UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
Département de Biologie

Licence Sciences et Techniques (LST)

BIOLOGIE ET SANTE

PROJET DE FIN D'ETUDES

Production et contrôle de qualité Des Produits Sanguins Labiles (P.S.L)

Présenté par :

- **Soumia EL HADDAD**

Encadré par :

- **Dr. Mme Soumia ZIZI (CRTS)**
- **Pr. Mr M.A. TAHRI JOUTI (FST)**

Soutenu Le 16 Juin 2010 devant le jury composé de:

- **Mme. Soumia ZIZI (Encadrant au CRTS)**
- **Mme. Rachida TLEMCANI (Professeur à la FST)**
- **Mr. M.A. TAHRI JOUTI (Professeur à la FST)**

Stage effectué au Centre Régional de Transfusion Sanguine de Fès

Année Universitaire 2009 / 2010

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES FES – SAISS
B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES
Ligne Directe : 212 (0)5 35 61 16 86 – Standard : 212 (0)5 35 60 82 14
Site web: http://www.fst-usmba.ac.ma

Table des matières

ABREVIATION :…….…….…....0

I.INTRODUCTION :…….……..…….…. ….1

1. Arguments de choix du lieu de stage :…….……2

2. Objectif du stage…….…….……**2**

II. Histoire de la transfusion sanguine :……...…….……2

III. Organisation du CRTS de FES:…….…3

IV. Activités du CRTS Fès :……..…….5

1. Assurance qualité :……..….……6

2. Organisation du don de sang :……..6

3. Prélèvement :……6

4. Qualification biologique de don :……..……..7

5. Production des produits sanguins labiles (PSL):……..……8

6. Délivrance de produits sanguins labiles :……...……..8

7. Hémovigilance au service de transfusion sanguine de Fès :……..……..8

V. Composition et caractéristiques du sang:……..……..…...9

1. Définition du sang:……..……9

2. Les cellules sanguines :……..….……..…9

3. Le plasma :…….… …….….……..……11

4. Le sérum:……..…...…13

5. Les produits sanguins labiles PSL :……..…..…..…..…13

Chapitre II : Partie expérimentale.

I. Séparation des PSL:……..…...**15**

1. Contrôles à faire :……..…...……..15

2. Matériel du laboratoire :……..….……..15

3. Agencement du matériel:…… ……..……15

4. Procédure de production :……..……16

5. Contrôle de conformité des produits finis:……...……..…..…..…24

6. Etiquetage:……..……..…….……25

7. Conservation :……..……..26
II. Contrôle qualité des PSL :…… ……. …27
1. Contrôle d'entrée des produits issus de prélèvement:…..…… ……27
2. Contrôle en cour de production :……..…28
3. Contrôle des produits finis:……..……28
A. Contrôle de CGR :……..……29
B. Contrôle de CPS :…… ……30
C. Contrôle de PFC :……..…32
D. Contrôle de l'hémostase des PFC :……..34
a. Détermination du taux de prothrombine TP :……..……36
b. Détermination du temps de cephaline kaolin TCK :……37
c. Dosage du facteur VIII :……...38
III. Résultats :……..……40
1. Résultats de production :……..……40
2. Résultats de contrôle qualité :……41
IV. Discussion des Résultats :……..……49
V.CONCLUSION :……..……50
Résume :……...……51
Références bibliographiques :……...…….....52
Annexes :…… ……54

Liste des abréviations :

- CNTS : Centre National de Transfusion Sanguine
- CRTS : Centre Régional de Transfusion Sanguine.
- BS : Banques de Sang.
- PSL : Produits sanguins labiles

- GR : Globule Rouge.
- GB : Globule Blanche.
- Pq : plaquette.
- CGR : Concentrés des globules rouges.
- CPS : Concentrés de la plaquette standard.
- PFC : Plasma frais congelé.
- PPP : Plasma pauvre en plaquettes
- PRP : Plasma Riche en plaquettes
- Hb : Hémoglobine.
- Ht : Hématocrite.
- SAG-Mannitol: Saline Adénine glucose Mannitol
- TP: Taux de prothrombine.
- TQ : temps de quick.
- TCK: temps de cephaline kaolin.
- LFB: Laboratoire Français de Biotechnologie.
- RAQ: Responsable d'assurance qualité.
- FAQ: Fiche d'amélioration de qualité.
- CPD: Citrate phosphate dextrose.
- OK: Tampon Owren-Kaler.
- TPHA: Treponema Pallidum Hemagglutination assay.
- VHC: Virus de l'Hépatite C.
- VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.
- RAI : Recherche d'Agglutinines Irrégulières.
- Rh : Rhésus.
- HBs : Ag de surface de l'Hépatite B.
- SN : Sérologie Négatif.
- HP : Hémolysines Positif

I-Introduction générale :

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». [1] 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. [2]

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. [3]

1-Arguments de choix du lieu de stage :

Etant donné que l'option que j'ai étudiée à la FST est « Biologie et Santé », le CRTS reste un domaine très convenable pour ajouter à mes connaissances théoriques acquises durant mon parcourt estudiantin, une autre formation d'ordre pratique via l'apprentissage des techniques utilisés pour la qualification biologique des dons. C'est un terrain riche par ses différents axes d'investigations sur le plan immunohématologique.

2-les objectifs du stage :

Découvrir le domaine de la transfusion sanguine, cet outil thérapeutique qui demeure toujours discret pour la majorité, bien qu'il touche en dehors des praticiens, le citoyen ordinaire en tant que donneur ou receveur de sang. Ce domaine impressionnant m'a ouvert ses portes pour enrichir mes connaissances en matière de :

- L'immunohématologie
- La production de produits sanguins labiles
- La sécurité transfusionnelle

II. Histoire de la transfusion sanguine :

Ce sont les anciens égyptiens qui ont effectué les premières tentatives de la transfusion sanguine. Lors de ces tentatives, le sang employé était d'origine animale. Le sang transfusé représentait un grand risque puisque plusieurs patients sont décédés.

Ce n'est qu'en 1818, avec les avancés des sciences de la médecine que les premières transfusions du sang humain eu lieu. On espérait alors mettre un terme aux accidents causés par le sang des animaux, mais ce ne fut pas le cas : coagulation du sang, nombreuses maladies propagées par le sang, décès… les recherches se sont poursuivies pour déterminer les causes et une nouvelle science est apparue : l'Hématologie ou science du sang. [4]

Vers 1900 la notion du groupe sanguin a été découverte en Autriche. Cette découverte a permis d'éviter les problèmes dus à la lyse des globules rouges et de s'assurer de la compatibilité du sang du donneur et du receveur en ce qui concerne le groupe ABO et le facteur Rhésus. Les transfusions de sang sont devenues de plus en plus sures. [5]

C'est durant la deuxième guerre mondiale qu'a été baptisée la première banque de sang en grande Bretagne afin d'apporter le sang aux soldats blessés. De même, et partout dans le monde, sont ouverts des centres de transfusion sanguine afin d'aider les femmes en accouchement, les maladies graves et les hémophiles… [6]

Au fil des années, et afin de répondre aux besoins, de plus en plus grandissants des demandes de sang et ses dérives et composants, la recherche en hématologie a connue un essor considérable afin d'améliorer la qualité des produits du sang (culot globulaire, plasma et

plaquettes). Néanmoins, les techniques d'analyse, de contrôle et de transfusion sont toujours soumises à des recherches d'amélioration qualitative afin de livrer le produit sanguin débarrassé de tout élément nocif.

III.CRTS Fès

1 -Organisation

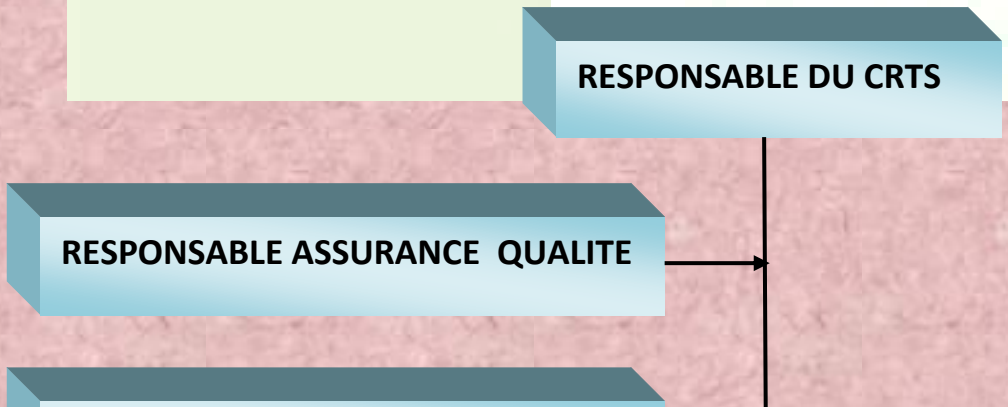
Le centre régional de transfusion sanguine de Fès fait partie du réseau National de Transfusion Sanguine composé de 16 CRTS, de 13 Banques de Sang (BS) et 24 Antennes de Transfusion, tous sous la dépendance du Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) placé sous la tutelle du Ministère de la santé et relevant hiérarchiquement de la direction des hôpitaux et des soins ambulatoires. [7]

Sur le plan administratif, les centres régionaux sont liés à la chefferie préfectorale ou provinciale où ils sont implantés. [8]

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

- 4 médecins
- 3 ingénieurs d'état biologistes
- 2 Assistants médicaux (Doctorat ou DESA scientifiques)
- 2 administrateurs
- 9 infirmiers
- 1 technicien de laboratoire
- 1 technicien de statistique
- 3 secrétaires
- 1 chauffeur

ORGANIGRAMME CRTS FES



IV. Les activités du CRTS Fès :

Comme tous les centres régionaux de transfusion sanguine, il est chargé de :

- Promouvoir le don du sang et organiser des collectes pour assurer l'autosuffisance en PSL de toute la région Fès-Boulemane.
- Garantir la qualité et la sécurité des produits via :
  - Des processus codifiées et contrôlées dans les secteurs de
    - Prélèvement
    - Préparation
    - Qualification
    - Distribution
    - Immuno-hématologie receveurs
  - Des produits suivis du donneur au receveur
    - Distribution médicalisée
    - Système d'hémovigilance
- Assurer le perfectionnement de son personnel médical et paramédical via la formation continue en collaboration avec le CNTS.

La transfusion sanguine est un processus complexe effectué suite à une indication médicale. L'élaboration de produits sanguins dits labiles, nécessaires au traitement des malades, n'est possible que par la mise en œuvre d'une chaîne de solidarité dont le premier maillon est constitué par les donneurs de sang bénévoles. La mise à disposition des produits sanguins répond obligatoirement à des règles de bonnes pratiques transfusionnelles dans tous les secteurs: prélèvement, Préparation, qualification biologique, distribution et indications cliniques. Le respect de ces règles est une nécessité absolue.

Pour optimiser la sécurité de la transfusion, chaque étape de toute la chaîne de ce processus doit faire l'objet de toute l'attention nécessaire.

1. Assurance de qualité :

L'établissement de transfusion sanguine dispose d'un système d'assurance de qualité qui veille sur l'application des normes dictées par le référentiel technique et réglementaire : les bonnes pratiques transfusionnelles.

