



BU bibliothèque Lyon 1

<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>



FACULTE DE MEDECINE ET DE MAIEUTIQUE LYON SUD – CHARLES MERIEUX
FORMATION SAGE-FEMME - Site de LYON

Etude pilote : Analyse comparative de deux procédés d'autotransfusion peropératoire

Mémoire présenté par Rémi KIRSTETTER
Née le 14 janvier 1994
En vue de l'obtention du diplôme d'état de sage-femme
Promotion 2018



**FACULTE DE MEDECINE ET DE MAIEUTIQUE LYON SUD – CHARLES MERIEUX
FORMATION SAGE-FEMME - Site de LYON**

Etude pilote : Analyse comparative de deux procédés d'autotransfusion peropératoire

Mémoire présenté par Rémi KIRSTETTER
Née le 14 janvier 1994
En vue de l'obtention du diplôme d'état de sage-femme
Promotion 2018

Remerciements :

Je tenais au préalable à remercier ;

Mme Giraud, Sage-femme enseignante pour sa grande disponibilité et son accompagnement et ses précieux conseils

Professeur Dominique Chassard mon expert mémoire pour sa patience, sa rigueur et ses nombreux conseils. Toujours dans un accompagnement bienveillant.

Patricia Forrest et Catherine Wittman pour leur précieux investissement

Ma famille et particulièrement mes parents et ma sœur pour leur soutien dans les moments de doutes et leurs encouragements

Paul, Vincent, Antoine pour votre amitié et votre soutien

Et à Laura, pour son soutien sans failles.

Glossaire :

ACOG : American College of Obstetricians and Gynecologists

AFE : Amniotic Fluid Embolism

ASA : American Society of Anesthesiologists

CARO : Club d'Anesthésie Réanimation Obstétricale

NICE : National Institute for Health and Clinical Excellence

CEMACH : Confidential Enquiries into Maternal and Child Health

CGR : concentré globulaire

IGFBP1 : Insulin-like growth factor-binding protein 1

AFP : alpha-fœtaux protéine

HFME : Hôpital Femme Mère Enfant

NICE : National Institute of Health and Clinical Excellence

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

RCOG : Royal College of Obsetricians and Gynecologists

RSPO : Récupération de sang per opératoire

SFAR : Société française d'anesthésie réanimation

MoM : multiple de la médiane

Sommaire

INTRODUCTION	1
1. PROBLEMATIQUE	2
2. ETUDE	7
2.1 Matériel	7
2.1.1 Article Testé	7
2.1.2 C.A.T.Splus (Fresenius)	8
2.1.3 Matériel supplémentaire	8
2.2 Méthode	9
2.2.1 But de l'étude	9
2.2.2 Design de l'étude	10
2.2.3 Nombre de répétitions	11
2.2.4 Justification du design de l'étude	11
2.2.5 Schéma de randomisation	11
2.2.5.1 Critères d'inclusions	11
2.2.5.2 Critères d'exclusions	12
2.2.6 Recueil du Sang	12
2.2.7 Caractérisation des sangs	12
2.2.8 Analyse statistique	14
2.2.9 Comité d'éthique	15
2.3 Présentation des résultats	15
2.3.1 Données générales	15
2.3.2 Résultats de performance principaux	17
2.3.2.1 Observations microscopiques	17
2.3.2.2 Résultats sur numération formule plaquettaire	20
2.3.2.3 Biologie fœtale	22
3. ANALYSE ET DISCUSSION	25
3.1 Synthèse des résultats	25
3.2 Comparaison aux données de la littérature	27
3.2.1 Performance de concentration sanguine	27
3.2.2 Caractérisations microscopiques	28
3.2.3 Hémolysé	29
3.2.4 Biologie fœtale	29

3.3	Discussion	30
3.3.1	Forces et limites de l'étude	30
	CONCLUSION :	33
	Références bibliographiques	34
	ANNEXES	

INTRODUCTION

L'Organisation mondiale de la Santé définit l'hémorragie du post-partum comme une perte de sang supérieure à 500 mL. Parmi les recommandations fournies par l'OMS en 2012 pour la prévention et le traitement des hémorragies du post-partum, aucune ne mentionne l'utilisation de la récupération du sang épanché par un dispositif de récupération peropératoire. (technique d'auto-transfusion) (1)

Bien que l'utilisation de procédés d'auto-transfusion per opératoires se soit largement démocratisée dans les chirurgies non obstétricales, il persiste en obstétrique des préoccupations vis à vis de cette technique en raison d'un risque potentiel d'embolie amniotique (en anglais AFE amniotic fluid embolism) et d'un risque d'induction d'une allo-immunisation maternelle. Toutefois à ce jour le risque d'embolie amniotique chez des femmes enceintes n'a pas été démontré au cours des procédés d'autotransfusion de sang épanché.

L'Hôpital Femme Mère Enfant (HFME) utilise en routine pour les situations à risque d'hémorragie le C.A.T.Splus (Fresenius), avec centrifugation comme procédé d'autotransfusion. Cette machine est encombrante et peu intuitive dans son utilisation. De plus aucune investigation quant à sa réelle performance pour la récupération des hématies et l'élimination des déchets amniotiques dans le contexte obstétrical n'a été réalisée.

Une nouvelle Start Up Nantaise ISEP travaille pour mettre au point un nouveau procédé de RSPO basé sur un principe de filtration alors que le CATS utilise comme principe de traitement du sang épanché la centrifugation. La société ISEP se propose donc de concevoir un dispositif plus simple à utiliser permettant une meilleure filtration des composantes amniotiques et fœtales. Ce procédé de filtration permettrait aussi de préserver une partie des plaquettes dans le sang restitué par la machine, alors que le CATS ne restitue pas les plaquettes du sang récupéré.

Il était alors pertinent de décrire les capacités des deux systèmes en termes de récupération des hématies mais aussi en termes d'élimination des résidus amniotiques.

Dans une première partie nous présenterons les généralités et définitions ainsi que la problématique nécessaire à l'élaboration de cette étude. Nous décrirons ensuite la méthodologie nécessaire à son élaboration. Nous présenterons ensuite nos résultats et nous les discuterons au regard de la littérature. Enfin nous ouvrirons la discussion sur des pistes d'amélioration de ce travail.

1. PROBLEMATIQUE

La CEMACH (Confidential Enquiries into Maternal and Child Health) a montré dans un rapport de 2004 que la mortalité maternelle au Royaume-Uni par hémorragie était en hausse de 3,3 à 8,5 par million de maternité.(2) Dépassant l'incidence de mortalité par hypertension durant la grossesse, l'hémorragie est donc devenue une problématique importante. La plupart de ces décès est dû à l'hémorragie du post-partum plutôt que du pré-partum. (3) La mortalité maternelle en France due à l'hémorragie a diminué avec une incidence de 1,6 décès pour 100000 naissances mais demeure la première cause de décès maternel (16%) et la plus évitable (80%). Outre les complications de l'hypovolémie aiguë, ces hémorragies peuvent exposer les femmes aux complications d'une transfusion. (4)

L'organisation mondiale de la santé (OMS) définit l'hémorragie du post-partum comme des pertes supérieures ou égales à 500 ml dans les 24 premières heures. L'hémorragie obstétricale entraîne un taux de mortalité et de morbidité pouvant être évité par la mise en place de soins et de protocoles (5). Pour ce qui est de la pratique aux Hospices Civils de Lyon, le réseau périnatal Aurore a donc édicté des mesures et Protocoles (6)(7)(8) permettant de prendre au mieux en charge l'hémorragie allant de la quantification précise des pertes sanguines, aux actions pharmacologiques (acide tranexamique, utéro-tonique) ou aux mesures invasive tel que les ballons de tamponnement intra-utérin ou l'embolisation des artères utérines. Certaines hémorragies sévères (> 1000ml) ou certains terrains à risque (notamment une hémoglobine basse en pré-opératoire ou pré accouchement) peuvent nécessiter une transfusion sanguine homologue de concentré globulaire (CGR) exposant aux risques de complications classique de la transfusion de sang homologue.

Pour ce qui est des césariennes, la récupération de sang peropératoire (cell salvage ou autotransfusion) a d'abord été controversée par les risques qu'elle pourrait procurer à la patiente (embolie amniotique et allo-immunisation anti rhésus de l'enfant).

Aujourd'hui, L'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) de même que la Confidential Enquiries into Maternal and Child Health (CEMACH) approuvent l'utilisation de du cell salvage pour les hémorragies du post partum sévères ou imprévisibles.l'American Society of Anesthesiologists (ASA) recommande également l'utilisation du cell salvage quand la banque de sang n'est pas disponible ou quand la patiente refuse du sang de donneur. (9) Le Royal College of Obsetricians and Gyneecologists (RCOG) a émis un guide recommandant le

cell salvage pour les femmes dont les pertes de sang prévisibles représentent plus de 20% du volume sanguin maternel. (10) The National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) souligne l'importance de fournir aux patients des informations et d'obtenir leur consentement à l'autotransfusion ainsi que cette pratique soit encadrée par des équipes expérimentées (11). Au Royaume-Uni, 47% des unités d'obstétrique sont équipées d'un système de cell salvage avec une fréquence d'utilisation variant selon les unités. (12) Certains soutiennent que la mise en œuvre de la récupération de sang peropératoire pourrait aussi avoir un sens pour toutes les césariennes en raison de la difficulté d'estimer des pertes sanguines avant la réalisation du geste. Il conviendrait alors de mettre le dispositif d'auto-transfusion dans le bloc opératoire en mode « veille ». Le mode veille consiste simplement à la collecte de sang : si les pertes sont estimées importante, l'intégralité du système d'autotransfusion alors peut être utilisé.(13)

Cette technique d'autotransfusion peut ainsi être utilisée pour les césariennes électives, urgentes, les hémorragies du post-partum, les anomalies d'insertion du placenta, les patientes présentant des anticorps irréguliers et les témoins de Jéhovah.

Les données concernant l'AFE sont extrêmement variables. L'incidence d'AFE varie de 1,3 à 12,5 pour 100000 grossesses.(13) Cette incidence varie entre 4,9 et 6,9 pour 100000 accouchements un des taux de mortalité de 13,2%.(14) l'utilisation de procédés d'auto-transfusion per opératoire est largement démocratisée dans les chirurgies non obstétricales. Toutefois des préoccupations concernant le risque d'embolie amniotique (en anglais AFE amniotic fluid embolism) subsistent quant à son utilisation en obstétrique.

Les différentes études analysant l'élimination des déchets amniotiques montrent des résultats très variables. En 1989, l'Haemonetics Cell Saver 4 était incapable de filtrer tous les débris fœtaux du sang récupéré. (15) En 1996, au contraire, la machine Haemolite 2+ (Haemonetics) était incapable d'éliminer complètement l'alpha-foetoprotéine et le facteur tissulaire malgré l'utilisation d'un dispositif d'aspiration séparé pour le liquide amniotique.(16)

En revanche, le Cell Saver 4 (Haemonetics) a complètement éliminé le facteur tissulaire (Bernstein et al. 1997). Le Cobe Brat 2 a montré une réduction de l'alpha-fœtoprotéine en dessous des limites de détection mais les cellules squameuses étaient encore présentes dans les échantillons post-lavage (Fong et al. 1999). A ce jour, une méta-analyse de 7 études comprenant plus de 300 patientes ayant reçu une transfusion de sang autologue.(9) Dans cette étude aucune manifestation de type AFE n'a été recensée mise à part une hypotension après administration de sang épanché.

A ce jour, un seul cas de mort par AFE après autotransfusion a été rapporté. Toutefois la communauté scientifique n'a jamais, dans la littérature, réellement attribué cet incident à l'autotransfusion du fait des nombreux facteurs de comorbidité de la patiente. (3)

Il n'existe pas de preuve concrète que l'embolie amniotique soit liée à la réinjection de cellules amniotiques qui plus est par autotransfusion. Cependant, bien que des sociétés savantes commencent à recommander avec précaution l'utilisation de la récupération de sang peropératoire lors des hémorragies peri et post-partum, cette pratique reste rare y compris en France.

