

## **INTRODUCTION ET JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE**

### **1. Etat des connaissances, Hypothèse de la recherche, Résultats attendus**

En 2011, la cession de CGR aux établissements de santé français a progressé de 3 % par rapport à 2010 et l'évolution cumulée depuis 2000 atteint +23,9%(EFS 2012). Au final, pour l'année 2011, plus de 3 millions de produits sanguins labiles (PSL), dont 78% de CGR, ont été distribués à plus de 550 000 patients (ANSM 2012).

Toujours selon le rapport d'activité hémovigilance de l'ANSM, en 2011, 7607 effets indésirables receveurs (EIR) ont été notifiés, un chiffre en légère augmentation (+1,9%) par rapport à 2010. Uniquement pour l'année 2011, parmi les EIR, 91,0% étaient de grade 1 (non sévère) ; 6,5% de grade 2 (sévère) ; 2,0% de grade 3 (menace vitale immédiate) et 0,5% de grade 4 (décès). Onze décès ont été déclarés. Six de ces décès étaient d'imputabilité probable ou certaine à la transfusion et les PSL déclarés comme responsables étaient essentiellement les CGR (N=9 ; N=2 pour les plaquettes).

Parmi tous les incidents transfusionnels, un des plus redouté est la réaction hémolytique. Elle peut être caractérisée comme une réaction hémolytique intra-vasculaire immédiate (par exemple lors d'une transfusion ABO incompatible) ou comme une réaction hémolytique retardée.

La transfusion sanguine est un domaine très bien structuré en France, avec une emphase pour les aspects sécuritaires (prévention, formation, surveillance des risques) organisée autour de centres régionaux et de correspondants d'hémovigilance. Le contrôle ultime pré-transfusionnel, qui consiste en une étape de contrôle de l'identité et en une étape de contrôle de compatibilité ABO, est systématiquement réalisé lors de chacune des 3 millions de transfusion d'une poche de CGR. Actuellement, l'étape de réalisation et d'interprétation du test de compatibilité est délicate et présente des risques tant pour le patient (problèmes liés à l'incompatibilité des groupes sanguins) que pour le personnel (accident d'exposition au sang lors des manipulations). Seul un personnel qualifié et formé est habilité à réaliser et interpréter ce test pour lequel la lecture peut s'avérer délicate, en particulier en présence d'antigènes faibles, de perfusion simultanée de macromolécules ou dans certaines pathologies. La question de la formation est particulièrement mise en exergue dans le livre blanc sur la transfusion sanguine en Europe(Mayr 2005).

L'existence de ce test permet de limiter les accidents transfusionnels mortels en France, mais n'empêche pas l'erreur humaine, première cause d'erreur transfusionnelle (Linden et al. 2000; Myhre and McRuer 2000; Sazama 2003). Ainsi, malgré des systèmes sécuritaires de plus en plus performants et un test ultime réalisé avant chaque transfusion (avec des modalités différentes selon les pays), rien ne permet d'éliminer les risques liés à des erreurs humaines, tant en laboratoire qu'au moment de la transfusion.

Dans de nombreux autres pays, c'est une épreuve de compatibilité directe - ou cross-match – qui est réalisée en laboratoire. Le développement d'un dispositif automatisé pour la réalisation du cross-match pourrait éliminer les erreurs humaines et ainsi augmenter drastiquement la sécurité transfusionnelle. Certains travaux ont été identifiés, qui visent à simplifier la réalisation de ce test (Anthony and Ramasubramanian 2005; Ramasubramanian and Alexander 2009; O'Hare 2012; S Narayanan et al. 1999; Smita Narayanan et al. 2002).

Face au renforcement attendu de la sécurité transfusionnelle, et grâce à l'analyse détaillée des accidents transfusionnels, de nombreuses pistes ont été étudiées pour sécuriser l'ensemble du

processus transfusionnel et particulièrement le contrôle ultime pré-transfusionnel au lit du patient (Aandahl, Knutsen, and Nafstad 2007; Dzik 2007; Dzik 2005; Anthony and Ramasubramanian 2005).

