



**UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES – FES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE**



PROJET DE FIN D'ETUDES

**Licence en Sciences & Techniques :
Sciences Biologiques appliquées et Santé**

*Activités de laboratoire
d'immuno-Hémato-Receveur
au sein de Centre Régionale de
Transfusion Sanguine de Fès
(CRTS).*

Présenté par : ESSGUIRI Nabil.

Encadré par :

Pr. EL ABIDA Kaouakib Pr à La FST de Fès.

Dr. SALHI Souad (CRTS de Fès).

Soutenu le : 17 Juin 2015.

Devant le jury composé de :

Pr. EL ABIDA Kaouakib Pr à La FST de Fès.

Dr. SALHI Souad (CRTS de Fès).

Pr. SQALLI Hakima Pr à La FST de Fès.

Année Universitaire : 2014-2015



Dédicace

***J**e dédie ce travail à :*

Mes chers parents pour avoir veillé sur mon éducation, pour leur aide permanente, leur sacrifice infini et leur affection. Ce travail leur est dédié en modeste témoignage de ma gratitude infinie. Je leur souhaite une bonne santé et une longue vie.

***M**es frères, sœurs et leur famille : Pour leur sacrifice, leur dévouement et leur soutien pour affermir mes études.*

***M**es amis et mes copains sans oublier mes collègues de La FST-FES.*

***T**ous les gens qui m'ont soutenu et conseillé pendant ma Période de stage.*

***E**t sans oublier bien sûr toutes les personnes qui m'ont aidée à forger ma personnalité et d'arriver à ce que je suis maintenant.*



Remerciements

Sans l'aide de plusieurs personnes, ce rapport n'aurait pas vu le jour. Je tiens donc, à travers ces lignes, à exprimer toute ma gratitude à toutes les personnes qui y ont concouru de près ou de loin.

Mes remerciements vont tout d'abords au Docteur Abderrahim BENYASRHI, Médecin Directeur du Centre Régional de Transfusion Sanguine (CRTS) de Fès pour m'avoir fait confiance et permet d'effectuer ce stage au sein de cet établissement dans les meilleurs conditions. Ainsi à tout le personnel du centre toujours disponible et bienveillant qui m'ont fait découvrir chaque poste.

Egalement à l'équipe pédagogique chargé de la formation de licence biologie et santé de la faculté des sciences et techniques (FST) de Fès, et plus précisément Pr Rachid BENCHEIKH chef de département de biologie et Pr Abdelali TAZI responsable de la filière Biologie et Santé.

Mes vifs remerciements s'adressent à Mes encadrantes Pr Kaouakib EL ABIDA enseignante chercheur à la FST Fès et Mlle Souad SALHI biologiste à l'unité de sérologie et d'Immuno-Hémato Receveur au sein CRTS de Fès, pour leur soutien, accueil, écoute, confiance et leur aide.

Mes remerciements les plus chaleureux vont au Pr Hakima SQALLI enseignante à la FST Fès, pour m'avoir honoré de sa présence et d'avoir accepté d'examiner mon travail.

MERCI INFINIMENT.



Préambule

Dans le cadre de la formation du Licence Sciences et Techniques (LST), il est indispensable d'effectuer un stage de fin d'études pour bien assimiler le coté pratique et professionnel de la formation. Ce rapport est issu d'un stage d'envions deux mois effectué au sein du CRTS de Fès, ayant lieu du 06 Avril au 31 Mai 2015, sous forme de mémoire de LST en Biologie et Santé de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdallah, Faculté des Sciences et Techniques.

Le CRTS a un rôle primordial au niveau de la santé public des marocains, puisque c'est l'établissement majeur considéré par le ministère de la santé pour assurer les besoins en produits sanguins labiles (PSL).

L'Homme est la seule source du sang pour un autre humain, mais sans avoir effectué des tests de compatibilités le receveur ne peut pas bénéficier du sang de donneur d'où le thème de ce stage : Activités de laboratoire d'immuno-Hémato-Receveur au sein de CRTS de Fès.

Découvrir le monde professionnel, se familiariser avec les activités qui se déroulent au sein d'une structure médicale notamment un laboratoire tel le CRTS, et savoir appliquer les acquis théoriques et académiques dans cette structure, sont les objectifs d'un stage de fin d'études.



Liste des abréviations

- **Ac** : Anticorps.
- **Ag** : Antigène.
- **AGH** : anti-globuline humain.
- **BS** : Banques de Sang.
- **CE** : Concentré érythrocytaire.
- **CG** : Concentré globulaire.
- **CGR** : Concentrés des globules rouges.
- **CNTS** : Centre National de Transfusion Sanguine.
- **CPA** : Concentré plasmatique d'aphérèse.
- **CPS** : Concentrés de la plaquette standard.
- **CRTS** : Centre Régional de Transfusion Sanguine.
- **GR** : Globule Rouge.
- **Hb** : Hémoglobine.
- **Ig A** : Immunoglobuline A.
- **PFC** : Plasma frais congelé.
- **PSL** : Produits sanguins labiles
- **RAI** : Recherche d'Agglutinines Irrégulières.
- **Rh** : Rhésus.
- **SAG-Mannitol**: Saline Adénine glucose Mannitol.
- **TDA** : Test Direct d'Agglutination.



LISTE DES ILLUSTRATIONS

1. Liste des tableaux :

Tableau 1 : Répartition des groupes sanguins.....	2
Tableau 2 : Indications et contre-indications de la transfusion des CGR.....	5
Tableau 3 : Règles de compatibilité pour la transfusion de plasma.....	6
Tableau 4 : Indications et contre-indications de la transfusion de PFC.....	6
Tableau 5 : Indications et contre-indications de la transfusion de CPS.....	6
Tableau 6 : Résultats du système ABO.....	9
Tableau 7 : Résultats de système Rhésus.....	10
Tableau 8 : Types d'anticorps irréguliers.....	12

2. Liste des figures

Figure 1 : Présentation d'antigène et d'anticorps.....	3
Figure 2 : Dérivés de sang.....	3
Figure 3 : Préparation de l'échantillon sanguin.....	8
Figure 4 : Etapes de la réalisation de l'épreuve de Beth-Vincent sur plaque d'opaline.....	9
Figure 5 : Etapes de la réalisation de l'épreuve de Simonin sur plaque d'opaline.....	9
Figure 6 : Sérums test de système Rhésus.....	10
Figure 7 : Sérum test Anti-Kell.....	11
Figure 8 : Présentation de phénotypage érythrocytaire.....	11
Figure 9 : Principe de test de Coombs direct.....	14
Figure 10 : Résultat de la technique en tube de test de Coombs direct.....	15
Figure 11 : Dispositif de la déleucocytation.....	15
Figure 12 : Délivrance des PSL aux établissements de santé.....	16
Figure 13 : Répartition des établissements de santé selon le type de PSL délivré.....	17



SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des illustrations

1. Liste des tableaux
2. Liste des figures

Présentation de CRTS-Fès

Introduction1

Chapitre I : Généralités

1. La transfusion sanguine	2
2. Système ABO	2
2.1 Antigène.....	2
2.2 Anticorps.....	3
3. Dérivés de sang	3
3.1 Concentré de globule rouge.....	4
3.1.1 Concentré globulaire standard.....	4
3.1.2 Concentré globulaire phénotypé.....	4
3.1.3 Concentré globulaire déleucocyté.....	4
3.1.4 Concentré globulaire irradié.....	4
3.1.5 Concentré globulaire compatibilisé.....	4
3.2 Concentré plasmatique.....	4
3.2.1 Plasma frais congelé standard.....	4
3.2.2 Plasma d'aphérèse.....	4
3.3 Concentré de plaquettes.....	5
3.3.1 Le mélange de concentré de plaquettes standard (CPS).....	5
3.3.2 Concentré de plaquettes d'aphérèse (CPA).....	5
4. Transfusion de concentré de globule rouge (CGR)	5
5. Transfusion de plasma frais congelé (PFC)	5
6. Transfusion de concentré plaquettaire standard (CPS)	6



Chapitre II : Etude pratique

1. Accueil et réception des demandes	7
2. Examens immuno-hématologiques receveurs	7
2.1 Groupage sanguin et phénotypage rhésus KELL.....	7
2.1.1 Système ABO.....	7
2.1.2 Système rhésus.....	10
2.1.3 Système KELL.....	10
2.2 Recherche d'agglutinines irrégulières (RAI).....	11
2.3 Epreuve Directe de Compatibilité au laboratoire (EDC).....	13
2.4 Test de Coombs direct ou TDA.....	13
2.5 Technique de déleucocytation.....	15
3. Distribution des PSL	15
Chapitre III : Résultats et discussions	16
Conclusion générale	18
Références bibliographiques	19



Présentation de CRTS de FES

Le CRTS de Fès situé à proximité de CHU Hassan II, fait partie du réseau National de Transfusion Sanguine composé de 16 CRTS [1], de 13 Banques de Sang (BS) et 24 Antennes de Transfusion, tous sous la dépendance du Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) placé sous la tutelle du Ministère de la santé et relevant hiérarchiquement de la direction des hôpitaux et des soins ambulatoires.

Sur le plan administratif, les centres régionaux sont liés à la chefferie préfectorale ou provinciale où ils sont implantés.

Le CRTS de Fès est l'un des plus importants centres du Maroc. Son staff est composé de :

- 3 Médecins.
- 3 Ingénieurs d'état.
- 4 Assistants médicaux.
- 3 Administrateurs.
- 11 Infirmiers.
- 3 Techniciens de laboratoire.
- 3 Secrétaires.
- 1 Chauffeur.



Introduction

La transfusion sanguine est une discipline aux confins de l'hématologie et de l'immunologie. Elle implique la médecine, la biologie, la bio-industrie et la sociologie ; elle repose sur l'éthique. Elle consiste à administrer le sang ou l'un de ses composants (globules rouges, plaquettes, plasma) provenant d'un ou plusieurs sujets appelés « donneurs », à un ou plusieurs sujets malades appelés « receveurs ». Sans cette forme de la médecine, il y aurait beaucoup de pertes en vies humaines dans les maternités à causes des hémorragies obstétricales, en Pédiatrie à cause des anémies, et en Chirurgie à cause des accidents. Aussi, dans les pays développés, les progrès enregistrés dans la chirurgie cardiaque et le traitement des cancers seraient limités si la transfusion sanguine n'existait pas.

Malgré l'apparition d'alternatives thérapeutiques (érythropoïétine, facteurs de coagulation recombinants, substitution martiale et vitaminique) et les avancées technologiques (systèmes d'épargne sanguine, techniques chirurgicales pauci-hémorragiques, hémoglobines artificielles, Transporteurs d'oxygène), la transfusion des produits sanguins labiles reste incontournable et permet de corriger les défauts de transport d'oxygène associés aux anémies, d'éviter les hémorragies chez les patients thrombopéniques ou de corriger les troubles symptomatiques de la coagulation.

La Transfusion Sanguine est une discipline qui présente de nombreuses exigences réglementaires. Les produits préparés doivent répondre à des règles de bonnes pratiques transfusionnelles : prélèvement, préparation, qualification biologique, distribution et indications cliniques (Hémovigilance).

Les services de distribution des CRTS disposent de laboratoires spécifiques où sont réalisées, sur demande des établissements de santé, les analyses d'immuno-hématologie des receveurs.

Le laboratoire immuno-hématologique receveur permet de vérifier les caractéristiques du receveur avec celles du produit sanguin qui lui est destiné. Avec ces ultimes analyses, qui permettent de sélectionner le produit parfaitement adapté, le CRTS attribue à chaque receveur le produit sanguin qui lui convient.



GENERALITES

1. La transfusion sanguine

La Transfusion sanguine est une thérapeutique substitutive qui consiste à apporter à un patient les éléments du sang (globules rouges, plaquettes, plasma, protéines) qui lui font provisoirement défaut en raison d'une intervention chirurgicale (saignement lors de l'intervention), d'un traumatisme, d'une maladie (anémie ferriprive par exemple) ou d'un traitement (chimiothérapie aplasante). C'est une thérapeutique vitale.

