

FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES

SOMMAIRE

Abré	viations:	4
Prés	entation du lieu de stage :	6
Intro	oduction :	7
Α.	Organisation du don de sang :	9
ı.	Réception :	
II.	Service médicale :	9
1.	. Entretien médical :	
2.	. Examen général :	g
III.	Prélèvement :	10
IV.	Temps de repos et de collation :	11
v.	Matériel :	11
В.	Qualification biologique du don et préparation des PSL :	13
ı.	Partie 1 : Laboratoire d'immuno-hématologie donneur	14
1.	Les différents tests réalisés :	14
2.	. Matériel :	15
3.	. Méthodes :	16
4.	. Résultats et discussion :	19
II.	Partie 2 : Laboratoire de sérologie virale :	21
1.	. Les tests réalisés :	2 1
2.	. Matériel :	21
3.	. Méthodes :	22
4.	. Résultats et discussion :	23
III.	Partie 3 : Laboratoire de production des PSL :	24
1.	. Les tests réalisés :	24
2.	. Matériel :	25
3.	. Méthodes :	26
C.	Conservation et distribution des PSL :	30
1.	. Conservation des PSL :	30
2.	Distribution des PSL :	32
D.	Hémovigilance :	33
Conc	clusion :	33
Bibli	ographie et webographie:	33





Abréviations

Ac: Anticorps

Ag: Antigène

BS: Banque de Sang

CNTS: Centre National de Transfusion Sanguine

CRTS: Centre Régional de Transfusion Sanguine

CTS: Centre de Transfusion

CGR: Culot Globulaire Rouge

CPS: Concentré Plaquettaire Standard

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

HBs: Hépatite B dans le Sang

IHD: Immuno-Hématologie Donneur

K : Kell

PFC: Plasma Frais Congelé

PSL: Produits Sanguins Labiles

PRP: Plasma Riche en Plaquettes

QBD : Qualification Biologique du Don

RAI: Recherche d'Agglutinines Irrégulières

Rh: Rhésus

SIDA: Syndrome d'Immunodéficience Acquise

SN: Séronégative

SP : Séropositive

SSM : Solution de sag-mannitol

TPHA: Treponema Pallidum Hemagglutination Assay

VHC : Virus de l'hépatite C

VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine (SIDA)



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



Présentation du lieu de stage :

Le système de transfusion sanguine au Maroc est composé d'un Centre Nationale de Transfusion Sanguine à Rabat (CNTS), des Centres Régionaux de Transfusion Sanguine (CRTS) à Fès, Casablanca, Tanger..., et des Banques de Sang (BS) implantés au niveau des provinces, regroupés sous le nom de Centre de Transfusion Sanguine (CTS) qui sont sous la dépendance du (CNTS). [1]

Le CRTS de Fès est le service public du Ministère de la Santé charge de collecter les dons du sang, de les qualifier et satisfaire les besoins de tous les malades hospitalisés dans les établissements de soins publics ou privés de Fès et ses régions.

<u>Composition locale:</u>

Les locaux doivent répondre à des exigences élémentaires pour la santé et la sécurité des donneurs et du personnel, ces locaux doivent être propres, être suffisamment spacieux, disposer d'une source d'alimentation en eau et en électricité. Le centre de transfusion doit comporter au moins :

- Salle d'accueil
- Salle de prélèvement
- Bureau de médecin
- Cuisine et salle de repos pour les donneurs
- Laboratoire d'immuno-hématologie donneur (IHD)
- Laboratoire de sérologie
- Laboratoire de production
- Laboratoire de livraison

Ressources humaines:

le personnel du réseau national de transfusion sanguine est pluridisciplinaire :

- Médecins hématologistes
- Médecins biologistes
- Médecins généralistes
- Biologistes, Techniciens, Infirmiers, Cadres administratifs

Adresse:

Centre Régional de Transfusion Sanguine (CRTS), Hôpital Al Ghassani/ Fès.



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



Introduction

Ce rapport est issu d'un stage de deux mois effectué au Centre Régional de Transfusion Sanguine (CRTS) de Fès, ayant eu lieu du 02 Avril 2012 au 01 Juin 2012, dans le cadre d'un mémoire de fin d'étude du Licence en Biologie et Santé de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques.

Le thème retenu dans le cadre de ce stage est «Circuit d'une poche de sang au sein de centre de transfusion sanguine ». Le choix de ce thème est en raison de l'intérêt du sang dans notre organisme et l'exacerbation des maladies qui détruisent les cellules sanguines.

Les objectifs de mon stage sont de découvrir et de me familiariser avec les différentes activités qui se déroulent au sein du centre de transfusion sanguine.

Portant le corps d'un être humain de 65kg renferme approximativement 5l de sang. Chaque jour 10000 battements du cœur propulsent celui-ci à travers tous nos vaisseaux sanguins.