Le CHRU de Besançon, à travers son CIC-IT, en collaboration avec l'ESF-BFC, l'Institut Femto-ST et l'UFC, ce sont engagés dans la sécurisation de la transfusion sanguine dès le projet SmarTTransfuser. Il a pour objectif de permettre un contrôle automatisé et objectif de la compatibilité sanguine ABO, en empêchant toute erreur humaine et en écartant le risque d'exposition au sang (Wacogne et al. 2009a; Wacogne et al. 2009b; Charrière et al. 2012). SmarTTransfuser a permis de valider un biocapteur permettant la détection d'une compatibilité ABO (biopuce à proprement parler et méthode de lecture du résultat par détection optique).

Il a été à la source de deux dépôts de brevets (Wacogne et al. 2009a; Wacogne et al. 2009b) et du prix du meilleur poster à la conférence Biosensing Technologie (2012). Le projet a également été présenté lors de 2 conférences internationales - Biotechnology (Hyderabad, Inde, 2011) et Biodevices (Charrière et al. 2012) (Villamoura, Portugal, 2012) - et lors de plusieurs conférences ou salons nationaux (FED SFR 2011 et 2012, MEDTEC 2011). Un dispositif médical permettant la réalisation autonome et automatique de ce test de compatibilité ABO est en cours de validation par le CIC-IT de Besançon, en partenariat avec l'institut Femto-ST, l'EFS-BFC, le service hémovigilance du CHRU de Besançon et l'UFC.

Lors des actions de maturations réalisées, les études de marché effectuées par un cabinet spécialisé (TMTG) et par des industriels potentiellement intéressés, ont révélé que la technologie biopuce présente un intérêt majeur. Cependant, d'autres verrous ont été identifiés pour attaquer le marché mondial, principalement augmenter la valeur ajoutée du dispositif médical en élargissant les applications de la biopuce à la détection du facteur rhésus, la réalisation du cross-match et à l'informatisation des données de sécurité pré-transfusionnelle (étape d'identito-vigilance, conservation des résultats des tests, archivage numérique, etc.). En conséquence, le projet SmarTTransfuser s'inscrit désormais dans un programme large concernant la sécurité transfusionnelle visant à intégrer toutes ces fonctionnalités dans un dispositif médical automatisé, autonome, mobile, et simple d'utilisation.

Une des parties de ce programme est de mettre au point une biopuce permettant non seulement une détection ABO (SmarTTransfuser), mais également le facteur rhésus RH1 (présent projet ABORDAGE). En effet, l'antigène RH1, très immunogène, doit toujours être respecté lors d'une transfusion de CGR et la technologie pour la mise en œuvre de cette détection RH1 est la même que celle permettant la détection ABO. Ainsi, les verrous technologiques concernant l'utilisation d'un biocapteur pour la détection d'un antigène à la surface d'un globule rouge sont-ils partiellement levés.

Comme pour le projet SmarTTransfuser, le principe de la détection d'ABORDAGE repose sur la mesure de l'absorbance des globules rouges piégés par immunocapture sur une surface d'or. Ainsi, des anticorps anti-RH1 seront greffés sur des surfaces d'or et, si les globules rouges de la poche (ou du patient), présentent l'antigène RH1, ils seront immunocapturés sur le biocapteur et la variation d'absorption optique sera détectée. Brièvement, l'absorption optique est mesurée par une sonde optique conventionnelle (utilisation de lumière bleue). Lorsque la réaction anticorps-antigène a lieu sur le support fonctionnalisé de la biopuce, le caractère optiquement absorbant des globules rouges piégés permet de détecter leur présence.