Ces éléments dits produits sanguins labiles (Concentré de globules Rouges, Plasma thérapeutique, Concentré de plaquettes, et exceptionnellement Concentré de Globules Blancs) sont obtenus par séparation primaire du sang total d'une personne saine appelée « donneur » et qui vont être administré à un ou plusieurs sujets malades appelés « receveurs », en respectant les règles de compatibilité du système ABO. [2]

2. Système ABO

Ensemble d'antigènes génétiquement déterminés, présents à la surface de la membrane des cellules sanguines « hématies », regroupés en systèmes génétiquement codés et indépendants les uns des autres. [3]

- Principe :

La détermination du groupe sanguin consiste à rechercher la présence ou l'absence des antigènes A et B présents sur les globules rouges et les anticorps correspondants aux antigènes absents dans le sérum (*Tableau 1*). La détermination du groupe dans le système Rhésus permet de distinguer les sujets dits Rhésus D positif des sujets Rhésus négatif. [4]

Tableau 1 : Répartition des groupes sanguins [3]

Groupes sanguins	Antigènes (sur les globules rouges)	Anticorps (dans le plasma)
A	A	anti-B
B	B	anti-A
AB	A et B	Ni anti-A, ni anti-B
O	Ni A, ni B	anti-A et anti-B

2.1 Antigène

Substance capable de provoquer une réaction immunitaire, puis de réagir spécifiquement avec le produit de cette réaction (anticorps) (*Figure 1*). [3]

L'Immunogénicité : Capacité d'un antigène à induire la fabrication d'anticorps dirigés contre lui. [4]



2.1 Anticorps

Protéines (immunoglobulines) dont la production est provoquée par l'administration d'un antigène et capable de se lier spécifiquement à lui (*Figure 1*). [3]

On a 4 types d'anticorps :

- *Naturels* : Existant en l'absence de stimulation antigénique.
- *Immuns* : Induit par une stimulation d'un antigène étranger (transfusion, vaccination, infection, ...).
- *Allo-anticorps* : Réponse à une stimulation d'un Ag étranger.
- *Auto-anticorps* : Dérèglement du système immunitaire et production d'anticorps contre ses propres antigènes. [4]

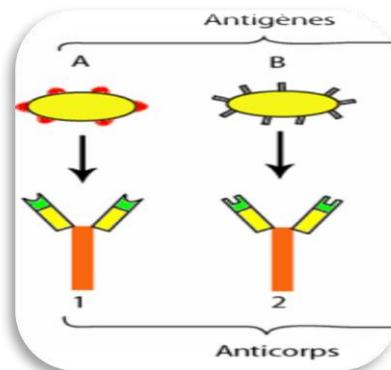


Figure1 : Présentation d'antigène et d'anticorps.

3. Dérivés de sang

A partir du sang ou de ses composés prélevés chez les donneurs de sang volontaires, peuvent être préparés des produits sanguins labiles à usage thérapeutiques qui sont :

- Concentré de globule rouge (CGR).
- Concentré plaquettaire standard (CPS).
- Plasma frais congelé (PFC). (*Figure 2*) [5]



Figure 2 : Dérivés de sang



3.1 Concentré de globule rouge

3.1.1 Concentré globulaire standard

Les Concentrés érythrocytaires (CE) sont obtenus soit à partir d'une unité de sang total, soit par érythraphérèse. Ils sont déleucocytés et mis en suspension dans une solution de conservation de SAG-M (Saline, Adénine, Glucose, Mannitol) ou équivalente, qui réduit les lésions de stockage et assure un degré de conservation suffisant pour permettre une utilisation jusqu'à 42 jours à condition que le composant soit maintenu à une température comprise entre + 4 °C et + 6 °C. [6]

3.1.2 Concentré globulaire phénotypé

Il s'agit d'un concentré érythrocytaire dont le phénotypage érythrocytaire comporte, non seulement les groupes sanguins ABO et Rh D, mais aussi d'autres antigènes de groupes sanguins, comme CE, ce, K, Fy, Jk et Ss. [6]

3.1.3 Concentré globulaire déleucocyté

La déleucocytation consiste à soustraire des CGR, aseptiquement, la majeure partie des leucocytes il s'agit d'un concentré érythrocytaire déleucocyté dont le contenu en hémoglobine est d'au moins 40g. La transfusion d'un tel concentré à un sujet de 70 kg permet d'accroître son taux d'hémoglobine d'environ 1 g/L et son hématocrite d'environ 3 %. [6]

3.1.4 Concentré globulaire irradié

Le traitement par des rayons ionisants (entre 25 et 50 Gy (Gray)) s'applique aux composants destinés à certains malades à risque de présenter une maladie du greffon contre l'hôte post-transfusionnelle, présentant un déficit de l'immunité, ou une proximité trop importante avec leur donneur sur le plan des antigènes d'histocompatibilité. L'irradiation empêche la prolifération des lymphocytes. En ce qui concerne les globules rouges, l'irradiation doit être réalisée dans les 14 jours qui suivent le prélèvement en raison des lésions cellulaires qu'elle entraîne (ayant pour conséquence un relargage de potassium par exemple) et la durée de leur stockage doit être réduite à 28 jours. [6]

3.1.5 Concentré globulaire compatibilisé :

Le CG subit un test de compatibilité au laboratoire entre le sérum du receveur et les hématies de l'unité à transfuser (la poche). [7]

3.2 Concentré plasmatique

Le plasma peut être obtenu à partir du sang total ou par aphérèse.

3.2.1 Plasma Frais Congelé standard

Il s'agit d'une unité de plasma extraite d'une unité de sang total, elle a un aspect jaune orangée sans signe d'hémolyse, aucune coloration anormale et absence de caillots visibles.

Elle est conservée à une température : -30 à -40 °C. [2]

3.2.2 Plasma d'aphérèse

Plasma obtenu par aphérèse chez un donneur (jugé apte médicalement), conservé, congelé et sécurisé par quarantaine (conserver le plasma au minimum 120 jours). [5]



3.3 Concentré de plaquettes

Il existe deux types de préparations différentes :

3.3.1 Le mélange de concentré de plaquettes standard (CPS).

Le CPS est obtenu à partir d'une unité de sang total et contient au moins $0,5 \cdot 10^{11}$ plaquettes en suspension dans 40 à 60 ml de plasma. La posologie habituellement recommandée est de 1 CPS pour 7 à 10 kg de poids corporel. [8]

3.3.2 Concentré de plaquettes d'aphérèse (CPA).

Le CPA est obtenu à l'aide d'un séparateur de cellules à partir d'un seul donneur. Le contenu en plaquettes doit être supérieur ou égal à $2 \cdot 10^{11}$ mais peut atteindre $8 \cdot 10^{11}$ plaquettes en fonction du poids du receveur, en suspension dans 200 à 650 ml de plasma. [8]

4. Transfusion de concentré de globule rouge (CGR)

La préférence doit être donnée à la transfusion de composants iso-groupes.