Le sang est un tissu liquide qui contient du plasma, des cellules (hématies, leucocytes et plaquettes), des fibres et des substances fondamentales, par exemple les sels minéraux, les glucides, les lipides et les protéines...

Ce liquide sert à diffuser l'oxygène et les éléments nutritifs nécessaires aux processus vitaux de tous les tissus du corps, et à évacuer les déchets tels que le dioxyde de carbone ou les déchets azotés. Il sert également à amener aux tissus les cellules et les molécules du système immunitaire, et à diffuser les hormones dans tout l'organisme.



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



C'est la moelle osseuse qui produit les cellules sanguines au cours d'un processus appelé hématopoïèse.

Par ailleurs, le traitement intensif de certaines maladies peut entraîner une insuffisance de production de cellules sanguines. Dans le cas d'un cancer, par exemple, les traitements lourds (chimiothérapie, radiothérapie) entraînent la destruction des cellules cancéreuses, mais également la destruction temporaire des cellules de la moelle osseuse. L'organisme ne peut plus renouveler seul les cellules sanguines, durant cette période dite d'aplasie, un support transfusionnel permet de renouveler les cellules sanguines, d'où l'intérêt de la transfusion sanguine.

La transfusion sanguine consiste alors à administrer le sang ou l'un de ses composants (globules rouges, plaquettes, granulocytes, plasma, protéines) provenant d'un ou plusieurs sujets appelés « donneurs », à un ou plusieurs sujets malades appelés « receveurs ».

Donner son sang, c'est sauver une vie humaine. La transfusion sanguine est indispensable et vitale dans le traitement de nombreuses pathologies. Le don du sang représente donc un vaste mouvement de solidarité pour venir à l'aide de ceux qui sont dans le besoin par exemple :

- Aux malades (cancer, anémie, leucémie...)
- Aux opérés
- Aux femmes enceintes en cas d'accouchement difficiles
- Aux accidents...



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



A.Organisation du don de sang :

Les collectes de sang sont organisées à l'intérieur des CTS (cabine fixe) et à l'extérieur (unité mobile).

- En cabine fixe : de lundi à vendredi, des donneurs volontaires offrent leurs sang pour sauver une vie humaine, et aussi les familles des malades.
- A l'extérieur : des unités mobiles se déplacent pour collecter du sang chez des volontaires dans différents établissements publics et privés (Associations, facultés, lycées, sociétés, banques...).

Quel que soit le lieu de la collecte (collecte mobile ou site fixe), le don de sang se déroule en quatre grandes étapes :

I. Réception:

Cette première étape permet de recueillir les renseignements nécessaires pour constituer le dossier administratif du donneur (son nom, prénom, CIN...)

II. Service médical:

Avant chaque don, il est mis à la disposition du donneur, en lecture un dépliant d'information relatif au don de sang, ce dépliant permet à chacun de prendre conscience en toute objectivité de l'importance des comportements à risque de transmission de maladies infectieuses et des directives indispensables à respecter pour donner du sang.

Le donneur reçoit également un formulaire résumant les comportements à risque et un questionnaire permettant au médecin de s'assurer de son éligibilité au don. Il doit enfin dater et signer ce formulaire, attestant par là qu'il à bien lu, compris et tenu compte du questionnaire et des informations jointes. Au sein de ce service on a 2 étapes distinctes :

1. Entretien médical:

Confidentiel et couvert par le secret médical, l'entretien médical préalable constitue une des étapes capitales du processus de don de sang (ou de la sécurité transfusionnelle).

2. Examen général :

Avant chaque don, le médecin vérifie que le donneur est en condition physique lui permettant de donner du sang, il contrôle :

✓ Le poids qui doit être supérieur à 50 kg



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



- ✓ La tension artérielle doit être inférieure à 18 en maximum et à 10 en minimum
 - Cet examen médical permet de faire le point final sur la situation du donneur, alors toute personne homme ou femme en bonne santé, ayant plus de 18 ans et moins de 60 ans, peut donner son sang à condition d'être reconnue apte par le médecin responsable de la sélection. L'homme peut donner 5 fois par an et la femme 3 fois par an.

Tableau 1 : Quelques indications du don de sang :

Contre indications définitives du don :	Contre indications pro	visoires du don :
■ SIDA	Indication	Délai max pour le don
 Transfusion Hépatites chroniques /cirrhose Hépatite B (HBS) et/ou C (HCV) Paludisme 	 Age<18 ans Poids<50 kg Syphilis Ictère récent Accouchement Soins dentaires 	Jusqu'à normalisation 6 mois
	■ Tuberculose	5 ans après guérison

III. Prélèvement :

Une fois déclaré apte, le donneur passe dans la salle de prélèvement où il est pris en charge par le personnel infirmier qui prélève quelques tubes échantillons sur lesquels seront effectués des analyses et des tests de dépistage au sein des laboratoires d'immuno-hématologie donneur (IHD) et de sérologie virale.



