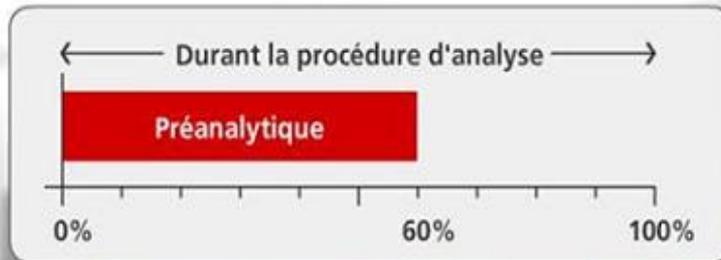
C'est pourquoi la formation aux bonnes pratiques pré-analytique est si importante.

Durant la phase d'analyse au laboratoire



Références:

- Bonini P, Plebani M, Cerotti F, Bubboli F. Errors in laboratory medicine. *Clin Chem* 2002;48:691-698.
- Plebani M & Carraro P. Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. *Clinical Chemistry* 1997, 43(8): 1348-1351.
- Carraro P & Plebani M. Errors in a Stat Laboratory: Types and Frequencies 10 years later. *Clinical Chemistry* 2007, 53(7): 1338-1342.



- Bonini P, Plebani M, Cerotti F, Bubboli F. Errors in laboratory medicine. *Clin Chem* 2002;48:691-698
- Plebani M & Carraro P. Mistakes in a Stat Laboratory: types and frequency. *Clinical Chemistry* 1997, 43(8): 1348-1351
- Carraro P & Plebani M. Errors in a Stat Laboratory: types and frequency 10 years later. *Clinical Chemistry* 2007, 53(7): 1338-1342
- The cost of poor sample quality : assessing the financial impact of sample rejection and recollection in healthcare institution – Chait G, Schlueter K, Baginska E, Scraba K, Flynn L, Church S
- Cost estimation and identification of preanalytical errors – Petersmann A, Schlueter K, Nauck M – University Medicine Greifswald (Germany) – BD Diagnostics – EFCC 2011



BD Laboratory
Consulting Services®

Le Consulting



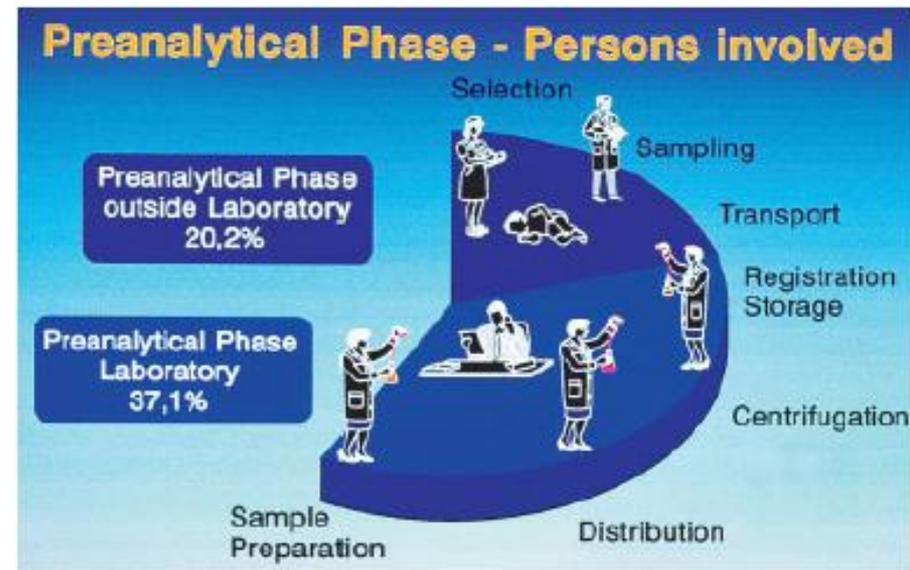
Il n'y a pas une réponse formelle à la problématique de stabilité.....

Par contre, des solutions existent.

Une approche détaillée sur l'organisation, les contraintes et les besoins où les objectifs est déterminante pour vous offrir la meilleure solution.

Le consulting: Nous sommes à votre disposition afin de vous apporter la solution qui vous correspond.

La multiplicité des interlocuteurs dans la phase préanalytique⁸



⁸ from the sample to the laboratory – Guder, Narayanan, Wisser, Zawta - 2009



BD Laboratory Consulting Services®

Merci de votre attention



Les référentiels

1. MOHAMMED A. AWAD, OMAR A. SHARAF ELDEEN, & HODA A. IBRAHIM
Stability of activated partial thromboplastin time (APTT) test under different storage conditions
Hematology Unit, Clinical Pathology Department, Al-Mansoura Faculty of Medicine, Al-Mansoura, Egypt
(Received 1 August 2005; in final form 25 September 2005)
3. Zurcher M, Sulzer I, Barizzi G, Lämmle B, Alberio L. Stability of coagulation assays performed in plasma from citrated whole blood transported at ambient temperature. *Thromb Haemost* 2008 ; 99 : 416-26.
4. Christensen TD, Jensen C, Larsen TB, Maegaard M, Christiansen K, Sorensen B. International normalized ratio (INR), coagulation factor activities and calibrated automated thrombine generation - influence of 24h storage at ambient temperature. *Int Jnl Lab Hem* 2010 ; 32 : 206-14.
5. Adcock D, Kressin D, Marlar RA. The effect of time and temperature variables on routine coagulation tests. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1998 ; 9 : 463-70.
6. Salvagno GL, Lippi G, Montagnana M, Franchini M, Poli G, Guidi GC. Influence of temperature and time before centrifugation of specimens for routine coagulation testing. *Int J Lab Hematol* 2009 ; 31 : 462-7.
7. Kitchen S, Preston FE. Standardization and control of heparin testing. In : Rowan RM, van Assendelft OW, Preston FE, eds. *Advanced laboratory methods in haematology*. New York : Hodder Arnold Publication, 2002 : 293-315.
8. Birri N, Baumgartner D, Tiziana C, Huynh A, Weller K, PAvicic M, et al. Stability of low molecular weight heparin anti-factor Xa activity in citrated whole blood and plasma. *Br J Haematol* 2011 ; 155 : 629-31.
9. Recommendations of the Working Group on Preanalytical Quality of the German United Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
10. Laetitia Mauge et Martine Alhenc-Gelas
Stabilité pré-analytique des paramètres
de la coagulation : revue des données disponibles
Ann Biol Clin 2014 ; 72 (2) : 141-5

lytes in
12 ; 45 :

BD Laboratory Consulting Services®

Merci de votre attention





Merci pour votre attention.





Helping all people
live healthy lives

Le K c'est chaud , aussi !