Il a été démontré que l'association d'un système de récupération de sang per-opératoire (RSPO) à un filtre de déplétion leucocytaire permettait de réduire la concentration cellulaire fœtale dans le sang réinjecté à la même concentration que la circulation maternelle. (3) (5)

Une étude impliquant le Cell Saver 5 combiné à un autre filtre de déplétion leucocytaire (LeukoGuard RS), a comparé les taux de déchets amniotiques dans le sang veineux maternel, dans le sang récupéré avant lavage, après lavage et dans le sang post-filtration dans le cadre d'une récupération de sang en milieu obstétrical. A l'exception d'une concentration légèrement plus élevée en hémoglobine fœtale dans le sang récupéré, les concentrations en déchets amniotiques étaient les mêmes, voir inférieures, à celles du sang veineux maternel. En effet, les résultats ont montré des concentrations en cellules squameuses significativement plus faibles dans les échantillons post-filtration que dans le sang maternel. De même, les taux de cellules lamellaires et de potassium ont également été réduits dans les échantillons après traitement. Le facteur tissulaire dérivé des cellules amniotiques, impliqué dans le phénomène d'embolie du liquide amniotique, a été complètement éliminé au cours du traitement des cellules récupérées.(17)

Table 1. Concentrations of Amniotic Fluid Markers

Test	Maternal (n = 14)	Prewash (n = 14)	Postwash (n = 14)	Postfiltration (n = 14)
Potassium (mEq/l)	3.8 (3.7–4.0)	3.8 (2.4–4.0)	1.5 (1.1–1.5)*	1.4 (1.0–1.5)
Lamellar body count (K/μl)	31.0 (24.0–49.9)	22.0 (18.5–29.5)	3.0 (2.0–3.5)*	0.0 (0.0–1.0)
Squamous cell count (count/HPF)	0.0 (0.0–0.0)†	8.3 (4.0–10.5)	4.4 (3.0–7.6)	0.0 (0.0–0.1)
Quantitative bacterial culture (CFU/ml)	0.0 (0.0–0.1)†	3.0 (0.6–7.7)	1.3 (0.4–6.1)	0.1 (0.0–0.2)
Fetal hemoglobin (%)	0.5 (0.3–0.7)	1.1 (0.7–1.5)‡	1.7 (1.0–2.1)‡	1.9 (1.1–2.5)

Values expressed as median (twenty-fifth to seventy-fifth percentile).

* P < 0.05 compared with prewash and maternal.

† P < 0.05 compared with prewash and postwash.

‡ P < 0.05 compared with maternal.

§ K = thousands; HPF = high powered field, CFU = colony-forming units.

t

ers JH, Biscotti C, Potter PS, Phillipson E. Amniotic Fluid Removal during Cell Salvage in the Cesarean Section Patient. *J Am Soc Anesthesiol.* 2000 Jun 1;92(6):1531–6.

Dans ses guidelines de 2005 (IPG 144), the National Institute of Health and Clinical Excellence (NICE)(11) suggère l'utilisation des filtres de leuco-déplétion en routine en autotransfusion pour l'obstétrique afin de réduire la quantité de contaminants du fluide amniotique du sang transfusé quel que soit le type de machine utilisée.

Le rôle de la récupération de sang peropératoire comme méthode d'épargne sanguine en obstétrique acquiert de plus en plus de pertinence au fil du temps de par la multiplicité des preuves concernant sa qualité et sa sécurité. Bien que l'information sur les résultats des patients traités et l'effet de réduction de transfusion allogénique soit encore limitée et parfois contradictoire, les procédés de récupération de sang peropératoire actuels éliminent la plupart des contaminants particuliers et l'utilisation de filtres de leuco-déplétion ajoute une sécurité supplémentaire.

Une étude empirique sur des poches de sang analysées après traitement au sein de l'HFME de Bron montrait une contamination importante en termes de cellule amniotique. Cette proximité avec un laboratoire de référence en embolie amniotique facilite grandement ce type d'études.

De plus au sein de ce service d'obstétrique, le C.A.T.Splus (Fresenius) n'est pas couplé à un dispositif de filtre de leucodéplétion conformément aux recommandations du Club d'Anesthésie Réanimation Obstétricale (CARO).

La star-up Nantaise ISEP développe quant à elle un nouveau procédé de RSPO utilisant la filtration là où C.A.T.Splus (Fresenius) utilise comme principe de traitement la centrifugation. Le C.A.T.Splus (Fresenius) est encombrant et peu intuitif à utiliser ce qui rend son utilisation en routine peu simple. Enfin la critique pouvant être apportée au C.A.T.Splus (Fresenius) est qu'il élimine tous les autres composants du sang (lipides, protéines, leucocytes, composants du plasma et plaquettes).

Une petite enquête préalable auprès de 10 infirmiers anesthésistes et internes en anesthésie réanimation du bloc obstétricale nous avait indiqué que le temps moyen de montage complet était de 10 minutes ce qui était relativement long pour une utilisation en urgence. De plus le personnel se sentait parfois démunie face au manque d'intuitivité de montage et bien que le personnel le plus expérimenté sait monter correctement le C.A.T.Splus (Fresenius), tous affirment que le manque d'intuitivité du montage est un frein à l'utilisation sereine en situation d'urgence. Enfin, tous indiquent que le peu d'utilisation sur 1 année (1,2 fois en moyenne)

n'arrangeait pas la confiance que pouvait avoir le personnel dans l'expertise qui avait du matériel. Il est donc prévu dans un second temps de comparer la facilité d'utilisation des deux procédés par du personnel néophyte et expérimenté.

La question durant ce mémoire était donc de comparer la qualité et la performance de concentration de sang épanché des deux procédés d'auto-transfusion peropératoire, de conservation plaquettaire mais aussi de filtration des résidus amniotiques. La qualité et la reproductibilité de la comparaison des cellules amniotiques dans le sang récupéré de césarienne par l'une ou l'autre méthode sont facilitées par la présence du laboratoire de référence sur l'embolie amniotique à l'HFME.

2. ETUDE

2.1 Matériel

Le sponsor fournira le dispositif ISEP à évaluer et les connectiques et tubulures correspondantes pour se connecter au bocal de récupération ainsi qu'au kit de traitement.

Matériel fourni par l'HFME : (fourni par la pharmacie centrale du centre hospitalier Est)

- Le sang à traiter
- Les bocal de récupération munis de la ligne d'aspiration, de la canule d'aspiration et des connectiques pour fonctionner (tuyau de vide notamment)
- Les poches de sérum physiologique additionnées ou non d'héparine à 25000UI/L
- Les kits CATS (bocal de récupération, couronne de centrifugation, tubes, connectiques, poches...)
- Les tubes de prélèvement

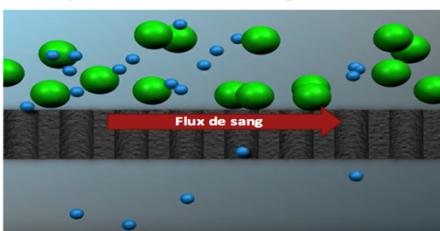
2.1.1 Article Testé

Le dispositif ISEP (article testé) consiste en un prototype de machine et d'un prototype de filtration tangentielle composé d'un carter de filtration et d'une membrane de filtration. Le système est connecté à une pompe péristaltique qui pompe, dans le bocal de récupération, le sang dilué à traiter (filtrer) et qui permet la circulation du sang dans les différents éléments pour assurer la concentration et la restitution du sang concentré dans une poche à transfusion. Un bocal de retentât et raccordé au vide collecte le filtrat. Le concentrât (fraction d'intérêt) est collecté dans la poche de traitement puis transféré dans la poche à transfusion.

Le dispositif ISEP et son consommable sont stockés à température ambiante, à l'abri de l'humidité et en dehors de toute source de chaleur.

Bien que les éléments du consommable ait été irradiés, la stérilité des consommables en contact avec le sang n'est pas démontrée et assurée mais cela ne constitue pas un risque puisque le sang traité n'est pas réinjecté aux patientes.

Principe de la filtration tangentielle



❖ Technologie de filtration tangentielle / innovation et intuitivité du dispositif (« one button »)



2.1.2 C.A.T.Splus (Fresenius)

Le C.A.T.Splus (Fresenius) - Continuous Auto Transfusion System - de Fresenius a été conçu pour l'autotransfusion peropératoire.

Le C.A.T.Splus (Fresenius) fonctionne selon le principe de centrifugation à flux continu, comparable aux systèmes continus d'hémoaphérese qui sont largement utilisés depuis quelques décennies dans les centres de transfusion.

Le C.A.T.Splus (Fresenius) est un système d'autotransfusion peropératoire permettant de récupérer et traiter les pertes sanguines survenant au cours d'une intervention chirurgicale, à la suite d'un traumatisme, ainsi qu'en post-opératoire. Le sang anti coagulé est collecté dans un réservoir stérile et traité par un système de lavage continu de manière à obtenir un concentré de globules rouges lavés prêt pour être re-transfusé au patient. Durant le processus de traitement tous les composants plasmatiques et cellulaires (à l'exception des globules rouges) comme les facteurs de coagulation, les produits de fibrinolyse, les débris cellulaires ainsi que les résidus d'anticoagulant sont éliminés.

L'appareil d'autotransfusion e C.A.T.Splus (Fresenius) est conforme à l'état de la technique et satisfait aux directives de la norme EN 60601-1 (CEC 601-1). Il appartient à la classe IIa (MOD, Directive sur les dispositifs médicaux). (Manuel d'utilisation de la machine)

2.1.3 Matériel supplémentaire

- Chronomètre
- Balance
- Appareil photo
- HemoCue* (mis à disposition par l'HFME)
- Centrifugeuse Jouan modèle HEMA-C (fournie par ISEP)

2.2 Méthode

2.2.1 But de l'étude

La société ISEP développe un nouveau dispositif pour l'autotransfusion per-opératoire. L'objectif de cette étude dite *in vivo* modèle humain ou étude biologique humaine est de collecter du sang humain dans des conditions opératoires (ici césariennes) chez des patients non éligibles à la RSPO, de caractériser ce sang épanché, de le traiter avec le dispositif ISEP ou avec le C.A.T.S^{plus} (Fresenius) et de caractériser les sangs traités. En aucun cas les sangs traités ne sont réinjectés à la patiente qui de toute façon n'aurait pas en routine bénéficié d'une autotransfusion peropératoire (pertes sanguines ne justifiant pas le recours à l'autotransfusion).

L'objectif de l'étude est d'une part de comparer les performances des 2 dispositifs en termes de concentration du sang épanché (numération sanguine, caractérisation microscopique, biochimie, hémostase) et d'étudier la performance en termes d'élimination amniotique (biochimie et cytologie)

Le critère d'investigation principal sera la performance en termes de concentration et de qualité du sang.

Le critère d'investigation secondaire sera la contamination en cellule amniotique.

Les critères de jugements sont les suivants : sang prélevé dans le bocal avant et après traitement

- **Hématocrite** : comparaison du résultat après traitement et avant traitement et entre les 2 groupes.
- **Globules rouges** : comparaison des concentrations en GR avant et après traitement et entre les 2 groupes
- **Plaquettes** : comparaison des concentrations en plaquettes avant et après traitement et entre les 2 groupes.
- **Morphologie des GR et des plaquettes, dégranulation des plaquettes** : comparaison de l'aspect des différents types cellulaires avant et après traitement et entre les 2 groupes. Si présence de plaquettes dans le sang traité, observation du caractère intact des plaquettes ou non (recherche des signes de dégranulation).
- **Agrégation plaquettaire** : comparaison du résultat avant traitement et après traitement et entre les 2 groupes.

- **Globules blancs** : comparaison des concentrations en GB avant et après traitement et entre les 2 groupes
- **Hémoglobine libre et hémolyse** : comparaison du résultat avant traitement et après traitement et entre les 2 groupes.
- **Haptoglobine et fer sérique** : comparaison du résultat avant traitement et après traitement et entre les 2 groupes.
- **Vitesse de traitement** : calcul de la vitesse de traitement en ml / min et comparaison entre les 2 groupes
- **Red Blood Cell recovery** : calcul : $(Ht \text{ final} \times \text{volume de sang à transfuser}) / (Ht \text{ initial} \times \text{volume de sang à traiter})$
- **Cellules amniotiques** : comparaison (présence ou absence voire évaluation semi-quantitative) avant et après traitement et entre les 2 groupes.
- **Marqueurs biochimiques** : comparaison des résultats (présence et évaluation semi-quantitative) avant et après traitement et entre les 2 groupes.
- **Héparinémie** : comparaison du résultat avant traitement et après traitement et entre les 2 groupes.

Le but de cette étude est d'analyser et comparer les performances de concentration du sang épanché des deux procédés avant et après traitements et leur capacité à éliminer les déchets amniotiques.

2.2.2 Design de l'étude

Cette étude, bien qu'impliquant la collecte de sang humain, n'est pas considérée comme une étude clinique au sens réglementaire du terme étant donné que le sang collecté est traité mais non réinjecté et que dans les conditions des critères d'inclusion des patientes, le sang serait tout simplement éliminé.

