



Etablissement Français du Sang

Mission de formation en transfusion sanguine en Afghanistan



**Rapport de mission de
Damien Masson
Technicien de laboratoire**

5-17 décembre 2004



Avec le soutien de l'Ambassade de France en Afghanistan

Rappel des objectifs de la mission à Herat :

- Formation pratique intensive des techniciens des banques de sang des provinces de l'Ouest ;
- Evaluation formelle précise, en début et en fin de formation, du niveau des participants ;
- Evaluation des conditions techniques de travail et des pratiques du personnel dans la banque de sang d'Herat (dans l'enceinte d'une polyclinique) ; élaboration de recommandations ;
- Observation de la capacité locale à mettre en place les guidelines élaborés dans le cadre du processus d'organisation du système national de transfusion sanguine ;
- Evaluation des possibilités d'approvisionnement sur le marché local en équipements et consommables pour la transfusion sanguine.

Formation des techniciens de l'Ouest de l'Afghanistan, à Herat (6-16 décembre).

Après le cérémonial d'accueil par les autorités locales, à l'hôpital d'Herat, et en présence du Docteur Temoury, responsable national de la transfusion sanguine et des laboratoires au MoH et du Docteur Frédéric Tissot, Chef du Projet Santé à l'Ambassade de France, nous nous rendons à la banque du sang. Là, nous retrouvons les techniciens pour la réalisation du pré-test théorique. Ils sont 14 en tout.

Cette formation, en théorie comme en pratique, dispense les mêmes enseignements que celle de Kaboul en avril et Mazar en juillet 2004:

- A- Préparation des hématies test en vue de réaliser le Simonin du groupage sanguin ;
- B- Groupage sanguin en Beth-Vincent (épreuve) ET Simonin (contre épreuve) ;
- C- Test de Coombs direct ;
- D- Test de Coombs indirect ;
- E- Cross match en antiglobuline polyvalente, en Coombs indirect.

L'impression d'ensemble est bonne : les techniciens sont à l'heure le matin, suivent la théorie de façon attentive, questionnent et cherchent à comprendre. Les conditions de TP sont correctes :

- laboratoire aménagé avec des tables en longueur permettant la répartition des techniciens tout au long et offrant une bonne vue d'ensemble pour moi,
- présence de centrifugeuse et bain-marie sur place ; lavabo dans la pièce, d'où lavage facilité des mains en fin de TP,
- tableau blanc dans la salle de TP, permettant de schématiser les techniques à réaliser, de sorte que les techniciens les aient sous les yeux en permanence.

- dettol pour désinfecter les matériels à laver, ceci par un agent d'entretien de la banque de sang. Les matériels nous reviennent propres chaque matin.

C'est le dettol fourni par l'AMI pour la mission. J'ai pris l'initiative du nettoyage avec désinfection au dettol ; ce n'est malheureusement pas encore un systématisme ici mais il faudrait que ça le devienne.

Pour les deux premiers jours de TP, un étudiant en médecine, parlant anglais m'est attribué par le Dr TIMOURI pour compenser l'absence du Dr Hussein ZADA, traducteur du Dr NASR pour la conférence aux médecins. Ces deux jours ont été un succès. Je sens des techniciens intéressés d'emblée et investis dans les manipulations !

A- Les hématies test.

Le but de ce TP est de préparer trois suspensions d'hématies à 10% :
une A, une B et une 0 (non A, non B).

Si possible, en choisir une des trois Rhésus Négatif pour le témoin anti D (*).

Des globules de donneurs de ces groupes respectifs sont lavés successivement trois fois en solution saline.

Enfin, un volume de culot lavé est suspendu dans 9 volumes de saline = suspension à 10%.

Cette technique est très simple à réaliser. Tous les sites de transfusion sont censés préparer leurs hématies Simonin pour un laps de temps de 1 jour à une semaine, conservées à entre + 2°C et + 8°C.

Il est extrêmement important de vérifier chaque matin ces suspensions : absence d'hémolyse du surnageant et groupage sanguin correct. Toute anomalie entraîne la nullité de la suspension concernée et nécessite de la refaire !