Figure 1 : déroulement de prélèvement



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



Les critères à respecter au cours du prélèvement :

- ❖ La quantité du sang : le prélèvement consiste à prélever 450 ml à 500 ml de sang (s'il n'y a pas de complications exemple défaut de reflux de sang...) directement de la veine du donneur jusqu'à une poche triples stériles et à usage unique qui contient un anticoagulant (citrate phosphate dextrose « CFD »).
- ❖ Le temps de prélèvement : le prélèvement dure environ 10 min

IV. Temps de repos et de collation :

Après le don du sang, le donneur reste sous la surveillance de l'infirmier préleveur. Une collation lui est offerte avant de quitter le lieu (eau, boisson, biscuits...). Il convient de respecter un délai de 8 semaines entre chaque don de sang.

V. Matériel:

- Tensiomètre, Stéthoscope, Agitateurs de prélèvements, Garrots...
- Tubes échantillons pour les tests de dépistage
- Code à barre : ce sont des numéros étiquetés sur la poche triple et les tubes échantillons.



Figure 2 : code à barre des tubes échantillons

FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



• Poches triples (une poche principale et deux poches satellites)



Figure 3: les poches triples du sang

- ➤ La poche N°1 : la poche satellite 1 vide dont laquelle le plasma est extrait.
- La poche N°2 : la poche principale dont laquelle le sang total est collecté contenant l'anticoagulant CPD.
- ➤ La poche N°3 : la poche satellite 2 contient une solution additive (sagmannitol) destinée à être transférée dans la poche principale contenant le concentré globulaire.

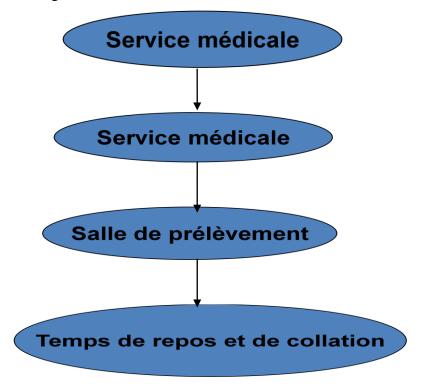


Schéma 1: du parcours du don de sang



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



B.Qualification biologique du don et préparation des produits sanguins labiles :

La sécurisation des produits sanguins destinés à la transfusion est de plus en plus renforcée, cette sécurisation commence dès la sélection du donneur et lors de l'entretien médical. Cette étape doit permettre d'écarter tous les donneurs potentiellement à risque.

Lorsque le produit est prélevé, il subit une préparation en produit sanguin labile (PSL), et les tubes échantillons prélevés sont soumis à des examens au sein des laboratoires de sérologie et IHD, cette étape étant la plus importante dans la sécurisation du produit, elle est appelée: Qualification Biologique du Don (QBD). [1]

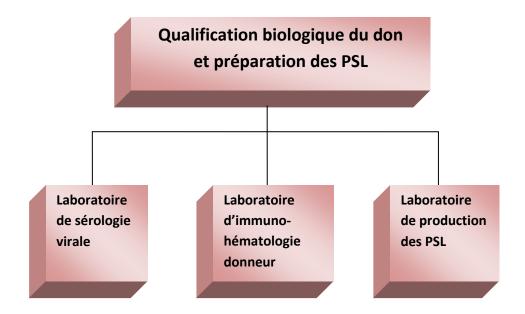


Schéma 2: des unités de QBD et préparation des PSL



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



I. Partie 1 : Laboratoire d'immuno-hématologie donneur

1. Les différents tests réalisés :

Au sein de ce laboratoire plusieurs analyses seront réalisées à savoir :

> Les groupages sanguins ABO :

♣ Systèmes ABO :

Chez les êtres humains, le groupe sanguin est déterminé en fonction des substances présentes à la surface des globules rouges, appelées «antigènes» Ag. Les groupes sanguins sont regroupés en «systèmes», dans le système ABO, il existe quatre groupes sanguins possibles : A, B, O et AB.

Les Ag du système ABO :

Il existe 2 Ag principaux : A et B qui définissent 4 groupes sanguins: A, B, AB et 0. Les Ag font partie intégrante de la membrane du globule rouge et sont des glycoprotéines.

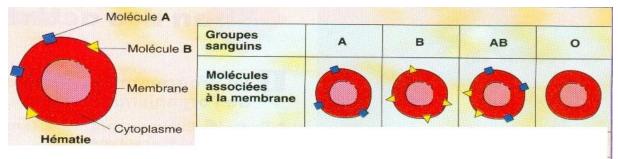


Figure 4: les antigènes du système ABO

↓ Les anticorps (Ac) du système ABO :

Il existe 2 Ac naturels anti-A et anti-B dans le plasma, ils sont constamment présents quand l'antigène correspondant est absent.