Cette étude est prospective et comparative puisque les caractéristiques des sangs traités par le dispositif C.A.T.Splus (Fresenius) et ISEP seront comparées. (Protocole en Annexe I)

Afin de comparer les deux dispositifs, du sang épanché est prélevé au cours de la réalisation d'une césarienne et dilué avec de l'héparine au moyen de la ligne d'aspiration prévue à cet effet. Le sérum physiologique est hépariné à raison de 25 000U/L. L'objectif est de récupérer au moins 500mL de sang épanché dilué à traiter. Le sang récolté est caractérisé puis traité avec l'un ou l'autre des dispositifs et caractérisé à nouveau. Les caractéristiques du sang traité sont

comparées au sang avant traitement pour un dispositif donné. Les sangs traités sont comparés entre eux.

L'étude s'est déroulée d'Octobre 2017 et n'est pas terminée à ce jour.

2.2.3 Nombre de répétitions

Il est prévu de réaliser 10 essais avec le C.A.T.Splus (Fresenius) et 10 essais avec le dispositif ISEP. Une ou 2 faisabilités peuvent être envisagées notamment pour le dispositif ISEP qui n'aura jamais été utilisé en conditions « cliniques ». Les résultats de ces faisabilités pourront ne pas être incorporés aux 10 essais si les conditions d'inclusion et d'utilisation ne sont pas respectées.

2.2.4 Justification du design de l'étude

Cette étude est une étude pilote ayant pour but premier de valider nos critères de jugement sur un petit nombre d'échantillons afin par la suite d'ajuster les variables. Le but étant de valider le modèle pour pouvoir continuer cette étude à plus grande ampleur afin de déboucher sur une publication. Nous avons donc en connaissance de cause admis que la puissance de l'étude n'est pas suffisante pour tirer des conclusions quant au gain de performance réel avec ISEP.

2.2.5 Schéma de randomisation

Bien que l'étude soit comparative, l'étude n'est pas randomisée. D'autre part, les dispositifs étant très différents, les utilisateurs des dispositifs sauront quel dispositif ils vont utiliser : l'étude ne peut pas être réalisée en aveugle.

2.2.5.1 Critères d'inclusions

- Césariennes programmées (sans urgence) non éligibles à la RSPO
- Patientes pour lesquelles le travail n'a pas commencé
- NFS normale au 8^{ème} mois
- Perte sanguine > 500mL
- Patientes ayant plus de 18 ans

2.2.5.2 Critères d'exclusions

- Pathologies d'insertion du placenta
- Césariennes en urgence
- Césariennes non urgentes avec travail spontané ou déclenché

2.2.6 Recueil du Sang

Quel que soit le dispositif utilisé, en début de chirurgie, la ligne d'aspiration est connectée au bocal de récupération selon les procédures habituelles de l'établissement. Le goutte à goutte de sérum physiologique hépariné (dose usuelle de l'établissement) est mis en place afin de diluer et anti-coaguler le sang épanché. La concentration en héparine est enregistrée. Le bocal d'aspiration est connecté à la source de vide (vide mural) et la pression d'aspiration est réglée pour ne pas dépasser 300mm d'Hg. Pour l'utilisation du C.A.T.Splus (Fresenius), le bocal de récupération est celui spécifique à la machine. Pour le dispositif ISEP, le bocal de récupération sera soit fourni par ISEP soit un bocal de récupération Fresenius sera utilisé. Le type de bocal sera enregistré.

Les pertes sanguines per-opératoires seront récupérées extemporanément puis seront collectées dans le bocal de récupération. Le volume sanguin épanché sera collecté pour chaque essai. La récupération du sang se fera après la première procédure d'aspiration au moment de la rupture des membranes. Traditionnellement deux aspirations sont faites : une première, contenant majoritairement du liquide amniotique, qui sera jetée puis la deuxième sur les pertes sanguines qui sera récupérée.

2.2.7 Caractérisation des sangs

Avant le traitement, des échantillons de sang sont prélevés dans le bocal de récupération soit par installation d'une dérivation sur la tubulure entre le bocal de récupération et le système de traitement soit par un prélèvement à l'aide d'une seringue munie d'une aiguille. La méthode de recueil sera précisée dans le rapport.

A l'issue du traitement, que ce soit par le C.A.T.S.plus (Fresenius) ou le dispositif ISEP, le sang traité est collecté. Le tableau suivant présente les analyses qui seront réalisées sur les différents sangs ainsi que les tubes de prélèvement à utiliser pour la collecte de l'échantillon.

Tableau 1 : différentes caractérisation sanguines avant/après traitement dans chaque groupe

Analyse	Groupe A = CATS		Groupe B = Dispositif I-Sep		Type de tube de collecte de sang
	Avant traitement (PF)	Après traitement (T)	Avant traitement (PF)	Après traitement (T)	
NFS + Bilan de coagulation (dont fibrinogène)	X	X	X	X	Tube EDTA (bouchon violet) pour NFA + tube citraté (bouchon bleu) pour bilan de coagulation
Héparinémie	X	X	X	X	Tube citraté
Haptoglobine + fer sérique	X	X	X	X	Tube héparinate de lithium + 1 tube jaune
Morphologie des GR et des plaquettes/ dégranulation des plaquettes	X	X	X	X	Tube EDTA
Cytologie des cellules amniotiques	X	X	X	X	Tube EDTA
Marqueurs biochimiques amniotique (IGF BP1)	X	X	X	X	Tube EDTA
Agrégation plaquettaire	X	X	X	X	Tube citraté
Dosage protéines totales	X	X	X	X	Même tube (EDTA) que celui prévu pour la cytologie

Un bon d'envoi spécifique au laboratoire a été édité pour permettre la réalisation de l'ensemble des analyses (Annexe II).

Les échantillons sont identifiés par le numéro de l'étude (ETC 2016-001) puis par le groupe (A ou B) puis PF pour pré-filtration, soit avant traitement et T pour après traitement puis le numéro d'incrémentation du patient tel que mentionné dans la fiche de collecte des données (1, 2,..10). Ainsi, par exemple, le tube collecté lors de l'utilisation du dispositif ISEP après le traitement sur le premier patient de ce groupe est identifié ETC2016- 001 / B-T / #1, le tube collecté lors de l'utilisation du dispositif CATS avant le traitement sur le 4^{ème} patient de ce groupe est identifié ETC 2016-001 / A-PF / #4. Des étiquettes dédiées sont fournies par ISEP pour coller sur les tubes et le bon d'envoi correspondant.

Les volumes de sang à traiter et traités seront enregistrés afin de calculer notamment le « Red Blood Cells Recovery ».

Il est anticipé que les résultats des analyses sanguines seront en dehors des spécifications des sangs de patients analysés à l'hôpital. Il sera donc important d'identifier l'échantillon pour que le laboratoire en charge de l'analyse ne juge pas le résultat non conforme car non compris dans les spécifications habituelles. Le sachet contenant les tubes ainsi que le bon d'envoi au laboratoire accompagnant les tubes seront estampillés d'une étiquette rose fluo portant la mention : ETUDE ISEP / ETUDE ETC2016-001.

Les analyses seront réalisées par le Centre d'Evaluation Biologique du Groupement Hospitalier Lyon Est selon les méthodes utilisées en routine pour les analyses sanguines des patients. Il a donc été convenu avec le laboratoire d'enregistrer au sein de leur fichier un document spécifique à l'étude ne présentant pas le nom des patientes.

Un budget prévisionnel a été établi (Annexe III).

Aucun prélèvement de sang n'est effectué directement sur la patiente.

2.2.8 Analyse statistique

Cette étude en obstétrique impliquera l'inclusion de 10 patients. De plus, elle pourra permettre la comparaison avec les résultats obtenus avec le dispositif CATS (Fresenius).

L'étude statistique de comparaison des résultats obtenus avec le dispositif ISEP et CATS sera un test non paramétrique de type Mann-Withney. Le seuil de significativité est fixé à 0,05.

2.2.9 Comité d'éthique

L'étude est considérée comme non interventionnelle. Malgré tout, une sollicitation d'un comité de protection des personnes (CPP) a été réalisée.

Une demande a été effectuée le 26 octobre 2016 auprès du comité de protection des personnes du centre Léon Bérard. Un synopsis de protocole décrivant l'étude, ses caractéristiques, la durée de l'étude et le critère de jugement ont été fournis. La réponse reçue le 9 novembre 2016 et les conclusions du CPP sont les suivantes : « au vu des informations fournies, il (le CPP) considère que cette étude est non interventionnelle et ne nécessite pas l'avis d'un CPP pour être conduite en France ». (Annexe IV)

De plus, une autorisation orale d'inclusion dans l'étude était nécessaire afin d'inclure les patientes. Il a ainsi été créé une fiche d'information pour les patientes à inclure dans l'étude (Annexe V).

2.3 Présentation des résultats

2.3.1 Données générales

Entre 1/10/2017 et 19/01/2018 (3.5 mois) il y a eu environ 31 tentatives d'inclusion (tableau récapitulatif complet de tous les essais en Annexe VI). Il n'y a eu finalement à ce jour que 3 inclusions dans le groupe C.A.T.S^{plus} (Fresenius) et 9 dans le groupe ISEP.

Dans le groupe ISEP, seulement un essai sera retenu dans l'étude. En effet les deux inclusions uniquement en pré-filtration (l'inclusion ayant été abandonnée du fait d'un dysfonctionnement de la machine en traitement) présentaient des caillots. Pour les autres non inclusions à posteriori, l'hématocrite de départ ainsi qu'une non atteinte du volume cible final nous a poussé à les retirer de l'étude. (Voir tableau ci-après).

Tableau II Récapitulatif général des essais allant en analyse

Essai # (pour analyse interim)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Date de l'essai (2017)	2/10	6/10	5/12	23/11	23/11	15/12	15/12	19/12	19/12
Groupe	A	A	A	B	B	B	B	B	B
ID cas	A001	A002	A003	B0a	B0b	B001	B002	B003	B004
Matériel de collecte sang (Ligne d'aspiration)	CATS	CATS	CATS	i-Sep	i-Sep	CATS	CATS	i-Sep	i-Sep
Matériel de collecte sang (Bocal de collecte)	CATS	CATS	CATS	i-Sep	i-Sep	CATS	CATS	CATS	CATS
Matériel de traitement du sang (Kit de traitement)	CATS (centrifugation)	CATS (centrifugation)	CATS (centrifugation)	i-Sep (filtration)	i-Sep (filtration)	i-Sep (filtration)	i-Sep (filtration)	i-Sep (filtration)	i-Sep (filtration)
Etat de sang dans le bocal de collecte	fluide	fluide	fluide	caillots observés	caillots observés	fluide	fluide	fluide	fluide
Echantillons de sang AVANT (bocal) - Pf	valides	valides	tubes NFS coagulés	valides ? (manquent réticulocytes et hémostase routine)	valides	valides	valides	valides	valides
Echantillons de sang APRES (poche de transfusion) - T	valides	valides	valides	ND non prélevés	ND non prélevés	valides	valides	valides	valides
Inclusion dans le protocole ?	oui	oui	oui	non	non	non	oui	non	non
Raison de la non-inclusion	NA	NA	NA	Pas de traitement réalisé	Pas de traitement réalisé	hct bocal < 10%	NA	Volume cible de traitement non atteint	Volume cible de traitement non atteint

De plus le volume de sang était toujours suffisant pour pouvoir lancer le traitement et ainsi avoir des résultats analysables (sauf A003 où le recueil était de 470ml mais a permis de lancer un cycle de traitement).

Tableau II Récapitulatif des volumes pré, post traitement et de la durée du traitement

Essai # / ID - Cas	Volume traité (mL)	Volume de concentré récupéré (mL)	Durée du traitement total (lancement - restitution Concentrât) (min)
1 / A001	600	50	NR
2 / A002	800	53	NR
3 / A003	470	39	7
4 / B0a	NA	NA	NA
5 / B0b	NA	NA	NA
6 / B001	500	176	12
7 / B002	500	176	27
8 / B003	500	609	15
9 / B004	500	501	35

2.3.2 Résultats de performance principaux

2.3.2.1 Observations microscopiques

Pour le groupe C.A.T.S^{plus} (Fresenius) nous avons pu remarquer (mis à part le prélèvement A003 qui était coagulé) qu'avant traitement il n'y avait pas d'altération de la qualité des cellules sanguines avec des morphologies cellulaires normales, ainsi qu'une absence de schizocytes et de dégranulation plaquettaire. Une faible présence d'altération leucocytaire est ainsi notée.

Pour ce qui est de l'après traitement, il est noté que la plupart des hématies sont fusiformes sans anisocytose, de plus il n'y a pas d'hématies altérées et notamment pas de schizocyte. Les leucocytes sont en nombre réduit et entre 75% et 100% sont altérés.

