

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 6 décembre 2023
Par M. Simon KLINNIK**

**POSITION DU PHARMACIEN SUR L'INTRODUCTION D'UN NOUVEAU
SUBSTITUT SANGUIN ERYTHROCYTAIRE D'ORIGINE ARTIFICIELLE**

Membres du jury :

Président :

Pr. DUPONT-PRADO Annabelle, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

Directeur, conseiller de thèse :

Pr. DÉCAUDIN Bertrand, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

Assesseurs :

Pr. BLANCHEMAIN Nicolas, Professeur des Universités

Dr. SUKNO Frank, Médecin Biologiste

Faculté de Pharmacie de Lille
3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

Université de Lille

Président
Premier Vice-président
Vice-présidente Formation
Vice-président Recherche
Vice-présidente Réseaux internationaux et européens
Vice-président Ressources humaines
Directrice Générale des Services

Régis BORDET
Etienne PEYRAT
Christel BEAUCOURT
Olivier COLOT
Kathleen O'CONNOR
Jérôme FONCEL
Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen
Premier Vice-Doyen
Vice-Doyen Recherche
Vice-Doyen Finances et Patrimoine
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires
Vice-Doyen RH, SI et Qualité
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie
Vice-Doyen Territoires-Partenariats
Vice-Doyenne Vie de Campus
Vice-Doyen International et Communication
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX
Guillaume PENEL
Éric BOULANGER
Damien CUNY
Sébastien D'HARANCY
Hervé HUBERT
Caroline LANIER
Thomas MORGENROTH
Claire PINÇON
Vincent SOBANSKI
Dorian QUINZAIN

Faculté de Pharmacie

Doyen
Premier Assesseur et Assesseur en charge des études
Assesseur aux Ressources et Personnels
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement
Assesseur à la Vie de la Faculté
Responsable des Services
Représentant étudiant

Delphine ALLORGE
Benjamin BERTIN
Stéphanie DELBAERE
Anne GARAT
Emmanuelle LIPKA
Cyrille PORTA
Honoré GUISE

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87

Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87

Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87

Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux
opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont
propres à leurs auteurs.**

Remerciements

À **Bertrand DECAUDIN**, Directeur de thèse : pour avoir accepté de diriger ma thèse, pour votre relecture attentive, pour avoir accepté ma candidature dans votre Master, pour votre bienveillance et vos conseils tout au long de mes études et pour l'exemple que vous m'avez donné.

À **Annabelle DUPONT-PRADO**, Présidente du jury : pour avoir accepté la présidence du jury avec enthousiasme, pour avoir revu mon outil d'enquête et pour m'avoir apporté des axes de réflexion à développer.

À **Nicolas BLANCHEMAIN**, Premier assesseur : pour avoir accepté de faire partie de mon jury, pour m'avoir encadré dans votre unité de recherche durant mon premier stage, pour m'avoir inculqué avec bienveillance la rigueur de l'écriture scientifique nécessaire dans notre domaine d'activité, pour avoir accepté ma candidature dans votre Master et pour votre disponibilité même après mes études.

À **Frank SUKNO**, Deuxième assesseur : pour avoir accepté de faire partie de mon jury et pour nos échanges pendant l'enquête qui m'ont été utiles pour mettre en perspective certains axes de réflexion exposés dans ce travail.

À **Pauline**, ma femme : pour ta seconde vérification sur la conciliation des données brutes issues des questionnaires papier, pour m'avoir donné ton avis sur de nombreux axes d'étude afin de nourrir le débat et améliorer ma réflexion sur le sujet, pour ton soutien quotidien dans les joies comme dans les peines et pour tout le bonheur que tu as apporté dans ma vie et que nous partagerons encore longtemps.

Aux membres de ma famille pour m'avoir apporté l'énergie et la motivation tout au long de ces années pour réussir ce travail, en particulier : **Véronique** ma mère pour m'avoir soutenu sur tous les plans, de ma naissance jusqu'à l'impression du manuscrit et pour bien d'autres aventures à venir ; **Lalie** et **Ella** mes sœurs pour le bonheur que vous m'avez apporté avec des liens forts entre frère et sœurs, pour les nombreux moments de complicité et pour m'avoir montré qu'on peut avoir son permis avant ou après sa thèse, peu importe ! ; **Georges** et **Louisa** mes grands-parents pour votre soutien sans faille tout au long de mes études ; **Hervé**, **Marie-Hélène** et **Louis** mes beaux-parents et mon beau-frère pour vos conseils et pour m'avoir rassuré l'esprit sur le fait qu'on peut réussir à terminer sa thèse (un jour !) ; **Gilles**, **Isabelle**, **Olivier** et **Sophie** mes beaux-oncles et belles-tantes pour votre accueil chaleureux à Amiens lors mon stage de fin de 5^e année, accueil sans lequel je n'en serais pas arrivé là.

A mes collègues de travail, en particulier : **Ignacio** pour avoir vérifié l'exactitude de mes analyses statistiques ; **Chryslain** pour m'avoir proposé plusieurs axes de réflexions sur le sujet et pour avoir vérifié le contenu de mon outil d'enquête ; **Natacha** pour m'avoir donné l'idée de faire mon enquête durant le *Blood Donor Day* et pour m'avoir donné l'opportunité de me lancer dans l'industrie des dispositifs médicaux.

Vous êtes tous les acteurs de ma réussite, je vous en suis reconnaissant.

Pour Lola, ma fille.

Sommaire

Remerciements	11
Sommaire	12
Liste des tableaux	14
Liste des figures	14
Liste des abréviations	16
Introduction	19
1. Sang	21
1.1. Généralités	21
1.2. Erythrocyte.....	21
1.3. Hémoglobine.....	22
1.4. Hématopoïèse	24
2. Don de sang et transfusion sanguine	27
2.1. Historique de la transfusion sanguine	27
2.2. Concentré de globules rouges.....	30
2.2.1. Description des concentrés de globules rouges.....	30
2.2.2. Indications des concentrés de globules rouges	32
2.2.3. Contre-indications des concentrés de globules rouges.....	32
2.2.4. Qualité des concentrés de globules rouges	33
2.3. Compatibilité transfusionnelle.....	33
2.3.1. Groupes sanguins	33
2.3.2. Complexe majeur d'histocompatibilité	35
2.4. Complications transfusionnelles	36
2.5. Tension en produits sanguins.....	37
2.5.1. Exemples dans l'actualité mondiale.....	37
2.5.2. Les chiffres de la transfusion sanguine.....	38
2.5.3. Les causes de la tension en produits sanguins	39
2.5.4. L'impact économique sur les systèmes de santé.....	39
2.6. La gestion du capital sanguin	40
3. Substitut érythrocytaire et sang artificiel	43
3.1. Historique du sang artificiel	43
3.2. Indications des substituts érythrocytaires artificiels.....	43
3.3. Avantages des substituts érythrocytaires artificiels	44
3.4. Classification des substituts érythrocytaires artificiels	44
3.5. Transporteurs d'oxygène à base d'hémoglobine.....	45
3.5.1. Modifier l'hémoglobine naturelle.....	47
3.5.2. Produire l'hémoglobine avec des micro-organismes.....	48
3.5.3. Rechercher d'autres sources d'hémoglobine	49
3.6. Perfluorocarbones	52
3.7. Globules rouges issus de culture cellulaire	54
4. Etude de l'acceptation des substituts par le grand public	57
4.1. Méthodologie	57
4.1.1. Participants	57
4.1.2. Questionnaire.....	57

4.1.3.	Analyse des données.....	59
4.2.	Résultats.....	60
4.2.1.	Informations générales.....	60
4.2.2.	Niveau de connaissance général.....	61
4.2.3.	Evaluation de la perception des dimensions risque, efficacité théorique et éthique	63
4.2.4.	Evaluation de l'acceptation globale	67
5.	Discussion.....	69
5.1.	Acceptation par le grand public des substituts sanguins	69
5.1.1.	Représentativité de l'échantillon.....	69
5.1.2.	Niveau de connaissance général.....	70
5.1.3.	Risque perçu.....	70
5.1.4.	Efficacité théorique perçue.....	72
5.1.5.	Ethique perçue.....	74
5.1.6.	Acceptation globale perçue	76
5.2.	Stratégie thérapeutique des substituts sanguins.....	77
5.2.1.	Perfluorocarbones.....	77
5.2.2.	Hémoglobine issue de la culture bactérienne	78
5.2.3.	Hémoglobine issue de ver marin	79
5.2.4.	Globules rouges issus de cellules souches	81
	Conclusion	83
	Bibliographie.....	85
	Annexes.....	93
	Annexe 1: Questionnaire papier.....	94
	Annexe 2: Questionnaire électronique	96
	Annexe 3: Données brutes.....	111
	Annexe 4: Analyse statistique	115

Liste des tableaux

Tableau 1 : Coût des concentrés de globules rouges et des coûts indirects associés.....	40
Tableau 2: Transporteurs d'oxygène à base d'hémoglobine : un résumé des produits HBOC. Adapté de Chen et al. (2023) (61)	46
Tableau 3 : Taxonomie comparée de l'arénicole et de l'être humain (67)	50
Tableau 4 : Caractéristiques sociodémographiques de l'échantillon étudié (n = 63).....	61
Tableau 5 : Répartition des scores associés au niveau de connaissance par catégorie de niveau d'études (n = 63).....	62
Tableau 6 : Tableau de contingence des effectifs par niveau de connaissance et par niveau d'études (n = 63)	63
Tableau 7 : Résultats des tests du χ^2 de Mc Nemar sur l'acceptation des produits sanguins d'origine artificielle.....	68
Tableau 8 : Tableau de contingence de l'acceptation globale des cellules souches et des perfluorocarbones.....	128
Tableau 9 : Tableau de contingence de l'acceptation globale des cellules souches et de la culture bactérienne.....	128
Tableau 10 : Tableau de contingence de l'acceptation globale des cellules souches et du ver marin.....	128
Tableau 11 : Tableau de contingence de l'acceptation globale des perfluorocarbones et de la culture bactérienne.....	129
Tableau 12 : Tableau de contingence de l'acceptation globale des perfluorocarbones et du ver marin	129
Tableau 13 : Tableau de contingence de l'acceptation globale de la culture bactérienne et du ver marin	129
Tableau 14 : Résultat du test χ^2 de Mc Nemar - Cellules souches VS Perfluorocarbones	129
Tableau 15 : Résultat du test χ^2 de Mc Nemar - Cellules souches VS Culture bactérienne	130
Tableau 16 : Résultat du test χ^2 de Mc Nemar - Cellules souches VS Ver marin	130
Tableau 17 : Résultat du test χ^2 de Mc Nemar - Perfluorocarbones VS Culture bactérienne	130
Tableau 18 : Résultat du test χ^2 de Mc Nemar - Perfluorocarbones VS Ver marin.....	131
Tableau 19 : Résultat du test χ^2 de Mc Nemar - Culture bactérienne VS Ver marin.....	131

Liste des figures

Figure 1 : Max F. Perutz devant le modèle d'hémoglobine en 1959 (à gauche) et après la reconstruction du modèle original en 2000 (à droite). Crédit : Life Sciences Foundation, Nobel Prize Outreach AB 2023.	22
Figure 2 : Structure quaternaire de l'hémoglobine humaine : 2 sous-unités α (en rouge : comportant chacune 7 hélices α) et 2 sous-unités β (en bleu : comportant chacune 8 hélices α) forment le tétramère fonctionnel de l'hémoglobine. Chaque sous-unité est liée à un groupement hème (en vert). Le 2,3-DPG (en orange) se fixe via des liaisons faibles dans la cavité créée par les 2 sous-unités β . Crédit : Richard Wheeler (2007), Yikrazuul (2010), LHcheM (2012).	23
Figure 3 : Vue d'ensemble de l'érythropoïèse : régulation à plusieurs niveaux par de multiples protéines et miARN. La formation des globules rouges à partir de cellules souches hématopoïétiques est régulée par la signalisation des facteurs externes tels que les cytokines (en bleu) et la fibronectine, et des facteurs intracellulaires tels que les facteurs de transcription (en noir) et les miRNA (en rouge). Figure adaptée et traduite à partir de Cooling L (2014) et Hattangadi SM, et al. (2011).	25
Figure 4 : Répartition des concentrés de globules rouges utilisés en France par catégorie pathologique (n = 5 556) (adapté de Quaranta, et al. 2009) (28)	32
Figure 5 : Représentation simplifiée des principaux groupes sanguins présents sur la membrane cellulaire du globule rouge. Source : Smart et al. (2020) (33).....	35

Figure 6 : Effets indésirables graves receveurs signalés durant la transfusion de concentrés de globules rouges sur la période de 2015 à 2021 en France (n = 37 901). (35–41)	36
Figure 7 : Causes des décès déclarés en France après la transfusion d'un concentré de globules rouges sur la période de 2015 à 2021 (n = 22). (35–41).....	37
Figure 8 : Nombre de donateurs et nombre de patients transfusés en France chaque année entre 2015 et 2021. Source : Rapports d'hémovigilance ANSM (35–41).....	38
Figure 9 : Schéma des stratégies de modification de l'hémoglobine naturelle : (a) l'hémoglobine libre ; (b) l'hémoglobine stabilisée par des liaisons intramoléculaires ; (c) l'hémoglobine conjuguée à des polymères ; (d) l'hémoglobine réticulée par polymérisation ; (e) l'hémoglobine polymérisée avec des enzymes redox des globules rouges (SOD = superoxyde dismutase ; CAT = catalase) ; l'hémoglobine encapsulée : (f) avec la superoxyde dismutase, la catalase, l'anhydrase carbonique (CA) et le 2,3 DPG ; (g) dans un liposome ; (h) dans un liposome « furtif » (PEGylé). Adapté de Sen Gupta et al. (2019) (4)	48
Figure 10 : Anatomie générale de <i>Arenicola marina</i> . Crédit : A. Le Roux (2008).....	49
Figure 11 : Arbre phylogénétique de l'évolution de <i>Arenicola marina</i> et de <i>Homo sapiens</i> , adapté de DM de Vienne – LIFEMAP (2016) (68).....	50
Figure 12 : Structure cristalline de l'érythrocrurine de <i>Arenicola marina</i> en vue supérieure (à gauche) et en vue latérale (à droite). En violet : les chaînes d'hémoglobine liant le dioxygène. En orange et en bleu : les peptides de liaison. Adapté de Royer et al. (2007) (70)	51
Figure 13 : Structure chimique du groupement prosthétique de l'érythrocrurine et de l'hémoglobine avec le groupe vinyle en rouge (à gauche) et du groupement prosthétique de la chlorocrurine avec le groupe formyle en vert (à droite).	52
Figure 14 : Structure chimique des différents perfluorocarbones et leur masse moléculaire respective : (a) la perfluorodécane (composant du Fluosol-DA® et du Perftoran®) ; (b) la perfluorotripropylamine (composant du Fluosol-DA®) ; (c) la perfluoro-N-(4-méthylcyclohexyl)pipéridine (composant du Perftoran®) ; (d) le Perflubron ou le bromure de perfluorooctyle (le composant de Oxygent®).....	53
Figure 15 : Logigramme de l'étude sur l'acceptation des substituts érythrocytaires d'origine artificielle par le grand public	59
Figure 16 : Répartition des scores obtenus pour le niveau de connaissance général ¹ (n = 63).....	62
Figure 17 : Score moyen obtenu pour le risque (n = 63), l'efficacité théorique (n = 63) et l'éthique (n = 62).....	64
Figure 18 : Risque perçu en fonction des différents produits sanguins	65
Figure 19 : Efficacité théorique perçue en fonction des différents produits sanguins	66
Figure 20 : Ethique perçue en fonction des différents produits sanguins	67
Figure 21 : Acceptation globale de chaque substitut érythrocytaire d'origine artificielle.....	68
Figure 22 : Comparaison du risque perçu entre les travaux de Ferguson et al. (2008), les travaux de Fleming et al. (2007) et l'enquête de la thèse sur le sang issu de donneur, le sang artificiel chimique et le sang artificiel issu de bactérie (93,94).....	72
Figure 23 : Comparaison de l'efficacité théorique perçue entre les travaux de Fleming et al. (2007) et l'enquête de la thèse sur le sang issu de donneur, le sang artificiel chimique et le sang artificiel issu de bactérie (94)	73
Figure 24 : Comparaison de l'éthique perçue entre les travaux de Fleming et al. (2007) et l'enquête de la thèse sur le sang issu de donneur, le sang artificiel chimique et le sang artificiel issu de bactérie (94)	75
Figure 25 : Comparaison de l'acceptation globale perçue entre les travaux de Ferguson et al. (2008) et l'enquête de la thèse sur l'ensemble des produits sanguins d'origine naturelle et synthétique (93)	76
Figure 26 : Représentation graphique de l'évaluation du risque associé aux produits sanguins	117
Figure 27 : Représentation graphique de l'évaluation de l'efficacité théorique associée aux produits sanguins	118
Figure 28 : Représentation graphique de l'évaluation de l'éthique associée aux produits sanguins..	119

Liste des abréviations

AABB : *association for the advancement of blood and biotherapies* (association pour l'avancement du sang et des biothérapies)

ABC : *america's blood centers* (centres américains du sang)

AIT : accident ischémique transitoire

ANSM : agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

ARC : *american red cross* (croix rouge américaine)

ASE : agent stimulant l'érythropoïèse

AVC : accident vasculaire cérébral

BAC : baccalauréat

BEP : brevet d'études professionnelles

BFU-E : *burst-forming units-erythroid* (cellules de la lignée érythroïde formant de grandes colonies)

BPF : bonnes pratiques de fabrication

CA : anhydrase carbonique

CAP : certificat d'aptitude professionnelle

CAT : catalase

CB : hémoglobine issue de la culture bactérienne

CFU-E : *colony-forming units-erythroid* (précurseurs de la lignée érythroïde)

CFU-GEMM : *colony forming units, granulocyte erythroid macrophage megakaryocyte* (unités formant des colonies de granulocytes érythrocytes macrophages mégacaryocytes)

CGR : concentré de globules rouges

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

CMV : cytomégalovirus

CNIL : commission nationale de l'informatique et des libertés

CPAi : cellule présentatrice d'antigènes du système immunitaire

CS : globules rouges cultivés à partir de cellules souches

CSE : cellule souche embryonnaire

CSH : cellule souche hématopoïétique

CSPi : cellule souche pluripotente induite

CO₂ : dioxyde de carbone

DF : degré de liberté

EFS : établissement français du sang

EPO : érythropoïétine

FDA : *food and drug administration* (administration des aliments et des médicaments)

Flt-3 : tyrosine kinase-3 des cellules souches

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

Hb : hémoglobine

HBOC : transporteur de dioxygène à base d'hémoglobine

HBV : virus de l'hépatite B

HCV : virus de l'hépatite C

HIV : virus de l'immunodéficience humaine

HLA : antigène leucocytaire humain

HPA : antigène plaquettaire humain

HPV : papillomavirus humain

HSP : protéine de choc thermique

IDM : infarctus du myocarde

IGF-1 : facteur de croissance 1 analogue à l'insuline

IL : interleukine

INSEE : institut national de la statistique et études économiques

IRA : insuffisance rénale aiguë

ISBT : *international society for blood transfusion* (société internationale de transfusion sanguine)

LAL : lysat d'amœbocyte de limule

M : moyenne

NO : oxyde nitrique

NS : non significatif

O₂ : dioxygène

OMS : organisation mondiale de la santé

PBM : *patient blood management* (ou gestion du capital sanguin)

PEG : polyéthylène glycol

PFBE : (perfluorobutyl) éthylène

PFC : perfluorocarbone

PFD : perfluorodécane

PFDB : perfluorodécylbromures

PFOB : perfluorooctyl-bromure

PFTPA : perfluorotripropylamine

PHP : hémoglobine pyridoxalée polyoxyéthylène

PPAR- α : récepteur activé α par les proliférateurs des peroxyosomes

pRB : protéine du rétinoblastome

PSL : produit sanguin labile

REACH : *registration, evaluation, authorization and restriction of chemicals* (enregistrement,

évaluation, autorisation et restrictions des substances chimiques)

RESTORE : *recovery and survival of stem cell originated red cells* (récupération et survie des globules rouges issus de cellules souches)

SAG-M : solution saline, adénine, glucose, mannitol

SCF : facteur de stimulation des colonies

SD : écart-type

SEM : erreur standard à la moyenne

SID : sang issu de don de sang

SOD : superoxyde dismutase

TACO : œdème pulmonaire aigu de surcharge

TGF- β : facteur de croissance de transformation β

TNF : facteur de nécrose tumorale

TPO : thrombopoïétine

TRALI : œdème pulmonaire aigu lésionnel

TRICC : *Transfusion Requirements in Critical Care* (Exigences transfusionnelles en soins intensifs)

VM : hémoglobine issue du ver marin *Arenicola marina*

WNV : virus West Nile

Introduction

De la théorie des humeurs de Hippocrate et Galien jusqu'à la découverte des groupes sanguins par Karl Landsteiner, le sang occupe une place importante dans l'histoire de l'humanité. Le médecin et philosophe Albert Schweitzer disait au XX^e siècle : "Le sang ne se remplace pas. Il se donne." Cette citation met en avant la nécessité des dons de sang. Pourtant les avancées récentes de la médecine font qu'aujourd'hui il est possible de remplacer certaines fonctions ou parties de notre organisme. Obtenir un sang artificiel n'est pas encore possible mais certaines fonctions du sang sont sur le point d'être remplaçables avec des substituts érythrocytaires d'origine artificielle.

Le sujet porte sur l'étude de plusieurs substituts érythrocytaires d'origine artificielle : les perfluorocarbones, les transporteurs d'oxygène à base d'hémoglobine issue de la culture bactérienne, l'hémoglobine extracellulaire issue de *Arenicola marina* et les globules rouges cultivés à partir de cellules souches. Le sujet est important car au XXI^e siècle des pénuries de sang de plus en plus fréquentes perturbent les systèmes de santé et mettent en danger des patients toujours plus nombreux. Remplacer les concentrés de globules rouges est donc un enjeu de santé publique car cela pourrait permettre de répondre à des besoins en sang toujours plus importants.

Dans ce travail plusieurs problématiques sont étudiées : est-ce qu'il existe à ce jour des produits sanguins d'origine artificielle permettant de remplacer les concentrés de globules rouges ? Est-ce que ces produits peuvent arriver sur le marché et trouver leur place dans la stratégie thérapeutique du traitement de l'anémie ? Quelle est l'opinion de la population sur ces produits ? L'objectif de ce travail est de faire un état des connaissances sur les solutions artificielles existantes à ce jour, d'évaluer chacune d'entre elles sur plusieurs domaines de compétence du pharmacien (clinique, économique, industriel, réglementaire, santé publique), d'évaluer l'acceptation de ces produits dans la population générale et ainsi de proposer des recommandations pour chaque substitut érythrocytaire d'origine artificielle étudié.

Pour faire la synthèse des solutions existantes à ce jour, une recherche de la littérature est réalisée. Pour évaluer l'acceptation des substituts érythrocytaire d'origine artificielle, une enquête de terrain est réalisée dans le cadre de ce travail auprès d'un échantillon de donneurs de sang de nationalité française. L'acceptation globale de 4 substituts érythrocytaires est évaluée et est complétée par l'étude de 3 aspects liés à l'acceptation – le risque, l'efficacité théorique et l'éthique – avec l'échelle de Likert.

La première étape de ce travail est de rappeler la physiologie du sang ainsi que différents aspects concernant le don de sang et la transfusion sanguine : l'historique, les concentrés de globules rouges, l'hémocompatibilité et les complications transfusionnelles, les tensions en produits sanguins et les mesures de gestion du capital sanguin. La deuxième étape de ce travail est d'établir l'état des connaissances actuelles concernant les substituts érythrocytaires d'origine artificielle : leur historique, leurs indications, leurs avantages par rapport aux produits sanguins d'origine naturelle et leur classification. La dernière étape de ce travail est de présenter les résultats de l'enquête concernant l'acceptation des 4 substituts érythrocytaires d'origine artificielle et de discuter de recommandations sur la stratégie thérapeutique pour chaque produit.

1. Sang

1.1. Généralités

Le sang est un fluide corporel qui constitue près de 7 % du poids total du corps humain. Le sang est composé à 60% de plasma et à 40% de cellules. (1,2) Le plasma est un liquide de couleur jaune clair composé à 90% d'eau. Les autres composants sont des protéines (albumine, immunoglobuline, enzymes, hormones), des substances inorganiques (calcium, bicarbonate, fer), des substances organiques (nutriments : sucre, acide aminé, lipide ; produits de dégradation : urée, créatinine) et des gaz (dioxygène ou O₂, dioxyde de carbone ou CO₂). Les composants cellulaires (appelés également les éléments figurés du sang) sont les érythrocytes, les thrombocytes et les leucocytes. Les thrombocytes (ou plaquettes) sont des cellules dépourvues de noyau qui participent à la coagulation du sang. Les leucocytes (ou globules blancs) qui sont des cellules possédant un noyau et qui se distinguent en 3 catégories. D'abord les monocytes qui ont pour rôle principal la phagocytose des débris cellulaires, ce sont les « cellules dépolluantes » du tissu sanguin. Ensuite les lymphocytes qui se composent en deux sous-groupes : les lymphocytes B, pour l'immunité humorale dont la production d'immunoglobuline, dirigés contre le pathogène cible, ce sont les « usines à anticorps » ; et les lymphocytes T pour l'immunité cellulaire et la régulation de l'immunité humorale, ce sont les « chefs d'orchestre » de l'immunité. Enfin les granulocytes qui ont une fonction de phagocytose et qui sont composés en trois sous-groupes de polynucléaires : les neutrophiles ; les éosinophiles contenant de l'histamine et de l'héparine ; et les basophiles pour la réponse allergique. (1)

1.2. Erythrocyte

Les érythrocytes ou hématies ou globules rouges sont le composant cellulaire prédominant du sang. Ce sont des cellules de forme discoïde biconcave dépourvues de noyau avec un diamètre radial de 6 à 8 µm. Leur rôle est de transporter l'O₂ des poumons vers les tissus et le CO₂ dans le sens inverse. Les globules rouges ont une durée de vie de 100 à 120 jours *in vivo* et 35 à 49 jours *in vitro* en fonction des conditions de stockage, du type d'anticoagulant utilisé et du type de solution de conservation utilisée. (1-3)

Lorsque le sang est centrifugé, les globules rouges représentent en moyenne 40 à 45 % du volume sanguin total (c'est-à-dire l'hématocrite). Le taux d'érythrocyte est compris entre 4,2 et 5,2 × 10¹² globules rouges par litre de sang chez la femme et entre 4,5 et 5,7 × 10¹² globules rouges par litre de sang chez l'homme. Quant à l'hémoglobinémie elle est comprise entre 12 et 16 g /dL de sang chez la femme et entre 13 et 17 g /dL de sang chez l'homme. Le nombre de globules rouges varie généralement entre 4,7 et 6 milliards par mL, ce qui est 500 fois plus élevé que les globules blancs circulants (leucocytes : 4 à 11 millions par mL) et 10 à 20 fois plus élevé que les plaquettes (thrombocytes : 150 à 500 millions par mL). On estime qu'un adulte moyen possède 20 à 30 trillions de globules rouges en circulation, ce qui représente près de la moitié de toutes les cellules du corps humain. (2)

1.3. Hémoglobine

L'hémoglobine (Hb) est une molécule contenue dans les globules rouges chez l'Homme qui permet le transport de l'O₂ et du CO₂ dans l'organisme. Chez l'adulte, chaque globule rouge contient 27 à 31 picogrammes d'hémoglobine, soit environ 250 millions de molécules d'hémoglobine. (4) La structure de l'hémoglobine est déterminée en 1959 par Max F. Perutz (1914 – 2002) (voir **Figure 1**) qui reçoit le Prix Nobel de Physiologie et de Médecine en 1962 avec John C. Kendrew pour la découverte. (5,6)

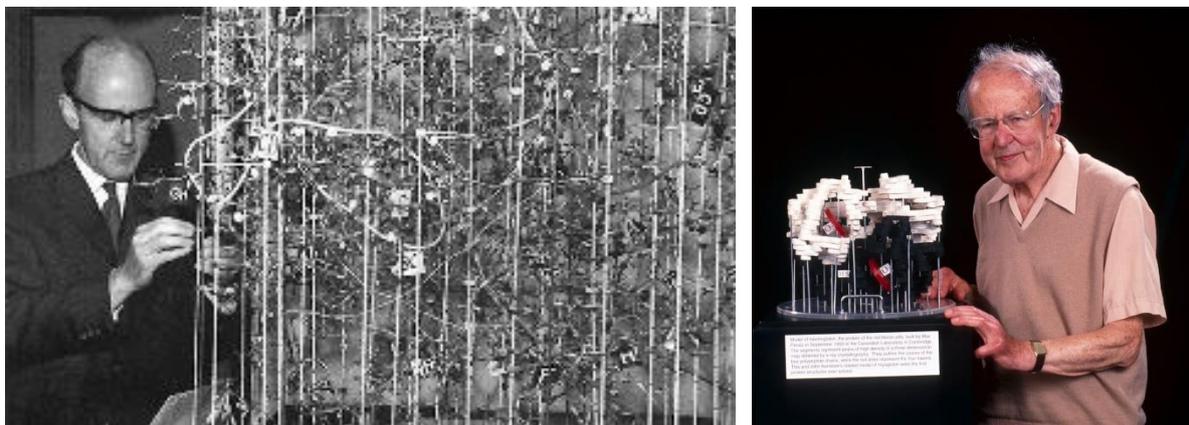


Figure 1 : Max F. Perutz devant le modèle d'hémoglobine en 1959 (à gauche) et après la reconstruction du modèle original en 2000 (à droite). Crédit : Life Sciences Foundation, Nobel Prize Outreach AB 2023.

L'hémoglobine est un tétramère protéique de petite taille : 64 458 Da (7). La protéine constitutive est la globine. C'est une sphéroprotéine qui se présente sous forme de deux paires : une paire de chaînes de globine α et une paire de chaînes de globine β formant l'HbA ($\alpha_2\beta_2$: hémoglobine majoritaire chez l'adulte sain). Il existe également la globine δ composant de l'HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$: hémoglobine minoritaire chez l'adulte sain, environ 2,5%) et la globine γ composant de l'HbF ($\alpha_2\gamma_2$: hémoglobine majoritaire chez le fœtus jusqu'à la naissance). Chaque chaîne est liée à une partie non protéique constituée d'un hème avec un atome de fer sous forme réduite / ferreux (Fe²⁺) qui fixe l'O₂ de manière réversible pour un total de 4 hèmes par molécule d' hémoglobine (voir **Figure 2**). (2,4,6,8)

Le 2,3-DPG (diphosphoglycérate) est une molécule régulatrice du transport de l'O₂ dans le sang : elle baisse l'affinité de l'O₂ pour l'hémoglobine. De même, l'augmentation de la température, la baisse du pH et l'augmentation de la P_{CO2} baissent l'affinité de l'O₂ pour l'hémoglobine. Le 2,3-DPG limite la liaison entre l'O₂ et le fer de l'hème en favorisant la forme désoxy- ou forme T (« tendue ») de l'hémoglobine (forme la moins affine pour l'O₂), ce qui permet d'éviter la rétention de l'O₂ dans la circulation sanguine et ainsi d'oxygéner les tissus. (2)

En physiopathologie, il existe différentes anomalies génétiques affectant l'hémoglobine des globules rouges qui conduisent à des hémoglobinopathies. La **drépanocytose** (appelée également anémie falciforme) est une maladie qui se caractérise par une anomalie qualitative de l'hémoglobine. Lorsque le gène codant pour la globine β est mutée (la mutation principalement rencontrée est la substitution Val 6 Glu), cela conduit à la production d'HbS. (1,2) Bien que l'HbS ait un effet « protecteur » contre le parasite *Plasmodium falciparum* (9), elle a tendance à s'agréger avec d'autres HbS lorsqu'elle est sous sa forme désoxy-/T ce qui conduit à la formation et à la précipitation d'un polymère d'HbS dans le cytoplasme du globule

rouge lui donnant son aspect de « faucille ». Les patients atteints de drépanocytose voient la durée de vie de leurs globules rouges diminuée à cause de leur manque de déformabilité et de leur élimination précoce, de plus ils sont à haut risque d'occlusion vasculaire (infarctus) à cause de l'effet pro thrombotique des globules rouges dont la rigidité augmente tout comme la viscosité du sang. Les patients en phase de crise drépanocytaire sont le plus souvent transfusés avec des concentrés de globules rouges (CGR). (1,2)

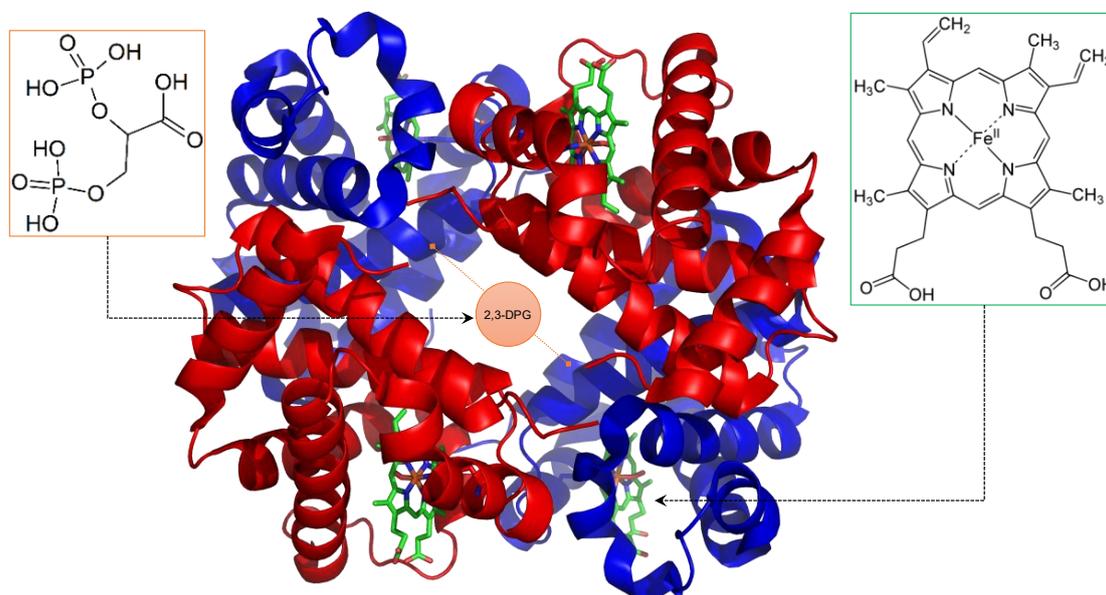


Figure 2 : Structure quaternaire de l'hémoglobine humaine : 2 sous-unités α (en rouge : comportant chacune 7 hélices α) et 2 sous-unités β (en bleu : comportant chacune 8 hélices α) forment le tétramère fonctionnel de l'hémoglobine. Chaque sous-unité est liée à un groupement hème (en vert). Le 2,3-DPG (en orange) se fixe via des liaisons faibles dans la cavité créée par les 2 sous-unités β . Crédit : Richard Wheeler (2007), Yikrazuul (2010), LHcheM (2012).

L'autre hémoglobinopathie est la **thalassémie** : c'est une maladie qui se caractérise par une anomalie quantitative de l'hémoglobine. Le plus souvent les mutations affectent les gènes codant pour la globine α et la globine β . Lorsque ces gènes sont touchés, cela conduit à la baisse voire à l'arrêt de la production de la protéine correspondante. Pour la globine α l'issue est souvent fatale *in utero* car elle constitue toutes les hémoglobines chez l'homme. Cependant la mutation du gène codant pour la globine β est viable mais les globules rouges produits sont microcytaires et hypochromes avec une durée de vie réduite, de plus les précurseurs érythrocytaires sont souvent détruits dans la moelle à cause de la précipitation cytoplasmique des chaînes de globine α produites en excès pour pallier le manque de chaînes de globine β . Tout comme la drépanocytose, lorsque les patients sont hétérozygotes sur le gène muté, les conséquences cliniques sont relativement limitées. Cependant lorsque le patient est homozygote récessif, les conséquences sont graves : anémie sévère (moins de 3 à 4 g/dL) pouvant conduire au décès si le patient n'est pas transfusé. De plus, la thalassémie aboutit à une érythropoïèse inefficace et une clairance augmentée ce qui affecte les organes impliqués dans ce processus : splénomégalie, hépatomégalie, hyperplasie médullaire et osseuse. (1,2)

1.4. Hématopoïèse

La *National Library of Medicine* définit l'hématopoïèse comme « le développement et la formation de divers types de cellules du sang ». L'hématopoïèse est également l'ensemble des mécanismes physiologiques qui concourent à la fabrication et au remplacement continu et régulé des cellules sanguines tout au long de la vie. L'hématopoïèse débute très tôt chez l'humain (à partir de 3 semaines d'aménorrhée). Avant la naissance, l'hématopoïèse est à un stade primitif et se déroule dans divers organes : d'abord dans le sac vitellin où les cellules nucléées soutiennent la croissance et la survie de l'embryon puis du fœtus, puis dans le foie et la rate.

L'hématopoïèse passe ensuite à un stade définitif lorsqu'elle est faite par la moelle osseuse. A la naissance, la moelle osseuse devient le lieu exclusif de l'hématopoïèse et ce pour le reste de la vie. (10,11).

L'acteur principal de l'hématopoïèse est la cellule souche hématopoïétique (CSH). Les CSH sont des cellules rares présentes dans le sang périphérique, le sang de cordon ombilical et la moelle osseuse. Elles ont des propriétés spécifiques par rapport au reste des cellules de l'organisme : d'une part l'auto-renouvellement qui leur permet de conserver un *pool* de CSH constant ; d'autre part la multipotence qui leur permet de générer n'importe quelle cellule de leur lignée cellulaire : au global, elles sont capables de générer un système hématopoïétique complet. (12)

L'érythropoïèse est une branche de l'hématopoïèse dédiée à la formation et au développement des globules rouges. Elle conduit à la production de 2 millions de globules rouges par seconde soit environ 10^{11} réticulocytes par jour ce qui correspond à 1% des globules rouges en circulation. De plus, l'érythropoïèse est un système homéostasique, c'est-à-dire que le nombre de globules rouges produits chaque jour correspond au nombre de globules rouges sénescents qui sont détruits par l'organisme. (2)

L'érythropoïèse se fait en plusieurs étapes (voir **Figure 3**) : d'abord les CSH de la moelle osseuse de l'adulte se différencient en progéniteurs myéloïdes communs à toutes les lignées cellulaires du tissu sanguin (CFU-GEMM). Ensuite les CFU-GEMM se différencient en progéniteurs mégacaryocytes-érythroïdes (BFU-E), ces cellules sont des unités érythroïdes formatrices de grandes colonies dotées d'une capacité de prolifération importante (11 à 12 divisions cellulaires). Ensuite ces cellules s'engagent dans la lignée érythrocytaire en se différenciant en progéniteurs unipotents limités à la lignée érythroïde (CFU-E), ces cellules sont des unités érythroïdes formatrices de colonies avec une capacité de prolifération diminuée par rapport aux BFU-E (2 à 3 divisions cellulaires). Ensuite les progéniteurs vont devenir des précurseurs qui subissent des étapes de maturation nucléo-cytoplasmique et d'expansion (mitoses). Le premier précurseur est le proérythroblaste, puis l'érythroblaste basophile (ou érythroblaste précoce), puis l'érythroblaste polychromatique (ou érythroblaste tardif) puis l'érythroblaste orthochromatique (ou érythroblaste acidophile). Enfin, ces cellules vont perdre leur noyau (étape d'énucléation où le noyau devient un pyrénocyte) et deviennent des réticulocytes qui migrent ensuite de la moelle osseuse vers la circulation sanguine et terminent leur maturation (ils vont perdre leurs organelles) pour devenir des globules rouges matures. (2,11,12)

L'érythropoïèse est régulée à chaque étape par de nombreuses molécules : des facteurs extra-cellulaires (les cytokines et la fibronectine) et des facteurs intra-cellulaires (les facteurs de transcription et les miARN) (voir **Figure 3**). (12)

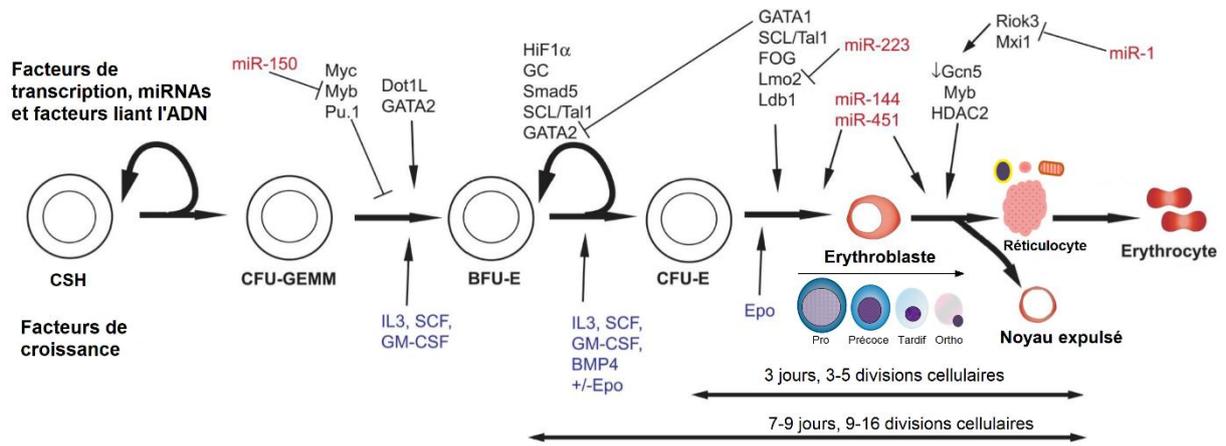


Figure 3 : Vue d'ensemble de l'érythropoïèse : régulation à plusieurs niveaux par de multiples protéines et miARN. La formation des globules rouges à partir de cellules souches hématopoïétiques est régulée par la signalisation des facteurs externes tels que les cytokines (en bleu) et la fibronectine, et des facteurs intracellulaires tels que les facteurs de transcription (en noir) et les miRNA (en rouge). Figure adaptée et traduite à partir de Cooling L (2014) et Hattangadi SM, et al. (2011).

2. Don de sang et transfusion sanguine

2.1. Historique de la transfusion sanguine

Le sang, la transfusion sanguine et leur intérêt dans la thérapeutique chez l'Homme débute tôt dans l'histoire de l'humanité. Les premiers écrits sont rapportés par le poète et auteur Romain Publius Ovidius Naso (43 av. J.-C. – 17 ou 18 apr. J.-C.) dit Ovide, dans le septième livre des *Métamorphoses*. Celui-ci décrit comment Médée la mère de Jason veut rendre sa jeunesse à son beau-père Éson : elle lui tranche la gorge pour laisser son sang s'évacuer afin de le remplacer par un élixir. D'autres écrits sont relatés par le philosophe et auteur Romain Gaius Plinius Secundus (23 av. J.-C. – 79 apr. J.-C.) dit Pline l'Ancien, qui décrit le comportement des spectateurs des combats d'arène lorsqu'un gladiateur succombe. Pensant que la force et la bravoure des gladiateurs est présente dans leur sang, les spectateurs se précipitent sur le gladiateur vaincu pour boire son sang. Cette pratique est ensuite interdite par l'empereur Septime Sévère en 193 apr. J.-C. Dans la même période, le philosophe médecin et chirurgien Romain Claudius Galenus (129 ap. J.-C. – 201 apr. J.-C.) dit Galien, conseille de boire le sang d'un chien ou d'une belette afin de guérir de la rage. Galien s'inspire de la théorie empirique des deux humeurs attribuée à Hippocrate dans les *Collections Hippocratiques* (un ensemble de 67 traités rédigés entre 430 et 350 av. J.-C. qui pose les fondements de la médecine grecque) pour aboutir à la plus récente des théories des humeurs où le sang et la bile noire s'ajoutent à la bile (jaune) et au phlegme pour expliquer au moyen de quatre fluides vitaux tous les phénomènes physiopathologiques de l'Homme. La théorie de Galien influencera la médecine occidentale jusqu'au XVIII^e siècle, comme au Moyen-Âge où la pratique de la saignée permet d'éliminer les mauvaises humeurs et guérir le patient. (13,14)

L'utilisation du sang en application cutanée ou en breuvage pour améliorer la santé revêt une importance pour l'Homme dans de nombreuses cultures par-delà la Grèce Antique. Parmi les histoires rapportées : certains anciens rois d'Égypte prennent des bains de sang ; les anciens Norvégiens boivent le sang des phoques et des baleines pour soigner l'épilepsie et le scorbut et s'appliquent sur leur peau le sang d'une personne pour pouvoir transférer son pouvoir ; ou la légende du vampire qui vit éternellement en buvant le sang de personnes vivantes. Une référence à une possible transfusion est documentée durant l'Antiquité dans un ancien manuscrit hébreu dans lequel Naaman, lieutenant de Ben-Hadad II roi d'Aram, est soigné de la lèpre après que les médecins lui retirent des veines son sang pour lui administrer celui d'un autre. (13) Cet écrit ne constitue pas la preuve de la première transfusion documentée de l'histoire car une version plus connue de cet événement est décrite dans l'Ancien Testament de la Bible où ce même lieutenant est guéri de la lèpre après s'être baigné sept fois dans le fleuve Jourdain sur le conseil du prophète Élisée.