C'est l'ensemble des mesures prises pour s'assurer que les produits fabriqués sont de la qualité requise pour l'usage auquel ils sont destinés. Son objectif est de fournir les produits les plus sûrs et les plus efficaces possibles au meilleur coût et d'apporter des preuves permettant de donner confiance.

la non qualité des produits possède également un coût. En effet il s'avère généralement plus coûteux de corriger les défauts que de «faire bien» dès le départ.

2. Organisation du don de sang :

Le recrutement de donneurs de sang se fait selon le principe du bénévolat et du volontariat des donneurs ainsi que de l'anonymat des dons. Les collectes de sang sont organisées soit en site fixe à l'intérieur de CRTS ou à l'extérieur via des unités mobiles qui se déplacent pour collecter du sang chez des volontaires dans différents établissements publics et privés (associations, facultés, lycées, sociétés, banques...)

3. Prélèvement :

Selon la législation, toute personne en bonne santé, âgée de 18 à 60 ans, peut donner son sang.

Le prélèvement consiste à prélever 450 ml à 500 ml de sang directement de la veine du donneur jusqu'à une poche de recueil qui contient un anticoagulant. Le nombre total de don par année ne doit pas excéder 5 pour les hommes et 3 pour les femmes et l'intervalle doit être au moins égal à 8 semaines.

La compensation des pertes subies lors d'un don de sang total s'effectue normalement en quelques semaines.

A l'occasion de chaque don, le donneur fait l'objet d'un contrôle clinique via un entretien médical et un examen général en vue d'éliminer certaines contre-indications au don. Cette étape est définie comme « l'ensemble des mesures visant à réduire ou à éliminer les risques immunologiques ou infectieux liés à la transfusion de produits sanguins » [10]

Figure 1: Image du prélèvement (prise le 15/05/2010 au CRTS de Fès)

4. Qualification biologique de don :

Analyses biologiques et tests de dépistage obligatoires et préalables à la distribution et l'utilisation des produits sanguins labiles. Il s'agit d'un processus analytique conduisant à définir le statut du don testé à partir d'un échantillon sanguin.

A. Examens sérologiques :

- Dépistage de la syphilis par le TPHA
- Détection des antigènes HBs.
- Dépistage des anticorps anti VIH1/VIH2
- Dépistage des anticorps anti VHC
- Dosage des Alanines AminoTransférases (ALAT)

En cas de résultats douteux ou positifs, pour les tests de sérologie et le dosage des transaminases, la poche est systématiquement incinérée et le donneur est convoqué pour un autre contrôle et/ou test de confirmation. [10]

B. Examens immuno-hématologiques :

- Groupage sanguin et phénotypage rhésus Kell
- Dépistage des D-faibles
- Dépistage des hémolysines Anti-A et Anti-B
- Dépistage simplifié des agglutinines irrégulières

Après une semaine une carte de donneur de sang est remise à chaque donneur mentionnant les résultats des examens de laboratoire.

5. La production des produits sanguins labiles :

Consiste en la séparation du sang total en ses composantes CGR, PFC et CPS. Le principe étant la centrifugation différentielle et l'extraction sous pression.

6. La délivrance de produits sanguins labiles :

C'est la mise à disposition des malades sur prescription médicale, de produits sanguins labiles pour usage thérapeutique. Elle est effectuée en veillant sur la compatibilité immunologique, et les règles d'hémovigilance. La délivrance de sang est adaptée de façon à préserver au mieux les chances de survie du patient.

7. L'hémovigilance au service de transfusion sanguine de Fès :

L'hémovigilance est un processus continu et standardisé de collecte et d'analyse de données depuis la collecte du sang et de ses composants jusqu'au suivi des receveurs, en vue de recueillir et d'estimer l'incidence et la prévalence des effets inattendus ou indésirables résultant de l'utilisation thérapeutique des produits sanguins labiles et d'en prévenir l'apparition afin d'assurer une sécurité transfusionnelle optimale [2,3].

C'est un pilier crucial du concept de la sécurité transfusionnelle. Ceci ne peut se concevoir que si le préalable de traçabilité des produits sanguins labiles, du donneur au receveur effectif, est obtenu [4]. Les objectifs de l'hémovigilance concernent tous les intervenants du processus transfusionnel. L'objectif général étant d'assurer la traçabilité parfaite des PSL et la lutte contre leur gaspillage, ainsi qu'une meilleure sécurité transfusionnelle. Les objectifs élémentaires étant :

- L'organisation d'un système de recueil et d'analyse du suivi de la TS (Le comite d'hémovigilance)
- Mieux cerner les étapes critiques de la chaîne transfusionnelle
- La classification des incidents en fonction de leur gravité et leur imputabilité
- La mise en place et l'évaluation de mesures correctives et préventives des IT

- L’amélioration continue du système transfusionnel
- Le renforcement de la sécurité transfusionnelle

V.la composition et les caractéristiques du sang :

1. définition : du sang

Le **sang** est un tissu conjonctif spécialisé. Bien qu’à l’œil nu le sang fraichement prélevé parait totalement liquide il est en fait composé de cellulaires libres (les éléments figurés) qui flottent dans une substance liquide jaune ambrée dont le plasma la substance fondamentale. La couleur Rougé du sang vient de l'hémoglobine.

Le sang sert à diffuser l’oxygène (O_2) 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 (CO_2) ou les déchets azotés vers les sites d'évacuation (intestins, reins, poumons). Il sert également à amener aux tissus les cellules et les molécules du système immunitaire, et à diffuser les hormones dans tout l’organisme.

Le sang circule dans le système vasculaire de façon continue et régulée par le système cardiovasculaire. Il participe au maintien de l’intégrité des vaisseaux par certains de ces constituants qui interviennent dans l’hémostase.

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

Le volume sanguin total est d’environ 5 litres chez l’adulte et 250 ml chez le nouveau né.

2- Les cellules sanguines :

Appelées éléments figurés du sang, sont pour la plus part des cellules matures très différenciées, fonctionnelles, dotées d’un renouvellement constant : hématopoïèse qui s’effectue dans la moelle osseuse.

On distingue :

➢ Les érythrocytes (globules rouges)

Petits cellules discoïdes circulaires, biconcaves anucléées, Elles donnent la couleur du sang de part l'hémoglobine qu'elles contiennent. Leur rôle essentiel le transport de l'oxygène et le dioxyde de carbone.

Ce sont les cellules les plus nombreuses du sang. Leur durée de vie est de 120 jours.

L'hématocrite représente la proportion d'érythrocytes contenus dans un échantillon de sang.

○ **L'hémoglobine** est un constituant des érythrocytes pouvant s'unir à l'oxygène et au dioxyde de carbone. L'hémoglobine est composée d'une protéine, appelée globine, et de quatre groupements non protéiques, appelés hèmes, contenant chacun un atome de fer. L'oxygène s'unit de façon réversible au fer des groupements hèmes. Le dioxyde de carbone s'unit de façon réversible à la globine de l'hémoglobine qui est composée de quatre chaînes polypeptidiques.

➢ Les thrombocytes (les plaquettes): sont de petits cellules discoïdes anucléées de 2 à 4 µm de diamètre, provenant de la fragmentation du cytoplasme de grandes cellules de la moelle osseuse, les mégacaryocytes, leur durée de vie est de 7 à 10 jours.

Leur fonction majeure est leur implication dans l'hémostase dite primaire, où elles seront les premiers éléments à intervenir dans l'arrêt du saignement.

➢ Les leucocytes (ou Globules blancs) : cellules nucléées, spécialisés dans la défense de l'organisme contre les agressions de l'extérieur (bactériologiques, chimiques, immunologiques, virus, parasites, allergènes…).

Il s'agit en fait d'un groupe hétérogénie de cellules aux caractéristiques, fonctions et durées de vie très différentes.

On sépare les leucocytes en fonction de leur morphologie en "Polynucléaires" (neutrophiles, éosinophiles et basophiles) et en "mononucléaires" (lymphocytes et monocytes). [9]

3-le plasma

Le plasma sanguin est la portion liquide du sang qui ne contient pas les cellules sanguines. Il constitue 55 % du volume total du sang et sert à transporter les cellules sanguines et les hormones à travers le corps.

Il peut être obtenu, après recueil du sang dans un tube anti coagulé, par sédimentation ou plus rapidement par centrifugation.

En très grande partie constitué par :

- **l'eau** : représente 91.5% du volume plasmatique.
- **Les protéines** représentent 7%du volume plasmatique. On distique :
  - ***Albumine*** : qui représente 54%, produite par le foie ; exerce une pression osmotique qui préserve l'équilibre hydrique entre le plasma et le liquide interstitiel. Elle transporte diverses substances, tels les acides gras, la bilirubine et divers médicaments, dans la circulation sanguine.
  - ***Globulines*** : représentent 38%. On distingue :

-alpha et beta globulines qui sont produites par le foie ; protéines vectrices qui se lient aux lipides et aux vitamines liposolubles.

-Gamma globuline qui sont des anticorps libérés pendant la réaction immunitaire.

- ***Facteurs de coagulation : représentent 4% Ce sont les protéines du sang*** synthétisées majoritairement par le foie qui régulent le processus de coagulation. Quand un vaisseau sanguin est endommagé, ses parois se contractent pour contenir le saignement dans la zone de la lésion. Les petites cellules sanguines appelées plaquettes s'agglutinent alors sur et autour de la fissure.

Simultanément, des granules à l'intérieur des plaquettes sécrètent des molécules qui attirent d'autres cellules et les font s'agréger au siège de la fissure pour former ce qu'on appelle le « clou plaquettaire ».

À la surface de ces plaquettes s'enclenche la cascade de coagulation, une série d'interactions complexes entre divers facteurs de coagulation qui aboutit à la création d'un « clou de fibrine », en d'autres termes d'un caillot qui stoppe le saignement.

Les facteurs de coagulation circulent à l'état passif dans le sang. Mais à

Chaque lésion d'un vaisseau sanguin, la cascade de coagulation démarre

et chacun des facteurs est activé selon une séquence précise menant à

La formation du caillot.

Les 13 facteurs de coagulation sont, pour la majorité, désignés par des chiffres romains.