## 2. Bibliographie

- Aandahl, Gerd Selset, Teresa Risopatron Knutsen, and Kjersti Nafstad. 2007. "Implementation of ISBT 128, a Quality System, a Standardized Bar Code Labeling of Blood Products Worldwide, Electronic Transfusion Pathway: Four Years of Experience in Norway." *Transfusion* 47 (9) (September): 1674–1678. doi:10.1111/j.1537-2995.2007.01340.x.
- ANSM. 2012. "Rapport D'activité HémoVigilance 2011."
- Anthony, Steven, and M Ramasubramanian. 2005. "Visible/Near-infrared Spectrophotometric Blood Typing Sensor for Automated Near-patient Testing." *Conference Proceedings: ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Conference 2*: 1980–1983. doi:10.1109/IEMBS.2005.1616842.
- Charrière, K., J.-S. Guerrini, B. Wacogne, A. Rouleau, C. Elie-Caille, C. Pieralli, L. Pazart, P. Morel, and W. Boireau. 2012. "SmarTTransfuser - A Biochip System for the Final ABO Compatibility Test." In , 257–262. Vilamoura, Portugal: SciTePress - Science and Technology Publications. doi:10.5220/0003852402570262. <http://www.scitepress.org/DigitalLibrary/Link.aspx?doi=10.5220/0003852402570262>.
- Dzik, Walter H. 2005. "Technology for Enhanced Transfusion Safety." *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program*: 476–482. doi:10.1182/asheducation-2005.1.476.
- . 2007. "New Technology for Transfusion Safety." *British Journal of Haematology* 136 (2) (January): 181–190. doi:10.1111/j.1365-2141.2006.06373.x.
- EFS. 2012. "Rapport D'activité 2011."
- Linden, J V, K Wagner, A E Voytovich, and J Sheehan. 2000. "Transfusion Errors in New York State: An Analysis of 10 Years' Experience." *Transfusion* 40 (10) (October): 1207–1213.
- Mayr, W.R. 2005. "Blood Transfusion in Europe—The White Book 2005: The Patchwork of Transfusion Medicine in Europe." *Transfusion Clinique Et Biologique* 12 (5) (November): 357–358. doi:10.1016/j.tracli.2005.10.006.
- Myhre, B A, and D McRuer. 2000. "Human Error—a Significant Cause of Transfusion Mortality." *Transfusion* 40 (7) (July): 879–885.
- Narayanan, S, S Orton, G F Leparç, L H Garcia-Rubio, and R L Potter. 1999. "Ultraviolet and Visible Light Spectrophotometric Approach to Blood Typing: Objective Analysis by Agglutination Index." *Transfusion* 39 (10) (October): 1051–1059.
- Narayanan, Smita, Lamar Galloway, Akihisa Nonoyama, German F Leparç, Luis H Garcia-Rubio, and Robert L Potter. 2002. "UV-visible Spectrophotometric Approach to Blood Typing II: Phenotyping of Subtype A2 and Weak D and Whole Blood Analysis." *Transfusion* 42 (5) (May): 619–626.
- O'Hare, Alice. 2012. "Harry Potter and the Paper-based Blood Test." *Bioanalysis* 4 (11) (June): 1280.
- Ramasubramanian, Melur K., and Stewart P. Alexander. 2009. "An Integrated Fiberoptic–microfluidic Device for Agglutination Detection and Blood Typing." *Biomedical Microdevices* 11 (1) (February 1): 217–229. doi:10.1007/s10544-008-9227-y.
- Sazama, K. 2003. "Transfusion Errors: Scope of the Problem, Consequences, and Solutions." *Current Hematology Reports* 2 (6) (November): 518–521.
- Wacogne, B., W. Boireau, P Morel, L. Pazart, and C. Pieralli. 2009a. "Infusion System and method for secure implementation."
- Wacogne, B., W. Boireau, P. Morel, L. Pazart, and C. Pieralli. 2009b. "Device for Sampling Body Fluid and Method of Implementation."

## **OBJECTIFS DE L'ETUDE et CRITERES d'EVALUATION**

### **1. Objectif Principal**

- Tester la faisabilité d'une détection ABO et RH1 sur biopuce, par lecture optique.

### **2. Objectifs Secondaires**

- Déterminer le protocole de réalisation.

Nous entendons par protocole de réalisation, la formalisation de l'ensemble des étapes qui seront nécessaires pour la réalisation d'un test, d'un point de vue ergonomique et technique. La première étape étant définie par l'obtention de l'échantillon et la dernière par le résultat du test.

### **3. Critères d'évaluation de la recherche**

#### **Variables mesurées**

- Absorption optique des globules rouges piégés à la surface des biocapteurs.

Les mesures relevées sont des mesures de tension électrique délivrée par des photorécepteurs:

- une mesure de référence
- une mesure finale.