Lorsque le patient possède des anticorps anti-érythrocytaires irréguliers cliniquement significatifs, le choix doit se porter vers des concentrés érythrocytaires qui ne portent pas l'antigène contre lequel sont dirigés les anticorps. [6]

Les indications et contre-indications de la transfusion des CGR sont résumées dans le tableau 2:

Tableau 2 : Indications et contre-indications de la transfusion des CGR.

Indications	Contre-indications
<p>- Les anémies aiguës et chroniques : il y a consensus sur les seuils suivants:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hb de 70 g/l: Pour un adulte sans antécédents particuliers. • Hb de 70 –10 g/l: Pour un adulte avec antécédents cardiovasculaires. • Hb de 10 g/l: Pour un adulte atteint d'insuffisance coronaire aiguë ou cardiaque avérée. [9] <p>- Les anémies médicales et chirurgicales : avec Hb \leq 70g/l [5]</p>	<p>- Pour un candidat potentiel à une transplantation de cellules hématopoïétiques, il y a lieu d'éviter autant que possible la transfusion de globules rouges du donneur de moelle ou des membres de sa famille.</p> <p>- Des réactions allergiques du receveur contre des substances non-érythrocytaires et plasmatiques doivent être prises en compte. [9]</p>

5. Transfusion de plasma frais congelé (PFC)

Pour la transfusion de plasma, il est indispensable de disposer du groupe sanguin du patient. Il n'est pas nécessaire d'effectuer d'autres tests de compatibilité pré-transfusionnelle.

Les règles de compatibilité pour la transfusion de plasma sont reprises dans le tableau 3 : [6]



Tableau 3 : Règles de compatibilité pour la transfusion de plasma.

Groupe sanguin du patient	Premier choix pour le plasma	Autres choix
O	O	A, B, AB
A	A	AB
B	B	AB
AB	AB	----

Les indications et contre-indications de la transfusion de PFC sont résumées dans le tableau 4 :

Tableau 4: Indications et contre-indications de la transfusion de PFC.

Indications	Contre-indications
- Une hémorragie, soit d'un geste à risque hémorragique, soit une anomalie profonde de l'hémostase. [7]	- La seule contre-indication absolue au plasma quel qu'en soit le type est l'exceptionnelle présence d'un anticorps anti-IgA chez un sujet déficitaire en IgA. Ces anticorps peuvent provoquer des réactions allergiques graves de type anaphylactique lors d'une transfusion de plasma. [10]

6. Transfusion de concentré plaquettaire standard (CPS)

Il est indispensable de disposer du groupe sanguin du patient. Il n'est pas nécessaire d'effectuer d'autres tests de compatibilité pré-transfusionnels.

Il est souhaitable de respecter la compatibilité ABO, et de donner la préférence à des plaquettes ABO identiques.

La transfusion de plaquettes ABO incompatibles (plaquettes portant un antigène A et/ou B chez un receveur possédant des anticorps anti-A et/ou anti-B) est moins efficace. [6]

Les indications et contre-indications de la transfusion des CPS sont résumées dans le tableau 5:

Tableau 5: Indications et contre-indications de la transfusion de CPS.

Indications	Contre-indications
- Thrombopénies - Thrombopathies. [9]	- Pour un candidat potentiel à une transplantation de cellules hématopoïétiques, il y a lieu d'éviter autant que possible la transfusion de plaquettes du donneur de moelle ou des membres de sa famille. - Des réactions allergiques du receveur contre des substances non-érythrocytaires et plasmatiques doivent être prises en compte. [9]



ETUDE PRATIQUE

La méthodologie de travail au sein du laboratoire immuno-hématologique receveur résume toutes les opérations qui permettent d'établir le bilan pré-transfusionnel.

1. Accueil et réception des demandes

La prescription médicale comporte de façon lisible :

- L'identification du patient : nom, prénom, sexe, date de naissance, identifiant s'il existe.
- Il faut vérifier si le nom et l'IP (code à barre) de la demande est identique à celui de l'échantillon (tube contenant de sang du malade).
- L'identification et la signature de médecin prescripteur.
- La date de prescription.
- Les examens prescrits, qui sont :
Au minimum : - Le groupage ABO-RH1.
- Le phénotypage RH-KEL1.
- La RAI.

En cas de RAI positive :

- Une épreuve directe de compatibilité au laboratoire.

Si besoin, des renseignements cliniques nécessaires à la réalisation et l'interprétation des résultats.

2. Examens Immuno-Hématologiques Receveur

2.1 Groupage sanguin et phénotypage rhésus KELL

Le groupage sanguin comporte le système ABO associé systématiquement au phénotype Rhésus et KELL.

2.1.1 Système ABO

Matériel : Plaque d'opaline, cellules test A et B dilués à 10%.

Principe : La détermination des groupes ABO repose sur 2 épreuves réalisées simultanément, toutes les deux étant des réactions d'agglutination active directe :

- Épreuve globulaire : BETH-VINCENT.
- Épreuve sérique : SIMONIN.



Réactifs :

- Les hématies tests \Rightarrow Utilisées pour l'épreuve sérique (Simonin).
- Les sérums tests \Rightarrow Utilisées pour l'épreuve globulaire (Beth-vincent).

❖ préparation de l'échantillon sanguin (Figure 3):

Matériel : Echantillon de sang total (tube EDTA), centrifugeuse, tube.

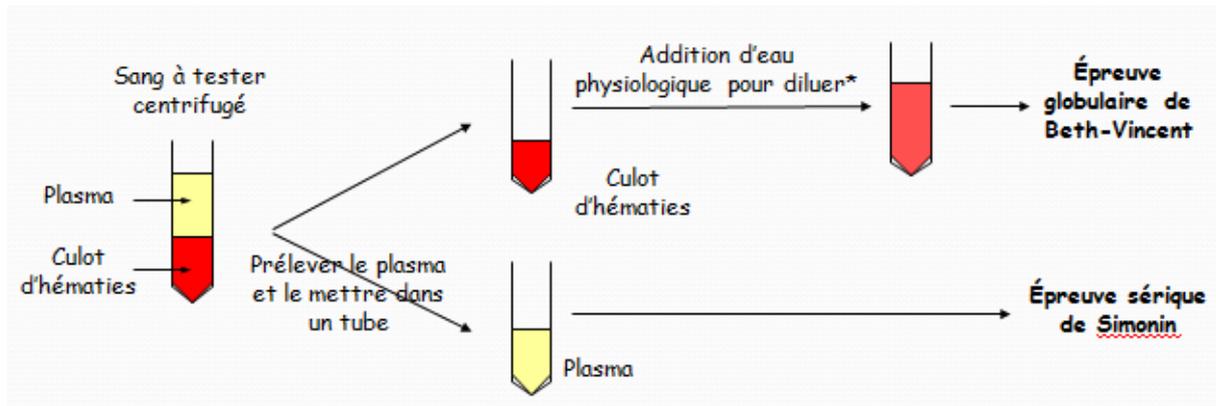


Figure 3 : Préparation de l'échantillon sanguin.