- **Les électrolytes** : Na^{+}, K^{+}, Ca^{2+}, Fe^{2+} et Mg^{2+}, chlorure, sulfate, bicarbonate et phosphate présents dans le plasma sous forme dissoute. La concentration totale de ces ions est un facteur important dans le maintien de la pression osmotique du plasma et le pH du sang.
- Le plasma est constitué aussi par des **enzymes métaboliques**, **protéines antibactériennes** (complément**), hormones**, **l'acide lactique**, l'acide **urique**, la **créatinine** et les **sels d'ammonium**.
- **Nutriments organiques** : ce sont les matières absorbées par le tube digestif et transportées dans l'organisme entier, comme le glucose et d'autres glucides simples, les acides aminés (produit de la digestion des protéines), les acides gras, le glycérol et les triglycérides, le cholestérol et les vitamines. [9]

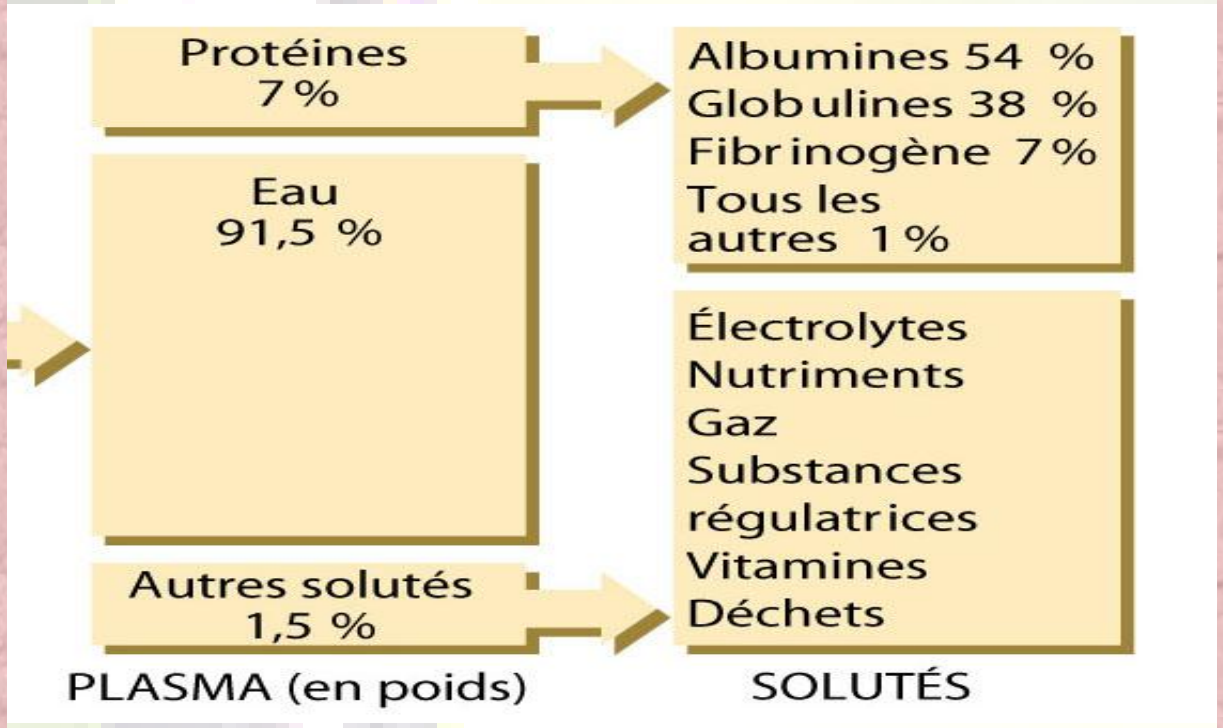


Figure 2 : composition du Plasma

4-Le sérum :

Lors de la coagulation sanguine le sang se sépare en un caillot sanguin d'une part et le sérum d'autre part. Le sérum est la partie du plasma qui reste liquide après coagulation. Il désigne en particulier le plasma sanguin débarrassé des facteurs de coagulation.

5. Les produits sanguins labiles : PSL

Les **produits sanguins labiles** : Ce sont des produits issus du sang d'un donneur et destinés à être transfusés à un patient. Il s'agit des concentrés de globules rouges, des concentrés de plaquettes, et du plasma frais congelé. Ils sont obtenus à partir de la séparation primaire du sang total.

Leurs caractéristiques communes sont les suivantes : chaque unité thérapeutique est issue d'un don de sang ; risque résiduel faible de transmission de maladies infectieuses ; durée de conservation limitée (de quelques jours à un an) ; règles strictes de conservation, de transport et d'utilisation (règles de compatibilité immunologique).

CHAPITRE II :

Partie expérimentale

Production et Contrôle Qualité des PSL

Objectifs du chapitre:

Au cours de mon stage, avant d'entamer la partie consacrée au contrôle de qualité des PSL, j'étais amené à suivre toutes les étapes de production des PSL pour comprendre comment peut-on aboutir ou non à un produit de qualité

I- Séparation des P.S.L

Comme dans tous les secteurs du CRTS, la méthodologie de travail au sein du laboratoire de production est structurée en procédures résumant toutes les opérations subies par le sang total (matières premières) avant d'aboutir aux produits finis (CGR, PFC, CPS).le grand principe étant la centrifugation différentielle et l'extraction sous pression.

1. Contrôles à faire :

- Contrôler, au début et à la fin de l'activité, la température :

- De la salle de séparation
- De l'agitateur des plaquettes
- Du congélateur horizontal

Pour les appareils de stockage, la température doit être prise à l'aide de thermomètres devant se trouver à l'intérieur des appareils de stockage (ne pas se fier uniquement à la température affichée).

Les résultats de prise de température sont à reporter dans les fiches de suivi de la température affichées à proximité des appareils.

- Contrôler la propreté de la balance, de la soudeuse y compris les mâchoires et des éléments de soudure, des presses manuelles les pots et les nacelles des centrifugeuses et du plan de travail avant toute série d'utilisation.

2. Matériel :

Soudeuse ; Balance ; Centrifugeuse ; Presses ; Agitateur ; Congélateur.

3. Agencement du matériel :

Le circuit du système de production doit être agencé de manière à éviter les va et vient inutiles. Le matériel est à disposer de la manière suivante :

Pesée ⟶ chargement ⟶ centrifugation ⟶ séparation ⟶ pesée ⟶ stockage.

Figure 3 : Image de poche triple (prise le 15/05/2010 au CRTS de Fès)

NB : *les références de la poche (KAWASUMI BLOOD BAG. kawasumi laboratries, INC. Tokyo, Japan)*

4-procédure de production :

A. Pesée :

Toutes les poches de sang sont pesées à l'aide d'une balance numérique, Le calibrage (vérification du niveau et remise à zéro) est effectué avant chaque série de mesures.

Sang Total (prise le 15/05/2010 au CRTS de Fès)

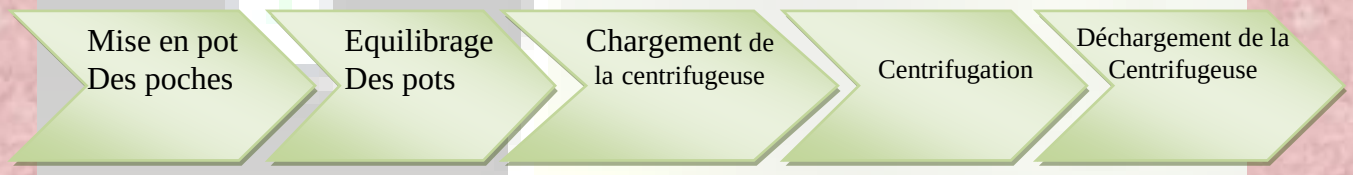
Les poches de sang total sont pesées, et les poids relevés sont enregistrés sur l'étiquette de fond de la poche.

NB : *les références de la balance : KERN & SOHN,*

GMBH, GERMANY.

B. Centrifugation

Le déroulement de la centrifugation nécessite le respect des étapes suivantes :



a-Mise en pot des poches :

- On essaye d'abord, de chasser le sang restant dans la cheminée de la poche (à la base de la tubulure) en tapant dessus par les doigts ou autre instrument ne causant pas de dommage pour la poche.
- On met deux poches du sang total dans chaque nacelle ou pot de la centrifugeuse. La poche doit être mise en sa totalité à l'intérieur du pot ou nacelle : toute partie faisant issu du pot peut être lésée au cours de la centrifugation.

b-Equilibrage des pots :

On équilibre les nacelles deux à deux. Les deux nacelles opposées doivent avoir le même poids (on met les nacelles ayant le même poids l'une en face de l'autre).

Le déséquilibre des nacelles aboutit à une Mauvaise séparation du contenu des poches.

Figure 5 : Image des poches de sang total équilibrées (prise le 15/05/2010 au CRTS de Fès)

c-Chargement de la centrifugeuse :

Figure 6 : Image de la centrifugeuse (prise le 15/05/2010 au CRTS de Fès)

Deux centrifugeuses sont disponibles : KR-4-I et KR-4-22

- *Jouan KR4.22 High Capacity Refrigerated Centrifuge with Rotor and Buckets. company Lab Recyclers, Inc.*
- *Thermo Electron's Jouan KR4i. Company Thermo Fisher Scientific Inc.*

d-Centrifugation programmée :

Premier tour : Séparation CGR et PRP

- On sélectionne le numéro du programme adéquat parmi ceux déjà mémorisés en fonction des produits.
- On met en marche la centrifugeuse en appuyant sur la touche 'Start' ou 'départ'.

Les paramètres de chaque programme (Vitesse, temps, accélération, freinage) sont fonction du produit désiré :

Programme pour CGR + PRP

Programme pour CPS + PPP

e-Déchargement de la centrifugeuse :

Après l'arrêt complet de la centrifugation, le système de verrouillage de sécurité est désactivé, l'ouverture de la centrifugeuse devient alors possible, on fait sortir les nacelles de la centrifugeuse

C. Séparation :

La séparation met en œuvre des presses manuelles, semi-automatiques ou automatiques.

Le déroulement de ce procédé impose le respect des étapes suivantes :

- On transfère les nacelles vers le plan de travail à proximité des presses manuelles
- On ouvre la presse.
- On sort, délicatement, les poches des nacelles une par une pour ne pas remettre en suspension la zone de séparation entre le plasma et les éléments cellulaires sédimentés.

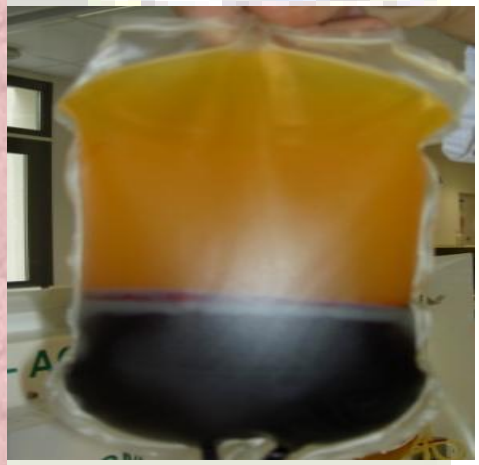


Figure 7 : Image du sang total séparé en CGR et PRP (prise le 15/05/2010)

Figure 8 : Image des poches placées dans les presses (pris le 15/05/2010)

- On contrôle visuellement la qualité de la centrifugation.
- On transfert et on place, toujours délicatement, la poche de sang séparé dans la presse manuelle. Les poches vides seront placées sur le plan de travail.
- On ouvre le circuit de la poche en cassant la cheminée de la tubulure liée à la poche vide.
- On presse la poche par la plaque de la 'presse' qui exerce une pression sur la poche pour permettre le passage du plasma à travers la tubulure vers la poche vide.

- On surveille la poche, et une fois la limite entre la couche leuco-plaquettaire (limite entre CGR et PRP) atteint la cheminée, on arrête la séparation en clampant la tubulure.
- On décharge, ensuite, on la presse avec précaution.
- On fait passer la solution de conservation dans la poche du concentré globulaire. Pour cela :
  - On accroche la poche contenant la solution de conservation sur le crochet réservé pour cet effet de telle sorte que les deux poches de CGR et PRP soient suspendues vers le bas.
  - On clampe, si nécessaire, la tubulure du côté du plasma pour empêcher le passage de la solution de conservation vers la poche de plasma.
  - On casse la cheminée de la poche contenant la solution de conservation
  - On s'assure que tout le liquide est passé dans le concentré globulaire.