Le K c'est chaud aussi

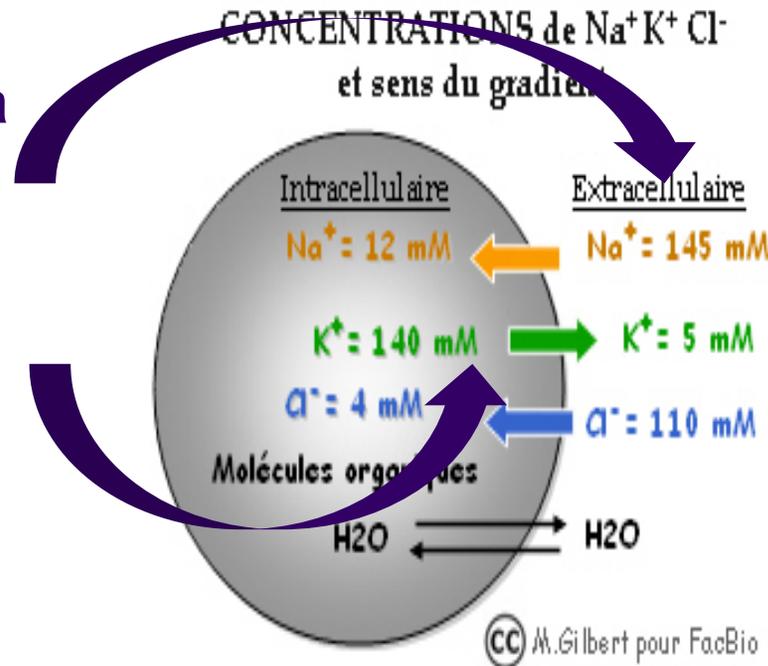
Rappel des constituants intra et extracellulaires :

■ 11 fois plus de Na

- Extra vs Intra

■ 50 fois plus de K

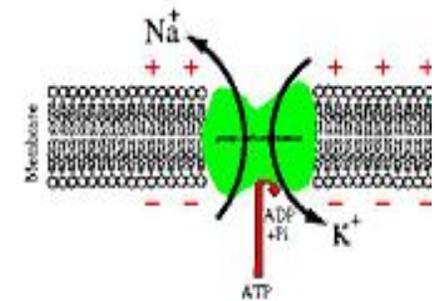
- Intra vs Extra



$[\text{Na}^+] = 144 \text{ mM}$

$[\text{K}^+] = 4 \text{ mM}$

Milieu extracellulaire



Cytoplasme

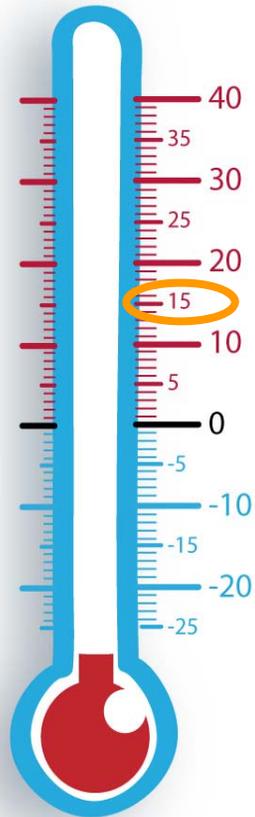
Pompe Na K

$[\text{K}^+] = 160 \text{ mM}$

$[\text{Na}^+] = 10 \text{ mM}$

Le K c'est chaud aussi

■ CLSI H18 A4



Temperatures lower than 15 °C can

falsely elevate potassium results after two hours.



Pseudo Hyperkaliémies

Le K c'est chaud aussi

- Quid de la chaleur , quel est le comportement du K ?
 - $>T^{\circ} 25^{\circ}\text{C}$

1

Le K baisse

2

~~Le K augmente comme au froid~~

3

~~Le K ne bouge pas~~

4

C'est le délai de d'acheminement qui compte

Le K c'est chaud aussi

■ High ambient temperature: a spurious cause of hypokalaemia

PW Masters, N Lawson, C B Marenah, L J Maile , UK , Nottingham 1996



Contexte :

Au cours l'été 1995 exceptionnellement chaud
(Température > 30°C à Nottingham : UK)

➤ Des pseudo hypokaliémies furent observées.



Le K c'est chaud aussi

■ High ambient temperature: a spurious cause of hypokalaemia

PW Masters, N Lawson, C B Marenah, L J Maile , UK , Nottingham 1996

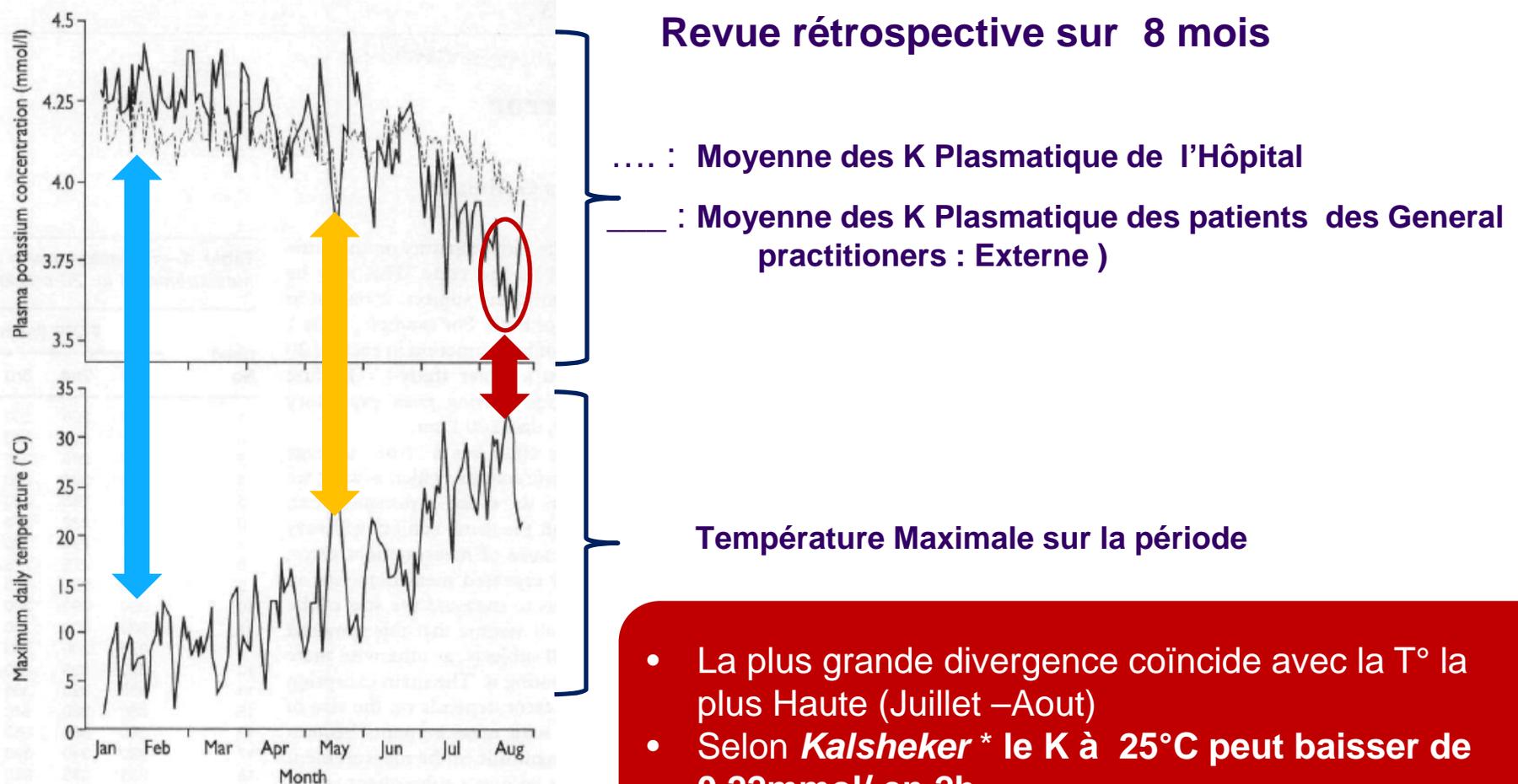
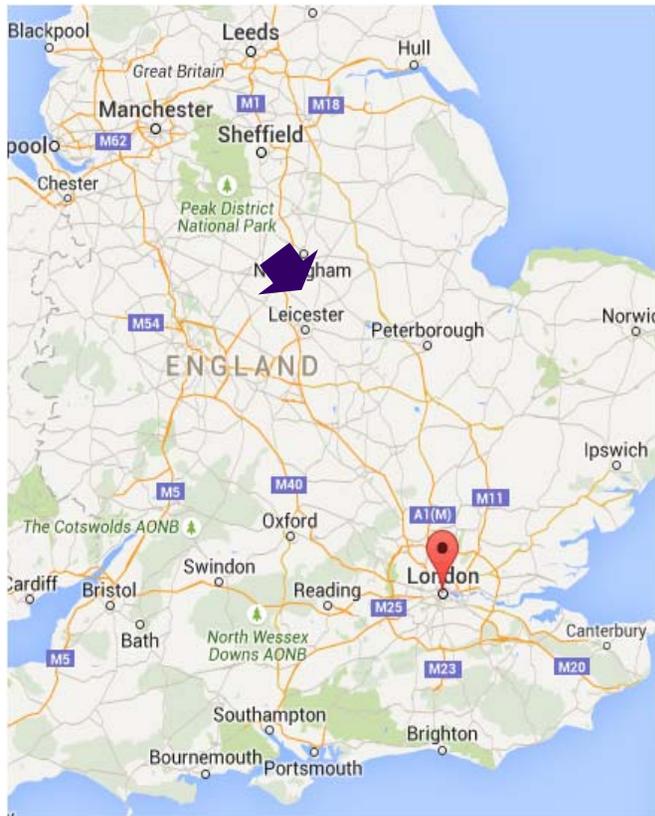