L'époque médiévale ne présente pas d'intérêt dans la transfusion sanguine car les écrits ne sont pas bien documentés et sont ambigus sur l'acte d'administration du sang. Le plus souvent il est question d'ingestion que de perfusion comme en témoigne le premier acte transfusionnel controversé, documenté par l'historien Pasquale Villari (1827 – 1917), réalisé entre 1490 et 1492 sur le pape Innocent VIII de son vrai nom Giovanni Battista Cibo (1432 – 1492) : les trois jeunes garçons de dix ans dont provenait le sang administré au pape sont morts tout comme ce dernier. (13)

C'est la découverte de la circulation sanguine par le médecin anglais William Harvey (1578 – 1657) publiée dans l'ouvrage *De Motu Cordis* (1628) qui permet de marquer le début de la physiologie sanguine. Cependant certains concepts confirmés par Harvey ont déjà été décrits par d'autres scientifiques : le médecin arabe Ibn al-Nafis (1213 – 1288) décrit le transit pulmonaire du sang et la circulation capillaire et

coronaire du sang dans l'ouvrage *Commentaire de l'anatomie du canon d'avicenne* (1242). Le médecin espagnol Michael Servetus (1511 – 1553) décrit la fonction de la circulation pulmonaire dans l'ouvrage théologique *Christianismi Restitutio* (1552). Enfin le chirurgien italien Realdo Colombo (1516 – 1559) décrit dans l'ouvrage *De Re Anatomica* (1559) que l'action principale du cœur est la contraction plutôt que la dilatation. (13)

Ensuite plusieurs scientifiques rapportent des systèmes pour réaliser un acte transfusionnel. La première transfusion entre deux poulets est réalisée et documentée par le vicaire anglais Francis Potter (1594 – 1678) qui explique son expérience et le système qu'il a conçu dans une lettre en 1652 à son ami John Aubery. Le médecin florentin Francesco Folli (1624 – 1685) publie un ouvrage en 1680 dans lequel il décrit l'appareil de transfusion nécessaire pour une transfusion sanguine : un entonnoir relié à une canule (or ou argent) par un tube (formé à partir d'une artère de chèvre) et la canule est insérée dans la veine du patient. En 1658 le moine bénédictin français Robert des Gabets (1610 – 1678) documente que le Frère Eloi Pichot a créé en 1651 un instrument composé de deux petits tubes d'argent reliés par une petite bourse en cuir pour réaliser une transfusion. (13)

Pendant plusieurs années, diverses expérimentations sont faites sur le modèle animal. En 1642 Georg von Warendorff injecte du vin puis des médicaments à un chien. Entre 1656 et 1657 l'architecte Christopher Wren (1632 – 1723) développe un instrument pour réaliser une transfusion : il se compose d'une vessie d'origine animale reliée de part et d'autre par deux plumes qui servent de canules pour relier les deux organismes. En 1663 Christopher Wren et Robert Boyle injectent diverses substances telles que de la bière, du vin, de l'opium et des médicaments à un chien et leur expérience est publiée dans le *Journal Book of the Royal Society* d'une renommée internationale et édité par la *Royal Society* de Londres (créée en 1661). En novembre 1666, le médecin et anatomiste anglais Richard Lower (1631 – 1691) réalise la première transfusion documentée d'un chien à un autre. Il documente son expérience dans le *Transaction of the Royal Society* le même mois. La même année Richard Lower émet l'hypothèse que la personnalité d'un sujet est liée d'une manière ou d'une autre à son sang : bien qu'influencé par la théorie des humeurs, il est inconsciemment sur la piste de la compatibilité sanguine. En 1669 Richard Lower obtient la survie du modèle animal durant une transfusion. (13,15,16)

Cependant la première transfusion inter-espèce (de l'animal vers l'homme) est réalisée en France le 15 juin 1667 par Jean-Baptiste Denis (1635 – 1704) médecin à la Cour du roi Louis XIV et le chirurgien Paul Emmerez sur un jeune homme de 15 ans avec du sang d'agneau. En Angleterre la première transfusion inter-espèce est réalisée le 22 novembre 1667 par Richard Lower et son collègue médecin et anatomiste Edmund King sur un homme (Arthur Coga) avec du sang de mouton. L'événement fait l'objet d'une compétition scientifique où chacun revendique la primeur de la transfusion inter-espèce. Jean-Baptiste Denis communique ses résultats le 22 juillet 1667 dans un rapport adressé à la *Royal Society* de Londres qui publie ses résultats deux mois plus tard le 23 septembre 1667 dans *Philosophical Transactions*. Richard Lower communique également son rapport à la *Royal Society* de Londres qui les publie la même année dans ce même ouvrage. (13,15–17)

L'engouement pour la transfusion subit un coup d'arrêt retentissant suite à l'affaire Antoine du Mauroy en 1668. Le patient de 34 ans atteint de maladie mentale est transfusé par Jean-Baptiste Denis et Paul Emmerez à deux reprises. Bien que le patient développe un syndrome hémolytique lié à l'incompatibilité inter-espèce, son urine retrouve un aspect normal et son état général semble amélioré dès le troisième jour. Quelques mois plus tard, la femme du patient persuade les deux médecins de faire une nouvelle transfusion car son mari traverse un nouvel épisode de violence et

d'irritabilité : le patient décède le lendemain. Les médecins de la Faculté de Médecine de Paris (issus d'une autre corporation et formellement opposés à la transfusion) profitent du décès du patient pour convaincre la veuve de poursuivre en justice les deux médecins transfuseurs. Le procès pour meurtre se tient le 17 avril 1668 et l'enquête innocente Jean-Baptiste Denis et Paul Emmerz : le patient a été empoisonné à l'arsenic par sa femme. Cependant les médecins parisiens obtiennent que les transfusions soient réalisées après accord de ces derniers et ainsi obtiennent le contrôle de la procédure de transfusion qu'ils restreignent naturellement : aucune autorisation de transfusion n'est délivrée par la Faculté de Médecine de Paris à partir de cette décision de justice. Finalement, la transfusion sera interdite le 10 janvier 1670 par un arrêt du Parlement de Paris qui qualifie d'acte criminel le fait de pratiquer la transfusion. Peu après, le Parlement d'Angleterre prend une décision similaire. Enfin le Pape bannit à son tour la procédure de transfusion en 1679, confirmant l'arrêt de l'expérimentation transfusionnelle pour les 150 prochaines années, malgré la tentative du docteur Cantwell (membre de la Faculté de Médecine de Paris) en 1749 qui se prononce en faveur de la transfusion sanguine dans les cas d'extrême urgence impliquant des pertes de sang importantes. (13,15,16,18)

L'histoire de la transfusion connaît une renaissance grâce au médecin obstétricien et physiologiste James Blundell (1790 – 1877) diplômé à l'université d'Édimbourg. (19) John Henry Leacock (1793 – 1828) diplômé en médecine à l'université d'Édimbourg en 1817 (4 ans après Blundell) réalise des expérimentations sur l'animal et conclut que le donneur et le receveur doivent être de la même espèce pour permettre la survie du receveur. Il conclut également que pour exercer la médecine transfusionnelle, il faut travailler avec du sang provenant de l'Homme. (19,20) Les travaux de John H. Leacock sont pour James Blundell une source d'inspiration : le 22 décembre 1818, James Blundell réalise la première transfusion de sang humain avec le chirurgien Henry Cline. Bien que le patient décède deux jours plus tard, James Blundell réalise d'autres transfusions avec du sang humain entre 1818 et 1829 (le taux de mortalité est élevé). Mais en 1829, James Blundell sauve une jeune femme de 25 ans ayant fait une hémorragie sévère du post-partum, confirmant l'intérêt de la transfusion sur un tableau hémorragique. Il défend l'indication de la transfusion chez le patient hémorragique sévère malgré les critiques formulées à l'encontre de la procédure qui présente un risque important de décès, qu'il explique à cette époque par le risque d'injecter de l'air au patient. Il travaille également l'hypothèse selon laquelle la transfusion peut ressusciter les patients ne respirant plus. Il documente plusieurs appareils pour réaliser une transfusion indirecte dont *l'impellor* et le *gravitator*. Il décrit également le fait que la transfusion directe (de veine à veine) était difficilement réalisable à cause de la coagulation sanguine. En 1830 son intérêt pour la transfusion décline et il met fin à ses recherches. Hors de l'Europe, la transfusion est peu active au XIXe siècle : en 1854 aux Etats-Unis un rapport décrivant les actes transfusionnels à la Nouvelle Orléans est publié. En Russie le médecin Andrei Martynovich Wolff réalise la première transfusion d'homme à homme en 1832 après avoir été formé par James Blundell deux ans auparavant. (19) Malgré les avancées de James Blundell, la transfusion reste une procédure avec un risque de complications élevé. Pourtant, trois découvertes successives permettent de sécuriser la médecine transfusionnelle.

La stérilisation : en 1865 Louis Pasteur (1822 – 1895) démontre que les micro-organismes sont partout dans l'environnement, que certains peuvent causer des infections et que lorsque l'on chauffe un liquide putrescible et qu'on le protège de l'air on évite sa contamination par les micro-organismes. Cette découverte généralise la stérilisation des instruments utilisés pour la transfusion sanguine et permet de réduire le risque infectieux. (19)

Les anticoagulants : à cause de la coagulation rapide du sang, la transfusion par voie directe (du bras du donneur à celui du receveur) est la plus courante. En 1873 Sir Thomas Smith propose la défibrination du sang mais la procédure est complexe. En 1890 les Français Nicolas Maurice Arthus (1862 – 1945) et Calixte Pagès établissent que le calcium est indispensable à la formation du caillot sanguin. Ils démontrent que lorsque le sang est immédiatement mélangé à de l'oxalate, il reste fluide pendant plusieurs semaines dans le réfrigérateur. (17) Cette théorie est confirmée par les expérimentations animales du bactériologiste Sir Almroth Edward Wright (1861 – 1947) en 1891 (21). En 1892 le physiologiste hollandais Cornelis Pekelharing démontre qu'une solution de citrate 5% à un ratio 1:10 (une dose de citrate 5% pour dix doses de sang) maintient le sang fluide : il attribue cet effet à l'affinité du calcium pour l'acide citrique. En 1901 le pharmacologue italien Luigi Sabbatani (1863 – 1928) complète que le citrate de sodium suspend la coagulation en bloquant le calcium ionisé du sang. En 1902 Arthus précise les modalités de l'anticoagulation où il décrit que l'oxalate et les tartrates précipitent le calcium du sang tandis que le citrate produit une anticoagulation sans précipitation. Cette découverte permet de changer les procédures transfusionnelles pour laisser place à la transfusion indirecte et ainsi permettre de conserver les produits sanguins en vue d'une utilisation ultérieure. Cependant la première transfusion humaine anti coagulée par du citrate n'intervient que 12 ans plus tard en Belgique avec le médecin Albert Hustin en mars 1914, suivi par le médecin Luis Agote en novembre 1914 (Argentine) et le médecin Richard Lewisohn en 1915 (États-Unis). (17)

Les groupes sanguins : en 1901 le médecin et immunologiste autrichien Karl Landsteiner (1868 – 1943) réalise la découverte la plus importante de l'histoire de la transfusion sanguine. En réalisant des expérimentations d'agglutination de globules rouges avec des sérums, il découvre les groupes sanguins A, B et C (appelé O à partir de 1911) et permet de réduire les risques d'incompatibilité transfusionnelle. L'année suivante l'un de ses étudiants découvre le groupe sanguin AB. Le 10 décembre 1930 la découverte de Karl Landsteiner sur les groupes sanguins est récompensée par le prix Nobel de physiologie ou médecine. En 1939 il devient professeur émérite à l'Institut Rockefeller (États-Unis) et en collaboration avec Alexander Wiener et Philip Levine, il découvre en 1940 le facteur rhésus (ou Rh) responsable de la maladie hémolytique du nouveau-né. Le 14 juin est aujourd'hui utilisé pour fêter la journée mondiale du don de sang en hommage au jour de la naissance de Karl Landsteiner. (15,17,19,22)

L'Odyssée de la transfusion sanguine est une histoire passionnante qui débute très tôt à l'échelle de l'humanité et qui se construit au fil des siècles grâce au génie et à la détermination de nombreux scientifiques à travers le monde. Malgré des périodes de doutes et de prohibition, les connaissances s'accumulent et les nombreuses expérimentations sur l'animal puis sur l'homme permettent à la science de rationaliser des concepts qui pendant longtemps sont expliqués par des croyances infondées.

2.2. Concentré de globules rouges

2.2.1. Description des concentrés de globules rouges

Le CGR est un produit sanguin labile (PSL) tout comme le sont les concentrés plaquettaires et le plasma. Pour obtenir un CGR, le sang total du donneur est d'abord recueilli dans une solution de conservation anticoagulante et les globules rouges sont séparés du plasma par centrifugation ou sédimentation (il est possible également d'obtenir les globules rouges par aphérèse – une procédure d'extraction de

composants sanguins spécifiques – mais la procédure est peu usitée pour les globules rouges). La préparation des CGR est réalisée à partir du sang total dans un délai après le prélèvement le plus souvent compris entre 2 et 24 heures, le sang total étant maintenu avant séparation à une température comprise entre 18°C et 24°C. Plus rarement, les CGR peuvent être préparés au-delà de 24 heures et au plus tard 72 heures après le prélèvement, la conservation du sang total devant alors se situer entre 2°C et 10°C. (23) Le CGR peut contenir de 160 à 275 mL de globules rouges (50 à 80g d'hémoglobine) et peut être en suspension dans des quantités de plasma résiduel variables (entre 20 et 100 mL) : on appelle cela un CGR « frais » et il est utilisé surtout chez le nouveau-né et l'enfant jusqu'à 4 mois. (24)

Le CGR peut également être supplémenté d'une solution additive : les globules rouges en solution additive sont préparés en centrifugeant le sang total afin d'éliminer le plus de plasma possible et en remplaçant le plasma par 100 à 110 mL d'une solution additive contenant généralement du D-glucose, de l'adénine, du chlorure de sodium et du phosphate de sodium monobasique ou du mannitol. L'hématocrite d'un CGR en solution additive se situe généralement entre 55 et 65% et la solution a une viscosité plus faible que le CGR en suspension dans le plasma : son écoulement est similaire à celui du sang total. Le CGR conservé en solution additive a une durée de conservation de 42 jours à $4 \pm 2^\circ\text{C}$. (24)

Enfin le CGR (en plasma ou en solution additive) peut être déleucocyté : de la même manière le CGR est préparé à partir d'une unité de sang total recueillie dans une solution anticoagulante et contient initialement 1 à 10×10^9 globules blancs par unité (le taux de leucocytes usuel chez l'Homme étant compris entre 4 et 10×10^9 globules blancs par litre de sang). La réduction leucocytaire est réalisée par filtration : soit peu après le prélèvement (avant le stockage du PSL), soit après stockage, parfois au chevet du patient au moment de l'administration. La filtration diminue le contenu cellulaire et le volume du sang en fonction des caractéristiques du système de filtration utilisé. Le CGR leucoréduit doit avoir un taux de leucocytes résiduel maximal compris entre 1 et 5×10^6 globules blancs par unité (variable selon les normes en vigueur dans chaque pays). Les filtres de réduction leucocytaire éliminent variablement d'autres éléments cellulaires en plus des leucocytes, bien qu'au moins 85 % du contenu en globules rouges avant la filtration doit être conservé. La filtration des leucocytes permet également de limiter d'une part le risque de transmission du cytomégalovirus (CMV), d'autre part de limiter le risque de réaction fébrile non-hémolytique due aux anticorps présents dans les globules blancs. (24)

Les CGR frais, en solution additive et leucoréduits ne sont pas les seuls types de CGR. Il existe d'autres types de CGR dont les différences résident dans leur mode de préparation : le CGR irradié pour l'inactivation des lymphocytes et pour éviter un syndrome de maladie du greffon contre l'hôte associé à la transfusion (par exemple dans les cas de patients immunodéficients ou lors d'une transfusion intra-utérine fœtale) ; le CGR lavé lorsque le patient a des antécédents de réaction anaphylactique ou de réaction fébrile non-hémolytique suite à une transfusion ; le CGR cryopréservé (le CGR est congelé à l'aide d'une solution de conservation : le diméthylsulfoxyde ou le glycérol par exemple) lorsqu'un patient a un groupe sanguin très rare (exemple : le phénotype Bombay) ; le CGR pédiatrique qui est un CGR adulte divisé en 4 poches de plus petit format, dans ce cas on préfère l'utilisation d'une solution CPDA-1 (citrate, phosphate, D-glucose, adénine) qui présente des propriétés anticoagulante et additive. (23,24)

2.2.2. Indications des concentrés de globules rouges

Les CGR sont indiqués pour la correction de l'anémie (« la diminution du nombre d'érythrocytes circulants ou de la quantité d'hémoglobine » selon la *National Library of Medicine*). L'indication prend en compte la nature de l'anémie, son intensité (aiguë ou chronique) et les manifestations cliniques associées. (25) La quantité moyenne de CGR utilisée chez un patient est estimée à 1,7 unités (26,27) ou à 2,1 unités (28) selon les études.

Les CGR sont utilisés dans les domaines principaux suivants : l'**oncohématologie** (hémoglobinopathie, cancérologie, aplasie), la **chirurgie** (cardiovasculaire, digestive, orthopédique, rachidienne, gynécologique, traumatologie, urologie, transplantation d'organe) la **médecine** (hémorragie digestive, insuffisance rénale, cirrhose, anémie chronique, anémie inflammatoire, cardiopathie, saignement, infections et septicémie, altération de l'état général, accident vasculaire cérébral), la **réanimation**, l'**obstétrique** (hémorragie obstétricale) et la **néonatalogie** (pathologie néonatale) (28–30).

Les proportions de chaque catégorie sont représentées dans la **Figure 4**.

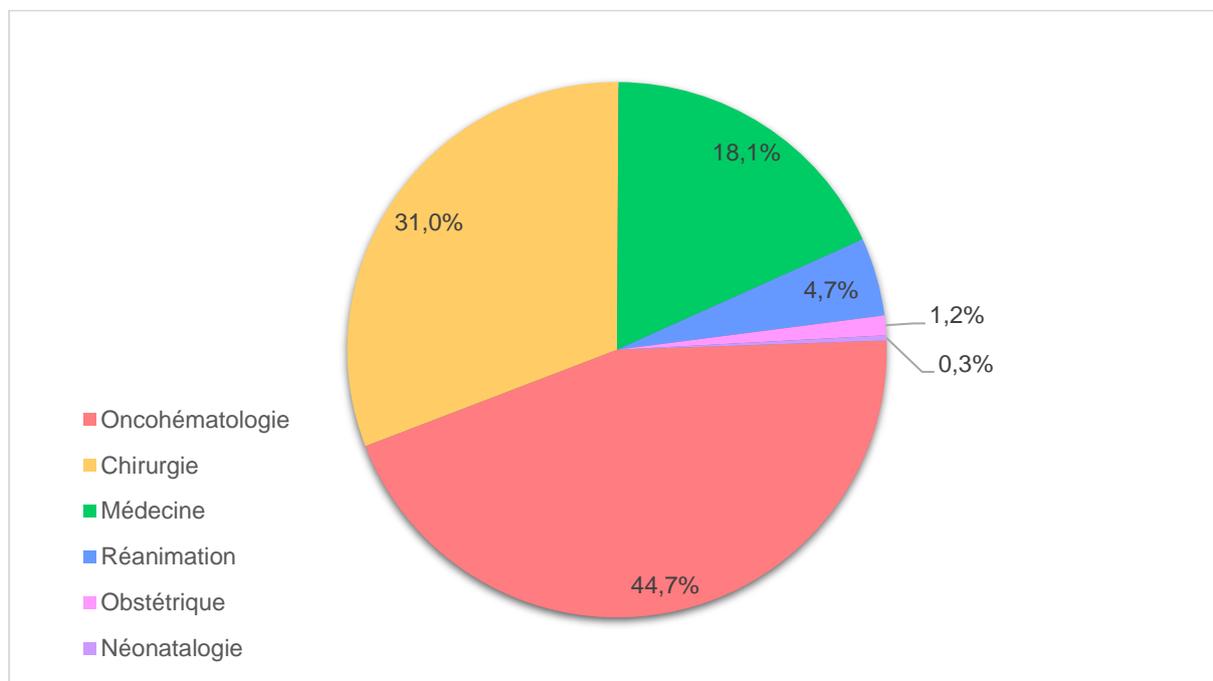


Figure 4 : Répartition des concentrés de globules rouges utilisés en France par catégorie pathologique (n = 5 556) (adapté de Quaranta, et al. 2009) (28)

2.2.3. Contre-indications des concentrés de globules rouges

Les contre-indications à l'utilisation du CGR ne sont pas liées à l'état ou aux conditions du patient à transfuser mais sont plutôt dues à la rareté du CGR. Ainsi les CGR ne doivent pas être utilisés pour traiter des anémies qui peuvent être corrigées par des médicaments hématiniques (c'est-à-dire qui favorisent la formation de globules rouges) tels que le fer, la vitamine B12, l'acide folique ou l'érythropoïétine (EPO) qui entre aussi dans la classe des agents stimulants l'érythropoïèse (ASE) tout comme Mircera® (méthoxy polyéthylène glycol-époétine bêta), Eprex® (époétine alfa) ou Aranesp® (Darbépoétine alfa). (24,31) Enfin les CGR et le sang total ne doivent pas être utilisés uniquement pour augmenter le volume ou la pression oncotique du sang circulant. (24)

2.2.4. Qualité des concentrés de globules rouges

Dans le domaine de la transfusion sanguine, il existe plusieurs paramètres permettant de vérifier la qualité d'un CGR : le taux de survie des globules rouges, le contenu en hémoglobine, l'hématocrite, le volume du CGR et le contenu en leucocytes. (1,23)

Le taux de survie des globules rouges (ou *recovery* en anglais) est la proportion de globules rouges transfusés qui restent fonctionnels dans la circulation sanguine généralement au bout de 24h après la transfusion. (3) Afin de garantir la qualité du CGR transfusé, le taux de survie des globules rouges doit être d'au moins 75%. (1)

Bien que ce paramètre ne soit pas fait en pratique transfusionnelle de routine, plusieurs techniques existent pour calculer ce paramètre : principalement [le marquage des globules rouges avec un isotope radioactif](#) (le plus souvent le chromium-51 ou ⁵¹Cr) mais il existe également d'autres techniques. D'abord [l'agglutination différentielle](#) : le principe est l'utilisation d'un antisérum spécifique du donneur ou du receveur qui permet d'agglutiner les globules rouges du donneur ou du receveur laissant les globules rouges de l'autre individu non agglutinés, ils sont comptés et comparés au nombre total de globules rouges. Ensuite [la biotinylation](#) : le principe est de marquer les globules rouges à la biotine puis compter [au cytomètre de flux la fluorescence des globules rouges marqués](#). Ensuite [la méthode de non-concordance des antigènes mineurs](#) repose sur le principe d'un antigène mineur qui diffère entre le donneur et le receveur (ex. protéine Fy du système Duffy) et qui est ciblé par un anticorps spécifique de cet antigène pour permettre un comptage des globules rouges qui n'ont pas été agglutinés au cytomètre de flux. Enfin la méthode de [comparaison des numérations de la formule sanguine](#) qui repose sur la comparaison d'un échantillon sanguin du receveur avant la transfusion et de plusieurs échantillons du receveur après la transfusion (hémoglobine, hématocrite). (3)

Les autres paramètres sont utilisés en routine en France pour le contrôle qualité des CGR. L'hématocrite doit être compris entre 50% et 70%. Le contenu en hémoglobine ne doit pas être inférieur à 40g par CGR. Le volume de CGR n'est pas imposé mais il est en moyenne de 284 mL. Le contenu en leucocytes est réglementairement inférieur à un 1 million de leucocytes résiduels par CGR dans au moins 97 % de la production (selon un intervalle de confiance à 95%). (23)

2.3. Compatibilité transfusionnelle

Dans la transfusion sanguine, deux systèmes interviennent pour la reconnaissance du soi et du non-soi : les systèmes de groupes sanguins chez les globules rouges et le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) chez les autres cellules nucléées. Il existe également le système des antigènes plaquettaires humains (HPA) mais ce système n'est pas traité dans ce travail car il n'a pas d'impact clinique en utilisation des CGR.

2.3.1. Groupes sanguins

Un groupe sanguin est la combinaison d'un ou plusieurs antigènes présents au niveau de la membrane cellulaire des globules rouges d'un individu. Ces antigènes peuvent être soit des protéines, soit des glycoprotéines, soit des glycolipides. (32) Le nombre d'antigènes par groupe sanguin varie selon le système : il est compris entre 1 antigène et 56 antigènes. Par exemple le système de groupe sanguin ABO (le plus connu et le plus important pour la transfusion sanguine) est composé de 4 antigènes : A ; B ; A,B ;

A₁. (33,34) Chaque antigène est codé par un ou plusieurs gènes polymorphiques (qui présentent un ou plusieurs allèles).

Par exemple il y a 286 allèles recensés en 2019 dans le système ABO dont les principaux sont A¹ ; A² ; B ; O ; et d'autres plus rares A³ ; A^x ; A^m. En pratique l'allèle A¹ est plus efficace que l'allèle A² dans le masquage du L-Fucose (l'antigène du système H) car il permet de transférer sur les L-Fucose 1 000 000 de résidus N-acétyl-D-galactosamine (l'antigène A) par globule rouge contre 250 000 pour l'allèle A². (33)

La Règle de Landsteiner permet de définir les groupes sanguins d'un individu : si l'antigène est absent du globule rouge alors l'anticorps dirigé contre cet antigène est présent dans le sérum du patient (ils sont dits antithétiques). (33) Dit autrement, c'est la présence ou l'absence des antigènes de surface des globules rouges qui définissent le groupe sanguin d'un individu. (32) Par exemple pour le système ABO, si l'antigène A est présent à la surface des globules rouges alors le sérum du patient ne contient pas d'anticorps anti-A.

Cependant cette règle présente des exceptions, dans certains cas les gènes codant pour les antigènes correspondant sont mutés : l'antigène est peu ou pas exprimé. C'est le cas par exemple avec le système Rh où certains individus sont qualifiés de D faible ou de D partiel suite à des mutations du gène RHD codant pour la protéine D. Le phénotype D faible se manifeste par un nombre anormalement bas d'antigènes D à cause d'une mutation d'un acide aminé impliqué dans la partie transmembranaire ou intracellulaire de la protéine, diminuant l'efficacité de son insertion dans la membrane cellulaire. Un individu D faible (à considérer comme D positif) peut apparaître D négatif avec certains réactifs anti-D pas assez spécifiques. Le phénotype D partiel est aussi dû à une mutation sur des acides aminés de la partie extracellulaire de la protéine D, celle qui forme les épitopes de l'antigène. Certains épitopes sont mutés ou absents et l'individu produit des anticorps anti-D dirigés contre la protéine D sauvage du non-soi, pas la protéine D mutée du soi (individu à considérer comme D négatif). (33)

Les systèmes ABO et Rh sont les plus connus des systèmes de groupes sanguins mais il en existe une multitude, de plus ce nombre est en constante évolution : en 2014 il y avait 33 systèmes reconnus par la Société Internationale de Transfusion Sanguine (ISBT) ; en 2019 ce nombre passe à 38 ; et à ce jour il y a 44 systèmes de groupes sanguins reconnus. (32–34) La **Figure 5** présente la structure moléculaire simplifiée des principaux systèmes de groupes sanguins : les antigènes sont transmembranaires ou ancrés à la membrane cellulaire ou adsorbés à la surface du globule rouge. (33)

Concernant la clinique, si un patient receveur reçoit un CGR et qu'il possède des anticorps dirigés contre l'un des antigènes présents au niveau de la membrane cellulaire des globules rouges transfusés, les conséquences peuvent être graves : l'allo immunisation (c'est-à-dire que le système immunitaire du receveur reconnaît le non-soi par le biais de l'immunité humorale) déclenche l'activation du complément et provoque un syndrome hémolytique intravasculaire massif pouvant entraîner le décès du patient transfusé. Si le patient est une femme enceinte, un autre risque est l'anémie hémolytique du fœtus et du nouveau-né pouvant causer le décès *in utero* du fœtus ou le décès du nouveau-né quelques jours après sa naissance. Avant l'utilisation du Rhophylac® (immunoglobuline anti-D) en prophylaxie, 90% des cas graves étaient causés par l'anticorps anti-D. (33)

Les antigènes les plus à risques sont les antigènes du groupe ABO et les antigènes principaux du système Rh. Certains antigènes des groupes H, MNS, Kell, Duffy, Kidd peuvent aussi entraîner des réactions hémolytiques intravasculaires massives et dans une moindre mesure certains antigènes des groupes Lutheran et Lewis. (33) Chaque système de groupe sanguin présent à la surface du globule rouge est donc une source de danger en pratique transfusionnelle et un frein à l'obtention d'un sang artificiel.

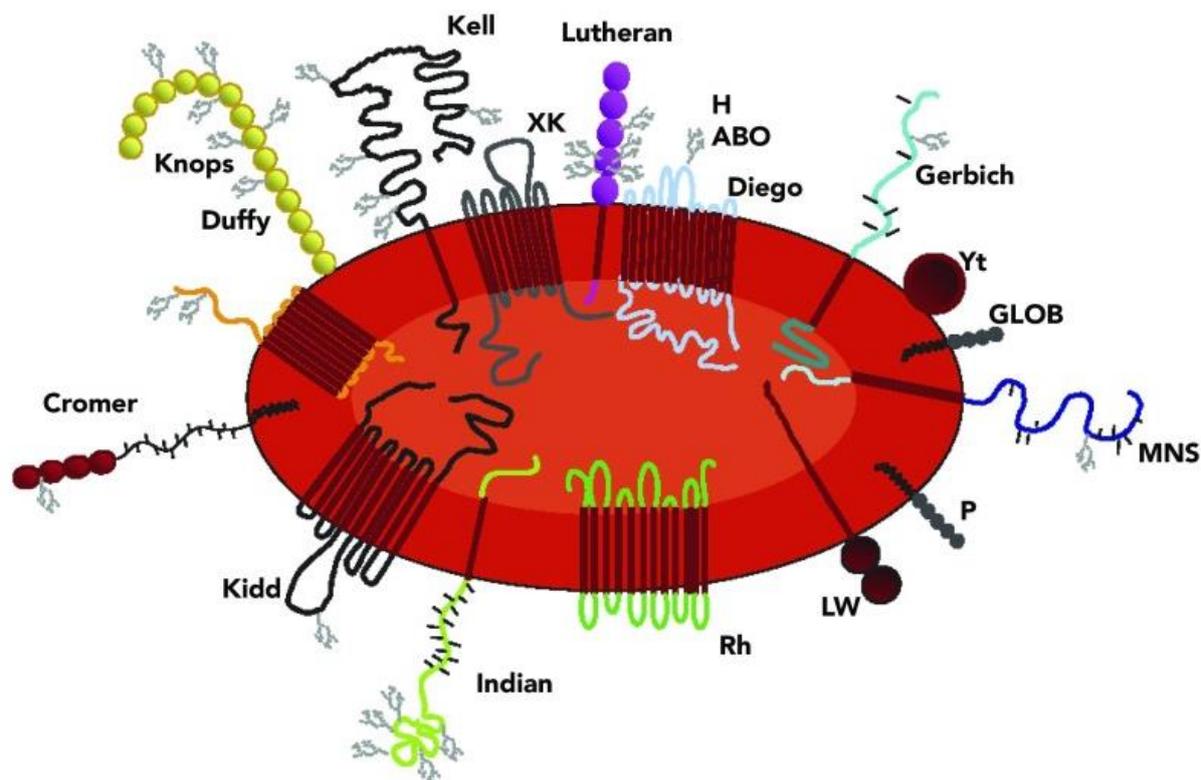


Figure 5 : Représentation simplifiée des principaux groupes sanguins présents sur la membrane cellulaire du globule rouge. Source : Smart et al. (2020) (33)

2.3.2. Complexe majeur d'histocompatibilité

Le CMH est l'autre système de l'organisme impliqué dans la compatibilité transfusionnelle et dont l'impact en clinique est majeur. Le CMH est une partie du génome humain dont les gènes codent pour des molécules qui ont différents rôles : la régulation de l'inflammation, la cascade du complément et la réponse immunitaire adaptative. (33) Parmi les gènes du CMH, certains codent pour les antigènes du système HLA (*human leukocyte antigen*) : un système de gènes hautement polymorphiques qui codent pour des protéines impliquées dans la présentation des peptides (provenant d'agents pathogènes, d'auto-cellules infectées par des virus, de cellules tumorales ou de tissus étrangers) au système immunitaire. On distingue 3 types de CMH : le CMH classe I (ou HLA-I), le CMH classe II (ou HLA-II) et le CMH classe III qui ne fait pas partie du système HLA et qui code pour des molécules telles que le TNF (*tumor necrosis factor*), les fragments C2, C4a et C4b du complément et les protéines HSP (*heat shock proteins*). (33)

Toutes les cellules mononucléées de l'organisme expriment le CMH classe I à leur surface (même les plaquettes). Le HLA-I permet aux récepteurs TLR des lymphocytes T CD8 (dits « cytotoxiques ») de reconnaître un antigène intra-cellulaire présenté par le HLA-I à la surface de la cellule mononucléée (ex. lorsque les cellules sont infectées par un virus ou lorsqu'elles sont cancéreuses) et d'initier l'attaque de la cellule cible pour induire son apoptose. Par contre seules les cellules présentatrices d'antigènes du système immunitaire (CPAi) (c'est-à-dire les cellules dendritiques, les monocytes, les macrophages circulants et tissulaires par exemple) expriment le CMH classe II à leur surface en plus du CMH classe I. Le HLA-II permet aux récepteurs TLR des lymphocytes T CD4 (dits « helper ») de reconnaître un antigène d'origine extra-cellulaire qui est exprimé par le HLA-II à la surface la CPAi afin de coordonner

l'immunité humorale pour cibler l'antigène présenté (ex. lorsque les CPAi phagocytent une bactérie). (33)

Le CMH est composé de 47 gènes et pseudogènes représentant un total de 13 023 allèles distincts ce qui explique l'importante diversité de phénotypes HLA au sein de la population. Transfuser un CGR qui contient des globules blancs ou des plaquettes avec un HLA étranger peut entraîner l'apparition d'allo-anticorps dirigés contre le HLA des cellules transfusées : c'est l'allo-immunisation HLA. Ce phénomène peut entraîner une réaction fébrile non hémolytique chez le receveur. La déleucocytation des produits sanguins permet de réduire l'incidence de l'allo-immunisation contre HLA chez certains groupes de patients. (33)

2.4. Complications transfusionnelles

Les complications transfusionnelles peuvent être catégorisées selon deux origines : infectieuses et non infectieuses. D'une part les dons de sang peuvent être à risque de contamination : virus de l'immunodéficience humaine (HIV), virus de l'hépatite B (HBV), virus de l'hépatite C (HCV), virus West Nile (WNV) causant des encéphalites, les coronavirus, le virus de la leucémie à cellules T humaine, CMV et les infections bactériennes. D'autre part les transfusions de sang allogène entraînent aussi des complications : réaction transfusionnelle hémolytique, lésions pulmonaires aiguës liées à la transfusion, anaphylaxie et purpura post-transfusionnel. (8) Enfin le fait de transfuser de manière chronique entraîne aussi la diminution et parfois la suppression de l'activité érythropoïétique. On retrouve ce phénomène chez les patients transfusés au long cours dans le traitement de la thalassémie ou de la drépanocytose. (2)

Entre 2015 et 2021 en France, 37 901 effets indésirables ont été signalés chez des patients transfusés avec un CGR. (35–41) La **Figure 6** présente les effets indésirables signalés chez ces patients. Les effets indésirables rapportés chez les receveurs de CGR sont principalement des cas d'allo-immunisation et des réactions fébriles non hémolytiques (voir sections 2.3.1 et 2.3.2) ainsi que des œdèmes pulmonaires aigus lésionnels (TRALI) ou de surcharge (TACO).

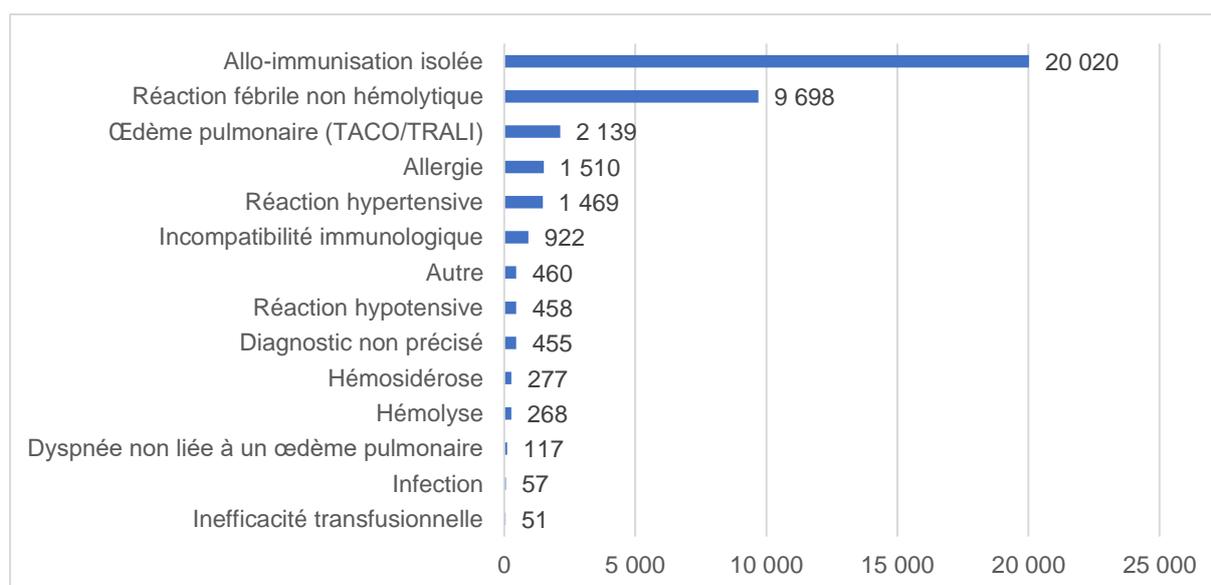


Figure 6 : Effets indésirables graves receveurs signalés durant la transfusion de concentrés de globules rouges sur la période de 2015 à 2021 en France (n = 37 901). (35–41)

Entre 2015 et 2021 en France, 22 décès d'imputabilité forte du CGR ont été rapportés chez des patients transfusés. (35–41) La **Figure 7** présente les causes rapportées pour chaque décès. Bien que le nombre de décès soit important, la cause principale n'est liée ni à la qualité, ni à la sécurité des CGR transfusés mais plutôt au non-respect des bonnes pratiques de l'acte transfusionnel. (41)

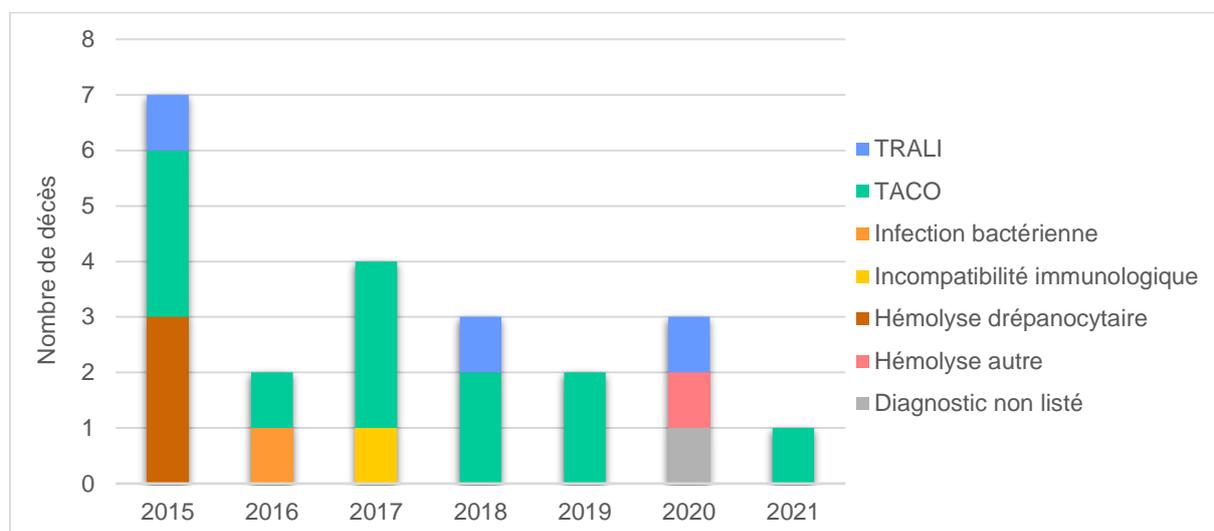


Figure 7 : Causes des décès déclarés en France après la transfusion d'un concentré de globules rouges sur la période de 2015 à 2021 (n = 22). (35–41)

2.5. Tension en produits sanguins

Le sang est une ressource thérapeutique d'intérêt public majeur : en 2013, le sang total, les CGR, le plasma et les concentrés plaquettaires ont été ajoutés à la liste des médicaments essentiels de l'OMS (organisation mondiale de la santé) chez l'adulte et l'enfant. (42,43) Malgré la reconnaissance de l'importance des produits sanguins par l'OMS, des pénuries sont observées de plus en plus fréquemment dans de nombreux pays et l'autosuffisance en matière de médicaments dérivés du sang n'est pas atteinte. (43,44)

2.5.1. Exemples dans l'actualité mondiale

On retrouve de nombreux exemples de ce phénomène dans l'actualité. En France pour faire face à des réserves en sang en-dessous du seuil de sécurité, l'Établissement Français du Sang (EFS) a publié un bulletin d'urgence vitale en février 2022 afin d'appeler à la mobilisation de la population pour donner son sang. (45)

Aux États-Unis, les trois associations impliquées dans la collecte et la distribution en sang – *Association for the Advancement of Blood and Biotherapies (AABB)*, *America's Blood Centers (ABC)*, *American Red Cross (ARC)* – ont publié une déclaration en décembre 2021 afin de mobiliser la population américaine à donner son sang pour faire face à la pénurie la plus importante de la décennie. (46) Le rapport de tendance hebdomadaire de l'AABB qui fournit l'estimation du nombre de jours d'approvisionnement en CGR pour les groupes O+ et O- aux États-Unis confirme la pénurie : malgré une hausse ponctuelle des stocks (d'une part due à la période de COVID-19 au cours de laquelle les chirurgies programmées ont été reportées, d'autre part après une campagne de dons massive suite à la fusillade de Las Vegas en 2017),

la quantité de CGR disponibles se situe entre 2 et 5 jours d’approvisionnement depuis plusieurs années. (47) Pour faire face à la pénurie en sang, des initiatives sont menées par les associations, comme l’action de communication de l’ARC pour inciter la population à donner son sang grâce à la création d’un partenariat avec la *National Football League* : un tirage au sort parmi les donateurs ayant participé à la campagne de don est organisé pour permettre à l’un d’entre eux de remporter des places pour la finale du *Super Bowl*. (48)

2.5.2. Les chiffres de la transfusion sanguine

En 2017 les systèmes d’approvisionnement du sang de 195 pays ont été étudiés : 61% d’entre eux n’ont pas d’apports suffisants pour combler leurs besoins en sang (les plus touchés sont les pays d’Afrique sub-saharienne, d’Océanie et d’Asie du Sud). L’OMS recommande 10 à 20 dons de sang pour 1 000 habitants pour permettre de subvenir aux besoins en sang mais il s’avère que 21% des pays étudiés ont besoin de plus de 30 dons pour 1 000 habitants et ce nombre passe à 40 pour quatre de ces pays. (43)

La pénurie de sang n’est pas un phénomène nouveau : suite à l’allongement de l’espérance de vie et les progrès de la médecine, la consommation en produits sanguins a fortement augmenté depuis le début des années 2000. En France, la consommation en CGR a augmenté de 29% entre 2002 et 2012. (49)

Mais la pénurie générale a été accentuée par la pandémie de COVID-19 survenue en novembre 2019 en Chine. Aux Etats-Unis, le nombre de donateurs a diminué de 10% et dans les lycées et les universités, le nombre de dons de sang a diminué de 62%. En France, les chiffres publiés par l’agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) dans les rapports d’hémovigilance démontrent que jusqu’à 2019 les tendances du nombre de donateurs et du nombre de patients transfusés se suivent. Mais en 2020 une inversion des tendances s’engage : le nombre de donateurs baisse et le nombre de patients transfusés baisse également (causé par la déprogrammation massive des chirurgies programmées en raison de la pandémie de COVID-19). La tendance à la baisse du nombre de donateurs associée à une hausse des patients transfusés se poursuit en 2021 et confirme la pénurie grandissante et durable en PSL (voir **Figure 8**). (35–41)

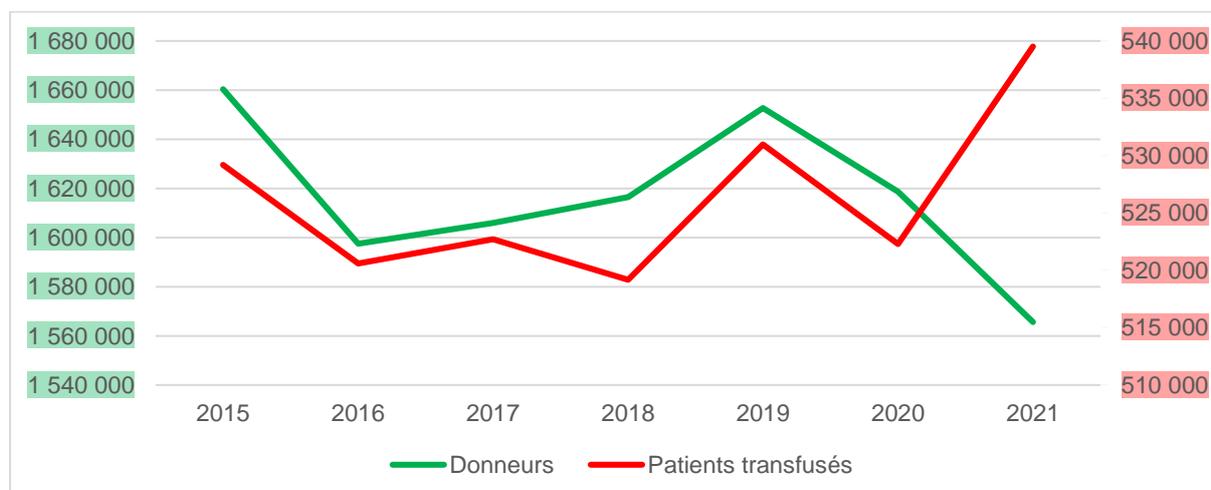


Figure 8 : Nombre de donateurs et nombre de patients transfusés en France chaque année entre 2015 et 2021. Source : Rapports d’hémovigilance ANSM (35–41)

Ce constat est marquant lorsque l'on compare les chiffres de la transfusion en France entre 2002 et 2021. Ainsi la France est passée de 61 385 070 habitants en 2002 à 67 635 124 habitants en 2021 (+10,2%). (50) Ensuite le nombre de prélèvements est passé de 2 543 416 en 2002 à 2 750 517 en 2021 (+8,1%). Cependant le nombre de PSL distribués est passé de 2 471 875 en 2002 à 3 008 607 en 2021 (+17,8%). (41,51)

2.5.3. Les causes de la tension en produits sanguins

La cause principale de la tension en produits sanguins est le rapport entre l'offre et la demande. En 2017 ce rapport est estimé à 1,12 à l'échelle mondiale (un besoin estimé à 305 millions de produits sanguins pour une offre estimée à 272 millions d'unités). Le rapport est affecté de 2 manières : lorsque l'offre baisse (la baisse des dons de sang) ; et lorsque la demande augmente (hausse de la population et hausse de l'espérance de vie). (43)

Plusieurs causes expliquent la baisse des dons : l'annulation de collectes de sang, le nombre insuffisant de personnel de santé pour garantir la collecte du sang. D'autre part certaines périodes ne favorisent pas la disponibilité des donneurs : les conditions météorologiques hivernales, les vacances de Noël, les périodes d'épidémie de grippe et la période estivale de juillet / août où l'offre de collecte est moins importante. (48,49) Enfin l'âge de la population de donneurs peut expliquer la baisse des dons car il est différent selon les pays : en Europe la majorité des donneurs est plutôt âgée (entre 50 et 65 ans) tandis qu'au Nigeria ou à Hong Kong la majorité des donneurs est plutôt jeune (entre 18 et 27 ans au Nigeria ; entre 16 et 24 ans à Hong Kong). (43)

Un autre facteur expliquant la tension en produit sanguin est la durée de péremption relativement faible d'un CGR : jusqu'à 42 jours de stockage lorsque les globules rouges sont conservés dans une solution saline, adénine, glucose, mannitol (SAG-M) à une température comprise entre +2°C et +6°C. Ces contraintes de temps et de température engendrent des difficultés dans la gestion de l'approvisionnement et des stocks en CGR. Entre 2012 et 2014, 2,4% des CGR ont été jetés au Pays de Galles et en Angleterre : la cause principale est l'atteinte de l'échéance du CGR. (26)

2.5.4. L'impact économique sur les systèmes de santé

La transfusion sanguine est un des domaines de dépenses les plus importants pour les systèmes de santé. (52) La transfusion de CGR implique 3 étapes qui représentent chacune un coût pour les établissements de santé : la collecte et la préparation des CGR ; l'achat du CGR lorsque l'établissement ne dispose pas d'une unité de collecte et de préparation ; et l'acte transfusionnel du CGR avec les frais liés aux analyses de laboratoires et aux soins et actes infirmiers.