❖ Réalisation des témoins :

Ils sont au nombre de trois et sont indispensables pour valider les deux épreuves :

- **Témoin « auto »** = Hématies à tester + sérum à tester.
 - Résultat : Normalement pas d'agglutination.
 - Rôle : S'assurer que les hématies à tester ne sont pas auto agglutinables et qu'il n'y a pas d'auto-anticorps dans le sérum testé.
- **Témoin « allo »** = Hématies du groupe O + sérum à tester.
 - Résultat : Normalement pas d'agglutination.
 - Rôle : S'assurer que le sérum à tester ne contient pas d'Ac susceptible de réagir avec des Ag érythrocytaires autres que l'Ag A et l'Ag B.
- **Témoin « AB »** = Hématies à tester + sérum d'un individu du groupe AB.
 - Résultat : Normalement pas d'agglutination (car on n'a pas d'Ac anti-A et anti-B).
 - Rôle : S'assurer que les hématies testés ne sont pas agglutinés par des Ac sériques autres que les Ac anti-A et anti-B.

Mode opératoire :

- Épreuve de BETH-VINCENT : Les hématies à tester sont mises en contact avec des Ac sériques connus afin d'identifier les Ag présents sur ces hématies. (Figure 4)

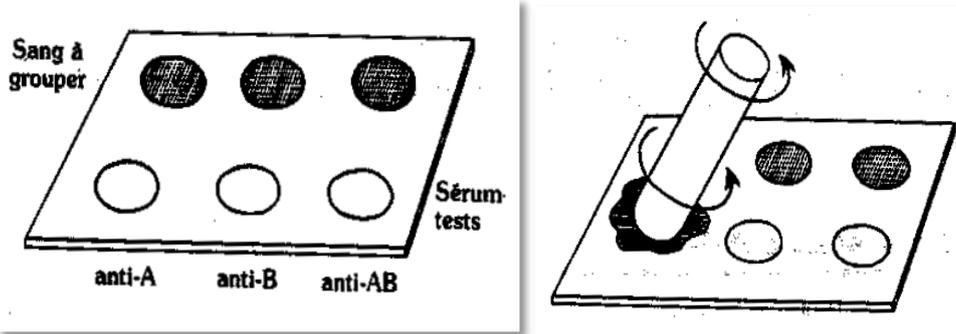


Figure 4 : Etapes de la réalisation de l'épreuve de Beth-Vincent sur plaque d'opaline.

• Épreuve de SIMONIN : Le plasma (ou le sérum) est mis en contact avec des hématies tests connues afin d'identifier les Ac présents dans ce plasma. (Figure 5)

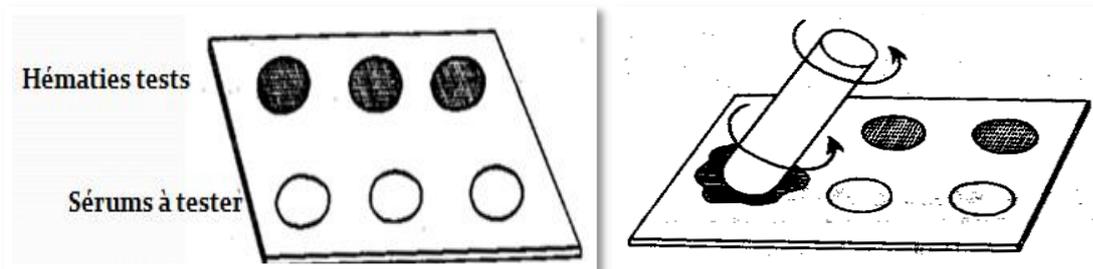


Figure 5 : Etapes de la réalisation de l'épreuve de Simonin sur plaque d'opaline.

Résultats et interprétations: (Tableau 6)

Tableau 6 : Résultats du système ABO.

Epreuve de Beth-Vincent (sérum tests)			Epreuve de Simonin (hématies tests)		
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Hématies A	Hématies B	
					Groupe A
					Groupe B
					Groupe AB
					Groupe O

	agglutination
	pas d'agglutination goutte de teinte homogène

Règles à respecter pour valider le groupe ABO :

- 2 Déterminations sur 2 prélèvements sanguins différents.
- Effectués si possible par 2 personnes différentes.
- Résultat définitif du groupe si 2 déterminations identiques.



2.1.2 Système Rhésus

Réactifs : Sérums tests, possédant chacun un type d'anticorps précis : anti-D (Rh1), anti-C (Rh2), anti-c (Rh4), anti-E (Rh 3), anti-e (Rh5). (Figure 6)



Figure 6: Sérums test de système Rhésus.

Principe : Il s'agit donc d'un test d'agglutination des globules rouges avec les sérums tests.

Résultats et interprétations :

Les sujets Rhésus positif sont ceux qui possèdent l'antigène D, les autres sont de Rhésus négatif. (Tableau 7)

Tableau 7 : Résultat du système Rhésus.

Détermination de l'Ag RH1 (sérums tests)		
Anti-RH1	Témoin	
		RH1 (D+)
		RH-1 (D-)

Règles de validité :

- 2 Techniciens différents et 2 lots de réactifs différents.
- 2 Déterminations sur 2 prélèvements sanguins différents.
- Effectués si possible par 2 personnes différentes.

2.1.3 Système KELL

Ce système se définit par la présence ou l'absence de l'antigène Kell.

Réactif : Anti-Kell. (Figure 7)



Figure 7: Serum test anti-Kell.

Principe : Il s'agit donc d'un test d'agglutination des globules rouges avec le sérum test.

Résultats et interprétations:

- Absence d'agglutination : Kell négatif.
- Présence d'agglutination : Kell positif.