Il est évident que ces suspensions n'existent pas, quelle que soit la province. Cela s'explique puisqu'ils n'ont pas de centrifugeuse, ou pas d'électricité, pour pouvoir laver les globules ! Ainsi, seul le Beth-Vincent est fait en routine, avec anti A, anti B et anti D uniquement. Aucun tube de sang n'est donc prélevé puisque le bout du doigt suffit à sa réalisation.

Je le répète à nouveau :

Un groupage sanguin valide doit être effectué en test globulaire ou épreuve de Beth-Vincent ET en test sérique ou contre épreuve de Simonin ; cela nécessite bien entendu le prélèvement d'un tube anticoagulé, et dûment identifié avec nom, prénom et date de naissance.

B- Le groupage sanguin : Beth-Vincent ET Simonin.

Nous avons apporté avec nous 100 dispositifs jetables Sérofast (ensemble plaque cartonnée avec puits de réaction matérialisé par un rond rouge + agitateur plastique se calquant dessus). Remarque : par réflexe ici, les plaques carton et agitateurs sont lavés, désinfectés et réutilisés. La plaque support de ces dispositifs est prise en modèle pour en fabriquer 4 autres en bois, qui seront très utiles pour la formation.

Les dispositifs non utilisés en fin de formation seront répartis sur l'ensemble des provinces présentes, après cession au responsable local.

La technique est très simple :

Centrifugation du tube de sang total et retranscription de son n° sur la ligne de réaction.

Puis répartition distincte à l'horizontale, dans les ronds rouges, de gauche à droite:

1°) antisérums : 1 goutte d'anti A, 1 d'anti B, 1 d'anti D et son témoin négatif (*) (une goutte d'anti D avec une goutte d'hématie test Rhésus Négatif),

2°) hématies-test A, B et 0 : 1 goutte de chaque,

et avec le même compte-gouttes :

3°) sérum du tube : 2 gouttes dans chaque puits d'hématie test,

4°) hématies du tube : une goutte par puits d'antisérum.

Ensuite homogénéisation à l'aide de l'agitateur plastique. La lecture se fait après une trentaine de secondes, le temps d'apparition du Simonin.

Les techniciens sont chargés de grouper 6 tubes chacun, à l'aveugle (seul un numéro identifie chaque tube). Ceci grâce à une vingtaine de tubes de sang frais, prélevés sur les tubes anticoagulés apportés avec nous.

En réalité, le temps de maîtriser parfaitement la technique, ils en groupent chacun de 3 à 4.

Je relève à mesure les quelques gestes à corriger mais, dans l'ensemble, le bilan est positif. Les participants assimilent vite et bien !

C- Le test de Coombs direct.

Ce test dépiste les éventuels anticorps fixés sur les globules du malade. Il est réalisé à l'antiglobuline polyvalente d'origine animale (souris).

Les globules du malade (une goutte) sont lavés trois fois au sérum physiologique. Le culot sec est ensuite mis en contact une minute avec l'antiglobuline (une goutte) qui révélera les anticorps fixés s'ils existent.

Deux résultats possibles, après une minute de centrifugation :

- Agglutination lisible => Coombs positif : la présence d'anticorps fixés est avérée,
- Pas d'agglutination => Coombs négatif : a priori, aucun anticorps fixé n'est révélé par l'antiglobuline.

Toutefois, il convient de vérifier la réelle négativité de la réaction. L'antiglobuline peut en effet ne pas être restée libre et être fixée sur des anticorps circulants résiduels, après lavages.

On ajoute donc un témoin positif : des globules Rh +, sensibilisés à l'anti D => l'antiglobuline, si elle est réellement libre, va se fixer sur ces anti D apportés et provoquer une agglutination (après une minute de centrifugation).

On éliminera ainsi les faux négatifs.

Le témoin positif est une nouveauté ici, d'où une incertitude quant aux résultats négatifs énoncés.

Il serait bon que ce témoin soit généralisé.

Les techniciens assimilent très vite la méthode de travail, et la schématisation sur tableau blanc des différentes étapes y contribue. Ils reproduisent sans problème des gestes clairs. Ils m'indiquent que le test de Coombs direct n'est pas réalisé dans leurs provinces, y compris à Herat. Il faudrait réfléchir à l'instaurer pour les nouveaux-nés.