La mesure proprement dite correspond à la différence normalisée entre mesure de référence et mesure finale.

#### **Critères d'évaluation principaux**

Détection optique des bio-interactions sur les biopuces.

La présence de l'antigène RH1 sur les globules rouges conduit à une réaction antigène anticorps présents sur les biopuces entraînant la capture des globules rouges sur les biopuces.

La détection de la présence, ou non, des globules rouges piégés sur la biopuce, dépend des propriétés d'absorption optique des globules rouges.

Les biopuces sont illuminées par des LED et des photorécepteurs détectent la lumière qui traverse la biopuce. Une valeur de référence est prise avant le passage du CGR sur la biopuce. Le CGR est ensuite injecté sur cette dernière. Après rinçage, une valeur finale est prise. Si les cellules sont RH1+, elles sont immunocapturées selon une réaction anticorps / antigène. La lumière est alors absorbée.

Si les cellules sont RH1-, aucune réaction n'a lieu, aucune absorption n'est observée.

L'absorbance est calculée selon la formule :

(mesure de référence – mesure finale) / mesure de référence

### Critères d'évaluation secondaires

#### Faisabilité du protocole dans un contexte international.

Seront analysés toutes les étapes techniques de réalisation :

- volumes de fluides nécessaires
  - Volume de CGR, volume de rinçage
- concentration d'utilisation des fluides
  - Utilisation du CGR dilué ou non
- temps de réalisation (incluant les temps de passage des fluides, les débits, la technicité etc...)
  - Temps de passage des fluides
  - Débits de passage des fluides
  - Temps de manipulation par le personnel
- nombre d'étapes nécessaire
  - Réalisées par le manipulateur
  - Réalisées par le dispositif
  - Possibilité d'automatisation des étapes
- nécessité de manipulation
  - Réalisable par un personnel médical
  - Réalisable par un personnel technique
  - Type de matériel utilisé (pipettes, seringue, etc...)
  - Ergonomie

L'ensemble de ces critères seront analysés afin d'apprécier la faisabilité du test :

- au lit du patient
- en laboratoire médical- selon les différentes réglementations internationales

## **ECHANTILLONS**

### **1. Echantillons de concentrés globulaires**

L'ensemble des étapes nécessaires à la réalisation des échantillons de concentré de globules rouges sera réalisé par l'EFS-BFC, selon leur réglementation et leurs protocoles.

Ainsi, les critères d'inclusions des donneurs seront ceux de l'EFS.

Lors d'un don du sang, les donneurs sont par ailleurs informés et consentent à ce qu'une partie de leur don soit utilisée pour la recherche. En effet, « l'EFS fournit à certains partenaires ou à ses propres laboratoires des éléments du sang indispensables à l'enseignement (apprentissage des analyses sanguines pour les métiers de la santé dans les lycées et les universités) ; à la fabrication de réactifs sanguins indispensables à certaines analyses biologiques (groupages sanguins, tests de coagulation,...) ; à des laboratoires de recherche. Lorsque tout ou partie du don ne peut être utilisé pour la préparation de produits sanguins pour une transfusion, il peut être réorienté vers ce type d'utilisation au lieu d'être détruit. ».

Pour la réalisation de cette étude, l'EFS-BFC fournira les échantillons de CGR selon les spécifications de volume, groupe ABO, rhésus + ou - demandés par le CIC-IT et selon la disponibilité des échantillons.

Les échantillons de CGR seront ensuite conservés suivant la méthode de conservation fixée par l'EFS-BFC et utilisés dans les limites de temps de la transfusion (dans les 42 jours suivant le don) et systématiquement détruits après réalisation des actes expérimentaux nécessaires à l'étude.

Aucune donnée ne sera récupérée concernant les donneurs. En effet, l'anonymat est un principe fondamental du don du sang : seul l'EFS connaît l'identité et les données médicales du donneur et du receveur. La traçabilité de la chaîne transfusionnelle est totale : aucune information sur l'identité ne peut-être communiquée hors des services de l'EFS, qui est garant de l'anonymat du donneur comme du receveur

(<http://www.dondusang.net/rewrite/heading/987/les-dons-de-sang/faq.htm?idRubrique=987>).