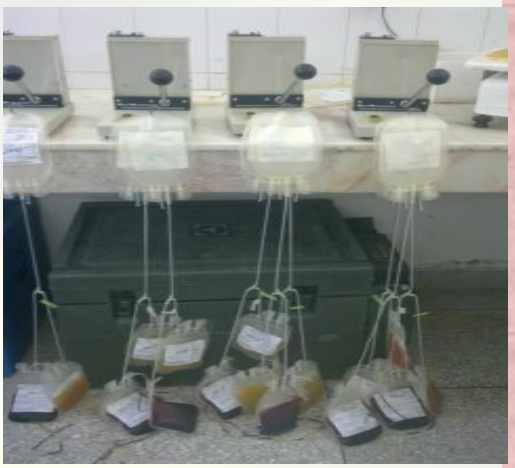


Figure 9 : Image du passage de la solution de conservation dans la poche du CGR (prise le 15/05/2010 au CRTS de Fès)

N.B : Si l'addition de la solution de conservation (Sag-Mannitol) est omise pour une raison donnée (oublié ou volume insuffisant du sang), on écrit sur la poche la mention (SS) qui signifie Sans Sag-Mannitol pour en tenir compte lors de l'étiquetage des CGR car la durée de conservation sera réduite à 21 jours au lieu de 42.

D .Soudure :

Son utilisation doit respecter les étapes suivantes :

Vérification préalable → Positionnement et soudure de la tubulure → Contrôle de la soudure

- On vérifie la propreté des mâchoires avant toute série d'utilisation.
- on soude la tubulure perpendiculairement aux mâchoires, de préférence, en deux points très rapprochés : à 2 cm environ du côté du concentré globulaire et du côté du point d'intersection des tubulures des 3 poches, sans exercer de tension (étirement), afin d'obtenir une obturation nette et étanche.

- On sépare la poche du concentré globulaire obtenu des deux autres poches (PRP et poche de transfert du PPP vide) en exerçant un étirement sur la soudure du côté du CG (soudure externe).

On place les unités de concentrés globulaires obtenus dans un panier ou gadget propre ou sur le plan de travail. On passe ensuite au deuxième tour (préparation du concentré plaquettaire et du plasma frais à partir du plasma riche en plaquettes).

Figure 10 : Image de la soudeuse (prise le 15/05/2010 au CRTS de Fès)

E. Centrifugation :

Deuxième tour :

- On refait les étapes précédentes de centrifugation, séparation et soudure pour séparer le plasma riche en plaquettes en CPS et PPP.
- Dans ce cas, le nombre de poches par nacelle dépendra de la capacité de ce dernier ainsi que du volume des poches de PRP.

⇒ **Remarque importante :**

Une première centrifugation (*programe1 vitesse de 3600tr/min pendant 4 min*) du sang total vise à séparer les globules rouges du plasma. Lors de cette première centrifugation, les globules rouges se déposent au fond de la poche de prélèvement alors que le plasma et les plaquettes restent en suspension. On extrait ensuite le plasma riche en plaquettes dans un des sacs en circuit fermé.

Une poche de plasma riche en plaquettes peut être centrifugée à son tour *(programme 2, vitesse de 4000tr/min pondant 10 min*) pour en extraire les plaquettes. Les plaquettes doivent être produites dans un délai de huit heures après le don.

Après centrifugation, les plaquettes reposeront une ou deux heures à température ambiante, sans chevauchement, pour éviter la formation d'agrégats. La poche sera entreposée à température contrôlée entre 18°C et 24°C, sous agitation.

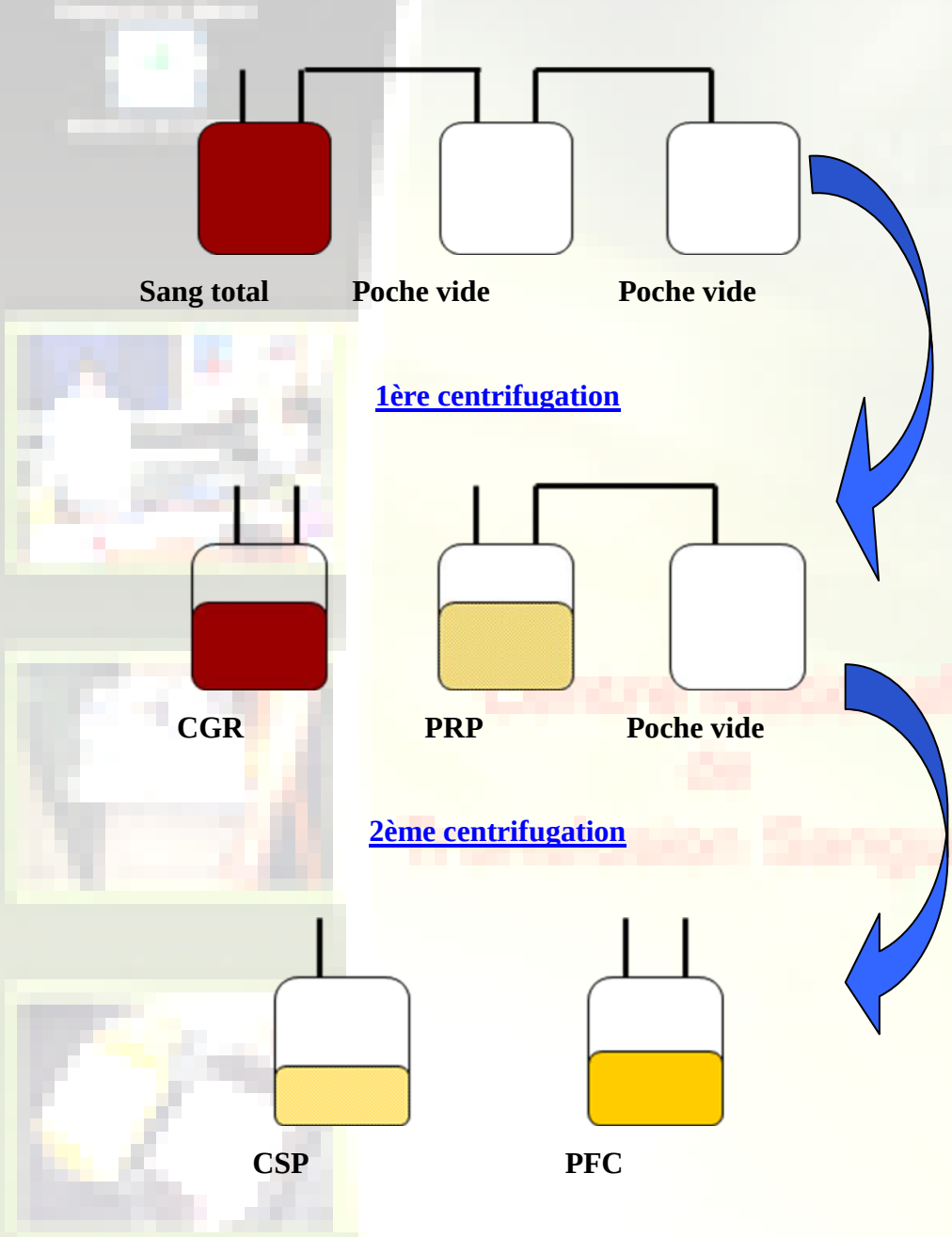


Figure 11 : schéma récapitulatif des étapes de séparation des PSL.

- A la fin de la séparation, on s'assure que la tubulure du côté du plasma est pleine, si non, on exerce une pression sur la poche de plasma vers la tubulure.

- Une fois la tubulure est pleine, on soude celle-ci à 2 cm environ du coté de la cheminée du plasma et à 15 cm environ de celle-ci.
- On soude ensuite la tubulure à 2 cm environ du côté de la poche du concentré plaquettaire.
- On sépare les deux poches entre elles.
- On fait passer la tubulure par le premier 'trou' se trouvant sur le côté droit de la poche puis par le deuxième pour éviter sa perte si jamais elle se casse après congélation.

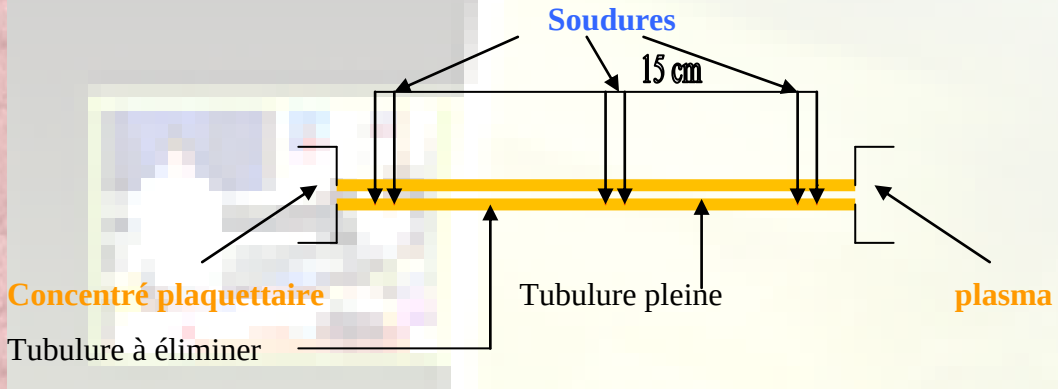


Figure 12: schéma de la soudure de tubulure de plasma.

A la fin de la séparation, on met les unités de plasma et concentrés plaquettaires dans des paniers ou gadgets distincts.

Il est recommandé de vérifier l'étanchéité des produits obtenus en exerçant une pression manuelle sur la poche en amont et en aval des soudures réalisées.

F. Pesée :

Les produits finis doivent être pesés avant leur stockage pour vérifier s'ils répondent aux normes de volume, dictées par le référentiel

La pesée inclut les opérations suivantes :

- On transfère les PSL préparés à proximité de la balance
- On vérifie la tare de la balance avant chaque pesée (doit être égale à zéro)
- On place les produits au centre du plateau en évitant toute traction.
- On enregistre les poids trouvés sur les poches correspondantes

- Tout produit fini non conforme sera étiqueté : pour cela, on barre la poche par une grande croix (X) en utilisant un marqueur.

5-Contrôle de conformité des produits finis :

Au cours de la production, les unités qui présentent les critères ci-dessous doivent être écartées du lot conforme. Elles sont considérées comme des déchets contaminants, saisies dans le registre de rejet, puis mises dans des sacs en plastique rouges destinés à l'incinération.

a. Sang total :

Les poches de sang total dont le poids <235g, car leur quantité est insuffisante pour être transfusée.

Les poches de sang total dont le poids> 530g, car le ratio solution anticoagulante et de conservation/ Sang n'est pas respecté

Ces poches ne sont pas séparées et sont rejetées

b. Culots globulaires non conformes :

- Les CGR dont le volume < 140 ml ou poids < 155 g avant l'adjonction du SAG-Mannitol
- Aspect macroscopique anormal:

Hémolyse

Présence de caillots

Présence de bulles d'air

Poche non étanche

c. Culots plaquettaires non conformes :

- Poids < 40 g ou > 60g.
- Aspect macroscopique anormal :
  - érythrocytaire (Contaminé par les globules rouges),
  - ictérique,
  - Lipidique ou chyleux,
  - Verdâtre,
- Poche non étanche.

d.Plasma frais congèle non conformes :

- Volume < 150 ml ou poids < 150g.
- Aspect macroscopique anormal du plasma :

- érythrocytaire (Contaminé par les globules rouges),
- ictérique,
- Lipidique ou chyleux,
- Verdâtre,
- Poche cassée,
- Congélation incorrecte,
- Absence de numéro de don en clair ou en code barre,

6-Etiquetage :

Etapes d'étiquetage :

- Faire sortir les poches dizaine par dizaine de leur lieu de stockage.
- Rechercher les signes de détérioration sur les poches.
- Vérifier les résultats de sérologie de chaque poche et marquer la mention SN sur l'extrémité supérieure droite de l'étiquette de fond de la poche séronégative
- Vérifier les résultats d'immunologie:

Retirer les poches dont la RAI est positive, les barrer, inscrire dessus "RAI positive" et les écarter en vue d'incinération.