Fig 1—(Top) daily mean potassium concentrations from hospital patients (dotted line) and patients from general practice (solid line); (bottom) maximum daily temperature

Le K c'est chaud aussi

■ Commentary: Replication of results (Masters)

M D Buckley-Sharp, D A Gardner University College London Hospitals London BMJ 1996



Commentary: Replication of results

M D Buckley-Sharp, D A Gardner

The phenomenon of high ambient temperature causing a factitious hypokalaemia is not described in the usual textbooks and seems to be largely unknown. If it is so easily demonstrated, even in a temperate climate, then it should be equally easily repeatable.

- Phénomène :
 - Pas décrit dans les « manuels »
 - En grande partie inconnu
- Si c'est facile à démontrer => facile à reproduire

Le K c'est chaud aussi

■ Commentary: Replication of results

M D Buckley-Sharp, D A Gardner University College London Hospitals London BMJ 1996

Revue rétrospective sur 9 mois

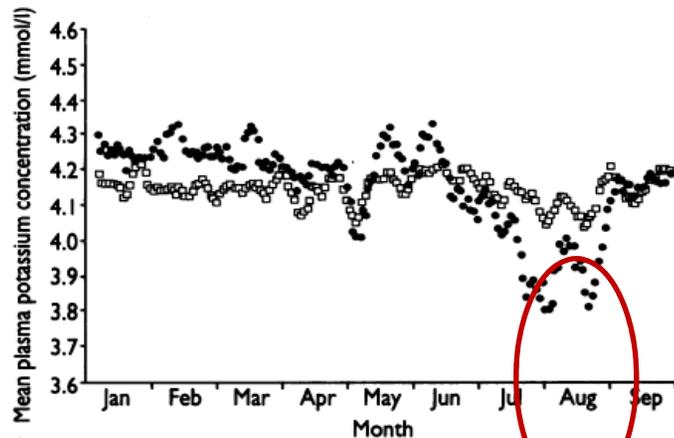
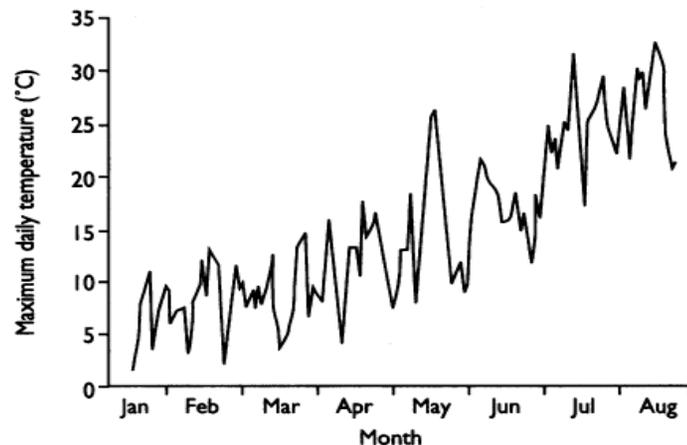


Fig 1—Daily mean potassium results for GP (□) and other sources (●) samples, omitting Saturdays, Sundays, and holidays, shown as five day rolling averages, 1 January to 30 September 1995

..... : Moyenne des K Plasmatique Hopital

_____ : Moyenne des K Plasmatique des patients General practitioner



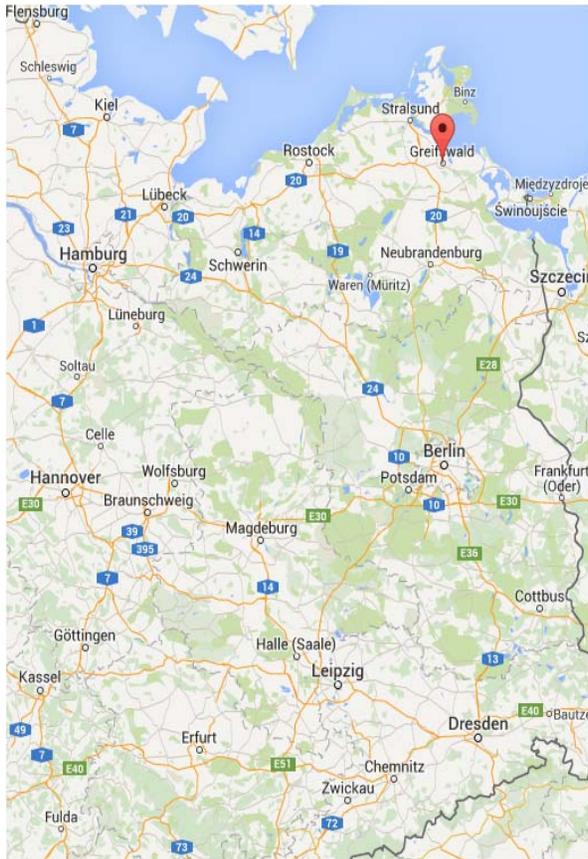
- La plus grande divergence coïncide également avec la T° la plus Haute (Juillet –Aout)

Extrait T° Nottingham ,Masters (T° de London, Buckleys Non Communiquées)

Le K c'est chaud aussi

- **Demonstration of temperature dependence of Na(+)-K+ pump activity of human blood cells. Germany** *Advan in Physiol Edu* 266:S10, 1994.