## **DEROULEMENT PRATIQUE DU PROJET**

Etude non interventionnelle, prospective et monocentrique.

### **1. Plan expérimental**

- Lieux de réalisation de la recherche, de stockage et procédure de recueil des prélèvements.

La recherche sera effectuée à l'Institut FEMTO-ST dans les locaux de la plateforme protéomique CLIPP où les équipements spécifiques de laboratoire et les maquettes de recherche sont installés.

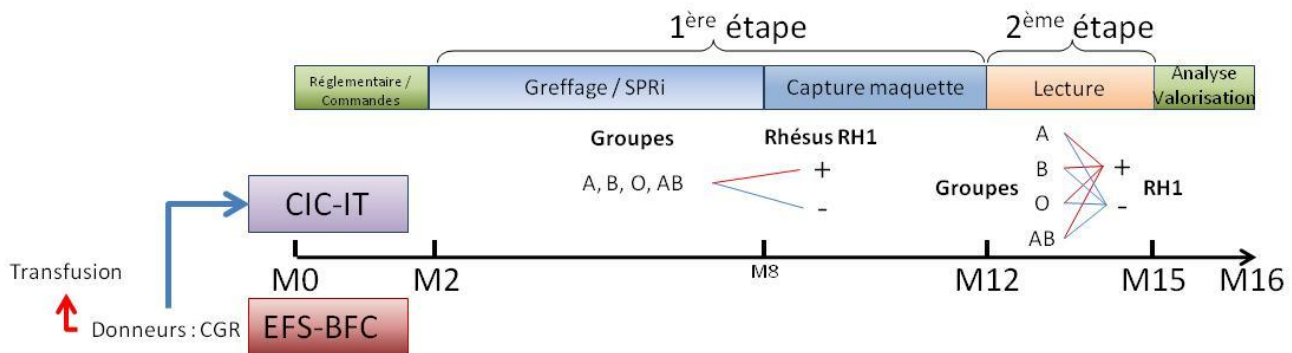
Les prélèvements (CGR) seront fournis par l'EFS-BFC. Le recueil des prélèvements sera effectué par l'EFS-BFC, selon leur procédure. Seront utilisés uniquement les dons pouvant être récupérés pour la recherche, c'est-à-dire les dons ne pouvant être utilisés pour la transfusion, conformément aux procédures en vigueur à l'EFS.

Le CIC-IT de Besançon fournira à l'EFS-BFC les spécifications des CGR nécessaires pour l'étude (volume, groupe, rhésus). Quand les échantillons seront prêts (selon disponibilité des échantillons pouvant être utilisés pour la recherche), la personne en charge du projet ira les récupérer à l'EFS-BFC et les apportera immédiatement à l'Institut FEMTO-ST où ils seront conservés à 4°C jusqu'à utilisation, dans la limite de 42 jours à partir du don, limite de conservation des CGR pour une transfusion.

Après utilisation, les échantillons seront détruits.

- Procédure d'utilisation des échantillons, protocole de la recherche.





La recherche sera effectuée en 2 étapes, sur 16 mois. Les dons non utilisés pour une transfusion pourront être utilisés pour la recherche (voir ANNEXE 2). Le CIC-IT assurera l'ensemble des étapes nécessaires à l'aboutissement du projet. L'étude débutera après obtention des autorisations réglementaires et réception des produits (M0 à M2).

- *1ère étape : Etude de la faisabilité de la capture des globules rouges sur biopuce selon la présence ou l'absence de l'antigène RH1 à leur surface.*

Elle nécessite l'utilisation de 20 échantillons de CGR (10 RH1 positifs, 10 RH1 négatifs), quel que soit le groupe sanguin.

Cette étape permettra :

- de valider l'étape de greffage des anticorps sur les biopuces, grâce à l'analyse fine des bio-interactions par des techniques de SPR (surface plasmon resonance).
- de valider la faisabilité de l'immunocapture des globules rouges sur biopuce, grâce à des techniques des SPRI (imagerie SPR)
- de valider la faisabilité de l'immunocapture des globules rouges sur biopuce hors utilisation d'un appareillage spécifique de laboratoire, grâce à l'utilisation d'une maquette disponible (maquette SmarTTransfuser).

