UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

Utilisation des PSL chez le malade attend de la leucémie

Présenté par : **AMRANI Fatimazahra**

Encadré par : Pr.BENCHEMSI Najoua(FST Fès)

Dr : SALHI Souad (CRTS de Fès)

Soutenu le : **Le 12/06/2019**

Devant le jury composé de :

Pr.BENCHEMSI Najoua

Pr. EL ABIDA Kouakib

Dr.SALHI Souad

Stage effectué au Centre Régional de Transfusion Sanguine, Fès
Année universitaire 2018-2019

Dédicace

Je 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.

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

Mes amis et mes copains sans oublier mes collègues de La FST-FES et tous les gens qui m'ont soutenu et conseillé pendant ma période de stage. Sans oublier bien sûr toutes les personnes qui m'ont aidée à forger ma personnalité et d'arriver à ce que je suis maintenant.

Remerciement

Ce présent rapport serait incomplet sans un mot de remerciement pour tous ceux qui ont, de prés ou de loin, contribué à la réalisation de ce travail.

De prime abord, je tiens à remercier l'ensemble du personnel du département des sciences de la vie.

Je tiens à remercier **Pr. BENCHEMSI Najoua**, **Pr. EL ABIDA Kouakib** et **Dr.SALHI Souad** pour l'honneur qu'ils m'ont fait en participant à mon jury de soutenance

Merci à tous.

Table des matières

INTRODUCTION 1

Présentation du lieu de stage 2

Partie bibliographique 4

1. La leucémie 5

1.1 Définition : 5

1.2 La leucémie aiguë : 6

1.2.1. La leucémie aigue lymphoïde (LAL) : 6

1.2.2. La leucémie aigue myéloïde (LAM) : 6

1.3. La leucémie chronique (LC) : 7

1.3.1 La Leucémie lymphoïde chronique : 7

1.3.2. La Leucémie myéloïde chronique : 7

2. Caractéristiques de la leucémie 7

2.1. ETIOLOGIE : 7

2.2. Les symptômes de la leucémie 8

2.3. Le diagnostic 9

2.4 Traitements de la leucémie 9

Partie pratique 11

MATERIEL ET METHODES 12

1-Matériel 12

2-Méthodes 18

Résultats et discussion 23

2-Discussion 25

Conclusion 27

LISTE DE FIGURE

Figure 1: Demande ou ordonnance médicale des PSL 12
Figure 2: Plaques d'opaline et microplaque 13
Figure 3: Centrifugeuse de Tube 13
Figure 4: Centrifugeuse ''BIO-RAD'' de microplaque 14
Figure 5: Centrifugeuse ''BIO-RAD'' des cartes gels 14
Figure 6: Incubateur ''BIO-RAD'' 15
Figure 7: Agitateur des microplaques 15
Figure 8: Réactifs du groupage sanguin ABO Rh1 15
Figure 9: réactifs du phénotype rhésus et Kell 16
Figure 10: Carte gel ''Liss-Coombs'' pour le test de Coombs Direct 16
Figure 11: Carte gel ''LISS-Coombs'' pour le test de Coombs Indirect (RAI). 17
Figure 1212:tube sec et tube EDTA 17
Figure 13: Carte gel ''LISS-Coombs'' pour le test de Coombs Indirect (RAI). 18
Figure 14: Détermination du groupe sanguin pour chaque échantillon 19
Figure 15: Microplaque remplie par les différents réactifs 20
Figure 16: Résultats du système ABO 20
Figure 17: Résultat du système Rhésus 21
Figure 18: Tubes à hémolyse contenants les hématies-tests après lavage 21
Figure 19: A gauche, test de RAI négatif, et à droite, dans le puit 2 test de RAI positif 22
Figure 20: fréquence des demandes diagnostiquées par la leucémie 23
Figure 21: nombre "des trois composantes du sang" demandés et ceux livrés 24
Figure 22: Taux de satisfaction des demandes en PSL 24

Listes d'abréviations

Ac: Anticorps.

Ag : Antigène

CGR : Concentrés des Globules Rouges.

CHU : Centre d'Hospitalisation Universitaire

CPS : Concentrés de la plaquette standard

CRTS : Centre Régional de Transfusion Sanguine.

GB : Globules Blancs

IHR: Immuno-Hémat Receveur

LAL : La leucémie aigue lymphoïde

LAM : La leucémie aigue myéloïde

LC : Leucémiechronique

LISS: Low Ionized Strength Solution

LMC : La Leucémie Myéloïde Chronique

NFS : numération formule sanguine

PFC : Plasma frais congelé.

PSL : Produits sanguins labiles

RAI : Recherche d'Agglutinines Irrégulières.

Rh : Rhésus

TCDL : Test de Compatibilité Direct au Laboratoire

TCI : Test de Coombs Indirect.

INTRODUCTION

La **leucémie** (du grec *leukos*, blanc, et *haima*, sang) est un cancer des cellules de la moelle osseuse (les cellules de la moelle produisent les cellules sanguines, d'où le terme parfois utilisé de *cancer du sang*. Elle se caractérise par la production d'un grand nombre de globules blancs dans la moelle osseuse. Ces cellules immatures sont incapables d'exercer des fonctions normales. Le cancer débute dans la moelle osseuse mais se propage dans le Sang, les Ganglions Lymphatiques, la Rate, le Foie, le Système Nerveux Central (le Cerveau et la Moelle Épinière), les Testicules et autres organes. La leucémie peut être aigüe (à croissance rapide) ou chronique (à croissance lente). Elle peut aussi être classée comme myéloïde ou lymphoïde, selon le type de globules blancs affecté.

La transfusion sanguine est une thérapeutique substitutive du sang ou l'un de ses composants. Elle consiste à administrer les produits sanguins(globules rouges, plaquettes, plasma) provenant d'un ou plusieurs sujets sains appelés « donneurs », à un ou plusieurs sujets malades appelés « receveurs ». [1]

Sans cette forme de 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.

En outre, 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. [2]

Le thème retenu dans le cadre de ce stage est «la leucémie».

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. De plus, Les objectifs de mon stage sont :

- ✓ Etude bibliographique de la leucémie.
- ✓ Le découvert et l'identification des différentes activités qui se déroulent à l'intérieur du centre de transfusion sanguine.
- ✓ La réalisation d'une étude statistique sur l'utilisation des PSL chez les patients atteints la leucémie.

Présentation du lieu de stage

Le Centre Régionale de Transfusion Sanguine de Fès (CRTS)situé à proximité de CHU Hassan II, inauguré par sa Majesté le Roi Mohamed VI le 03 Mars 2013, soumise sous le service du Ministère de la Santé publique , chargé de collecter les dons du sang, de les qualifier biologiquement et de satisfaire les besoins de tous les malades hospitalisés dans les établissements de soins publics ou privés de Fès et ses régions.

Le CRTS a pour missions de recevoir le sang des donneurs, de réaliser des examenscomplémentaires biologiques pour s'assurer de la qualité et de l'opportunité d'utiliser ce sanget de constituer un stock de sécurité pouvant être utilisé lors des interventions chirurgicales,les accidents de la voie publique, les hémorragies chez les femmes enceintes ou le traitementde maladies chroniques tel que le cancer.

Le CRTS comporte deux secteurs :

** Secteur du donneur, qui comporte :

Accueil : c'est la phase de l'inscription du donneur et l'enregistrement de sesdifférentes informations : Nom, Prénom, Age, numéro de téléphone, CIN…etc.