Les achats de produits sanguins pour les transfusions sont l'un des postes les plus importants parmi les frais d'hospitalisation et de laboratoire (tests de dépistage et de phénotypage) et les coûts sont en constante augmentation tout comme les dépenses engagées pour la collecte, le stockage et le traitement du sang et des PSL. (8,52,53) Dans l'étude américaine de Toner et al. (2011) sur le coût de la transfusion de CGR, 28% des personnes interrogées ont déclaré que les coûts d'acquisition, de dépistage et de transfusion ont augmenté de façon spectaculaire entre 2002 et 2007 et 23% ont indiqué que les pénuries de sang constituent un problème important. (53)

Le **Tableau 1** présente le coût total estimé dans la littérature scientifique d'une unité de CGR incluant le montant du CGR et les coûts indirects associés. Parmi les coûts

indirects, il y a l'enregistrement et le traitement des lots d'échantillons sanguins, le dépistage, la recherche d'anticorps, la délivrance des produits (par voie électronique), l'épreuve de compatibilité manuelle et automatique, le contrôle des stocks, les commandes de sang, l'*audit trail* des produits sanguins, la collecte des échantillons sanguins, la demande de CGR, l'administration d'une unité de CGR et les accessoires et consommables nécessaires pour réaliser l'acte (la liste n'est pas exhaustive). (26)

Tableau 1 : Coût des concentrés de globules rouges et des coûts indirects associés

Année	Pays	Coût du CGR	Autres coûts	Coût total	Source
2018	France	201,23€ (\$235,44*)	138,41€ (\$161,94*)	339,64€ (\$397,38*)	(27)
2015	Royaume-Uni	-	£48,52 (\$70,52)	-	(26)
2013	Turquie	-	-	\$50,00	(52)
2007	Etats-Unis	\$210,74	\$132,89	\$343,63	(53)
2006	Etats-Unis	\$213,94	-	-	(53)
2004	Etats-Unis	\$201,07	-	-	(53)
2001	Etats-Unis	\$153,68	-	-	(53)
1999	Etats-Unis	\$121,98	-	-	(53)

Légende : * Taux EUR/USD estimé à 1,17 en 2018.

2.6. La gestion du capital sanguin

Pour faire face à la pénurie croissante en PSL, les systèmes de santé se tournent vers une alternative organisationnelle : la gestion (personnalisée) du capital sanguin ou *patient blood management* (PBM). Le PBM est une démarche d'amélioration de la qualité et de la pertinence des soins recommandée par l'OMS depuis 2010 et suivie par d'autres instances en Europe et à travers le Monde. (54) L'objectif du PBM est de prendre en charge l'anémie et le saignement des patients opérés en évitant le recours à la transfusion au maximum et ce en adoptant une démarche de prévention primaire. (54,55) La finalité est d'améliorer la qualité des soins du patient pour limiter la mortalité et les complications. (54)

Le PBM en clinique repose sur 3 piliers : optimiser la masse sanguine du patient (non applicable en cas de situation d'urgence), minimiser les pertes sanguines et optimiser la tolérance du patient à l'anémie. (54,55) Chaque pilier est appliqué aux 3 étapes de la prise en charge du patient : en phase préopératoire, en phase peropératoire et en phase postopératoire. (54)

Dans le cadre du PBM, le clinicien doit rechercher systématiquement une anémie préopératoire et une carence martiale parce que d'une part jusqu'à 40% des patients programmés sont anémiés en préopératoire et plus de 50% des patients non anémiés sur une chirurgie à risque d'hémorragie présentent une carence martiale avant la chirurgie ; d'autre part parce que l'anémie et la carence martiale préopératoires sont des facteurs de risque pour la survenue de complications postopératoires, pour la mortalité, pour la hausse de la durée de séjour et pour la hausse des transfusions. (54,55)

Le PBM représente de nombreuses recommandations applicables. Bien que certaines ne fassent pas consensus auprès de la communauté scientifique, une démarche de PBM simplifiée repose sur les aspects suivants : en phase préopératoire augmenter les prescriptions recommandées d'ASE ; prescrire du fer intraveineux en phase préopératoire pour diminuer la proportion de patients anémiés opérés en chirurgie programmée ; récupérer le sang autologue en prévision de la chirurgie ; administrer de l'acide tranexamique en phase peropératoire pour diminuer les pertes sanguines ; baisser la proportion de patients transfusés par délivrance unitaire et par unité de CGR ; baisser les seuils transfusionnels ; baisser le taux de transfusions massives. (54)

Concernant l'utilisation de Exacyl® (acide tranéxamique) en peropératoire : c'est un médicament anti fibrinolytique, il développe une action antihémorragique par inhibition des activités fibrinolytiques de la plasmine. Il se lie au plasminogène et forme ainsi un complexe (l'acide tranexamique reste lié au plasminogène lors de sa transformation en plasmine). L'activité du complexe entre l'acide tranexamique et la plasmine sur l'activité de la fibrine est moins forte que l'activité de la plasmine libre seule. (56)

Concernant l'utilisation des ASE et des médicaments hématiniques dont le fer, la vitamine B9 (acide folique) et la vitamine B12 (cobalamine) (57) : toutes ces supplémentations reposent sur le principe d'apporter les ingrédients nécessaires à la réalisation d'une érythropoïèse efficace.

Concernant les seuils transfusionnels : l'essai TRICC (*Transfusion Requirements in Critical Care*) réalisé au Canada entre 1994 et 1997 compare deux stratégies transfusionnelles. Dans le 1^{er} cas, le CGR est administré si l'anémie est plus basse que 7 g/dL et la cible à maintenir se situe entre 7 et 9 g/dL : c'est la stratégie restrictive (ou PBM). Dans le 2^e cas, le CGR est administré si l'anémie est plus basse que 10 g/dL et la cible à maintenir se situe entre 10 et 12 g/dL : c'est la stratégie libérale (hors PBM). Chez les patients anémiques gravement malades, la stratégie transfusionnelle restrictive (PBM) est au moins aussi efficace qu'une stratégie transfusionnelle libérale au regard de la mortalité à 30 jours mais le taux de mortalité est significativement plus faible en stratégie transfusionnelle restrictive. (58) La baisse des complications est constatée dans plusieurs études les années suivantes et le PBM est depuis communément accepté et appliqué par de nombreux établissements de santé.

Cependant une étude récente (Roman M.A., et al. 2020) dont l'objet est la revue de 393 études randomisées incluant un total de 54 917 patients démontre d'une part la baisse significative des transfusions de CGR et de la durée de l'hospitalisation avec la mise en œuvre du PBM mais d'autre part démontre aussi l'absence d'effets sur les complications postopératoires et les coûts en santé. (54)

L'un des aspects qui n'est pas encore énuméré dans les recommandations du PBM est l'utilisation de substituts érythrocytaires d'origine artificielle pour supplanter la transfusion de CGR. Pourtant de nombreux produits sont en cours de développement.

3. Substitut érythrocytaire et sang artificiel

3.1. Historique du sang artificiel

Durant la Grèce Antique avec Ovide et l'élixir de Médée jusqu'à l'utilisation de la bière, du vin et de l'opium comme substitut sanguin par Sir Christopher Wren au XVIIe siècle, l'idée d'un substitut sanguin d'origine non humaine fait son chemin dans la pensée de l'Homme. (8,13)

Différentes substances ont ensuite été utilisées : urine, résines de plantes, sang de mouton, lait. C'est à partir du début du XXe siècle que les découvertes en hématologie permettent de mieux comprendre les règles transfusionnelles (Karl Landsteiner découvre les groupes sanguins A B O). En 1949, la première perfusion d'hémoglobine libre chez une patiente souffrant d'une hémorragie en post-partum dans un contexte de réanimation est rapportée (8)

Les expériences sur les animaux où l'hémoglobine libre est recueillie en lysant les globules rouges et en transfusant les produits non modifiés aux animaux ont entraîné une insuffisance rénale, une coagulopathie, une activation du complément, une antigénicité, une libération d'histamine, un dépôt de fer et une vasoconstriction. Cette toxicité a ensuite été attribuée à la présence de stroma de globules rouges dans le produit. De plus, la forte affinité de l'hémoglobine libre pour l'oxyde nitrique (un puissant vasodilatateur) a provoqué une vasoconstriction non compensée et une augmentation de la pression en raison de son effet de capture de l'oxyde nitrique. (8)

Dans les années 1980, l'engouement pour la création de substituts érythrocytaires d'origine artificielle reprend suite à la crise du sang contaminé par le HIV. Mais en 2008 la publication d'une méta-analyse sur 5 substituts érythrocytaires d'origine artificielle révèle un surrisque pour les patients lors de l'utilisation de tels produits ce qui conduit à la remise en question de leur utilité. (4)

3.2. Indications des substituts érythrocytaires artificiels

Les substituts érythrocytaires d'origine artificielle disposent de la fonctionnalité du transport du O₂ et du CO₂ dans le corps humain pour l'oxygénation des tissus et des cellules de l'organisme. Le principal objectif de ces substances est de fournir un soutien temporaire au système circulatoire jusqu'à ce que la moelle osseuse de l'organisme ait régénéré suffisamment de globules rouges. (8)

Les principales indications des substituts érythrocytaires d'origine artificielle sont : les **traumatismes** (remplacement et stabilisation du volume sanguin) ; les **interventions chirurgicales programmées** (conservation préopératoire du sang sous forme d'hémodilution normovolémique aiguë et remplacement volumique périopératoire après une perte de sang massive) ; la **chirurgie cardiovasculaire** (amorçage des pompes, hypothermie profonde et remplacement peropératoire) ; la **perfusion de tissus ischémiques** (drépanocytose, accidents vasculaires cérébraux, maladies vasculaires périphériques) ; l'**oxygénation des tumeurs solides** (pour augmenter la susceptibilité à la radiothérapie et à la chimiothérapie), la **préservation des organes** (pendant le transport pour la transplantation ou comme cardioplégie) ; le **transport de médicament** (sous forme d'hémoglobine conjuguée au médicament et de perfluorocarbones) ; les **indications diverses** : infections anaérobiques, embolie gazeuse, empoisonnement au monoxyde de carbone ; l'utilisation comme **agent de contraste** (le bromure de perfluoro octyle est utilisé comme agent de contraste avec une capacité de transport d'oxygène

dans l'échographie, le scanner, l'imagerie par résonance magnétique, l'angiographie, l'imagerie du foie, de la rate et des tumeurs). (8)

3.3. Avantages des substituts érythrocytaires artificiels

Les substituts érythrocytaires d'origine artificielle comportent plusieurs avantages par rapport aux produits issus du don de sang. D'abord leur **capacité à transporter et à délivrer efficacement l'O₂ aux tissus** : les substituts artificiels sont efficaces dans le transport de l'O₂ immédiatement après administration grâce à un taux de saturation en O₂ important (90% pour les perfluorocarbonés) et une affinité faible pour l'O₂ ce qui facilite le déchargement tissulaire de l'oxygène. L'hémoglobine humaine a un taux de saturation en oxygène de 25 à 30%, une affinité importante pour l'O₂, de plus les érythrocytes nécessitent une période d'adaptation de 24h après transfusion pour retrouver leur capacité de transport de l'O₂ maximale. C'est dû à l'absence de 2,3-DPG pendant la conservation des culots érythrocytaires. Ensuite une longue **durée de conservation** : les substituts érythrocytaires d'origine artificielle peuvent être conservés jusqu'à 3 ans à température ambiante (entre +19°C et +21°C) contre 42 jours à une température de comprise entre 0°C et +4°C pour le stockage du sang. De plus, ils ont une survie dans la circulation pendant une période substantielle (le temps de "séjour" intravasculaire) avant d'être éliminé par les reins. Ensuite leur **compatibilité universelle** : les substituts érythrocytaires d'origine artificielle sont dépourvus de fraction protéique ce qui évite leur reconnaissance par le système immunitaire du receveur, ce qui permet de s'affranchir des étapes préalables de groupage sanguin et d'éviter des erreurs administratives pouvant conduire à des accidents transfusionnels. Ensuite la **prévention de la transmission d'agents pathogènes** : les substituts érythrocytaires d'origine artificielle sont stérilisés, cela permet de limiter la contamination du receveur par des micro-organismes. (8) Ensuite la **réduction des lésions ischémiques, inflammatoires et de reperfusion**. (10) Enfin ils sont une **alternative pour les populations réfractaires à la transfusion sanguine** : certaines populations et certaines cultures (par exemple les Témoins de Jéhovah) interdisent l'acceptation ou le don de sang et de produits sanguins et plus généralement toute effraction du corps humain. L'administration de produits chimiques tels que les perfluorocarbonés est une alternative qui respecte ces principes. (8)

3.4. Classification des substituts érythrocytaires artificiels

Bien que de nombreuses classifications sont décrites, les substituts érythrocytaires d'origine artificielle peuvent être classés en trois grands types : les transporteurs d'O₂ à base d'hémoglobine (HBOC) incluant les hémoglobines recombinantes obtenues par génie génétique, les transporteurs d'O₂ perfluorocarbonés et les globules rouges issus de la culture cellulaire. (59,60)

Cette classification repose sur la nature et le mode de fabrication du substitut. Les stratégies actuelles de fabrication comprennent la production synthétique, l'isolation chimique et les technologies biochimiques recombinantes. Ces modes de production concernent les substituts sanguins « conventionnels » : les transporteurs d'oxygène à base d'hémoglobine (HBOC) et les perfluorocarbonés (PFC). (8)

3.5. Transporteurs d'oxygène à base d'hémoglobine

Les transporteurs d'O₂ à base d'hémoglobine ou HBOC (de l'anglais *haemoglobin-based oxygen carrier*) sont des composés dérivés de l'hémoglobine qui assurent la même fonction que l'hémoglobine humaine (transport des gaz du sang des poumons vers les tissus) mais sous une forme différente. Les HBOC sont conçus pour respecter les fonctions suivantes : la diminution intrinsèque de l'affinité pour l'O₂ afin d'augmenter la libération aux tissus, la rétention intravasculaire prolongée de l'O₂, la diminution de la pression oncotique pour éviter l'hypervolémie et l'absence de toxicité rénale. (8)

Les procédés de fabrication des HBOC basés sur l'isolation chimique de l'hémoglobine impliquent 2 étapes successives : l'extraction puis la stabilisation de l'hémoglobine. Concernant l'extraction : l'hémoglobine d'origine naturelle (sang humain ou bovin) subit une étape de purification à partir des érythrocytes (filtration et chauffage) afin d'éliminer les substances constitutives du groupe sanguin, les protéines et les virus (lorsque le produit initial est contaminé). (8)

Concernant la stabilisation : après isolation de l'hémoglobine purifiée, elle subit une modification de formulation moléculaire. La stabilisation se fait par réticulation sous forme de tétramères ou de polymérisation (à l'aide de glutaraldéhyde ou de o-raffinose), par conjugaison avec du polyéthylène glycol ou par encapsulation dans des vésicules phospholipidiques avant d'être mélangée à une solution électrolytique. La réticulation ou la polymérisation avec des molécules plus grandes (polyéthylène glycol, dextran ou polyoxyéthylène) permettent également d'augmenter considérablement le temps de séjour intravasculaire (jusqu'à 24 – 48 heures). (8)

Le **Tableau 2** présente les types de modifications apportés à l'hémoglobine, la société qui a développé le substitut érythrocytaire, les principaux effets indésirables rencontrés pendant leur développement et le statut du produit sur le marché.

Tableau 2: Transporteurs d'oxygène à base d'hémoglobine : un résumé des produits HBOC. Adapté de Chen et al. (2023) (61)

Mécanisme de modification de l'hémoglobine		Produit (Société)	Effets secondaires dominants dans les essais sur les animaux et/ou les humains.	Statut actuel
Conjugué	Hb(oxy) humaine maleimide-PEGylée	Hemospan (MP40x) (Sangart, San Diego, CA, USA)	Hypertension, IDM, AVC, AIT, IRA, ↗ mortalité.	Phases II et III terminées. ↗ niveau O ₂ . Développement suspendu en 2015.
	Carboxy-Hb PEGylée (Hb bovine)	Sanguinate (Prolong, South Plainfield, NJ, USA)	Vertiges, léthargie, effets indésirables musculo-squelettiques	Phase II terminée, Phase III ne sera pas achevée. Arrêtée. Recherche en cours.
	PHP conjugué et Hb humaine réticulée	PHP/Hemoximer (Apex bioscience)	Hypertension, IRA, AVC, IDM, ↗ mortalité	PHP: Phase II terminée ; Phase III terminée en 2011
Réticulé	α-α réticulée (Fumarate) (Hb humaine)	HemAssist (Baxter, IL, USA)	Hypertension, IDM, AVC, ↗ mortalité	Phase III stoppée en 1999
	Réticulée et polymérisée (Hb humaine)	Hemolink (o-raffinose) (Hemosol, Toronto, Canada)	Hypertension, cardiotoxicité sévère, IDM, AVC, AIT, ↗ mortalité	Phase III terminée. Abandonné.
Polymérisé		PolyHeme (Northfield Labs, Evanston, IL, USA)	Hypertension, IDM, AVC, AIT, IRA, ↗ mortalité	Phase III terminée aux USA mais pas d'approbation FDA. Abandonné en 2009.
	Polymérisation glutaraldéhyde (Hb bovine)	Hemopure HBOC-201 (Biopure)	Hypertension, enzymes hépatiques élevées, méthémoglobinémie, oligurie	Phase III terminée et approuvé pour l'utilisation chez l'homme en Afrique du Sud et en Russie.
		Oxyglobin (Biopure)	-	Approuvé pour l'usage animal aux États-Unis et en Europe
	Polymérisée (zéro-liaison) (Hb bovine)	OxyVita (OXYVITA Inc. Windsor, NY, USA)	Etude animale en cours	Essai préclinique en cours Recherche en cours
Encapsulé	Actine-Hb encapsulée dans un liposome	Dr. Chang, Université McGill	-	Recherche en cours
	Vésicules d'Hb	Dr. Sakai, Université Waseda	-	Recherche en cours
Naturelle	Erythrocrurine	Issu du ver de terre <i>Lumbricus terrestris</i>	-	Recherche en cours
	Polychète <i>Arenicola marina</i>	HEMO ₂ Life (Hemarina, Bretagne, France)	-	Approuvé en utilisation clinique par l'Union Européenne pour la préservation des organes issus de donneurs.
Génie génétique	Technologie ADN recombinante	Optro (Somatogen & Eli Lilly)	Semble toléré par le patient, piégeage significatif des NO	Abandonné en 1999 (61) puis en 2014. (62)

Légende : ↗ = augmentation ; AVC : accident vasculaire cérébral ; AIT : accident ischémique transitoire ; IDM : infarctus du myocarde ; IRA : insuffisance rénale aiguë ; NO : oxyde nitrique ; PEG : polyéthylène glycol ; PHP : hémoglobine pyridoxalée polyoxyéthylène ; rouge : arrêté ; orange : en cours ; vert : approuvé.

3.5.1. Modifier l'hémoglobine naturelle

L'hémoglobine est une molécule dont les propriétés physico-chimiques sont sensibles : sa demi-vie est de quelques secondes (7) d'où l'importance d'avoir une protection de la molécule d'hémoglobine afin d'éviter une circulation sous sa forme libre qui conduirait à sa dégradation. Un trop fort taux d'hémoglobine circulante entraîne plusieurs conséquences : l'oxygénation des tissus est moindre, la tension artérielle augmente (par piégeage de l'oxyde nitrique) et le métabolisme rénal est fortement augmenté provoquant une néphrotoxicité (à cause de l'augmentation anormale de la clairance rénale). (4)

La source d'hémoglobine utilisée pour concevoir l'HBOC est soit humaine ou animale (obtenue à partir de sang stocké périmé ou de sang bovin), soit recombinante (c'est-à-dire génétiquement modifiée). L'hémoglobine est protégée selon plusieurs modalités : la surface de l'hémoglobine est modifiée chimiquement et est contenue dans une suspension acellulaire (Hemospan[®]) ; l'hémoglobine est conjuguée et réticulée soit en intramoléculaire soit en intermoléculaire avec des polymères et des enzymes protectrices (HemAssist[®], Polyheme[®], Hemopure[®], Hemolink[®]) ; l'hémoglobine est encapsulée dans des microparticules (Hemosome[®]) ou dans des nanoparticules (ErythroMer[®]). (4,8) L'incorporation d'antioxydants à la structure de l'HBOC (ex. superoxyde dismutase, catalase) permet de réduire la gravité des lésions ischémiques de reperfusion dans l'AVC, l'IDM ou la transplantation d'organes. (8)

Actuellement le produit le plus proche de l'utilisation en thérapeutique est Hemopure[®] (Biopure, Etats-Unis) appelé également HBOC-201 (ou Oxyglobin[®] et HBOC-301). (61–64) C'est la troisième génération d'HBOC développée par le laboratoire Biopure. L'hémoglobine est d'origine bovine, elle est hautement purifiée, dépourvue de potentiels agents contaminants, polymérisée avec du glutaraldéhyde (glutamer-250) et baigne dans une solution saline à une concentration de 13 g/dL. (61,63) Sa masse moléculaire est de 250 kDa (contre 65 kDa pour l'hémoglobine humaine). La p50 ou coefficient de saturation en O₂ (c'est-à-dire la pression partielle en O₂ où la moitié des sites de fixation de l'hémoglobine sont occupés en O₂) est élevé (40 mmHg pour HBOC-201 contre 8 à 18 mmHg pour l'hémoglobine humaine) ce qui traduit une moins bonne affinité pour l'O₂ que l'hémoglobine humaine. La demi-vie est entre 16 et 20 heures *in vivo* (contre quelques secondes pour l'hémoglobine humaine). La durée de péremption est de 3 ans lorsque le produit est conservé entre +2°C et +30°C. (7,61,63) Hemopure[®] est approuvé en 2001 en Afrique du Sud pour le traitement des patients adultes ayant subi une intervention chirurgicale et souffrant d'anémie aiguë dans le but d'éliminer, de retarder ou de réduire le besoin en globules rouges puis en 2010 en Russie pour le traitement de l'anémie aiguë. (64) Aux États-Unis Biopure n'obtient pas l'autorisation de mise sur le marché de l'autorité de santé américaine FDA (Food and Drug Administration) ce qui la conduit à la banqueroute et au rachat en 2009 par la société OPK Biotech (Etats-Unis) puis en 2014 par la société Hemoglobin-O₂ Therapeutics (Etats-Unis). Cependant grâce à de nombreuses études cliniques réalisées sur plusieurs applications et à une étude pilote débutée en 2013 (dont la fin est prévue en octobre 2023), la société obtient la possibilité d'utiliser Hemopure[®] pour le traitement de l'anémie grave mettant en jeu le pronostic vital mais dans un cadre restreint : accès à l'usage compassionnel mis en place par la FDA. (7,61–63) La performance du produit est démontrée au travers de plusieurs études pré-cliniques et plusieurs études cliniques principalement dans des applications chirurgicales. (63) En 2014, un essai multicentrique randomisé chez des patients ayant subi une chirurgie non cardiaque prouve que Hemopure[®] permet de réduire les transfusions de globules rouges chez 43 % des patients sans différence notable en termes de mortalité et d'événements indésirables graves, malgré une hausse des événements non graves associés (hypertension et fièvre). (7,62)

La **Figure 9** présente certaines stratégies de modification de l'hémoglobine naturelle.

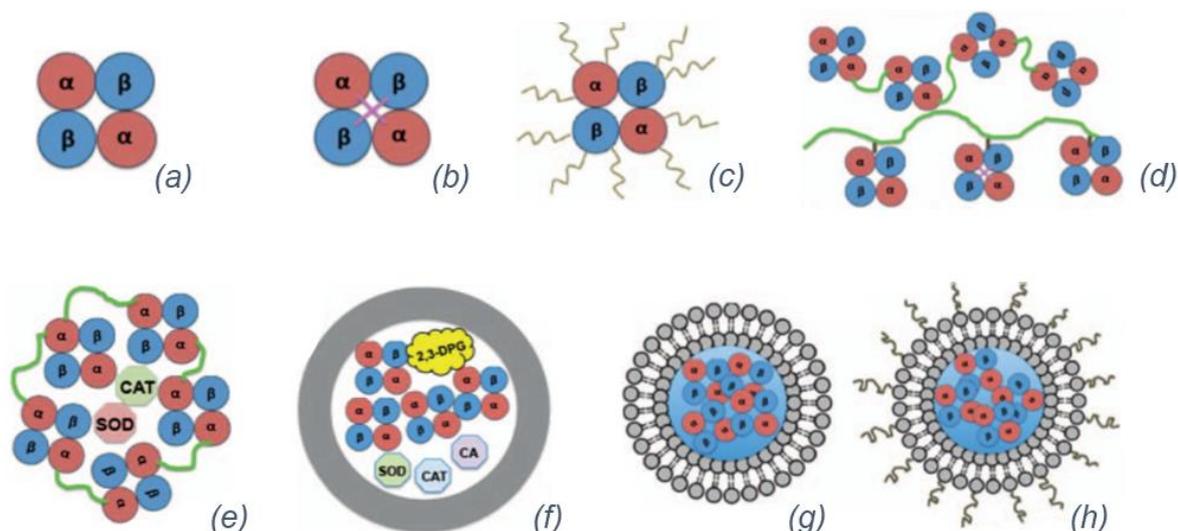


Figure 9 : Schéma des stratégies de modification de l'hémoglobine naturelle : (a) l'hémoglobine libre ; (b) l'hémoglobine stabilisée par des liaisons intramoléculaires ; (c) l'hémoglobine conjuguée à des polymères ; (d) l'hémoglobine réticulée par polymérisation ; (e) l'hémoglobine polymérisée avec des enzymes redox des globules rouges (SOD = superoxyde dismutase ; CAT = catalase) ; l'hémoglobine encapsulée : (f) avec la superoxyde dismutase, la catalase, l'anhydrase carbonique (CA) et le 2,3 DPG ; (g) dans un liposome ; (h) dans un liposome « furtif » (PEGylé). Adapté de Sen Gupta et al. (2019) (4)

3.5.2. Produire l'hémoglobine avec des micro-organismes

L'hémoglobine issue de la culture bactérienne (Optro[®], Somatogen, Etats-Unis) se base sur les technologies recombinantes. Cela implique d'isoler le gène humain de l'hémoglobine, de le transférer dans le micro-organisme (*Escherichia coli* pour les bactéries, *Saccharomyces cerevisiae* pour les levures) à l'aide d'un vecteur plasmidique et de faire exprimer le gène codant pour la protéine de globine par le micro-organisme. Les globines α sont ensuite liées de manière intermoléculaire à l'aide d'un résidu glycine augmentant la demi-vie plasmatique jusqu'à 19h. L'hème est incorporé dans le micro-organisme. Les micro-organismes sont lysés et l'hémoglobine obtenue est purifiée par chromatographie. (8,61,62,65)

Cette technique présente l'avantage de ne pas avoir besoin de matière sanguine d'origine humaine ou bovine. Cela permet d'éviter le risque de transmission de pathogènes tels que le prion, l'agent responsable de l'encéphalopathie bovine spongiforme ou maladie de Creutzfeldt-Jakob. (8,61) Elle permet également d'assurer un approvisionnement contrôlé et régulier afin d'éviter les fluctuations des approvisionnements en matière sanguine. (8)

Cependant, le coût de cette technique est relativement important. (4,8) Malgré des mutations spécifiques qui permettent une diminution de la dissociation et une modulation des capacités de liaison au NO, la combinaison correcte de mutations n'est pas encore établie. De plus, l'effet de capture du NO par l'Optro[®] est à l'origine d'une augmentation du risque d'arrêt cardiaque et de mortalité conduisant à l'arrêt de l'essai clinique en 2014. (61)

3.5.3. Rechercher d'autres sources d'hémoglobine

Dans la recherche du sang artificiel, la nature est une source d'inspiration pour identifier des solutions thérapeutiques. Différentes espèces mammifères proches de l'être humain d'un point de vue phylogénétique ont vu leur hémoglobine utilisée pour substituer celle de l'Homme. Cependant l'hémoglobine des mammifères est intracellulaire et lorsqu'elle est administrée sous forme libre, elle a un double effet délétère : d'une part l'hémoglobine piège l'oxyde nitrique (un puissant vasodilatateur) de par son affinité importante ; d'autre part l'hémoglobine est rapidement métabolisée par l'organisme receveur ce qui engendre des grandes quantités de métabolites toxiques. *De facto*, de nombreux effets indésirables sont à déplorer : hypertension, IDM, AVC, lésions rénales et toxicité tissulaire. (7)

La piste des mammifères écartée, une autre piste vient d'une espèce issue de la biologie marine : le ver marin annélide *Arenicola marina*. Cette espèce est présente dans le sable propre et le sable vaseux des estrans (c'est-à-dire la partie du littoral recouverte à marée haute et découverte à marée basse) de nombreux littoraux des côtes nord-ouest de l'Europe (de l'Arctique à la Méditerranée). Les arénicoles vivent dans des terriers en forme de J de 20 à 40 cm de profondeur dans le sédiment et ils sont 20 à 50 individus par m². Pour se nourrir, l'arénicole a la tête en bas orientée vers le haut et ingère le sédiment au-dessus de sa tête : cela entraîne l'affaissement du sable situé au-dessus et cela forme un entonnoir. Pour la défécation, l'arénicole recule dans le terrier jusqu'à ce que sa queue atteigne la surface où il éjecte ses turricules qui forment le tas de sable caractéristique. Ce mécanisme de vie participe à la bioturbation. (66) L'anatomie générale de l'arénicole est décrite dans la **Figure 10**.

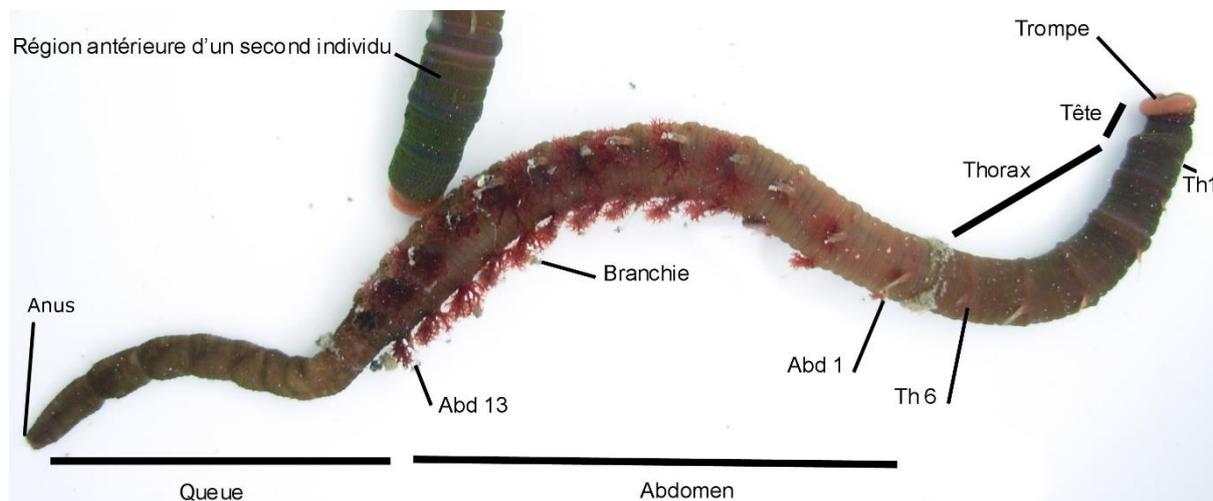


Figure 10 : Anatomie générale de *Arenicola marina*. Crédit : A. Le Roux (2008)

D'un point de vue phylogénétique, l'arénicole est plus éloignée de l'être humain que ne le sont les mammifères : ils font partie du règne Animal, ils sont tous deux bilatériens (ils possèdent une symétrie bilatérale) mais l'arénicole est protostomien tandis que l'être humain est deutérostomien. La taxonomie et la place dans l'arbre phylogénétique de l'arénicole et de l'être humain sont présentées dans le **Tableau 3** et la **Figure 11**.

Tableau 3 : Taxonomie comparée de l'arénicole et de l'être humain (67)

Règne	Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce
Animalia	Annelida	Polychaeta	-	Arenicolidae	Arenicola	Arenicola marina
Animalia	Chordata	Mammalia	Primates	Hominidae	Homo	Homo sapiens

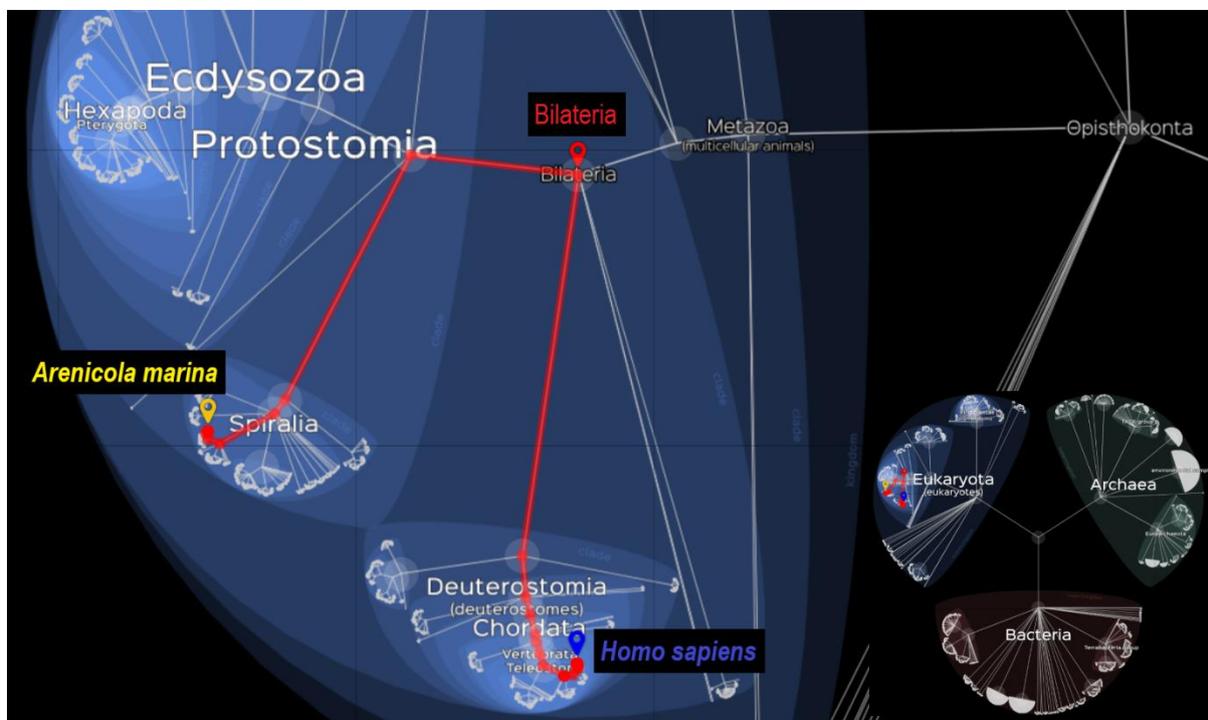


Figure 11 : Arbre phylogénétique de l'évolution de *Arenicola marina* et de *Homo sapiens*, adapté de DM de Vienne – LIFEMAP (2016) (68).

L'intérêt de l'arénicole est qu'elle dispose d'un système d'oxygénation des tissus dont le principe est similaire à celui de l'hémoglobine humaine : l'érythrocrurine. La structure de l'érythrocrurine (ou M101) est décrite en 1996 : ce complexe supramoléculaire est organisé en une bicouche hexagonale de 25 nm de longueur et 15 nm d'épaisseur entre les deux couches (voir **Figure 12**). Son poids moléculaire est de 3600 kDa (contre 65 kDa pour l'hémoglobine humaine) pour un rayon de giration de 11,3 nm (contre 2,0 nm pour l'hémoglobine humaine). L'ensemble est composé de 198 chaînes polypeptidiques (dont 156 chaînes de globines et 42 chaînes de liaison) et de 156 groupements prosthétiques hème b fixant l'O₂ (contre 4 pour l'hémoglobine humaine). (7,62,69–71)

Cette molécule dispose de plusieurs avantages : d'abord la **capacité d'oxygénation** de la molécule. La quantité d'hèmes importante permet à l'érythrocrurine de réaliser une oxygénation 40 fois plus efficace que pour l'hémoglobine humaine. De plus, l'érythrocrurine fonctionne sur une gamme de température beaucoup plus étendue (entre +4°C et +37°C pour l'érythrocrurine ; +37°C pour l'hémoglobine humaine). Enfin l'érythrocrurine a une affinité plus importante pour l'O₂ que l'hémoglobine humaine et peut mieux oxygéner les tissus dans un environnement hypoxique grâce à un coefficient de saturation en O₂ légèrement plus bas : la p50 est de 6 à 8 mmHg pour l'érythrocrurine contre 8 à 18 mmHg pour l'hémoglobine humaine. (7)

Un autre avantage de l'érythrocrurine est sa **stabilité dans le domaine extracellulaire**. 42 chaînes de liaison qui lient les globines entre elles et 12 résidus cystéine qui forment les ponts disulfure assurent l'intégrité de la structure du complexe moléculaire. Ainsi, l'érythrocrurine a une demi-vie de 50h à un pH entre 7 et 8 (contre quelques secondes pour l'hémoglobine humaine) et jusqu'à 2,5 jours chez la souris et le rat. (7,69)

L'érythrocrurine dispose également de **propriétés anti-oxydatives** liées à une activité intrinsèque : elle inhibe à 100% la réduction du bleu nitré de tétrazolium en présence de radicaux superoxydes, démontrant une capacité à améliorer le stress oxydatif. Ceci s'explique par son activité intrinsèque de type superoxyde dismutase (une enzyme qui transforme les ions superoxyde $O_2^{\cdot-}$ en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et en O_2) liée aux métaux Cu (cuivre) / Zn (zinc). (7,61,72)

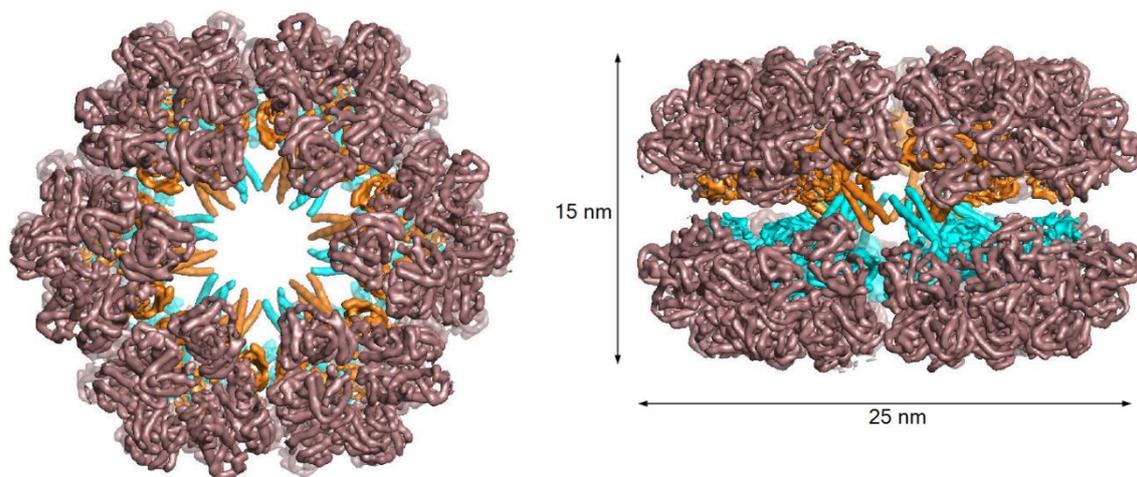


Figure 12 : Structure cristalline de l'érythrocrurine de *Arenicola marina* en vue supérieure (à gauche) et en vue latérale (à droite). En violet : les chaînes d'hémoglobine liant le dioxygène. En orange et en bleu : les peptides de liaison. Adapté de Royer et al. (2007) (70)

Il existe également un autre type de pigment respiratoire similaire à l'érythrocrurine : la **chlorocrurine**. On la retrouve uniquement chez quatre familles de polychètes : les *Sabellidae*, les *Serpulidae*, les *Chlorohaemidae* et les *Ampharetidae*. (73,74) La taille et la structure de la chlorocrurine sont analogues à l'érythrocrurine : un poids moléculaire de 3,5 – 4,0 MDa, organisée en une bicouche hexagonale de 27,5 nm de longueur par 18,5 nm d'épaisseur entre les couches. La seule différence réside dans la structure chimique de son groupement prosthétique : l'hème b est modifié sur le C^3 par un groupement formyle à la place du vinyle (voir **Figure 13**). La différence structurale du groupement prosthétique entraîne une conséquence sur la couleur du sang de ces espèces : il apparaît comme rouge verdâtre. (73–75)

D'un point de vue réglementaire, l'érythrocrurine n'est pas encore commercialisée comme substitut érythrocytaire mais plusieurs études pré-cliniques démontrent que la molécule M101 (HEMOXYCarrier[®], Hemarina, France) délivre efficacement l' O_2 *in vivo* sans les signes d'oxydation, de vasoconstriction ou d'hypertension caractéristiques des HBOC de première génération. (7) Un autre produit basé sur l'érythrocrurine est commercialisé : HEMO₂life[®] (Hemarina, France). C'est un dispositif médical contenant la molécule M101 à 1g pour 20 mL d'eau pour préparation injectable. Le dispositif est marqué CE (classe III) depuis septembre 2022. (7,61,76,77) HEMO₂life[®] est destiné à être utilisé *ex-vivo* comme additif aux solutions de conservation pour la préservation des reins adultes pendant le transport hypothermique dans des conditions statiques ou sous perfusion, après le prélèvement suite à la mort cérébrale. (77,78)

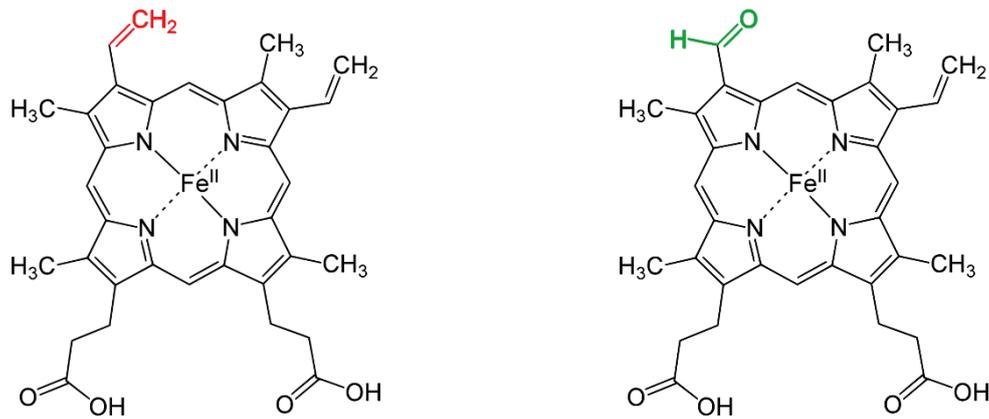


Figure 13 : Structure chimique du groupement prosthétique de l'érythrocyte avec le groupe vinyle en rouge (à gauche) et du groupement prosthétique de la chlorocruorine avec le groupe formyle en vert (à droite).