Honig, H Oppermann, C Budweg, H Goldbecher and E J Freyse



DEMONSTRATION OF TEMPERATURE DEPENDENCE OF Na⁺-K⁺ PUMP ACTIVITY OF HUMAN BLOOD CELLS

Arnold Honig, Helga Oppermann, Christine Budweg, Heiko Goldbecher, and Ernst-Joachim Freyse

Institute of Physiology and Institute of Diabetes Gerhardt Katsch, Ernst-Moritz-Arndt-University of Greifswald, D-17487 Greifswald, Germany

In our physiology laboratory course we introduced several simple but instructive experiments in which medical students make observations on their own blood cells. In this experiment, students measured and discussed the effect of different temperatures on Na⁺ and K⁺ distribution between blood cells and plasma. In venous blood of 35 female and 64 male students, plasma (extracellular) [Na⁺] and [K⁺] were measured with ion-selective electrodes immediately after blood sampling and successively four times in intervals of 1 h in three samples stored at 1, 20, and 37°C. At 1°C, plasma [K⁺] increased significantly and nearly linearly with cooling time of the blood, whereas plasma [Na⁺] decreased. In contrast, at 37°C plasma K⁺ levels significantly decreased in the first 2 h and then stabilized at new levels clearly below baselines. At 37°C blood cells had a greater K⁺ loss in women than in men, whereas at 1°C the K⁺ loss was significantly less pronounced in women. Plasma Na⁺ did not significantly change at 57°C. This remarkably reproducible experiment demonstrates the existence of active Na⁺-K⁺ transport in human blood cells by showing medical students, with their own blood, that the basal chemical processes of such pumps are inhibited at a temperature of 1°C and stimulated when blood temperature is slightly higher than the usual body temperature.

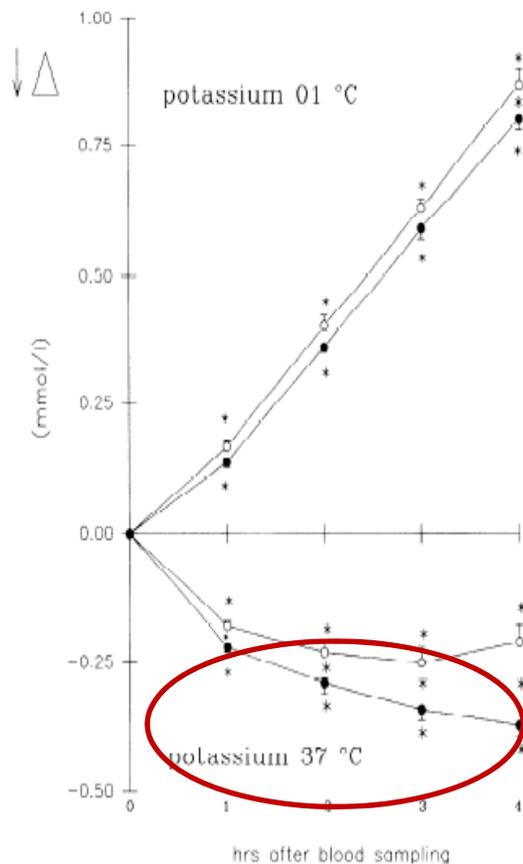
AM. J. PHYSIOL. 266 (ADV. PHYSIOL. EDUC. 11): S10-S15, 1994.

- 35 Femmes et 64 Hommes : (étudiants en médecine)
- 1 °C vs 20°C vs 37°C
- 0h – 4h

Le K c'est chaud aussi

Demonstration of temperature dependence of Na(+)-K+ pump activity of human blood cells. Germany *Advan in Physiol Edu* 266:S10, 1994. Honig, H Oppermann, C Budweg, H Goldbecher and E J Freyse

- **Changement du K plasmatique *in vitro* dans un sang total conservé 4H**



Changes of plasma $[K^+]$ in human whole blood kept for 4 h at 1°C (*top*) or at 37°C (*bottom*), respectively. Values are means \pm SE of 35 women (○) and 64 men (●). *Significant difference ($P < 0.05$) between actual and baseline values (measured immediately after blood sampling from cubital vein) or between blood of women and men, respectively.

Chaud :

- Changement moins prononcé qu'au froid mais présent.
- Changement à la baisse

Le K c'est chaud aussi

Demonstration of temperature dependence of Na(+)-K+ pump activity of human blood cells. Germany *Advan in Physiol Edu* 266:S10, 1994.

Honig, H Oppermann, C Budweg, H Goldbecher and E J Freyse

Remarques :

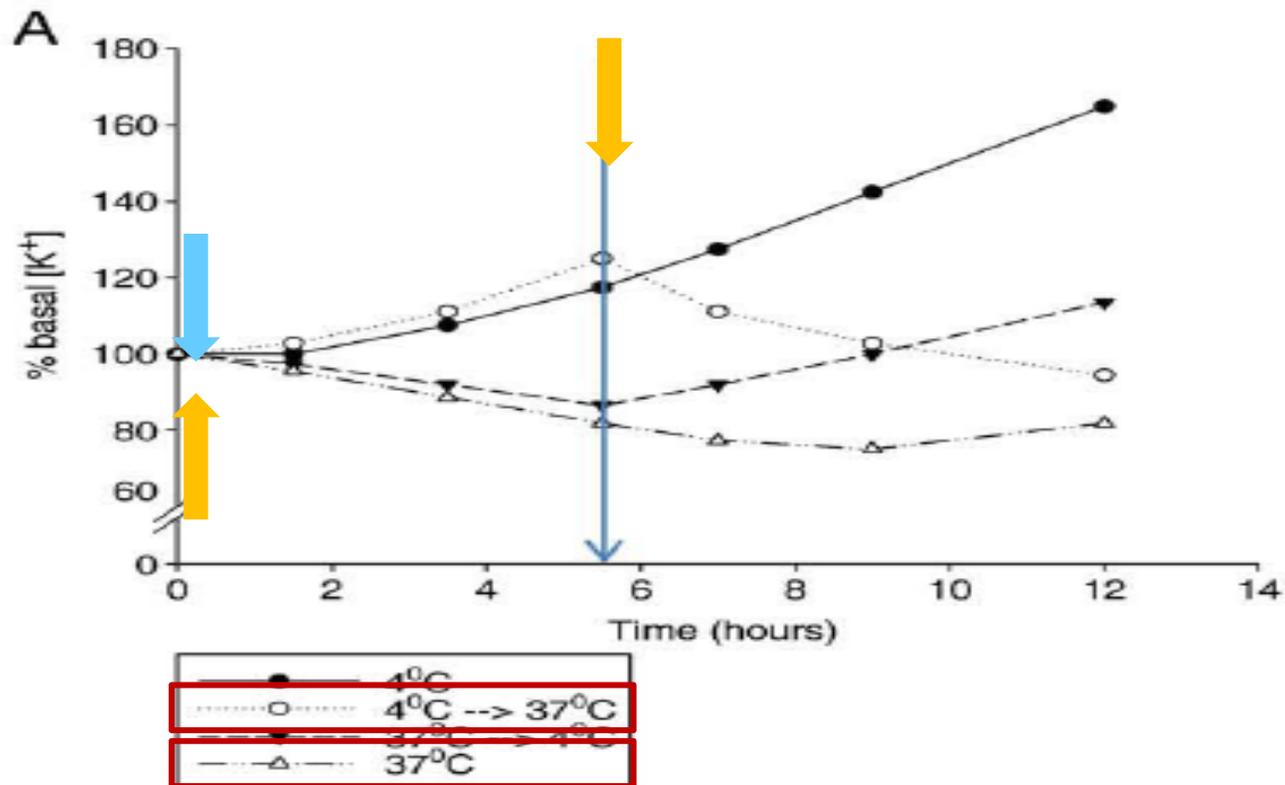
Les auteurs précisent :

- Le K ne change pas à 20°C (sur 4h :période évaluation)
- Les différences de résultats de K chez les étudiants hommes et Femmes peuvent être attribués aux contraceptifs oraux et le mécanisme de transport d'ions.

tween young women and men are unknown. But we also let them know that there are data suggesting that, among other (hormonal) factors, the use of oral contraceptives might be associated with both increased leakage of K ions from blood cells and changed activity of ion transport mechanisms (4). To our thinking, also, students should experience and realize that there still exist unexplained phenomena in Biology and Medicine.