Pour les poches dont la recherche des hémolysines est négative, inscrire la mention HN prés de SN. En cas de résultat positif, pour les CGR, marquer la mention HP, pour les PFC, écarter systématiquement.

- Chercher le groupage ABO-Rh de la poche figurant sur le registre d'Immuno hématologie donneurs, le transcrire au milieu de l'étiquette de fond de la poche correspondante.
- Reporter sur l'étiquette:
  - La dénomination du PSL,
  - Le Numéro de prélèvement,
  - la date de prélèvement,
  - la date de péremption,
- L'étiquette doit laisser découvert Le N° du prélèvement code barre collé correctement au milieu du bord supérieur de l'étiquette de fond de la poche.

7. Conservation

- **Le concentré de globules rouges**

- 42 jours entre +2°C et +6°C si CPD + SAG-Mannitol.
- 35 jours entre +2°C et +6°C si CPD + Adénine.
- 21 jours si CPD seulement.
- 7 jours si sang total.

- **Le plasma frais congelé**

Il se congèle immédiatement après préparation à – 80°c puis se conserve à une température inférieure ou égale à -25°C. La durée maximale de conservation est de 1an à partir de la date du prélèvement.

Les PFC décongelés doivent être utilisées immédiatement ou au plus tard dans les 6 heures qui suivent.

Figure 13 : Image de plasma congelé dans le congélateur (pris le 15/05/2010 au CRTS de Fès)

- Le **concentré de plaquettes standard**

Se conserve 5 jours à une température comprise entre +18°C et +24°C sous agitation continue pour empêcher l'agrégation des plaquettes.

Figure 14 : Image d'un Agitateur de plaquettes (pris le 15/05/2010 au CRTS de Fès)

II. Contrôle de qualité des PSL :

Les produits sanguins labiles ne peuvent être distribués sans qu'aient été effectués les analyses biologiques, les tests de dépistage des maladies transmissibles et les contrôles requis garantissant que leur qualité est satisfaisante.

Un même procédé de production, aussi, standardisé qu'il soit, peut conduire à des produits présentant une variabilité de certains paramètres ; ces produits sont néanmoins conformes aux caractéristiques en vigueur. Des procédures de contrôle adéquates constituent un élément important de conformité aux bonnes pratiques de préparation.

1- Contrôles d'entrée des produits issus du prélèvement

A réception, un contrôle des produits issus du prélèvement doit être effectué par une personne qualifiée. Il porte sur les spécifications essentielles de ces produits ; identification, étiquetage, date de prélèvement, aspect, poids, intégrité du système clos

(Soudures), ainsi que sur la qualité du conditionnement et la température. Ces spécifications doivent être enregistrées.

2- contrôles en cours de production :

Des contrôles ou des essais sont mis en place à des stades appropriés de chaque procédé afin de vérifier la conformité des produits intermédiaires. Ces indicateurs représentatif, de la qualité d'une étape doivent être mesurables ou dichotomiques (bon ou mauvais).

La fréquence et les conditions de réalisation de ces contrôles doivent permettre des actions correctives rapides, chaque fois qu'elles s'avèrent nécessaires.

3- contrôles des produits finis :

L'organisation des contrôles et l'analyse des résultats constituent une activité indépendante de la production.

Les contrôles doivent démontrer qu'un certain nombre d'indicateurs, restent stables ou conformes à leur définition ou spécification.

Les paramètres spécifiques à contrôler figurent dans les caractéristiques des produits sanguins labiles :

- Le contenu en principe actif ;

Concentré de globules rouges : Hématocrite et Hémoglobine

Concentré de plaquettes : Numération de plaquettes

Plasma frais congelé : Dosage de protides, facteurs de coagulation

- La pureté requise (numération des éléments contaminant ne devant pas exister dans le produit fini) ;

PFC : Dosage de l'Hb < 50 mg/L

Numération de plaquettes < 30 000/unité

CPS : G B < 0,2 109 / unité

- Le caractère conforme de l'aspect et de l'étiquetage

A- Contrôle de qualité des concentrés globulaires Rouge (C.G.R) :

1. Contrôle du volume :

- Fréquence : chaque jour
- Quantité : 4 unités de CG : 2 unités de site fixe (au sein du centre) et 2 unités du site mobile (collecte).

Si pas de collecte en site mobile, on prend 4 unités du site fixe.

Après préparation du C.G :

- On prend, quotidiennement, le poids de 4 unités de C.G du même jour.
- On enregistre les résultats dans le registre.

Le volume de chaque poche de C.G sera calculé de la façon suivante :

$$V = \frac{(\text{Poids de la poche pleine} - 100^{**}) - \text{Poids de la poche vide}}{1.09^{*}}$$

* : facteur de conversion du poids en volume qui correspond à la densité de CGR.

** : 100 ml = volume de la solution de conservation (uniquement pour les poches triples)

2. Contrôle de l'Hématocrite et de l'hémoglobine :

- Quantité : 4 unités de C.G par mois.
- Fréquence : une fois par mois : la première semaine du mois.

Mode opératoire :

- On choisit 4 poches au hasard
- On envoit les prélèvements au laboratoire pour le dosage de l'hématocrite et de l'hémoglobine accompagnés avec les mentions suivantes : service, numéro de prélèvement, et l'examen demandé.

Tableau récapitulatif :

Paramètres	Méthode de contrôle	Echantillon	Normes
Volume (ml)	**[(Poids de la poche pleine – 100**) – Poids de la poche vide] / 1.09**	poche	**≥ 175 ml**
Hématocrite	Méthode du laboratoire	Poche	50-70 % (1)
Hémoglobine	Méthode du laboratoire	Poche	> 45 g

- (1) = avec S.A.G.M (sodium chloride Adénine Glucose Mannitol solution de conservation).

- Calcul de l'hémoglobine : Hb du CG = Hb/100 X volume de la poche.
- ** : 100 ml = volume de la solution de conservation (uniquement pour les poches triples).

B- Contrôle de qualité du concentré plaquettaire standard (CPS) :

1. Contrôle du volume :

- On choisi au **hasard**, **quotidiennement**, **2** poches de C.P.S.
- On prend le poids de la poche, une par une, et calculer leur volume.
- On reporte les résultats trouvés dans le registre correspondant.

Méthode de calcul du volume du CPS :

$$V = \frac{(\text{Poids de la poche pleine} - \text{Poids de la poche vide})}{1.03^*}$$

* facteur de conversion du poids en volume qui correspond à la densité de plasma.

Normes des examens demandés pour les CPS:

Paramètres	Méthode de contrôle	Echantillon	Normes
Volume (ml)	Poids de la poche (-) poids de la poche vide/1.03	poche	40-60 ml
pH	Introduire l'électrode du pH-mètre dans le tube, agiter puis relever la valeur indiquée	Prélèvement	$6,0 \leq pH \leq 7,4$
Aspect macro-scopique	Visuel en examinant le contenu de la poche	Poche	Ni ictérique, ni chyleux, ni verdâtre, ni contaminé par les globules rouges
Plaquettes	Méthode utilisée au laboratoire	Prélèvement	$> 0.5\ 10^{11}$ par poche
Indice de tournoiement (Swirling)	Exposées à une source lumineuse, les plaquettes discoïdes du C.P.S produisent un phénomène de tournoiement ou 'Swirling' qui est évalué en : +++, ++ ou +	Poche	+++ ou ++

C- contrôle de qualité du plasma (PFC):

1. Contrôle du volume :

- Fréquence : **chaque jour.**
- Quantité : **4 unités** de plasma : **2 unités de site fixe et 2 unités du site mobile**.

Si **pas de collecte** en site mobile, on prend **4 unités du site fixe**.
Le volume de chaque poche de plasma sera calculé de la façon suivante :

$$V = \frac{(\text{Poids de la poche du plasma pleine} - \text{Poids de la poche vide})}{1.03^*}$$

- Quantité : **un pool de 10 unités de plasma.**
- fréquence : **une fois par semaine :** à J1, après **6 mois (M6) et** après **11 mois (M11)** de stockage.

Tableau récapitulatif :

Jours de prélèvement :	Nombre de prélèvements	Tests à réaliser :
Premier jour : **J1**	**3**	- dosage du facteur VIII ***(ou TP/TCK)***.
		- dosage de l'hémoglobine et des plaquettes
		- dosage des protides et du potassium
Après 6 mois de congélation : **M6**	**2**	- dosage du facteur VIII *(ou TP/TCK).*
		- dosage des protides
Après 11 mois de congélation : **M11**	**2**	- dosage du facteur VIII *(ou TP/TCK).*
		- dosage des protides

Normes des paramètres contrôles dans le PFC :

PARAMETRES A CONTROLER	NORMES
poids	≥ 205 g (150 g pour LFB)
Volume [= poids/1.03]	≥ 200 ml (150 ml pour LFB)
Taux de plaquettes (Pq)	≤ 25 10^9
Globules blancs (GB)	≤ 0.1 10^9
Globules Rouge	≤ 6 10^9
Hémoglobine (Hb)	< 50 mg/l
Taux de protides	≥50g/l
Potassium (K+)	< 5mEq/l
Facteur VIIIc	80 à 100%
TP	70 à 100%
TCK	Prolongement de 5 secondes par rapport au témoin

NB :

- **Hb poche = (Hb / 100 ml) ÷ (100) x (poids poche)**
- **GB poche = (GB / µl) x (volume poche en ml) x 10^3**
- **pq poche = (pq / µl) x (volume poche en ml) x 10^3**

Les références des normes : le Référentiel, Bonnes pratiques Transfusionnelles 3eme version 2009(CNTS).

CONFORMITE DES POCHES DE PLASMA

Désignation	Conformité	Non conformité
Poids	>179 g	< 179 g
Tubulure	Pleine	Vide ou avec bulles d'air
	Soudée aux deux extrémités	Pas de double soudure
	Long de 15 cm environ	Plus petite
	Fixée au dos avec étiquette catégorie II recommandé	Non fixée
Poche	Plasma de couleur jaune orangée	Rougeâtre, lipidique, ictérique, verdâtre
	Congelée à plat	Congélation incorrecte
	Etiquette bien remplie	Etiquette mal remplie
	Code à barre bien visible	Code à barre caché ou illisible
	Numéro à code à barre = numéro inscrit sur l'étiquette	Numéro à code à barre différent de celui inscrit sur l'étiquette
	Absence de morceaux de glace sur la poche	Présence de morceaux de glace sur la poche

Tous les CRTS ne disposent pas du matériel nécessaire pour faire :

- **La numération formule sanguine (NFS)** des poches de plasma préparées avant congélation en vue de rechercher les cellules sanguines résiduelles (Hématies, Leucocytes, plaquettes) et mettre en évidence la pureté requise après séparation du sang total**.**
- **Le dosage du potassium et des protides,**
- **L'examen bactériologique des CPS**,

La cause c'est que le budget nécessaire pour un tel équipement n'est pas justifié par la faible cadence des tests effectués pour le contrôle. Donc ils ont recourt à la sous-traitance de ces analyses dans un laboratoire externe (laboratoire de l'hôpital).