Consultation médicale : l'entretien effectué avant chaque don par un médecin selonune procédure bien définie afin de sélectionner le donneur qui ne présente aucunecontre-indications au don qui peut affecter sa sécurité ou celle du receveur.

Prélèvement : Le prélèvement est effectué par des infirmiers, la récolte se fait sousforme de sang total dans une poche triple spéciale de 600 ml et deux prélèvement sur tubes EDAT provenant de la même poche du sang total poureffectuer les analyses de la qualification biologique de don de sang (QBDS): L'immuno-hémato donneur et lasérologie.

** Secteur technique, qui comporte :

Laboratoire d'immuno-hémato Donneurs : La détermination du groupe sanguin ABO Rh-Kell pour chaque échantillon, la recherche des anticorps anti érythrocytairesqui peuvent causer des conflits immunitaires chez le receveur et les hémolysines

Laboratoire de sérologie : dans lequel s'effectue le dépistage de l'hépatite B (HBs), l'hépatite C (HCV), le Sida ($HIV_{1,2}$) et la Syphilis (TPHA)

Laboratoire de production et préparation de PSL **(*produits*** sanguins labiles) : Les poches de sang total prélevées subiront une centrifugation pour être fractionnées enconcentré de globule rouge (CGR), plasma frais congelé PFC et concentré deplaquettes standard CPS).

Laboratoire d'étiquetage et conservation : Une fois les produits sanguins subissenttous les contrôles, ils seront ensuite étiquetés et conservés dans des conditionsoptimales.

• Les globules rouges : 42 jours au réfrigérateur entre +2 et +8°C

• Les plaquettes : 5 jours dans un incubateur-agitateur entre 18 et 24°C sous agitationcontinue

• Le plasma : Après une congélation rapide ou une surgélation à -80°C, il peut êtreConservé une année à -25°C.

Laboratoire d'immuno-hémato receveur et de distribution : Le sang préparé et qualifié, est distribué ensuite aux malades suite à une prescription médicale des établissements demandeurs après le bilan prétransfusionnel.

Partie bibliographique

1. La leucémie

1.1 Définition :

La leucémie est un cancer qui résulte d'une production excessive de globules blancs qui peuvent être immatures (leucémie aiguë) ou mature (leucémie chronique). Les cellules leucémiques peuvent interférer avec la production des globules rouges (qui transportent l'oxygène) et celle des plaquettes (qui maitrisent les saignements). Normalement, les globules blancs jouent un rôle important dans le système naturel de défense du corps, ils s'attaquent aux corps étrangers, et les détruisent. Les globules blancs sont fabriqués dans la moelle des os .sans globules blancs sains et fonctionnels, l'organisme risque de développer des infections graves et parfois mortelles (Mandeville, R .1988, P : 10).

Les quatre principaux types de leucémie sont :

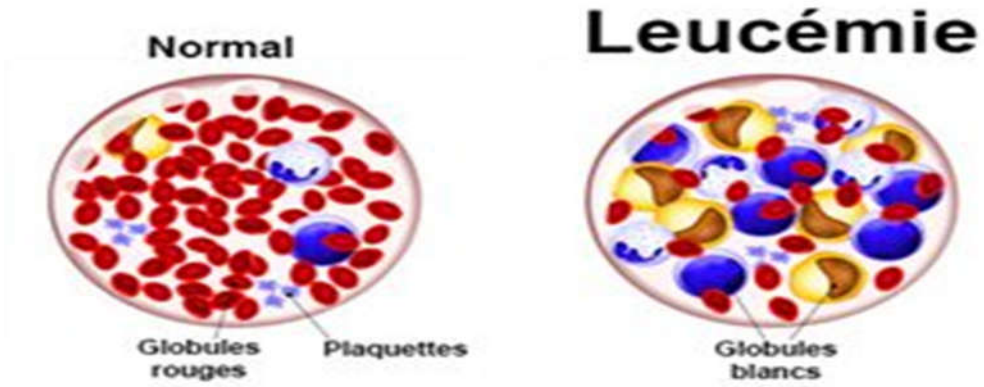
** La leucémie aigue lymphoïde (LAL) :le type le plus commun de leucémie chez les jeunes enfants. Elle affecte aussi les adultes, particulièrement ceux qui sont âgés de plus de 55 ans.

** La Leucémie lymphoïde chronique : affecte le plus souvent les adultes âgés de plus de 55 ans. Elle affecte quelques fois les jeunes adultes, mais pour ainsi dire jamais les enfants.

** La leucémie aigue myéloïde (LAM) : affecte à la fois les adultes et les enfants.

** La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) : affecte surtout les adultes. Elle se manifeste très rarement chez les enfants.

Les enfants nés de femmes enceintes ayant subi des rayons-X pendant la grossesse sont plus susceptibles de développer une leucémie aigüe entre l'âge de 2 et 4 ans.



1.2 La leucémie aiguë :

Son évolution est très rapide. Les cellules anormales ne parviennent pas à maturité et s'accumulent dans la moelle osseuse. Les symptômes apparaissent rapidement et le traitement doit être débuté le plus vite possible.

La leucémie aiguë est principalement classée en fonction de leur lignée d'origine et du niveau de blocage de la maturation des blastes, en se basant sur leur morphologie, leurs marqueurs de surface (immun phénotype) et parfois des anomalies de leurs chromosomes. On distingue donc :

- Des Leucémies aigues lymphoïdes.
- Des leucémies aigues myéloïdes.

1.2.1. La leucémie aigue lymphoïde (LAL) :

C'est la forme de leucémie la plus fréquente chez les enfants (75%) mais il faut savoir qu'elle touche également un grand nombre d'adulte et des personnes de plus de 65ans. Elle est du a une division incontrôlée et excessive (= prolifération) des cellules lymphoïdes qui sont bloqué a un stade précoce de différenciation. Ce type de leucémie affecte principalement la moelle osseuse et le sang périphérique mais tout les organes et tissus peuvent êtres infiltrés par les cellules anormales. La moelle osseuse est envahie de cellules malignes immatures. Ces leucémies sont généralement accompagné d'une accumulation dans le tissu sanguin d'un nombre anormalement élevé de globules blancs immature (=blaste).

1.2.2. La leucémie aigue myéloïde (LAM) :

La LAM est une forme de cancer qui touche les cellules de la moelle osseuse, qui produisent normalement les globules rouges, les plaquettes, les polynucléaires. Dans la LAM, les précurseurs des polynucléaires ou des monocytes prolifèrent de façon anarchique, sans "mûrir" (sans se différencier). L'accumulation de ces cellules "immatures" (cellules leucémiques ou balistiques) empêche la production des autres types cellulaires, ce qui conduit à une anémie (manque de globules rouges et baisse de l'hémoglobine), une neutropénie (manque de polynucléaires) et une Thrombocytopénie (baisse des plaquettes). Les cellules leucémiques présentes dans la moelle osseuse ont tendance à passer dans le sang, ce qui permet un diagnostic facile par une numération formule sanguine [3]

La LAM est une maladie rare et grave, à progression rapide, plus fréquente chez le sujet âgé. L'âge médian au diagnostic s'élève à 67 ans dans les pays développés. Il s'agit de la

leucémie aiguë la plus fréquente chez l'adulte. 2 791 nouveaux cas ont été recensés en France métropolitaine en 2012. En rechute, la médiane de survie est comprise entre 3 et 6 mois [4].

1.3. La leucémie chronique (LC) :

Les cellules anormales ont le temps d'arriver à maturité, Le processus est donc beaucoup plus long et s'étale sur plusieurs années. Ce type de leucémie concerne principalement les personnes âgées.