La fabrication de HEMO₂life[®] se fait selon les bonnes pratiques de fabrication (BPF) : elle débute par l'élevage des arénicoles dans une ferme aquacole (30 tonnes de vers marins sont produites chaque année par Hemarina à Noirmoutier). (79,80) Lorsque les arénicoles sont matures, ils sont congelés ce qui crée un choc hémorragique et permet d'exanguiner l'annélide. On obtient ainsi le sang qui contient l'hémoglobine extracellulaire. Il y a ensuite plusieurs étapes de purification de l'hémoglobine avec du tamisage progressif, des extractions solide/liquide et de la filtration aseptique. Ensuite l'hémoglobine est lyophilisée pour être sous forme de poudre puis elle est conditionnée dans un flacon en verre. Enfin il y a une étape de stérilisation à l'irradiation gamma pour obtenir un produit stérile. (7,77,79)

3.6. Perfluorocarbones

Les PFC sont des molécules chimiques inertes dont la structure est proche des hydrocarbures (composés organiques contenant uniquement des atomes de carbone et d'hydrogène) mais dont les atomes d'hydrogène sont remplacés par des atomes de fluor. Leur taille est cent fois plus petite qu'une hématie mais ils sont capables de transporter plus d'O₂. Pour pouvoir être utilisés en clinique, les PFC sont émulsionnés sous forme de microgouttelettes lipidiques car ils sont insolubles dans l'eau : cela leur permet une mise en suspension dans la circulation sanguine. (8,81,82) Les PFC ont la capacité de transporter l'O₂ et le CO₂ sans liaison chimique entre la molécule et le gaz. La saturation des PFC en gaz est passive, elle dépend de la pression partielle en O₂ et est facilitée par la dissolution des gaz dans les microgouttelettes lipidiques cependant la saturation nécessite une forte pression partielle en O₂ (PaO₂ > 300-350 mmHg). Ces molécules sont donc utilisées en association avec l'oxygénothérapie. (8,60,81,82)

Les PFC ont plusieurs avantages : ils ne réagissent pas avec l'O₂ ; ils augmentent la solubilité de l'O₂ dans le plasma ; la température, le pH sanguin et le 2,3-DPG n'ont pas d'effet sur l'O₂ dissous par les PFC ; ils permettent de transférer plus facilement et plus rapidement l'O₂ des cellules aux tissus ; ils ont une capacité de transport variable en fonction de la FiO₂. Cependant ils ont également plusieurs inconvénients : une bioaccumulation dans le système réticulo-endothélial pouvant entraîner l'activation du complément, surtout pour la première génération de PFC à cause des émulsifiants de type polymériques ; une cytotoxicité envers les granulocytes et les

monocytes qui concerne surtout les PFC incorporant un émulsifiant à base de phospholipide / lécithine ; un syndrome pseudo-grippal dû à l'opsonisation et à la phagocytose des émulsions de PFC ; une thrombocytopénie transitoire entre J3 et J10 après administration. Un autre inconvénient indirect des PFC lié à l'oxygénothérapie : la toxicité des trop fortes concentrations en O₂. Enfin on note des cas de complications neurologiques lors de l'utilisation des PFC en chirurgie cardiaque. (8,60,81,82)

La pharmacocinétique des PFC est problématique : les molécules ne forment pas de métabolites cytotoxiques mais à cause de leur inertie métabolique, le foie et les reins ne sont pas capables de métaboliser les molécules ce qui entraîne une bioaccumulation principalement dans le foie et la rate (60). Après administration, les PFC se vaporisent et sont ensuite exhalés par les poumons pendant plusieurs jours, la demi-vie dans la circulation sanguine est courte et dépendante du produit (Perftoran® : entre 18 et 24h) (83). Cependant la demi-vie dans les organes est beaucoup plus longue (Perftoran® : 90 jours). (82) Le système réticulo-endothélial est responsable de l'élimination systémique des PFC mais ce système est rapidement saturable à doses répétées. L'élimination des PFC par le système réticulo-endothélial nécessite entre 18 et 24 mois. (8) La galénique des PFC est aussi un frein à leur utilisation : les émulsions ne sont pas stables à température ambiante et une congélation du produit est nécessaire pour permettre de conserver la stabilité de l'émulsion. (8,82) Cependant de récentes améliorations relatives aux nanoparticules ont permis d'obtenir des nano-émulsions de PFC qui sont stables à température ambiante. (82) La **Figure 14** présente la structure chimique de différents PFC utilisés comme substituts érythrocytaires de synthèse.

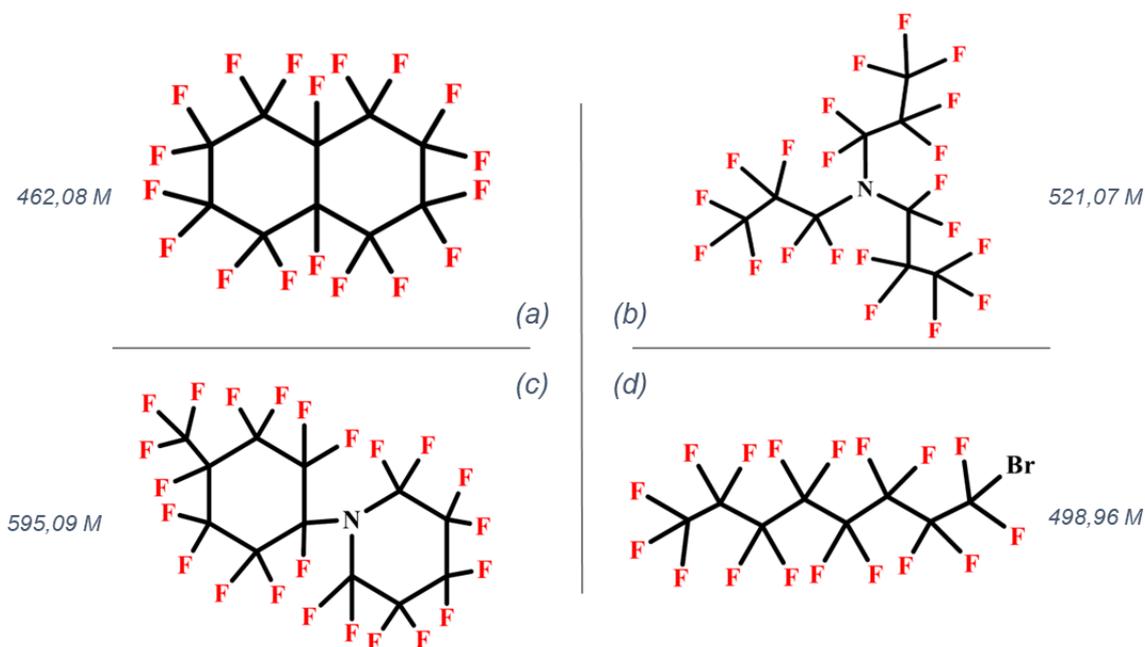


Figure 14 : Structure chimique des différents perfluorocarbones et leur masse moléculaire respective : (a) la perfluorodécaline (composant du Fluosol-DA® et du Perftoran®) ; (b) la perfluorotripropylamine (composant du Fluosol-DA®) ; (c) la perfluoro-N-(4-méthylcyclohexyl)pipéridine (composant du Perftoran®) ; (d) le Perflubron ou le bromure de perfluorooctyle (le composant de Oxygent®).

Historiquement, les PFC sont la première famille de molécules utilisée dès les années 1970 comme substitut érythrocytaire. (82) Leur développement pharmaceutique s'est fait en plusieurs générations. Fluosol-DA® développé en 1978 par la Green Cross Corporation au Japon est le chef de file de la première génération. C'est une émulsion (ratio 7:3) de perfluorodécaline (PFD) et de perfluorotripropylamine (PFTPA)

émulsifiée par un polymère : le Pluronic F-68, produit à l'origine de complications pulmonaires avec l'activation du complément. Le produit obtient son approbation par la FDA en 1989 comme substitut sanguin dans l'angioplastie coronaire mais il est retiré du marché américain en 1994 à cause de sa toxicité rénale ainsi que de sa faible capacité à transporter l'O₂ et son instabilité dans le milieu sanguin. (65,81,82). Un autre produit toujours utilisé de nos jours est le Perftoran[®], développé par l'Académie Russe des Sciences (Russie) en 1996. (81,83) Il est composé de l'émulsifiant Proxanol-268 (6,5%), de PFD (12%) et de perfluorométhylcyclohexylpiperidine (3%). (60,83) Le mélange est conservé à l'état congelé, il est stable à +4°C jusqu'à 2 semaines après décongélation. La même année il est commercialisé en Russie puis en Ukraine et au Kazakhstan et ses indications sont diverses. Puis en 2005 il est commercialisé au Mexique sous le nom Perftec[®] mais il est suspendu en 2010 à cause d'un non-respect des BPF. La production est suspendue en 2011 mais le médicament est toujours autorisé en Russie. (83) Après avoir racheté les droits d'exploitation sur le médicament, le Perftoran[®] est rebaptisé Vidaphor[®] par FluorO₂ Therapeutics (Etats-Unis) et la production reprend selon les BPF en vue d'obtenir l'approbation de la FDA. (83)

La seconde génération comporte les PFD, les (perfluorobutyl) éthylènes (PFBE) et aussi des PFC substitués par des atomes de Br (brome) : les perfluorooctyl-bromures (PFOB) et les perfluorodecylbromures (PFDB). Leur capacité de transport de l'O₂ est plus élevée et leur excrétion pulmonaire est plus rapide avec une rétention tissulaire plus basse que la première génération. (8,81) La seconde génération comporte deux produits principaux : Oxygent[®] et Oxycyte[®]. D'abord Oxygent[®] est développé par Alliance Pharmaceutical (Etats-Unis) vers 1991 : l'émulsion est composée de PFOB (58%) et de PFDB (2%) émulsifiés par des phospholipides de jaune d'œuf. (60,81,82) Bien que des résultats encourageants sont obtenus dans le cadre d'une étude de phase III en chirurgie cardiaque en Europe, la survenue d'effets indésirables (risque accru d'AVC et thrombocytopenie légère) met un coup d'arrêt au développement du produit. (81) Ensuite Oxycyte[®] est développé vers 2004 par la société Synthetic Blood International (Etats-Unis) : l'émulsion est composée de perfluorotertbutylcyclohexane (60%) émulsifiée par des phospholipides de jaune d'œuf. (60,81) Après une étude de phase II sur des patients souffrant de lésions cérébrales traumatiques dont les résultats n'ont pas été publiés (ID. NCT03463551), le développement du produit est suspendu suite à la survenue d'effets indésirables du même type que ceux obtenus chez Oxygent[®] lors d'une autre étude (risque accru d'AVC). (81)

3.7. Globules rouges issus de culture cellulaire

Une autre stratégie pour aboutir un substitut érythrocytaire d'origine artificielle est de créer des globules rouges en faisant de la culture cellulaire. Le principe général de culture des érythrocytes *in vitro* se compose d'une étape de prolifération des cellules progénitrices avec de l'IL-3 (interleukine-3) et du SCF (facteur de stimulation des colonies) puis avec de l'EPO et du SCF ; suivie d'une étape de différenciation des érythroblastes en réticulocytes avec de l'EPO. (84,85) Actuellement la culture *in vitro* des globules rouges repose sur deux approches principales : les cellules souches et l'immortalisation des cellules érythroïdes. (11)

Concernant l'utilisation des cellules souches : plusieurs types de cellules souches sont utilisés pour cultiver des globules rouges : les cellules souches hématopoïétiques (CSH) ; les cellules souches embryonnaires (CSE) d'origine humaine ; et plus récemment les cellules souches pluripotentes induites (CSPi) et les lignées cellulaires immortalisées au stade de l'érythroblaste adulte. Les CSH détaillées en section 1.4

présentent une problématique : leur capacité de prolifération est limitée ce qui conduit à un rendement faible et donc une utilisation difficile en milieu clinique. (86) Ensuite les CSE d'origine humaine ont des capacités de prolifération illimitées et elles peuvent former toutes les cellules du corps, y compris les cellules sanguines : on les appelle également cellules souches pluripotentes. Cependant les CSE présentent plusieurs inconvénients : d'une part un très faible degré d'énucléation et une très faible expression d'hémoglobine adulte, d'autre part des questions éthiques car le prélèvement de ces cellules nécessite la destruction d'un embryon (une vie humaine potentielle). Ensuite les CSPi sont initialement des cellules adultes différenciées mais qui sont « reprogrammées » en leur incorporant des gènes de pluripotence que l'on retrouve chez les CSE (c-MYC, OCT3, OCT4, SOX2, Klf4, LIN28, NANOG) : on appelle cette modification génétique la transduction rétrovirale (un vecteur viral permet de transférer le matériel génétique au génome de la cellule cible). Les CSPi ne font pas l'objet de questions éthiques car ce sont des cellules issues d'un adulte. Cependant elles présentent le même inconvénient que les CSE : un très faible degré d'énucléation et une très faible expression d'hémoglobine adulte. Un autre inconvénient est que le génome des CSPi a subi des modifications épigénétiques (ce qui n'est pas le cas pour les CSE). (11,12,86)

Concernant leur utilisation en clinique, seuls deux essais cliniques étudient l'utilisation des globules rouges cultivés *in vitro* à partir de cellules souches. D'abord en 2011 où la preuve du concept est réalisée en France dans le cadre d'une étude évaluant la durée de vie des globules rouges de culture autologues générés à partir de CSH de sang périphérique. Une solution de 1 mL avec 5×10^9 globules rouges est obtenue puis les globules rouges sont radiomarqués au ^{51}Cr . La solution est ensuite transfusée au volontaire sain. Bien que seul un individu ait participé à l'étude et que les CSH utilisées pour la culture et la transfusion soient autologues, les globules rouges transfusés ont une demi-vie circulatoire de 26 jours et aucun effet indésirable n'est rapporté. (85–87)

Ensuite en 2021, un essai clinique nommé RESTORE (*Recovery and Survival of Stem Cell Originated Red Cells*) débute au Royaume-Uni (ID. ISRCTN 42886452). Cet essai clinique de phase I, croisé, randomisé, contrôlé, monocentrique (fait à Addenbrooke's Hospital, Cambridge, UK), en simple aveugle sur 15 volontaires sains. L'objectif est d'évaluer la sécurité et la survie d'une transfusion de mini-dose de globules rouges (10 mL) dérivés de cellules CD34+ isolées à partir de sang adulte par rapport à des globules rouges standards provenant de dons. (85,88) La sécurité est évaluée par la détection sérologique de nouveaux allo-anticorps dirigés contre les globules rouges standards et / ou les globules rouges artificiels fabriqués 120 jours après la première perfusion de globules rouges et jusqu'à 180 jours après la seconde perfusion de globules rouges ; et par la description de toutes les réactions indésirables graves survenues entre le jour de la perfusion des globules rouges et 180 jours après la seconde perfusion de globules rouges. La survie des globules rouges est mesurée comme le temps nécessaire pour que 50% des globules rouges radiomarqués soient éliminés de la circulation (T50). Des échantillons de sang sont prélevés 5 - 7,5 - 10 - 12,5 - 15 - 30 - 60 minutes après la transfusion de globules rouges radiomarqués, puis 24 heures et les jours 2 - 3 - 7 - 14 - 21 - 28 - 35 - 42 - 49 - 75 - 100 - 120. Un objectif secondaire en lien avec la survie des globules rouges est évalué : la récupération (ou « *recovery* ») post-transfusionnelle des globules rouges à 24 heures, mesurée en calculant la proportion de globules rouges perfusés qui restent dans la circulation 24 heures après la perfusion. L'inclusion se termine le 30/09/2023 et les résultats sont attendus pour le 30/03/2025. Si les résultats sont concluants, l'étude suivante sera la vérification de la sécurité du produit avec une escalade de dose. (88)

L'autre approche pour obtenir des globules rouges issus de la culture cellulaire est l'immortalisation d'une lignée cellulaire érythroïde. Celle-ci peut se faire de deux manières différentes : soit avec une modification du génome de la cellule, dans ce cas l'immortalisation se base sur les propriétés du papillomavirus humain (HPV) ; soit avec une modification exogène d'expression des gènes de la cellule, dans ce cas on cible des gènes impliqués dans les activités de prolifération et d'auto-renouvellement de la cellule. (11)

L'immortalisation des lignées cellulaires érythroïdes basée sur HPV repose sur les propriétés oncogéniques de HPV 16 et HPV 18 qui sont associées à l'apparition de nombreux cancers génitaux et oro-pharyngés. Leur oncogénicité s'explique par l'activité des oncoprotéines virales E6 et E7 qui sont capables de favoriser la progression du cycle cellulaire, la croissance et la prolifération cellulaire en inhibant les gènes suppresseurs de tumeurs codant pour les protéines p53 et pRB (protéine du rétinoblastome). La modification génétique se fait de la même manière que pour les CSPi : elle nécessite un vecteur viral pour transfecter aux cellules cibles les gènes codant pour les protéines E6 et E7 ainsi qu'un inducteur du vecteur viral : la tétracycline ou la doxycycline. Ensuite l'immortalisation des lignées cellulaires érythroïdes basée sur la modification exogène d'expression des gènes cellulaires se focalise sur de nombreux gènes : c-MYC, BCL-XL, OCT4, SOX2, KLF4, SPI-1, shRNA anti-p53. Le point commun de ces gènes est leur implication dans les activités de prolifération et d'auto-renouvellement de la cellule. Bien que la culture cellulaire par ces méthodes donne de bons résultats, le taux d'énucléation trop bas (moins de 40% pour les études existantes) reste encore une limite considérable. De plus aucun essai clinique n'a débuté avec des globules rouges issus d'une culture cellulaire immortalisée par ces méthodes. (11)

4. Etude de l'acceptation des substituts par le grand public

4.1. Méthodologie

4.1.1. Participants

La conception de l'étude a pour but d'évaluer chez un public averti : le niveau de connaissance général dans le domaine d'étude, la perception de plusieurs substituts érythrocytaires d'origine artificielle sur plusieurs dimensions (le risque, l'efficacité théorique et l'éthique) en comparaison au don de sang total et la perception de ces mêmes produits du point de vue de leur acceptation dans un contexte d'urgence.

L'inclusion des participants se fait durant le *Blood Donor Day*, un événement annuel organisé le 31 mai 2022 au sein de l'établissement MacoPharma à Tourcoing (France). L'événement a pour objectif de promouvoir le don de sang. L'inclusion durant cet événement a un intérêt car l'échantillon cible est majoritairement un public sensibilisé au contexte du don de sang : d'une part ce sont des personnes travaillant pour une industrie de santé spécialisée dans les produits de santé pour la transfusion sanguine, d'autre part ce sont des personnes qui donnent leur sang.

Les participants sont interrogés durant l'étape de repos et de prise de collation qui fait suite au don de sang. La collecte des réponses se fait à l'aide d'un questionnaire décliné en 2 formats : papier (une page A4 recto-verso) et électronique (*Google Forms*). Chaque participant remplit soit le questionnaire papier (disponible en **Annexe 1: Questionnaire papier**), soit le questionnaire électronique (disponible en **Annexe 2: Questionnaire électronique**).

4.1.2. Questionnaire

Le questionnaire se compose de 4 parties distinctes : les informations relatives au répondant ; les informations relatives à l'état des connaissances du répondant concernant le sujet étudié, c'est-à-dire le sang, les produits sanguins et leurs substituts ; les informations concernant l'avis du répondant sur le risque, l'efficacité théorique et l'éthique associés aux substituts érythrocytaires d'origine artificielle comparés au don de sang ; et les informations sur l'acceptation générale des substituts érythrocytaires d'origine artificielle.

Le questionnaire ne fait pas l'objet d'une déclaration à la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL) car il est anonyme, les données personnelles collectées sont limitées au genre, à l'âge, au niveau d'études et au nombre de dons et ne permettent en aucun cas d'établir l'identité du répondant. Les personnes répondent de manière volontaire au questionnaire et aucune rémunération ne leur est versée.

4.1.2.1. Informations de l'échantillon étudié

La première partie du questionnaire s'intéresse aux données qui permettent de vérifier si l'échantillon étudié est représentatif de la population : le genre et l'âge sont collectés. Le niveau d'étude est également collecté afin de vérifier que le niveau de connaissance général sur le don de sang et les produits sanguins (c'est-à-dire la seconde partie du questionnaire) ne dépend pas du niveau d'études. Enfin le nombre de dons de sang sur les cinq dernières années est collecté pour vérifier si l'échantillon étudié correspond réellement à un public sensibilisé au don de sang.

4.1.2.2. Evaluation du niveau de connaissance général

La seconde partie du questionnaire s'intéresse au niveau de connaissance général concernant les domaines de la physiologie sanguine, du don de sang, de la transfusion sanguine et des produits sanguins d'origine artificielle.

Le moyen d'étude est l'utilisation d'un ensemble de 5 questions fermées à choix binaire (oui / non) qui permettent d'obtenir un score sur 5 points : un score de 0 point traduit une absence de connaissance du sujet et un score de 5 points traduit une excellente connaissance du sujet. Ce score permet d'identifier la présence de biais de jugement liés à la méconnaissance du sujet pouvant impacter les opinions étudiées dans la troisième et la quatrième partie du questionnaire.

Ensuite, un regroupement est effectué pour obtenir 2 variables à 2 modalités. Le niveau d'étude a les modalités suivantes : d'une part « études supérieures » (qui regroupe « BAC +2 / +3 », « BAC +4 / +5 », « > BAC +5 »), d'autre part « pas d'études supérieures » (qui regroupe « Sans diplôme », « Brevet », « CAP / BEP », « BAC »). Le niveau de connaissance a les modalités suivantes : d'une part « important » (qui regroupe « 3 points », « 4 points », « 5 points »), d'autre part « faible » (qui regroupe « 0 point », « 1 point », « 2 points »). Le regroupement des modalités des 2 variables permet de vérifier l'influence des études supérieures sur le niveau de connaissances. L'hypothèse est que le fait d'avoir fait des études supérieures entraîne une connaissance plus importante du sujet d'étude, une vision plus complexe et « positive » des substituts érythrocytaires d'origine artificielle, c'est-à-dire plutôt orientée sur les bénéfices et l'éthique que sur les risques concernant les substituts érythrocytaires artificiels.

Enfin, les affirmations proposées dans cette partie participent à l'éducation en santé de la population (l'un des rôles du pharmacien) en apportant des informations de santé au public interrogé.

4.1.2.3. Evaluation de la perception du risque, de l'efficacité théorique et de l'éthique

La troisième partie du questionnaire expose 4 types de substituts érythrocytaires d'origine artificielle : les substituts d'origine chimique, les substituts issus de la culture bactérienne, les substituts issus de *Arenicola marina* et les globules rouges issus de cellules souches. La présentation de ces produits a pour objectif d'apporter des informations aux répondants concernant l'existence de ces produits. La description comporte une contrainte : il est nécessaire d'expliquer succinctement et objectivement les différents substituts sanguins avec des mots simples car l'enquête est destinée à un public averti mais non expert du domaine d'étude.

Ensuite, le questionnaire recueille la perception des répondants concernant ces mêmes produits sur plusieurs dimensions (le risque, l'efficacité théorique et l'éthique) en comparaison au don de sang total : ce sont les objectifs secondaires de l'étude. L'outil utilisé est l'échelle de Likert à 7 niveaux. Le questionnaire demande aux participants d'évaluer pour le don de sang et pour chaque substitut sanguin leur perception concernant le risque (1 : pas risqué du tout ; 7 : extrêmement risqué), l'efficacité théorique (1 : inefficace ; 7 : très efficace) et l'éthique (1 : pas du tout éthique ; 7 : extrêmement éthique) associés à ces produits.

4.1.2.4. Evaluation de l'acceptation globale

La quatrième partie du questionnaire comporte l'objectif principal : évaluer l'acceptation de plusieurs substituts érythrocytaires d'origine artificielle dans un contexte d'urgence. Le moyen d'étude est l'utilisation d'une question fermée à choix binaire (oui / non) pour chaque substitut érythrocytaire d'origine artificielle. Cela permet d'obtenir un avis final et global des répondants sur l'acceptation car la question principale est posée après la description des produits et l'évaluation du risque, de l'efficacité théorique et de l'éthique. La conception de l'étude et les résultats sont disponibles dans la **Figure 15**.

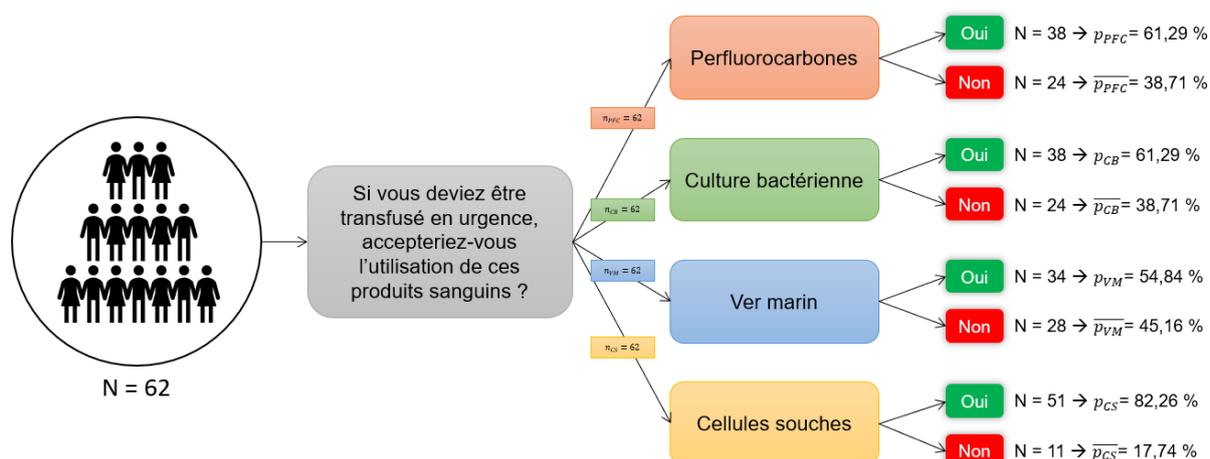


Figure 15 : Logigramme de l'étude sur l'acceptation des substituts érythrocytaires d'origine artificielle par le grand public

Pour des raisons de contextualisation, l'objectif principal de l'étude apparaît à la suite des questions étudiant les objectifs secondaires, c'est-à-dire dans la troisième section du questionnaire. La quatrième section du questionnaire est dédiée aux commentaires des répondants. Elle prend la forme d'une question ouverte invitant les participants à faire part de leurs remarques. Cette question sert principalement à compléter la discussion des résultats obtenus.

4.1.3. Analyse des données

Dans la première partie, la moyenne et l'écart-type sont utilisés.

Dans la seconde partie, la moyenne et l'écart-type sont utilisés ainsi que des proportions. Un test d'indépendance du χ^2 est réalisé avec utilisation du coefficient χ^2 de Pearson, du coefficient χ^2 de Yates, et des coefficients d'association Φ (Phi) et le V de Cramer. Enfin un test exact de Fisher unilatéral est réalisé.

Dans la troisième partie, la moyenne et l'écart-type sont utilisés. Pour chaque perception étudiée (risque, efficacité théorique, éthique), un test de Fisher Snédécour sur échantillons appariés précédé par un test de Mauchly sur la sphéricité et complété par une analyse post-hoc sont réalisés avec utilisation du rapport F, du coefficient W (Mauchly), et du coefficient t (Student) respectivement.

Dans la quatrième partie, l'acceptation globale de chaque substitut érythrocytaire d'origine artificielle est comparée aux autres produits à l'aide du test du χ^2 de Mc Nemar avec l'utilisation du coefficient χ^2 de Mc Nemar.

Les analyses statistiques sont faites avec le logiciel Jamovi version 2.3 (The jamovi project, Sydney, Australie). Pour tous les tests effectués, une probabilité $p < 0,05$ est considérée comme statistiquement significative. L'ensemble des analyses statistiques sont détaillées en **Annexe 4: Analyse statistique**.

4.2. Résultats

4.2.1. Informations générales

Concernant le questionnaire : 44 personnes ont répondu sur le questionnaire électronique (69,8%) et 19 personnes ont répondu sur le questionnaire papier (30,2%) soit un total de 63 répondants.

Concernant le sexe et l'âge des répondants : il y a 41 femmes (65,1%) et 22 hommes (34,9%). L'âge des répondants est compris entre 20 et 75 ans avec un âge moyen de $36,5 \pm 11,8$ ans. L'âge moyen chez les femmes est de $37,2 \pm 10,7$ ans avec un âge minimal de 20 ans et un âge maximal de 60 ans. L'âge moyen chez les hommes est de $35,1 \pm 13,8$ ans avec un âge minimal de 20 ans et un âge maximal de 75 ans.

Concernant le niveau d'études : 1 répondant (1,6%) est sans diplôme, 1 répondant (1,6%) a un niveau d'étude équivalent au Brevet, 4 répondants (6,3%) ont un niveau d'étude équivalent au CAP (certificat d'aptitude professionnelle) ou au BEP (brevet d'études professionnelles), 11 répondants (17,5%) ont un niveau équivalent au BAC (baccalauréat), 11 répondants (17,5%) ont un niveau équivalent à un BAC +2 ou +3 ans, 24 répondants (38,1%) ont un niveau équivalent à un BAC +4 ou +5 ans, 11 répondants (17,5%) ont un niveau supérieur à un équivalent BAC +5 ans.

Concernant le nombre de dons de sang total sur les 5 dernières années : 2 répondants (10,5%) n'ont pas donné leur sang ces 5 dernières années, 6 répondants (31,6%) ont donné leur sang entre 2 et 5 fois ces 5 dernières années, 8 répondants (42,1%) ont donné leur sang entre 6 et 10 fois ces 5 dernières années, 3 répondants (15,8%) ont donné leur sang 11 fois ou plus ces 5 dernières années. D'un point de vue général, 17 répondants (89,5%) sur 19 avaient donné leur sang durant les 5 dernières années. Il est à noter que les répondants du questionnaire électronique ($n = 44$) n'ont pas pu répondre à cette question car elle a été oubliée lors de la création du questionnaire électronique. Seuls les répondants sur questionnaire papier ($n = 19$) ont répondu à cette question.

Le **Tableau 4** résume l'ensemble des données de l'échantillon étudié. Les résultats bruts sont disponibles en **Annexe 3: Données brutes** (colonnes n°1-4).

Tableau 4 : Caractéristiques sociodémographiques de l'échantillon étudié (n = 63)

Caractéristique	Femme (n = 41)	Homme (n = 22)	Total (n = 63)
Format du questionnaire			
Electronique	31 (49,2%)	13 (20,6%)	44 (69,8%)
Papier	10 (15,9%)	9 (14,3%)	19 (30,2%)
Âge (M ± SD)	37,2 ± 10,7	35,1 ± 13,8	36,5 ± 11,8
Niveau d'études ¹			
Sans diplôme	1 (1,6%)	-	1 (1,6%)
Brevet	1 (1,6%)	-	1 (1,6%)
CAP / BEP	4 (6,3%)	-	4 (6,3%)
BAC	9 (14,3%)	2 (3,2%)	11 (17,5%)
BAC +2 / +3	8 (12,7%)	3 (4,8%)	11 (17,5%)
BAC +4 / +5	11 (17,5%)	13 (20,6%)	24 (38,1%)
> BAC +5	7 (11,1%)	4 (6,3%)	11 (17,5%)
Dons de sang total (5 dernières années) ²			
Jamais	1 (5,3%)	1 (5,3%)	2 (10,5%)
2 à 5 fois	5 (26,3%)	1 (5,3%)	6 (31,6%)
6 à 10 fois	4 (21,1%)	4 (21,1%)	8 (42,1%)
11 fois ou plus	-	3 (15,8%)	3 (15,8%)

Légende : ¹ Les totaux des pourcentages sont légèrement supérieurs à 100% à cause des arrondis.

² Pour le nombre de dons de sang total sur les 5 dernières années, le nombre de sujets est de n = 10 pour les femmes, n = 9 pour les hommes, avec un total n = 19 ; M = moyenne ; SD = écart-type.

4.2.2. Niveau de connaissance général

Concernant le niveau de connaissance général : le score moyen obtenu est de $3,8 \pm 1,2$ points. Les répondants ont un niveau de connaissance du sujet d'étude important : 85,8% des répondants ont obtenu 3 points ou plus alors que 14,2% des répondants ont obtenu un score de 2 points ou moins. Parmi les répondants : 1 répondant (1,6%) a un score de 0 point, 3 répondants (4,8%) ont un score de 1 point, 5 répondants (7,9%) ont un score de 2 points, 8 répondants (14,3%) ont un score de 3 points, 27 répondants (42,9%) ont un score de 4 points et 18 répondants (28,6%) ont un score de 5 points.

La répartition des scores obtenus par les participants est représentée en **Figure 16**.

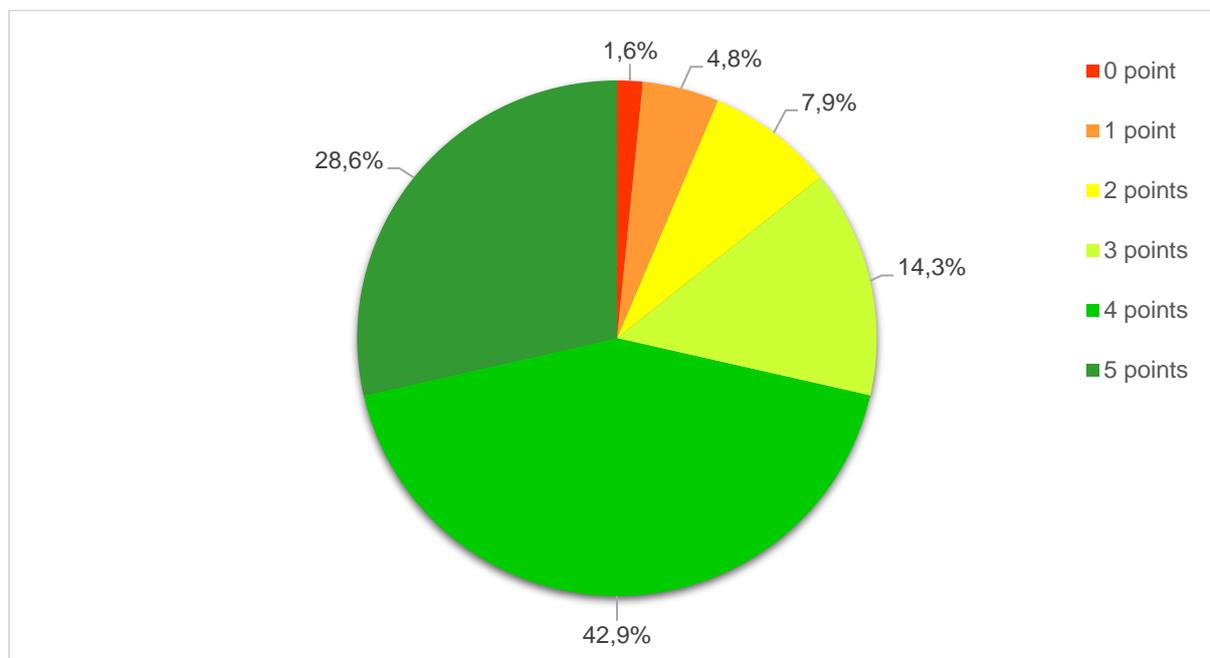


Figure 16 : Répartition des scores obtenus pour le niveau de connaissance général ¹ (n = 63)

Légende : ¹ Les totaux des pourcentages sont légèrement supérieurs à 100% à cause des arrondis.

Concernant le score obtenu en fonction du niveau d'étude : la répartition des scores obtenus par les participants en fonction de leur niveau d'étude est représentée dans le **Tableau 5**.

Les résultats bruts sont disponibles en **Annexe 3: Données brutes** (colonnes n°5-9).

Tableau 5 : Répartition des scores associés au niveau de connaissance par catégorie de niveau d'études (n = 63)

Niveau d'études	Niveau de connaissance					
	0 point	1 point	2 points	3 points	4 points	5 points
Sans diplôme	-	-	1 (1,6%)	-	-	-
Brevet	-	-	-	-	1 (1,6%)	-
CAP / BEP	1 (1,6%)	-	-	1 (1,6%)	1 (1,6%)	1 (1,6%)
BAC	-	3 (4,8%)	2 (3,2%)	2 (3,2%)	2 (3,2%)	2 (3,2%)
BAC +2 / +3	-	-	2 (3,2%)	3 (4,8%)	4 (6,3%)	2 (3,2%)
BAC +4 / +5	-	-	-	1 (1,6%)	15 (23,8%)	8 (12,7%)
> BAC +5	-	-	-	2 (3,2%)	4 (6,3%)	5 (7,9%)
Total	1 (1,6%)	3 (4,8%)	5 (7,9%)	8 (14,3%)	27 (42,9%)	18 (28,6%)

Afin de vérifier si le niveau d'étude et le niveau de connaissance sont des variables indépendantes (c'est-à-dire que la proportion de répondants ayant un niveau de connaissance important est la même quel que soit le niveau d'études), un test d'indépendance du χ^2 est réalisé. Un regroupement des modalités de chaque variable est effectué, le résultat du regroupement est disponible dans le tableau de contingence ci-dessous (**Tableau 6**).

Les données relatives aux tests statistiques sont disponibles en **Annexe 4: Analyse statistique**.

Tableau 6 : Tableau de contingence des effectifs par niveau de connaissance et par niveau d'études (n = 63)

Niveau de connaissance	Etudes supérieures	Pas d'études supérieures	Total
Important	44 (39,43 ; 0,53)	10 (14,57 ; 1,43)	54
Faible	2 (6,57 ; 3,18)	7 (2,43 ; 8,61)	9
Total	46	17	63

Légende : **effectif observé** (effectif théorique ; coefficient χ^2 par cellule)

Le test d'indépendance du χ^2 donne le résultat suivant : $\chi^2_{(1)} \text{ Pearson} = 13,75$ ($p < 0,001$). Ce résultat est confirmé par la correction de continuité du χ^2 : $\chi^2_{(1)} \text{ Yates} = 10,91$ ($p < 0,001$) et par le test exact de Fisher ($p < 0,001$), ce qui suggère qu'il y a une relation statistiquement significative entre le niveau d'études et le niveau de connaissance des répondants concernant le sujet d'étude.

Concernant les cellules ayant une valeur du coefficient $\chi^2 > 0,99$: le nombre de répondants n'ayant pas fait des études supérieures avec un niveau de connaissance faible est significativement plus important qu'attendu. A l'inverse, le nombre de répondants ayant fait des études supérieures avec un niveau de connaissance faible est significativement moins important qu'attendu. Il en est de même pour les répondants n'ayant pas fait des études supérieures avec un niveau de connaissance important.

Concernant la taille de l'effet : utilisation du V de Cramer ($0 \leq V \leq 1$) : $V = 0,47$. Cette mesure d'association nous indique une relation de magnitude moyenne à forte ($0,3 \leq V \leq 0,5$) (89–91) entre le niveau d'études et le niveau de connaissance des répondants concernant le sujet d'étude, ce qui conforte l'association obtenue précédemment.

4.2.3. Evaluation de la perception des dimensions risque, efficacité théorique et éthique

Le score moyen obtenu pour le risque, l'efficacité théorique et l'éthique de chaque produit sanguin est représenté en **Figure 17**. Un homme n'a pas répondu à l'évaluation de l'éthique.

Les résultats bruts sont disponibles en **Annexe 3: Données brutes** (colonnes n°10-14 pour le risque, colonnes n°15-19 pour l'efficacité théorique, colonnes n°20-24 pour l'éthique).

Pour démontrer l'existence de différences significatives entre les scores moyens associés à chaque produit sanguin (c'est-à-dire pour l'évaluation de la perception du risque, de l'efficacité théorique et de l'éthique), des tests ANOVA à un facteur pour mesures appariées sont réalisés accompagnés des analyses post-hoc avec test t pour échantillons appariés.

Les données relatives aux tests statistiques sont disponibles en **Annexe 4: Analyse statistique**.

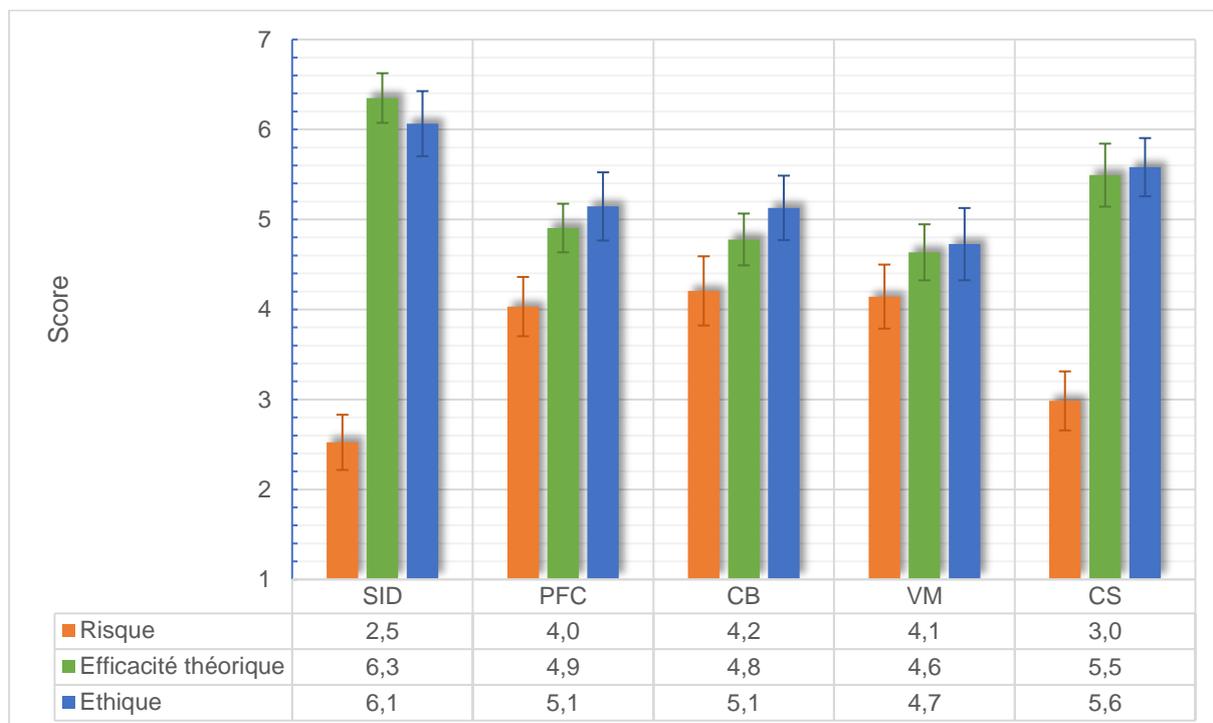


Figure 17 : Score moyen obtenu pour le risque (n = 63), l'efficacité théorique (n = 63) et l'éthique (n = 62)

Légende : SID = sang issu de don ; PFC = perfluorocarbone ; CB = culture bactérienne ; VM = ver marin ; CS = cellule souche. Les barres d'erreur correspondent à ± 2 SEM (erreur standard à la moyenne). Pour le risque : Un score de 1 correspond à « pas risqué du tout » et un score de 7 correspond à « extrêmement risqué ». Pour l'efficacité théorique : Un score de 1 correspond à « inefficace » et un score de 7 correspond à « très efficace ». Pour l'éthique : un score de 1 correspond à « pas du tout éthique » et un score de 7 correspond à « extrêmement éthique ».

4.2.3.1. Perception du risque

Concernant la perception du risque : le score moyen obtenu est de $2,5 \pm 1,2$ points pour le sang issu de don (SID) ; $4,0 \pm 1,3$ points pour les perfluorocarbones (PFC) ; $4,2 \pm 1,5$ points pour l'hémoglobine issue de la culture bactérienne (CB) ; $4,1 \pm 1,3$ points pour l'hémoglobine issue de ver marin (VM) ; $3,0 \pm 1,3$ points pour les globules rouges issus de cellules souches (CS).

L'analyse ANOVA à un facteur (avec ajustement du F-ratio avec la correction de Huynh-Feldt) démontre un effet significatif du type de produit sanguin sur la perception du risque associée : $F(3,636 ; 225,457) = 31,819$ ($p < 0,001$).