→ Le phénotypage érythrocytaire sera présenté sur la figure 8 :

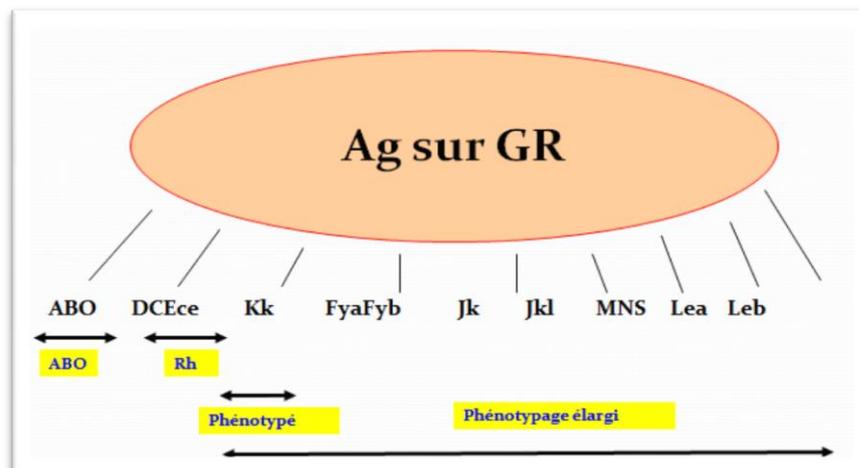


Figure 8 : Présentation du phénotypage érythrocytaire.

2.2 Recherche d'agglutinines irrégulières (RAI)

Cette technique permet la recherche d'anticorps, elle est réalisée obligatoirement avant toute transfusion de globules rouges.

Ces anticorps irréguliers (*Tableau 8*), peuvent apparaître après transfusion ou grossesse (immuns).



Tableau 8: Types d'anticorps irréguliers.

Les anticorps	Réguliers	Irréguliers
Naturels	Anti A, anti B	Anti Lewis, anti M, N, P
Immuns		Anti RH, anti KEL, anti FY, anti JK (anti A, anti B)*

* Hémolysines : Ne font pas partie des agglutinines irrégulières.

Matériel : Sérum du malade, tube à hémolyse en verre, pannel(O₁, O₂, O₃), enzyme broméline, eau physiologique, AGH.

La RAI se pratique par 2 méthodes simultanées :

❖ Méthode enzymatique :

Mode opératoire :

- Dilution des hématies tests O₁, O₂, O₃ à 5%.
- L'ajout de 50 microlitre (µl) de cellules test, 50 µl d'enzyme broméline et 100 µl de sérum de malade.
- Incubation à une température (T) de 37 C° pendant 10 min.
- Centrifugation : 1200 tours par min pendant 2 min.

NB : l'enzyme broméline a pour rôle de sensibiliser les hématies tests.

❖ Méthode saline :

Mode opératoire :

- Dilution des hématies tests O₁, O₂, O₃ à 5%
- L'ajout de 50 µl de cellules test et 100 µl de sérum de malade.
- Incubation à T= 37C° pendant 45 min.
- Lavage 3 fois des cellules tests par de l'eau physiologique afin d'éliminer les anticorps libres.
- L'ajout dans chaque tube une goutte d'AGH suivi d'une agitation.
- Centrifugation : 1200 tours par min pendant 2 min.

Résultats et interprétations:

- Absence d'agglutination : → Dépistage négatif : Absence d'anticorps irréguliers.
- Présence d'agglutination : → Dépistage positif : Présence d'anticorps irréguliers.

Quand le dépistage est positif : Une épreuve de compatibilité est réalisée au laboratoire.



Indications de la RAI :

- Avant toute transfusion de globules rouges :
 - Validité limitée dans le temps à 3jours.
 - Extension possible à 21 jours dans certaines circonstances.
- Bilan post transfusionnel 1 mois à 6 semaines après transfusion

Suivi de grossesse.

2.3 Epreuve Directe de Compatibilité au Laboratoire (EDC)

Principe : L'épreuve de compatibilité directe au laboratoire (EDC) est une RAI «personnalisée» qui consiste à mettre en présence le sérum du patient et les hématies à transfuser.

Cette analyse complète la RAI mais ne la remplace pas. Elle peut mettre en évidence des anticorps anti« privés », c'est-à-dire des anticorps dirigés contre des antigènes rarement rencontrés dans la population.

L'EDC s'applique :

- Pour tout patient à transfuser présentant, ou ayant présenté, ou suspecté de présenter un ou plusieurs allo-anticorps anti-érythrocytaires.
- En cas d'antécédent de réaction hémolytique même mineure.

Mode opératoire :

Identique à celui de la méthode saline de la RAI sauf qu'on remplace les hématies tests par les **hématies à transfuser.**

Résultat et interprétation :

- Si pas de réaction : C'est bon : C'est compatible.
 - Etiquette sur la poche avec l'identité du patient : on a « personnalisé » la poche avec une durée de validité de trois jours.

2.4 Test de Coombs direct ou TDA

Principe : Grâce à l'anti-globuline, qui est anti-anticorps, le test permet de mettre en évidence la présence d'anticorps reconnus spécifiquement par ce dernier.

Les hématies diluées à 5% sont mises en contact avec le sérum de Coombs. (*Figure 9*)

Ce test permet par exemple de diagnostiquer une anémie hémolytique auto-immune, de faire le bilan d'une incompatibilité fœto-maternelle ou d'une réaction transfusionnelle.

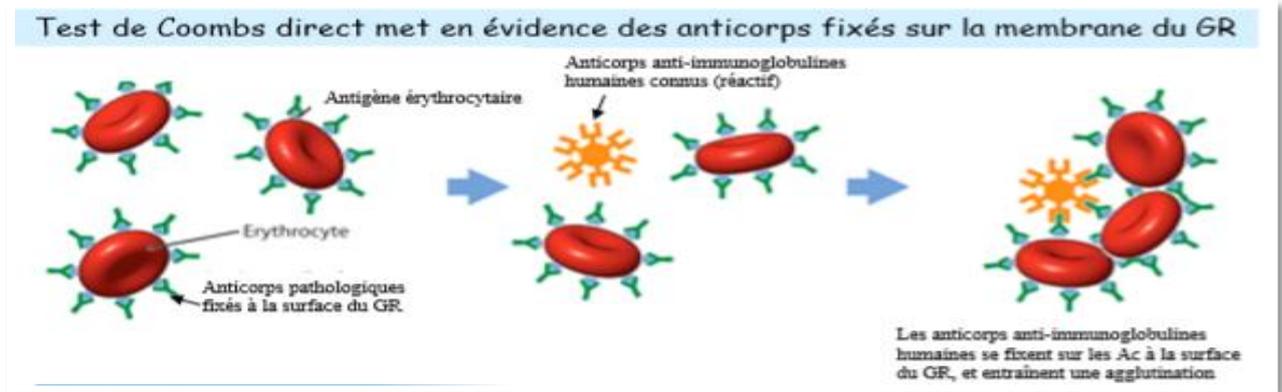


Figure 9: Principe du test de Coombs direct.