Il existe deux types de leucémies chroniques, distinguées selon le type de cellules affectées : la Leucémie lymphoïde chronique et la Leucémie myéloïde chronique.

1.3.1La Leucémie lymphoïde chronique :

Elle touche principalement les personnes âgées de plus de 60ans (75%). Elle est du a une augmentation de cellules qui composent le tissu lymphoïde accompagné d'une accumulation de petits lymphocytes. Elle affecte les ganglions envahissent progressivement la moelle et passent ensuite dans le sang.

1.3.2. La Leucémie myéloïde chronique :

C'est la variété la plus fréquente des leucémies. Elle concerne assez souvent les personnes âgées de 45ans. Elle ce caractérise par une augmentation considérable du nombre de globules blanc dans le sang du malade (elle peut passer de 100 à 300000). Elle se caractérise par une prolifération d'allure cancéreuse des cellules provenant de cellules mûres issues de l'hématopoïèse (mécanisme de la moelle osseuse à l'origine de la production des cellules sanguines).

Ces différentes leucémies sont de gravité et de pronostic variables. Mais toutes ont en commun un risque infectieux (à cause de la baisse du nombre de globules blancs fonctionnels), un risque hémorragique (par diminution des plaquettes) et un risque de complications liées à l'anémie (raréfaction des globules rouges).

2. Caractéristiques de la leucémie

2.1. ETIOLOGIE :

Plusieurs facteurs sont connus pour augmenter les risques d'apparition d'une leucémie :

-Facteurs génétique (anomalies chromosomiques dans les cellules leucémiques. hérédité familial, mutations dans les gènes présents dans certaines cellules).

-Les radiations ionisantes (radioactivité)

-Substances chimiques (comme le benzène, mais aussi certains médicaments, tels les cytostatiques et les immunodépresseurs).

-Les virus(HTL).

La cause de la maladie reste cependant inconnue dans 9 cas sur 10. (Ségala G.2006, P : 1).

2.2. Les symptômes de la leucémie

Du fait de l'envahissement de la moelle osseuse par les cellules anormales, la production des autres cellules sanguines est insuffisante. Ce phénomène est à l'origine des principaux symptômes.

- ✓ **L'anémie**

La diminution du nombre de globules rouges peut entraîner une anémie. Elle se traduit par une pâleur excessive et un essoufflement.

- ✓ **Les saignements**

Le manque de plaquettes peut quant à lui induire des saignements importants. En effet, les plaquettes ont un rôle très important dans le processus de coagulation.

- ✓ **Les infections**

Du fait de la modification de précurseurs des globules blancs, ceux formés sont anormaux et donc non fonctionnels. Le taux de globules blancs « actifs » dans le sang diminue ce qui augmente le risque d'infection.

Les symptômes varient en fonction de la forme de la maladie.

Dans le cas d'une leucémie aigüe, ils apparaissent en quelques jours ou quelques semaines et s'apparentent la plupart du temps à une grippe.

Dans le cas d'une leucémie chronique, Les signes apparaissent graduellement comme :

-la fièvre, des maux de tête.

- Une faiblesse ou une fatigue persistante, anémie, essoufflement, une pâleur, battements de cœur rapides, des étourdissements,

-Des infections fréquentes (poumons, voies urinaires, gencives, contour de l'anus, herpès ou feux sauvages).

-Une perte d'appétit.

-Une perte de poids.

-Des ganglions enflés, le foie ou la rate gonflée.

-Des saignements (nez, gencives, menstruations abondantes) ou des ecchymoses fréquentes.

-Des petits points rouges sur la peau

-Une sudation excessive, surtout la nuit.

-Des douleurs ou une sensibilité aux os.

-Des troubles de la vue.

2.3. Le diagnostic

Dans un premier temps, le diagnostic se fait avec une prise de sang (numération formule sanguine ou NFS). La quantité et la qualité des globules blancs, globules rouges et plaquettes sont ainsi évalués.

Si ces taux sont anormaux, un myélogramme est réalisé. Il s'agit d'une ponction de moelle osseuse sous anesthésie locale au niveau du sternum (os plat au milieu de la poitrine) ou de la hanche. Une petite quantité de moelle osseuse est ainsi prélevée et permet l'analyse de sa composition. Cela permet de déterminer le type de leucémie (myéloïde ou lymphoïde).
Des examens d'imagerie (scanners, IRM, …) sont prescrits dans certains cas pour évaluer l'étendue de la maladie en dehors du système sanguin : dans le foie, la rate, les ganglions ou d'autres organes.

2.4Traitements de la leucémie

L'objectif des traitements contre la leucémie est d'éliminer les cellules malignes sans affecter les cellules normales de la moelle osseuse.

Selon le type de leucémie, l'âge du patient et son état de santé, plusieurs traitements sont disponibles :

La chimiothérapie :

Le but de la chimiothérapie est de détruire les cellules anormales et donc de «nettoyer» la moelle osseuse. Malheureusement, la chimiothérapie va également détruire les cellules normales qui produisent les globules rouges et les plaquettes ; leur nombre va alors chuter. Cette phase est dite d'aplasie [5].

Le patient est alors sans défenses immunitaires et est donc très sensible aux infections bactériennes et par des champignons. Il peut être hospitalisé dans des structures stériles pour limiter ce risque.

En plus du risque infectieux, il existe un risque important d'hémorragie lié à la diminution des plaquettes. Pour limiter ces risques, des transfusions sanguines peuvent être réalisées pour augmenter les quantités de globules rouges et de plaquettes chez le malade, le temps que son corps en produise de nouveau.

La radiothérapie :

Les traitements de radiothérapie utilisent des rayons ou des particules de haute énergie pour détruire les cellules cancéreuses. Cette technique est administrée pour traiter ou prévenir la propagation de la maladie au système nerveux central et en préparation à une greffe de cellules souches.

Le traitement par la transfusion sanguine :

Une personne atteinte de cancer peut avoir besoin d'une transfusion sanguine pour remplacer la baisse des cellules sanguines (Animé : diminution du taux de l'hémoglobine, thrombopénie : taux de plaquette bas) causé par:

*Les traitements du cancer, dont de nombreux agents chimio thérapeutiques, peuvent affecter les cellules sanguines de la moelle osseuse et faire baisser leur nombre.

* Une radiothérapie administrée à une grande partie du squelette ou aux os du bassin peut affecter la moelle osseuse et engendrer une baisse du nombre de cellules sanguines.

*Une personne qui a une greffe de cellules souches reçoit de fortes doses de chimiothérapie ou de radiothérapie ou bien des deux.

Ces traitements détruisent les cellules qui fabriquent le sang dans la moelle osseuse. Le nombre de cellules sanguines de ces personnes est souvent très bas pendant 10 à 20 jours à la suite de la greffe et elles peuvent avoir besoin de transfusions de produits sanguins.

La greffe ou l'autogreffe de moelle osseuse ou de cellules souches :

Après un traitement de chimiothérapie et de radiothérapie, le patient reçoit une injection de moelle osseuse ou de cellules souches qui permettent de reformer la moelle osseuse. Les cellules souches peuvent provenir d'un donneur ou du patient lui-même (= autogreffe). Cette technique sert de traitement aux personnes de moins de 55 ans.

La thérapie ciblée :

Ce traitement en phase chronique de la maladie est généralement associé à une bonne réponse thérapeutique. En absence d'efficacité ou si celle-ci s'avère insuffisante, il est possible de remplacer le médicament prescrit par un autre inhibiteur de tyrosine kinase.