	Groupe A	Groupe B	Groupe AB	Groupe O
Globule Rouge	A	В	AB	0
Anticorps	Anti-B	Anti-A	Aucun	Anti-A et Anti-B
Antigène	P Antigène A	† Antigène B	♀↑ Antigène A et B	Pas d'antigène

Figure 5 : les anticorps du système ABO



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



Phénotype Rhésus et Kell :

Le système Rhésus est le second système antigénique attaché aux globules rouges. Il se définit par ses antigènes, au nombre de quarantaine environ. Cependant en pratique courante, seuls cinq sont à connaître : D, C, c, E et e ; les sujets Rhésus positif sont ceux qui possèdent l'antigène D.

Le système Kell comporte deux antigènes majeurs : KEL1 (K) et KEL2 (k).

> Dépistage des hémolysines :

On appelle hémolysine, notamment en mycologie, une substance susceptible de causer une hémolyse, c'est-à-dire une destruction des globules rouges.

> Recherche des agglutinines irrégulières (RAI):

La RAI consiste à mettre en évidence et à identifier la présence d'anticorps dirigés contre des antigènes présents sur les globules rouges du patient.

2. Matériel:

- Micropipettes, Etuve
- Microplaque à fond en U et à fond plat pour les hémolysines
- Agitateur des microplaques de groupage et phénotype



Figure 6 : appareil d'agitation des microplaques (Heidolph Titramax 100)



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



• Centrifugeuse pour les tubes échantillons



Figure 7: appareil de centrifugation des tubes (Rotofix 32A)

• Centrifugeuse pour les microplaques



Figure 8: appareil de centrifugation des microplaques (Universal 320)

Produits utilisés:

- Hématies tests A, B et AB
- Sérum physiologique
- Sérums tests dilués 1/5 : (anti-B, anti-A, anti-AB et anti-D) « Seraclone »
- Phénotypes Rhésus et Kell (anti-C, anti-c, anti-E, anti-e, anti-K)
 « Diagast »
- Antiglobuline (anti-G) « Diagast »

3. Méthodes:

Préparation des hématies tests A, B et AB :

Ils sont préparées au sein du service lui-même à partir de culots globulaires (CG) dont on connait le groupe sanguin, et ceci en effectuant des lavages



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



successifs (3fois) du CG au sérum physiologique, chaque lavage étant suivi d'une centrifugation; après le dernier lavage, les hématies sont diluées à 2% et deviennent ainsi prêtent à l'usage.

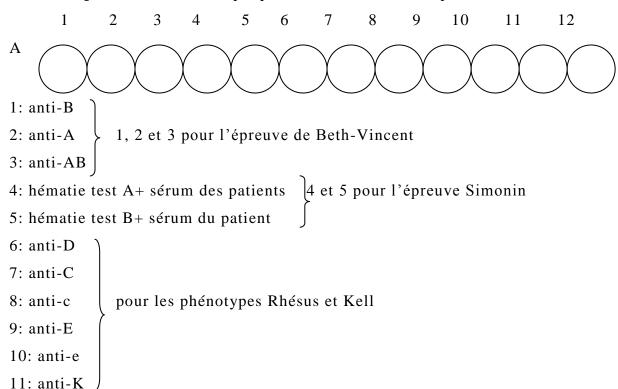
Préparation des hématies contrôle 1, 2 et 3 :

Elles sont préparées à partir des tubulaires contenant des hématies contrôle (même protocole que les hématies tests).

> Technique de groupage, phénotypes Rhésus et Kell:

Une fois les tubes numérotés arrivent à l'unité IHD, leurs numéros sont reportés sur un registre, ensuite ils subissent un groupage sanguin suivant deux méthodes :

- L'épreuve globulaire de Beth-Vincent: dans cette technique les antigènes érythrocytaires sont mis en évidence : les hématies du patient sont mises en contact avec les sérums test contenants d'anticorps spécifiques à ces antigènes.
- L'épreuve sérique de Simonin : c'est une épreuve inverse à celle de Beth-Vincent : les hématies tests A et B préalablement préparées sont mises en contact avec le sérum du patient inconnu
- **4** Technique:
- Etape 1 : sur une microplaque à fond en U on va déposer :





FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



12 : eau physiologique+ 5µl de culot globulaire du patient

- Etape 2: la suspension N° 12 est répartie dans les puits 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10 et 11
- Etape 3: agitation suivie d'une centrifugation de microplaque
- Etape 4 : deuxième agitation de microplaque est réalisée

> Technique de dépistage des hémolysines :