Le K c'est chaud aussi

- The phenomenon of seasonal pseudohypokalemia: Effect of ambient Temperature ...Ravinder sodi et al. / Clinical Biochemistry (2009)

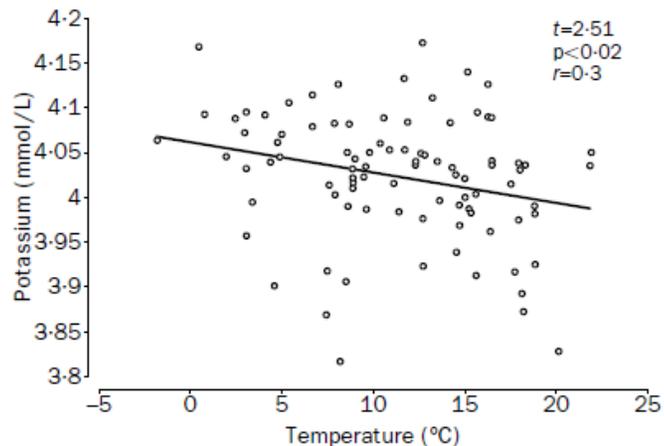


In conclusion, here we show the increased incidence of pseudohypokalemia during the summer (seasonal pseudohypokalemia) in samples transported from primary care and we suggest that this is an in vitro pseudo-phenomenon mediated by sodium-potassium-exchanging-ATPase.

Le K c'est chaud aussi

■ Ambient temperatures and potassium concentrations

Thomas J Ulahannan, John McVittie, John Keenan THE LANCET • Vol 352 • November 21, 1998 UK



Mean serum potassium (pooled) at distant sites D, E, and F versus mean daily temperature in Oxford

Site (km)	r	p	Distance from laboratory
A	-0.03	<0.5	0
B	-0.07	0.1>p>0.05	0.05
C	-0.02	>0.5	0
D	-0.19	<0.001	8
E	-0.16	<0.001	7
F	-0.09	<0.05	8
Family physician	-0.33	<0.001	Variable

Cette étude porte sur la relation entre la concentration sérique du K et de la température ambiante, les auteurs ont obtenu :

- Températures quotidiennes moyennes enregistrées dans le centre d'Oxford entre le 1er avril 1996 et le 31 décembre 1997.
- Les concentrations quotidiennes moyennes de potassium de 6 Hôpitaux et de médecins (Family physicians)

■ Confirme la relation du K et température Ambiante « Elevés »

■ Implications et vigilances

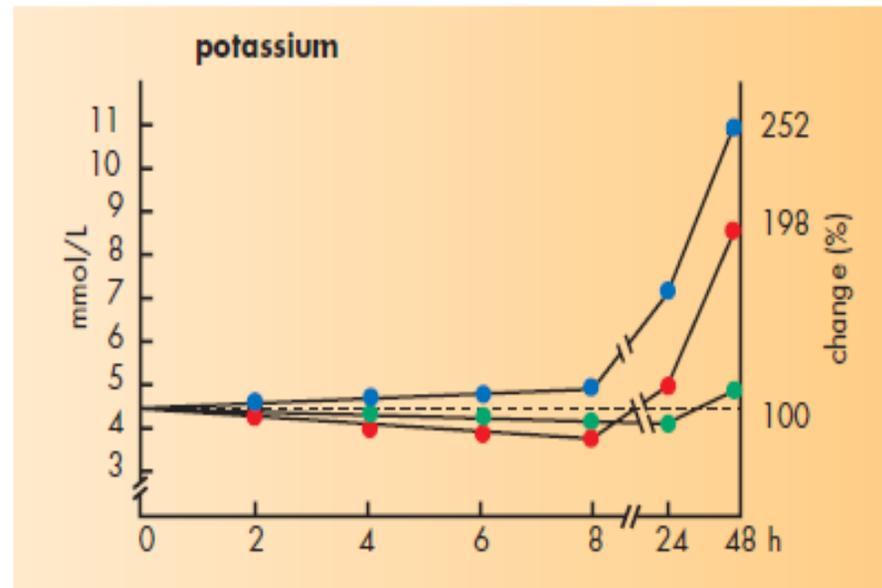
- Autour de la valeur **Seuil basse :Pseudo Hypo K**
- Autour de la valeur **Seuil haute :Pseudo Normo K**
- **Temps d'exposition à une T° et délai de traitement**
- (Rappel **Kalsheker** : le K à 25°C peut baisser de 0,22mmol/ en 2h)

Le K c'est chaud aussi

■ Samples: From the Patient to the Laboratory The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results

W. G. Guder · S. Narayanan · H. Wisser · B. Zawta 2003

Fig. 15-1
Temperature and time effect of storage of clotted blood without anticoagulant on various serum analytes (163). (●) 4°C, (●) 23°C, (●) 30°C



Le mouvement du K intra et extra cellulaire à une température de 23°C est faible dans le temps

Le K c'est chaud aussi

■ Effet chaleur K / Glucose

Sante.gouv Bioch A . BOUTRON – Service de biochimie 1 du Pr. A. LEGRAND
– Hôpital BICETRE – AP Paris

- A 37°C la glycolyse provoque une entrée de potassium dans les cellules. Ce flux s'inverse lorsque le glucose est consommé .



POTASSIUM

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

Code NABM :1608

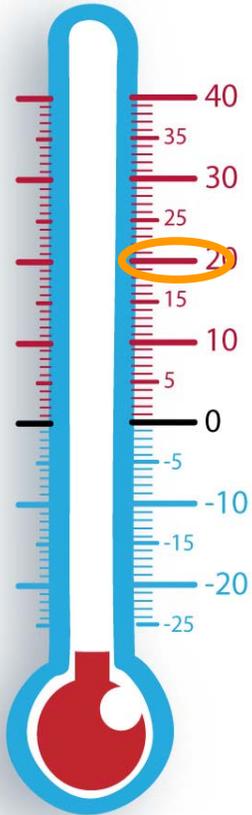
Une source d'erreur préanalytique est la libération de potassium dans le sang total à + 4°C, par non-maintien du gradient intracellulaire/ extracellulaire par inhibition de la glycolyse. Inversement, à 37°C la glycolyse provoque une entrée de potassium dans les cellules, ce flux s'inverse lorsque tout le glucose est consommé.

<http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/biochimie.pdf>

Phénomène observé aussi à des T° situées >23°C-30°C-37°C :
Cf :Masters,Buckley,Guder.....et vous ?

Le K c'est chaud aussi

- **K** :Quelle serait la meilleure T° pour préserver + longtemps en sang total ?



Certainement dans
l'intervalle

20°C- 21°C ^{1, 2, 3}

Pas facile à
tenir !?