Actuellement, plusieurs médicaments de ce type sont en effet disponibles. On note qu'il est nécessaire de prendre le traitement de façon continue, c'est-à-dire tous les jours sans interruption. [6].

Traitement de soutien :

Différents médicaments peuvent être administrés pour maîtriser les complications dues au traitement, par exemple, des antibiotiques et des antifongiques pour combattre les infections, des produits sanguins lorsque le nombre de cellules sanguines est bas, des facteurs de croissance pour stimuler la production de globules blancs, des médicaments qui réduisent les taux élevés de certaines substances chimiques dans le sang.

Suivi après le traitement :

Les patients qui ont obtenu des traitements contre la leucémie doivent être suivis régulièrement durant environ 5 ans, même s'ils ne présentent aucun signe de la maladie.

Partie pratique

MATERIEL ET METHODES

Cette étude a été effectuée au Centre Régional de Transfusion Sanguine de Fès.

C'est une étude prospective qui s'est déroulée du 02 Avril au 20 Mai 2019 soit une durée d'un mois et demie. Plus précisément au sein du laboratoire d'Immuno-Hémato Receveur et de distribution des PSL.

L'outil principal utilisé pour recueillir les principales donné traité statistiquement à propos des malades leucémique est la demandes de PSL (Ordonnance médicale)

1-Matériel

1.1. Demande de produits sanguins:

L'ordonnance médicale (datée et signée) comporte obligatoirement pour tout produit :

- ✓ L'identification du receveur (Figure 1);
- ✓ Le type et le nombre de produits demandés ;
- ✓ La date et l'heure prévues de la transfusion.
- ✓ Renseignement clinique : pathologie, résultats biologiques, indication ;
- ✓ Bilan immuno-hématologique : carte de groupe, recherche d'agglutinines irrégulières de moins de 72 heures.
- ✓ 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

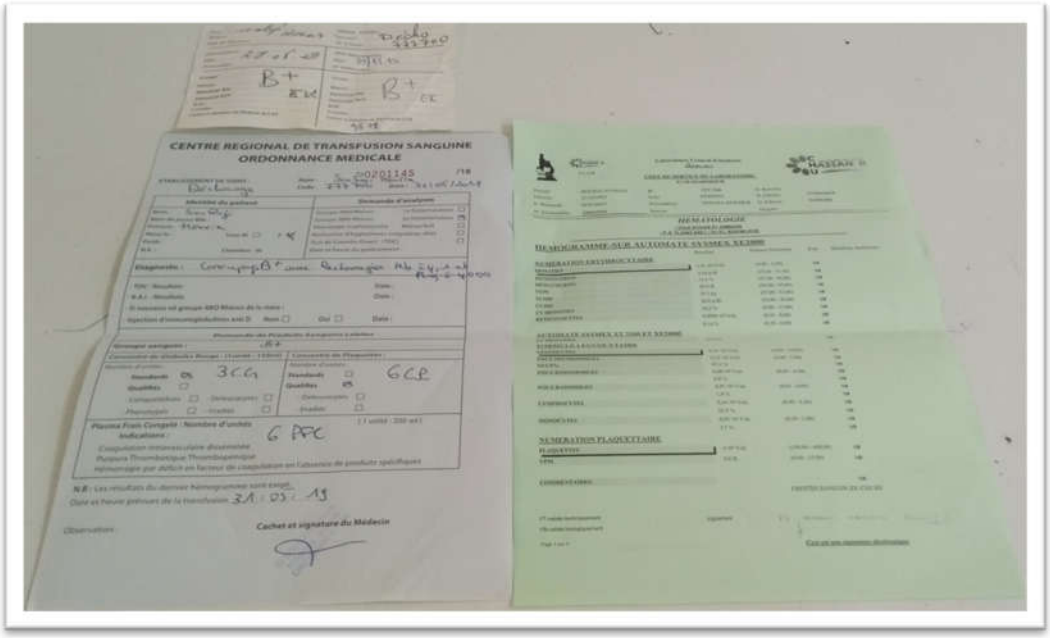


Figure 1: Demande ou ordonnance médicale des PSL

●Appareils

La réalisation du bilan pré-transfusionnel nécessite l'utilisation d'un ensemble de matériel.

a)Plaques d'opalines et Microplaques

laplaque d'opaline et microplaque sont utilisées pour la dermination du groupe sanguin ABO Rh-Kell (figure 2).

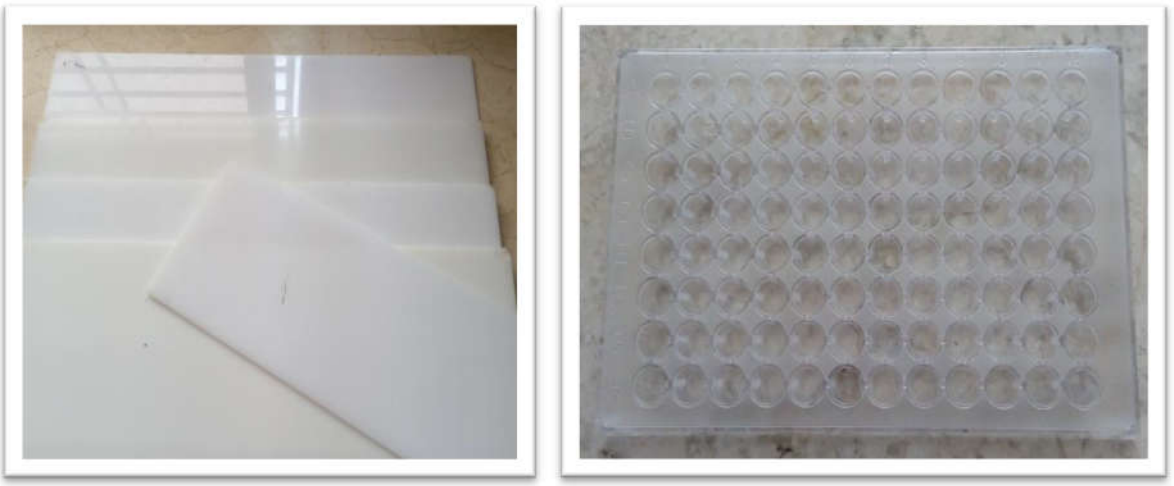


Figure 2: Plaques d'opaline et microplaque

Une microplaque contient 8 lignes (A, B, C, D, E, F, G, H.), chaque ligne est constituée de 12 puits au total 96 puits. Dans une seule microplaque on détermine le groupage ABO D et le phénotype RH-KEL pour 8 échantillons de sang différents.

b) Centrifugeuses:

Il existe trois centrifugeuses différentes :

-Une centrifugeuse de tube modèle ''HERAEUS MEGAFUGE 8'', elle permet de Centrifuger 28 tubes au même temps.

Figure 3: Centrifugeuse de Tube

-Une centrifugeuse de microplaque, modèle ‘’Bio-Rad’’, elle permet la centrifugation de12microplaques au même temps.

Figure 4: Centrifugeuse ‘’BIO-RAD’’ de microplaque

- Et une troisième pour la centrifugation des cartes gels utilisées pour la RAI et le test deCoombs directs, modèle ‘’ Bio-Rad’’, et elle permet la centrifugation de 12 cartes gels.

Figure 5: Centrifugeuse ‘’BIO-RAD’’ des cartes gels

c).Incubateur

Figure 6: Incubateur ''BIO-RAD''

d) Agitateurs

Figure 7: Agitateur des microplaques

- **Les réactifs**

Figure 8: Réactifs du groupage sanguin ABO Rh1

*sérum tests antiC, antic, antiE, antie et antik.