Matériel : Sang total du malade, AGH, tube à hémolyse en verre, eau physiologique.

❖ Technique en tube :

Mode opératoire :

- Lavage des globules rouges du patient (pour se débarrasser des immunoglobulines plasmatiques).
- Dilution des globules rouges à 5%.
- La mise en 3 tubes de 50 µl des GR dilué à 5% et de 50 µl de l'anti-globuline humaine: Réactif de Coombs polyspécifique qui contient des anti-IgG et antiC3d humains.
- Incubation des tubes respectivement aux températures suivantes : +4°C, +22°C, +37°C pendant 5 min.
- Centrifugation : 1200 tours par min pendant 2 min.

Afin de garantir les résultats des analyses, il est indispensable de réaliser un témoin réactif. Ce témoin réactif est composé des mêmes constituants que les autres réactifs (anti-IgG et anti-C3d) sans les anticorps spécifiques.

Toute positivité de ce témoin ne permet pas la validation des analyses.

Résultats et interprétations : (Figure 10)

- Absence d'agglutination : Résultat négatif.
- Présence d'agglutination : Résultat positif.

Stage de fin d'études

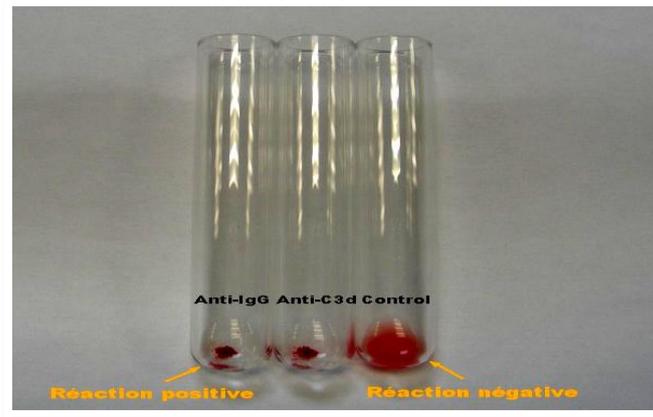


Figure 10: Résultat de la technique en tube du test de Coombs direct.

→ La présence d'une agglutination montre la présence d'hématies sensibilisées in vivo par des anticorps incomplets.

2.5 Technique de déleucocytation :

Principe : La déleucocytation consiste à soustraire aseptiquement la majeure partie des leucocytes d'un produit sanguin labile homologue à usage thérapeutique.

Matériel : Sang phénotypé, compatibilisé, filtre de déleucocytation, potence. (Figure 11)



Figure 11 : Dispositif de la déleucocytation.

Résultat : On obtient un sang déleucocyté.

3. 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 œuvre des règles d'Hémovigilance.

Chaque distribution doit faire l'objet successivement d'un contrôle de la commande, d'une sélection des PSL puis d'un contrôle de distribution.



RESULTATS ET DISCUSSIONS

Dans le but de recenser les différents établissements demandeurs des produits sanguins labiles à savoir de CGR, PFC, CPS, nous avons mené une étude statistique sur l'année 2014. et les résultats obtenus sont illustrés sur la figure 12.

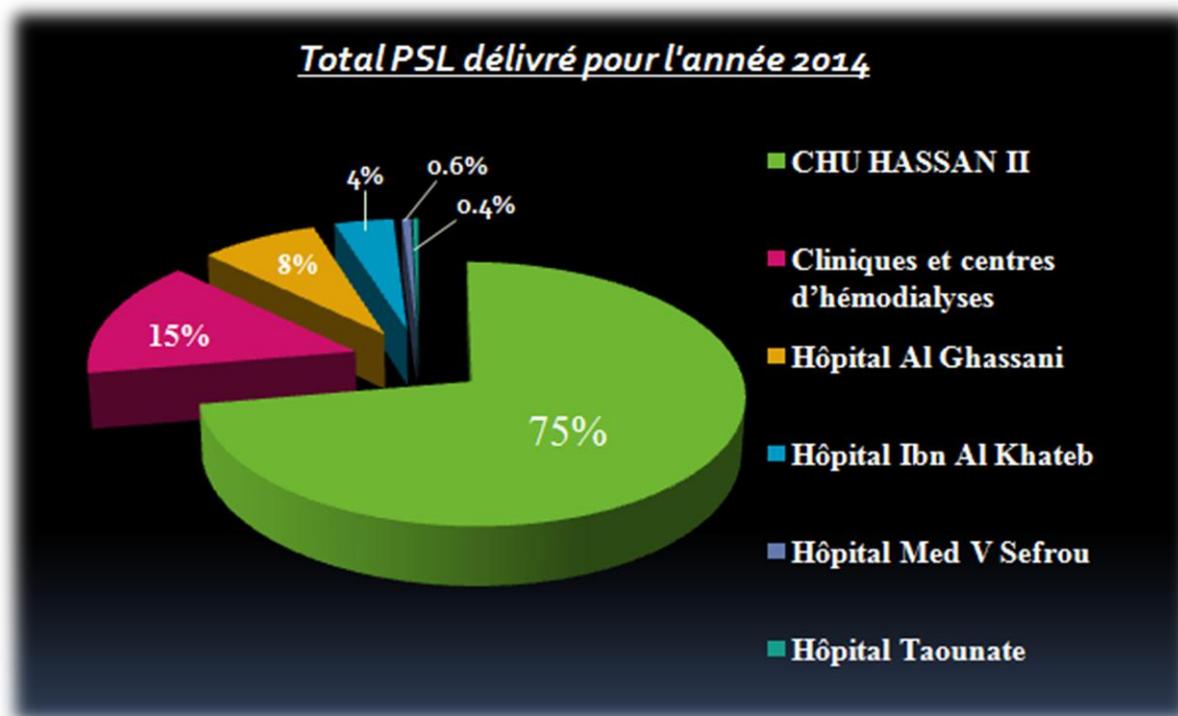


Figure 12 : Délivrance des PSL aux établissements de santé.

On remarque que le CHU HASSAN II, occupe la première place de demandeurs des PSL avec un pourcentage de 73%, suivi de cliniques et centres d'hémodialyses avec un pourcentage de 15%, après l'Hôpital Al Ghassani avec un pourcentage de 8%, Hôpital Ibn Al Khateb avec un pourcentage de 4%.