Pour ce qui est de l'inclusion ISEP, nous ne remarquons avant traitement aucune anomalie morphologique des cellules sanguines, d'hémolyse et une dé granulation plaquettaire. Après traitement, aucune plaquette n'étaient visibles et 35 % à 40 % des leucocytes étaient altérés. Il n'y avait de plus aucune altération des cellules sanguines et pas d'hémolyse.

Tableau III : analyse microscopique cellulaire du sang avant et après traitement

AVANT Essai # / ID - Cas				
	1 / A001	2/A002	3/A003	1/B001
Commentaire Morphologie des GR - Recherche de schizocytes	Il n'a pas été observé de coagulum dans le tube. Thrombopénie confirmée à l'examen microscopique du frottis (absence d'amas plaquettaires).	Pas de commentaire	Pas de commentaire	Pas de commentaires
Commentaire Morphologie des plaquettes, dégranulation des plaquettes	Il n'a pas été identifié de schizocytes sur cet échantillon (<1%).	Il n'a pas été identifié de schizocytes sur cet échantillon (<1%).	Coagulé	Il n'a pas été identifié de schizocytes sur cet échantillon (<1%)
Cytologie sur sang périphérique - Compte rendu (May-Grünwald Giemsa) - Analyse de l'étalement de sang coloré au MGG avec la présence:	Hématies sans anisocytose, de morphologie normale. Pas d'hématies altérées, pas de schizocytes. . Des leucocytes dont 25-30% sont altérés, ceux intacts présentant une morphologie normale. . Des plaquettes en nombre très réduit montrant une répartition en taille correcte, 100% étant inférieure à 4µm, et une répartition des granulations normales.	Hématies sans anisocytose, de morphologie normale. Pas d'hématies altérées, pas de schizocytes. . De leucocytes dont 1% sont altérés, ceux intacts présentant une morphologie normale. . De plaquettes en proportion extrêmement réduite montrant une répartition en taille correcte, 100% étant inférieures à 4µm, et une répartition des granulations normales.	Le prélèvement destiné à la numération et à l'analyse du frottis sanguin est coagulé. Nous ne pouvons donc malheureusement pas réaliser d'analyse cytologique valable.	Pas d'anisocytose, morphologie normale. Discrète poikilocytose mais zone-dépendante. Pas d'hématies altérées, pas de schizocytes. . 15 à 20% de leucocytes altérés, ceux intacts présentant une morphologie normale. On identifie quelques monocytes et polynucléaires phagocytant des hématies. . De plaquettes en proportion réduite, celles visibles présentant une taille correcte (< 4µm) et une dégranulation.
Cytologie sur sang périphérique - Conclusion	Pas d'altération notable des hématies et des plaquettes et présence de 25 à 30% de leucocytes altérés.	Pas d'altération des hématies et des plaquettes et présence de 1% de leucocytes altérés.	/	

APRES Essai # / ID - Cas

	1 / A001	2/A002	3/A003	1/B001
Commentaire Morphologie des GR - Recherche de schizocytes	Hématies en fuseau, impossible de savoir si présence de schizocytes.	Il n'a pas été identifié de schizocytes sur cet échantillon (<1%).	Il n'a pas été identifié de schizocytes sur cet échantillon (<1%).	Il n'a pas été identifié de schizocytes sur cet échantillon (<1%).
Commentaire Morphologie des plaquettes, dégranulation des plaquettes	Il n'a pas été observé de coagulum dans le tube.	Pas de commentaire	Il n'a pas été observé de coagulum dans le tube.	Pas de commentaire
Cytologie sur sang périphérique - Compte rendu (May-Grünwald Giemsa) - Analyse de l'étalement de sang coloré au MGG me la présence:	. D'hématies le plus souvent fusiformes sans anisocytose, qui présentent une morphologie normale dans les zones où elles sont surétalées. Il n'y a pas d'hématies altérées et notamment pas de schizocytes en nombre très réduit dont 100% sont altérés. . On ne voit pas de plaquettes de façon évidente.	. D'hématies le plus souvent fusiformes sans anisocytose, qui présentent une morphologie normale dans les zones où elles sont surétalées. Il n'y a pas d'hématies altérées et notamment pas de schizocytes. . De leucocytes en proportion très réduite dont 70 à 75% sont altérés. . On ne voit pas de plaquettes de façon évidente.	. D'hématies le plus souvent fusiformes sans anisocytose avec une morphologie normale dans les zones où elles sont surétalées. Il n'y a pas d'hématies altérées et notamment pas de schizocytes. . De leucocytes dont plus de 95 à 100% sont altérés. . On ne voit pas de plaquettes de façon évidente	Hématies de morphologie normale, sans anisocytose ni schizocytes. Présence de leucocytes dont 35 à 40% sont altérés ; ceux intacts ayant une morphologie normale. Aucune plaquette visible
Cytologie sur sang périphérique - Conclusion	Pas d'altération notable des hématies dont la majorité ont une forme fusiforme anormale, présence de 100% de leucocytes altérés. Et plaquettes absentes.	Pas d'altération des hématies dont la majorité a une morphologie anormale, fusiformes, et présence de 70 à 75% de leucocytes altérés tandis que les plaquettes sont absente	Hématies en majorité avec une morphologie anormale, fusiformes, et présence de plus de 95% de leucocytes altérés tandis que les plaquettes sont absentes.	Pas d'altération des hématies et présence de 35 à 40% de leucocytes altérés.

2.3.2.2 Résultats sur numération formule plaquettaire

- Globules rouges

Pour ce qui est de la concentration en globule rouge, nous avons constaté que pour le groupe C.A.T.Splus (Fresenius) la concentration en globule rouge moyenne passait de 1,79 téra/l avant traitement à 6,41 téra/l en moyenne. Pour ce qui est du groupe ISEP, la concentration passait de 1,56 avant traitement à 3,34 téra/l de concentration en globule rouge. (Voir tableau ci-dessous)

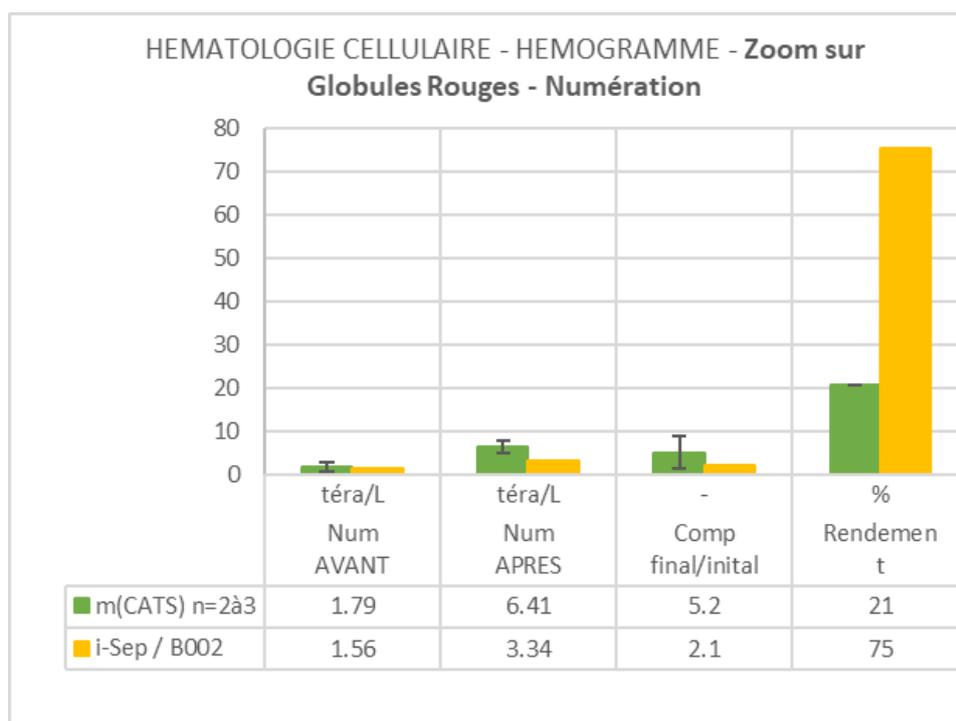


Figure 1 : concentration avant/après en globules rouges pour les 2 procédés

Pour ce qui est du volume globulaire moyen (VGM), on constate que dans les deux groupes, aucunes modifications n'ont pu être mises en évidence.

- Hématocrite

En ce qui concerne l'hématocrite, nous avons pu constater que pour le groupe C.A.T.Splus (Fresenius), l'hématocrite est passée de 16,5% à 55,5% avec un rapport de 4,8 avec ISEP qui passait de 12,6% à 26,6%.

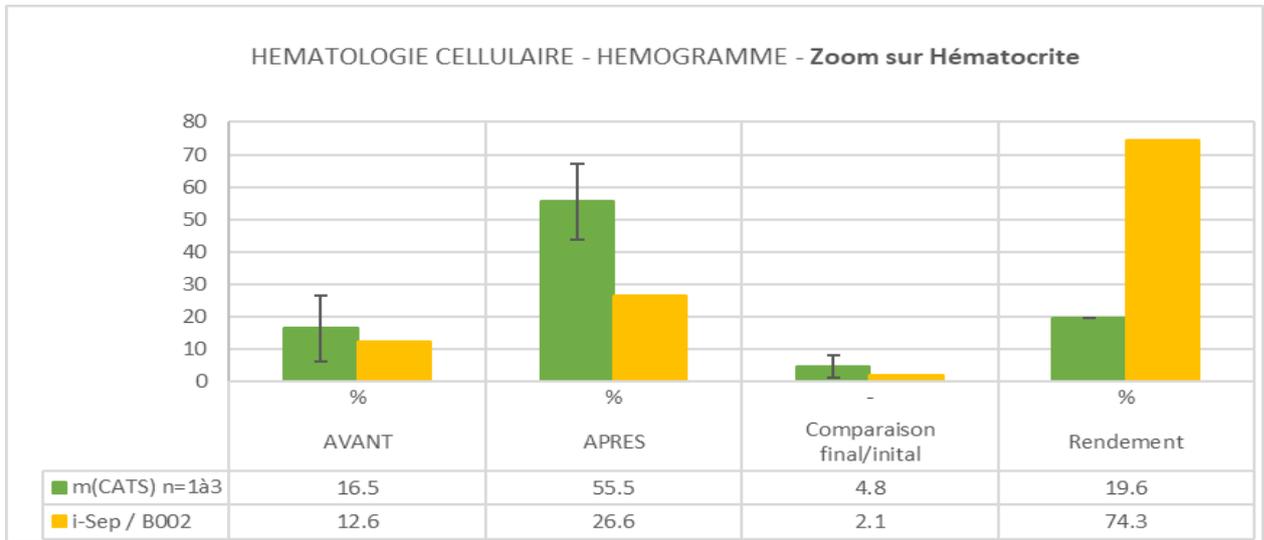


Figure 2 : description avant/après traitement de l'hématocrite

- Hémoglobine

Concernant la concentration en hémoglobine avant et après traitement, pour le groupe C.A.T.Plus (Fresenius) l'hémoglobine passe en moyenne de 58 g/l à 201 g/l. Pour le groupe ISEP l'hémoglobine passe de 40g/l à 85g/l.

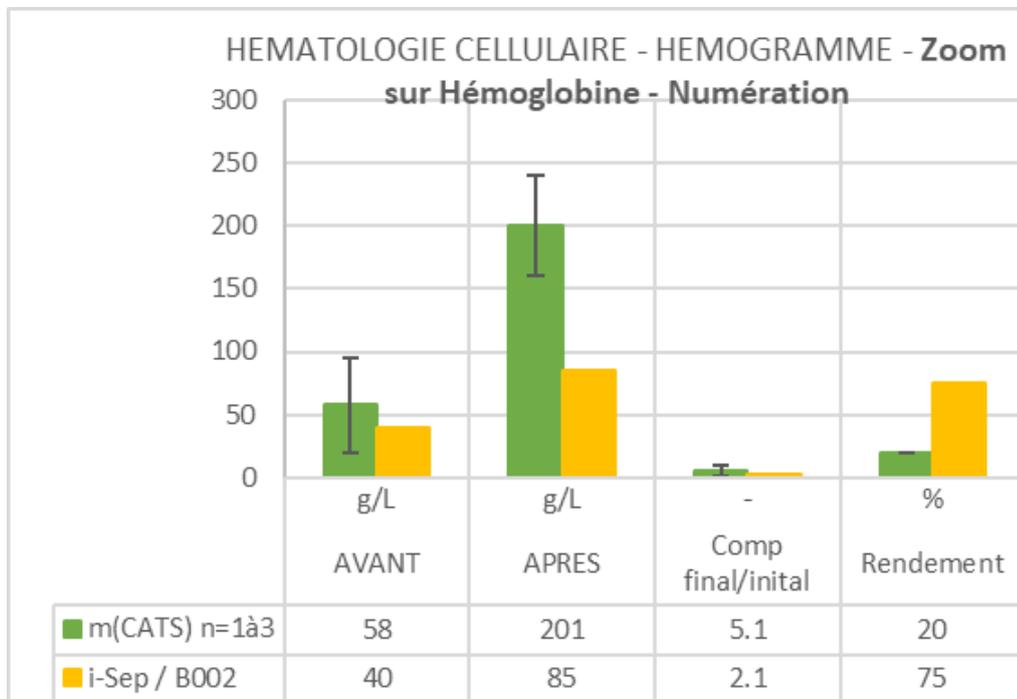


Figure 3 : concentration en hémoglobine avant/après pour chaque groupe

- Plaquettes

Concernant les plaquettes, nous remarquons que dans les inclusions du groupe C.A.T.Splus (Fresenius), les plaquettes passent de 27 G/l avant traitement à 9 G/l après traitement. Pour le groupe ISEP, les plaquettes passent de 9 G/l à 13G/l sur l'échantillon inclus.