Les tests post-hoc (avec ajustement de la p-value avec la correction de Tukey) confirment que SID et CS sont perçus comme significativement moins risqués que PFC ($p < 0,001$ pour SID et CS), que CB ($p < 0,001$ pour SID et CS) et que VM ($p < 0,001$ pour SID et CS). Cependant, il n'y a pas de différence de perception du risque entre SID et CS ($p > 0,05$), ni entre PFC et CB ($p > 0,05$), ni entre PFC et VM ($p > 0,05$) et entre CB et VM ($p > 0,05$).

Les résultats de l'analyse post-hoc sont disponibles dans la **Figure 18**.

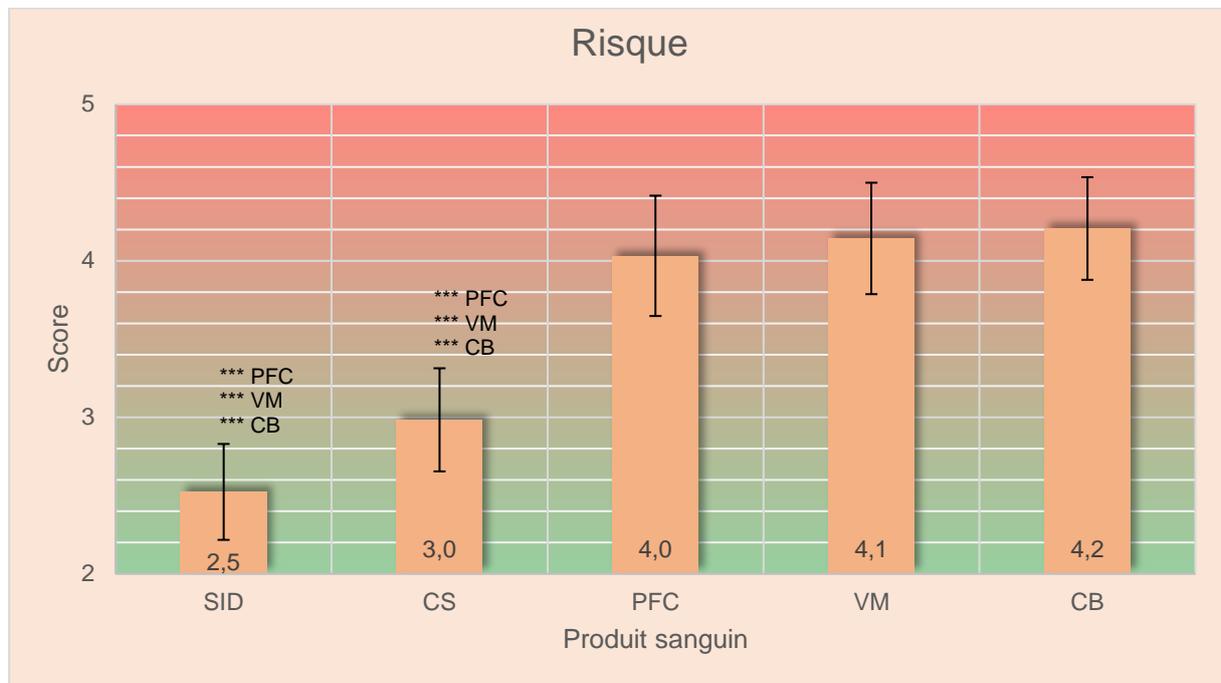


Figure 18 : Risque perçu en fonction des différents produits sanguins

Légende : SID = sang issu de don ; CS = cellule souche ; PFC = perfluorocarbone ; VM = ver marin ; CB = culture bactérienne ; *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$. Les barres d'erreur correspondent à ± 2 SEM (erreur standard à la moyenne). Un score de 1 correspond à « pas risqué du tout » et un score de 7 correspond à « extrêmement risqué » (n = 63).

4.2.3.2. Perception de l'efficacité théorique

Concernant la perception de l'efficacité théorique : le score moyen obtenu est de $6,3 \pm 1,1$ points pour le sang issu de don (SID) ; $4,9 \pm 1,1$ points pour les perfluorocarbone (PFC) ; $4,8 \pm 1,1$ points pour l'hémoglobine issue de la culture bactérienne (CB) ; $4,6 \pm 1,2$ points pour l'hémoglobine issue de ver marin (VM) ; $5,5 \pm 1,4$ points pour les globules rouges issus de cellules souches (CS).

L'analyse ANOVA à un facteur (avec ajustement du F-ratio avec la correction de Huynh-Feldt) démontre un effet significatif du type de produit sanguin sur la perception de l'efficacité théorique associée : $F(3,420 ; 212,030) = 41,947$ ($p < 0,001$).

Les tests post-hoc (avec ajustement de la p-value avec la correction de Tukey) confirment que SID et CS sont perçus comme significativement plus efficaces que PFC ($p < 0,001$ pour SID ; $p < 0,01$ pour CS), que CB ($p < 0,001$ pour SID et CS) et que VM ($p < 0,001$ pour SID et CS). De plus, SID est perçu comme significativement plus efficace que CS ($p < 0,001$). Cependant, il n'y a pas de différence de perception de l'efficacité théorique entre PFC et CB ($p > 0,05$), ni entre PFC et VM ($p > 0,05$) et entre CB et VM ($p > 0,05$).

Les résultats de l'analyse post-hoc sont disponibles dans la **Figure 19**.

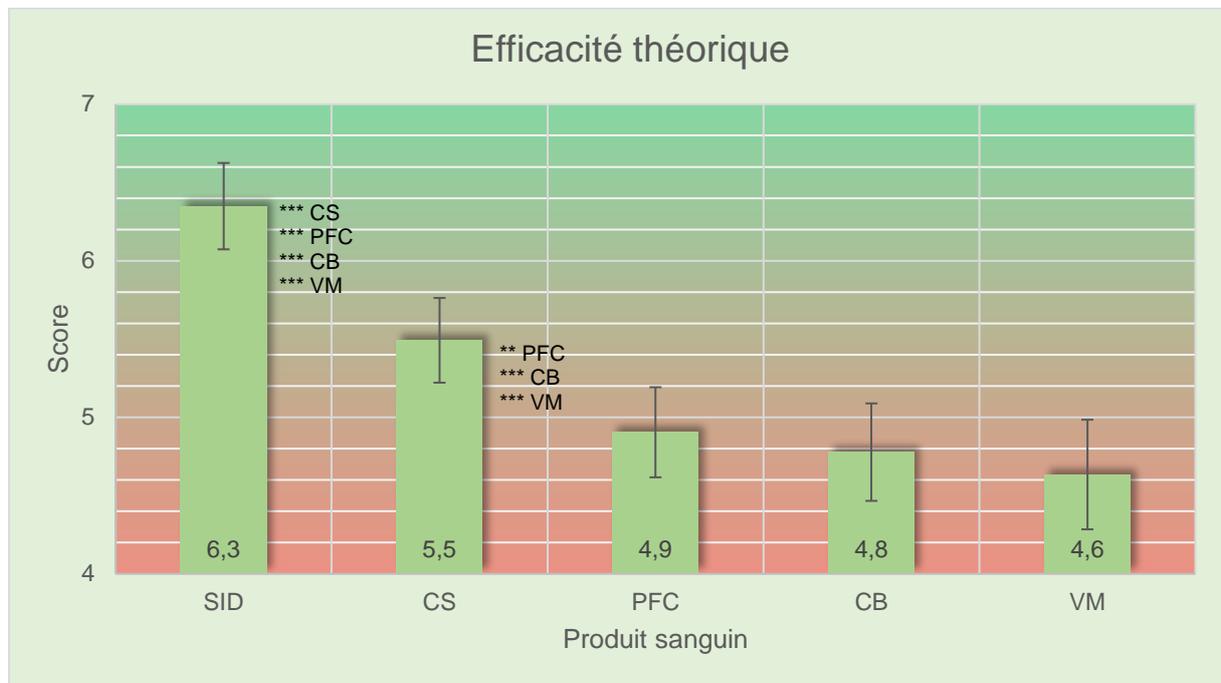


Figure 19 : Efficacité théorique perçue en fonction des différents produits sanguins

Légende : SID = sang issu de don ; CS = cellule souche ; PFC = perfluorocarbone ; CB = culture bactérienne ; VM = ver marin ; ** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ et $\alpha = 0,01$ mais pas sur $\alpha = 0,001$; *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$. Les barres d'erreur correspondent à ± 2 SEM (erreur standard à la moyenne). Un score de 1 correspond à « inefficace » et un score de 7 correspond à « très efficace » (n = 63).

4.2.3.3. Perception de l'éthique

Concernant la perception de l'éthique : le score moyen obtenu est de $6,1 \pm 1,4$ points pour le sang issu de don (SID) ; $5,1 \pm 1,5$ points pour les perfluorocarbones (PFC) ; $5,1 \pm 1,4$ points pour l'hémoglobine issue de la culture bactérienne (CB) ; $4,7 \pm 1,6$ points pour l'hémoglobine issue de ver marin (VM) ; $5,6 \pm 1,3$ points pour les globules rouges issus de cellules souches (CS).

L'analyse ANOVA à un facteur (avec ajustement du F-ratio avec la correction de Greenhouse-Geisser) démontre un effet significatif du type de produit sanguin sur la perception de l'éthique associée : $F(2,967 ; 181,009) = 16,110$ ($p < 0,001$).

Les tests post-hoc (avec ajustement de la p-value avec la correction de Tukey) confirment que SID est perçu comme significativement plus éthique que les autres produits sanguins ($p < 0,001$ pour PFC, CB et VM ; $p < 0,05$ pour CS). Bien que perçu comme moins éthique que SID, CS est perçu comme significativement plus éthique que CB ($p < 0,05$) et VM ($p < 0,001$). Cependant, il n'y a pas de différence de perception de l'éthique entre CS et PFC ($p > 0,05$), ni entre PFC et CB ($p > 0,05$), ni entre PFC et VM ($p > 0,05$) et entre CB et VM ($p > 0,05$).

Les résultats de l'analyse post-hoc sont disponibles dans la **Figure 20**.

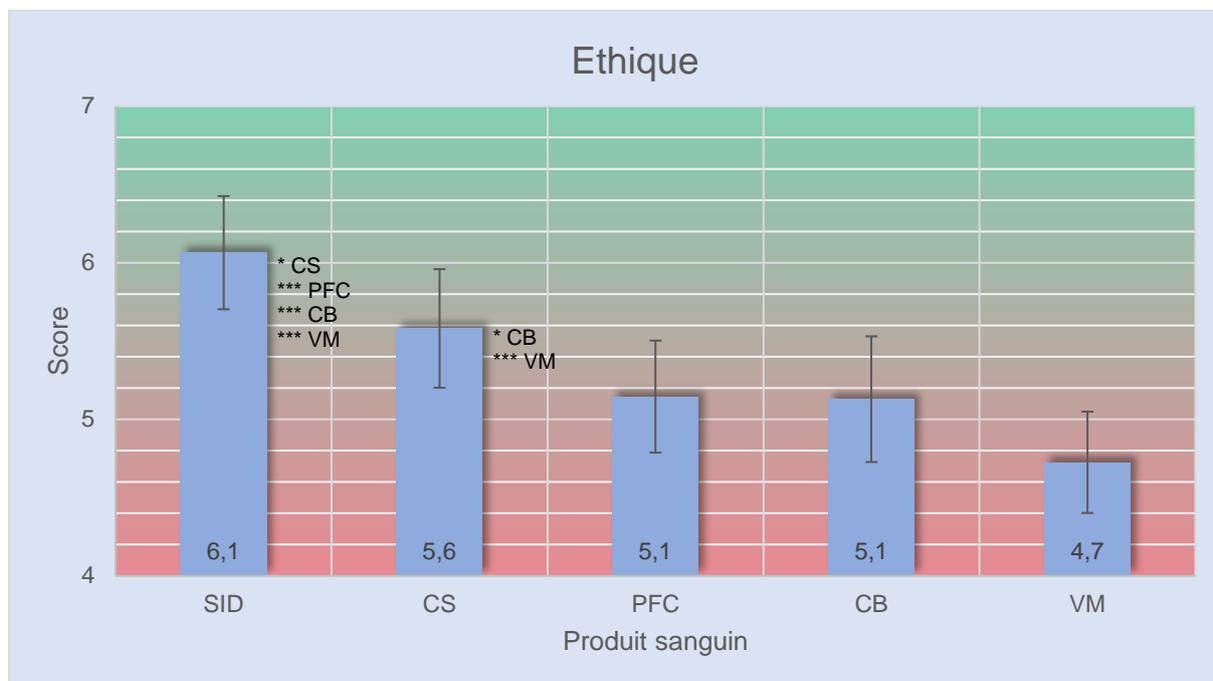


Figure 20 : Ethique perçue en fonction des différents produits sanguins

Légende : SID = sang issu de don ; CS = cellule souche ; PFC = perfluorocarbone ; CB = culture bactérienne ; VM = ver marin ; * = test significatif sur $\alpha = 0,05$ mais pas sur $\alpha = 0,01$ ou $\alpha = 0,001$; *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$. Les barres d'erreur correspondent à ± 2 SEM (erreur standard à la moyenne). Un score de 1 correspond à « pas du tout éthique » et un score de 7 correspond à « extrêmement éthique » (n = 62).

4.2.4. Evaluation de l'acceptation globale

Concernant le niveau d'acceptation globale : tous les substituts érythrocytaires d'origine artificielle ont reçu une majorité d'avis favorables. La proportion de répondants favorables à la transfusion des produits dépasse les 50% dans chaque cas. Un homme n'a pas répondu à la partie sur l'acceptation générale des substituts érythrocytaires d'origine artificielle (la personne estime faire confiance à son médecin).

Les probabilités d'acceptation pour chaque substitut érythrocytaire d'origine artificielle sont présentées en **Figure 21** et les résultats détaillés sont présentés en **Annexe 4: Analyse statistique**. Les résultats bruts sont disponibles en **Annexe 3: Données brutes** (colonnes n°25-28).

Afin de vérifier si l'acceptation globale dans un contexte de transfusion en urgence diffère selon le produit sanguin, le test de fréquence sur deux échantillons appariés est utilisé : le test du Khi^2 de Mc Nemar. Les données relatives aux tests statistiques sont disponible en **Annexe 4: Analyse statistique**. Les résultats des tests du Khi^2 de Mc Nemar sont détaillés dans le **Tableau 7**.

Le test de Mc Nemar (avec ajustement de la p-value avec la correction de Yates) confirme que l'acceptation globale des répondants pour les globules rouges issus de cellules souches est significativement plus importante que pour les perfluorocarbone ($p < 0,01$), l'hémoglobine issue de la culture bactérienne ($p < 0,01$) et l'hémoglobine issue de ver marin ($p < 0,01$). Cependant le test ne démontre pas de différence significative de l'acceptation globale des répondants entre les perfluorocarbone et l'hémoglobine issue de la culture bactérienne ($p > 0,05$), entre les perfluorocarbone et l'hémoglobine issue de ver marin ($p > 0,05$) et entre l'hémoglobine issue de la culture bactérienne et l'hémoglobine issue de ver marin ($p > 0,05$).

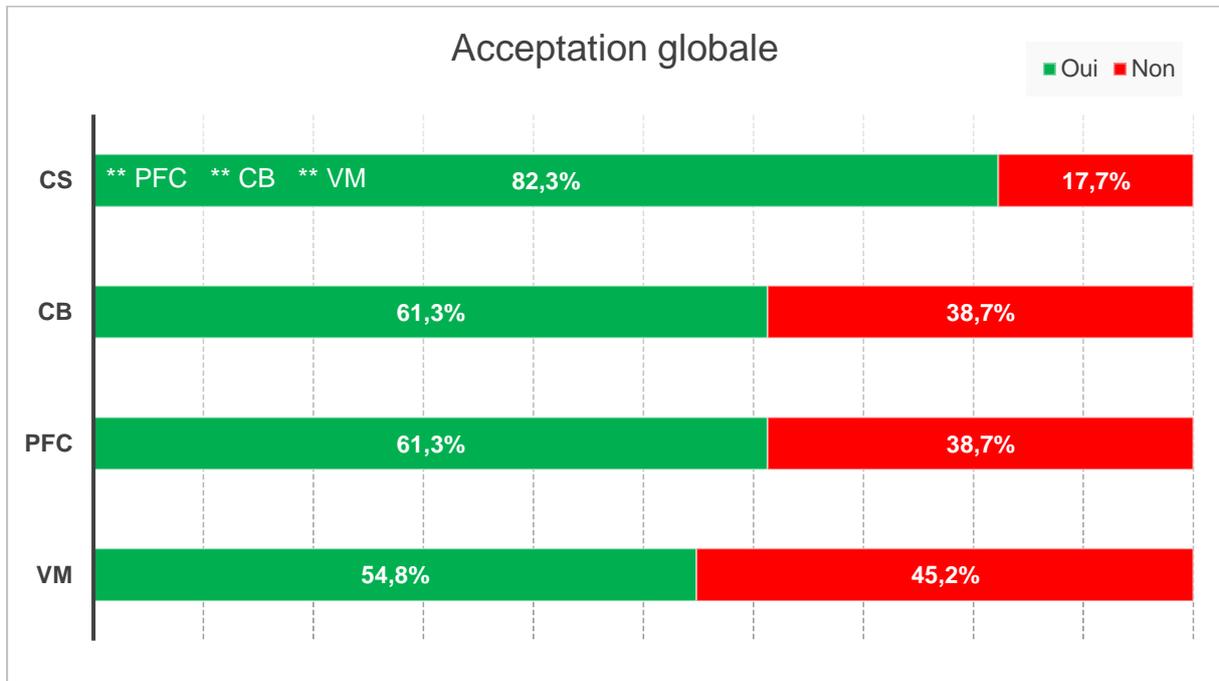


Figure 21 : Acceptation globale de chaque substitut érythrocytaire d'origine artificielle

Légende : $n_{CS} = n_{CB} = n_{PFC} = n_{VM} = 62$. CS = cellule souche ; CB = culture bactérienne ; PFC = perfluorocarbone ; VM = ver marin ; ** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ et sur $\alpha = 0,01$ mais pas sur $\alpha = 0,001$; *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$.

Tableau 7 : Résultats des tests du χ^2 de Mc Nemar sur l'acceptation des produits sanguins d'origine artificielle

Produit 1	Produit 2	DF	$\chi^2_{(1) Mc Nemar}$	p-value	$\chi^2_{(1) Mc Nemar Yates}$	p-value
CS	PFC	1	9,941	0,002**	8,471	0,004**
	CB	1	9,941	0,002**	8,471	0,004**
	VM	1	13,762	< 0,001***	12,190	0,001**
PFC	CB	1	0,000	1,000 NS	0,000	1,000 NS
	VM	1	1,000	0,317 NS	0,563	0,453 NS
CB	VM	1	1,143	0,285 NS	0,643	0,423 NS

Légende : CB = culture bactérienne ; CS = cellule souche ; DF = degré de liberté ; PFC = perfluorocarbone ; VM = ver marin ; NS = test non significatif ; ** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ et sur $\alpha = 0,01$ mais pas sur $\alpha = 0,001$; *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$ ($n = 62$).

5. Discussion

5.1. Acceptation par le grand public des substituts sanguins

L'enquête réalisée s'inspire des travaux effectués par Fleming et al. (2007) ainsi que Ferguson et al. (2008) dans le cadre du projet EuroBloodSubstitutes, un projet de recherche financé par la Commission Européenne et dont l'objectif est d'obtenir des informations des parties prenantes de la transfusion sanguine concernant l'introduction de substituts érythrocytaires d'origine artificielle. (92–94) Les substituts sanguins étudiés dans le cadre de cette thèse ne sont pas tous les mêmes que ceux étudiés dans le cadre de travaux précédents. Cependant ils permettent d'actualiser les connaissances concernant l'acceptation des substituts érythrocytaires : d'une part avec un nouveau pays étudié (la France) ; d'autre part avec de nouveaux produits (l'hémoglobine issue du ver marin *Arenicola marina* et les globules rouges issus de cellules souches).

5.1.1. Représentativité de l'échantillon

L'enquête comporte un biais volontaire : le lieu de l'étude. D'abord le lieu de l'étude influence le niveau de connaissance du domaine étudié : l'enquête se déroule à Tourcoing (France) au sein de l'entreprise MacoPharma dont l'activité principale est la fabrication de produits pour la transfusion sanguine. Elle est faite durant le *Blood Donor Day*, un événement qui invite les personnes à donner leur sang. Elle est réalisée durant la collation post-don. Les conditions de l'étude font que de manière générale, les répondants sont majoritairement salariés de l'entreprise MacoPharma et donnent leur sang. Par conséquent, ils connaissent les domaines du don de sang et de la transfusion sanguine et peuvent répondre de manière éclairée à l'étude.

Ensuite le lieu de l'étude influence la nationalité des répondants : les personnes interrogées sont pour la plupart de nationalité française. Cela permet de confronter les résultats obtenus sur un échantillon français par rapport aux études menées par Ferguson et al. (2005 ; 2008) et par Fleming et al. (2007) (93–95) sur des populations anglaises et néerlandaises à propos de l'acceptation des substituts érythrocytaires d'origine artificielle. L'histoire transfusionnelle de chaque pays influence grandement le regard des populations sur le domaine du don de sang et de la transfusion sanguine. La crise du sang contaminé en France et en Angleterre à la fin du XXe siècle entraîne des conséquences sur la perception des répondants sur le sujet.

Concernant les caractéristiques de l'échantillon : la taille de l'effectif n'est pas très importante (63 répondants) mais elle est suffisante ($n \geq 30$) pour réaliser une analyse statistique. L'âge moyen (36,5 ans) et l'étendue (entre 20 et 75 ans) sont cohérents par rapport à la population cible : les donneurs français ont entre 18 et 65 ans. La répartition des sexes (65,1% de femmes pour 34,9% d'hommes) s'explique par le fait que l'entreprise MacoPharma emploie beaucoup de femmes sur son site de production de Tourcoing. Sur les 5 dernières années, 89,5% des répondants ont donné au moins une fois leur sang ce qui confirme leur relation particulière avec le domaine d'étude et sans doute leur connaissance supérieure du don de sang et de la transfusion sanguine par rapport à la population générale. Enfin le niveau d'études des répondants n'est pas représentatif de la population générale car 90,6% des répondants ont un niveau au moins équivalent au BAC tandis que les données INSEE (Institut National de la Statistique et Etudes Economiques) présentent une part de bacheliers chez les 25-64 ans de 57,6%. (50) Cependant la non-représentativité de l'échantillon sur cet aspect

est utile car l'échantillon aura plus de probabilité d'avoir une bonne connaissance du domaine du don de sang et de la transfusion sanguine.

Un biais à l'étude est à noter concernant le format du questionnaire. Afin de simplifier la collecte des données, deux formats ont été proposés aux répondants : un format papier et un format électronique. Les répondants répondent soit via le format papier, soit via le format électronique. Après vérification aucune réponse ne fait l'objet d'un doublon. Cependant la question 4 de la partie 1 du questionnaire papier (voir **Annexe 1: Questionnaire papier**) ne figure pas dans le questionnaire électronique (voir **Annexe 2: Questionnaire électronique**). Cette erreur dans l'outil d'enquête ne remet pas en question l'objectif de l'étude. La question 4 de la partie 1 avait pour objectif de préciser le statut de donneur de sang ou non des répondants. Le faible nombre de répondants (n = 19) limite donc la conclusion de ce point.

5.1.2. Niveau de connaissance général

Les résultats obtenus concernant le niveau de connaissance général confirment les hypothèses formulées précédemment : les répondants ont une bonne connaissance du don de sang et de la transfusion sanguine (85,8% avec un score ≥ 3 sur 5) et il y a une association statistiquement significative ($\chi^2_{(1)} \text{ Yates} = 10,91$ avec $p < 0,001$) entre le niveau d'études et le niveau de connaissance général du domaine étudié.

Par conséquent, les réponses obtenues dans les sections suivantes sur la perception du risque, de l'efficacité théorique, de l'éthique et de l'acceptation globale des substituts érythrocytaires d'origine artificielle sont plus exploitables qu'avec des individus qui ne connaissent pas le domaine car elles leurs réponses sont éclairées par leur connaissance du don de sang et de la transfusion sanguine.

En ce qui concerne les questions choisies pour évaluer le niveau de connaissance général : d'abord leur choix est raisonnable par rapport au temps demandé au répondant. Les 5 questions sont faisables en 2 à 3 min et la réponse attendue est un oui ou non. En plus de renseigner sur le niveau de connaissance général, les questions permettent d'informer les répondants sur le sujet étudié et de contribuer à l'éducation en santé.

5.1.3. Risque perçu

Le risque est une notion qui présente de nombreuses définitions. Parmi elles, la *National Library of Medicine* définit le risque comme « la probabilité qu'un événement se produise et dont l'issue de cet événement est défavorable. » Dans le cadre de l'enquête, le risque peut se traduire pour le répondant comme l'incertitude et la perte de chance associée à la prise du produit sanguin.

Les travaux de Fleming et al. (2007) puis de Ferguson et al. (2008) confirment que les substituts érythrocytaires d'origine bovine sont perçus comme les plus risqués par un public de nationalités britannique et néerlandaise. (93,94) L'enquête réalisée dans le cadre de ma thèse ne vérifie pas les substituts érythrocytaires d'origine bovine cependant on observe une tendance similaire pour les produits qui ont une connotation « étrangère à l'humain ». C'est le cas pour les perfluorocarbones, l'hémoglobine issue de la culture bactérienne et l'hémoglobine issue de *Arenicola marina* : on observe une perception du risque plus importante pour ces types de substituts érythrocytaires. Cela peut s'expliquer par la tendance naturelle de l'être humain à préférer ou à être rassuré

par ce qui est associable à son espèce : on peut qualifier le phénomène de xénophobie éthologique.

Le fait de surestimer un produit endogène et de sous-estimer un produit exogène se confirme avec le sang issu de donneur et les globules rouges issus de cellules souches. D'abord le risque pour le sang issu de donneur est perçu par les répondants anglais comme « peu risqué » ($3,2 \pm 1,2$ points) (94), par les répondants britanniques et néerlandais comme « très peu risqué » ($2,3 \pm 0,1$ points) (93) et par les répondants français comme « très peu risqué » à « peu risqué » ($2,5 \pm 1,2$ points). Ensuite le risque pour les globules rouges issus de cellules souches est perçu par les répondants français comme « peu risqué » ($3,0 \pm 1,3$ points). On parle de produits qui proviennent du corps humain donc qui sont perçus comme moins risqués pour l'Homme qu'un produit exogène. Il est à noter cependant que les résultats obtenus pour les perfluorocarbones, l'hémoglobine issue de la culture bactérienne et l'hémoglobine issue de *Arenicola marina* tempèrent l'argument : avec un score moyen de risque à 4 points, les répondants ont plutôt une opinion neutre sur le risque associé à l'utilisation des produits exogènes.

Lorsque l'on compare les résultats obtenus avec ceux de Fleming et al. (2007) durant l'étude pilote sur 148 jeunes anglais donateurs de sang âgés de 18 à 25 ans, plusieurs résultats sont similaires. Concernant le risque perçu des perfluorocarbones, ceux-ci obtiennent $3,9 \pm 1,5$ points dans l'échantillon anglais contre $4,0 \pm 1,3$ points dans l'échantillon français. Ensuite l'hémoglobine recombinante (l'hémoglobine obtenue par culture bactérienne) obtient $4,0 \pm 1,3$ points dans l'échantillon anglais contre $4,2 \pm 1,5$ points dans l'échantillon français. Les perceptions du risque sont similaires quelle que soit la nationalité des personnes interrogées, on peut néanmoins raisonnablement penser qu'un score environ égal à la moyenne (4 sur 7) avec un outil tel que l'échelle de Likert (avec 1 point considéré comme « pas risqué du tout » et 7 points comme « extrêmement risqué ») correspond à une absence de réelle opinion chez les personnes interrogées. Cependant les répondants français notent le sang issu de don à $2,5 \pm 1,2$ points contre $3,2 \pm 1,2$ points pour les répondants anglais. (94) Cela peut s'expliquer par le retentissement de la maladie de Creutzfeldt-Jakob plus important sur le territoire anglais qui a causé un traumatisme chez les donateurs de sang anglais par rapport aux donateurs français qui n'ont pas été victimes d'un tel phénomène. Les écarts-types sont du même ordre, tout comme les échantillons qui sont de taille comparable. Les résultats des études de Fleming et al. (2007), de Ferguson et al. (2008) et de l'enquête de la thèse concernant la perception du risque sont présentés dans la **Figure 22**.

En comparant les résultats des perfluorocarbones par rapport à ceux obtenus par Ferguson et al. (2008) sur des donateurs britanniques et néerlandais : les donateurs français estiment le risque associé aux perfluorocarbones à $4,0 \pm 1,3$ points, tout comme les donateurs britanniques qui l'estiment à $4,4 \pm 0,09$ points, tandis que les donateurs néerlandais l'estiment à $2,1 \pm 0,08$ points. (93) Bien que l'écart-type obtenu soit plus important (dû à la taille réduite de l'échantillon des travaux de ma thèse par rapport aux travaux de Ferguson et al. (2008)), les résultats obtenus sont cohérents et démontrent un point de vue similaire entre les donateurs français et les donateurs britanniques sur les perfluorocarbones. En regardant les résultats obtenus indépendamment de la nationalité : le sang issu de don obtient un score similaire de $2,3 \pm 0,05$ points chez les donateurs britanniques et néerlandais (93) et $2,5 \pm 1,2$ points chez les donateurs français. Concernant les perfluorocarbones c'est différent : ils obtiennent un score de $3,2 \pm 0,06$ points chez les donateurs britanniques et néerlandais (93) contre $4,0 \pm 1,3$ points chez les donateurs français. Concernant l'hémoglobine issue de la culture bactérienne, elle obtient un score similaire de $4,4 \pm 0,06$ points chez les donateurs britanniques et néerlandais (93) et $4,2 \pm 1,5$ points chez les donateurs

français. On retrouve donc la même tendance dans ces trois nationalités sur le risque perçu pour le sang issu de don et l'hémoglobine issue de la culture bactérienne.

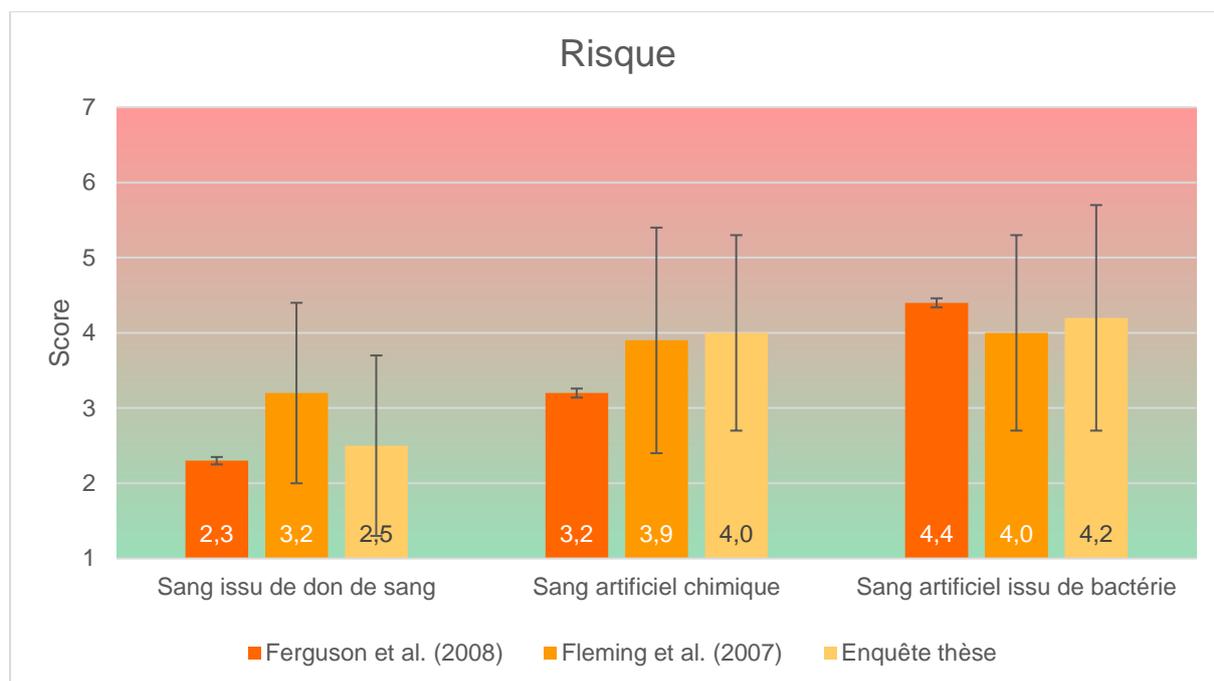


Figure 22 : Comparaison du risque perçu entre les travaux de Ferguson et al. (2008), les travaux de Fleming et al. (2007) et l'enquête de la thèse sur le sang issu de donneur, le sang artificiel chimique et le sang artificiel issu de bactérie (93,94)

Légende : Les barres d'erreur correspondent à ± 1 écart-type. Un score de 1 correspond à « pas risqué du tout » et un score de 7 correspond à « extrêmement risqué » avec $n = 148$ pour Fleming et al. (2007), $n = 63$ pour l'enquête thèse.

Concernant les limites associées au cadrage du message : le cadrage du message est le fait de manipuler la valence de l'information, soit positivement (par exemple estimer le taux de survie à 95% après la prise d'un traitement), soit négativement (par exemple estimer le taux de mortalité à 5% après la prise de ce même traitement). (93,95) C'est un moyen d'influencer la prise de décision des répondants : en réduisant la perception du risque et en augmentant la perception de l'efficacité et de l'éthique associés à chaque produit sanguin par exemple. L'utilisation de l'outil d'enquête exact utilisé par Fleming et al. (2007) ou Ferguson et al. (2008) n'a pas été possible. Cependant pour limiter au maximum le biais associé au cadrage du message, l'information fournie aux répondants sur chacun des produits sanguins dans l'outil d'enquête de la thèse s'est limitée au strict minimum : une illustration du produit sanguin ainsi qu'une courte description du produit sanguin écrite de manière objective afin de n'apporter aucun jugement implicite. La description des produits sanguins est disponible en **Annexe 1: Questionnaire papier** et en **Annexe 2: Questionnaire électronique**.

5.1.4. Efficacité théorique perçue

L'efficacité est définie comme étant ce qui produit l'effet attendu. En médecine, c'est lorsque le produit administré répond à l'état pathologique à traiter ou à prévenir. Sans études cliniques il n'est pas possible de confirmer l'efficacité réelle des produits étudiés. Cependant l'efficacité théorique perçue peut être mesurée afin d'identifier des

risques de non-acceptation ou de non-adhésion de la population aux solutions thérapeutiques proposées. Bien que les indications théoriques de ces produits ne nécessitent pas l'adhésion des patients, il est utile d'apporter ces éléments pour orienter des recherches plus approfondies sur ces produits.

L'étude pilote de Fleming et al. (2007) qui évalue la perception du risque (voir section 5.1.3) s'intéresse aussi à l'efficacité perçue ainsi qu'à l'éthique perçue (voir section 5.1.5). L'échelle de Likert est aussi utilisée pour évaluer l'efficacité perçue (avec 1 point considéré comme « inefficace » et 7 points comme « très efficace »). Les résultats de l'étude de Fleming et al. (2007) et de l'enquête de la thèse concernant la perception de l'efficacité théorique sont présentés dans la **Figure 23**. (94)

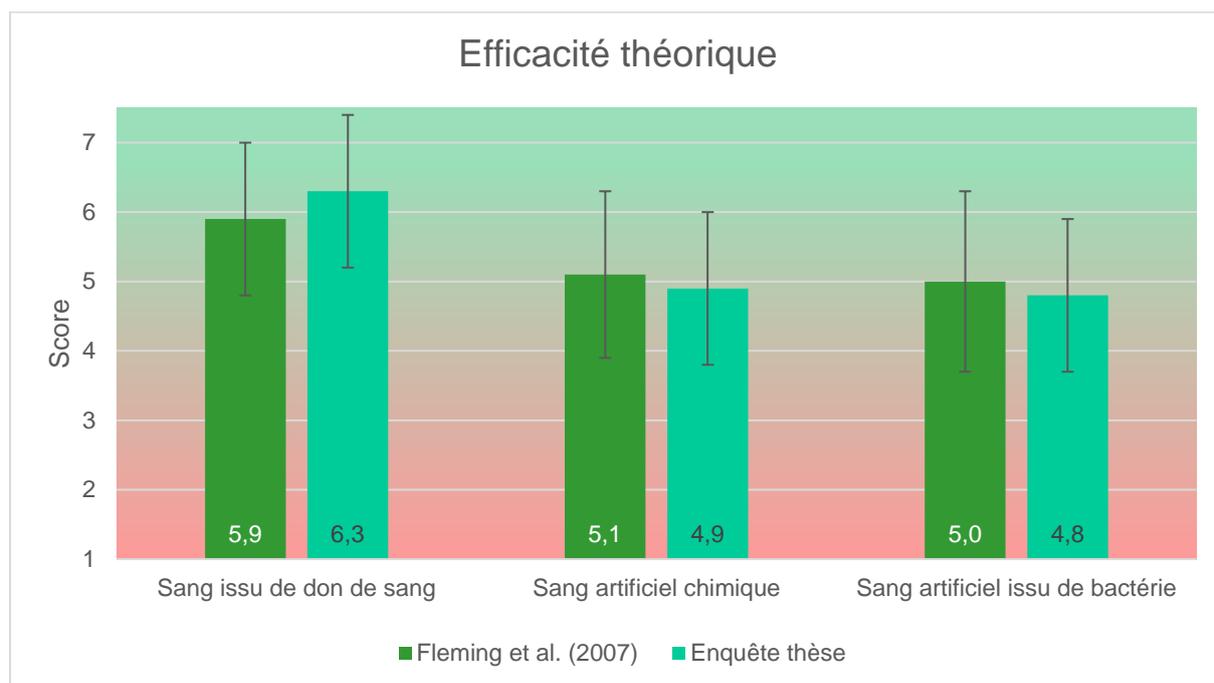


Figure 23 : Comparaison de l'efficacité théorique perçue entre les travaux de Fleming et al. (2007) et l'enquête de la thèse sur le sang issu de donneur, le sang artificiel chimique et le sang artificiel issu de bactérie (94)

Légende : Les barres d'erreur correspondent à ± 1 écart-type. Un score de 1 correspond à « inefficace » et un score de 7 correspond à « très efficace » avec $n = 148$ pour Fleming et al. (2007), $n = 63$ pour l'enquête thèse.

En comparant les résultats obtenus dans l'enquête de la thèse avec les résultats de l'enquête pilote de Fleming et al. (2007), on retrouve des résultats similaires à ceux obtenus pour le risque perçu pour les perfluorocarbones et l'hémoglobine issue de la culture bactérienne. D'une part les perfluorocarbones sont notés de manière similaire chez les répondants anglais ($5,1 \pm 1,2$ points) et chez les répondants français ($4,9 \pm 1,1$ points) ; d'autre part l'hémoglobine issue de la culture bactérienne est notée de manière similaire chez les répondants anglais ($5,0 \pm 1,3$ points) et chez les répondants français ($4,8 \pm 1,1$ points). (94) On peut avancer le fait que lorsque le résultat obtenu est proche de la moyenne (soit un score de 4 sur 7), les répondants sont plutôt sans opinion (tout comme le risque perçu), mais on observe que les notes sont légèrement au-dessus de la moyenne, c'est-à-dire que les répondants estiment comme « un peu efficaces » les perfluorocarbones et l'hémoglobine issue de culture bactérienne, ce qui peut induire une adhésion implicite à ces solutions. On constate cette tendance aussi pour l'hémoglobine issue de ver marin chez les répondants français ($4,6 \pm 1,2$ points).

Pourtant c'est le sang issu du don de sang qui est perçu comme la solution la plus efficace avec $5,9 \pm 1,1$ points chez les répondants anglais et $6,3 \pm 1,1$ points chez les répondants français : les résultats pour la perception de l'efficacité sont en accord avec le principe de surestime des produits endogènes et de sous-estime des produits exogènes (constat observé aussi pour la perception du risque). Les globules rouges issus de cellules souches vont aussi dans ce sens car ils sont considérés comme « un peu efficace » à « assez efficace » par les répondants français ($5,5 \pm 1,4$ points).

Il aurait été intéressant d'avoir un autre produit dont on connaît l'inefficacité dans l'enquête afin de vérifier si les résultats ne sont pas des biais cognitifs liés à la nature même de l'enquête. En d'autres termes, dans une situation où « on me propose de répondre à une question relative à un sujet de santé, les solutions proposées semblent par défaut toutes efficaces donc nul besoin de remettre en question tout ou partie des solutions proposées », on constate un biais de perception de la part des répondants.

5.1.5. Ethique perçue

La *National Library of Medicine* définit l'éthique comme étant « la philosophie ou le code se rapportant à ce qui est idéal dans le caractère et la conduite de l'homme [...], le domaine d'étude traitant des principes de la moralité ». Dans le domaine du don de sang et de la transfusion sanguine, l'éthique se présente sous deux aspects : l'aspect relatif au patient où celui-ci doit bénéficier des meilleurs soins et dont les intérêts doivent être au centre des préoccupations du système de santé ; et l'aspect relatif au donneur qui doit être libre dans son initiative et dont le corps, d'où proviennent les éléments de don, doit être respecté. (44)

Pour les substituts érythrocytaires d'origine artificielle, l'éthique doit prendre en compte uniquement l'aspect lié au patient. La problématique principale relative aux substituts érythrocytaires d'origine artificielle est d'administrer un produit qui est *a minima* aussi efficace et qui ne présente pas plus de risques d'effets indésirables que la solution « naturelle ». Si le substitut érythrocytaire d'origine artificielle ne respecte pas cette condition, il est non-acceptable de l'administrer d'un point de vue éthique. Si le produit respecte la condition du rapport bénéfice risque favorable, il est important de recueillir le consentement éclairé du patient (c'est-à-dire l'accord du patient après avoir pris connaissance des risques associés au traitement) en vue de l'administration du produit. Or lors des transfusions en contexte d'urgence, le patient est inconscient et cette condition n'est pas réalisable : c'est le cas pour 4,7% des CGR qui sont indiqués en contexte de réanimation (28).

L'étude pilote de Fleming et al. (2007) évalue la perception de l'éthique avec l'échelle de Likert (avec 1 point considéré comme « pas du tout éthique » et 7 points comme « extrêmement éthique »). Les résultats de l'étude de Fleming et al. (2007) et de l'enquête de la thèse concernant la perception de l'éthique sont présentés dans la **Figure 24**. En comparant les résultats obtenus dans l'enquête de la thèse avec les résultats de l'enquête pilote de Fleming et al. (2007), on retrouve des résultats similaires entre les perfluorocarbones et l'hémoglobine issue de la culture bactérienne : d'une part les perfluorocarbones sont notés de manière similaire chez les répondants anglais ($5,3 \pm 1,7$ points) et les répondants français ($5,1 \pm 1,5$ points) ; d'autre part l'hémoglobine issue de la culture bactérienne est notée de manière similaire chez les répondants anglais ($5,2 \pm 1,6$ points) et les répondants français ($5,1 \pm 1,4$ points). (94) On constate aussi une tendance similaire entre l'hémoglobine issue de ver marin et l'hémoglobine issue du sang de bovin : le ver marin obtient $4,7 \pm 1,6$

points chez les répondants français et l'hémoglobine issue du sang de bovin obtient $4,8 \pm 1,8$ points chez les répondants anglais, confirmant ainsi la tendance à sous-estimer l'origine animale des substituts érythrocytaires.

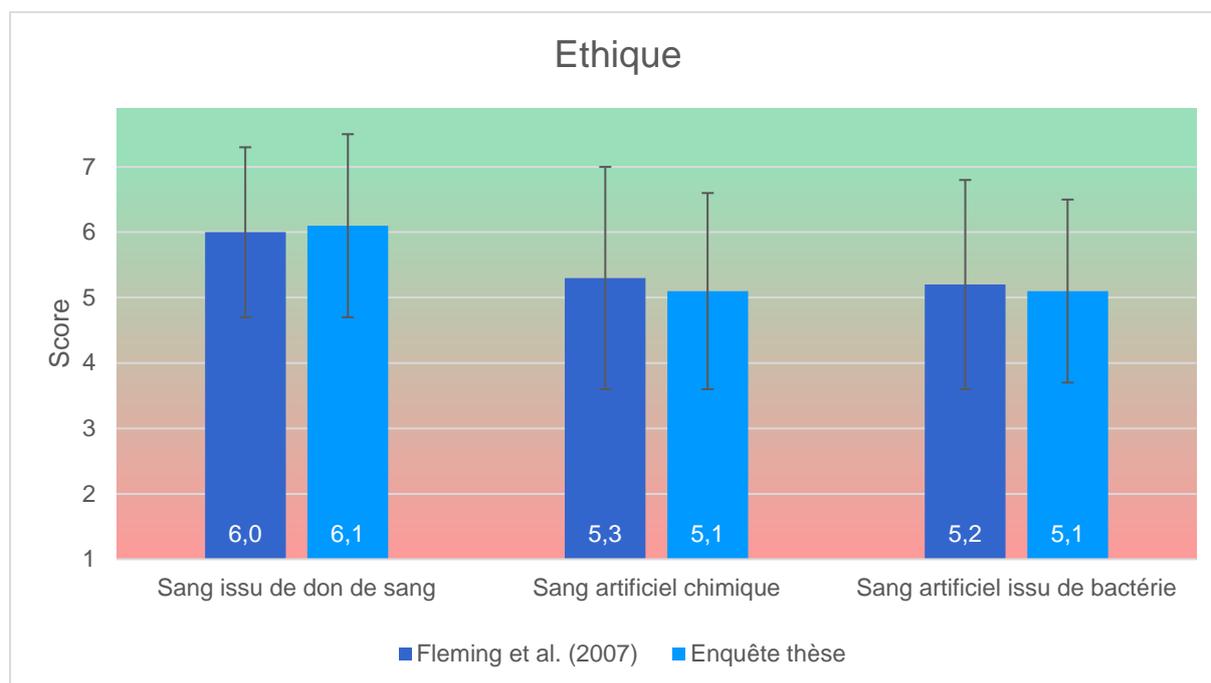


Figure 24 : Comparaison de l'éthique perçue entre les travaux de Fleming et al. (2007) et l'enquête de la thèse sur le sang issu de donneur, le sang artificiel chimique et le sang artificiel issu de bactérie (94)

Légende : Les barres d'erreur correspondent à ± 1 écart-type. Un score de 1 correspond à « pas du tout éthique » et un score de 7 correspond à « extrêmement éthique » avec $n = 148$ pour Fleming et al. (2007), $n = 62$ pour l'enquête thèse.