Figure 9: réactifs du phénotype rhésus et Kell

-Pour les tests de Coombs (Direct et Indirect), on utilise une Carte gel ‘’Liss-Coombs’’ (LotE000140), composée de six micro-tubes remplis de gel qui est imprégné d’une Anti-GlobulineHumain (AGH), polyspécifique (anti-IgG/C3d) pour la détection des anticorps et desfragments de complément.

Figure 10: Carte gel ‘’Liss-Coombs’’ pour le test de Coombs Direct

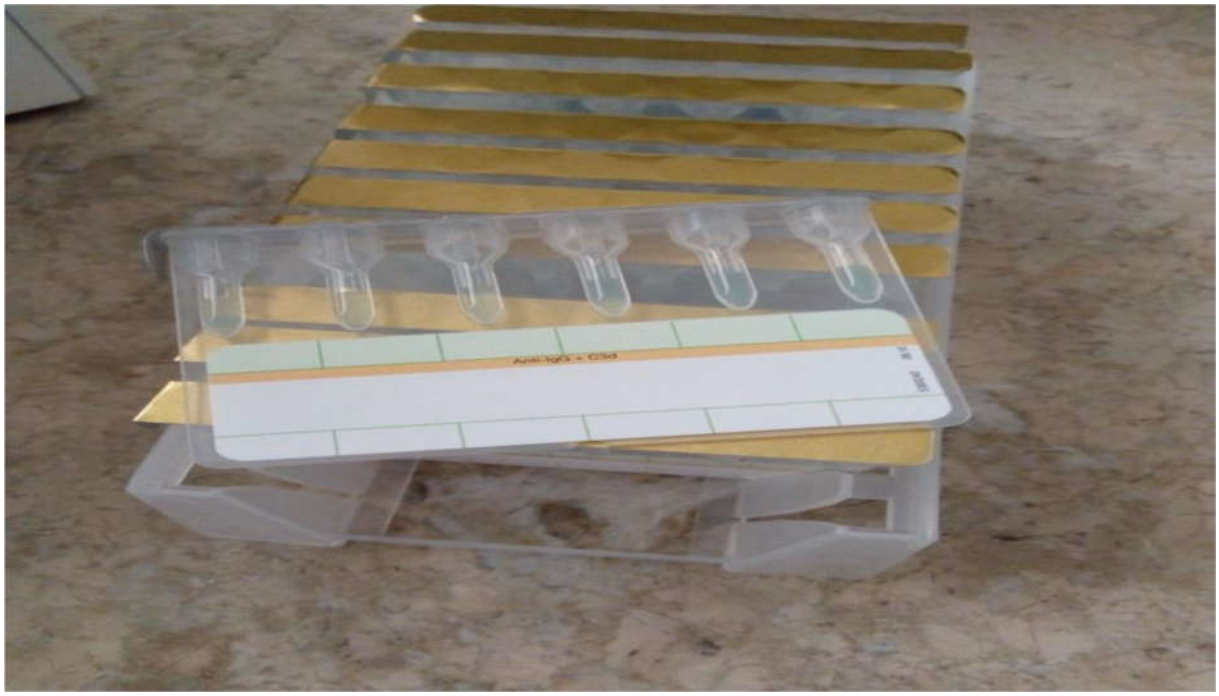


Figure 11: Carte gel ''LISS-Coombs'' pour le test de Coombs Indirect (RAI).

* L'échantillon :

Pour chaque sujet malade, deux prélèvements du sang ont été effectué : un flacon sec et stérilisé pour RAI et un tube EDTA pour groupage sanguin ABO Rh-Kelle (figure 12). Chaque prélèvement doit être accompagné d'une fiche d'identification qui comprend : (Nom et prénom, numéro d'entrée (IP) dans son établissement de soin).

Figure 12:tube sec et tube EDTA

AUTRES MATERIEL :

- ✓ Micropipette
- ✓ Cônes jaunes et bleues
- ✓ Portoir de tube
- ✓ Pissette remplie d'eau physiologique

- ✓ Tubes à hémolyse

Pour la dilution des réactifs et des hématies, on utilise :

-L'Albumine à 1%, diluent des sérums-tests ;

-LISS (LowIonizedStrength Solution), diluent des hématies impliquées dans les tests de Coombs (Direct et Indirect) réalisés sur la Carte gel ''LISS-Coombs'', sinon on dilue avec del'eau physiologique lorsque le test est effectué sur les tubes.

2-Méthodes

a).Groupage ABO-Rhésus et phénotypage RH-KEL :

La technique manuelle, sur plaque et microplaque, employée repose sur le principe de l'hémagglutination. Les hématies à tester porteuse d'un antigène, agglutinent en présence du réactif contenant l'anticorps correspondant.

La détermination du groupe ABO comporte deux test, une épreuve globulaire et uneépreuve plasmatique/sérique, plus la détermination de l'antigène D.

***Sur la plaque d'opaline :**

Pour l'épreuve globulaire (BETH-VINCENT) **:**

Les hématies à tester sont mises en contact avec des réactifs connus afin d'identifier les Ag présents sur ces hématies. On dépose 25µl des réactifs: anti- A, anti-B, anti-AB et anti D, puis on rajoute avec une micropipette 25µl le sang du patient.

Pour l'épreuve sérique**(**SIMONIN**) :**

Consiste à rechercher les anticorps anti-A et anti-B, à l'aide des hématies-test A et B.

On dépose 25µl des hématies-test connus A et B, puis on rajoute avec une micropipette, lesérum du patient après centrifugation du sang (4000tpm pendant 2min).

Figure 12: Carte gel ''LISS-Coombs'' pour le test de Coombs Indirect (RAI).

Après dépôt des réactifs et du sang, on mélange chaque goutte de réactif avec la goutte dusang déposée.