Il faut signaler ici que l'anti D, acheté à Peshawar par l'AMI pour cette mission, n'est pas assez concentré pour réaliser le témoin positif (pas d'agglutination visible à l'antiglobuline). En revanche, il convient pour le Beth-Vincent sur plaque. Il a donc fallu utiliser l'anti D de la banque de sang d'Herat, fabriqué par Neogen et fourni par World Vision, ONG (sud coréenne ?) qui supporte cette banque.

D- Le test de Coombs indirect.

Ce test est destiné à dépister les anticorps IgG circulants dans le plasma d'un patient.

Ici, il est applicable à la vérification de non immunisation d'une mère Rh -, ayant accouché d'un enfant Rh +. Lors de l'accouchement, les quelques globules du nouveau-né, gagnant le plasma de la mère, peuvent être neutralisés dans les 72h par une injection de gammaglobulines anti D (ex : Rhogam). Il convient, 24h après l'injection, de contrôler l'excès d'anti D circulant (Coombs indirect positif) afin d'avoir la certitude de non immunisation de la mère. Ainsi les grossesses suivantes se dérouleront sans crainte de maladie hémolytique du nouveau-né.

Pour le TP, on crée un plasma avec anticorps irréguliers. On ajoute une goutte d'antisérum anti D dans le plasma d'un patient.

Ensuite, on réalise une suspension à 5% de globules rouges Rh +. Les anti D circulants vont agglutiner avec les antigènes Rh +, sans pour autant que ce soit visible à l'œil (IgG). Cette micro agglutination sera mise en évidence en ajoutant de l'antiglobuline polyvalente qui va tisser un macro réseau d'agglutination, visible (2 min. de contact puis centrifugation 1 min.).

Parallèlement on réalise un témoin négatif : suspension à 5% de GR Rh -. Aucune agglutination ne doit être observée, puisque l'anticorps irrégulier circulant ne rencontre jamais l'antigène correspondant.

Cette technique n'est pas réalisée en Afghanistan. Les techniciens en comprennent l'intérêt ! On vient, en fait, de constituer un mini panel de deux hématies, connues en antigène D.

On peut fabriquer des panels d'hématies variées dont on connaît les différents antigènes. Par déduction, en fonction des hématies agglutinantes, on pourra ainsi identifier le (les) anticorps irrégulier(s) présent(s) dans le plasma du patient.

E- Cross match en antiglobuline polyvalente (Coombs indirect).

Il est impératif avant toute transfusion pour vérifier la compatibilité donneur receveur.

S'il est positif, l'on doit sélectionner une autre poche à transfuser.

Cette technique met en évidence les anticorps circulants du receveur, qui se fixent sur les antigènes correspondants du donneur. Par contre, on ne peut identifier le ou les anticorps en cause, les panels de dépistage n'étant pas arrivés jusqu'en Afghanistan. C'est à souhaiter pour l'avenir.

L'antiglobuline polyvalente révèle ensuite ces anticorps.

On prépare une suspension à 5% des globules du donneur après trois lavages en saline. Puis l'on met en contact une goutte de globules lavés avec deux gouttes de sérum du receveur. Une centrifugation immédiate permet de détecter d'emblée une incompatibilité ABO flagrante donneur receveur. Si une agglutination apparaît, l'on change de poche. Si tout est négatif, l'on incube le mélange durant 45 minutes à 37°C. A la sortie d'étuve, on lave trois fois pour éliminer les anticorps circulants non fixés. Puis on ajoute l'antiglobuline et on centrifuge après 2 min de contact.

Deux résultats possibles :

- positif : des anticorps circulants du malade se sont fixés aux globules du donneur => l'on doit refaire un cross match avec une nouvelle poche et ce jusqu'à obtenir un cross négatif,
- négatif : tout comme pour le Coombs direct, il faut vérifier la négativité. La technique est la même.

Si c'est un vrai négatif, la transfusion est possible !

Evaluation pratique en début et fin de formation.

Les techniciens ne cachent pas, dès le premier TP, qu'en routine, ils ne réalisent que des groupages sanguins incomplets (Beth-Vincent uniquement). Ils ne sont donc pas habitués à techniquer en tubes. Ils s'y adaptent très vite et acquièrent les bons gestes en peu de temps.