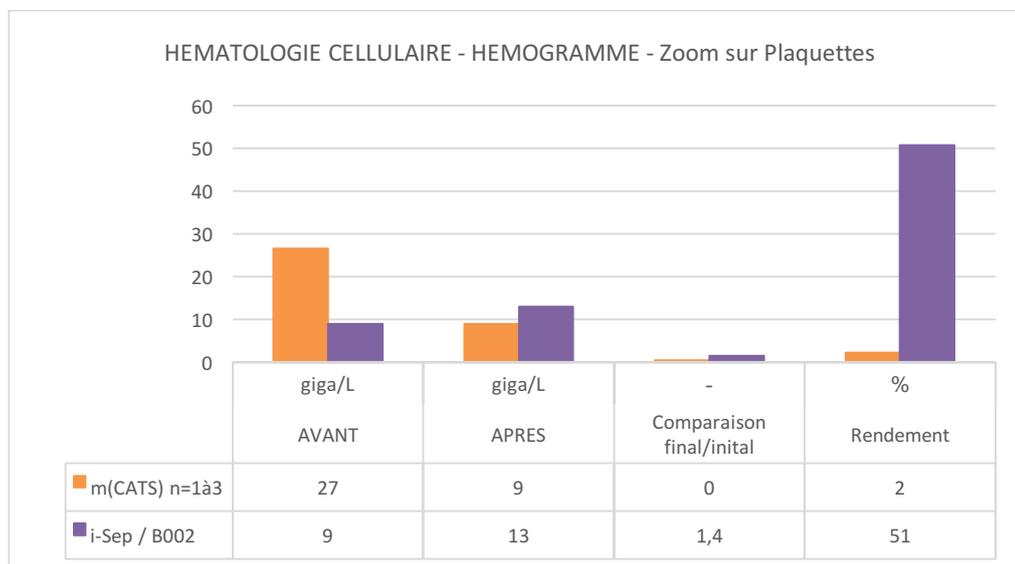


Figure 4 : description avant/après de la concentration plaquettaire

2.3.2.3 Biologie fœtale

Les analyses de biologie fœtale ont fait intervenir 3 tests : 1 test quantitatif (dosage d'alpha-fœto-protéine AFP), un semi-quantitatif (cytologie fœtale) et 1 qualitatif (IGFBP1 sur bandelette). La cytologie a été abandonnée car la présence trop nombreuse de cellules n'apportait pas grand-chose tant la contamination était importante.

Pour ce qui est des tests sur bandelette IGFBP1, nous remarquons que sur les 3 résultats C.A.T.Splus (Fresenius), 2 résultats ne présentes qu'une seule bande après traitement. Pour le groupe ISEP l'échantillon présentait 2 bandes, de plus tous les échantillons non conservés pour l'étude présentaient tout de même 2 bandes après traitement.

Pour le dosage d'AFP, certains dosages ont été fait 2 fois d'où un dosage d'AFP moyenné sur les résultats.

En moyenne sur le groupe C.A.T.Splus (Fresenius), l'AFP passe de 904 KUI/L avant traitement à 21KUI/l. Pour le groupe ISEP, l'AFP passe de 66 KUI/l avant traitement à 30 KUI/l après traitement.

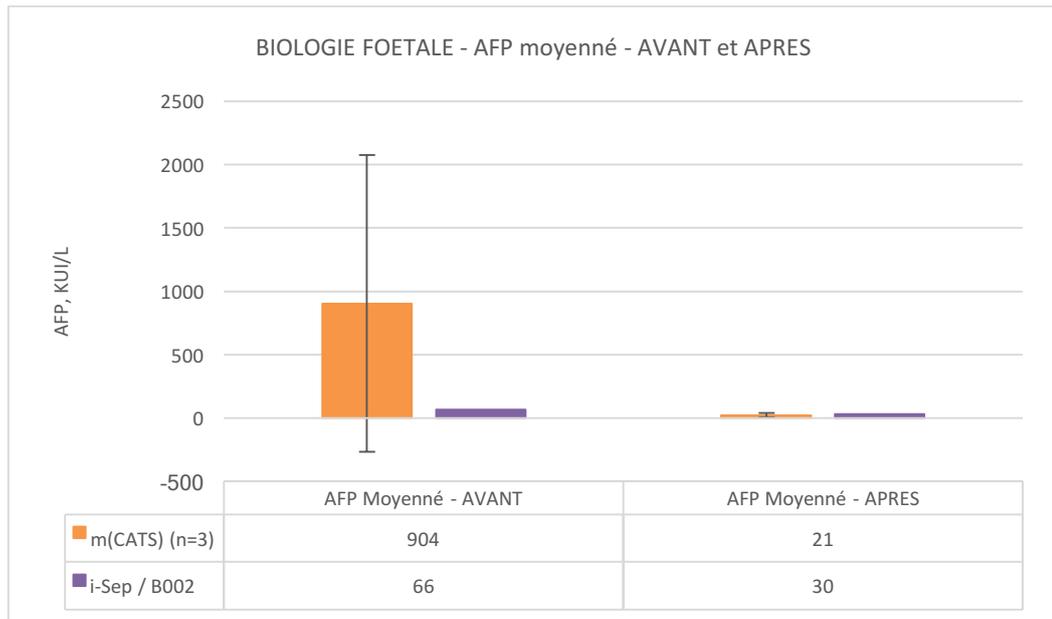


Figure 5 : valeur AFP en KUI/l avant/après pour chaque groupe

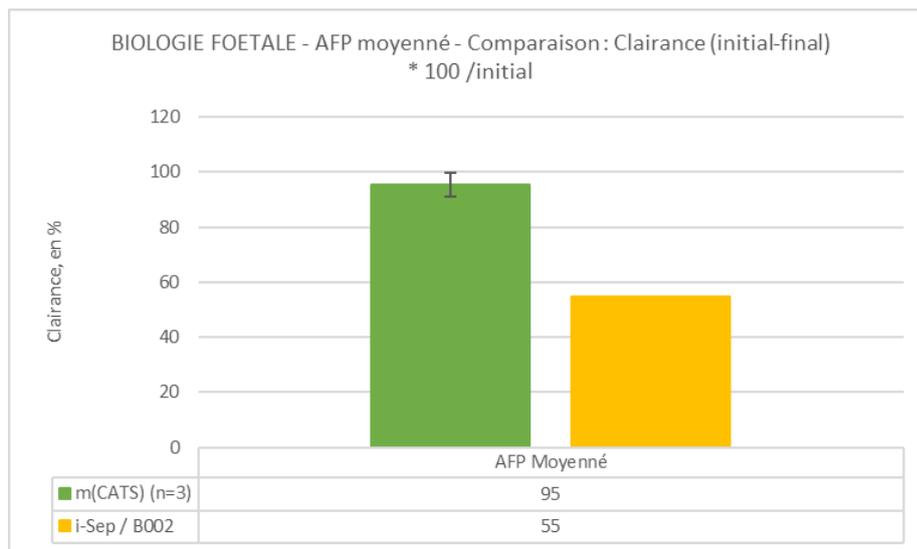


Figure 6 : clairance AFP pour chaque groupe

2.3.2.4 Hémolyse et critère biologique de sécurité

Concernant les critères d'hémolyse avant et après traitement, pour le groupe C.A.T.Splus (Fresenius) l'haptoglobine passe de 0,16 g/l à indétectable après traitement. Pour le groupe ISEP, elle passe de 0,29 g/l à 0,13g/l après traitement. De plus les concentrations corpusculaires moyennes en hémoglobine ne changent pas avant et après traitement pour les deux groupes.

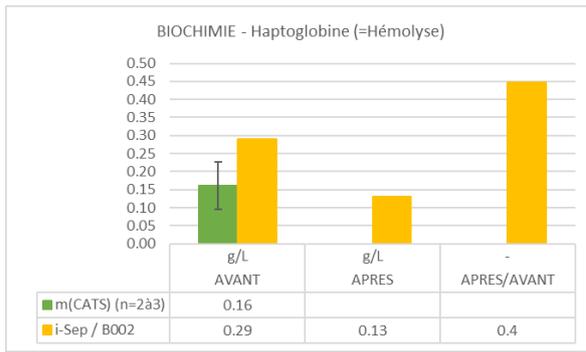


Figure 7 : concentration en haptoglobine avant/après traitement pour chaque groupe

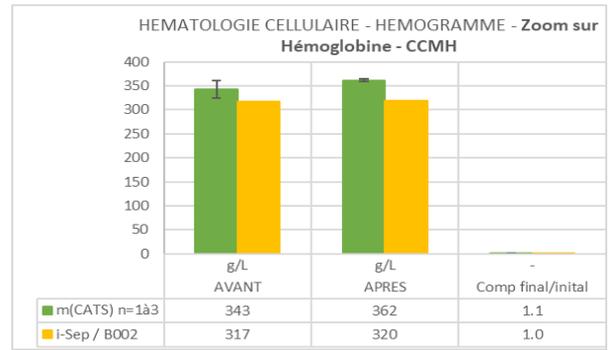


Figure 8 : CCMH avant/après pour chaque groupe

3. ANALYSE ET DISCUSSION

3.1 Synthèse des résultats

Notre étude a montré pour l'instant que du point de vue des performances de concentration du sang, le C.A.T.Splus (Fresenius) avait des résultats tout à fait satisfaisant avec une hématocrite en moyenne de 55.5% ce qui est concordant avec la notice d'utilisation. Pour ce qui est de l'inclusion du groupe ISEP les performances sont pour l'instant bien en deçà des performances attendues en termes de concentration sanguine avec une hématocrite final à 26,6% ce qui est insuffisant pour avoir une réelle efficacité thérapeutique.

Pour ce qui est de la concentration en hémoglobine, le C.A.T.Splus (Fresenius) montre une bonne concentration en corrélation avec le manuel d'utilisation avec 201g/l après traitement. Par contre pour l'ISEP, la concentration en hémoglobine est de 85g/l ce qui est très en dessous des normes de concentration en termes de re-transfusion. (SFAR)

Enfin, pour le groupe C.A.T.Splus (Fresenius), la concentration globulaire est satisfaisante alors que pour l'inclusion ISEP, la performance est insuffisante.

Les autres résultats de la numération formule sanguine sont dans les deux groupes normaux (VGM, CCMH).

Pour ce qui est de l'analyse microscopique il a été surprenant de constater un aspect de cellule fusiforme atypique après traitement par le C.A.T.Splus (Fresenius), aucune donnée à l'heure actuelle ne décrit l'impact d'une telle modification morphologique sur l'efficiéce des globules rouges qui seraient réinjectés. Il serait en effet intéressant de se rapprocher de physiologiste pour étudier ainsi l'impact potentiel d'une telle modification morphologique. De plus la forte altération des leucocytes ouvre la question de la sécurité de réinjection d'éléments immunitaires altérés. Pour ce qui est de L'ISEP, les résultats microscopiques ne montrent quant à eux aucunes altérations morphologiques des globules rouges et des leucocytes.

Pour ce qui est de la conservation plaquettaire, en corrélation avec les attentes que nous avons vis à vis du C.A.T.Splus (Fresenius), les plaquettes sont en grande partie éliminées. A noter que pour des valeurs en dessous de 10G/l, l'automate du laboratoire de biologie calculant la concentration plaquettaire affiche une marge d'erreur significativement importante pour qu'en pratique courante, un sang affichant des concentrations plaquettaires inférieures à 10G/l est considéré significativement inefficace pour maintenir une quelconque

hémostase. Par contre pour l'inclusion du groupe ISEP, nous avons pu remarquer une relative concentration plaquettaire passant d'une concentration inférieure à 10 G/l à 13 G/l, de plus l'analyse microscopique ne montrait pas de modification morphologique ni agrégation plaquettaire.