***Lecture des résultats**

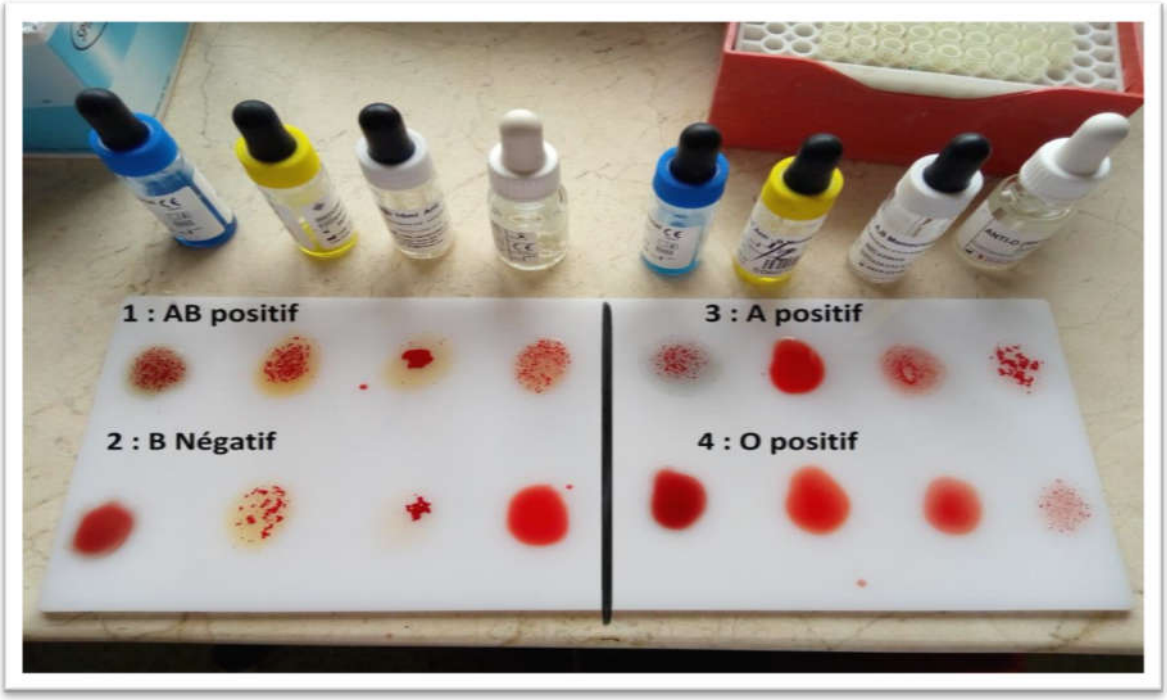


Figure 13: Détermination du groupe sanguin pour chaque échantillon

***Sur la microplaque : (la plus utilisée)**

En utilisant la microplaque, on associe le groupage ABO D et le phénotypage RH-KEL.

- On dépose 25µl de L'anti-B, l'antiA, l'antiAB, l'antiD respectivement dans les puits des colonnes 1, 2, 3,4 : L'épreuve de BETH-VINCENT.

-Les hématies-test A et B sont déposées respectivement dans les puits des colonnes5 et 6 : L'éprouve de SIMONIN.

*Le phénotypage RH-KEL :

-L'anti-C dans les puis de la colonne 7,

-L'anti-c dans les puits de la colonne 8,

-L'anti-E dans les puits de la colonne 9, Le phénotypage RH-KEL

-L'anti-e dans les puits de la colonne 10,

-L'anti-KEL dans les puis de la colonne 11,

Dans la colonne 12, on met de l'eau physiologique pour la dilution du culotglobulaire.

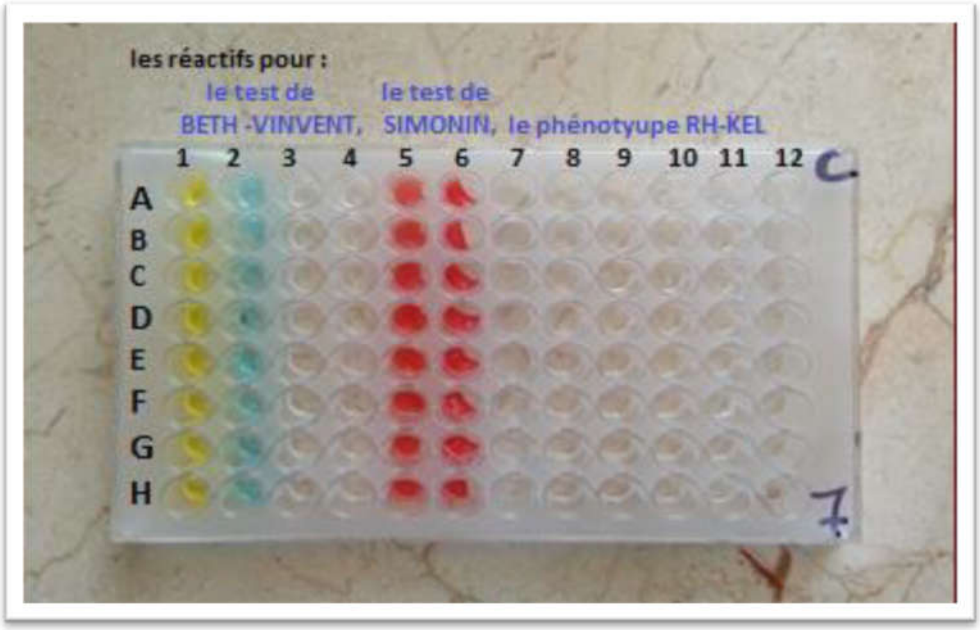


Figure 14: Microplaque remplie par les différents réactifs

-Dans la ligne A, pour le sang d'un patient, et après centrifugation, on met 25µl dusérum pour chaque puits 5 et 6 : test de SIMONIN,

-Dans les puits 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10 et 11 on met du culot globulaire après sa dilution dans Le puit 12 avec de l'eau physiologique : test de BETH-VINCENT+Phénotypage RH-KEL

-Centrifugation à 1000tpm pendant 2min.

-Agitation, pour que la réaction Ag-Ac s'effectue

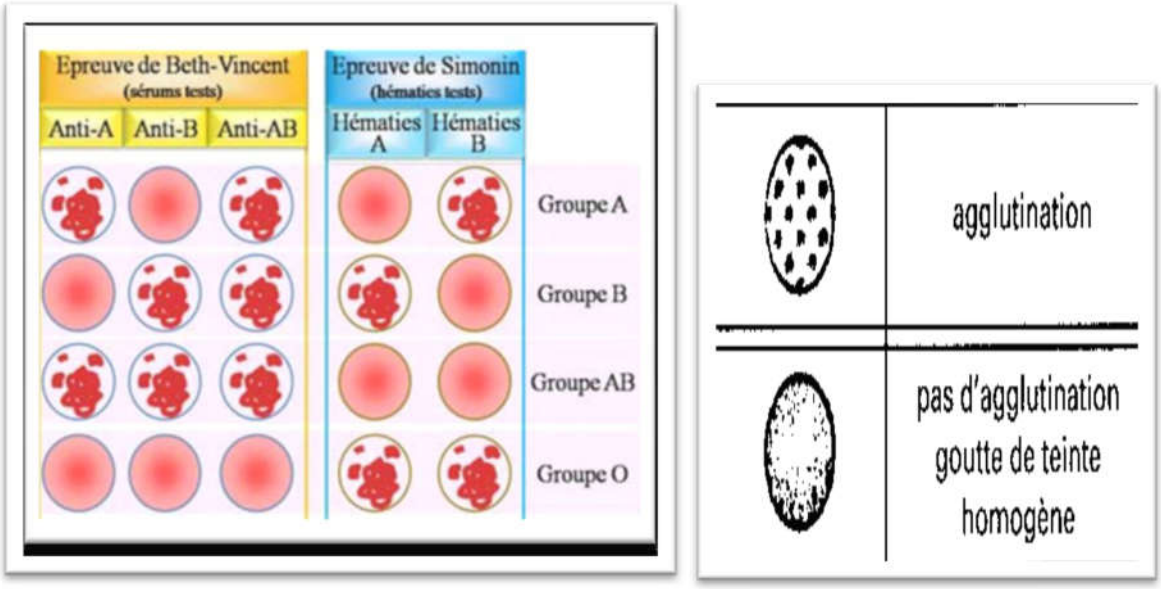


Figure 15: Résultats du système ABO

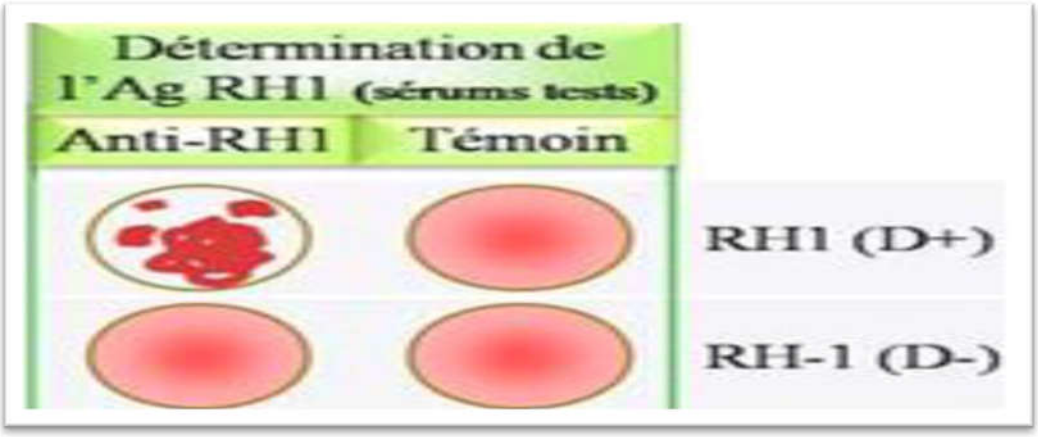


Figure 16: Résultat du système Rhésus

b) Test de Coombs Indirect : la RAI

-mode opératoire :