*Greffage des anticorps sur biopuce :*

Les étapes de dépôts de métaux nobles en couche mince par procédés de pulvérisation cathodique ou d'évaporation thermique pour la réalisation des puces sont réalisées au sein de la centrale de technologie MIMENTO de l'Institut FEMTO-ST. Il s'agira de vérifier le greffage des anticorps sur les biopuces, le tout directement sur surface d'or fonctionnalisée. En effet, un anticorps de capture qui est validé en test de type ELISA ou sur micro-array ne présuppose pas obligatoirement de ses performances lorsqu'il est greffé sur une biopuce fonctionnalisée chimiquement par une monocouche autoassemblée. Pour chaque type d'immunoglobuline à greffer, des mises au point spécifiques doivent être effectuées. Les concentrations et les pH optimaux de greffage des anticorps seront ainsi déterminés.

L'analyse fine d'interactions biomoléculaires sera réalisée par la technologie SPR du système Biacore 2000.

*Capacité de capture sur biopuce :*

La technologie d'imagerie SPR du système Horiba Scientific (SPRi) permet d'observer en temps réel et d'obtenir les paramètres cinétiques des interactions qui surviennent à la surface de la puce. Ces expériences ont permis de tester la faisabilité de l'immunocapture des hématies à partir de concentrés globulaires et de sang total de groupes différents, à l'aide d'IgMs anti-A et anti-B (Projet SmarTTransfuser, Figure 1).

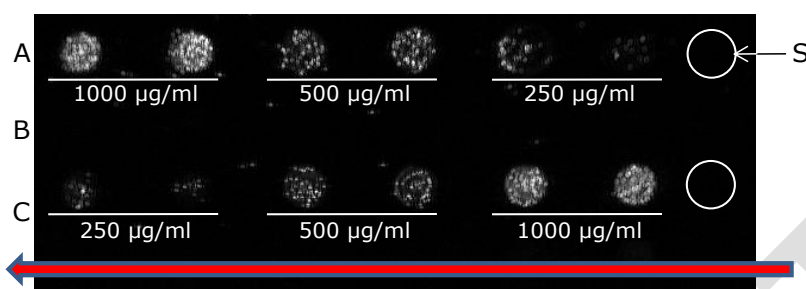


Figure 1 : Immobilisation d'hématies de sang de groupe A. Après spotting d'IgM anti-A à différentes concentrations (A et C) et anti-B (B), injection d'hématies provenant de sang de groupe A. Les hématies sont immobilisées au niveau de la surface fonctionnalisée avec des IgM anti-A. S : surface de référence. Flèche : sens de circulation des hématies.

En se basant sur les acquis du projet SmarTTransfuser, les conditions d'immunocapture des globules rouges, la spécificité des interactions et la stabilité des complexes biologiques formés sous flux latéral et en fonction de la stringence des lavages seront évaluées par SPRi. Ces travaux seront réalisés par la chargée de recherche clinique du CIC-IT de Besançon, en étroite collaboration avec un ingénieur de recherche de l'institut FEMTO-ST.

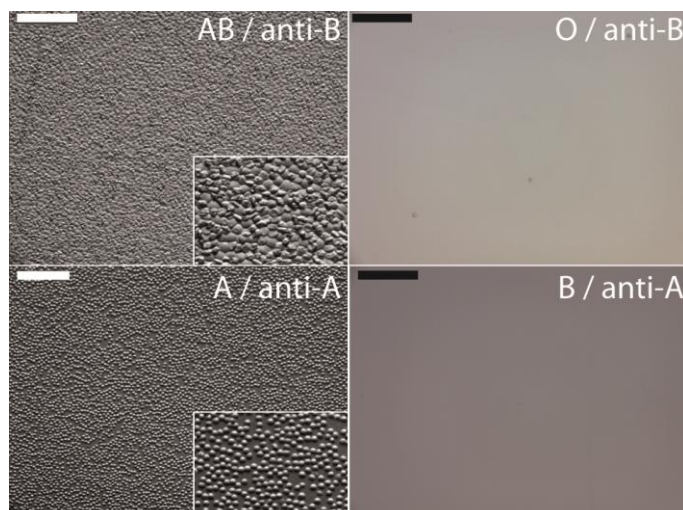
Cette étape consiste à établir la faisabilité de l'immunocapture des globules rouges selon la présence ou l'absence de l'antigène RH1 à leur surface, hors d'un appareillage compliqué de laboratoire.