De la même manière que pour l'efficacité théorique perçue et le risque perçu, on peut avancer le fait que les scores de tous les substituts érythrocytaires d'origine artificielle sont légèrement au-dessus de la moyenne. Les répondants estiment le score à un peu plus de 5 sur 7 (un score de 5 correspond à la réponse « un peu éthique » dans le questionnaire) pour chaque produit, ce qui peut induire une adhésion implicite à ces solutions. Les résultats concernant l'éthique sont peu discriminants entre les différentes solutions d'origine artificielle car la notion d'éthique est parfois difficile à comprendre : afin d'aider les répondants à mieux appréhender cette notion, l'enquête définit aussi l'éthique comme l'acceptabilité morale des produits sanguins.

Cependant c'est le sang issu du don de sang qui est perçu comme la solution la plus éthique avec $6,0 \pm 1,3$ points chez les répondants anglais et $6,1 \pm 1,4$ points chez les répondants français : les résultats pour la perception de l'éthique sont en accord avec les résultats obtenus pour le risque perçu et l'efficacité perçue. De même les résultats pour l'éthique sont en accord le principe de surestime des produits endogènes et de sous-estime des produits exogènes. Pour le caractère éthique de l'utilisation des globules rouges issus de cellules souches, bien que jugé inférieur à celle du sang issu du don de sang, ils vont aussi dans ce sens car ils sont considérés comme « assez éthique » par les répondants français ($5,6 \pm 1,3$ points) et se révèlent être une solution artificielle jugée plus éthique que les autres solutions.

Les travaux de Ferguson et al. (2008) ont précisé que l'éthique est inversement corrélée à la perception du risque. (93) Bien que l'enquête de la thèse n'ait pas pour objectif d'étudier la relation entre la perception du risque et la perception de l'éthique,

on peut observer que pour tous les produits sanguins (naturel et de synthèse), plus le risque est perçu comme faible et plus l'efficacité et l'éthique sont perçues comme importantes. Dans l'enquête, la question sur l'éthique permet de quantifier la relation entre risque et efficacité et ainsi d'introduire la question finale : l'acceptation globale.

5.1.6. Acceptation globale perçue

Comme dit précédemment, l'acceptation globale perçue peut être mesurée à l'aide de 3 paramètres : le risque perçu, l'efficacité théorique perçue et l'éthique perçue. Pour mesurer l'acceptation globale, il est important de prendre en compte l'impact des attitudes implicites et explicites sur le choix de la question à poser aux répondants. Par exemple une personne peut avoir une attitude implicite positive à l'égard des substituts sanguins (elle considère le produit comme sûr) mais une attitude explicite négative (elle considère le produit risqué). Sous la pression du temps (comme c'est le cas avec un scénario d'urgence), les attitudes implicites sont plus susceptibles d'influencer la prise de décision car dans ces conditions le répondant est plus susceptible d'être spontané dans sa réponse. (93)

Dans l'enquête, la question sur l'acceptation des produits sanguins est donc orientée sur la spontanéité des répondants (« si vous deviez être transfusé en urgence ») bien qu'aucune limite de temps ne soit imposée aux répondants afin de limiter les réponses trop spontanées. De plus dans l'enquête il n'est pas question de juger l'acceptation du sang issu du don de sang car cela induit un biais où le répondant est tenté de comparer une nouvelle fois la solution dite « naturelle » aux solutions de synthèse. L'évaluation porte uniquement sur les substituts érythrocytaires d'origine artificielle. Les résultats de l'étude de Ferguson et al. (2008) et de l'enquête de la thèse concernant l'acceptation globale des produits sanguins sont présentés dans la **Figure 25**.

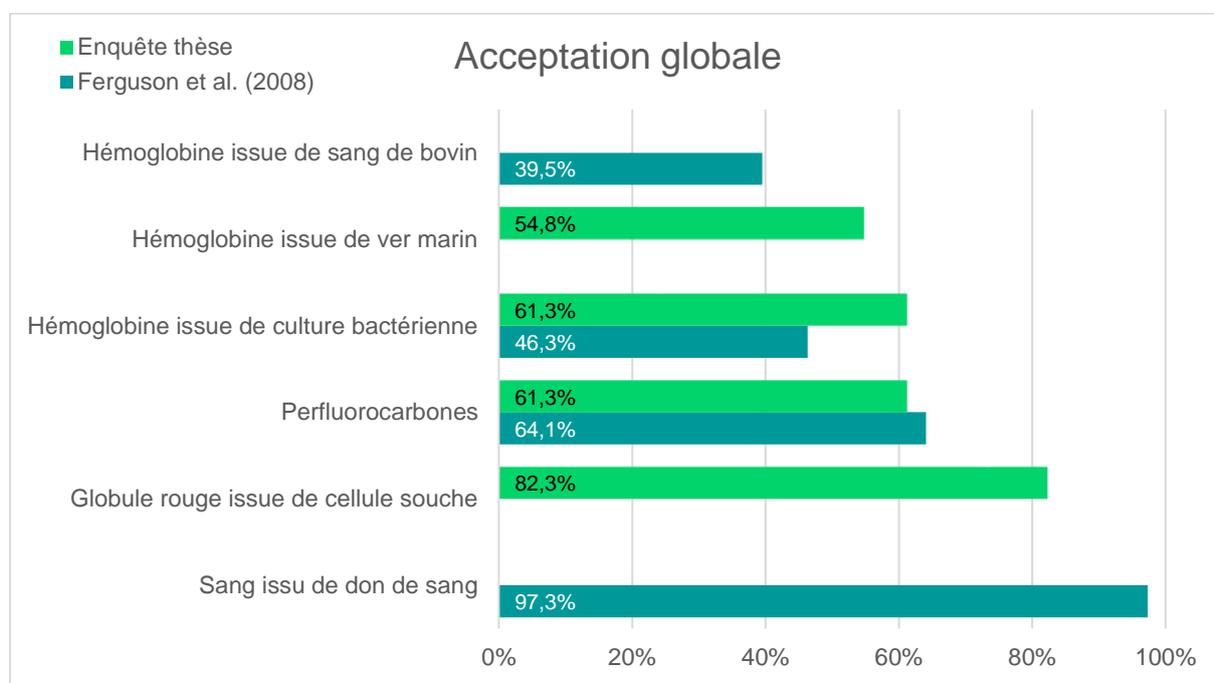


Figure 25 : Comparaison de l'acceptation globale perçue entre les travaux de Ferguson et al. (2008) et l'enquête de la thèse sur l'ensemble des produits sanguins d'origine naturelle et synthétique (93)

Bien que les travaux de Ferguson et al. (2008) suggèrent que les perfluorocarbones soient l'option la mieux acceptée par la population et que les travaux sur l'acceptation peuvent se concentrer sur les perfluorocarbones (93), l'enquête de la thèse démontre qu'il est plus pertinent d'envisager une solution alternative au don de sang basée sur la culture de globules rouges issus de cellules souches. L'acceptation globale est meilleure pour les globules rouges issus de cellules souches en comparaison avec toutes les autres solutions d'origine artificielle, perfluorocarbones inclus.

Ensuite les résultats obtenus pour l'hémoglobine issue de culture bactérienne varient considérablement entre les deux études : il y a 15 points de plus chez les répondants français par rapport aux répondants britanniques et néerlandais. Cela peut s'expliquer par le cadrage du message : en France il est question d'une hémoglobine issue de la culture bactérienne, tandis qu'au Royaume-Uni et aux Pays-Bas il est question d'une hémoglobine génétiquement modifiée. Dans les deux cas, la nature de l'information peut être perçue comme négative : d'une part la peur du micro-organisme pathogène ; d'autre part la peur des modifications génétiques ayant un impact délétère sur l'espèce humaine.

Il serait intéressant d'avoir les chiffres exacts de l'enquête de Ferguson et al. (2008) pour pouvoir comparer l'échantillon complet avec l'enquête de la thèse : les résultats communiqués pour la cohorte totale chez Ferguson et al. (2008) semblent aberrants lorsqu'ils sont comparés aux échantillons de donateurs britanniques, de donateurs néerlandais, de public britannique et de public néerlandais. Par exemple, l'acceptation de l'hémoglobine issue de culture bactérienne est de 62,4% chez les donateurs britanniques, 55,6% chez le public britannique, 59,0% chez les donateurs néerlandais et 53,3% chez le public néerlandais mais l'acceptation globale est seulement de 46,3% dans l'échantillon total. On retrouve cette même tendance pour l'hémoglobine issue de sang de bovin (52,7% ; 42,7% ; 49,4% ; 46,5% ; 39,5% respectivement) et les perfluorocarbones (72,1% ; 65,7% ; 94,0% ; 69,9% ; 64,1% respectivement). (93)

Incontestablement le sang issu de don apparaît comme la solution la plus acceptable avec une acceptation globale à 99,3% chez les donateurs britanniques, 96,6% chez le public britannique, 99,1% chez les donateurs néerlandais et 96,2% chez le public néerlandais pour une acceptation globale à 97,3% dans l'échantillon total. (93) Hormis chez Ferguson et al. (2008) où deux produits n'atteignent pas une acceptation majoritaire (l'hémoglobine issue de sang de bovin et l'hémoglobine issue de la culture bactérienne), tous les autres produits sanguins ont une majorité d'avis favorables. De plus les résultats obtenus pour les perfluorocarbones sont similaires entre les études ce qui conforte l'acceptation de ces produits malgré les effets indésirables associés.

5.2. Stratégie thérapeutique des substituts sanguins

5.2.1. Perfluorocarbones

Les perfluorocarbones représentent la solution artificielle historique, existant depuis les années 1970 avec la solution Fluosol-DA®. De nombreux développements pharmaceutiques ont été réalisés ces dernières décennies : plusieurs générations de molécules ont vu le jour avec des améliorations de la galénique des produits à chaque génération aboutissant à plusieurs reprises à des mises sur le marché. Les coûts de production des perfluorocarbones sont relativement bas et peuvent respecter des objectifs de dépense de santé publique réduits.

Pourtant ces substances présentent de nombreux effets indésirables chez l'Homme, principalement la bioaccumulation dans les tissus des molécules et de leurs

métabolites à cause de l'impossibilité d'éliminer ces molécules par le foie et les reins. De plus l'utilisation des perfluorocarbones en clinique nécessite d'une part des conditions de conservation complexes (l'émulsion étant instable à température ambiante), d'autre part l'utilisation des perfluorocarbones nécessite l'administration concomitante d'O₂ au patient afin de garantir l'efficacité du transport de l'O₂ par les perfluorocarbones.

Enfin d'un point de vue réglementaire l'Union Européenne souhaite interdire les substances perfluoroalkylées d'ici 2025 dans le cadre de la mise en œuvre du Règlement REACH (acronyme anglais signifiant l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation des substances chimiques et les restrictions applicables à ces substances) car ces substances représentent un danger pour l'environnement (bioaccumulation dans l'eau, le sol et les organismes) et pour l'Homme (troubles du développement, lésions hépatiques, troubles du système immunitaire et certains types de cancer). (96,97) En médecine, les composés perfluoroalkylés sont utilisés dans de nombreux produits : les substituts érythrocytaires mais aussi les implants orthopédiques, les cathéters, les instruments pour la chirurgie mini-invasive, les fournitures chirurgicales (champs opératoires, sutures), les dispositifs médicaux électriques programmables, les structures vasculaires de remplacement (stents, endoprothèse aortique), les anesthésiques par inhalation, les agents anti-inflammatoires, les médicaments synthétiques et les stéroïdes. (82,97) Comme les perfluorocarbones sont utilisés dans de nombreux produits à but thérapeutique, il est probable que l'interdiction des perfluorocarbones ne soit pas applicable à ceux-ci tant que leur rapport bénéfice risque reste positif.

Jusqu'à récemment il était peu probable d'avoir des exceptions médicales durables, mais le report *sine die* de l'examen de la révision du règlement REACH par la Commission Européenne en octobre 2023 (98,99) laisse penser que ces substances ne seront pas interdites dans les prochaines années et que les perfluorocarbones peuvent avoir leur place dans la stratégie thérapeutique de substitution des CGR. Cependant il est raisonnable de penser que si la structure moléculaire n'est pas revue pour réduire les effets indésirables et si des données cliniques probantes ne sont pas obtenues, il est impossible d'avoir les perfluorocarbones sur le marché dans les années à venir.

5.2.2. Hémoglobine issue de la culture bactérienne

L'hémoglobine issue de la culture bactérienne fait partie des transporteurs d'O₂ à base d'hémoglobine obtenus par génie génétique. Cette solution alternative au sang issu de don est plus récente que les perfluorocarbones (début des années 1990 avec la molécule Optro[®]) mais elle apporte une composante biologique à la fabrication des substituts (utilisation des bactéries et des levures pour la production d'hémoglobine fonctionnalisée) tandis que les perfluorocarbones sont d'origine chimique.

La solution présente plusieurs intérêts : la possibilité de contrôler le micro-organisme pour lui faire produire le produit attendu, la diminution du risque de contamination du produit sanguin par des agents infectieux et la maîtrise de l'approvisionnement en produit sanguin avec une alimentation continue des micro-organismes en nutriments. Cependant il faut rappeler que le prix de fabrication est relativement élevé, ce qui est incompatible avec la politique de santé publique actuelle. De plus les essais cliniques sur ce produit sont stoppés suite au surrisque d'arrêt cardiaque entraînant une balance bénéfice risque négative pour les patients. Enfin d'un point de vue acceptation par le grand public, bien que le produit soit jugé de manière assez neutre sur le risque, l'efficacité et l'éthique, le public français reste positif sur l'acceptation de ce produit.

Néanmoins les notions de produit « issu de bactérie » ou de produit « génétiquement modifié » sont perçues négativement et peuvent freiner l'adhésion de la population à ces solutions si elles viennent à être mises sur le marché.

Il est donc raisonnable de penser qu'actuellement ce produit n'a pas sa place dans la stratégie thérapeutique. L'hémoglobine issue de la culture bactérienne n'est pas une technologie mature : la structure moléculaire de cet HBOC n'est pas optimisée et est à l'origine des effets indésirables graves. Cependant l'obtention d'HBOC par cette méthode est sécurisée concernant les agents pathogènes. Si le développement de ce produit est de nouveau envisagé, ce qui est possible au vu des évolutions actuelles dans le domaine du génie génétique (ex. le développement des « ciseaux moléculaires » CRISPR-Cas9) : d'une part il convient d'optimiser le génome du micro-organisme afin d'obtenir la structure moléculaire permettant de limiter l'effet de recapture du NO par l'HBOC ; d'autre part il faut trouver un moyen d'obtenir des rendements élevés à moindre coût afin de limiter le coût aux systèmes de santé.

5.2.3. Hémoglobine issue de ver marin

Bien qu'aucune étude clinique n'ait été menée pour envisager l'utilisation de la molécule M101 dans l'anémie, plusieurs études pré-cliniques démontrent l'efficacité de l'utilisation de l'hémoglobine extracellulaire du ver marin *Arenicola marina* pour le transport de l'O₂ dans la circulation sanguine sans les effets indésirables connus chez les HBOC. Dans l'hypothèse où des études cliniques démontrent que la balance bénéfice risque du produit est positive, il y a plusieurs aspects à prendre en considération pour une mise sur le marché optimale.

D'abord le coût pour les systèmes de santé : le prix de HEMOXYCarrier® ne doit pas dépasser 200€ (c'est-à-dire le coût direct d'un CGR) afin d'éviter une source de dépense supplémentaire pour les structures de soins, autrement le produit risque de rencontrer des problèmes de remboursement et des études coût-efficacité seront obligatoires pour assurer la pertinence du substitut dans la stratégie thérapeutique de prise en charge de l'anémie.

Concernant les capacités d'approvisionnement en substitut : les chiffres de l'ANSM indiquent que le nombre de CGR transfusés en France est d'environ 2 262 116 unités en 2021. (41) D'une part l'élevage de 250kg de ver marin correspond 3kg de poudre d'hémoglobine extracellulaire (100), d'autre part un individu pèse en moyenne 7,5g (80). En prenant comme exemple HEMO₂life® la molécule sur le marché (dont l'indication est la préservation de greffon rénal, indication différente de celle théoriquement discutée avec HEMOXYCarrier®), cela nous permet de calculer des ordres de grandeur : pour produire une dose de substitut (soit une quantité de 1g de M101), il faut environ 11 individus. Or pour répondre à un besoin théorique en CGR équivalent aux transfusions actuelles, il faudrait presque 25 000 000 d'individus chaque année uniquement pour le marché français. Cela pose deux problématiques : l'une d'ordre environnemental et l'autre d'ordre éthique.

Concernant la problématique environnementale : bien que les vers marins qui servent à la fabrication du produit sont élevés dans des fermes aquacoles, les capacités de production sont inférieures aux besoins (30 tonnes de vers marins élevés chaque année pour un besoin théorique de 187,5 tonnes de vers marins pour répondre au marché français). Par conséquent, il serait impensable d'obtenir les individus dans l'environnement naturel pour couvrir les besoins en produit sanguin, cela causerait un

déséquilibre du biome littoral. Dans ce cas il faudra envisager une augmentation de la surface de production de vers marins avec l'impact associé à l'industrialisation d'une zone naturelle.

Concernant la problématique éthique : fabriquer HEMOXYCarrier® nécessite de mettre à mort de nombreux individus. Bien que les règles de l'éthique animale en recherche expérimentale (Règle des 3R : réduire, remplacer, raffiner) ne s'appliquent pas à la fabrication de médicaments et autres produits de santé, on parle de matière première d'origine animale. Un problème analogue est rencontré en industrie pharmaceutique avec les limules (*Limulus polyphemus*) aussi appelées crabe fer à cheval. Ces arthropodes marins sont capturés pour prélever leur hémolymphe : ce liquide bleu est important pour le contrôle qualité des médicaments stériles et de certains dispositifs médicaux car il permet de réaliser l'essai des endotoxines bactériennes décrit dans la Pharmacopée Européenne appelé plus couramment test LAL (lysate d'amœbocyte de limule). (101) Le principe est qu'en présence d'endotoxines (des molécules très toxiques issues de la paroi des bactéries GRAM -), les cellules sanguines de la limule (les amœbocytes) génèrent des molécules entraînant la coagulation de l'hémolymphe, ce qui met en évidence une contamination bactérienne. (102,103) La plupart du temps les limules sont relâchées dans leur milieu naturel après avoir été saignées mais de nombreux individus meurent suite au prélèvement. C'est pour cela que des recherches sont en cours pour trouver une alternative de synthèse au test LAL. Par conséquent, le développement d'un substitut érythrocytaire dont la production nécessite la mise à mort d'un nombre important d'individus révèle des enjeux éthiques considérables.

Concernant l'aspect réglementaire, HEMO₂life® (produit similaire dont les indications sont différentes) est déjà sur le marché. HEMOXYCarrier® peut donc raisonnablement être considéré comme un dispositif médical de classe III selon la Règle 18 de l'annexe VIII du Règlement (UE) 2017/745 (dispositif fabriqué à partir de tissus d'origine animale) car c'est une matière destinée à être utilisée chez l'homme pour le traitement d'une maladie et dont l'action principale (le transport d'O₂) n'est pas obtenue par des moyens pharmacologiques ou immunologiques ni par métabolisme. (104)

Les potentialités de la molécule M101 sont intéressantes sur plusieurs aspects. D'un point de vue galénique l'érythrocrucorine peut être lyophilisée afin d'obtenir une forme pharmaceutique en poudre. L'utilisation d'une poudre lyophilisée permet d'une part d'augmenter la durée de péremption à 5 ans avec une conservation à température ambiante (contre 42 jours avec une conservation à +4°C pour les CGR issus de don de sang) ; d'autre part de pouvoir reconstituer une solution injectable de manière extemporanée et donc de faciliter la logistique et la mise à disposition du traitement à tout moment. D'un point de vue immunologique, la molécule M101 ne nécessite pas de phénotypage (à l'inverse des CGR issus de don de sang) car la molécule n'est pas contenue dans une cellule et peut donc être utilisée indépendamment du groupe sanguin du patient qui reçoit le traitement. (79) D'un point de vue biocompatibilité, les résultats de l'évaluation biologique de HEMO₂life® concluent que M101 n'induit pas de cytotoxicité, de réaction intra cutanée, de toxicité systémique, d'allergie ou de sensibilisation, que les métabolites ne sont pas toxiques et que le produit n'est ni mutagène ni pyrogène. (78) D'un point de vue infectieux, le produit est vendu stérile (stérilisé par filtration aseptique) et ne nécessite donc pas de méthode d'inactivation des pathogènes avant d'être utilisé. (77)

Cependant l'opinion du grand public sur l'acceptation de l'hémoglobine extracellulaire issue de *Arenicola marina* n'est pas aussi importante que l'acceptation des globules rouges issues de cellules souches, ceci étant causé par l'image que le produit véhicule

sur la population (produit d'origine animale avec un surrisque en cas d'exposition à ce produit). Mais dans l'hypothèse où des études cliniques démontrent que la balance bénéfique risque de l'hémoglobine extracellulaire issue de *Arenicola marina* est positive et que l'image associée au produit est façonnée de telle sorte à promouvoir d'autres aspects que l'origine animale, on peut raisonnablement considérer que le produit HEMOXYCarrier® est une alternative sérieusement envisageable pour substituer à court terme les CGR.

5.2.4. Globules rouges issus de cellules souches

L'opinion du grand public concernant les globules rouges cultivés à partir de cellules souches est relativement positive selon l'enquête de la thèse : bien que le sang issu de don reste mieux perçu, l'acceptation des globules rouges issus de cellules souches est bien meilleure que l'acceptation des autres substituts érythrocytaires d'origine artificielle. C'est paradoxal car le sujet des cellules souches est assez clivant dans la population générale. Cela peut s'expliquer : d'une part que l'utilisation de CSE dans la recherche signifie le sacrifice d'un être humain en puissance (difficile à justifier éthiquement) ; d'autre part qu'en France la recherche sur les cellules souches était interdite. Mais la réglementation française a récemment fait l'objet d'une avancée majeure : le 2 août 2021, la révision de la loi sur la bioéthique introduit un cadre légal autorisant la recherche sur les cellules souches sous certaines conditions. (105)

D'un point de vue clinique, les globules rouges issus de cellules souches font une avancée exceptionnelle depuis que la preuve du concept a été réalisée en 2011 avec la transfusion d'une faible quantité de globules rouges cultivés (origine autologue). L'absence d'effets indésirables a permis de confirmer la possibilité de mettre en œuvre l'étude RESTORE dès 2021 avec une augmentation du volume transfusé, du nombre de volontaires sains et avec une utilisation de produit d'origine non autologue. La route des preuves cliniques est encore longue mais si les résultats sont probants, il est raisonnable de penser que les globules rouges issus de cellules ont de sérieuses perspectives dans la stratégie thérapeutique de l'anémie. A terme, la question du statut réglementaire de ce produit devra être traitée : bien que proche des PSL et des médicaments dérivés du sang, on peut le considérer comme médicament de thérapie innovante soumis au Règlement (CE) 1394/2007.

Concernant les aspects biologiques, utiliser une lignée cellulaire immortalisée : qui peut réaliser sa prolifération et sa différenciation indépendamment de l'utilisation de cytokines, d'hormones, de facteurs, de sérum et d'autres molécules (ex. SCF, IL-3, IL-6, EPO, TPO (thrombopoïétine), héparine, holotransferrine, Flt-3 (tyrosine kinase-3 des cellules souches), IGF-1 (facteur de croissance 1 analogue à l'insuline), agoniste TGF- β (facteur de croissance de transformation β), agoniste PPAR- α (récepteur activé α par les proliférateurs des peroxysomes), glucocorticoïdes) ; dont le système de culture permet une très haute densité de cellules avec un contrôle automatique des paramètres physico-chimiques du milieu de culture ; dont le taux d'énucléation est supérieur à 90% ; avec des conditions de culture cellulaire respectant les BPF ; permettra d'obtenir un candidat substitut érythrocytaire prometteur. (11,85,86)

Au-delà des aspects relatifs à l'efficacité, à la sécurité, aux enjeux biologiques et réglementaires qui restent à résoudre, le principal défi pour les applications futures est de trouver une technologie capable de produire des quantités de cellules du même ordre de grandeur que les CGR, c'est-à-dire 2×10^{12} cellules. (12,84–86) Pour répondre à l'enjeu de l'augmentation de la production cellulaire, la migration technologique se tourne vers la mise au point de bioréacteurs automatisés et agités à grande échelle permettant la culture cellulaire en 3 dimensions. Mais avec les

techniques conventionnelles, il faut 1000L de milieu de culture pour produire un produit sanguin concentré à 2×10^6 globules rouges par mL. Il faut également que l'outil de fabrication respecte un coût de production de produit sanguin acceptable pour les systèmes de santé, c'est-à-dire un prix inférieur à 200€ par unité. Nonobstant la problématique de la durée de la culture cellulaire, il est aujourd'hui impossible de mettre en place un processus de culture cellulaire capable d'alimenter les besoins en clinique avec un coût de fabrication raisonnable. (11,12,84–86)

Conclusion

Depuis plusieurs décennies, de nombreux substituts érythrocytaires ont été développés. Certains ont pu accéder au marché mais au final tous ont été arrêtés. Aujourd'hui, bien qu'aucun produit ne soit sur le marché pour substituer le rôle des globules rouges de transport de l'oxygène, de potentiels candidats médicaments sont à l'essai et démontrent des résultats prometteurs. L'opinion du grand public sur ces produits est claire : bien que le sang issu de don de sang reste la solution la plus acceptée, l'opinion est globalement positive. Parmi ces produits, ce sont les globules rouges issus de cellules souches qui sont les mieux acceptés et qui sont perçus comme les plus efficaces, les moins risqués et les plus éthiques par rapport aux perfluorocarbones, à l'hémoglobine extracellulaire issue de *Arenicola marina* et à l'hémoglobine issue de la culture bactérienne.

Ce travail introduit de nouveaux éléments : depuis une décennie les perfluorocarbones sont considérés comme le substitut érythrocytaire d'origine artificielle dont l'acceptation est la meilleure par la population anglaise et néerlandaise. Cependant aucune étude n'avait été réalisée sur la population française. De plus aucune étude n'avait été réalisée sur les globules rouges issus de cellules souches et sur l'hémoglobine extracellulaire issue de *Arenicola marina*. Ces nouveaux éléments permettent de donner un aperçu de l'opinion de la population française, d'avoir des données sur des produits non encore étudiés et de recadrer les recherches actuelles vers les globules rouges issus de cellules souches et vers l'hémoglobine extracellulaire issue de *Arenicola marina*, des produits qui sont prometteurs à court terme pour la prise en charge de l'anémie. Cela permet aussi de montrer que l'opinion du grand public n'est certes pas le critère principal pour juger de l'efficacité et de la sécurité d'un produit mais que ce critère a son rôle à jouer dans la mesure de la balance bénéfice risque de ces produits et que le fait de ne pas prendre en compte ces informations peut avoir un impact significatif sur l'adhésion par la population à ces traitements.

Concernant les limites et la validité de l'enquête, la taille de l'échantillon est assez réduite, le nombre de produits sanguins étudiés est limité et l'outil d'étude ne permet pas de réaliser d'analyse quantitative puissante. Cependant les résultats de l'étude peuvent être comparés aux résultats obtenus dans la littérature car l'approche et la méthodologie sont similaires. Concernant les données obtenues de la littérature sur les substituts érythrocytaires d'origine artificielle, la principale difficulté est qu'aucun produit n'est sur le marché et que peu de données cliniques sont disponibles. Il est donc complexe de se positionner sur l'efficacité de chaque produit et de proposer une stratégie pratique : dans ce travail l'approche reste donc très théorique.

Le travail permet aussi de revenir sur des enjeux de santé fondamentaux : l'offre et la demande en produit sanguin qui bascule vers une pénurie durable ; le dilemme éthique entre minimiser l'utilisation des produits sanguins issus du don de sang et utiliser des substituts sanguins jugés par le grand public comme moins acceptables que le produit « naturel » ; l'utilisation des cellules souches embryonnaires dans la quête de la production à grande échelle de globules rouges ; les enjeux de production avec une qualité et une quantité suffisante pour répondre aux besoins de la population.

Certaines recommandations peuvent être formulées à l'issue de ce travail : d'abord réaliser une étude comparative coût-efficacité de chaque substitut érythrocytaire d'origine artificielle afin d'avoir l'impact exact sur les systèmes de santé. Ensuite d'un point de vue acceptation, ce sont surtout les globules rouges issus de cellules souches qui sont attendus par le grand public, cependant d'après la littérature l'hémoglobine extracellulaire issue de *Arenicola marina* a également un rôle à jouer dans la prise en charge de l'anémie sous réserve de données cliniques probantes.

Aujourd'hui la route est encore longue pour que la citation de Albert Schweitzer ("Le sang ne se remplace pas. Il se donne.") puisse être réfutée. Cependant le remplacement du sang par une solution artificielle est proche et de nombreux produits sont attendus (surtout la culture de globules rouges). A terme les fonctions et les organes de l'être humain pourront tous être remplaçables mais il est nécessaire d'évaluer chaque aspect (dont l'opinion du grand public sur ces produits) pour accompagner et pour cadrer les avancées technologiques et ainsi éviter les dérives.

Bibliographie

1. The Authors. Special Issue: Introduction to Blood Transfusion: From Donor to Recipient. Blackwell Publishing Ltd., éditeur. ISBT Sci Ser. déc 2020;15(S1):6-337.
2. Cooling L. The RBC as a Physiological Object. In: McManus LM, Mitchell RN, éditeurs. Pathobiology of Human Disease [Internet]. San Diego: Academic Press; 2014 [cité 4 févr 2023]. p. 3049-67. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012386456706202X>
3. Roussel C, Buffet PA, Amireault P. Measuring Post-transfusion Recovery and Survival of Red Blood Cells: Strengths and Weaknesses of Chromium-51 Labeling and Alternative Methods. *Front Med*. 15 mai 2018;5:130.
4. Sen Gupta A. Hemoglobin-based Oxygen Carriers: Current State-of-the-art and Novel Molecules. *Shock Augusta Ga*. oct 2019;52(1S Suppl 1):70-83.
5. Henderson R. Max Perutz (1914–2002): Great Scientist and Modest Leader. *Cell*. 5 avr 2002;109(1):13-6.
6. Steensma DP, Shampo MA, Kyle RA. Max Perutz and the Structure of Hemoglobin. *Mayo Clin Proc*. août 2015;90(8):e89.
7. Batool F, Delpy E, Zal F, Leize-Zal E, Huck O. Therapeutic Potential of Hemoglobin Derived from the Marine Worm *Arenicola marina* (M101): A Literature Review of a Breakthrough Innovation. *Mar Drugs*. juill 2021;19(7):376.
8. Haldar R, Gupta D, Chitranshi S, Singh MK, Sachan S. Artificial Blood: A Futuristic Dimension of Modern Day Transfusion Sciences. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2019;17(1):11-6.
9. Ferreira A, Marguti I, Bechmann I, Jeney V, Chora A, Palha NR, et al. Sickle hemoglobin confers tolerance to Plasmodium infection. *Cell*. 29 avr 2011;145(3):398-409.
10. Laboratoire d'Hématologie Cellulaire du CHU d'Angers. Hematocell. 2016 [cité 8 avr 2023]. Hématopoïèse, cellules souches hématopoïétiques, facteurs de croissance. Disponible sur: <https://www.hematocell.fr/leucocytes-physiologie-aspects-fondamentaux/hematopoiesecellules-souches-hematopietiques-facteurs-de-croissance>
11. Cervellera CF, Mazziotta C, Di Mauro G, Iaquinia MR, Mazzoni E, Torreggiani E, et al. Immortalized erythroid cells as a novel frontier for in vitro blood production: current approaches and potential clinical application. *Stem Cell Res Ther*. 24 mai 2023;14(1):139.
12. Zhou P, Ouchari M, Xue Y, Yin Q. In Vitro Generation of Red Blood Cells from Stem Cell and Targeted Therapy. *Cell Transplant*. 2020;29:963689720946658.
13. Learoyd P. The history of blood transfusion prior to the 20th century - Part 1: History of blood transfusion to the 20th century. *Transfus Med*. oct 2012;22(5):308-14.
14. Thivel A. Hippocrate et la théorie des humeurs. *Noesis*. 15 mars 1997;(1):85-108.
15. Launay F. Petite histoire de la transfusion [Internet]. *Le Blog Gallica*. 2016 [cité 15 avr 2023]. Disponible sur: <https://gallica.bnf.fr/blog/14062016/petite-histoire-de-la-transfusion>

16. Gachelin G. DENIS JEAN-BAPTISTE (1643-1704). In: Encyclopædia Universalis [Internet]. [cité 15 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/jean-baptiste-denis/>
17. Valdes-Socin H. L'épopée de la transfusion sanguine citratée. Pharma-Sphere. 4 déc 2021;(269):2-5.
18. Lefrère JJ, Jaulin P. Musée de la Transfusion Sanguine et du Don de Sang. [cité 15 avr 2023]. Les premières transfusions sanguines ont eu lieu sous Louis XIV. Disponible sur: <https://www.musee-transfusion-sanguine-et-don-de-sang.fr/fr/sous-louis-xiv.html>
19. Learoyd P. The history of blood transfusion prior to the 20th century - Part 2: History of blood transfusion to the 20th century. Transfus Med. déc 2012;22(6):372-6.
20. Schmidt PJ, Leacock AG. Forgotten transfusion history: John Leacock of Barbados. BMJ. 21 déc 2002;325(7378):1485-7.
21. Wright AE. A New Method of Blood Transfusion. Br Med J. 5 déc 1891;2(1614):1203.
22. Durand JK, Willis MS. Karl Landsteiner, MD: Transfusion Medicine. Lab Med. 1 janv 2010;41(1):53-5.
23. H.A.S. Haute Autorité de Santé. Transfusions de globules rouges homologues : produits, indications, alternatives [Internet]. Saint-Denis La Plaine; 2014. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_1349939/fr/transfusions-de-globules-rouges-homologues-produits-indications-alternatives
24. Lozano M, Badawi M. Indications for transfusion of blood components. ISBT Sci Ser. 2020;15(S1):320-30.
25. Wautier JL. Indications des transfusions de produits sanguins labiles. Transfus Clin Biol J Soc Francaise Transfus Sang. févr 2005;12(1):56-8.
26. Stokes EA, Wordsworth S, Staves J, Mundy N, Skelly J, Radford K, et al. Accurate costs of blood transfusion: a microcosting of administering blood products in the United Kingdom National Health Service. Transfusion (Paris). 2018;58(4):846-53.
27. Rigal JC, Riche VP, Tching-Sin M, Fronteau C, Huon JF, Cadiet J, et al. Cost of red blood cell transfusion; evaluation in a French academic hospital. Transfus Clin Biol. 1 nov 2020;27(4):222-8.
28. Quaranta JF, Berthier F, Courbil R, Courtois F, Chenais F, Waller C, et al. Qui sont les receveurs de produits sanguins labiles (PSL) ? Une étude nationale multicentrique – un jour donné. Établissement de transfusion sanguine (ETS) – établissements de santé (ES). Transfus Clin Biol J Soc Francaise Transfus Sang. mars 2009;16(1):21-9.
29. Gouëzec H, Berger E, Bergoin-Costello V, Betbèze V, Bourcier V, Damais A, et al. Évaluation multicentrique de la pertinence des prescriptions de concentrés de globules rouges. Transfus Clin Biol. 1 déc 2010;17(5):318-30.
30. Mathoulin-Pélissier S, Salmi LR, Verret C, Demoures B. Blood transfusion in a random sample of hospitals in France. Transfusion (Paris). sept 2000;40(9):1140-6.
31. Brun R. Les agents stimulant l'érythropoïèse dans l'insuffisance

- rénale chronique terminale [Internet] [other]. Université de Lorraine; 2019 [cité 2 nov 2023]. p. NNT : 2019LORR2060. Disponible sur: <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03297929>
32. International Society of Blood Transfusion. ISBT. 2023 [cité 5 août 2023]. Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology. Disponible sur: <https://www.isbtweb.org/isbt-working-parties/rcibgt.html>
 33. Smart E, Armstrong B, Lee R for SEE. Blood group systems. ISBT Sci Ser. 2020;15(S1):123-50.
 34. Mitra R, Mishra N, Rath GP. Blood groups systems. Indian J Anaesth. 2014;58(5):524-8.
 35. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Rapport d'activité hémovigilance 2015 [Internet]. 2016 sept [cité 19 févr 2023] p. 100. Report No.: 14. Disponible sur: https://archiveansm.integra.fr/var/ansm_site/storage/original/application/27ce3d0739821882c0cd87041b8050a7.pdf
 36. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Rapport d'activité hémovigilance 2016 [Internet]. 2017 déc [cité 19 févr 2023] p. 106. Report No.: 14. Disponible sur: <http://hemovigilance-cncrh.fr/wp18/wp-docs/DONNEES%20ACTIVITE/rapportANSM2016.pdf?refCNCRH=338>
 37. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Rapport d'activité hémovigilance 2017 [Internet]. 2018 déc [cité 19 févr 2023] p. 126. Report No.: 15. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/uploads/2021/01/08/rapport-hemovigilance-2017-1.pdf>
 38. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. 16ème rapport national d'hémovigilance [Internet]. 2019 déc [cité 19 févr 2023] p. 154. Report No.: 16. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/uploads/2020/10/16/20201016-rapport-hemovigilance.pdf>
 39. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. 17ème rapport national d'hémovigilance [Internet]. 2020 juill [cité 19 févr 2023] p. 156. Report No.: 17. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/uploads/2020/10/13/20201013-hemovigilance-rapport-2020.pdf>
 40. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. 18ème rapport national d'hémovigilance [Internet]. 2021 déc [cité 19 févr 2023] p. 180. Report No.: 18. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/uploads/2021/12/08/20211208-rapport-hemovigilance-2020-vf.pdf>
 41. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. 19ème rapport national d'hémovigilance [Internet]. 2022 déc [cité 19 févr 2023] p. 197. Report No.: 19. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/uploads/2022/12/07/20221207-rapport-hemovigilance-2021.pdf>
 42. WHO Expert Committee. The selection and use of essential medicines: report of the WHO Expert Committee. Geneva: World Health Organization; 2013. Report No.: 985.
 43. Roberts N, James S, Delaney M, Fitzmaurice C. The global need and availability of blood products: a modelling study. Lancet Haematol. déc 2019;6(12):e606-15.
 44. Monsellier M. Le don bénévole, volontaire, et non rémunéré ; état des

- lieux et perspectives. *Transfus Clin Biol.* 1 sept 2017;24(3):196-9.
45. EFS. Etablissement français du sang. 2022 [cité 27 mars 2022]. Don de sang : il y a urgence à donner dès maintenant ! Disponible sur: <https://dondesang.efs.sante.fr/don-de-sang-il-y-urgence-donner-des-maintenant>
46. AABB, America's Blood Centers, American Red Cross. Joint Statement: Blood Donors Urgently Needed this Holiday Season. 2021.
47. AABB. AABB - Association for the Advancement of Blood & Biotherapies. 2022 [cité 27 mars 2022]. Weekly Blood Supply Report. Disponible sur: <https://www.aabb.org/for-donors-patients/weekly-blood-supply-report>
48. The American National Red Cross. Red Cross: National blood crisis may put patients at risk [Internet]. 2022 [cité 27 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.redcrossblood.org/local-homepage/news/article/red-cross-national-blood-crisis-may-put-patients-at-risk.html>
49. EFS. Etablissement français du sang. 2016 [cité 24 avr 2022]. Les besoins au quotidien. Disponible sur: <https://dondesang.efs.sante.fr/comprendre-quoi-servent-les-dons-de-sang/les-besoins-au-quotidien>
50. Institut national de la statistique et des études économiques. Population au 1er janvier - Données annuelles de 1990 à 2023 [Internet]. 2023 [cité 15 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.insee.fr/fr/statistiques/5225246>
51. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Rapport Annuel 2002 Unité Hémovigilance. 2008 sept p. 63.
52. Oge T, Kilic CH, Kilic GS. Economic Impact of Blood Transfusions: Balancing Cost and Benefits. *Eurasian J Med.* févr 2014;46(1):47-9.
53. Toner RW, Pizzi L, Leas B, Ballas SK, Quigley A, Goldfarb NI. Costs to hospitals of acquiring and processing blood in the US. *Appl Health Econ Health Policy.* 1 janv 2011;9(1):29-37.
54. Capdevila X, Biboulet P, Lasocki S. « Patient Blood Management » : gestion personnalisée du capital sanguin du patient en périopératoire. *Anesth Réanimation.* 1 nov 2020;6(6):570-80.
55. Capdevila X, Biboulet P, Lasocki S. L-34 PBM - Gestion Personnalisée du Capital Sanguin du Patient en Péri-opératoire. *Transfus Clin Biol.* 1 nov 2022;29(4):319-20.
56. H.A.S. Haute Autorité de Santé. Commission de la Transparence Avis 30 juin 2021 acide tranexamique EXACYL 0,5 g/5 mL I.V., solution injectable [Internet]. 2021 juin [cité 18 août 2023] p. 48. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-19201_EXACYL_PIC_%20EI_Avisdef_CT19201.pdf
57. H.A.S. Haute Autorité de Santé. Gestion du capital sanguin en pré, per et post opératoire et en obstétrique [Internet]. Saint-Denis La Plaine; 2022. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3193968/fr/gestion-du-capital-sanguin-en-pre-per-et-post-operatoire-et-en-obstetrique
58. Hébert PC, Wells G, Blajchman MA, Marshall J, Martin C, Pagliarello G, et al. A Multicenter, Randomized, Controlled Clinical Trial of Transfusion Requirements in Critical Care. *N Engl J Med.* 11 févr 1999;340(6):409-17.

59. Liu H, Kaye AD, Verbeek T, Brennan K, Dalal R, McQuillan P, et al. Classifications of Blood Substitutes. In: Liu H, Kaye AD, Jahr JS, éditeurs. *Blood Substitutes and Oxygen Biotherapeutics* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2022. p. 119-29. Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-3-030-95975-3_11
60. Ferenz K, Karaman O, Shah SB. Chapter 17 - Artificial red blood cells. In: Denizli A, Nguyen TA, Rajan M, Alam MF, Rahman K, éditeurs. *Nanotechnology for Hematology, Blood Transfusion, and Artificial Blood* [Internet]. Elsevier; 2022. p. 397-427. (Micro and Nano Technologies). Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128239711000180>
61. Chen L, Yang Z, Liu H. Hemoglobin-Based Oxygen Carriers: Where Are We Now in 2023? *Medicina (Mex)*. févr 2023;59(2):396.
62. Mohanto N, Park YJ, Jee JP. Current perspectives of artificial oxygen carriers as red blood cell substitutes: a review of old to cutting-edge technologies using in vitro and in vivo assessments. *J Pharm Investig*. 1 janv 2023;53(1):153-90.
63. Chen JY, Scerbo M, Kramer G. A review of blood substitutes: examining the history, clinical trial results, and ethics of hemoglobin-based oxygen carriers. *Clin Sao Paulo Braz*. 2009;64(8):803-13.
64. Hemoglobin Oxygen Therapeutics LLC. HbO2 Therapeutics. 2022 [cité 10 juill 2023]. Hemopure. Disponible sur: <https://www.hbo2therapeutics.com/our-product>
65. Rémy B, Deby-Dupont G, D'Ans V, Ernest P, Lamy M. Substituts des globules rouges: émulsions de fluorocarbures et solutions d'hémoglobine. *Ann Fr Anesth Reanim*. févr 1999;18(2):211-24.
66. Riisgård HU, Banta GT. Irrigation and deposit feeding by the lugworm *Arenicola marina*, characteristics and secondary effects on the environment. A review of current knowledge. *Vie Milieu Life Environ*. 1998;243-57.
67. Bánki O, Roskov Y, Döring M, Ower G, Vandepitte L, Hobern D, et al. Catalogue of Life Checklist [Internet]. Leiden, Netherlands: Catalogue of Life; 2023 [cité 16 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.checklistbank.org/datas/et/9893>
68. de Vienne DM. Lifemap: Exploring the Entire Tree of Life. *PLoS Biol*. déc 2016;14(12):e2001624.
69. Zal F, Green BN, Lallier FH, Vinogradov SN, Toulmond A. Quaternary Structure of the Extracellular Haemoglobin of the Lugworm *Arenicola marina*. *Eur J Biochem*. 1997;243(1-2):85-92.
70. Royer WE, Omartian MN, Knapp JE. Low resolution crystal structure of *Arenicola erythrocytorin*: influence of coiled coils on the architecture of a megadalton respiratory protein. *J Mol Biol*. 5 janv 2007;365(1):226-36.
71. Bateman JB, Hsu SS, Knudsen JP, Yudowitch KL. Hemoglobin spacing in erythrocytes. *Arch Biochem Biophys*. 1 août 1953;45(2):411-22.
72. Weydert CJ, Cullen JJ. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nat Protoc*. janv 2010;5(1):51-66.