- Etape 1 : sur une microplaque à fond plat on va faire une dilution de 1/64éme du plasma avec de l'eau physiologique
- Etape 2: distribution des échantillons dilués dans une microplaque d'Elisa, et on ajoute 25 µl des hématies AB
- Etape 3: incubation à 37°C pendant 45 min suivie d'une centrifugation de microplaque
- **Etape 4 :** agitation de microplaque

> Technique de la RAI:

Se fait par deux méthodes:

Méthode enzymatique :

- **Etape 1 :** on va prendre 3 tubes quand va utiliser selon le schéma suivant :
- ✓ Tube 1 : 100µl de sérum du patient+ 100µl d'hématie contrôle 1 + Papaine (P) ou Broméline (B)
- ✓ Tube 2 : 100µl de sérum du patient+ 100µl d'hématie contrôle2 + P ou B
- ✓ Tube 3 : 100µl de sérum du patient+ 100µl d'hématie contrôle3 + P ou B
- Etape 2: incubation de ces trois tubes pendant 30 min dans l'étuve si l'enzyme est la Papaine, et 10 min si l'enzyme est la Broméline (plus actif que la Papaine)
- Etape 3: on réalise 3 lavages au sérum physiologique, chaque lavage étant suivi d'une centrifugation à 1200 Tr/min pendant 2 min

♣ Méthode Tic :

- Etape 1 : on va prendre une deuxième série des tubes (3tubes) :
- ✓ Tube 1 : 100µl de sérum du patient+ 100µl d'hématie contrôle 1
- ✓ Tube 2 : 100µl de sérum du patient+ 100µl d'hématie contrôle2
- ✓ Tube 3 : 100µl de sérum du patient+ 100µl d'hématie contrôle3

- **0**-

UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH

FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



- Etape 2: incubation pendant 45 min dans l'étuve à 37°C
- Etape 3: on réalise 3 lavages, chaque lavage suivi d'une centrifugation, après on va rajouter antiglobuline (anti-G)

4. Résultats et discussion :

> Résultats et interprétation du groupage, phénotype Rh et K:

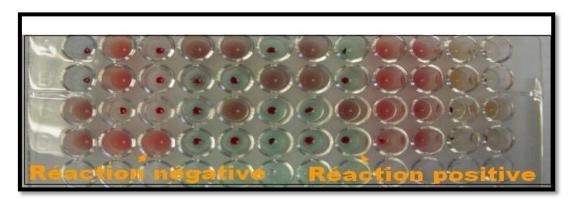


Figure 9 : image d'une microplaque de groupage et phénotype

• Interprétation du groupage ABO:

Anti-A	Réaction (+)	Réaction (-)	Réaction (+)	Réaction (-)
Anti-B	Réaction (-)	Réaction (+)	Réaction (+)	Réaction (-)
Anti-AB	Réaction (+)	Réaction (+)	Réaction (+)	Réaction (-)
Interprétation	Groupe A	Groupe B	Groupe AB	Groupe O

Tableau
2:
résultats
de
groupage
par
méthode
de BethVincent

Tableau 3 : résultats de groupage par méthode de SIMONIN

Hématies tests A	Hématies tests B	Interprétation
------------------	------------------	----------------



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



Réaction (-)	Réaction (+)	Groupe A
Réaction (+)	Réaction (-)	Groupe B
Réaction (-)	Réaction (-)	Groupe AB
Réaction (+)	Réaction (+)	Groupe O

Interprétation du phénotype Rhésus et Kell :

Tableau 4 : résultats du phénotype Rhésus et Kell

	Réaction (+)	Réaction (-)
Anti-D	Rhésus (+)	Rhésus (-)
Anti-C	C+	C-
Anti-c	c+	c-
Anti-E	E+	E-
Anti-e	e+	e-
Anti-K	K+	K-

Remarque:

Réaction (+) : présence d'agglutination Réaction (-) : absence d'agglutination

Résultats et interprétation des hémolysines :

- Agglutination dans les puits : hémolysine positive
- Absence d'agglutination : hémolysine négative

La recherche d'hémolysines chez les donneurs de sang rentre dans le cadre de la sécurité immunologique de la transfusion. Le fait de transfuser du sang contenant une hémolysine peut induire une hémolyse chez le patient.

On cas d'hémolyse positive la transfusion doit être isogroupe

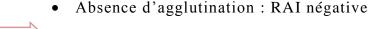
Résultats et interprétation de RAI :

• Présence d'agglutination au fond des tubes : RAI positive



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES





Toute poche à RAI positif doit être rejetée

II. Partie 2 : Laboratoire de sérologie virale :

Le laboratoire de sérologie a pour but de rechercher les anticorps produits par le donneur à la suite du contact d'un agent pathogène (VIH, VHC, HBs et TPHA).