Le mode opératoire repose sur le principe de l'hémagglutination du complexe Ag-Ac entre le sérum du malade les hématies (O1, O2 et O3) du panel de dépistage des anticorps irréguliers

-Préparation des hématies-tests :

- ✓ Lavage des hématies-tests trois fois avec sérum physiologique
- ✓ Dilution de 0,8% des hématies-tests avec le réactif Liss.

Figure 17: Tubes à hémolyse contenants les hématies-tests après lavage

-Préparation du sérum de patient :

• Centrifugation du sang à 4000tpm pendant 2 min.

-Etapes du test de Coombs Indirect :

● Dans chaque puits de la carte gel on met :

-50µl des hématies-tests préparés,

-25µl de sérum du patient.

La carte gel contenant les hématies-tests plus le sérum, est incubée à 37°C pendant 15 min.(phase de sensibilisation)

-Centrifugation de la carte à 1000tpm pendant 10 min. (phase de révélation).

***Lecture des résultats**

Dépôt des hématies-tests au fond du puit : Pas d'agglutination→ **RAI Négative.**

Fixation des hématies-tests à la surface du réactif : Agglutination → **RAI Positive.**

Figure 18: A gauche, test de RAI négatif, et à droite, dans le puit 2 test de RAI positif

Une fois le bilan pré-transfusionnel est effectué, la demande sera satisfaire en fonction de type de PSL demandé.

Transport des PSL :

Les PSL sont placés dans un emballage isotherme adapté à leur nature et à leurquantité. Ils sont toujours accompagnés :

- ✓ D'une fiche de distribution nominative (FDN) ;
- ✓ Des résultats des examens pré-transfusionnels ;
- ✓ D'un document (bon de transport, FDN) sur lequel sont notées la date et l'heure du départ des produits de l'ETS ou du dépôt

Résultats et discussion

Dans ce travail, nous avons réalisé une étude statistique sur l'utilisation des produits sanguins labiles. Pour cela on a dénombré la quantité des PSL livrés et celles demandés par les patients qui souffrent de la leucémie.

L'échantillon sur lequel a été effectué cette étude, fait partie des données répertoriées dans les cahiers de livraison des PSL du CRTS de Fès, 1 000 demandes ont été répertoriées durant la période allant du 06 Mai au 20 Mai 2019.

Afin d'exploiter les résultats collectés, nous avons utilisé l'outil informatique : Microsoft office Excel qui facilite la gestion des données et leur présentation sous forme de graphes.

1. Résultats

1.1-Prévalence de la leucémie

En se basant sur le diagnostique prescrit sur l'ordonnance médicale, 70 demandes correspond à la leucémie parmi les 1000 demandes reçu, soit un taux de 7%(figure20)

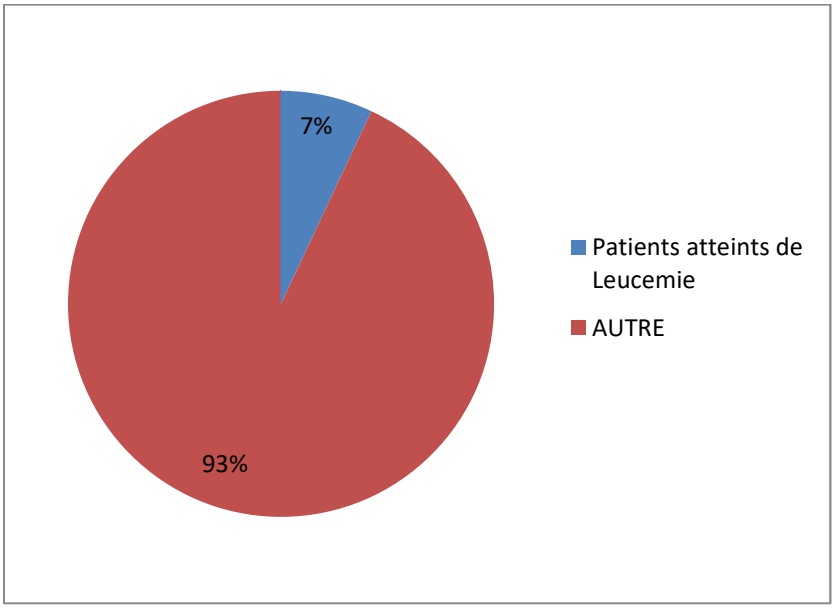


Figure 19: fréquence des patients atteints de leucémie

1.2- Nombres des composantes des PSL demandés et ceux livrés

La figure 21 représente les quantités; des trois composantes du sang" CGR, PFC, CPS";demandés et livrés, au patients atteints de leucémie.

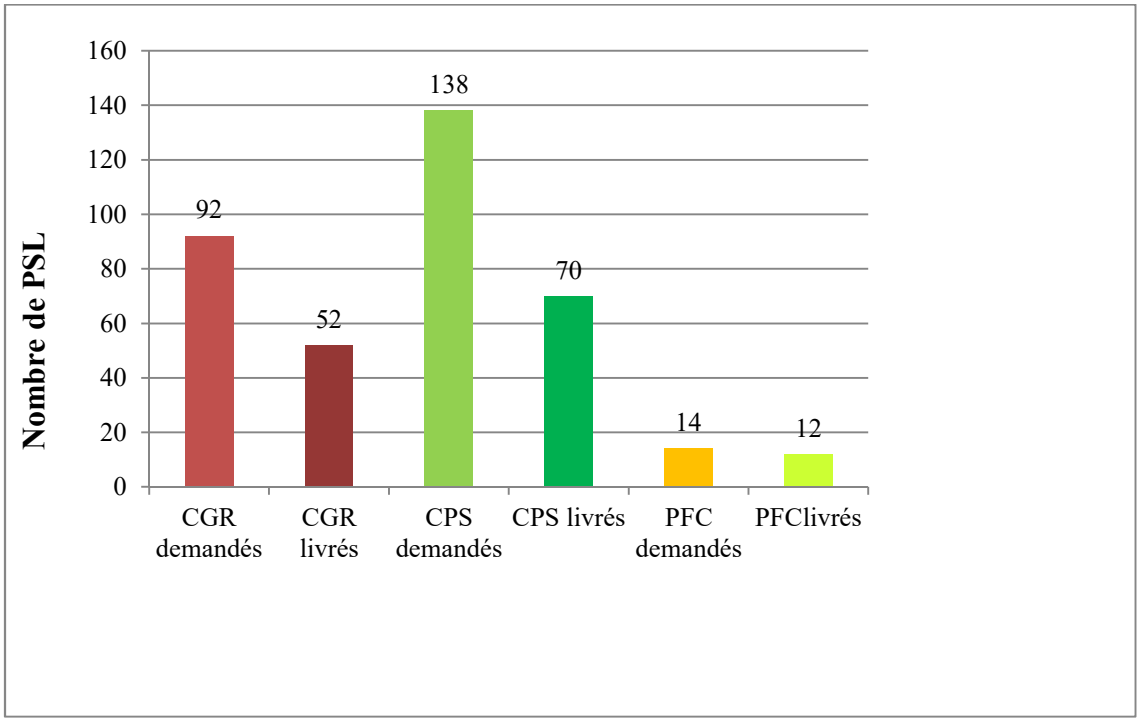


Figure 20: nombre "des trois composantes du sang" demandés et ceux livrés

D'après la figure 21, on remarque que les poches de CPS sont le plus demandés, 138 poches, suivit par CGR 92 poches, par rapport aux PFC qui sont rarement demandées ,14 poches.