En fin de semaine de formation, tous les tremblements et hésitations ont totalement disparu et tous manipulent de façon propre et directe ! Ils forment un excellent groupe de travail, où l'esprit d'équipe se ressent et dont tous ont apparemment plaisir à faire partie. Ils obtiennent donc tous de bonnes notes (>12/20, note validante) (cf. annexe 1).

Possibilités d'approvisionnement sur le marché local.

Renseignements pris auprès de l'assistant de la banque de sang, on peut trouver sur Herat, sans souci, les kits de prélèvement stériles et du sérum physiologique. Des antisérums iraniens ou pakistanais sont aussi en vente mais ils ne s'avèrent pas efficaces. Tout matériel de laboratoire (tubes, centrifugeuse, étuve, balance, ...) reste introuvable ici.

L'approvisionnement depuis Kaboul est inexistant. C'est pourtant par ce biais que devraient arriver les antisérums, les tests viraux et bactériens ainsi que tout autre besoin nécessaire à la pratique d'une biologie transfusionnelle correcte. Du fait de la rarefaction de kits de test HIV, cet examen n'est réalisé que sur les donneurs ayant séjourné à l'étranger ; il faut à tout prix que cela puisse être fait quel que soit le donneur !

Evaluation des conditions de travail et des pratiques à la banque de sang de Herat.

Hormis la plaque d'opaline où tous les Beth-Vincent sont réalisés, je n'ai pu me rendre compte du réel de la situation. J'ai également assisté au prélèvement de quelques donneurs.

(Cf. rapport du Dr NASR pour de plus amples informations).

Je tiens à noter la propreté d'ensemble qui prédomine dans ce bâtiment. Les sanitaires sont en particulier très propres, ce qui n'était pas le cas à Kaboul.

Conclusion

Cette mission s'est, tout comme celle de Mazar, très bien passée : pas d'obstruction à l'obtention d'informations, des participants très intéressés et désireux de connaître de nouvelles techniques. Ils ont toutefois la lucidité de leur condition et sont honnêtes quant à leurs possibilités de mettre en pratique ce qui a été vu cette semaine.

Je dirais que cette formation pourrait porter ses fruits au vu de l'habileté des techniciens à manipuler et comprendre l'intérêt des TP ; toutefois il ne faut pas se leurrer et les conditions de terrain de chacun dans sa province feront qu'ils feront au mieux pour ne pas tout oublier faute de pratique. Je leur sais une volonté farouche de s'en sortir et demeure confiant, encore une fois, pour l'avenir de la transfusion en Afghanistan.

Merci à M. Faiz Ahmad pour nous avoir fait découvrir cette ville magnifique.

Merci à M. Hussein ZADA pour sa traduction fidèle et indispensable pour la réussite de notre formation.

Merci au Dr TIMOURI, responsable national de la transfusion, pour avoir organisé cette nouvelle session de façon tout aussi rigoureuse et parfaite que celle de Mazar !

Merci à Florence Morestin et au Docteur Frédéric Tissot qui avaient, une fois de plus, tout fait pour que cette mission se déroule dans les meilleures conditions.

**Rapport de mission validé le 20 décembre 2004
par l'Ambassade de France à Kaboul
- Les constats et propositions appartiennent à l'auteur -**



André Tissot

ANNEXE 1

LISTE DES PARTICIPANTS PAR PROVINCE ET NOTE OBTENUE /20.

BADGHIS

Sadoddin	15
----------	----

FARAH

Nazir Shah	15
Zalmaï	14

FARYAB

Esmatullah	16
Mohammad Sadeq	16

GHOOR

Abdul Ghafoor	14
---------------	----

HERAT

Abdul Raoof (Gozarah District)	15
Abdul Razeq (Herat City)	??
Faiz Ahmad (Herat City)	15
Mir Yaqoob (Herat City)	14
Mohammad Naeem	16

Impossible à noter : de permanence à la banque de sang toute la semaine, A. Razeq n'a quasiment pas assisté aux TP, sans que l'on puisse lui reprocher !

NIMRUZ

Mohammad Dawood	15
-----------------	----

SARI POL

Jawad	15
Nawid	15