Les tests seront réalisés dans une maquette de laboratoire capable de gérer les volumes et les débits, par la chargée de recherche clinique du CIC-IT. Les conditions expérimentales établies par SPRi pourront être transposées à la maquette de laboratoire, de même que les paramètres de réalisation de la capture (débit, volumes, etc). En effet, l'utilisation de cette maquette pour immunocapter les globules rouges selon les différents groupes sanguins a permis l'obtention de réactions fortes et spécifiques.

Figure 2 : Immobilisation d'hématies de sang de différents groupes sur biopuce, par l'intermédiaire de la maquette SmarTTransfuser.

Après spotting d'IgM anti-B et injection d'hématies provenant de sang de groupe AB (A) ou spotting d'IgM anti-A et injection d'hématie issues de sang de groupe A (B), les hématies sont immobilisées au niveau de la surface, en une monocouche. Après spotting d'IgM anti-B et injection d'hématies provenant de sang de groupe O (C) ou spotting d'IgM anti-A et injection d'hématies issues de sang de groupe B (D), très peu d'hématies sont immobilisées sur les surfaces.

Barres d'échelle : 100 µm





- 2<sup>ème</sup> étape : Etude de la faisabilité de la détection optique de la capture des globules rouges sur biopuce selon la présence ou l'absence de l'antigène RH1.

Elle est réalisée si l'étape 1 s'est déroulée avec succès.

Pour chaque groupe sanguin (A+, B+, AB+, O+, A-, B-, AB-, O-), 3 tests seront effectués. Ainsi, pour la détection du Rhésus, 12 RH1 positifs et 12 RH1 négatifs seront analysés. Au total, cette étape nécessite l'utilisation de 24 échantillons de CGR.

Les paramètres d'immunocapture des globules rouges déterminés lors de l'étape précédente seront utilisés. Cette étape sera réalisée avec la maquette SmartTransfuser.

Elle permettra de valider la faisabilité d'une détection optique de l'immunocapture des globules rouges, hors utilisation d'un appareillage compliqué de laboratoire.

Cette étape a également été réalisée pour le projet SmartTransfuser. Comme pour l'étape précédente, nous pourrions nous appuyer sur les résultats obtenus pour SmartTransfuser.

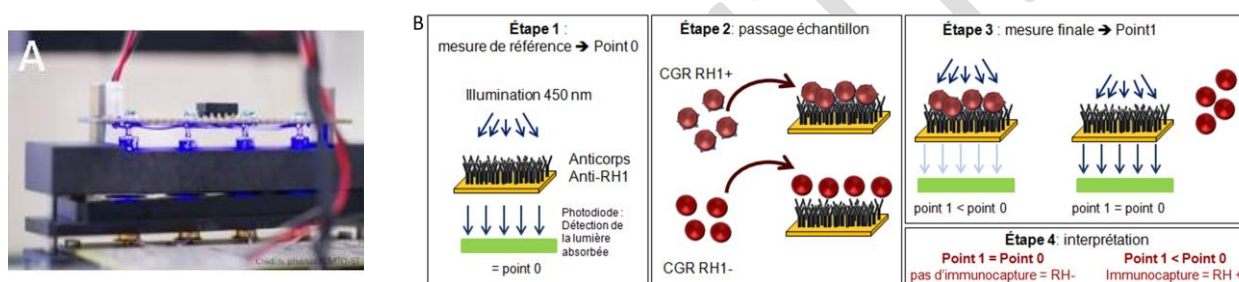


Figure 3 : Lecteur (A) et principe de la détection optique en maquette SmartTransfuser (B).