1. Les tests réalisés :

Dépistage du VIH (SIDA) :

<u>Principe</u>: recherche des anticorps anti-VIH par les tests enzymatiques ELISA, ce test permet de rechercher la présence, dans le sang, de l'un ou l'autre des deux virus connus (VIH1 etVIH2).

Dépistage du HCV et HBs :

<u>Principe</u>: recherche d'anticorps anti-HCV et anti-HBs par les tests enzymatiques ELISA.

Dépistage de syphilis :

<u>Principe</u>: repose sur la mise en évidence d'anticorps induits par l'infection et présents dans le sérum par le test de TPHA (Treponema Pallidum Hemagglutination Assay).

2. Matériel:

- Microplaque, Micropipette...
- Automate pour dépistage du VIH, HCV et HBs



@

UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH

FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES





Figure 18: appareil d'analyse sérologique (BEP2000 Advance)

3. Méthodes:

> Dépistage du VIH, HCV et HBs :

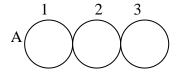
Se fait par l'appareil d'analyse sérologique BEP2000 Advance est un automate compact avec ordinateur intégré et commandé par écran adapté pour l'utilisation des tests sérologiques. La lecture des résultats est basée sur la lecture de la densité optique.

Mode de fonction de l'automate :

- Préparation du matériel
- Préparation des réactifs « Bio Rad »
- Contrôle de toutes les fonctions de l'appareil
- Chargement des échantillons des patients
- Chargement des plaques test
- Démarrage du système
- Présentation des résultats

Dépistage de syphilis :

Sur une microplaque à fond U qu'on va répartir en séries chaque série est formée de trois cupule on va mettre :



Cupule 1 : 190µl de tampon+ 10µl de sérum (Solution A dilué au 1/20)



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



Cupule 2 : 25µl de solution A+ 75µl de cellules contrôles

Cupule 3 : 25µl de solution A+ 75µl de cellules test

4. Résultats et discussion :

> Résultats et interprétation du VIH :

L'absorbance observée pour l'échantillon permet d'identifier la présence ou l'absence d'anticorps anitVIH1/2; la coloration est proportionnelle à la concentration d'anticorps décelés dans l'échantillon.

- Résultat négatif : Il signifie qu'il y a une grande probabilité que la personne n'ait pas été infectée par le VIH.
- Résultat douteux ou positif : On pratique un double test Elisa, si les deux tests sont positives on fait appel à un test de confirmation par le Western Bloot (qui s'effectue au CHU).

> Résultats et interprétation du HCV et HBs :

La lecture des résultats repose sur la mesure de la densité optique, alors s'il y'a des résultats douteux ou positifs on pratique un deuxième test de confirmation.

Résultats et interprétation de TPHA :

La lecture des résultats repose sur la recherche de la cupule qui donne encore une Hemagglutination nette avec un fond assez opaque.



Figure 10 : image d'une microplaque de TPHA

FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



Tableau 5 : interprétation des résultats de TPHA

N° cupule :	1	2	3	4
Notation de l'importance de	+++	+	-	-
l'Hemagglutination				

Les poches sérologie positive seront écartées et détruits.

III. Partie 3 : Laboratoire de production des produits sanguins labiles (PSL) :

1. Les tests réalisés :

La séparation des poches de sang total :

On ne transfuse jamais une poche de sang telle qu'elle a été prélevée. Parallèlement à la qualification des tubes échantillons, les poches sont acheminées vers un plateau technique pour la préparation et transformation des produits sanguins. L'étape de la préparation qui permet donc la production de divers produits sanguins contenant du plasma, des plaquettes ou des globules rouges. [2]

L'étiquetage :

Lorsque les résultats des laboratoires (immuno-hématologie donneur et sérologie) sont conformes aux exigences réglementaires, les produits sanguins labiles sont étiquetées et on marque la mention séronégative (SN) sur la poche, mais celle qui sont séropositive (SP) seront écartées. L'étiquetage doit comporter les caractéristiques suivantes :

- ✓ La dénomination du PSL (CGR, PFC ou CPS)
- ✓ N° de prélèvement (code à barre)
- ✓ Date de prélèvement du sang
- ✓ Date de péremption de la poche

> Contrôle Boudin:

Le Boudin est un dernier contrôle réalisé après l'étiquetage afin d'éviter toute erreur d'étiquetage. Le groupage boudin est réalisé sur la tubulure des poches pour la vérification de



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



toute concordance avec les résultats du groupage réalisé sur les tubes échantillons, réduisant ainsi les risques immunologiques.

2. Matériel:

- Balance, Plaque d'opaline
- Soudeuse cet appareil est utilisé pour la soudure et la segmentation des tubulures de poches de sang (Boudin) qui seront utilisées pour la détermination et la confirmation du groupage de la poche.