Du point de vu de la biologie fœtale, la caractérisation cytologique a été abandonnée par le laboratoire de référence vu le grand nombre de cellules présentes avant traitement.

La caractérisation de présence de marqueur IGFBP-1 sur bandelette Actim® PROM a montré pour le groupe C.A.T.Splus (Fresenius) une négativation entre le moment du recueil et après traitement sur deux des trois inclusions. Toutefois pour les trois inclusions, le taux moyen d'AFP retrouvé après traitement est de 21KUI/l correspondant à 0,18 MoM (multiple de la médiane). Ce résultat est tout à fait satisfaisant. Pour rappel, la norme chez les femmes à partir de 37SA est comprise entre 0,5 à 2,5 MoM dans la circulation générale (rapport fait entre le taux retrouvé et la moyenne observé chez les femmes à terme de 114,5KUI/l). Pour le groupe ISEP, l'inclusion montre un taux d'AFP après traitement en MoM de 0,26 ce qui est aussi satisfaisant. Il sera nécessaire toutefois de caractériser par la suite par une analyse cytologique la présence ou non de résidus fœtaux après traitement.

Du point de vu des analyses de performance secondaire, les deux groupes n'ont pas montré d'hémolyse avec des taux d'haptoglobine satisfaisants et des CCMH normales.

Les analyses d'investigation d'hémostase n'ont pas été présentées (multiplate, Rotem, bilan de coagulation classique) du fait de leur faible intérêt à postériori. En effet les données disponibles montrant un sang décoagulé dans les deux groupes. Ces investigations étant couteuses et faiblement utiles dans la question de ce mémoire nous n'avons pas reconduit ces investigations pour les inclusions futures potentielles.

3.2 Comparaison aux données de la littérature

3.2.1 Performance de concentration sanguine

Pour ce qui est de la performance de concentration sanguine, dans le groupe C.A.T.Splus (Fresenius), les performances attendues sont cohérentes avec le manuel d'utilisation de la machine, en effet la concentration à 55,5% en moyenne d'hématocrite sont en cohérence avec les objectifs de 55% à 65% d'hématocrite du manuel. De plus, une étude réalisée sur des poches de sang après une procédure chirurgicale autre qu'obstétricale montrait des performances pour le C.A.T.Splus (Fresenius) en terme d'hématocrite de 57,71% (18). Par contre pour ce qui est de l'inclusion ISEP, les performances ne sont cohérentes avec aucune données ni recommandation en termes d'hématocrite.

Du point de vue de la concentration plaquettaire, l'élimination des plaquettes dans le sang des inclusions du groupe C.A.T.Splus (Fresenius) est en cohérence avec le manuel d'utilisation de la machine. Il est en effet connu que les procédés de récupération éliminent la plupart des produits du sang en dehors des globules rouges. De ce fait l'équipe du King Edward Memorial Hospital en Australie, a introduit l'utilisation en routine du cell salvage dans son service de gynécologie-obstétrique.

Parmi les 51 cas obstétricaux relevés entre 2007 et 2009 pendant la phase d'assurance qualité et de familiarisation avec l'appareil, le sang de 22 femmes a été récupéré mais seules 21 ont été transfusées avec leur sang autologue. Parmi ces 21 femmes, 7 n'ont reçu que des globules rouges autologues mais 2 de ces 7 femmes ont également reçu des produits sanguins allogéniques supplémentaires (plaquettes ou plasma frais congelé)(19). Ce problème est donc connu et la faible concentration des plaquettes dans l'inclusion ISEP (13G/l après traitement) n'est pas encore suffisant ni significatif pour assurer une conservation plaquettaire suffisante à une hémostase convenable.

Pour ce qui est de la concentration en hémoglobine et la concentration en globules rouges, aucune étude ne décrit des analyses faites sur des poches de sang. Toutefois ces résultats sont cohérents avec les attentes vis à vis du manuel d'utilisation et des attentes usuelles en termes d'autotransfusion. (Société française d'anesthésie réanimation « SFAR » 2001). Du point de vue de l'inclusion ISEP, les performances sont encore une fois en deçà des attentes usuelles. (SFAR 2001) Deux hypothèses peuvent être posées quant aux mauvaises performance du prototype ISEP : premièrement la qualité de filtration est encore à étoffer et les

caractéristiques intrinsèques de la machine sont encore insuffisantes pour avoir une efficacité thérapeutique réelle, deuxièmement des problèmes d'homogénéisation dans le bocal de récupération peuvent être à l'origine de l'hématocrite et concentration globulaire basse en prétraitement expliquant des erreurs de calcul amenant à de mauvaises concentrations finales. Toutefois la faible inclusion dans les deux groupes ne permet pas de tirer des conclusions définitives

3.2.2 Caractérisations microscopiques

Les caractérisations microscopiques du sang du groupe C.A.T.Splus (Fresenius) montrant des globules rouge d'aspect fusiforme ne font appel à aucune description dans la littérature. Par contre la dégradation des produits leucocytaires soulève la question des événements indésirables potentiels à la réinjection d'un sang présentant des cellules de l'immunité altérées. Toutefois En 2002, Catling et *al.* ont publié un article de 4 case reports en UK pour lesquels le Cell Saver 5 couplé à un filtre de leuco-dépletion (Pall RC 100) a été utilisé. Chez 3 femmes sur les 4 le cell saver a été utilisé pendant une césarienne et pour la 4^{ème} pour une hémorragie post-partum. Les 4 patientes étaient Rhésus + donc aucun problème d'allo-immunisation n'a été observé. Dans les 4 cas, aucune réaction liée à la transfusion autologue n'a été observée. Cependant, chacune des femmes a été transfusée avec plusieurs unités de GR allogéniques, de plasma frais congelé, de plaquettes et de colloïdes et avec plusieurs millilitres de sang autologue traité par cell saver. Bien que ce ne soit pas avec la même machine le procédé de lavage du sang se fait aussi par centrifugations (20). La littérature décrivant la fonctionnalité et le danger potentiel d'éléments immunitaires altérés ne font appel à aucune donnée dans la littérature toutefois, une étude cas témoins sur du sang porcine in-vitro remarque qu'entre deux groupes, l'un lavé avec un procédé de récupération de sang et l'autre non, le passage dans un filtre leuco déplétif permet de retirer efficacement tous les produits immunitaires notamment les neutrophiles après le lavage par un procédé d'autotransfusion.(21)

Toutefois la faible inclusion dans les deux groupes ne permet pas de tirer de conclusions définitives.

3.2.3 Hémolysse

Il n'a pas été remarqué d'hémolysse avant et après traitement dans les deux groupes avec des valeurs d'haptoglobine basse pour les deux groupes respectivement de 0 pour le groupe C.A.T.Splus (Fresenius) et 0,16 pour le groupe ISEP. L'absence d'hémolysse est en accord avec une étude *in vitro* comparant les performances de deux machines Fresenius (CATS smart et CATS plus) et concluant sur une absence d'hémolysse en fin de traitement.(18)

Toutefois la faible inclusion dans les deux groupes ne permet pas de tirer de conclusions définitives.

3.2.4 Biologie fœtale

Pour ce qui est de la biologie fœtale, le groupe C.A.T.Splus (Fresenius) montre en effet que deux des échantillons sur trois présentaient un taux de marqueur IGFBP1 inférieur à 0,25 µg/L car se sont retrouvés invalidés après traitement. Ce qui est en corrélation avec le passage de 904KUI/l avant traitement à 21KUI/l après traitement en AFP. Rapporté aux courbes du laboratoire d'analyse de biologie fœtale nous obtenons 0,18 MoM (la norme étant de 0,5 à 2,5 MoM). Ces résultats confirment pour l'instant ceux de plusieurs études dont celle de Sullivan et *al.*(22) qui s'intéressait à la contamination en AFP et cellules amniotique du sang avant et après traitement par récupération de sang et après passage dans un filtre leucodépletif.

Les concentrations ont été significativement réduites après le lavage par rapport au prélavage, dans les 2 groupes. Cependant, aucune différence significative n'a été détectée dans les échantillons post-filtration par rapport au post-lavage.(22) Ces résultats sont aussi en cohérence avec Jackson et *al.* (23) ayant publié un article en 1993 portant sur l'évaluation de l'efficacité et la sécurité de la technique de récupération cellulaire et de re-transfusion du sang autologue sur 109 patientes subissant des césariennes avec une hémorragie sévère. Deux lignes distinctes d'aspiration ont été utilisées, une pour le liquide amniotique, et la seconde pour le sang hémorragique. Leurs études *in vitro* sur le sang traité avaient démontré l'élimination complète des marqueurs biologiques (AFP et débris fœtaux). La transfusion a été pratiquée chez 64 patientes. Aucun cas d'AFE, ni aucune autre réponse défavorable à la transfusion de GR autologues n'a été observée. Les auteurs en ont donc conclu que la récupération cellulaire était une méthode sûre et efficace pour la transfusion de sang autologue pour les hémorragies dues aux césariennes.(23) La très bonne élimination de L'AFP du C.A.T.Splus (Fresenius) est en cohérence de plus avec l'étude d'Allam et *al.*(3) Avec le Cell Saver 3 (Haemonetics), l'étude a montré une disparition du phosphatidyl

glycerol et une absence d'activité coagulante dans le sang après concentration. Une autre étude, concernant une machine Sorin, a montré que l'AFP et les trophoblastes étaient éliminés après le traitement du sang récupéré. De même avec une machine COBE BRAT 2, l'AFP a été éliminée mais certaines cellules squameuses ont demeuré après le traitement du sang par cette machine. Une étude sur le Cell Saver 4 (Haemonetics) a montré une élimination du facteur tissulaire du liquide amniotique et de la foetoprotéine. Concernant l'élimination des composants lipidiques, tels que les corps lamellaires ou les phospholipides, la machine CATS (Fresenius) semble être plus efficace. (Allam et *al.* 2008).(3)

Toutefois il est à noter d'une part le nombre d'inclusions n'est pas suffisant pour justifier de la sécurité de ce procédé, d'autre part, les études s'étant penchées sur la question avait aussi exploré le versant cytologique de la contamination du sang. En effet la sécurité vis-à-vis de l'AFE était complète du fait de l'élimination des cellules amniotique et donc du risque thrombotique pulmonaire avec l'absence de marqueurs biochimiques fœtaux, cause de coagulation intra vasculaire disséminée (CIVD).

Pour le groupe ISEP, l'AFP résultant après lavage était de 30KUI/L ramenant à 0,26MoM. Ce résultat était donc satisfaisant toutefois une seule inclusion reflète encore moins le caractère reproductif de cette performance.

3.3 Discussion

3.3.1 Forces et limites de l'étude

3.3.1.1 Forces de l'étude

La force de cette étude repose sur plusieurs points. Tout d'abord, le fait d'être au cœur d'une grande structure hospitalière telle que l'hôpital Femme Mère Enfant permet d'avoir accès à un grand nombre de césariennes à pouvoir potentiellement inclure dans l'étude. De plus la présence d'un C.A.T.S.plus (Fresenius) directement accessible au sein du bloc opératoire et la possibilité de stockage de la machine ISEP au sein du service ont facilité la dynamique de tentatives d'inclusion dans l'étude. Le fait de mener cette étude dans un centre universitaire a permis d'avoir l'aide d'un personnel motivé pour la recherche clinique tel que les internes d'anesthésie, l'équipe d'infirmiers anesthésistes et bien sûr des sages-femmes bienveillantes au déroulement de cet essai clinique.

Du point de vu des normes éthiques, la facilité d'accès et de dialogue avec un comité de protection des personnes souvent en lien avec l'hôpital Femme Mère Enfant a facilité les démarches d'obtention d'autorisation pour mener cette étude.

Une autre force de l'étude est la reproductibilité des analyses biologiques permise par la proximité des laboratoires de biologie Est sur la base d'un protocole pour l'acheminement des échantillons à analyser.

Enfin l'ajustement des variables d'analyse au fur et à mesure des résultats intermédiaires permet d'obtenir des résultats de plus en plus pertinents au fil des inclusions.

3.3.1.2 Limites de l'étude

Premièrement, l'une des principales limites de cette étude repose sur les difficultés de coordinations classiques d'une étude clinique. En effet la présence aléatoire de césarienne urgente décalant le programme opératoire, le manque parfois de personnel limitant la volonté de mener l'étude sur le terrain mais aussi parfois le manque d'information auprès du personnel sur le terrain a sûrement grandement freiner la dynamique d'inclusion dans l'étude.

De plus, le nombre important de patientes non francophones au sein de cet établissement et par conséquent l'impossibilité d'exposer le but de l'étude a freiné l'obtention de plusieurs autorisations d'inclusion.