Les résultats du projet SmartTransfuser obtenus avec cette maquette ont permis de démontrer la stabilité du signal optique, en mesures répétées et en mesures continues, avec un bruit faible (Rapport signal sur bruit de 22 dB pour du CGR). Les résultats sont normalisés selon la formule : (mesure de référence – mesure finale) / mesure de référence.

L'observation au microscope des biopuces après réalisation de l'expérimentation permet de s'assurer que l'augmentation de l'absorbance observée correspond à une immunocapture et les comptages cellulaires sur les surfaces ont permis de corréler l'absorbance au nombre de cellules immunocapturées (Figure 4). Des tests sont en cours pour valider un prototype de laboratoire.

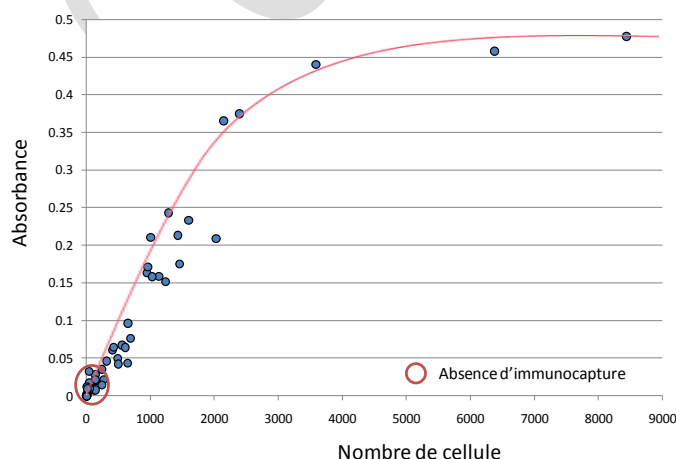


Figure 4 : Absorbance en fonction du nombre de cellules capturées sur les surfaces.

Le nombre de cellule est donné pour 0,25 mm<sup>2</sup>. L'absorbance est corrélée au nombre de cellules par champs microscopique (pour une même puce : moyenne du comptage des cellules sur 5 champs microscopiques aléatoires). On observe une zone de chevauchement entre le signal aspécifique et spécifique aux alentours d'une absorbance de 0,03. Cette valeur d'absorbance de 0,03 constitue donc le bruit de fond de détection du biocapteur.

Pour ABORDAGE, nous utiliserons des échantillons de concentré globulaire pour lesquels un comptage cellulaire sera systématiquement réalisé.

Les tests seront réalisés en prenant en compte la température (pour information une poche de sang est un produit « frais » à conserver à 4°C et il se présentera aux environs de 6 à 8°C au moment de la transfusion ; alors que le sang du patient sera globalement à 36°C).

Cette étape permettra en outre de confirmer la spécificité du couple antigène-anticorps.

Les résultats seront analysés par un test statistique non paramétrique de Mann-Whitney.

## **NATURE DES DONNEES**

### **1. Procédures d'anonymisation**

Les dons du sang sont anonymisés par l'EFS-BFC, selon leurs procédures.

L'anonymat est un principe fondamental du don du sang : seul l'EFS connaît l'identité et les données médicales du donneur et du receveur. La traçabilité de la chaîne transfusionnelle est totale : aucune information sur l'identité ne peut-être communiquée hors des services de l'EFS, qui est garant de l'anonymat du donneur comme du receveur.

(<http://www.dondusang.net/rewrite/heading/987/les-dons-de-sang/faq.htm?idRubrique=987>).

### **2. Identification de toutes les données à recueillir**

Données à recueillir concernant la qualification des CGR :

- date de préparation du CGR
- concentration (nombre de globules rouges / mL)
- groupe ABO
- rhésus

Données à recueillir concernant des informations sur l'expérimentation :

- date d'utilisation du CGR
- concentration d'utilisation (nombre de globules rouges / mL)
- température d'utilisation
- volumes utilisés (CGR, sérum physiologique)
- débits de passage des fluides (CGR, sérum physiologique)
- tensions initiales et finales
- absorbance

Aucune donnée ne sera recueillie concernant les donneurs, autre que leur groupe sanguin et leur rhésus.

### **3. Support des données**

Les données recueillies seront consignées dans un cahier de laboratoire officiel et sous format informatique. Ces fichiers seront sécurisés par un code d'accès.