73. Haas F de, Taveau JC, Boisset N, Lambert O, Vinogradov SN, Lamy JN. Three-dimensional Reconstruction of the Chlorocruorin of the Polychaete Annelid *Eudistylia vancouverii*. *J Mol Biol.* 12 janv 1996;255(1):140-53.
74. Biomolecules 101. Oxygen transport proteins. The colors of blood [Internet]. 2020 [cité 18 juin 2023]. Disponible sur: <https://biomolecules101.wordpress.com/2020/01/17/oxygen-transport-proteins-the-colors-of-blood/>
75. Pallavicini A, Negrisolo E, Barbato R, Dewilde S, Ghiretti-Magaldi A, Moens L, et al. The Primary Structure of Globin and Linker Chains from the Chlorocruorin of the Polychaete *Sabella spallanzanii* *. *J Biol Chem.* 13 juill 2001;276(28):26384-90.
76. Hemarina. Une innovation de rupture majeure pour les greffes d'organes. [Internet]. 2022 [cité 21 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.hemarina.com/lunion-europeenne-reconnait-le-premier-transporteur-doxygene-universel/>
77. Hemarina. Instructions for use HEMO2life® 1g Additive to hypothermic graft preservation solutions [Internet]. 2022 [cité 21 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.hemarina.com/wp-content/uploads/2022/09/Hemo2life-Instructions-for-Use.pdf>
78. Hemarina. Summary of Safety and Clinical Performance HEMO2life® 1g Additive to hypothermic graft preservation solutions. 2022.
79. Caron S. L'oxygène est dans le ver [Internet]. Découverte. Radio-Canada; 2022 [cité 23 juin 2023]. Disponible sur: <https://ici.radio-canada.ca/tele/decouverte/site/segments/reportage/387452/ver-marin-oxygene-greffe-organe-decouverte>
80. Hemarina. Hemarina. 2023 [cité 27 oct 2023]. La ferme aquacole de Noirmoutier, élevage de vers marins. Disponible sur: <https://www.hemarina.com/hemarina/la-ferme-aquacole/>
81. Bahrin SSS, Noor SNFM, Noordin SS, Najib MNM, Zabidi MA. Classification of blood substitutes. *J Health Transl Med JUMMEC.* 6 juin 2023;261-77.
82. Charbe NB, Castillo F, Tambuwala MM, Prasher P, Chellappan DK, Carreño A, et al. A new era in oxygen therapeutics? From perfluorocarbon systems to haemoglobin-based oxygen carriers. *Blood Rev.* juill 2022;54:100927.
83. Latson GW. Perftoran (Vidaphor)—Introduction to Western Medicine. *Shock.* oct 2019;52(1S):65-9.
84. Rousseau GF, Giarratana MC, Douay L. Large-scale production of red blood cells from stem cells: what are the technical challenges ahead? *Biotechnol J.* janv 2014;9(1):28-38.
85. Pellegrin S, Severn CE, Tuye AM. Towards manufactured red blood cells for the treatment of inherited anemia. *Haematologica.* 27 mai 2021;106(9):2304-11.
86. Kweon S, Kim S, Baek EJ. Current status of red blood cell manufacturing in 3D culture and bioreactors. *Blood Res.* 7 avr 2023;58(S1):S46-51.
87. Etablissement Français du Sang. First Pilot Study Evaluating the Life Span of Autologous Cultured Red Blood Cells (cRBC) Generated From Peripheral Stem Cells in Three Healthy Volunteers - Feasibility Study [Internet]. clinicaltrials.gov;

- 2012 nov [cité 12 juill 2023]. Report No.: NCT00929266. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT00929266>
88. National Health Service Blood and Transplant. Recovery and survival of stem cell originated red cells [Internet]. Addenbrooke's Hospital, Cambridge, UK: NHSBT; 2023 avr [cité 16 juill 2023]. Report No.: ISRCTN42886452. Disponible sur: <https://www.isrctn.com/ISRCTN42886452>
 89. AcaStat Software. Applied Statistics Handbook. 2015 [cité 15 août 2022]. Coefficients for Measuring Association. Disponible sur: <http://www.acastat.com/statbook/chiqassoc.htm>
 90. Zaiontz C. Real Statistics Using Excel. 2014 [cité 15 août 2022]. Effect Size Chi-square Test | Real Statistics Using Excel. Disponible sur: <https://www.real-statistics.com/chi-square-and-f-distributions/effect-size-chi-square/>
 91. Le Quéau P, Labarthe F, Zerbib O. MODULE 6 : Deux variables sont-elles liées ? [Internet]. 2017 [cité 15 août 2022]. Disponible sur: <https://lms.fun-mooc.fr/asset-v1:grenoblealpes+92001+session01+type@asset+block/mod6-cap3.pdf>
 92. Community Research and Development Information Service. CORDIS | European Commission. 2023 [cité 4 oct 2023]. Genomics and Blood Substitutes for 21st Century Europe - EUROBLOODSUBSTITUTES Project. Disponible sur: <https://cordis.europa.eu/project/id/503023>
 93. Ferguson E, Prowse C, Townsend E, Spence A, Hilten JA van, Lowe K. Acceptability of blood and blood substitutes. *J Intern Med.* mars 2008;263(3):244-55.
 94. Fleming P, Ferguson E, Townsend E, Lowe KC. Perceptions in transfusion medicine: a pilot field study on risk and ethics for blood and blood substitutes. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol.* 2007;35(2):149-56.
 95. Ferguson E, Leaviss J, Townsend E, Fleming P, Lowe KC. Perceived safety of donor blood and blood substitutes for transfusion: the role of informational frame, patient groups and stress appraisals. *Transfus Med Oxf Engl.* oct 2005;15(5):401-12.
 96. European Chemicals Agency. Substances perfluoroalkylées (PFAS) [Internet]. 2023 [cité 30 juill 2023]. Disponible sur: <https://echa.europa.eu/fr/hot-topics/perfluoroalkyl-chemicals-pfas>
 97. Johner-Institute. PFAS ban: You must act immediately! [Internet]. 2023 [cité 30 juill 2023]. Disponible sur: https://www.johner-institute.com/articles/johner-institute/pfas-ban/?utm_campaign=Newsletter%20%2F%2F%20Medical%20Device%20Briefings&utm_medium=email&_hsmti=73789119&_hsenc=p2ANqtz-9ld2Xnbb0E_2EO0txqqJWkK9YtS3hHK2Uk-atUlipbkb5iEKBdy3LIZLYE9hXZA9aV1aMzmCTxFgBOvrxsO19DCtbKfTxxLLJXG9HbkENnmIJW3Rk&utm_content=73783054&utm_source=hs_email
 98. Foucart S, Mandard S. Règlement Reach : la Commission européenne reporte sine die son plan d'interdiction des produits chimiques dangereux. *Le Monde.fr* [Internet]. 17 oct 2023 [cité 24 oct 2023]; Disponible sur: <https://www.lemonde.fr/planete/article/2023/10/17/la-commission->

- europeenne-s-apprete-a-renoncer-a-son-plan-d-interdiction-des-produits-chimiques-dangereux_6194944_3244.html
99. Radio France. Règlement Reach : la Commission européenne enterre sa réforme de réglementation des produits chimiques. Franceinfo [Internet]. 19 oct 2023 [cité 24 oct 2023]; Disponible sur: https://www.francetvinfo.fr/replay-radio/dans-la-peau-de-l-info/reglement-reach-la-commission-europeenne-enterre-sa-reforme-de-reglementation-des-produits-chimiques_6101697.html
100. Shaikh A. What's Up Doc. 2022 [cité 27 oct 2023]. 3 000 transplantations grâce à 250 kilos de vers marins! Disponible sur: <https://www.whatsupdoc-lemag.fr/article/3-000-transplantations-grace-250-kilos-de-vers-marins>
101. Direction européenne de la qualité du médicament et soins de santé. 2.6.14. Essai des endotoxines bactériennes. In: Pharmacopée Européenne [Internet]. 11.0. 2022 [cité 28 oct 2023]. p. 241-5. Disponible sur: <https://pheur-edqm-eu.ressources-electroniques.univ-lille.fr/app/11-0/content/11-0/20614F.htm>
102. Harm S, Schildböck C, Strobl K, Hartmann J. An in vitro study on factors affecting endotoxin neutralization in human plasma using the Limulus amoebocyte lysate test. *Sci Rep.* 18 févr 2021;11(1):4192.
103. Langley L. Rouge, bleu, vert : l'étonnant nuancier du sang des animaux. *National Geographic* [Internet]. 3 mars 2022 [cité 18 juin 2023]; Disponible sur: <https://www.nationalgeographic.fr/animaux/rouge-bleu-vert-letonnant-nuancier-du-sang-des-animaux>
104. Parlement Européen, Conseil de l'Union Européenne. Règlement (UE) 2017/745 du Parlement européen et du Conseil du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux, modifiant la directive 2001/83/CE, le règlement (CE) n° 178/2002 et le règlement (CE) n° 1223/2009 et abrogeant les directives du Conseil 90/385/CEE et 93/42/CEE (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE.) [Internet]. OJ L avr 5, 2017. Disponible sur: <http://data.europa.eu/eli/reg/2017/745/oj/fra>
105. Direction de l'information légale et administrative. Vie publique. 2021 [cité 29 oct 2023]. Loi du 2 août 2021 relative à la bioéthique. Disponible sur: <http://www.vie-publique.fr/loi/268659-loi-2-aout-2021-bioethique-pma>
106. McHugh ML. The chi-square test of independence. *Biochem Medica.* 2013;23(2):143-9.

Annexes

Annexe 1: Questionnaire papier	94
Annexe 2: Questionnaire électronique	96
Annexe 3: Données brutes	111
Annexe 4: Analyse statistique	115

Annexe 1: Questionnaire papier



QUESTIONNAIRE SUR LES RISQUES EN SANTE PUBLIQUE DES SUBSTITUTS SANGUINS ERYTHROCYTAIRES D'ORIGINE ARTIFICIELLE

Dans le cadre de ma thèse de doctorat en pharmacie, j'effectue une enquête sur la perception par le grand public des bénéfices et des risques des produits sanguins érythrocytaires d'origine non humaine. Cette enquête dure moins de 5 minutes et est strictement anonyme. Si vous souhaitez connaître les résultats de mes travaux, je vous invite à me communiquer vos coordonnées à l'adresse suivante : simon.klinnik.etu@univ-lille.fr

Je vous remercie d'avance pour votre aide et pour la spontanéité de vos réponses.

Simon KLINNIK, Etudiant en Pharmacie

PARTIE 1 : Informations vous concernant

Les questions suivantes respectent votre anonymat, elles serviront à effectuer des analyses statistiques.

1) Votre identité de genre :

- 1 Femme Homme Autre (veuillez préciser) _____

2) Votre âge :

2 _____ ans

3) Le niveau d'étude le plus élevé que vous ayez atteint :

- 3 Sans diplôme Brevet CAP / BEP BAC
 BAC +2 / +3 BAC +4 / +5 >BAC +5

4) Combien de fois avez-vous déjà donné votre sang (dons de sang total sur les 5 dernières années) ?

- 4 Jamais 1 fois 2 à 5 fois 6 à 10 fois 11 fois ou plus

PARTIE 2 : Informations sur le sujet étudié

Les affirmations suivantes permettent de mieux comprendre l'état des connaissances du grand public sur le sujet étudié. Par conséquent, n'hésitez pas à répondre en toute sincérité.

	Je le savais
5 Il existe 3 types de dons de sang (si l'on exclut les dons de cellules souches et de granulocytes) : le don de sang total , le don de plasma (appelé plasmaphérèse) et le don de plaquettes (appelé thrombocytophérèse).	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
6 Le don de sang total permet d'obtenir principalement 3 types de produits sanguins : du plasma , des plaquettes et des globules rouges (ou érythrocytes).	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
7 Le rôle des globules rouges est l' oxygénation de l'organisme : c'est l' hémoglobine (une substance contenue dans le globule rouge) qui transporte l'oxygène vers les tissus et les organes et qui évacue le dioxyde de carbone produit par les organes.	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
8 Le concentré de globules rouges (CGR) est un produit sanguin labile produit à partir du don de sang. La transfusion de CGR est notamment utilisée pour traiter les anémies (lorsque le taux d'hémoglobine circulante est bas).	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
9 Le sang artificiel pouvant remplacer le sang total n'existe pas encore, mais il existe des produits sanguins d'origine non humaine qui reproduisent le rôle des globules rouges.	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non

PARTIE 3 : Votre avis sur les substituts des globules rouges

Cette dernière section a pour objectif de recueillir la perception du grand public sur l'acceptabilité et les risques de plusieurs substituts sanguins en comparaison avec les concentrés de globules rouges issus du don de sang. Je vous invite à lire la description de chacun des produits sanguins avant de répondre aux questions suivantes.

<p>Substitut chimique (Perfluorocarbone) C'est une molécule chimique (médicament) qui mime le rôle de l'hémoglobine dans le sang en captant l'oxygène et le dioxyde de carbone.</p> 	<p>Substitut issu de <i>Arenicola marina</i> C'est une hémoglobine issue d'un ver marin.</p> 
<p>Substitut issu de culture bactérienne C'est une hémoglobine recombinante, c'est-à-dire que le gène humain de l'hémoglobine a été inséré dans une bactérie pour qu'elle produise de l'hémoglobine humaine.</p> 	<p>Globule rouge issu de cellules souches C'est une cellule souche prélevée sur du sang de cordon ombilical qui est ensuite mise en culture en laboratoire afin d'obtenir un globule rouge utilisable chez le patient.</p> 

1) Que pensez-vous du risque associé à la transfusion de chaque produit sanguin ?

	Pas risqué du tout	Très peu risqué	Peu risqué	Sans opinion	Un peu risqué	Assez risqué	Extrêmement risqué
10 Sang issu de donneur	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
11 Perfluorocarbonés	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
12 Culture bactérienne	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
13 Ver marin	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
14 Cellules souches	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7

2) Comment évalueriez-vous l'efficacité théorique de chaque produit sanguin ?

	Inefficace	Très peu efficace	Peu efficace	Sans opinion	Un peu efficace	Assez efficace	Très efficace
15 Sang issu de donneur	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
16 Perfluorocarbonés	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
17 Culture bactérienne	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
18 Ver marin	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
19 Cellules souches	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7

3) Comment évalueriez-vous l'éthique (ou l'acceptabilité morale) de chaque produit sanguin ?

	Pas du tout éthique	Très peu éthique	Peu éthique	Sans opinion	Un peu éthique	Assez éthique	Extrêmement éthique
20 Sang issu de donneur	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
21 Perfluorocarbonés	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
22 Culture bactérienne	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
23 Ver marin	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7
24 Cellules souches	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7

4) Si vous deviez être transfusé en urgence, accepteriez-vous l'utilisation de ces produits sanguins ?

Perfluorocarbonés	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Culture bactérienne	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Ver marin	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Cellules souches	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
25		26		27		28	

PARTIE 4 : Commentaires additionnels

J'espère que cette enquête vous a intéressé et qu'elle a pu vous renseigner sur les produits sanguins artificiels. N'hésitez pas à faire part de vos remarques, vos interrogations ou toute information vous semblant utile dans l'espace ci-dessous. Merci encore pour votre participation.

29 _____

Annexe 2: Questionnaire électronique

02/06/2022 21:29

Questionnaire sur les risques en santé publique des substituts sanguins érythrocytaires d'origine artificielle



Questionnaire sur les risques en santé publique des substituts sanguins érythrocytaires d'origine artificielle

Dans le cadre de ma thèse de doctorat en pharmacie, j'effectue une enquête sur la perception par le grand public des bénéfices et des risques des produits sanguins érythrocytaires d'origine non humaine. Cette enquête dure moins de 5 minutes et est strictement anonyme.

Si vous souhaitez connaître les résultats de mes travaux, je vous invite à me communiquer vos coordonnées à l'adresse suivante : simon.klinnik.etu@univ-lille.fr

Je vous remercie d'avance pour votre aide et pour la spontanéité de vos réponses.
Simon KLINNIK, Etudiant en Pharmacie

 simon.klinnik@gmail.com (non partagé) [Changer de compte](#)



*Obligatoire

PARTIE 1 : Informations vous concernant

Les questions suivantes respectent votre anonymat, elles serviront à effectuer des analyses statistiques.

Votre identité de genre : *

Femme

Homme

Autre : _____

https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLSfNBLF-CItVfcZZInNzRmza_94dgWfDs6TaE02tSol5do9akQ/viewform

1/2

Votre âge : *

Sélectionner

Le niveau d'étude le plus élevé que vous ayez atteint : *

Sélectionner

Page 1 sur 4

Suivant

Effacer le formulaire

N'envoyez jamais de mots de passe via Google Forms.

Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google. [Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Règles de confidentialité](#)

Google Forms





Questionnaire sur les risques en santé publique des substituts sanguins érythrocytaires d'origine artificielle

 simon.klinnik@gmail.com (non partagé) [Changer de compte](#)



*Obligatoire

PARTIE 2 : Informations sur le sujet étudié

Les affirmations suivantes permettent de mieux comprendre l'état des connaissances du grand public sur le sujet étudié. Par conséquent, n'hésitez pas à répondre en toute sincérité.

Il existe 3 types de dons de sang (si l'on exclue les dons de cellules souches et de granulocytes) : le don de sang total, le don de plasma (appelé plasmaphérèse) et le don de plaquettes (appelé thrombocytophérèse). *

Oui

Non

Je le savais

Le don de sang total permet d'obtenir principalement 3 types de produits sanguins : du plasma, des plaquettes et des globules rouges (ou érythrocytes). *

Oui

Non

Je le savais

Le rôle des globules rouges est l'oxygénation de l'organisme : c'est l'hémoglobine (une substance contenue dans le globule rouge) qui transporte l'oxygène vers les tissus et les organes et qui évacue le dioxyde de carbone produit par les organes. *

Oui

Non

Je le savais

Le concentré de globules rouges (CGR) est un produit sanguin labile produit à partir du don de sang. La transfusion de CGR est notamment utilisée pour traiter les anémies (lorsque le taux d'hémoglobine circulante est bas). *

Oui

Non

Je le savais

Le sang artificiel pouvant remplacer le sang total n'existe pas encore, mais il existe des produits sanguins d'origine non humaine qui reproduisent le rôle des globules rouges. *

Oui

Non

Je le savais

[Retour](#)

[Suivant](#)

[Effacer le formulaire](#)

N'envoyez jamais de mots de passe via Google Forms.

Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google. [Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Règles de confidentialité](#)

Google Forms





Questionnaire sur les risques en santé publique des substituts sanguins érythrocytaires d'origine artificielle

 simon.klinnik@gmail.com (non partagé) [Changer de compte](#)



*Obligatoire

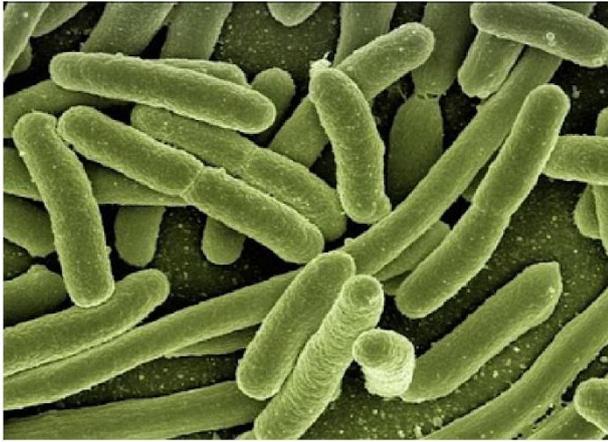
PARTIE 3 : Votre avis sur les substituts des globules rouges

Cette dernière section a pour objectif de recueillir la perception du grand public sur l'acceptabilité et les risques de plusieurs substituts sanguins en comparaison avec les concentrés de globules rouges issus du don de sang. Je vous invite à lire la description de chacun des produits sanguins avant de répondre aux questions suivantes.

Substitut chimique (Perfluorocarbène) : C'est une molécule chimique (médicament) qui mime le rôle de l'hémoglobine dans le sang en captant l'oxygène et le dioxyde de carbone.



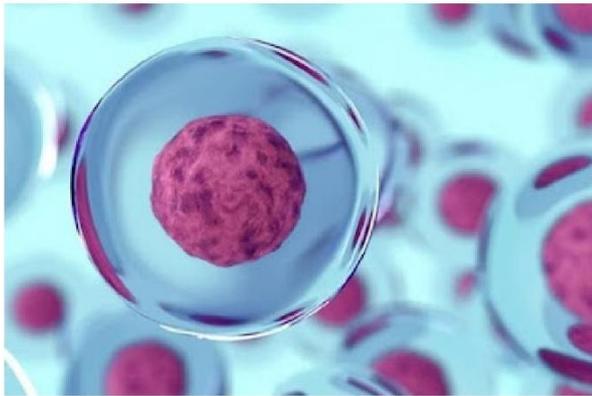
Substitut issu de culture bactérienne : C'est une hémoglobine recombinante, c'est-à-dire que le gène humain de l'hémoglobine a été inséré dans une bactérie pour qu'elle produise de l'hémoglobine humaine.



Substitut issu de *Arenicola marina* : C'est une hémoglobine issue d'un ver marin.



Globule rouge issu de cellules souches : C'est une cellule souche prélevée sur du sang de cordon ombilical qui est ensuite mise en culture en laboratoire afin d'obtenir un globule rouge utilisable chez le patient.



1) Que pensez-vous du risque associé à la transfusion de chaque produit sanguin ?

Sang issu de donneur *

Pas risqué du tout	Très peu risqué	Peu risqué	Sans opinion	Un peu risqué	Assez risqué	Extrêmement risqué
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Pas risqué du tout Extrêmement risqué

Perfluorocarbones *



Pas risqué du tout	Très peu risqué	Peu risqué	Sans opinion	Un peu risqué	Assez risqué	Extrêmement risqué
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Pas risqué du tout

Extrêmement risqué

Culture bactérienne *



Pas risqué du tout	Très peu risqué	Peu risqué	Sans opinion	Un peu risqué	Assez risqué	Extrêmement risqué
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Pas risqué du tout

Extrêmement risqué

Ver marin *



Pas risqué du tout	Très peu risqué	Peu risqué	Sans opinion	Un peu risqué	Assez risqué	Extrêmement risqué
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Pas risqué du tout

Extrêmement risqué



Cellules souches *



Pas risqué du tout	Très peu risqué	Peu risqué	Sans opinion	Un peu risqué	Assez risqué	Extrêmement risqué
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Pas risqué du tout Extrêmement risqué

2) Comment évalueriez-vous l'efficacité théorique de chaque produit sanguin ?

Sang issu de donneur *

Inefficace	Très peu efficace	Peu efficace	Sans opinion	Un peu efficace	Assez efficace	Très efficace
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Inefficace Très efficace

Perfluorocarbones *



Inefficace	Très peu efficace	Peu efficace	Sans opinion	Un peu efficace	Assez efficace	Très efficace
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Inefficace Très efficace

Culture bactérienne *



Inefficace	Très peu efficace	Peu efficace	Sans opinion	Un peu efficace	Assez efficace	Très efficace
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Inefficace Très efficace

Ver marin *



Inefficace	Très peu efficace	Peu efficace	Sans opinion	Un peu efficace	Assez efficace	Très efficace
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Inefficace Très efficace

Cellules souches *



Inefficace	Très peu efficace	Peu efficace	Sans opinion	Un peu efficace	Assez efficace	Très efficace
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Inefficace Très efficace

3) Comment évalueriez-vous l'éthique (ou l'acceptabilité morale) de chaque produit sanguin ?



Sang issu de donneur *

Pas du tout éthique	Très peu éthique	Peu éthique	Sans opinion	Un peu éthique	Assez éthique	Extrêmement éthique
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Pas du tout éthique Extrêmement éthique

Perfluorocarbones *



Pas du tout éthique	Très peu éthique	Peu éthique	Sans opinion	Un peu éthique	Assez éthique	Extrêmement éthique
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Pas du tout éthique Extrêmement éthique

Culture bactérienne *



Pas du tout éthique	Très peu éthique	Peu éthique	Sans opinion	Un peu éthique	Assez éthique	Extrêmement éthique
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Pas du tout éthique Extrêmement éthique

Ver marin *





Pas du tout éthique	Très peu éthique	Peu éthique	Sans opinion	Un peu éthique	Assez éthique	Extrêmement éthique
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Pas du tout éthique Extrêmement éthique

Cellules souches *



Pas du tout éthique	Très peu éthique	Peu éthique	Sans opinion	Un peu éthique	Assez éthique	Extrêmement éthique
1	2	3	4	5	6	7

1 2 3 4 5 6 7

Pas du tout éthique Extrêmement éthique

4) Si vous deviez être transfusé en urgence, accepteriez-vous l'utilisation de ces produits sanguins ? *

Oui

Non

Perfluorocarbones

Culture bactérienne

Ver marin

Cellules souches

Page 3 sur 4

Retour

Suivant

Effacer le formulaire

N'envoyez jamais de mots de passe via Google Forms.

Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google. [Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Règles de confidentialité](#)



Google Forms







Questionnaire sur les risques en santé publique des substituts sanguins érythrocytaires d'origine artificielle

 simon.klinnik@gmail.com (non partagé) [Changer de compte](#)



PARTIE 4 : Commentaires additionnels

J'espère que cette enquête vous a intéressé et qu'elle a pu vous renseigner sur les produits sanguins artificiels. N'hésitez pas à faire part de vos remarques, vos interrogations ou toute information vous semblant utile dans l'espace ci-dessous. Merci encore pour votre participation.

Commentaires

Votre réponse

Page 4 sur 4

[Retour](#)

[Envoyer](#)

[Effacer le formulaire](#)

N'envoyez jamais de mots de passe via Google Forms.

Ce contenu n'est ni rédigé, ni cautionné par Google. [Signaler un cas d'utilisation abusive](#) - [Conditions d'utilisation](#) - [Règles de confidentialité](#)

Google Forms

Annexe 3: Données brutes

Les sujets n°1 à 44 ont répondu au questionnaire sous format électronique.

Les sujets n°45 à 63 ont répondu au questionnaire sous format papier.

Dans un souci de lisibilité, l'intitulé des questions n'a pas été repris dans l'affichage des données brutes. Chaque question est représentée par un numéro de 1 à 29. La correspondance des nombres et des questions est disponible en Annexe 1: Questionnaire papier.

Question n°4 : il manque des données pour les sujets 1 à 44. Cela s'explique par le fait que la question n°4 (« *Combien de fois avez-vous déjà donné votre sang (dons de sang total sur les 5 dernières années) ?* ») a été oubliée lors de la création du questionnaire électronique : les répondants du questionnaire électronique n'ont pas pu répondre à cette question.

Questions n°20 à 28 : le sujet n°63 n'a pas répondu à ces questions.

Sujet	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	Femme	28	BAC +2 / +3		Oui	Oui	Oui	Non	Oui	1	4	6	6	3
2	Femme	49	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	3	6	5	4	3
3	Femme	48	BAC +2 / +3		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	2	5	6	7	2
4	Femme	26	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	6	4	3	3	4
5	Femme	27	BAC +2 / +3		Oui	Oui	Oui	Non	Non	2	3	2	2	2
6	Femme	32	> BAC +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	3	3	3	3	2
7	Homme	22	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	5	2	5	7	6
8	Femme	23	BAC +2 / +3		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	3	4	6	6	4
9	Homme	20	BAC +2 / +3		Non	Oui	Oui	Non	Non	2	4	4	6	4
10	Homme	25	> BAC +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	2	4	4	4	4
11	Femme	47	BAC		Non	Oui	Oui	Oui	Non	5	5	5	5	5
12	Femme	45	BAC		Oui	Oui	Oui	Non	Non	4	4	4	4	5
13	Femme	52	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	3	3	6	4	1
14	Homme	39	> BAC +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	5	6	7	5	5
15	Homme	44	> BAC +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	2	3	2	5	1
16	Femme	20	BAC +2 / +3		Oui	Oui	Non	Non	Non	2	4	5	6	3
17	Femme	42	Brevet		Non	Oui	Oui	Oui	Oui	4	4	5	4	4
18	Femme	46	BAC		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	2	6	6	6	6
19	Homme	26	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Non	Oui	Non	1	3	3	3	2
20	Femme	33	> BAC +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	2	3	2	4	2
21	Homme	36	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	3	5	2	2	2
22	Homme	34	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	3	5	5	3	1
23	Homme	33	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	1	5	3	5	2
24	Femme	50	CAP / BEP		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	4	5	6	5	5
25	Femme	40	BAC		Non	Oui	Non	Non	Non	3	3	3	3	3

Sujet	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
26	Homme	29	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	3	3	3	3	3
27	Femme	29	> BAC +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	1	4	6	3	5
28	Femme	21	BAC		Non	Oui	Non	Non	Non	2	6	5	4	3
29	Homme	33	BAC +2 / +3		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	2	2	2	2	2
30	Femme	42	BAC +2 / +3		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	2	6	7	6	2
31	Femme	27	BAC +2 / +3		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	2	6	6	3	2
32	Femme	31	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	2	5	5	3	2
33	Femme	45	> BAC +5		Oui	Oui	Oui	Non	Non	1	1	5	5	1
34	Femme	27	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	2	4	4	4	3
35	Femme	42	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	4	6	6	6	4
36	Femme	39	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	5	6	6	6	2
37	Femme	34	BAC		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	3	4	5	5	2
38	Femme	41	CAP / BEP		Non	Non	Non	Non	Non	5	5	5	4	4
39	Femme	28	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	2	2	1	3	2
40	Homme	28	BAC		Non	Oui	Non	Non	Non	3	3	3	4	3
41	Femme	40	BAC		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	2	5	5	3	2
42	Femme	34	> BAC +5		Oui	Oui	Oui	Non	Non	2	5	4	3	2
43	Homme	30	BAC +4 / +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Non	1	3	5	6	3
44	Femme	28	> BAC +5		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	2	3	6	6	3
45	Homme	43	BAC +4 / +5	11 fois ou plus	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	3	7	7	6	5
46	Homme	25	BAC +4 / +5	Jamais	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	3	4	3	3	4
47	Femme	29	BAC +4 / +5	6 à 10 fois	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	2	3	4	3	2
48	Homme	30	BAC +4 / +5	6 à 10 fois	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	1	3	1	1	1
49	Homme	70	> BAC +5	11 fois ou plus	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	1	4	4	4	4
50	Femme	27	BAC +4 / +5	2 à 5 fois	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	3	6	3	6	3
51	Femme	60	> BAC +5	Jamais	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	2	1	2	2	2
52	Homme	25	BAC +4 / +5	11 fois ou plus	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	2	3	5	5	2
53	Femme	24	BAC +4 / +5	6 à 10 fois	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	2	4	3	3	2
54	Femme	51	Sans diplôme	2 à 5 fois	Oui	Oui	Non	Non	Non	2	4	4	2	2
55	Femme	21	BAC +2 / +3	2 à 5 fois	Oui	Oui	Oui	Non	Non	1	5	5	5	5
56	Homme	27	BAC +4 / +5	6 à 10 fois	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	2	2	3	4	4
57	Femme	48	BAC	6 à 10 fois	Oui	Oui	Non	Non	Non	1	3	3	3	1
58	Femme	53	CAP / BEP	6 à 10 fois	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	2	4	3	4	2
59	Femme	49	CAP / BEP	2 à 5 fois	Oui	Oui	Non	Oui	Non	4	4	4	4	4
60	Homme	39	BAC +4 / +5	6 à 10 fois	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	2	4	3	2	3
61	Femme	47	BAC	2 à 5 fois	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	2	4	2	4	4
62	Homme	40	BAC +2 / +3	6 à 10 fois	Oui	Oui	Oui	Non	Non	1	3	5	5	3
63	Homme	75	BAC	2 à 5 fois	Non	Oui	Oui	Non	Non	4	4	4	4	4

Sujet	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
1	7	5	2	2	6	7	3	5	5	5	Non	Non	Non	Oui	<input type="checkbox"/>
2	7	4	4	3	7	7	3	4	4	5	Non	Non	Non	Oui	
3	7	4	4	2	6	7	5	6	3	6	Non	Non	Non	Oui	
4	7	5	5	5	5	5	5	5	5	6	Non	Non	Non	Oui	
5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	Oui	Oui	Oui	Oui	
6	7	7	6	6	7	7	7	7	7	6	Oui	Oui	Oui	Oui	
7	5	5	5	4	5	7	3	3	3	6	Oui	Oui	Oui	Oui	
8	6	5	3	3	3	7	7	7	7	7	Oui	Oui	Non	Oui	
9	7	4	4	3	4	7	5	4	1	2	Oui	Oui	Non	Non	
10	6	5	5	4	6	7	6	6	6	6	Oui	Oui	Non	Oui	
11	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	Non	Non	Non	Non	
12	4	4	4	4	4	5	5	5	4	5	Non	Non	Non	Non	
13	7	7	6	6	7	7	7	6	6	7	Oui	Oui	Oui	Oui	
14	7	4	4	4	6	5	6	7	7	6	Non	Non	Non	Oui	
15	7	5	4	3	6	7	5	4	4	6	Non	Non	Non	Oui	
16	7	6	5	4	3	7	6	6	4	5	Non	Oui	Non	Oui	
17	4	5	4	4	4	4	5	5	4	4	Non	Non	Non	Non	
18	4	5	5	5	5	1	5	5	5	5	Non	Non	Non	Non	
19	7	4	5	5	5	7	6	6	6	6	Oui	Oui	Oui	Oui	
20	6	5	7	5	6	6	7	6	4	5	Oui	Oui	Oui	Oui	
21	7	5	6	7	6	7	2	6	5	6	Oui	Oui	Oui	Oui	
22	7	4	4	6	7	7	6	6	7	6	Oui	Oui	Oui	Oui	Super, j ai appris des choses.
23	7	4	4	4	4	7	3	4	4	5	Non	Non	Non	Oui	Intéressant mais questions pas évidentes.
24	5	4	6	5	5	5	5	5	5	5	Non	Non	Oui	Non	
25	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	Oui	Oui	Oui	Oui	
26	7	7	7	7	7	6	6	6	4	7	Oui	Oui	Oui	Oui	
27	7	5	4	5	6	7	7	7	6	7	Oui	Non	Oui	Oui	
28	6	4	4	4	4	4	4	4	4	4	Non	Non	Non	Non	
29	3	2	2	2	1	2	2	2	2	2	Oui	Oui	Oui	Oui	
30	7	4	4	4	4	7	7	3	3	7	Non	Non	Oui	Oui	
31	7	4	4	5	7	7	3	5	5	7	Non	Non	Oui	Oui	
32	7	5	5	5	6	6	5	6	6	6	Oui	Oui	Oui	Oui	
33	7	7	5	4	7	7	7	7	7	7	Oui	Oui	Oui	Oui	
34	7	4	4	4	5	6	6	6	6	6	Oui	Oui	Oui	Oui	
35	6	6	7	7	7	5	7	5	5	6	Oui	Oui	Oui	Oui	
36	7	5	5	6	7	6	6	5	5	6	Oui	Oui	Oui	Oui	
37	6	6	6	4	5	5	5	5	5	5	Oui	Oui	Oui	Oui	
38	4	4	4	4	4	4	5	4	4	5	Non	Non	Non	Non	
39	7	7	7	6	7	7	7	7	7	7	Oui	Oui	Oui	Oui	
40	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	Oui	Oui	Oui	Oui	
41	7	4	5	5	7	7	6	6	1	6	Oui	Oui	Non	Oui	
42	7	4	4	6	7	6	4	6	4	6	Oui	Oui	Oui	Oui	
43	6	6	5	4	7	7	4	4	2	5	Oui	Non	Non	Oui	

Sujet	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
44	7	6	5	5	6	7	6	5	3	6	Oui	Oui	Oui	Oui	Très intéressant comme réflexions. Propositions : 1. Ajouts du domaine de formation des participants dans la partie 1 (réponses peuvent être axées selon leurs connaissances propres dans le domaine). 2. Peut-être demander aux participants une justification des réponses notamment pour les questions de la page 3 : notation peut être influencée par la façon de voir les choses. Exemple : efficacité d'utilisation d'un substitut pour synthétiser l'hémoglobine --> le rapport temps/quantité d'hémoglobine produite par chacun des substituts peut impacter la décision de la notation de l'alternative vs l'efficacité propre/biologique de cette alternative.
45	7	4	4	4	5	6	4	4	4	4	Non	Non	Non	Non	
46	7	5	5	5	4	7	5	3	4	4	Oui	Non	Non	Non	
47	7	5	4	6	6	7	2	3	5	6	Non	Oui	Oui	Non	
48	7	6	7	7	7	7	6	7	7	7	Non	Oui	Oui	Oui	
49	7	4	4	4	4	7	4	4	4	4	Non	Non	Non	Oui	
50	7	5	5	5	6	7	6	6	5	7	Non	Oui	Non	Oui	
51	7	6	6	6	7	7	7	7	7	7	Oui	Oui	Oui	Oui	Merci SIMON !
52	7	6	4	4	7	7	7	7	7	7	Oui	Oui	Oui	Oui	
53	6	4	5	5	7	7	7	7	7	7	Oui	Oui	Oui	Oui	
54	4	4	4	4	4	2	2	2	2	2	Oui	Oui	Oui	Oui	
55	7	6	6	6	6	7	7	7	7	7	Oui	Oui	Oui	Oui	
56	7	4	4	4	4	7	4	4	3	6	Oui	Oui	Oui	Oui	Dans l'idée je suis pour tout type de transfusion tant que les produits ont été approuvés
57	7	4	4	4	7	6	6	6	4	6	Oui	Oui	Non	Oui	
58	7	6	6	4	6	6	6	6	4	6	Oui	Oui	Non	Oui	
59	7	4	4	4	4	4	4	4	4	4	Oui	Oui	Non	Oui	
60	7	4	4	6	4	7	4	4	6	5	Non	Non	Oui	Oui	
61	6	4	4	4	4	6	4	4	5	5	Non	Non	Non	Oui	
62	7	6	6	3	7	7	5	2	3	7	Oui	Non	Non	Oui	
63	6	6	6	6	6										Je fais confiance au médecin.

Annexe 4: Analyse statistique

Partie 1 – Informations de l'échantillon étudié

L'ensemble des résultats de la partie statistique descriptive est disponible dans le **Tableau 4** (voir section 4.2.1).

Aucune statistique inférentielle n'est faite dans la partie 1.

Partie 2 – Evaluation du niveau de connaissance général

Problématique

2 variables qualitatives sont évaluées {études supérieures ; niveau de connaissance}.

Chaque variable comporte **2 modalités** : pour les études supérieures {oui ; non} et pour le niveau de connaissance {faible ; important}. Des regroupements ont été faits pour les 2 variables. Concernant la variable « études supérieures » : 2 groupes composés de : ceux ayant fait des études supérieures {BAC +2 / +3 ; BAC +4 / +5 ; >BAC +5} et ceux n'ayant pas fait d'études supérieures {Sans diplôme, Brevet ; CAP / BEP ; BAC}. Concernant la variable « niveau de connaissance » : 2 groupes composés de : ceux ayant un niveau de connaissance important {3 ; 4 ; 5} et ceux ayant un niveau de connaissance faible {0 ; 1 ; 2}.

1 échantillon de **63 individus** ($n = 63$). La répartition des effectifs est disponible dans le **Tableau 6** (voir section 4.2.2).

Objectif : démontrer que le niveau d'études a un impact sur le niveau de connaissance du sujet pour lequel les répondants sont interrogés.

Hypothèse de départ

Hypothèse nulle (H_0) : Les deux variables qualitatives sont indépendantes, c'est-à-dire que le niveau de connaissance est indépendant de la réalisation d'études supérieures. En d'autres termes, la proportion de répondants ayant un niveau de connaissance important du sujet d'étude est la même quel que soit le niveau d'études.

Hypothèse alternative (H_1) : Les deux variables qualitatives dépendent l'une de l'autre, c'est-à-dire que le niveau de connaissance dépend de la réalisation d'études supérieures. En d'autres termes, la proportion de répondants ayant un niveau de connaissance important du sujet d'étude est plus élevée chez les individus ayant fait des études supérieures (hypothèse unilatérale).

Utilisation du **test d'indépendance du Khi^2** pour répondre à l'hypothèse.

Conditions du test d'indépendance du Khi^2

La statistique χ^2 suit la loi du Khi^2 avec $v = 1$ ddl, où $v = (\text{nombre de colonnes} - 1) \times (\text{nombre de lignes} - 1)$, si les conditions suivantes sont remplies :

- 1/ L'échantillon doit être suffisamment grand ($n \geq 30$) : **l'échantillon est de taille $n = 63$.**
- 2/ 80% au moins des effectifs théoriques doivent être ≥ 5 et aucun effectif théorique ne doit être < 1 (106) : **seulement 75% des effectifs théoriques sont ≥ 5 . Cependant, aucun effectif théorique n'est < 1 et la valeur 75% est proche des 80% admis. Par**

conséquent, on considère cette condition comme remplie, sous réserve de l'application d'une correction de continuité du χ^2 et de la réalisation d'un test exact de Fisher pour comparer la statistique χ^2 obtenue.

Test d'indépendance du χ^2

Les valeurs de χ^2 sont positives ou nulles. Plus la valeur est grande et plus l'écart à l'indépendance observé sur l'échantillon est important.

Test d'indépendance du χ^2				
	Valeur	P-value	Taille de l'effet	Valeur
χ^2 de Pearson	13,75	< 0,001***	Coefficient Φ	0,47
Correction de continuité du χ^2	10,91	< 0,001***	V de Cramer	0,47
Test exact de Fisher (unilatéral)		< 0,001***		

Légende : *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$.

Le test d'indépendance du χ^2 est significatif ($p < 0,05$) : il y a une relation entre le niveau d'études et le niveau de connaissance des répondants concernant le sujet d'étude. Cette relation est modérée à forte ($0,30 \leq V \leq 0,50$).

Partie 3 – Evaluation de la perception du risque, de l'efficacité théorique et de l'éthique

Problématique

3 facteurs (Type de perceptions) sont évalués {Risque ; Efficacité théorique ; Ethique}.

5 modalités (5 types de produits sanguins) {Sang issu de don ; Perfluorocarbone ; Culture bactérienne ; Ver marin ; Cellule souche} (**k = 5**).

1 échantillon de **63 individus** (échantillon apparié avec mesures répétées) (**n = 63***).

Variable de réponse : **Score** (donnée ordinale) évaluée par une échelle de Likert à 7 niveaux.

	(SID) Sang issu de don	(PFC) Perfluorocarbone	(CB) Culture bactérienne	(VM) Ver marin	(CS) Cellule souche
Risque (n = 63)	Score : {1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7} 1 = « Pas risqué du tout » ; 7 = « Extrêmement risqué »				
Efficacité théorique (n = 63)	Score : {1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7} 1 = « Inefficace » ; 7 = « Très efficace »				
Ethique (n = 62)*	Score : {1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7} 1 = « Pas du tout éthique » ; 7 = « Extrêmement éthique »				

* 1 sujet n'a pas évalué l'éthique des produits sanguins.

Objectif : démontrer que le type de produit sanguin a un impact sur le risque, l'efficacité théorique et l'éthique perçus par les répondants.

Statistique descriptive

Perception du Risque

Risque	N	Médiane	Moyenne	SD	SEM	IC95	
						BI	BS
(SID) Sang issu de don	63	2	2,5	1,2	0,2	2,2	2,8
(PFC) Perfluorocarbone	63	4	4,0	1,3	0,2	3,7	4,4
(CB) Culture bactérienne	63	4	4,2	1,5	0,2	3,8	4,6
(VM) Ver marin	63	4	4,1	1,4	0,2	3,8	4,5
(CS) Cellule souche	63	3	3,0	1,3	0,2	2,7	3,3

Légende : N = taille de l'échantillon ; SD = écart-type ; SEM = erreur standard à la moyenne ; IC95 = intervalle de confiance à 95% ; BI = borne inférieure ; BS = borne supérieure.

Les sujets ont une perception du risque moins élevée pour le sang issu de don ($\bar{x} = 2,5 \pm 1,2$) et pour les globules rouges issus de cellules souches ($\bar{x} = 3,0 \pm 1,3$). Cependant, ils ont une perception du risque plus élevée pour les perfluorocarbones ($\bar{x} = 4,0 \pm 1,3$), l'hémoglobine issue de ver marin ($\bar{x} = 4,1 \pm 1,4$) et pour l'hémoglobine issue de la culture bactérienne ($\bar{x} = 4,2 \pm 1,5$).