Les autres paramètres sont faits in-situ à savoir :

- le poids et le volume,
- le pH à l'aide d'un pH mètre, étalonné par des solutions étalon du pH,
- le Swirling (Exposées à une source lumineuse, les plaquettes discoïdes du C.P.S, produisent un phénomène de tournoiement ou 'Swirling' qui est évalué en : +++, ++ ou +)
- l'hémostase : TP, TCK, Facteur VIII,

D. Contrôle de l'hémostase des PFC :

Cette procédure nous décrit la méthodologie à suivre pour contrôler le taux des facteurs de coagulation : TP, TCK, taux de facteur VIII du PFC à fin d'avoir une idée sur la qualité de sa préparation et sa conservation.

1. Echantillonnage :

a. Plasma témoin.

- Plasma prélevé d'un donneur pris au hasard dans la salle de prélèvement
- Sur tube citraté 3.2%.
- À raison d'un Volume de citrate pour 9 Volumes de sang
- Centrifuger 15 min à 1500g aussitôt que possible
- Stabilité 4h à T° ambiante

b. Plasma déficitaire en facteur VIII.

- Plasma prélevé d'un hémophile A majeur bénévole
- Sur tube citraté 3.2%
- À raison d'un Volume de citrate pour 9 Volumes de sang
- Centrifuger 15 min à 1500g aussitôt que possible
- Stabilité 4h à T° ambiante

c.Plasma à tester.

- 6 poches de PFC âgés de 01 mois
- 6 poches de PFC âgés de 11 mois
- On note pour chaque poche :
- Le numéro de don
- La date de prélèvement
- L'aspect visuel
- La couleur.
- Le poids
- On décongèle les tubulures des poches une à une au bain marie à 37° c.
- On coupe chaque tubulure et on verse son contenu dans un tube en plastique.
- On fait un pool des PFC âgés de 01 mois
- On fait un pool des PFC âgés de 11 mois
- On place les pools dans un bac froid.

2 . Matériel :

Soudeuse ; Balance ; Bain Marie ; Bac froid ; Chronomètre ; Micropipettes ; Tubes en verre 12x75mm ; Tubes en plastique ; Embouts de pipettes ; Papier semi-logarithmique ; Crayon ; Marqueur ; Règle.

3. Réactifs :

- Tampon Owren-Kaler (Ok)
- Chlorure de calcium ($CaCl_2$)

- Céphaline

- Thromboplastine

4. Mode opératoire

a. Détermination du taux de prothrombine TP

➔Reconstitution du réactif

- On reconstitue la thromboplastine selon les recommandations du fournisseur (Prospectus)
- On respecte les conditions de conservation du réactif après reconstitution.
- On agite le réactif avant chaque emploi jusqu'à homogénéisation
- On incube la thromboplastine avant chaque emploi 30 min au moins à 37°C

➔Réaction

- On met dans un tube de verre chauffé à +37° 100µl de plasma (Témoin, Test)
- On laisse incuber 1min à 37°C.
- On ajoute 200 µl de thromboplastine pré-incubée en déclenchant le chronomètre au fur et à mesure.
- Vers la 9^{éme} seconde, on sort le tube incliné pour vérifier la formation de la fibrine (nuage blanchâtre) et on le retrempe immédiatement dans le bain marie. On refait ce geste rapidement et successivement jusqu'à obtention de la fibrine
- On arrête le chronomètre dès la formation de la fibrine

On note le temps trouvé. C'est le temps de quick=TQ

➔ Calcul des résultats

- Le TQ qui doit être trouvé pour les témoins est 12 ± 01 secondes. Pour convertir le TQ du test en TP :
- On prend le tableau fourni avec le kit
- On choisi la colonne qui correspond à la valeur du témoin
- On cherche le TQ du test et voir le pourcentage qui lui correspond. C'est le TP

➔Interprétation des résultats

La valeur normale du TP = 70% à 100%.

Si la valeur du TP est > 70%, on conclue que notre plasma est Conforme. Le cas échéant (TP< 70%), on recommence le dosage, et si le résultat est reproductible (< à 70%), on recommence le test mais cette fois sur poche unitaire (poche par poche du pool) pour savoir si le taux est bas dans toutes les poches du pool ou seulement sur une d'entre elles. Quelque soit le résultat de ce dernier test, un autre pool de 6 poches de PFC doit être analysé.

Si le problème persiste, il faut prévenir le laboratoire de séparation et le RAQ après avoir reporter l'anomalie sur une FAQ pour chercher la cause et l'origine de cette non conformité.

b. Détermination du temps de cephaline Kaolin TCK

➔Reconstitution du réactif

- On reconstitue la céphaline selon les recommandations du fournisseur (Prospectus)
- On respecte les conditions de conservations du réactif après reconstitution.
- On agite le réactif avant chaque emploi jusqu'à homogénéisation

➔Réaction

- On met dans un tube de verre
  - 100 µl de plasma (Témoin ou Test)
  - 100 µl de céphaline
- Incubation 3 min à 37°C
- On ajoute 100 µl de $Cacl_2$ tout en déclenchant le chronomètre
- Vers la 20ème seconde, on sort le tube incliné pour vérifier la formation de la fibrine (nuage blanchâtre) et on le retrempe immédiatement dans le bain marie
- On refait ce geste rapidement et successivement jusqu'à obtention de la fibrine

➔ Calcul des résultats

Le temps trouvé est le TCK (Au environ de 34secondes).

➔Interprétation des résultats

Si la valeur du TCK trouvée est égale à celle trouvé chez le témoin ± 5 secondes, on conclue que notre plasma est Conforme. Le cas échéant, on recommence le dosage du et si le résultat est reproductible, on recommence le test mais cette fois sur poche unitaire (poche

par poche du pool) pour savoir si le résultat est bas dans toutes les poches du pool ou seulement sur une d'entre elles.

Quelque soit le résultat de ce dernier test, un autre pool de 6 poches de PFC doit être analysé. Si le problème persiste, il faut prévenir le laboratoire de séparation et le RAQ après avoir reporter l'anomalie sur une FAQ pour chercher la cause et l'origine de ce non-conformité.

c. Dosage du Facteur VIII

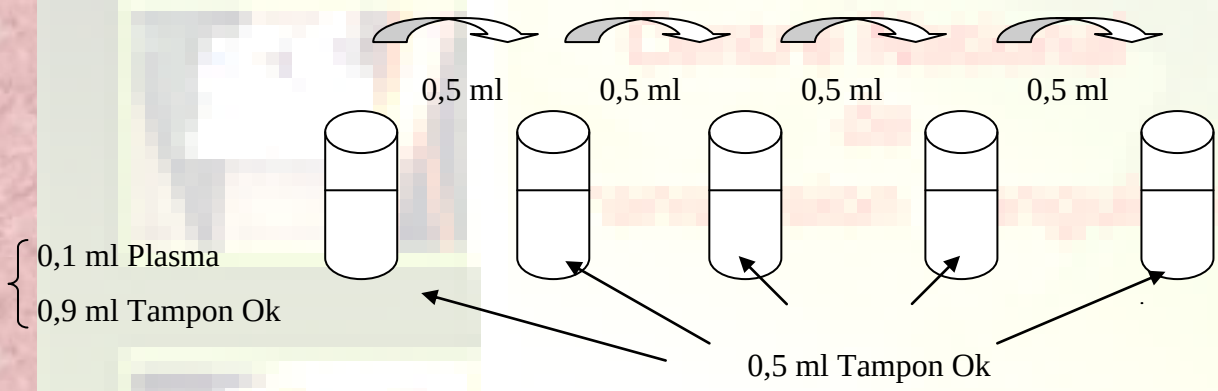
➔Reconstitution du réactif

- On reconstitue la céphaline selon les recommandations du fournisseur (Prospectus)
- On respecte les conditions de conservations du réactif après reconstitution.
- On agite le réactif avant chaque emploi jusqu'à homogénéisation
- On Incube la thromboplastine avant chaque emploi pendant au moins 30 min à 37°C.

➔Réaction

Plasma témoin

- On dilue le plasma Témoin du 1/10 au 1/640 dans le Tampon Ok



- On met dans un tube en verre :
  - 100 µl de la dilution
  - 100 µl de céphaline
  - 100 µl du plasma déficitaire en facteur VIII
- On incube 3 min au bain marie à 37°C
- On ajoute 100µl de $CaCl_2$ en déclenchant le chronomètre
- Vers 20 secondes on sort le tube incliné pour vérifier la formation de la fibrine (nuage blanchâtre) et on le retremper immédiatement dans le bain marie
- On refait ce geste rapidement et successivement jusqu'à obtention de la fibrine
- On arrête le chronomètre dès la formation de la fibrine
- On noter le temps

- On trace la droite du témoin sur le papier semi logarithmique (courbe d'étalonnage)

Plasma à tester

On suive le même protocole décrit ci-dessus mais avec le pool de plasma pur sans dilution.

➔ Calcul des résultats

On fait la projection de la valeur trouvée sur la courbe d'étalonnage pour trouver le pourcentage du Facteur VIII dans le pool de plasma à contrôler.

➔Interprétation des résultats

Si la valeur du facteur VIII trouvé est > 70%, on conclue que notre plasma est Conforme. Le cas échéant (FVIII< 70%), on recommence le dosage du FVIII, et si le résultat est reproductible (< à 70%), on recommence le test mais cette fois sur poche unitaire (poche par poche du pool) pour savoir si le taux est bas dans toutes les poches du pool ou seulement sur une d'entre elles.

Quelque soit le résultat de ce dernier test, un autre pool de 6 poches de PFC doit être analysé.

Si le problème persiste, il faut prévenir le laboratoire de séparation et le RAQ après avoir reporter l'anomalie sur une FAQ pour chercher la cause et l'origine de cette non-conformité.

Report des résultats :

Les résultats obtenus seront notés sur le registre de contrôle du PFC se trouvant au laboratoire de CQ.