- 1 STAHL** Controlled storage conditions prolong stability of biochemical components in whole blood CCLM 2005
- 2 Jensen** stability of heparin blood samples during transport based on defined preanalytical quality goals CCLM 2008
- 3 Henriksen** Stability of 35 biochemical and immunological routine tests after 10h storage and transport at 21°C SJCL 2014

Le K c'est chaud aussi

■ Conclusion

- Le K n'a pas fini de nous faire suer



- Le K n'a pas fini de nous faire frissonner



Le K c'est chaud aussi

Merci de votre attention



BD, votre partenaire préanalytique



Synthèse d'une étude: revue des pratiques de 127 laboratoires et impact sur la contamination des échantillons biologiques urinaires



Caroline MAIER
23 Juin 2015



Urine Culture Contamination

A College of American Pathologists Q-Probes Study of 127 Laboratories

Leonas G. Bekeris, MD, FCAP; Bruce Allen Jones, MD, FCAP; Molly K. Walsh, PhD; Elizabeth A. Wagar, MD, FCAP

Démarche intéressante:

-127 laboratoires participant à une étude (CAP Q-Probes), collectant des données sur 120 échantillons urinaires consécutif: - Un Total de 14739 spécimens urinaires analysés

-Données démographiques collectées pour chaque échantillon (âge, sexe, lieu, transport et température, préservation échantillons...).

-Indication pour chaque échantillon de l'estimation de la contamination (critère standardisé pour l'étude entre laboratoires)

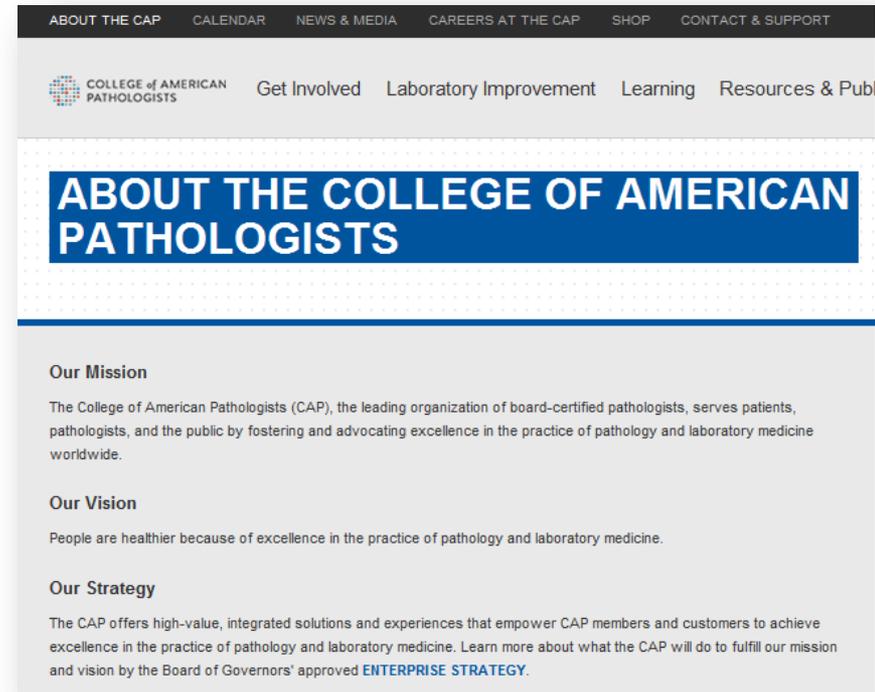
-Conclusions sur les pratiques influençant grandement l'apparition de contamination bactérienne positive des échantillons

The College of American Pathologists (CAP):

association de pathologistes dont le but est de servir les patients, les pathologistes et les services de santé, en encourageant l'excellence dans la pratique de la médecine de laboratoire

CAP- Qprobe™ est un des outil de Management de la qualité du CAP (QMT) : il s'agit d'une évaluation de la qualité, ponctuelle et très poussée. L'étude doit permettre aux laboratoires:

- d'identifier des pistes d'amélioration
- d'examiner les phases pré et post analytique
- de se fixer des objectifs à atteindre par rapport aux laboratoires similaires
- d'améliorer l'efficacité des processus, tout en intégrant un SMQ (système de management de la qualité) au quotidien.



ABOUT THE CAP CALENDAR NEWS & MEDIA CAREERS AT THE CAP SHOP CONTACT & SUPPORT

COLLEGE of AMERICAN PATHOLOGISTS Get Involved Laboratory Improvement Learning Resources & Pub

ABOUT THE COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS

Our Mission

The College of American Pathologists (CAP), the leading organization of board-certified pathologists, serves patients, pathologists, and the public by fostering and advocating excellence in the practice of pathology and laboratory medicine worldwide.

Our Vision

People are healthier because of excellence in the practice of pathology and laboratory medicine.

Our Strategy

The CAP offers high-value, integrated solutions and experiences that empower CAP members and customers to achieve excellence in the practice of pathology and laboratory medicine. Learn more about what the CAP will do to fulfill our mission and vision by the Board of Governors' approved [ENTERPRISE STRATEGY](#).



Urine Culture Contamination

A College of American Pathologists Q-Probes Study of 127 Laboratories

Leonas G. Bekeris, MD, FCAP; Bruce Allen Jones, MD, FCAP; Molly K. Walsh, PhD; Elizabeth A. Wagar, MD, FCAP

BUT DE L'ETUDE

- Examiner quelles pratiques entraînaient un faible taux de contamination
- Comprendre comment les laboratoires procèdent pour la collection et l'analyse bactériologique des échantillons urinaires (données démographiques)
- Tous types de structures représentées.
- 98.4% des laboratoires étudiés : USA
- Patients autonomes

Table 1. Participating Institution Demographics

	No. of Institutions	Percentage of Institutions
Institution type		
Private, nonprofit	66	58.4
State, county, or city hospital	12	10.6
Private, profit	8	7.1
Independent laboratory	7	6.2
University hospital	6	5.3
Governmental, federal	5	4.4
Other	9	8.0
No. of occupied beds		
0-150	47	46.1
151-300	30	29.4
301-450	13	12.7
451-600	12	11.8
Institution location		
City	58	50.4
Suburban	28	24.3
Rural	27	23.5
Federal installation laboratory	2	1.7
Governmental affiliation		
Nongovernmental	90	79.6
Nonfederal governmental	17	15.0
Federal governmental	6	5.3

Urine Culture Contamination

A College of American Pathologists Q-Probes Study of 127 Laboratories

Leonas G. Bekeris, MD, FCAP; Bruce Allen Jones, MD, FCAP; Molly K. Walsh, PhD; Elizabeth A. Wagar, MD, FCAP

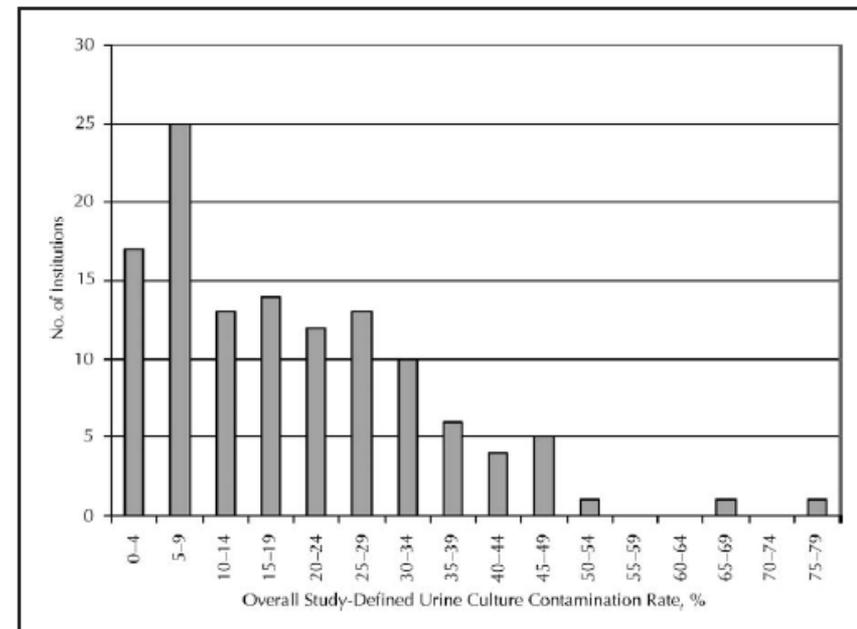
Evaluation des pratiques et de leurs effets sur les contaminations de culture urinaire:

Beaucoup de laboratoires présentaient un faible taux de contamination, alors que d'autres un taux extrême (75%). Le taux de contamination moyen était de 15%

-10^{ème} percentile taux de contamination moyen 41,7%

-90^{ème} percentile taux de contamination 0.8%

Mediane : 7.4% sur échantillons d'origine masculine, et 17.3% sur les échantillons d'origine féminine.



Urine Culture Contamination

A College of American Pathologists Q-Probes Study of 127 Laboratories

Leonas G. Bekeris, MD, FCAP; Bruce Allen Jones, MD, FCAP; Molly K. Walsh, PhD; Elizabeth A. Wagar, MD, FCAP

-But du questionnaire Q-PROBE™: s'assurer que la qualité de l'échantillon est préservée, du recueil jusqu'à l'analyse.

Particularité de l'analyse d'urine: procédure microbiologique courante pendant laquelle l'échantillon est collecté de façon indépendante par le patient. Les échantillons contaminés ont un impact sur le coût de la prise en charge du patient (délai, mauvais traitement,)

La contamination de l'échantillon provient en général du recueil. La diffusion d'informations aux patients pour le recueil d'urine favorise grandement la diminution de contaminations. ⁽¹⁻⁴⁾

1. Leisure MK, et al. Does a clean catch urine sample reduces bacterial contamination. N Engl Med. 1995; 328: 289- 290
2. Jackson SR et al. A novel urine mid-stream urine collection device reduces contamination rates in urine culture sample amongst women. BJU International: 2005; 96:360—364
3. Cabedo et al. Is the technique used to collect urine important in avoiding contamination of the sample. Aten Primaria. 2004;33; 140-144:
4. Fihser LA et al. Collection of a clean –voided urine specimen: a comparison among spoken, written and computer-based instructions. Am. J public Health. 1977: 67:640-644

Urine Culture Contamination

A College of American Pathologists Q-Probes Study of 127 Laboratories

Leonas G. Bekeris, MD, FCAP; Bruce Allen Jones, MD, FCAP; Molly K. Walsh, PhD; Elizabeth A. Wagar, MD, FCAP

Conclusion de l'étude sur les pratiques et de leurs effets sur les contaminations de culture urinaire:

- réfrigération de l'échantillon réduit significativement la prolifération
- contamination des échantillons d'origine masculine réduite de moitié si instructions orales pour la miction
- Réduction drastique aux urgences lorsque le patient disposait d'instruction écrites pour le recueil

L'éducation de la patientèle par l'instruction et l'éducation:

L'étude conclut également sur l'importance de la qualité des instructions, la bonne formation du personnel indiquant ces instructions et le lieu et le contexte où ces dernières sont données

Intérêt de l'étude plus
sur les données
démographiques
obtenues sur 14739
Spécimens

Table 2. Laboratory Practices Relating to Urine Culture Specimens at Collection Sites Adjacent to the Laboratory

Laboratory Practices	No. of Institutions	Percentage of Institutions
Refrigeration of urine specimens		
Yes, most sites (>75%)	51	41.8
Yes, some sites (25%–75%)	9	7.4
Yes, few sites (<25%)	10	8.2
No	34	27.9
Not applicable	4	3.3
Unknown	14	11.5
Preservatives, stabilizers, or preservation devices used >25% of the time*		
Boric acid solution	44	36.4
Media paddle dipped and removed from urine specimen	4	3.3
Other, not including refrigeration	2	17.0
None of the above used >25% of the time	72	59.5
Outpatients provided with written instructions on how to collect uncontaminated urine culture specimens		
Yes, most patients (>75%)	81	66.9
Yes, some patients (25%–75%)	12	9.9
Yes, few patients (<25%)	3	2.5
No	13	10.7
Unknown	12	9.9
Collection instructions verbally explained to outpatients regardless of whether written instructions are given		
Yes, most patients (>75%)	73	61.3
Yes, some patients (25%–75%)	23	19.3
Yes, few patients (<25%)	5	4.2
No	6	5.0
Unknown	12	10.1
Information included in your laboratory's collection instructions for obtaining an uncontaminated specimen*		
Midstream collection	121	100.0
Cleansing	116	95.9
Spreading labia	90	74.4
Other, not including refrigera-	-	-

Table 3. Laboratory Practices Relating to Urine Culture Specimens at Collection Sites Not Adjacent to the Laboratory

Laboratory Practices	No. of Institutions	Percentage of Institutions
Refrigeration of urine specimens		
Yes, most sites (>75%)	62	50.4
Yes, some sites (25%–75%)	11	8.9
Yes, few sites (<25%)	3	2.4
No	9	7.3
Not applicable	7	5.7
Unknown	31	25.2
Preservatives, stabilizers, or preservation devices used >25% of the time*		
Boric acid solution	52	42.6
Media paddle dipped and removed from urine specimen	4	3.3
Other, not including refrigeration	4	3.3
None of the above used >25% of the time	65	53.3
Laboratory provides instructions on how to collect uncontaminated urine culture specimens		
Yes	101	84.9
No	18	15.1
Urine culture specimens transported by courier to laboratory		
Yes	111	93.3
No	8	6.7
Thermally insulated containers used if urine culture specimens are transported by courier		
Yes	100	90.9
No	10	9.1

* Multiple responses allowed.

Table 4. Laboratory Practices Relating to Urine Culture Specimens Regardless of Location of Collection Site

	No. of Institutions	Percentage of Institutions
Urine culture specimens pass through separate central processing		
Yes, all urine specimens	65	52.4
Yes, most (>75%) urine specimens	28	22.6
No	31	25
If urine culture specimens pass through a central processing area, the specimens are refrigerated while awaiting transport to the microbiology laboratory		
Yes	33	35.5
No	60	64.5
Length of time outpatient urine cultures are incubated prior to reporting final result		
1 day	37	31.4
2 days	79	66.9
>2 days	2	1.7
Laboratory routinely prescreens most urine specimens (>57%) submitted for culture		
Yes	30	25.2
No	89	74.8
Laboratory practice, if urine specimens routinely prescreened		
Routinely culture urine specimens that are positive on a prescreen	19	65.5
Culture the specimen regardless of prescreen result	10	34.5
Participating laboratories' definitions of contaminated urine culture specimens		
>1 isolate in $\geq 10\,000$ CFU/mL	12	10.3
>2 isolates in $\geq 10\,000$ CFU/mL	82	70.0
>2 isolates in $\geq 100\,000$ CFU/mL	6	5.2
>2 isolates in any quantity or mixed flora culture	6	5.2
Other	10	8.6

Table 5. Demographics and Laboratory Practices Relating to Urine Culture Specimens

	No. of Specimens	Percentage of Specimens
Sex		
Male	3673	25.1
Female	10967	74.9
Collection site		
Emergency department	4413	30.2
Outpatient site adjacent to the laboratory	3879	26.6
Outpatient site not adjacent to the laboratory	6312	43.2
Refrigeration of specimen		
Yes	4798	32.6
No	6187	42.1
Unknown	3716	25.3
Preservative used		
Yes	1306	20.3
No	9926	67.4
Unknown	482	3.3
Specimens prescreened		
Yes	3534	24.0
No	9716	66.1
Unknown	1457	9.9

67% des échantillons dont les résultats sont rendus à 2 jours

42% des échantillons non réfrigérés

67% d'échantillons non stabilisés grâce à des additifs.