1.3.Taux de satisfaction des demandes des PSL :

A partir des valeurs représentées dans la figure 21, on peut déduire les taux de satisfaction des demandes:

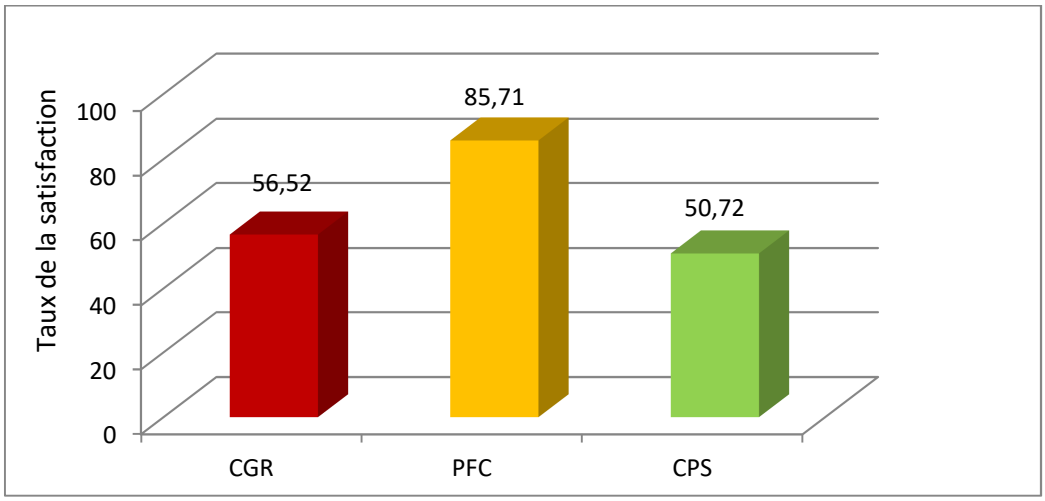


Figure 21: Taux de satisfaction des demandes en PSL

Le taux de satisfaction des demandes en PSL est de 85.71% pour les PFC, de 56.52% pour les CGR et de 50.72% pour les CPS.

2-Discussion

Leucémie : cancer des cellules du sang est caractérisé par la présence de cellules cancéreuses dans la moelle osseuse. La production de globules rouges et de plaquettes est alors perturbée.

Dans le présent travail qui a été effectué au sein du Centre Régional de Transfusion Sanguine de Fès du 06 Avril au 20 Mai 2019, j'étais amené à suivre l'utilisation des produits sanguins labiles chez les patients atteints de leucémie.Pour cela j'ai réalisée une étude statistique sur 70 demandes diagnostiquées par une leucémie. La satisfaction des demandes est l'outil de mesure qui décrit cette utilisation des PSL chez les patients qui souffrent de leucémie.

Notre étude a montré que 7% des demandes reçues correspond aux malades qui soufrent de la leucémieparmi les 1000 demandes, sur les quelles on a effectué l'étude statistique pendant la durée du stage. Une étude, effectuée en France, chez des patients traités dans l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (Afssaps), a révélée que parmi 1000 patient, sont 122 sont atteints de la leucémie [6].

Les résultats obtenues au cours de l'étude est révélé que chaque composante du sang (CGR, CPS, PFC) a une marge de différence entre les PSL demandés et les PSL livrés :
Pour CGR, les patients ont demandé 92 poches et le centre a livré que 52 poches.
Pour CPS, les patients ont demandé 138 poches et le centre a livré que 70 poches.
Pour PFC, les patients ont demandé 14 poches et le centre a livré 12 poches.

La différence entre les quantités demandées des PSL et celles livrées aux patients atteints de la leucémie, est dûe à plusieurs causes.
L'insuffisance des donneurs et des collectes.
La durée de conservation de chaque PSL :
-Pour CGR 42 jours
-Pour CPS 5 jours
-Pour PFC la durée de conservation est un an c'est pour cela la différence entre la quantité demandée et celles livrée est presque nulle. En plus, les patients qui sont atteints de la leucémie ne demandent pas fréquemment ce composant.

Les résultats montrent que le taux de satisfaction des demandes des PFC est de 85.71% , 56.52% pour les CGR et de 50.72% pour les CPS. la quantité demandée totale est de 244 unités et la quantité livrée totale est de 134 unités donc le taux de satisfaction en quantité total est 54.91% .

En revanche, l'étude de l'analyse des transfusions sanguines au CHU de Yopougon , montre que particulièrement à la distribution de 1607 unités de sang total pour 2036 unités demandées ,donc le taux de satisfaction des demandes pour les patients est de 78.9% [7].;

Conclusion

A cause de la leucémie, trois types de cellules sanguines produites dans la moelle osseuse sont affectés: les globules blancs, les globules rouges et les plaquettes, la maladie qui est la leucémie se caractérise par un excès anormal de précurseurs des globules blancs, bloqués à un stade de différenciation et finissent par envahir complètement la moelle osseuse. La production de globules rouges devient alors insuffisante.

Pour cela les produits sanguines labiles, les plus demandés chez les patients qui atteints de leucémie, sont CGR et CPS.

Malheureusement les patients qui souffrent de cette maladie ne sont pas satisfaits de la quantité des PSL livrés par le centre à cause de l'insuffisance des donneurs du sang.

Il faut donc poursuivre les recherches sur les nouvelles technologies de préparation de produits de substitution du sang et sur les alternatives à la transfusion sanguine et élaborer des stratégies de communication destinées à sensibiliser les donneurs et à faire participer la communauté de faire mieux comprendre la nécessité du don de sang et de favoriser les attitudes et croyances positives, afin de satisfaire ces besoins.

Références Bibliographiques

[1] Mahdi Tazerout, Yolande Galinier Les clés d'hémovigilance manuel d'aide à la formation en transfusion sanguine, 2005.

[2] Kigali Document de politique nationale de transfusion sanguine, Mai 2006

[3] http://fmc.med.univ-tours.fr/Pages/hemato.html

[4]: (Marc MARTIN Prestataires : Adeline JOUAN, société Codexa Alba GARCIA, 3.0 Production Thierry MARCOS, 3.0 Production).

[5]: http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/55/59/73/PDF/Thesis.pdf

[6].143/147, bd Anatole France - F-93285 Saint-Denis cedex - tél. +33 (0)1 55 87 30 00 - **www.afssaps.sante.fr**

[7] Koffy Adonis L, Kouassi Koffi AH, Ehua A M, Timite-Konan A M. Analyse des transfusions sanguines et leur efficacité chez l'enfant au CHU de Yopougon en 1999. Med Afr Noire 2003; 50: 357-60.