Une autre faiblesse est d'avoir surestimé les pertes sanguines moyennes des patientes sur une césarienne, une vision rétrospective plus précise sur les pertes sanguines moyennes avant la mise en place de l'étude aurait permis d'ajuster les contraintes de temps et ainsi de tenter de débiter le recueil des données plus tôt pour inclure plus de patientes.

Bien sûr l'étude ayant été prolongée les résultats vont s'étoffer au fil du temps pour atteindre la puissance minimale recherchée dans cette étude et ainsi pouvoir établir une comparaison non paramétrique des performances des deux machines.

Les contraintes matérielles ont aussi été un frein tout au long de ces quelques mois de recueil de données notamment avec la carence parfois en matériel de recueil C.A.T.Splus (Fresenius) obligeant à annuler certaines inclusions.

3.3.2 Discussion argumentée

Certains résultats sont très surprenants ou inattendus.

- La morphologie fusiforme des globules rouges après traitement du groupe C.A.T.Splus (Fresenius) qui est sûrement dû à la centrifugation très rapide du sang à laver. Toutefois l'absence de données de littératures à ce sujet réduit l'investigation théorique et mériterait l'avis de physiologistes sur le sujet
- La très faible performance de concentration du groupe ISEP. En effet la machine n'est sûrement pas opérationnelle pour l'instant, toutefois on note pour l'hématocrite avant traitement plus faible chez ISEP que chez C.A.T.Splus (Fresenius) (16,5% versus 12,6%). Pour la concentration en globule rouge nous observons la même chose 1,79 téra/l pour le groupe C.A.T.Splus (Fresenius) contre 1,56 téra/l pour le groupe ISEP. Enfin pour ce qui est de l'hémoglobine, 58g/l pour le groupe C.A.T.Splus (Fresenius) contre 40g/l pour le groupe ISEP: cette différence nous fait poser la question d'un potentiel problème d'homogénéisation dans le bocal de recueil pouvant fausser les résultats du groupe ISEP. L'autre hypothèse : existe-t-il une coagulation importante dans le circuit du groupe ISEP faussant en partie les performances de la machine ISEP.

CONCLUSION :

En conclusion, à ce stade de l'étude, nous ne pouvons pas démontrer une réelle efficacité de la machine ISEP pour ce qui est de la performance de concentration et de la sécurité en termes de contamination amniotique du fait du manque de puissance des résultats pour le moment. Pour ce qui est du groupe C.A.T.Splus (Fresenius) bien que les performances de concentration sont satisfaisantes sur ces échantillons la puissance est encore trop faible pour s'avancer sur une réelle bonne performance de concentration et de sécurité quant à l'élimination des cellules amniotiques.

Les résultats intermédiaires ainsi présentés ne permettent pas de conclure quant à la performance des deux machines investiguées et encore moins d'en conclure à une supériorité de l'une par rapport à l'autre bien que la machine ISEP apparaisse ici clairement en deçà des attentes en termes de concentration sanguine.

La difficulté pour conclure à l'avenir sur les performances de ses deux machines réside en plus dans la faible littérature portant sur des critères de jugement similaires à notre étude et beaucoup de travaux ne testent pas les mêmes machines présentées ici bien qu'il existe quelques similitudes quand le procédé de lavage est sensiblement le même.

Enfin de nouvelles interrogations sont apparues lors de l'étude. En effet il sera primordial d'effectuer une investigation rigoureuse de la modification morphologique des globules rouges après traitement dans le groupe C.A.T.Splus (Fresenius) avec une cytologie amniotique en après traitement dans les deux groupes pour avoir une corrélation entre la diminution de l'AFP et le risque d'embolie amniotique. De plus obtenir une meilleure puissance avec plus d'inclusions par la suite permettra de mieux ajuster les variables et critères de jugements afin d'aller vers une investigation de plus grande ampleur.

Références bibliographiques

1. World Health Organization. WHO recommendations for the prevention and treatment of postpartum haemorrhage. Geneva: World Health Organization; 2012.
2. Lewis G, Drife JO, Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, CEMACH. Why mothers die 2000-2002: the sixth report of the confidential enquiries into maternal deaths in the United Kingdom. London: RCOG; 2004.
3. Allam J, Cox M, Yentis SM. Cell salvage in obstetrics. *Int J Obstet Anesth*. 2008 Jan;17(1):37–45.
4. Deneux-Tharoux C, Bonnet M-P, Tort J. Épidémiologie de l'hémorragie du post-partum. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod*. 2014 Dec;43(10):936–50.
5. Baird EJ. Identification and Management of Obstetric Hemorrhage. *Anesthesiol Clin*. 2017 Mar;35(1):15–34.
6. HPP_2015_VALIDÉ_1.12.2015.pdf.
7. Levy G, Goffinet F, Carbonne B, Courtois F, Dosquet P, Laissy JP, et al. Recommandations pour la pratique Clinique Hémorragies du post-partum immediate. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*. 2004;33:S8.
8. CNGOF_2014_HPP_VB.pdf.
9. Goucher H, Wong CA, Patel SK, Toledo P. Cell Salvage in Obstetrics: *Anesth Analg*. 2015 Aug;121(2):465–8.
10. No GG. Blood Transfusion in Obstetrics. 2015;
11. intraoperative-blood-cell-salvage-in-obstetrics-pdf-1899863219663557.pdf.
12. Jennings A, Brennan C. Cell salvage for obstetric patients who decline blood transfusion - a national survey: Letter to the Editor. *Transfus Med*. 2013 Feb;23(1):64–5.
13. Liumbruno GM, Liumbruno C, Rafanelli D. Intraoperative cell salvage in obstetrics: is it a real therapeutic option?: CELL SALVAGE IN OBSTETRICS. *Transfusion (Paris)*. 2011 Oct;51(10):2244–56.
14. Fong A, Chau CT, Pan D, Ogunyemi DA. Amniotic fluid embolism: antepartum, intrapartum and demographic factors. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2015 May 3;28(7):793–8.
15. Durand F, Duchesne-Gueguen M, Le Bervet JY, Marcorelles P, Tardivel R, Vovan JM, et al. [Rheologic and cytologic study of autologous blood collected with Cell Saver 4 during cesarean]. *Rev Francaise Transfus Hemobiologie Bull Soc Natl Transfus Sang*. 1989 Jun;32(3):179–91.
16. Fuhrer Y, Bayoumeu F, Boileau S, Dousset B, Foliguet B, Laxenaire M. Evaluation de la qualité du sang recueilli et traité par cell saver en cours de césarienne. *Ann Fr Anesth Réanimation*. 1996 Jan;15(8):1162–7.
17. Waters JH, Biscotti C, Potter PS, Phillipson E. Amniotic Fluid Removal during Cell Salvage in the Cesarean Section Patient. *J Am Soc Anesthesiol*. 2000 Jun 1;92(6):1531–6.
18. Alberts M, Groom RC, Walczak Jr R, Kramer R, Karpel A, Dieter J, et al. In Vitro Evaluation of the Fresenius Kabi CATSmart Autotransfusion System. *J Extra Corpor Technol*. 2017;49(2):107.
19. King M, Wrench I, Galimberti A, Spray R. Introduction of cell salvage to a large obstetric unit: the first six months. *Int J Obstet Anesth*. 2009 Apr;18(2):111–7.
20. Catling SJ, Williams S, Fielding AM. Cell salvage in obstetrics: an evaluation of the ability of cell salvage combined with leucocyte depletion filtration to remove amniotic fluid from operative blood loss at caesarean section. *Int J Obstet Anesth*. 1999 Apr;8(2):79–84.
21. ten Brinke MJ, Weerwind PW, Teerenstra S, Feron JC, van der Meer W, Brouwer

MH. Leukocyte removal efficiency of cell-washed and unwashed whole blood: an in vitro study. *Perfusion*. 2005 Dec;20(6):335–41.

22. Sullivan I, Faulds J, Ralph C. Contamination of salvaged maternal blood by amniotic fluid and fetal red cells during elective Caesarean section. *Br J Anaesth*. 2008 Aug;101(2):225–9.

23. Jackson SH, Lonser RE. Safety and effectiveness of intracesarean blood salvage. *Transfusion (Paris)*. 1993 Feb;33(2):181.

ANNEXES

ANNEXE I : Protocole de l'étude

ANNEXE II : Bon d'envoi spécifique

ANNEXE III : Budget prévisionnel

ANNEXE IV : Avis du comité de protection des personnes

ANNEXE V : Fiche d'information patiente

ANNEXE VI : Tableau général de toutes les tentatives d'inclusions

ANNEXE I : Protocol de l'étude

1- **Titre** : Analyse comparative de deux procédés d'autotransfusion peropératoire en terme de performance de concentration sanguine et contamination amniotique

2- **Objectif** : Comparaison analytique en termes de performance de concentration sanguine et de contamination de cellules amniotique entre dispositif de type Fresenius CATS (procédé actuel par centrifugation) et ISEP (procédé de filtration en cours de brevetage) lorsque l'on récupère et traite les pertes sanguines provenant utérus gravide

3- **Justificatif de l'étude (10 lignes):**

L'autotransfusion per opératoire par la méthode « Cell saver » montre dans la littérature et en pratique (analyse faite à l'HFME sur des poches de sang venant de césariennes après passage en Cell Saver – dispositif testé : CATS (Fresenius)) qu'il persiste une contamination de cellules amniotiques significative du sang réinjecté. Un nouveau procédé ISEP propose une nouvelle manière de traiter et de récupérer le sang par rapport aux dispositifs actuellement disponibles (filtration vs centrifugation)

Le CATS (Fresenius) utilisé à HFME est encombrant et compliqué à utiliser et laisse persister une grande quantité de cellules amniotiques dans le sang réinjecté. Il parait donc intéressant pour diminuer le risque d'embolie amniotique et d'analyser la performance de concentration des sangs traités par ISEP et celui traité par Frésenius CATS.

4- **Type d'étude** :

Etude de cohorte
 Essai randomisé

Etude Cas-Témoin

Essai clinique interventionnel

Autre : Etude comparative type clinique

5- **Facteurs étudiés** :

- **Hématocrite**. Comparaison du résultat après traitement et avant traitement
- **Globules rouges** : comparaison des concentrations en GR avant et après traitement et entre les 2 groupes
- **Plaquettes**. Comparaison des concentrations en plaquettes avant et après traitement et entre les 2 groupes
- **Globules blancs** : comparaison des concentrations en GB avant et après traitement et entre les 2 groupes
- **Hémoglobine libre et hémolyse**. Comparaison du résultat avant traitement et après traitement et entre les 2 groupes
- **Vitesse de traitement** : calcul de la vitesse de traitement en ml / min et comparaison entre les 2 groupes
- **Cellules amniotiques** : comparaison des quantités avant/après traitement et entre les 2 groupes
- **Marqueurs sériques IGFBP1** : comparaison des résultats (présence) avant/après traitement et entre les 2 groupes

6- **Critères de jugement** :

Contamination en cellules amniotique / IGFBP1 (marqueurs sériques) présence en trop grand nombre ou pas , facteurs de concentrations sanguines (Hématocrite, concentration en globules rouges, plaquettes ect...)

7- **Biais et facteurs de confusion**

- aspiration d'une trop grande quantité de liquide amniotique persistant après la première aspiration
- erreurs liées à l'opérateur
- erreurs liées à la machine contaminant ainsi les prélèvements
- biais de recrutements

8- La population

- Césariennes programmées (sans urgence) non éligibles à la RSPO
- Patientes pour lesquelles le travail n'a pas commencé
- NFP normale au 8^{ème} mois
- Perte sanguine > 600mL
- Patientes de plus de 18 ans

Critères d'exclusion

- Pathologies d'insertion du placenta (accreta, increta, percreta)
- Césariennes en urgence
- Césariennes non urgente avec travail spontané ou déclenchés préalablement

9- Nombre de sujets nécessaires

Cette étude implique l'inclusion de 10 patientes avec le dispositif ISEP soit la moitié de l'étude. Elle pourra permettre la comparaison avec les résultats obtenus avec le CATS (Fresenius) où sera inclus 10 patientes. L'étude statistique sera réalisée par moi-même. En fonction des prototypes utilisés pour la réalisation de l'étude, il faudra prévoir de réitérer 10 patients avec le dispositif i-Sep pour obtenir des résultats sur le dispositif final (injecté)

10 - Collecte des données

3tubes EDTA + 2 tubes citratés, un tube sec , un tube lithium
NFP + bilan de coagulation + analyse microscopique + multiplate+ ROTEM+ albumine + haptoglobine + fer sérique
Cytologie sur tube EDTA + marqueur IGF BP1 et recherche d'AFP
Chaque prélèvement sera fait avant et après traitement
Autorisation du CPP obtenue/accord patiente (demandé pour chaque essai)
Sang à récupérer personnellement au bloc sur la deuxième aspiration (après aspiration du liquide amniotique) , après l'avoir lavé par les deux différents procédés , quantification des marqueurs, comparaisons des deux types de sang en terme de contamination. Statistique comparative sur le caractère significatif de la différence ou non de la contamination

11- Analyse statistique des données

Non paramétrique de type Mann et Whitney comparaisons des moyennes en quantité de cellules amniotiques et marqueurs sériques entre les poches traitées et non traitées pour les différents procédés et pour les différents marqueurs de performance de concentration.