15% des échantillons contaminés (médiane)

L'organisation déportée de certains laboratoires (non possibilité de réfrigérer) et le temps de rendu résultat, devraient peut-être orienter vers un changement de pratique vers une stabilisation immédiate des échantillons?

Et nous? Où en sommes-nous?

Quel niveau de contamination en routine?

Quels sont aujourd'hui nos référentiels?

REMIC (Référentiel en Microbiologie Médicale) V.2010:

Les urines ne doivent jamais être conservées plus de 2 h à température ambiante avant la mise en culture afin d'éviter la prolifération microbienne.

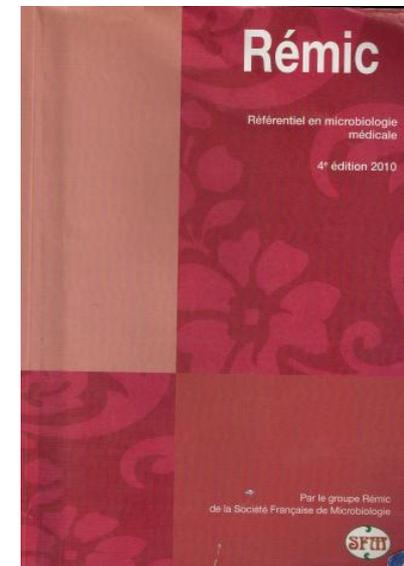
L'utilisation de milieux de conservation (acide borique, par exemple) bloquant la multiplication bactérienne et réduisant la cytolyse permet la conservation des urines à température ambiante pendant 48 h.

3.2 • Conservation - transport

Les urines recueillies dans un flacon stérile doivent être acheminées rapidement au laboratoire. Elles ne doivent jamais être conservées plus de 2 h à température ambiante avant la mise en culture afin d'éviter la pullulation microbienne.

L'utilisation de milieux de conservation (acide borique, par exemple) bloquant la multiplication bactérienne et réduisant la cytolyse permet la conservation des urines à température ambiante pendant 48 h.

À défaut, les urines peuvent être conservées à + 4 °C pour une durée maximale de 24 h. Cependant, au-delà de 12 h à + 4 °C, si la



L'EUG: (European Urinalysis Guidelines)

Echantillons collectés doivent être analysés au laboratoire dans les 2h .

Sinon doivent être réfrigérés à 4°C et examinés dans les 24h.

Si un transport plus long est inévitable et que la conservation au froid n'est pas possible, **des récipients de recueil pré-remplis contenant de l'acide borique seul en tant que conservateur ou bien en combinaison avec du formate ou d'autres additifs stabilisateurs, idéalement sous forme lyophilisée,** peuvent être utilisés.

Scand J Clin Lab Invest 2000; 60: 1-96

European Urinalysis Guidelines

SUMMARY

These European Urinalysis Guidelines are given under the auspices of the European Confederation of Laboratory Medicine (ECLM).

Specimens requiring microbiological investigation must be collected in a clean container and examined in the laboratory within 2 h [5, 6]. They should be refrigerated at 4°C without preservative if delay >2 h is expected. Then they should be examined within 24 h. If delay is unavoidable and refrigeration not possible, containers pre-filled with boric acid preservative alone [43] or in combination with formate or other stabilizing media [44-46], ideally in a lyophilized form, may be used. Boric acid will stabilize white cell number and bacterial concentration in urine held at +20°C for 24 h. Boric acid concentration may be critical

Kouri T. et al. European Urinalysis EUG - Guidelines. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation Supplementum. 2000.

CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute) Urinalysis Approved Guidelines GP16-A3:

Pour des échantillons ne pouvant être analysés dans les deux heures après recueil, conserver les échantillons d'urine soit réfrigérés, soit congelés (note: non acceptable pour la microscopie), soit en utilisant un conservateur chimique spécifique.

5.6.6 Preservatives

For specimens not analyzed within two hours of collection, preserve the urine specimen using refrigeration, freezing (not suitable for microscopy), a specifically designed chemical preservative, or a media transport device. Specific details and applications are beyond the scope of this document. Check for current requirements from reference laboratories before collecting specimens.

CLSI. Urinalysis Approved Guidelines. GP16-A3 29. 2009.

Les référentiels pour l'examen bactériologique des urines

Cumitech 2C:

Laboratory Diagnosis of Urinary tract infections

Si la durée du transport est supérieure à 2h, l'urine doit être réfrigérée ou préservée durant le transport.
Si le délai est supérieur à 24h, un dispositif contenant un conservateur (acide borique) peut-être utilisé.

Un mauvais ratio urine/additif peut avoir un effet inhibiteur de croissance sur certains microorganismes.

Urine should be processed as near to the time of collection as possible to minimize chances for increase in the actual colony count of any pathogens and contaminants present. If the urine will not be processed at the point of collection, transport should be immediate. If it is not possible to transport the urine to the lab within 2 h, the urine should be refrigerated or preserved during transport; if delays exceed 24 h, a transport device with preservative (usually boric acid) should be used (44, 51). Preservative vials or tubes have been demonstrated to preserve the colony count in urine for 24 to 48 h. The volume of urine placed into the preservative tube or container should be >3 ml to ensure growth of most pathogens. Use of lesser amounts of urine can result in organism inhibition by the boric acid and reduce the optimal growth of some bacteria, in particular *Enterococcus* spp. (111). There are also several culture media onto which a urine sample can be immediately cultured at the point of collection to reduce issues with transport delays.



McCarter, Y. S., et al. "Cumitech 2C: laboratory diagnosis of urinary tract infections." *American Society for Microbiology, Washington, DC* (2009).



BD Laboratory Consulting Services®

Merci de votre attention

1. Leisure MK, et al. Does a clean catch urine sample reduces bacterial contamination. *N Engl Med.* 1995; 328: 289- 290
2. Jackson SR et al. A novel urine mid-stream urine collection device reduces contamination rates in urine culture sample amongst women. *BJU International*: 2005; 96:360—364
3. Cabedo et al. Is the technique used to collect urine important in avoiding contamination of the sample. *Aten Primaria.* 2004;33; 140-144:
4. Fihser LA et al. Collection of a clean –voided urine specimen: a comparison among spoken, written and computer-based instructions. *Am. J public Health.* 1977: 67:640-644
5. . Société Française de Microbiologie . REMIC - Référentiel en Microbiologie Médicale. 2010.
6. Kouri T. et al. European Urinalysis EUG - Guidelines. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation Supplementum.* 2000.
7. CLSI. Urinalysis Approved Guidelines. GP16-A3 29. 2009.
8. McCarter, Y. S., et al. "Cumitech 2C: laboratory diagnosis of urinary tract infections." *American Society for Microbiology, Washington, DC* (2009).





Merci pour votre attention.