Un deuxième volet de cette étude s'intéresse à la classification des différentes PSL selon le besoin des différents centres demandeurs au cours de l'année 2014. Les résultats sont représentés sur la figure13.

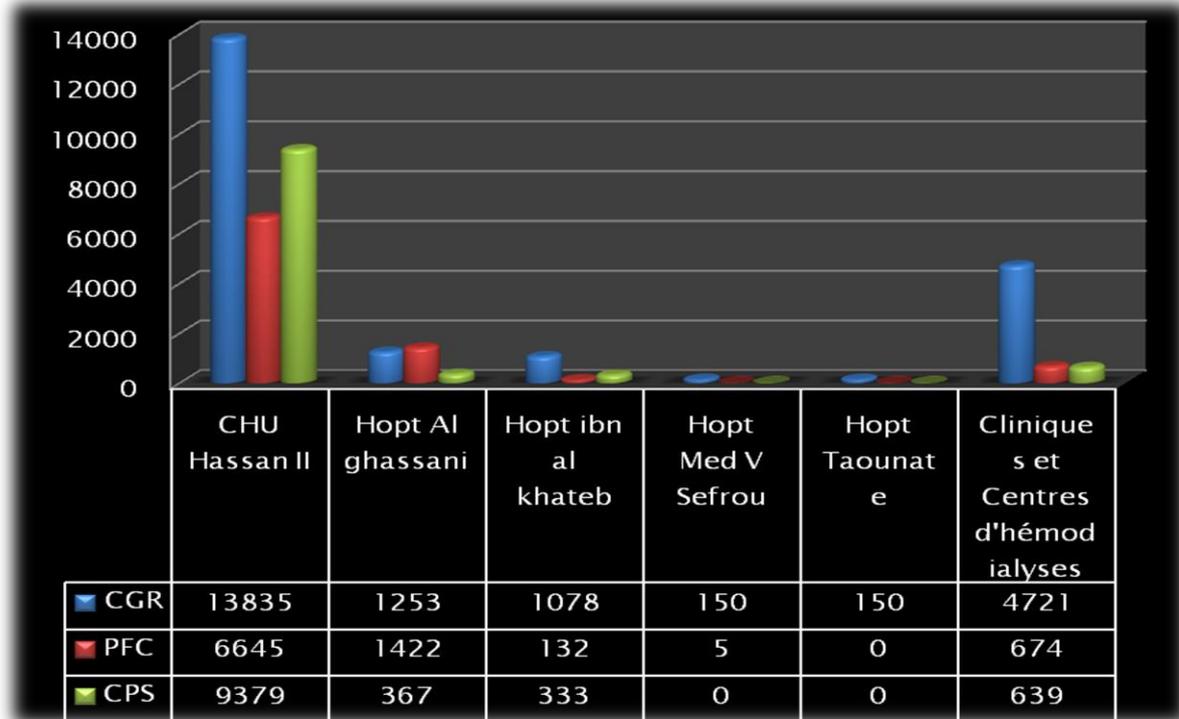


Figure 13: Répartition des établissements de santé selon le type de PSL délivré.

La figure 13 montre que le concentré globule rouge (CGR) est le produit sanguin le plus demandé par rapport aux autres produits par les établissements demandeurs de sang ceci est expliqué par la fréquence des pathologies qui se basent essentiellement sur les CGR comme traitement à savoir : l'anémie, l'hémodialyse pour l'insuffisance rénale, les hémorragies de délivrances, les actes chirurgicaux, les thalassémiques.....etc.

Par exemple la consommation du CHU Hassan II en CGR durant l'année 2014 est de 13 835 poches soit un taux de 46% par rapport au total de produits sanguin livrés.

Au niveau de l'hôpital Al Ghassani la consommation du plasma frais congelé (PFC) est plus élevé des autres PSL ceci est expliqué par la prise en charge des hémophiles au niveau du service de l'hématologie.



Conclusion générale

La Transfusion sanguine est une thérapeutique substitutive qui consiste à apporter à un patient les éléments du sang (globules rouges, plaquettes, granulocytes, plasma, protéines) qui lui font provisoirement défaut en raison d'une intervention chirurgicale (saignement lors de l'intervention), d'un traumatisme, d'une maladie (anémie ferriprive par exemple) ou d'un traitement (chimiothérapie aplasante). C'est une thérapeutique vitale.

Le CRTS joue un rôle primordial dans la qualification des produits sanguins labiles et l'approvisionnement des établissements demandeurs de sang selon leur besoin en PSL.

Outre, l'acte transfusionnel n'est réalisé qu'après un bilan pré-transfusionnel complet à savoir: groupage, phénotypage, RAI et épreuve de compatibilité en cas d'un RAI positif, sauf urgence vitale.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- [1] **Bennis I, Janah S, Benanjiba M, Elsevier Masson** (2013) - *Amélioration et optimisation du processus transfusionnel au Maroc : proposition d'une nouvelle organisation* : 2.
- [2] **Salhi S** (2012) - *Don de sang et circuit d'une poche au sein d'un centre de transfusion sanguine (présentation PPT)* : 2-9.
- [3] **Galinier Y, Tazerout M** (2005) - *Les clés d'hémovigilance manuel d'aide à la formation en transfusion sanguine* : 7-8
- [4] **Salhi S** (2014) - *Bilan immuno-hématologique pré-transfusionnel, (journée de formation des bonnes pratiques transfusionnelles au près du personnel paramédical de CHU Hassan II Fès* : 7-10.
- [5] **Dupraz F** (2007) - *Bonnes pratiques transfusionnelles de la prescription à l'acte, Française* : 21-26.
- [6] **Conseil supérieur de la santé** (2010) - *Publication du conseil supérieur de la santé N° 8381, Bonnes pratiques de transfusion à l'usage des hôpitaux* : 16-40.
- [7] **C@mpus National d'Hématologie, Société Française d'Hématologie** (2006) - *Transfusion sanguine et produits dérivés du sang indications, complications. Hémovigilance, Item 178 – Module 11* : 2-3.
- [8] **Renom P**, *Les différents PSL homologues.*
- [9] **Collant M, PhB, Luxembourg Red Cross**, *Description et utilisation des PS05, PS09, PS89 et PS18* : 4-15.
- [10] **Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé, Haute Autorité de Santé** (2012) - *Transfusion de plasma thérapeutique : Produits, indications* : 8.