Figure 13: soudeuse pour poche de sang (MS 250)

• Centrifugeuse pour les poches de sang



Figure 11 : appareil de centrifugation des poches de sang (Jouan KR422)

• Presse à plasma pour la séparation des poches de sang

FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES





Figure 12: presse à plasma (Fractionator)

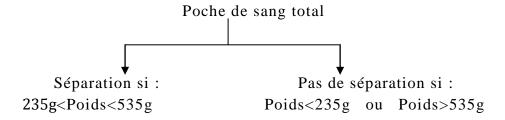
• Agitateur incubateur pour les poches de plaquette



Figure 14: appareil d'agitation de plaquette(Helmer)

3. Méthodes:

- > Méthode de séparation :
- **Etape 1**: pesage des poches de sang total





FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



• Etape 2: classement des poches

- ✓ Poches dont le poids (P) est <235g (en cas de choc du patient en arrête le prélèvement), ces poches ne subissent pas de séparation et seront destinées à la préparation des hématies test par exemple.
- ✓ Poches dont le poids est compris entre 235g et 535g (cas normal) seront séparées en culot globulaire (CGR), en plasma frais (PF) et en concentré plaquettaire standard (CPS).
- ✓ Poches dont le poids est >535g (en cas d'écoulement rapide de sang au cours de prélèvement), ces poches subissent une décantation pour retirer le culot globulaire (CGR).

• Etape 3: centrifugation du sang total

Une fois la centrifugeuse équilibrée, la température contrôlée, la centrifugeuse peut être fermée et mise en marche.



Figure 15: image d'une poche de sang total après centrifugation

• Etape 4 : séparation du sang total

A l'arrêt de la centrifugeuse, celle-ci peut être ouverte et la poche retirée en prenant garde de la maintenir à la verticale afin d'éviter tout mélange indésirable. Pour la même raison la poche doit être manipulée avec précaution et sans mouvement brusque.

On contrôle à ce moment l'aspect visuel du contenu de la poche : absence d'hémolyse, séparation nette des globules rouges et du plasma.

• Etape 5 : fin de l'extraction du plasma plaquettaire

A la fin de l'extraction du plasma plaquettaire, La poche principale qui contient le CGR, l'anticoagulant et un peu de plasma, est ensuite retirée de la presse, Les CGR obtenus sont conservés dans une solution de SAG Mannitol



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



(42 jours). Cette solution de conservation permet de préserver le métabolisme des GR, réduire la viscosité et l'hémolyse dans les poches.



Figure 16: image de l'extraction de plasma plaquettaire

- Etape 6 : centrifugation du plasma riche en plaquettes (PRP)

 La poche du PRP est à son tour centrifugée pour en extraire les plaquettes.
- Etape 7 : séparation du PRP

 Cette étape permet la séparation de la poche en plasma frais et concentré plaquettaire.



Figure 17 : poche du concentré plaquettaire

- Etape 8 : soudure de la tubulaire pour poche de sang
- Etape 9: pesage des PSL
- ✓ CGR
- ✓ PF
- ✓ CP



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



• Etape 10 : étiquetage des PSL

Méthode de Boudin:

Sur plaque d'opaline on dispose 4 gouttes du sang des tubulaires, on ajoute les réactifs anti-B, anti-A, anti-AB et anti-D « Sercalone » sur chaque goutte du sang et avec le fond d'un tube propre et sec on mélange les gouttes, en prenant bien soin d'essuyer le fond du tube entre chaque réaction pour éviter les faux résultats.

> Résultats de Boudin :

Groupage ABO

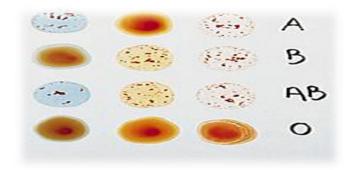


Figure 18: image des groupes sanguins ABO

• Phénotype Rhésus (anti-D)

✓ Absence d'agglutination : Rhésus négatif✓ Présence d'agglutination : Rhésus positif



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



C.Conservation et distribution des PSL:

I. Conservation des PSL:

En attendant leur utilisation, les poches de sang sont stockées et conservées :

> Conservation des CGR :

Les poches de CGR sont regroupées dans des paniers en fonction de groupage et la date limite de validité, et conservées dans la chambre froide qui permet de réduire la contamination microbienne et de prolonger la durée de conservation.





@

UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH

FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES





Figure 19: image des CGR dans la chambre froide

> Conservation de plaquettes :

Les concentrés de plaquettes sont mis en suspension dans un petit volume de plasma. Les poches sont agitées en permanence au moyen d'un agitateur spécial à température ambiante (24°), pour empêcher l'agrégation des plaquettes.

> Conservation du plasma:

Les congélateurs pour plasma sont adaptés au stockage du PF avec des températures basses et conservation prolongée.