Les Résultats de production et de contrôles qualités des PSL :

1. Résultats de production :

a.les Résultats de l'année 2009 :

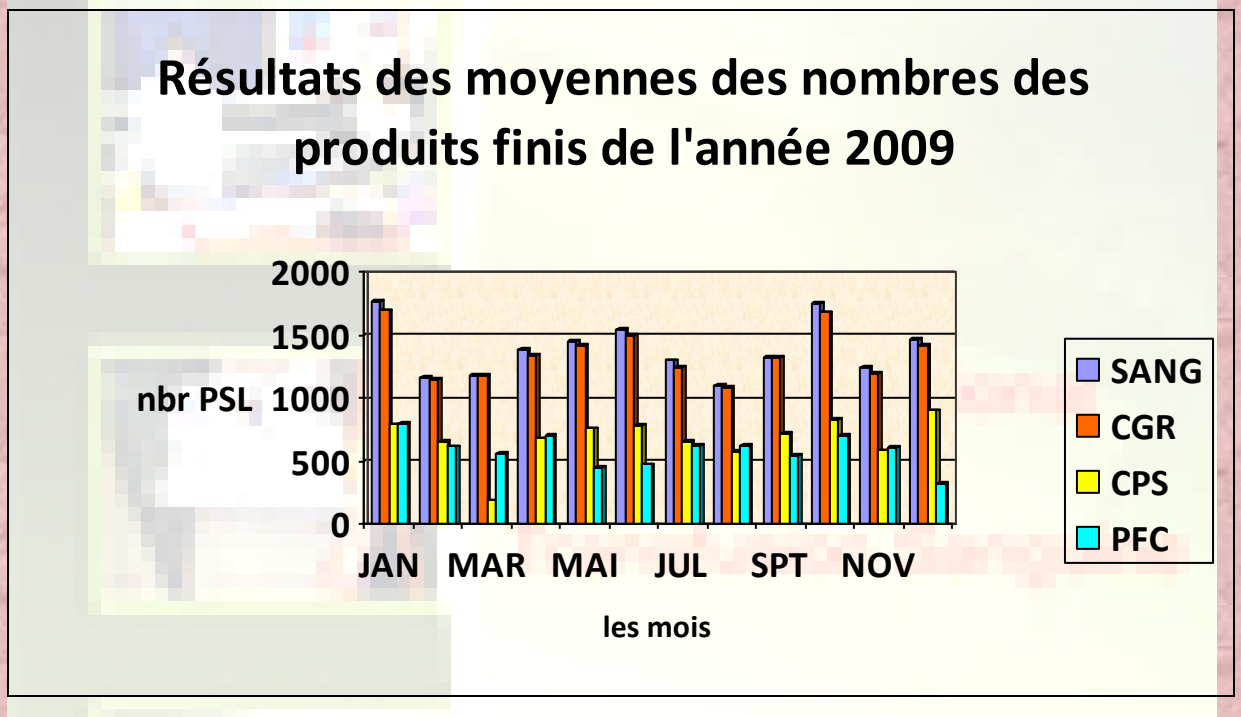


Figure 16:présentation graphique de la moyenne du nombre des produits finis préparé en 2009

a- **les Résultats de l'année 2010**

Moyenne du nombre des produits finis préparé en 2010.

MOIS	ST	CGR	CPS	PFC
JAN	**1661**	**1616**	**951**	**998**
FEV	**1333**	**1273**	**563**	**492**
MAR	**1631**	**1571**	**912**	**775**
AVR	**1823**	**1777**	**913**	**417**
MAI	**1518**	**1474**	**867**	**628**

	Contrôle	Nombre de poches testées	Résultat	Valeurs normales

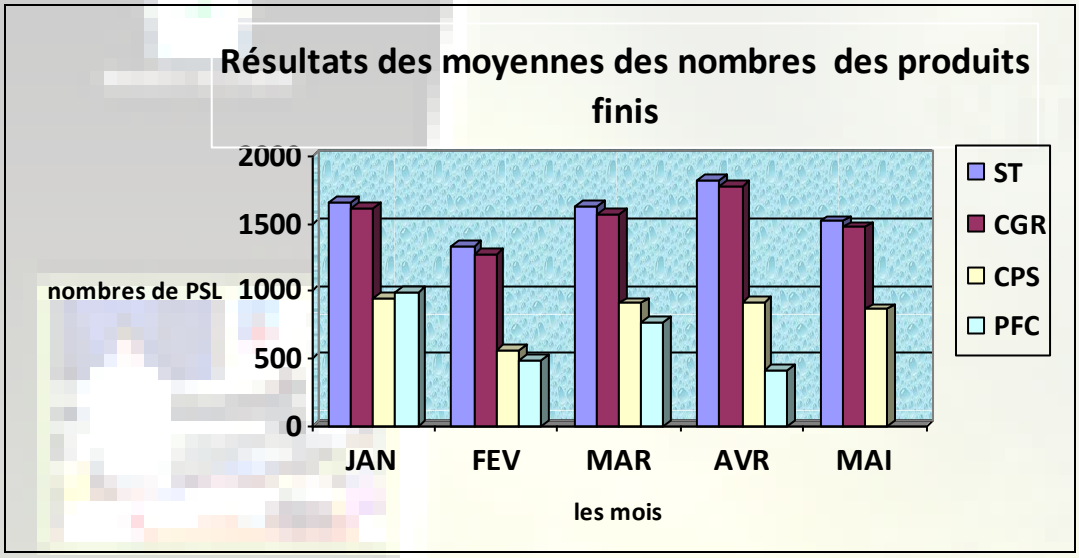


Figure 17:présentation graphique de la moyenne du nombre des produits finis de l'année 2010.

⇒ ***Interprétation des résultats.***

Les deux graphes ci-dessus représentent le nombre des produits finis préparé en fonction du temps. On observe que la valeur de PFC et de CPS sont les plus bas, ce la est dû à la haute sensibilité de ces produits : à la température, La durée de prélèvement, les conditions de séparation, la manière de conservation et l'aspect de produis fini (chyleux, ictérique verdâtre).

On remarque que ces résultats est restent globalement stables au cours de ces deux années.

1. ***Résultats des contrôles qualités des PSL***

a. Valeurs moyennes des Contrôles de qualité des PSL de puis 2003 jusqu'à l'année 2009

A. Contrôle qualité de C.G.R.

Moyenne des poches collectées par mois = 1380 Poches.

Tableau récapitulatif des paramètres à contrôles dans le CGR :

	CONTROLE QUOTIDIEN			
1	**Aspect**	**20%**	**Conforme**	**Rouge sombre** **Absence de bulles d'air** **Absence de caillot**
2	**Intégrité du système clos**		**Conforme**	**Etanche**
3	**Volume**		**217 ml**	**≥ 175 ml**
4	**Poids**		**236 g**	**≥ 190g**
	CONTROLE HEBDOMADAIRE			
5	**Hb**	**2unités**	**50 g**	**≥ 45g**
6	**Hte**		**68%**	**60 80%**

B. Contrôle qualité de C.P.S.

Tableau récapitulatif des paramètres à contrôles dans le CPS :

Moyenne des poches collectées par mois = 650 Poches.

	Contrôle de qualité	Nombre de poches testées	Résultat	Valeurs normales
	CONTROLE QUOTIDIEN			
1	**Aspect**	**20%**	**Conforme**	**Moiré** **Non ictérique** **Non érythrocytaire** **Non hémolysé** **Non chyleux** **Non verdâtre**
2	**Intégrité du système clos**		**Conforme**	**Etanche**
3	**Volume**		**49 ml**	**40 ml ≤ V ≤ 60 ml**
4	**Poids**		**50 g**	**40 g ≤ V ≤ 60 g**
5	**Swirling**		**(+++,++,+)**	**(+++,++,+)**
	CONTROLE HEBDOMADAIRE			
6	**pH**	**3 unités**	**Non fait**	**6.4 ≤ pH ≤ 7,4**
7	**Numération plaquettes**		**0.57 10^{11}**	**≥ 0.5 10^{11} (0.4 10^{11})**
8	**Numération globules blancs**		**0.04 10^{9}** **(0.014 - 0.068)10^{9}**	**≤ 0.2 10^{9}**
9	**Culture bactériologique**	**Non faite**		**Stérile**

C.Contrôle qualité du P.F.C.

Tableau récapitulatif des paramètres à contrôles dans le PFC :

Moyenne des poches collectées par mois = 850 Poches.

	Contrôle	Nombre de poches testées	Résultat	Valeurs normales
CONTROLE QUOTIDIEN				
1	Aspect	20%	Conforme	Limpide ....
2	Intégrité du système clos		Conforme	Etanche
3	Poids		240 g	≥ 205 g
4	Volume		233 ml	≥ 200 ml
CONTROLE HEBDOMADAIRE				
5	TQ	Pool de 6 poches	96 %	80 à 100%
6	TCA		39'' / témoin = 34''	+ 5'' / témoin
CONTROLE MENSUEL				
7	Protidémie	Pool de 10 poches	62	≥50g/l
8	Potassium (K+)		4	< 5mEq/l
9	Hémoglobine (Hb)		00	< 50 mg/l
10	Nb. Plaquettes		$5.2\ 10^9 – 18\ 10^9$	$\leq 25\ 10^9$
11	FVIII	Non fait depuis mars 2004		0.7 UI/ml

b.Valeurs moyennes des Contrôles de qualité des PSL durant le Mois de Mai 2010

A. Contrôle de qualité des concentrés de globules rouges

Tableau récapitulatif des paramètres à contrôles dans le CGR :

Moyenne des poches collectées = 1474 Poches.

CQ	Nombre d'unités contrôlées	Moyenne des valeurs trouvées en Mai 2010
Moyenne Volume	297	217
Moyenne Poids	297	236
Hémoglobine	Non faite	
Hématocrite	Non faite	

B.CQ des Concentrés standard des plaquettes :

Tableau récapitulatif des paramètres à contrôles dans le CPS :

CQ	Nombre d'unités contrôlées	Moyenne des valeurs trouvées en Mai 2010
Volume	215	200

Moyenne des poches collectées = 867 Poches.

CQ	Nombre d'unités contrôlées	Moyenne des valeurs trouvées en Mai 2010
volume	205	40
Poids	205	41
PH	Non fait	
Swirling	*J1 10 J3 03 unités J5 03 unités	J1 (++++) J3 (+++) J5 (++)
Numération plaquettes	Non faite	
Numération globules blancs	Non faite	
Numération globules rouges	Non faite	
Culture bactériologique	Non faite	
aspect	Vérification de l'aspect de tout le lot	Toute poche dont l'aspect est anormal est écartée

*J 1 : le premier jour

C.Contrôle de qualité du plasma frais congelé

Tableau récapitulatif des paramètres à contrôles dans le CPS :

Moyenne des poches collectées = 628 Poches.