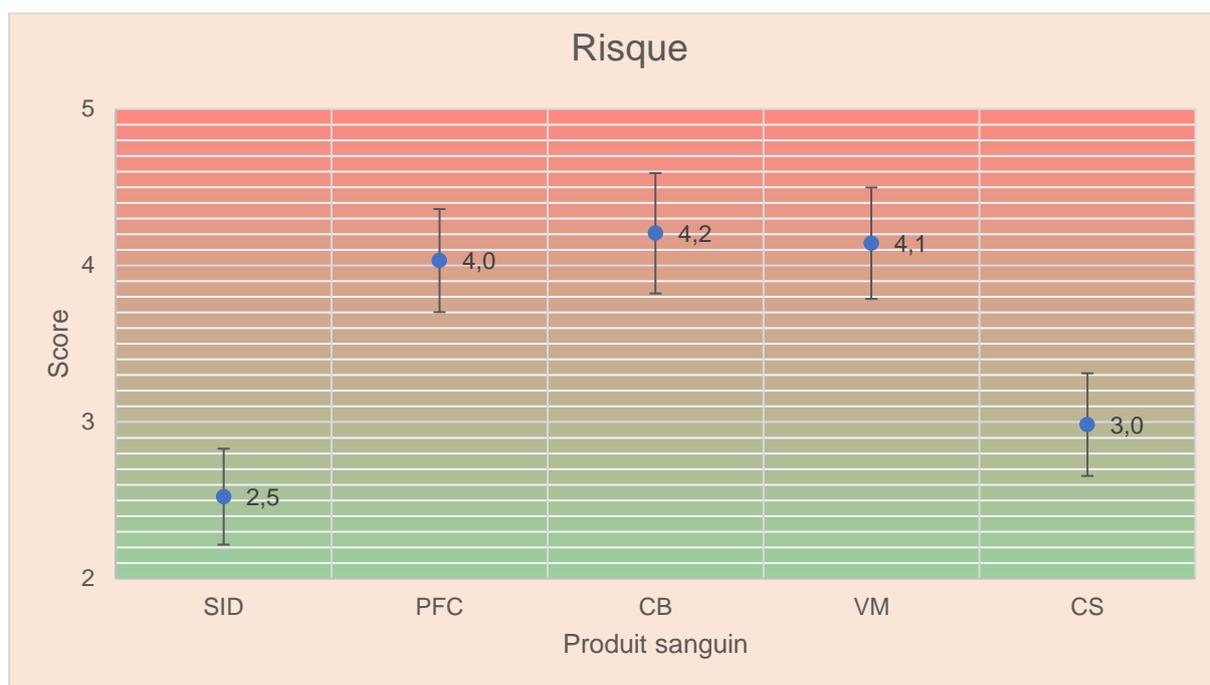


Figure 26 : Représentation graphique de l'évaluation du risque associé aux produits sanguins

Légende : SID = sang issu de don ; PFC = perfluorocarbone ; CB = culture bactérienne ; VM = ver marin ; CS = cellule souche. Les barres d'erreur correspondent à ± 2 SEM (erreur standard à la moyenne). N = 63. Un score de 1 correspond à « pas risqué du tout » et un score de 7 correspond à « extrêmement risqué ».

Perception de l'Efficacité théorique

Efficacité théorique	N	Médiane	Moyenne	SD	SEM	IC95	
						BI	BS
(SID) Sang issu de don	63	7	6,3	1,1	0,1	6,1	6,6
(PFC) Perfluorocarbone	63	5	4,9	1,1	0,1	4,6	5,2
(CB) Culture bactérienne	63	5	4,8	1,1	0,1	4,5	5,1
(VM) Ver marin	63	4	4,6	1,2	0,2	4,3	4,9
(CS) Cellule souche	63	6	5,5	1,4	0,2	5,1	5,8

Légende : N = taille de l'échantillon ; SD = écart-type ; SEM = erreur standard à la moyenne ; IC95 = intervalle de confiance à 95% ; BI = borne inférieure ; BS = borne supérieure.

Les sujets ont une perception de l'efficacité théorique plus élevée pour le sang issu de don ($\bar{x} = 6,3 \pm 1,1$) en comparaison avec les globules rouges issus de cellules souches perçus comme plus faible ($\bar{x} = 5,5 \pm 1,1$), tout comme les perfluorocarbones ($\bar{x} = 4,9 \pm 1,1$), l'hémoglobine issue de ver marin ($\bar{x} = 4,8 \pm 1,1$) et l'hémoglobine issue de la culture bactérienne ($\bar{x} = 4,6 \pm 1,2$) également perçus comme moins efficaces.

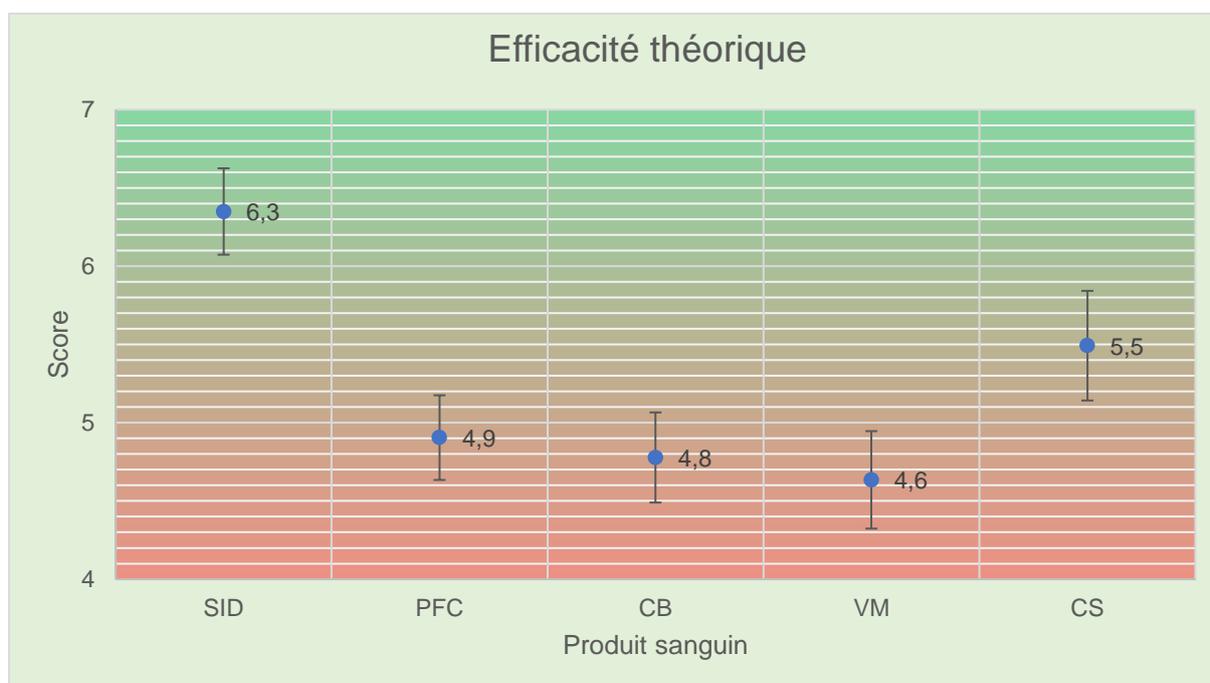


Figure 27 : Représentation graphique de l'évaluation de l'efficacité théorique associée aux produits sanguins

Légende : SID = sang issu de don ; PFC = perfluorocarbone ; CB = culture bactérienne ; VM = ver marin ; CS = cellule souche. Les barres d'erreur correspondent à ± 2 SEM (erreur standard à la moyenne). N = 63. Un score de 1 correspond à « inefficace » et un score de 7 correspond à « très efficace ».

Perception de l'Éthique

Éthique	N	Médiane	Moyenne	SD	SEM	IC95	
						BI	BS
(SID) Sang issu de don	62	7	6,1	1,4	0,2	5,7	6,4
(PFC) Perfluorocarbone	62	5	5,1	1,5	0,2	4,8	5,5
(CB) Culture bactérienne	62	5	5,1	1,4	0,2	4,8	5,5
(VM) Ver marin	62	5	4,7	1,6	0,2	4,3	5,1
(CS) Cellule souche	62	6	5,6	1,3	0,2	5,3	5,9

Légende : N = taille de l'échantillon ; SD = écart-type ; SEM = erreur standard à la moyenne ; IC95 = intervalle de confiance à 95% ; BI = borne inférieure ; BS = borne supérieure.

Les sujets ont une perception de l'éthique plus élevée pour le sang issu de don ($\bar{x} = 6,1 \pm 1,4$) par rapport aux perfluorocarbones ($\bar{x} = 5,1 \pm 1,5$), à l'hémoglobine issue de ver marin ($\bar{x} = 4,7 \pm 1,6$) et à l'hémoglobine issue de la culture bactérienne ($\bar{x} = 5,1 \pm 1,4$). La perception de l'éthique n'est pas différente entre le sang issu du don de sang et les globules rouges issus de cellules souches ($\bar{x} = 5,6 \pm 1,3$) tout comme avec les perfluorocarbones et l'hémoglobine issue de la culture bactérienne. Seule l'hémoglobine issue de ver marin est perçue comme moins éthique que les globules rouges issus de cellules souches.

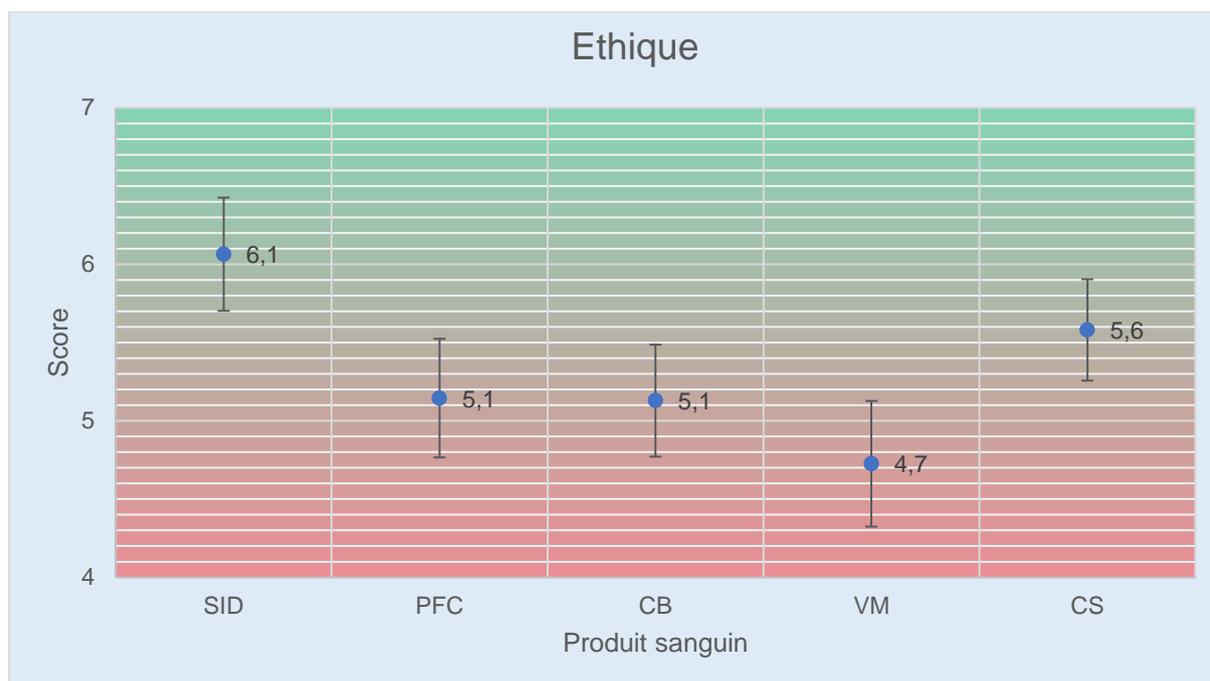


Figure 28 : Représentation graphique de l'évaluation de l'éthique associée aux produits sanguins

Légende : SID = sang issu de don ; PFC = perfluorocarbone ; CB = culture bactérienne ; VM = ver marin ; CS = cellule souche. Les barres d'erreur correspondent à ± 2 SEM (erreur standard à la moyenne). N = 62. Un score de 1 correspond à « pas du tout éthique » et un score de 7 correspond à « extrêmement éthique ».

Conclusion

Bien que les observations faites dans cette section fassent émerger plusieurs tendances dans la perception des produits sanguins érythrocytaires d'origine artificielle, la partie suivante vise à confirmer statistiquement les observations.

Statistique inférentielle

Objectif : pour chaque facteur (Risque, Efficacité théorique, Ethique) : démontrer qu'il y a une différence dans le score moyen associé à chaque produit sanguin.

Perception du Risque

Hypothèse de départ

Variables de réponse : score moyen de la perception du risque en population :

✓ μ_{SID} ; μ_{PFC} ; μ_{CB} ; μ_{VM} ; μ_{CS}

Hypothèse :

- H_0 : la condition $\mu_{SID} = \mu_{PFC} = \mu_{CB} = \mu_{VM} = \mu_{CS}$ est vraie.
- H_1 : la condition $\mu_{SID} = \mu_{PFC} = \mu_{CB} = \mu_{VM} = \mu_{CS}$ n'est pas vraie.

Utilisation de ANOVA (comparaison de variances) pour répondre à l'hypothèse : **ANOVA à un facteur pour mesures appariées.**

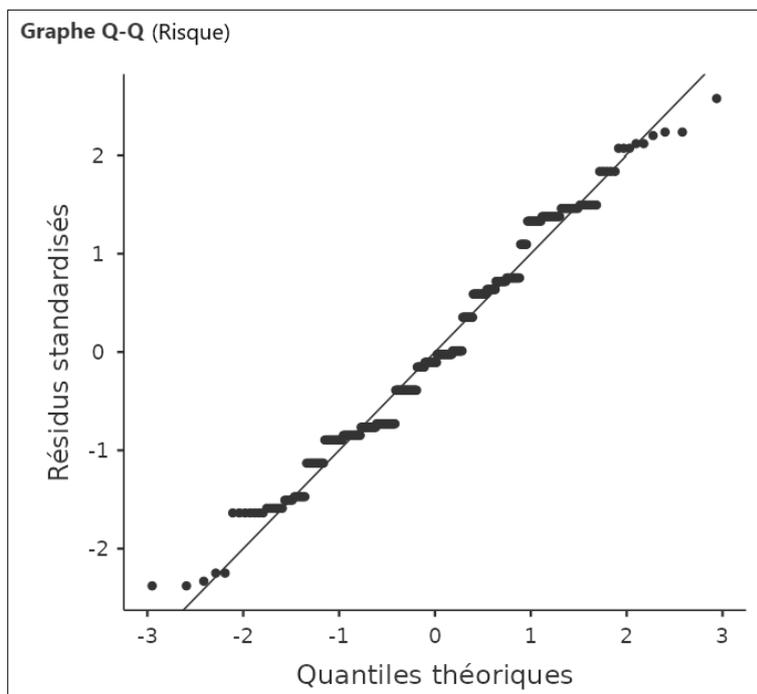
Conditions de test ANOVA

3 conditions sont nécessaires pour la réalisation du test :

1/ Les $k = 5$ échantillons comparés sont indépendants : **N/A car l'étude se fait en échantillon apparié donc pas de variabilité inter-échantillon.**

2/ Les variables quantitatives étudiées suivent une distribution normale dans les $k = 5$ populations comparées : **prenant l'hypothèse selon laquelle le score (variable étudiée) est assimilé à une variable quantitative, OK car $N_{SID} = N_{PFC} = N_{CB} = N_{VM} = N_{CS} = 63$ qui est ≥ 30 , donc pas de besoin d'utiliser le test de Shapiro-Wilk sur les résidus.**

Pour information, la représentation graphique des résidus standardisés :



3/ Les k = 5 populations comparés ont la même variance (homoscédasticité) : **N/A car l'étude se fait en échantillon apparié (même variance), de plus comme il n'y a pas de facteurs inter-sujet spécifié, la condition est toujours respectée, pas de besoin d'utiliser le test de Levene.**

Cependant, l'étude se faisant sur un échantillon apparié, l'hypothèse de la **sphéricité** doit être vérifiée (c'est-à-dire : égalité des variances des différences entre les niveaux des facteurs de mesures répétées) : utilisation du **test de Mauchly sur la sphéricité**.

Test de Mauchly (sphéricité)				
	W (Mauchly)	P-value	Greenhouse-Geisser ϵ	Huynh-Feldt ϵ
Risque	0,708	0,013*	0,853	0,909

Légende : * = test significatif sur $\alpha = 0,05$ mais pas sur $\alpha = 0,01$ ou $\alpha = 0,001$.

Le test de Mauchly est significatif ($p < 0,05$) : il y a des différences significatives entre les variances des différences, **l'exigence de sphéricité n'est pas respectée**.

Par conséquent : application de la **correction de Huynh-Feldt** à la valeur F obtenue dans l'analyse ANOVA à un facteur (section suivante) parce que la valeur Greenhouse-Geisser ϵ est $> 0,75$ (0,853).

Test de Fisher - Snédécour sur échantillons appariés

Effets intra-sujets							
	Correction sphéricité	SS ¹	DF	MS	F	p-value	η^2
Risque	Aucune	150,2	4	37,5	31,819	< 0,001	0,208
	Huynh-Feldt	150,2	3,6	41,3	31,819	< 0,001***	0,208
Résidus	Aucune	292,6	248	1,2			
	Huynh-Feldt	292,6	225,5	1,3			
Effets inter-sujets							
Résidus		278,0	62	4,5			

Légende : SS = somme des carrés ; DF = degré de liberté ; MS = carrés moyens ; *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$; ¹ Somme des carrés de type 3.

L'analyse ANOVA à un facteur (avec ajustement du F-ratio avec la correction de Huynh-Feldt) démontre un effet significatif du type de produit sanguin sur la perception du risque associée : $F(3,636 ; 225,457) = 31,819$ ($p < 0,001$).

Une **analysis post-hoc** est requise : comparaison des moyennes une à une.

Analyse post-hoc

Comparaison Risque VS Risque		MD	SEM	DF	t	p-value	p-value Tukey	p-value Holm
SID	PFC	-1,5	0,2	62	-7,861	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
	CB	-1,7	0,2	62	-7,636	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
	VM	-1,6	0,2	62	-7,483	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
	CS	-0,5	0,2	62	-2,699	0,009	0,066^{NS}	0,036
PFC	CB	-0,2	0,2	62	-1,009	0,317	0,851^{NS}	0,951
	VM	-0,1	0,2	62	-0,545	0,588	0,982^{NS}	1,000
	CS	1,0	0,2	62	5,331	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
CB	VM	0,1	0,2	62	0,397	0,692	0,995^{NS}	1,000
	CS	1,2	0,2	62	5,985	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
VM	CS	1,2	0,2	62	6,111	< 0,001	< 0,001***	< 0,001

Légende : MD = différence moyenne ; SEM = erreur standard à la moyenne ; DF = degré de liberté ; NS = test non significatif ; *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$.

L'analyse post-hoc (avec ajustement de la p-value avec la correction de Tukey) confirme que le sang issu de donneur et les globules rouges issus de cellules souches sont perçus comme significativement moins risqués que les perfluorocarbones (pour SID : $p < 0,001$ et pour CS : $p < 0,001$), l'hémoglobine issue de la culture bactérienne (pour SID : $p < 0,001$ et pour CS : $p < 0,001$) et l'hémoglobine issue de ver marin (pour SID : $p < 0,001$ et pour CS : $p < 0,001$). Cependant, il n'y a pas de différence de perception du risque pour le sang issu de donneur et les globules rouges issus de cellules souches ($p > 0,05$).

Enfin, il n'y a pas de différence de perception du risque entre les perfluorocarbones et l'hémoglobine issue de la culture bactérienne ($p > 0,05$) ou l'hémoglobine issue de ver marin ($p > 0,05$), ainsi qu'entre l'hémoglobine issue de la culture bactérienne et l'hémoglobine issue de ver marin ($p > 0,05$).

Perception de l'Efficacité théorique

Hypothèse de départ

Variables de réponse : score moyen de la perception de l'efficacité théorique en population :

$$\checkmark \mu_{SID} ; \mu_{PFC} ; \mu_{CB} ; \mu_{VM} ; \mu_{CS}$$

Hypothèse :

- H_0 : la condition $\mu_{SID} = \mu_{PFC} = \mu_{CB} = \mu_{VM} = \mu_{CS}$ est vraie.
- H_1 : la condition $\mu_{SID} = \mu_{PFC} = \mu_{CB} = \mu_{VM} = \mu_{CS}$ n'est pas vraie.

Utilisation de ANOVA (comparaison de variances) pour répondre à l'hypothèse : **ANOVA à un facteur pour mesures appariées.**

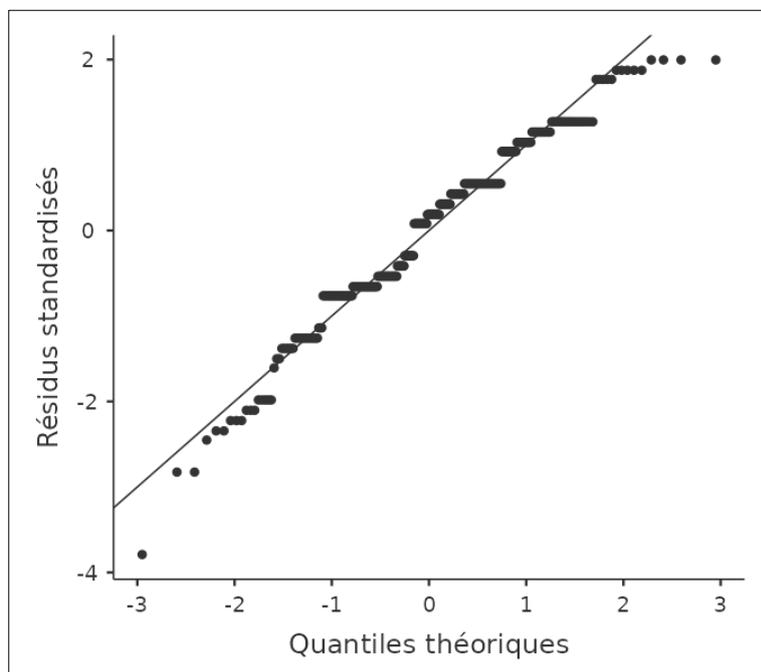
Conditions de test ANOVA

3 conditions sont nécessaires pour la réalisation du test :

1/ Les $k = 5$ échantillons comparés sont indépendants : **N/A car l'étude se fait en échantillon apparié donc pas de variabilité inter-échantillon.**

2/ Les variables quantitatives étudiées suivent une distribution normale dans les $k = 5$ populations comparées : prenant l'hypothèse selon laquelle le score (variable étudiée) est assimilé à une variable quantitative, OK car $N_{SID} = N_{PFC} = N_{CB} = N_{VM} = N_{CS} = 63$ qui est ≥ 30 , donc pas de besoin d'utiliser le test de Shapiro-Wilk sur les résidus.

Pour information, la représentation graphique des résidus standardisés :



3/ Les $k = 5$ populations comparées ont la même variance (homoscédasticité) : N/A car l'étude se fait en échantillon apparié (même variance), de plus comme il n'y a pas de facteurs inter-sujet spécifié, la condition est toujours respectée, pas de besoin d'utiliser le test de Levene.

Cependant, l'étude se faisant sur un échantillon apparié, l'hypothèse de la **sphéricité** doit être vérifiée (c'est-à-dire : égalité des variances des différences entre les niveaux des facteurs de mesures répétés) : utilisation du **test de Mauchly sur la sphéricité**.

Test de Mauchly (sphéricité)				
	W (Mauchly)	P-value	Greenhouse-Geisser ϵ	Huynh-Feldt ϵ
Efficacité théorique	0,548	< 0,001***	0,806	0,855

Légende : *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$.

Le test de Mauchly est significatif ($p < 0,05$) : il y a des différences significatives entre les variances des différences, **l'exigence de sphéricité n'est pas respectée**.

Par conséquent, application de la **correction de Huynh-Feldt** à la valeur F obtenue dans l'analyse ANOVA à un facteur (section suivante) parce que la valeur Greenhouse-Geisser ϵ est $> 0,75$ (0,806).

Test de Fisher - Snédécour sur échantillons appariés

Effets intra-sujets							
	Correction sphéricité	SS ¹	DF	MS	F	p-value	η ²
Efficacité théorique	Aucune	125,1	4	31,3	41,947	< 0,001	0,221
	Huynh-Feldt	125,1	3,4	36,7	41,947	< 0,001***	0,221
Résidus	Aucune	184,9	248	0,7			
	Huynh-Feldt	184,9	212,0	0,9			
Effets inter-sujets							
Résidus		256,1	62	4,1			

Légende : SS = somme des carrés ; DF = degré de liberté ; MS = carrés moyens ; *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$; ¹ Somme des carrés de type 3.

L'analyse ANOVA à un facteur (avec ajustement du F-ratio avec la correction de Huynh-Feldt) démontre un effet significatif du type de produit sanguin sur la perception de l'efficacité associée : F (3,420 ; 212,030) = 41,947 ($p < 0,001$).

Une **analysis post-hoc** est requise : comparaison des moyennes une à une.

Analyse post-hoc

Comparaison ET VS ET		MD	SEM	DF	t	p-value	p-value Tukey	p-value Holm
SID	PFC	1,4	0,2	62	9,140	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
	CB	1,6	0,2	62	8,913	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
	VM	1,7	0,2	62	9,512	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
	CS	0,9	0,2	62	5,476	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
PFC	CB	0,1	0,1	62	1,210	0,231	0,745^{NS}	0,456
	VM	0,3	0,2	62	1,794	0,078	0,387^{NS}	0,233
	CS	-0,6	0,2	62	-3,885	< 0,001	0,002**	< 0,001
CB	VM	0,1	0,1	62	1,218	0,228	0,741^{NS}	0,456
	CS	-0,7	0,2	62	-4,536	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
VM	CS	-0,9	0,2	62	-5,068	< 0,001	< 0,001***	< 0,001

Légende : ET = efficacité théorique ; MD = différence moyenne ; SEM = erreur standard à la moyenne ; DF = degré de liberté ; NS = test non significatif ; ** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ et $\alpha = 0,01$ mais pas sur $\alpha = 0,001$; *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$.

L'analyse post-hoc (avec ajustement de la p-value avec la correction de Tukey) confirme que le sang issu de donneur et les globules rouges issus de cellules souches sont perçus comme significativement plus efficaces que les perfluorocarbones (pour SID : $p < 0,001$ et pour CS : $p < 0,01$), l'hémoglobine issue de la culture bactérienne (pour SID : $p < 0,001$ et pour CS : $p < 0,001$) et l'hémoglobine issue de ver marin (pour SID : $p < 0,001$ et pour CS : $p < 0,001$). De plus, le sang issu de donneur est perçu comme significativement plus efficace que les globules rouges issus de cellules souches ($p < 0,001$).

Cependant, il n'y a pas de différence de perception de l'efficacité entre les perfluorocarbones et l'hémoglobine issue de la culture bactérienne ($p > 0,05$) ou l'hémoglobine issue de ver marin ($p > 0,05$), ainsi qu'entre l'hémoglobine issue de la culture bactérienne et l'hémoglobine issue de ver marin ($p > 0,05$).

Perception de l'Éthique

Hypothèse de départ

Variables de réponse : score moyen de la perception de l'éthique en population :

✓ μ_{SID} ; μ_{PFC} ; μ_{CB} ; μ_{VM} ; μ_{CS}

Hypothèse :

- H_0 : la condition $\mu_{SID} = \mu_{PFC} = \mu_{CB} = \mu_{VM} = \mu_{CS}$ est vraie.
- H_1 : la condition $\mu_{SID} = \mu_{PFC} = \mu_{CB} = \mu_{VM} = \mu_{CS}$ n'est pas vraie.

Utilisation de ANOVA (comparaison de variances) pour répondre à l'hypothèse :
ANOVA à un facteur pour mesures appariées.

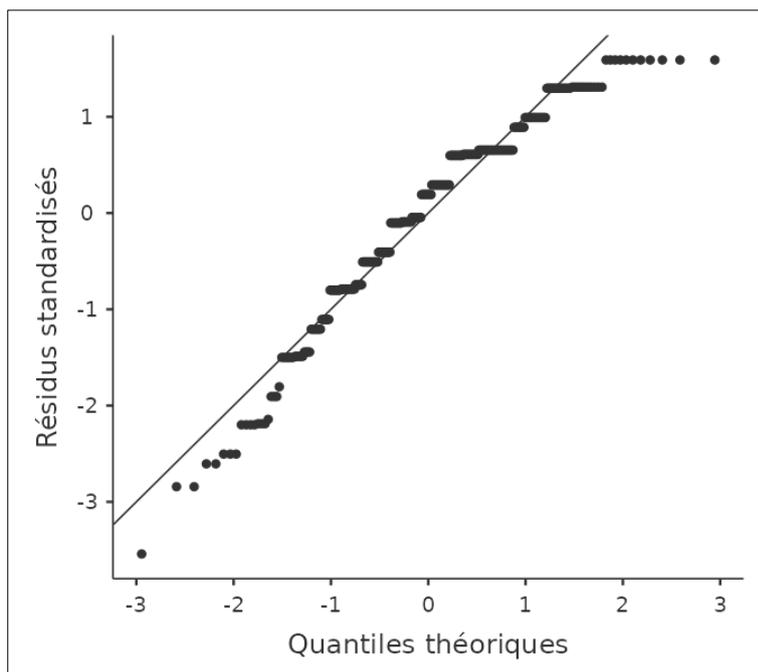
Conditions de test ANOVA

3 conditions sont nécessaires pour la réalisation du test :

1/ Les $k = 5$ échantillons comparés sont indépendants : **N/A car l'étude se fait en échantillon apparié donc pas de variabilité inter-échantillon.**

2/ Les variables quantitatives étudiées suivent une distribution normale dans les $k = 5$ populations comparées : **prenant l'hypothèse selon laquelle le score (variable étudiée) est assimilé à une variable quantitative, OK car $N_{SID} = N_{PFC} = N_{CB} = N_{VM} = N_{CS} = 62$ qui est ≥ 30 , donc pas de besoin d'utiliser le test de Shapiro-Wilk sur les résidus.**

Pour information, la représentation graphique des résidus standardisés :



3/ Les $k = 5$ populations comparées ont la même variance (homoscédasticité) : **N/A car l'étude se fait en échantillon apparié (même variance), de plus comme il n'y a pas de facteurs inter-sujet spécifié, la condition est toujours respectée, pas de besoin d'utiliser le test de Levene.**

Cependant, l'étude se faisant sur un échantillon apparié, l'hypothèse de la **sphéricité** doit être vérifiée (c'est-à-dire : égalité des variances des différences entre les niveaux des facteurs de mesures répétés) : utilisation du **test de Mauchly sur la sphéricité.**

Test de Mauchly (sphéricité)				
	W (Mauchly)	P-value	Greenhouse-Geisser ϵ	Huynh-Feldt ϵ
Ethique	0,489	< 0,001***	0,742	0,784

Légende : *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$.

Le test de Mauchly est significatif ($p < 0,05$) : il y a des différences significatives entre les variances des différences, **l'exigence de sphéricité n'est pas respectée**.

Par conséquent, application de la **correction de Greenhouse-Geisser** à la valeur F obtenue dans l'analyse ANOVA à un facteur (section suivante) parce que la valeur Greenhouse-Geisser ϵ est $< 0,75$ (0,742).

Test de Fisher - Snédécour sur échantillons appariés

Effets intra-sujets							
	Correction sphéricité	SS ¹	DF	MS	F	p-value	η^2
Ethique	Aucune	64,6	4	16,2	16,110	< 0,001	0,093
	Greenhouse-Geisser	64,6	3,0	21,8	16,110	< 0,001***	0,093
Résidus	Aucune	244,6	244	1,0			
	Greenhouse-Geisser	244,6	181,0	1,4			
Effets inter-sujets							
Résidus		387,2	61	6,3			

Légende : SS = somme des carrés ; DF = degré de liberté ; MS = carrés moyens ; *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$; ¹ Somme des carrés de type 3.

L'analyse ANOVA à un facteur (avec ajustement du F-ratio avec la correction de Greenhouse-Geisser) démontre un effet significatif du type de produit sanguin sur la perception de l'éthique associée : $F(2,967 ; 181,009) = 16,110$ ($p < 0,001$).

Une **analysis post-hoc** est requise : comparaison des moyennes une à une.

Analyse post-hoc

Comparaison Ethique VS Ethique		MD	SEM	DF	t	p-value	p-value Tukey	p-value Holm
SID	PFC	0,9	0,2	61	4,231	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
	CB	0,9	0,2	61	4,581	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
	VM	1,3	0,2	61	5,710	< 0,001	< 0,001***	< 0,001
	CS	0,5	0,2	61	3,111	0,003	0,023*	0,017
PFC	CB	0,0	0,1	61	0,115	0,909	1,000^{NS}	0,909
	VM	0,4	0,2	61	2,156	0,035	0,210^{NS}	0,070
	CS	-0,4	0,2	61	-2,716	0,009	0,063^{NS}	0,034
CB	VM	0,4	0,1	61	2,723	0,008	0,062^{NS}	0,034
	CS	-0,5	0,1	61	-3,079	0,003	0,025*	0,017
VM	CS	-0,9	0,2	61	-5,066	< 0,001	< 0,001***	< 0,001

Légende : MD = différence moyenne ; SEM = erreur standard à la moyenne ; DF = degré de liberté ; NS = test non significatif ; * = test significatif sur $\alpha = 0,05$ mais pas sur $\alpha = 0,01$ ou $\alpha = 0,001$; *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$.

L'analyse post-hoc (avec ajustement de la p-value avec la correction de Tukey) confirme que le sang issu de donneur est perçu comme significativement plus éthique que les perfluorocarbonés ($p < 0,001$), l'hémoglobine issue de la culture bactérienne ($p < 0,001$), l'hémoglobine issue de ver marin ($p < 0,001$) et les globules rouges issus de cellules souches ($p < 0,05$).

Bien que perçus comme moins éthiques que le sang issu de donneur, les globules rouges issus de cellules souches sont perçus comme significativement plus éthiques que l'hémoglobine issue de la culture bactérienne ($p < 0,05$) et l'hémoglobine issue de ver marin ($p < 0,001$). Cependant, il n'y a pas de différence de perception de l'éthique entre les globules rouges issus de cellules souches et les perfluorocarbonés ($p > 0,05$).

Enfin, il n'y a pas de différence de perception de l'éthique entre les perfluorocarbonés et l'hémoglobine issue de la culture bactérienne ($p > 0,05$) ou l'hémoglobine issue de ver marin ($p > 0,05$), ainsi qu'entre l'hémoglobine issue de la culture bactérienne et l'hémoglobine issue de ver marin ($p > 0,05$).

Partie 4 – Evaluation de l'acceptance globale

Problématique

Variable : « Accepter l'utilisation du produit sanguin dans un contexte de transfusion en urgence » qualitative binomiale : {Oui ; Non}.

1 échantillon de 62 individus (4 échantillons appariés) ($n = 62$).

Les probabilités d'accepter chaque produit sanguin sont notées respectivement π_{PFC} , π_{CB} , π_{VM} , π_{CS} sur l'échantillon et sont estimées par les paramètres suivants : p_{PFC} , p_{CB} , p_{VM} , p_{CS} .

La conception de l'étude et les résultats obtenus sont repris dans la **Figure 15** (voir section 4.1.2.4).

Objectif : démontrer que l'acceptation globale des répondants est différente entre les types de produits sanguins d'origine artificielle.

Hypothèse de départ

Hypothèse :

- $H_0 : \pi_1 = \pi_2$; avec π_1 et $\pi_2 = \pi_{PFC} \pi_{CB} \pi_{VM} \pi_{CS}$ selon le test réalisé, c'est-à-dire que les probabilités d'accepter chaque produit sanguin ne sont pas significativement différentes. En d'autres termes : les différences observées entre les fréquences ne sont dues qu'au hasard.
- $H_1 : \pi_1 \neq \pi_2$; avec π_1 et $\pi_2 = \pi_{PFC} \pi_{CB} \pi_{VM} \pi_{CS}$ selon le test réalisé, c'est-à-dire que les probabilités d'accepter chaque produit sanguin sont significativement différentes. En d'autres termes : les différences observées entre les fréquences ne sont pas dues au hasard.

Pour répondre à la problématique, le test de fréquence sur deux échantillons appariés est utilisé : le test du χ^2 de Mc Nemar.

Conditions du test du χ^2 de Mc Nemar

La variable étudiée suit une loi du χ^2 avec $\nu = 1$ ddl. Une condition à vérifier pour la réalisation du test de Mc Nemar est : total des couples discordants (c'est-à-dire : $n(Oui_{Produit\ 1} \cap Non_{Produit\ 2}) \cup n(Non_{Produit\ 1} \cap Oui_{Produit\ 2})$) : $n' \geq 10$

1. Cellules souches VS Perfluorocarbones : OK car $n' = 15 + 2 = 17$
2. Cellules souches VS Culture bactérienne : OK car $n' = 15 + 2 = 17$
3. Cellules souches VS Ver marin : OK car $n' = 19 + 2 = 21$
4. Perfluorocarbones VS Culture bactérienne : $n' = 4 + 4 = 8$; mais comme les fréquences d'acceptation sont les mêmes pour les 2 produits sanguins, aucune différence significative ne peut être mise en évidence lors de l'utilisation du test.
5. Perfluorocarbones VS Ver marin : OK car $n' = 10 + 6 = 16$
6. Culture bactérienne VS Ver marin : OK car $n' = 9 + 5 = 14$

La condition est respectée pour l'ensemble des configurations hormis celle comparant les perfluorocarbones à la culture bactérienne.

Les tableaux de contingence ci-dessous détaillent les réponses des participants pour chacune des comparaisons.

Tableau 8 : Tableau de contingence de l'acceptation globale des cellules souches et des perfluorocarbones

Cellules souches	Perfluorocarbones		
	Non	Oui	Total
Non	9	2	11
Oui	15	36	51
Total	24	38	62

Tableau 9 : Tableau de contingence de l'acceptation globale des cellules souches et de la culture bactérienne

Cellules souches	Culture bactérienne		
	Non	Oui	Total
Non	9	2	11
Oui	15	36	51
Total	24	38	62

Tableau 10 : Tableau de contingence de l'acceptation globale des cellules souches et du ver marin

Cellules souches	Ver marin		
	Non	Oui	Total
Non	9	2	11
Oui	19	32	51
Total	28	34	62

Tableau 11 : Tableau de contingence de l'acceptation globale des perfluorocarbones et de la culture bactérienne

Perfluorocarbones	Culture bactérienne		
	Non	Oui	Total
Non	20	4	24
Oui	4	34	38
Total	24	38	62

Tableau 12 : Tableau de contingence de l'acceptation globale des perfluorocarbones et du ver marin

Perfluorocarbones	Ver marin		
	Non	Oui	Total
Non	18	6	24
Oui	10	28	38
Total	28	34	62

Tableau 13 : Tableau de contingence de l'acceptation globale de la culture bactérienne et du ver marin

Culture bactérienne	Ver marin		
	Non	Oui	Total
Non	19	5	24
Oui	9	29	28
Total	28	34	62

Test du Khi² de Mc Nemar

Tableau 14 : Résultat du test χ^2 de Mc Nemar - Cellules souches VS Perfluorocarbones

Test de Mc Nemar			
Comparaison CS / PFC	Valeur	DF	p-value
χ^2	9,941	1	0,002**
Correction de continuité du χ^2	8,471	1	0,004**
N	62		

Légende : DF = degré de liberté ; PFC = perfluorocarbone ; CS = cellule souche ; ** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ et $\alpha = 0,01$ mais pas sur $\alpha = 0,001$.

Le test de Mc Nemar (avec ajustement de la p-value avec la correction de Yates) confirme que l'acceptation globale des répondants pour les globules rouges issus de cellules souches est significativement plus importante que pour les perfluorocarbones ($p < 0,01$).

Tableau 15 : Résultat du test χ^2 de Mc Nemar - Cellules souches VS Culture bactérienne

Test de Mc Nemar			
Comparaison CS / CB	Valeur	DF	p-value
χ^2	9,941	1	0,002**
Correction de continuité du χ^2	8,471	1	0,004**
N	62		

Légende : DF = degré de liberté ; CB = culture bactérienne ; CS = cellule souche ; ** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ et $\alpha = 0,01$ mais pas sur $\alpha = 0,001$.

Le test de Mc Nemar (avec ajustement de la p-value avec la correction de Yates) confirme que l'acceptation globale des répondants pour les globules rouges issus de cellules souches est significativement plus importante que pour l'hémoglobine issue de la culture bactérienne ($p < 0,01$).

Tableau 16 : Résultat du test χ^2 de Mc Nemar - Cellules souches VS Ver marin

Test de Mc Nemar			
Comparaison CS / VM	Valeur	DF	p-value
χ^2	13,762	1	< 0,001***
Correction de continuité du χ^2	12,190	1	0,001**
N	62		

Légende : DF = degré de liberté ; VM = ver marin ; CS = cellule souche ; ** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ et $\alpha = 0,01$ mais pas sur $\alpha = 0,001$; *** = test significatif sur $\alpha = 0,05$ sur $\alpha = 0,01$ et sur $\alpha = 0,001$.

Le test de Mc Nemar (avec ajustement de la p-value avec la correction de Yates) confirme que l'acceptation globale des répondants pour les globules rouges issus de cellules souches est significativement plus importante que pour l'hémoglobine issue de ver marin ($p < 0,01$).

Tableau 17 : Résultat du test χ^2 de Mc Nemar - Perfluorocarbones VS Culture bactérienne

Test de Mc Nemar			
Comparaison PFC / CB	Valeur	DF	p-value
χ^2	0,000	1	1,000^{NS}
Correction de continuité du χ^2	0,000	1	1,000^{NS}
N	62		

Légende : DF = degré de liberté ; PFC = perfluorocarbone ; CB = culture bactérienne ; NS = test non significatif.

Le test de Mc Nemar (avec ajustement de la p-value avec la correction de Yates) ne démontre pas une différence significative de l'acceptation globale des répondants pour les perfluorocarbones et l'hémoglobine issue de la culture bactérienne ($p > 0,05$).

Tableau 18 : Résultat du test χ^2 de Mc Nemar - Perfluorocarbones VS Ver marin

Test de Mc Nemar			
Comparaison PFC / VM	Valeur	DF	p-value
χ^2	1,000	1	0,317 NS
Correction de continuité du χ^2	0,563	1	0,453 NS
N	62		

Légende : DF = degré de liberté ; PFC = perfluorocarbone ; VM = ver marin ; NS = test non significatif.

Le test de Mc Nemar (avec ajustement de la p-value avec la correction de Yates) ne démontre pas une différence significative de l'acceptation globale des répondants pour les perfluorocarbones et l'hémoglobine issue de ver marin ($p > 0,05$).

Tableau 19 : Résultat du test χ^2 de Mc Nemar - Culture bactérienne VS Ver marin

Test de Mc Nemar			
Comparaison CB / VM	Valeur	DF	p-value
χ^2	1,143	1	0,285 NS
Correction de continuité du χ^2	0,643	1	0,423 NS
N	62		

Légende : DF = degré de liberté ; CB = culture bactérienne ; VM = ver marin ; NS = test non significatif.

Le test de Mc Nemar (avec ajustement de la p-value avec la correction de Yates) ne démontre pas une différence significative de l'acceptation globale des répondants pour l'hémoglobine issue de la culture bactérienne et l'hémoglobine issue de ver marin ($p > 0,05$).

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2023/2024

Nom : KLINNIK
Prénom : Simon

Titre de la thèse : Position du Pharmacien sur l'introduction d'un nouveau substitut sanguin érythrocytaire d'origine artificielle

Mots-clés : sang ; transfusion ; globule rouge ; substitut ; artificiel ; hémoglobine ; acceptation ; risque ; efficacité ; éthique.

Résumé : Le sang est une matière première essentielle à la fabrication de certains médicaments essentiels de l'OMS. Lorsque les dons de sang viennent à manquer, des pénuries apparaissent et à terme ce sont les patients qui sont les victimes des ruptures en produits sanguins labiles. Pour résoudre la tension en produits sanguins, le monde scientifique travaille depuis plusieurs décennies sur le développement de substituts érythrocytaires artificiels dans le but de remplacer la fonction principale des globules rouges : le transport du dioxygène. De nombreux produits ont été mis au point mais à ce jour aucun n'est disponible. Pourtant les dix dernières années ont conduit à des solutions prometteuses. Les objectifs de ce travail sont de faire une revue de la littérature sur les substituts érythrocytaires d'origine artificielle ; d'évaluer l'acceptation de quatre substituts érythrocytaires d'origine artificielle ; et de proposer des recommandations sur la stratégie thérapeutique à mettre en œuvre pour chacun de ces produits basés sur les domaines de compétences du pharmacien. L'enquête étudie les perfluorocarbones (PFC), l'hémoglobine issue de la culture bactérienne (CB), l'hémoglobine issue du ver marin *Arenicola marina* (VM) et les globules rouges cultivés à partir de cellules souches (CS) chez une population de donneurs de sang français. L'objectif principal est d'évaluer l'acceptation globale des substituts érythrocytaires en contexte d'urgence avec une question oui/non ; les objectifs secondaires sont d'évaluer les opinions des répondants sur trois aspects : le risque, l'efficacité théorique et l'éthique, avec une échelle de Likert à 7 niveaux et en comparaison avec la solution de référence (le don de sang). Les CS sont significativement mieux acceptés que les autres solutions artificielles. Concernant le risque, l'efficacité théorique et l'éthique, le don de sang est perçu comme significativement moins risqué, plus efficace et plus éthique que les autres solutions. Cependant les CS sont perçus comme significativement moins risqués, plus efficaces que PFC, CB, VM et comme plus éthiques que CB, VM. En revanche pas de différence significative entre CS et PFC concernant la perception de l'éthique. L'enquête met en avant les CS mais la technologie de production nécessite une amélioration du rendement pour une utilisation à grande échelle. Ensuite l'utilisation de VM en thérapeutique à court terme est pertinente sous réserve d'essai clinique concluant. PFC et VM nécessitent une amélioration de leur structure moléculaire afin de mettre fin aux effets indésirables graves qui ont conduit à leur arrêt de développement ou de commercialisation.

Membres du jury :

Président : Pr. DUPONT-PRADO Annabelle, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

Directeur, conseiller de thèse : Pr. DÉCAUDIN Bertrand, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

Assesseurs : Pr. BLANCHEMAIN Nicolas, Professeur des Universités

Dr. SUKNO Frank, Médecin Biologiste