Figure 20: image de plasma congelé

Le tableau ci-dessous montre les températures et les durées de conservation autorisées pour les différents PSL :

Tableau 6 : durée et température de conservation des PSL

PSL	Plage de T°C	Durée
IUL	I luge de l'e	Burce



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



CGR	2°C à 8°C	-42 jours avec solution Sag- mannitol (SSM) -35 jours sans SSM
CPS	20°C à 24°C	5 jours
PFC	-30C°	1an

II. Distribution des PSL:

Lorsque toutes les phases sont terminées, les poches de sang sont prêtes à être délivrées aux malades, la délivrance est effectuée en veillant à la compatibilité immunologique, dans le respect de la prescription médicale et de la mise en oeuvre des règles d'Hémovigilance. [3]

> Transfusion de plaquettes :

Peuvent être utilisées pour traiter les personnes atteintes d'une leucémie ou d'un cancer.

> Transfusion de plasma:

Le plasma thérapeutique est utilisé en cas d'hémorragie, les chocs ou pour soigner les brûlures.

> Transfusion de CGR:

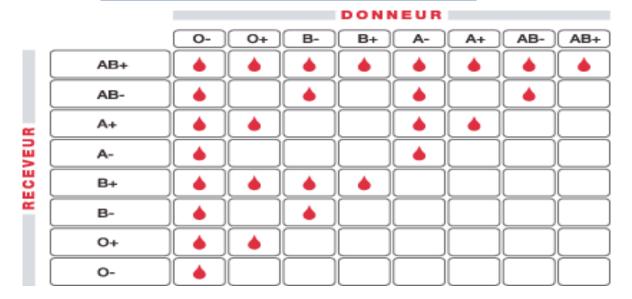
Choix selon le groupage, Rhésus, et la validité de la RAI, les CGR peuvent servir aux accidentés, aux opérés et aux personnes anémiques. [4]

Tableau 7 : compatibilité des groupes sanguins donneur-receveur









D. Hémovigilance:

L'hémovigilance est l'ensemble des procédures de surveillance organisées depuis la collecte du sang et de ses composants jusqu'au suivi des receveurs. Le CRTS gère tous les actes qui se font sous sa responsabilité : Collecte de sang, Analyses de laboratoire, Préparation et conservation des PSL.

L'objectif de l'hémovigilance est de recueillir et d'évaluer les informations sur les effets inattendus ou indésirables résultant de l'utilisation thérapeutique des produits sanguins et d'en prévenir l'apparition. C'est donc un système de surveillance et de suivi de toute la chaîne transfusionnelle.



Pour conclure on peut simplement dire que le rôle de transfusion sanguine et primordial, c'est un geste noble, sûr et efficace, c'est un acte de solidarité qui permet aux médecins de soigner et de sauver des vies humaines.

Le don de sang constitue la seule chance de soins des patients qui souffrent d'un déficit en composants sanguins consécutif à une maladie



FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



ou un accident, alors nous pouvons dire que la transfusion sanguine est une activité médicale unique qui crée un lien direct et fort entre le sain et le pathologique, il consiste à apporter sélectivement au patient le constituant du sang qui lui manque, en évitant la contamination virale, bactérienne ou parasitaire.

La qualification biologique du don vise plusieurs objectifs :

- ✓ Assurer la sécurité du receveur vis-à-vis des risques liés à la compatibilité immuno-hématologique et aux maladies transmissibles par le sang.
- ✓ Participer à l'information du donneur lorsque des anomalies ou des particularités sont mises en évidence à l'occasion de ses analyses.
- ✓ Participer au moyen des résultats biologiques recueillis à des missions de santé publique.

La journée mondiale du don de sang (14 Juin) est à la fois une journée de réflexion et l'occasion de remercier tous les donneurs de sang volontaires et réguliers dans le monde.

J'en retire dans l'ensemble un sentiment plutôt positif et espère pouvoir prolonger cette expérience lors d'un deuxième stage.



■ Bibliographe:

• Jean-Jacques Lefrère /Transfusion sanguine, une approche sécuritaire / « 2000 ».

FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES - FES



Philippe Rouger, Jean-Jacques Lefrère / Transfusion sanguine, 4ème
 édition/ « 09/2011 ».

■ Webographie:

- [1]:http://www.toutsurlatransfusion.com/securite~de~la~transfusion/analyse~des~produits~sanguins~pour~la~transfusion.php
- [2]:http://www.lesaventuriersdesglobules.fr/tout-savoir-sur-le-sang/article/10-fiches-enseignants/5-la-preparation-des-produits-sanguins
- [3]:http://www.easydroit.fr/codes-et-lois/Section-3-Distribution-et-delivrance-des-produits-sanguins-labiles-du-Code-de-la-sante-publique/S111800/
- [4]:http://www.hema-quebec.qc.ca/donner/don-de-sang/tout-sur-le-sang/groupes-sanguins.fr.html