Poids	215	205
TQ	03 unités par semaine avant congélation 6 unités par mois décongelées	96 %
TCA	03 unités par semaine avant congélation 6 unités par mois décongelées	95%
Protidémie	Non faite	
FV	Non fait	
FVIII	Non fait	

c. Valeurs moyennes des TP des PFC durant l'année 2008

MOIS	TEMOIN	TQ de PFC	TP(%)
1	12	12.16	96
2	12	12.3	95
3	12.5	12.6	100
4	13	13.1	96
5	13	13.8	89
6	13	13	100
7	0	0	0
8	0	0	0
9	12	12	100
10	12	12.2	96
11	0	0	0
12	12.16	12.6	91

le moyenne des valeurs de TP de PFC exprimer en poursantag

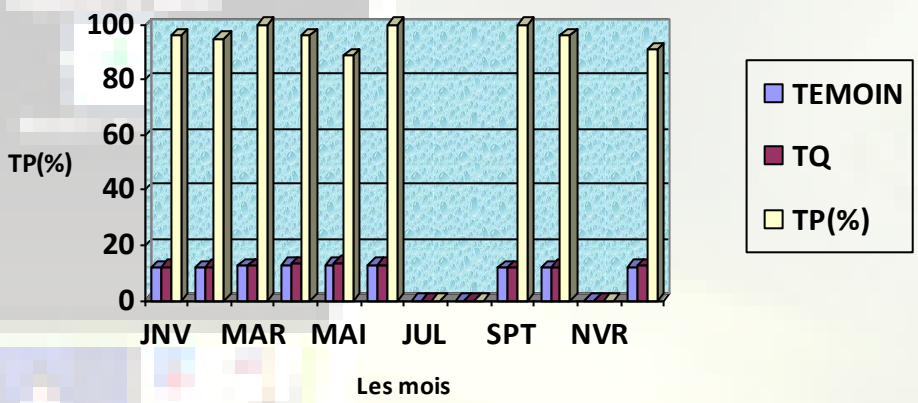


Figure 18:présentation graphique des résultats de TP de PFC de l'année 2008

d. Valeurs moyennes des TP des PFC durant L'année 2009

MOIS	TEMOIN	TQ de PFC	TP
1	12	12.5	94
2	12	12.33	97
3	12	0	100
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	12	12.66	89
9	12	14	83.25
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0

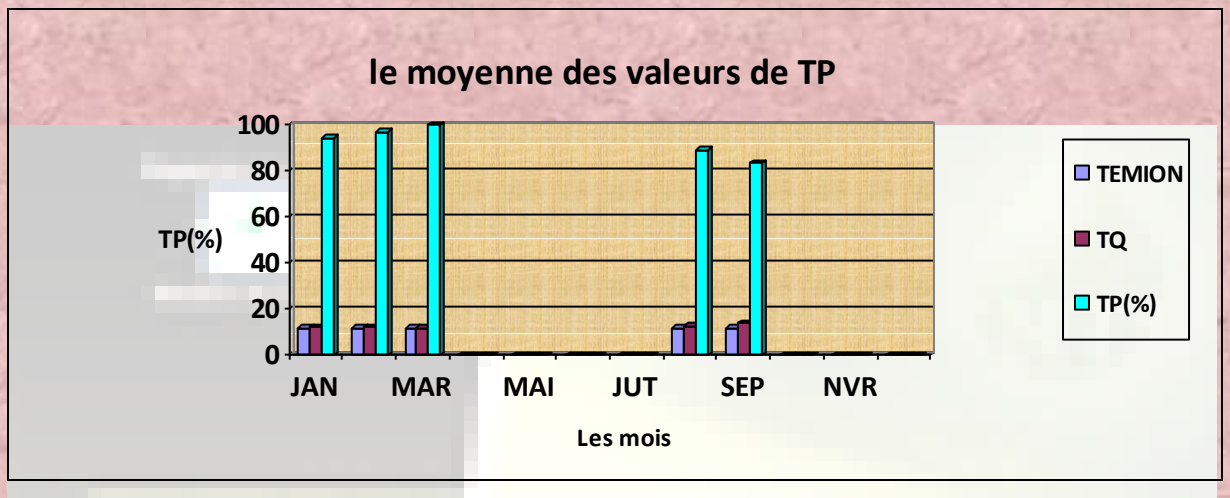


Figure 19 : présentation graphique des résultats de TP de PFC de l'année 2009.

⇒ ***Interprétation des résultats.***

Les deux graphes ci-dessus représentent le Taux de prothrombine et le temps de quick en fonction du temps (les mois des deux années 2008 et 2009). On observe que les valeurs de TQ est proche aux valeurs de Témoin, donc les résultats ci-dessus montrent que les valeurs de TP répondent aux normes, les valeurs trouvé sont entre 70% et 100%. Malgré l'absence des valeurs pour certain mois, a couse de certain problèmes technique.

e. Contrôles de qualité de poids et de volume des PSL durant le mois Mai 2010

Contrôle	ST	CGR	PFC	CPS
Poids(g)	442	236	205	41
Volume (ml)	409	217	199	40

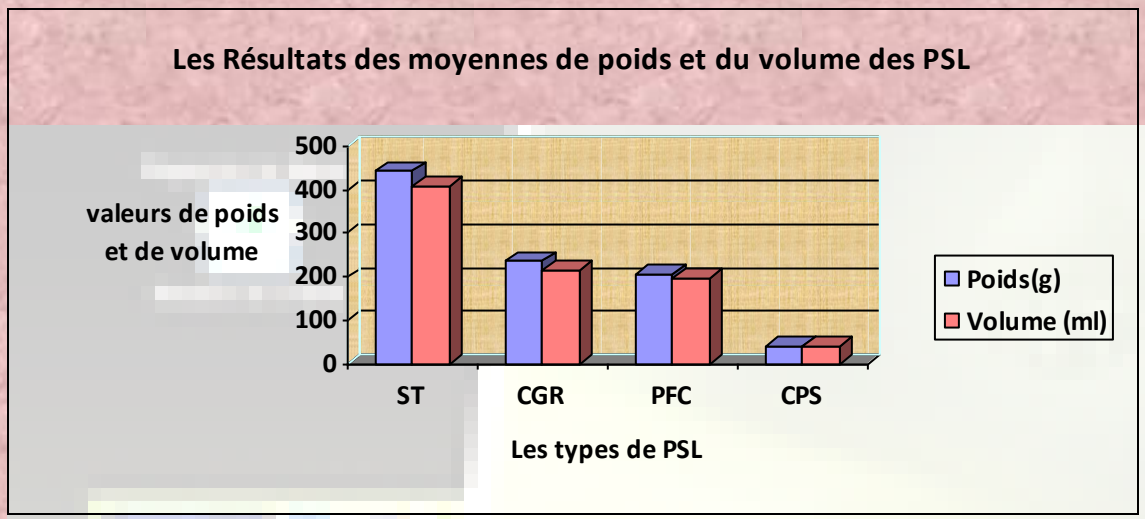


Figure 20: présentation graphique des valeurs de poids et de volume des PSL durant le mois de Mai 2010.

⇒ ***Interprétation des résultats.***

Le graphe ci-dessus représente les valeurs de poids et de volumes de produits finis en fonction de son type. On observe que ces résultats répondent aux normes, donc sont conforme.

IV. Discussion des résultats :

Les contrôles faits sur les PSL au niveau du CRTS font preuve de la qualité de leur production. En effet la consultation des résultats archivés ainsi que ceux représentés ci-dessus montrent que les valeurs répondent aux normes. Ceci n'est pas surprenant dans la mesure où le CRTS dispose d'un système de management de qualité qui fait de sorte que toutes les manipulations sont structurées en procédures bien explicites et bien détaillées depuis l'accueil du donneur jusqu'à la transfusion du receveur. Tous les écarts rencontrés sont sujet à des actions correctives aussi immédiates que possible pour apporter la solution et mettre les dispositions préventives pour que ces écarts ne se reproduisent plus.

1-Exploitation des résultats des CQ

Les résultats des contrôles permettent donc l'application de mesures correctives adaptées sans retard.

En cas de dérive de la production, la fréquence des contrôles doit être adaptée : la persistance de la dérive impose une révision analytique des paramètres de productions. Cette révision peut aller jusqu'à une nouvelle validation complète du procédé.

Les résultats et leurs analyses font l'objet d'une information commentée, régulièrement, auprès du personnel concerné, dans un délai d'autant plus court qu'une déviation importante a été observée.

Un bilan des résultats du suivi de la qualité est lui aussi effectué et fait l'objet d'une diffusion large sous diverses formes (documents, affichages, commentaires, réunions ...), de telle sorte que ces informations soient aisément disponibles.

Le personnel de production se trouve ainsi impliqué dans l'ensemble du suivi de qualité de la production et de son amélioration.

- **Mesures correctives**

La responsabilité de la mise en place des actions correctives incombe, de façon conjointe, aux responsables de la production et des contrôles.

Les mesures correctives jugées nécessaires ne sont mises en œuvre qu'après une information des personnes responsables des activités concernées par ces mesures.

Une analyse avec ces mêmes personnes des conséquences éventuelles des mesures envisagées (interactions entre paramètres techniques par exemple) est réalisée.

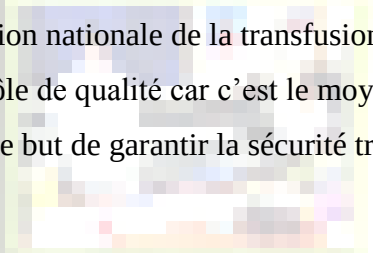
L'application d'éventuelles mesures correctives et l'évaluation de leurs résultats font l'objet d'un suivi précis.

V. Conclusion :

La transfusion sanguine est un geste très utile en pratique clinique qui nécessite la surveillance stricte à fin d'éviter certains accidents souvent mortels. La prévention des accidents transfusionnels implique la mise en place de mesures de sécurité lors du don:

Groupage, asepsie, recherche maladie transmissible, contrôle qualité des produits finis … et lors de la transfusion : bilan prètransfusionnel du patient transfusé, vérification de la compatibilité au chevet de malade…

Toute l'importance doit être accordée à tout geste quelque soit son importance car on transfusion sanguine il n y a pas de geste qui ne suscite pas d'intérêt ou de vigilance. Aussi la direction nationale de la transfusion sanguine est en progrès permanent quant au système de contrôle de qualité car c'est le moyen de gérer les écarts et de les prévenir à toutes les échelles dans le but de garantir la sécurité transfusionnelle.



Résumé :

Au cours de mon stage, j'ai suivi toutes les étapes de production des PSL pour comprendre comment peut-on aboutir ou non à un produit de qualité.

Puis j'ai entamé la partie consacrée au contrôle de qualité des PSL.

La production de produits sanguins labiles est structurée en procédures résumant toutes les opérations subies par le sang total (matières premières) avant d'aboutir aux produits finis (CGR, PFC, CPS). Les étapes principales étant la centrifugation différentielle et l'extraction sous pression.

Le but de la production est de préparer des produits sanguins nécessaires et spécifiques pour certaines maladies et afin d'éviter les accidents de surcharge volumique.

Le contrôle de qualité des PSL inclut des paramètres spécifiques à contrôler figurent dans les caractéristiques des produits sanguins labiles :

- Le contenu en principe actif : Hématocrite, Hémoglobine, Numération de plaquettes Dosage de protides et facteurs de coagulation.
- La pureté requise (numération des éléments contaminant ne devant pas exister dans le produit fini) : Hémoglobine, Numération de plaquettes et Numération des GB.
- Le contrôle visuel : l'aspect (verdâtre, chyleux, ictérique..) et le Swirling.
- Le contrôle de poids et de volume.

Le but est de vérifier la qualité des PSL préparer, montrer que le produit est conforme à la réglementation et aux normes et d'autre part de comparer statistiquement les résultats entre les lots contrôlés.

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] P.A. Queloz, M. A. Siegenthaler J. Conne, Ph. Schneider J.D Tissot. Immunohématoloqie Bases de médecine transfusionnelle Quatrième édition Mise à jour août 2005.

[4] Jean Luc Wautier, Bernard David. Conséquences à moyen et long terme des transfusions Hématologie Mini-revue 2003 ; 9 : 419-23.

[5] Jean Claude Bensa, Histoire de la Transfusion Sanguine Sciences humaines et sociales Mars 2006.

[6] Journal Officiel français 1993 : 237-45. Loi n° 93-5 du 4 janvier 1993 relative à la sécurité en matière de transfusion sanguine et de médicament.

[7] Revue de la transfusion sanguine au Maroc N°I : 1999 ; N°II : 2000 ; N°III 2003.

[8] B.Worms, F. Vileyn Programme en transfusion des étudiants en médecine Transfusion Clinique et Biologique 2005 ; 12 : 59–69

[9] Bernard Dreyfus. Ouvrage d'Hématologie : Flammarion médecine-sciences.

[10] Le Référentiel des Bonnes pratiques transfusionnelles, versions 2009(CNTS) maroc.