12- Le personnel

Obstétriciens, biologistes, anesthésistes et moi-même, entreprise ISEP

13- Le calendrier prévisionnel de l'étude *Prévu à partir de mars 2017*

ANNEXE II : Bon d'envoi spécifique



LABORATOIRE de BIOLOGIE MEDICALE MULTI-SITES du CHU de LYON
 GHE – CENTRE DE BIOLOGIE et PATHOLOGIE EST
 BIOLOGIE PLATEAU POLYVALENT

PROTOCOLE I-SEP

Etiquette

Patient

Prescripteur :

Préleveur :

Téléphone :

Prélèvement

Date : Heure :

Temps : Avant
 Après

Code GLIMS : EISEP

Coller Etiquette

TUBES

Analyses	Tubes / bouchons	Cocher si tube(s) présent
NFS + recherche schizocytes + aspect morphologique des GR et plaquettes	2 x ●	
TP / TCA / Anti-Xa / Fib/PDF/ D-dimères /Multiplate/Rotem/ PMH	2 x ●	
Fer	●	
Haptoglobine / Albumine / Protéines totales	●	
Cytologie : Recherche cellules amniotiques Biochimie : IGFBP1 /AFP	●	

Coller étiquette GLIMS (rose)

Responsables du protocole I-SEP au laboratoire :

- Catherine BOISSON-GAUDIN : 35.71.91
- Sandrine GIRARD : 31.89.09
- Christophe NOUGIER : 35.72.47

GHE : CBPE/ Biologie Plateau Polyvalent -ISEP 06/2017

ANNEXE III : Budget prévisionnel

Nombre d'essais par dispositif (10+2 faisabilités ou pb)	12
Nombre de dispositifs testés	2
Nombre de prélèvement par essai	2
Nombre de tubes par prélèvement	5

CONSOMMABLES

Produit	Prix unitaire	Quantité	Prix
Set autotransfus + Anneau + tub - 9005101*FRES	56,24	12	674,88
Reservoir recueil autotransf ATR120	31,66	24	759,84
Set autotransf ATS + TUB + Anticoagulant	13,8	24	331,2
Set autotransfusion i- Sep	80	12	960
TOTAL			2725,92

ANALYSES

Type d'analyses	Prix unitaire	Quantité	Prix
Marqueurs biochimiques	27	48	1296
Cellules amniotiques NFS	81	48	3888
Bilan de coag ou juste fibri	30	48	1440
Hémoglobine libre		48	0
Héparinémie	16,2	48	777,6
Agrégation plaquettaire	27	48	1296
2,3DPG pas fait aux HCL			
ROTEM / TEG (ou autre test de fonctionnalité des GR : 2,3DPG ?)	18,9	48	907,2
TOTAL			9604,8

ANNEXE IV : Avis du comité de protection des personnes

Comité de Protection des Personnes SUD-EST IV

Centre Léon Bérard - 28 rue Laennec - 69373 LYON CEDEX 08

Président : Dr. David PEROL
Vice-président : Mme Pascale CHIFFE-COSTANZO
Secrétaire général : Dr. Daniel ESPINOUSE

Professeur Dominique CHASSARD
Service d'Anesthésie Réanimation
Groupement Hospitalier Est
Hôpital Femme-Mère-Enfant
59 boulevard Pinel
69677 BRON CEDEX

N/Réf. : L16-193

Objet : Demande d'avis

Lyon, le 9 novembre 2016

Monsieur,

Le Comité a reçu le 8 novembre 2016 votre demande relative au projet de recherche intitulé **"Comparaison de la qualité de filtration de deux procédés de récupération de sang pendant les césariennes"**.

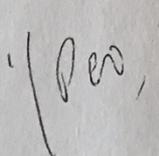
Il s'agit de montrer une différence en termes de contamination de cellules amniotiques entre le dispositif de type Fresenius CATS (procédé actuel par centrifugation) et l'ISEP (procédé de filtration en cours de brevetage) lorsque l'on récupère et traite les pertes sanguines provenant d'un utérus gravide. Ce liquide (mélange de liquide amniotique et de sang) sera traité à l'extérieur de la patiente et ne sera pas réinjecté. Les 20 patientes concernées seront informées et donneront leur consentement.

Le Comité a examiné cette demande au cours de sa séance du 8 novembre 2016. Au vu des informations fournies, il considère que cette étude est non interventionnelle et ne nécessite pas l'avis d'un CPP pour être conduite en France.

Cet avis n'est que consultatif et n'a donc pas de valeur légale.

Membres présents à la séance : Dr. D. ESPINOUSE, Dr. D. PEROL, Mme M. MONTANGE, Dr. P. CONY-MAKHOUL, Mme R. MARAVAL-GAGET (Cat. 1 **Recherche biomédicale**) ; Dr. M. LE GAL, Dr. A. LEPAPE (Cat. 2 **Médecin généraliste**) ; Mr. G. DUYCK (Cat. 4 **Infirmier**) ; Mme C. KAPITZ (Cat. 5 **"Ethique"**) ; Mme M.A. EUDELIN (Cat. 8 **"Juridique"**) ; Mme C. FABRY, Mme C. VAURS (Cat. 9 **Représentant d'association**).

Président de séance,
Dr. David PEROL



N° IRB : IRB00010619 CPP LYON-Sud-Est IV

Secrétariat : Odette MARITAZ

☎ 04 78 78 27 61 - ☎ 04 78 78 28 58 - E-mail : odette.maritaz@lyon.unicancer.fr

ANNEXE V : Fiche d'information patiente

**NOTE D'INFORMATION A L'ATTENTION
DES PATIENTS**

***Comparaison des performances de traitement du sang de deux procédés
de récupération de sang pendant des césariennes***

CATS vs I-SEP

Version 2.0 du 15/11/2017

PROMOTEUR :

Hospices Civils de Lyon

Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation (DRCI)

3, quai des Célestins

BP 2251 69229 Lyon Cedex 02

Tel : 04 72 40 68 52 Fax : 04 72 11 51 90

INVESTIGATEUR Pr. Dominique Chassard

Service Anesthésie réanimation

Hôpital femme mère enfant

59 Boulevard Pinel, 69677 Bron

0 825 08 25 69

dominique.chassard@chu-lyon.fr

Madame, Monsieur,

Vous allez être pris en charge dans le service d'obstétrique de l'hôpital HFME pour une césarienne.

Le Dr / Pr (Nom, Prénom)

Tél

vous a proposé de participer à l'étude « Comparaison des performances de traitement du sang de deux procédés de récupération de sang pendant des césariennes, CATS versus I-Sep »

Ce document a pour objectif de vous donner toutes les informations relatives à cette étude de façon à vous permettre d'exercer au mieux votre liberté de décision. Ce document est obligatoire et son contenu est défini par le Code de la Santé Publique, article L 1122-1.

Merci de prendre le temps de **lire attentivement les informations qui suivent**. Vous avez le droit de prendre le temps de réfléchir, de discuter de cette étude et de poser toutes les questions que vous souhaitez sur cette étude, à qui vous voulez (médecin traitant, association de patients, etc...).

La présente notice d'information vous sera remise pour que vous puissiez bénéficier de l'ensemble des informations.

Votre participation à l'étude est entièrement libre et volontaire. Si vous ne désirez pas y participer, vous continuerez à bénéficier de la prise en charge médicale habituelle.

➤ **Quel est l'objectif de cette étude ?**

L'objectif de l'étude est d'une part de comparer les performances des 2 dispositifs de traitement du sang épanché en peropératoire en vue d'une autotransfusion en termes de qualité du sang (globules rouges, plaquettes,...) et d'étudier la différence des 2 traitements en terme de contamination du sang récupéré et traité par des cellules amniotiques.

➤ **Déroulement de l'étude et nature des données recueillies**

Vous allez subir une césarienne programmée ou une césarienne dite code vert pour la naissance de votre (vos) enfant(s). Lors de cette procédure chirurgicale, des pertes sanguines vont être observées. Ces pertes sont normales et courantes pour ce type de chirurgie. En temps normal, les pertes sanguines sont aspirées et ne sont pas réutilisées (voie des déchets biologiques). Dans certaines circonstances ces pertes sanguines peuvent être traitées et réinjectées. L'autotransfusion qui consiste donc à récupérer le sang, le traiter pour le reconcentrer et éliminer les éléments contaminants et le transfuser pendant l'opération n'est pas indiquée dans votre cas compte tenu de la faible perte sanguine anticipée.

Dans cette étude, nous nous proposons, au lieu d'éliminer ce sang épanché dans les déchets, de le collecter dans le but de tester les performances de 2 dispositifs d'autotransfusion. Le sang aspiré de la plaie opératoire sera anticoagulé au moment du prélèvement et traité soit par la machine CATS (Fresenius) soit par une nouvelle machine actuellement en cours de développement par la société I-Sep. Le sang épanché dilué par l'anticoagulant et le sang traité seront caractérisés. **En aucun cas le sang traité vous sera réinjecté sans que ceci soit préjudiciable pour votre santé ou celle de votre (vos) enfant(s)** (ce sang aurait été éliminé de toute façon).

Les analyses sanguines sont réalisées dans un but purement expérimental. Les résultats obtenus sur les sangs traités seront comparés aux résultats obtenus sur les sangs avant traitement et entre les 2 dispositifs.

En termes de données vous concernant, seul votre bilan pré-opératoire sera utilisé pour vérifier que vous entrez dans les critères d'inclusion à savoir que votre bilan sanguin est considéré comme normal par les professionnels de santé. Ces données seront rendues anonymes conformément à la loi « informatique et liberté » et en respectant la confidentialité des données (Cf. ci dessous).

Cette étude est menée par la société I-Sep qui développe le nouveau dispositif. Pour le bon fonctionnement de l'étude, il est à prévoir qu'une ou plusieurs personnes non médicales de la société soient présentes au bloc opératoire pendant l'intervention. Elles n'interféreront évidemment pas avec le personnel médical et la qualité des soins qui vous seront prodigués, la confidentialité et le respect de votre dignité ne seront en aucun cas remis en cause.

➤ **Participation volontaire**

Votre participation à cette étude est volontaire et vous avez le droit de réfléchir avant de prendre votre décision. Vous êtes libre de vous opposer à votre participation à cette étude et ce à tout moment et sans avoir à vous justifier.

Si vous choisissez de ne pas participer à cette étude vous conserverez tous vos droits garantis par la loi et recevrez les soins nécessaires appropriés.

De même si vous avez accepté de participer à cette étude, vous êtes libre de changer d'avis à tout moment sans préjudice pour la prise en charge de votre maladie.

Si vous décidez d'arrêter votre participation à l'étude, vous devrez en informer votre médecin.

Par ailleurs celui-ci est en droit d'arrêter votre participation à l'étude à n'importe quel moment, s'il considère que ceci est dans votre intérêt.

Durant votre participation à l'étude, vous serez informé de toutes découvertes importantes et qui pourrait affecter votre décision de continuer à participer à cette étude.

Si vous participez actuellement à un autre protocole de recherche sur la personne humaine, merci d'en informer votre médecin.

➤ **Confidentialité des données**

Toutes les données vous concernant, recueillies pour l'étude, seront traitées de façon confidentielle et ne seront identifiées que par un numéro. Votre dossier médical restera confidentiel et ne pourra être consulté que sous la responsabilité de votre médecin.

Les données personnelles se rapportant à cette étude pourront être accessibles aux personnes mandatées par le Promoteur (responsable de la recherche) ainsi qu'aux Autorités de santé. Toutes les personnes participant à la réalisation de l'étude ou à l'analyse de ses résultats sont tenues au plus strict secret professionnel.

Le registre des patients contenant le code d'identification associé à votre nom et à votre prénom sera conservé uniquement par le médecin investigateur afin que vous puissiez, par son intermédiaire,

exercer votre droit d'accès et de rectification aux informations enregistrées qui vous concernent, selon les articles 39, 40 et 56 de la loi n°78-17 « Informatique et liberté » du 6 janvier 1978 modifié.

Si les résultats de cette étude devaient être présentés dans des communications et/ou des publications scientifiques médicales, votre identité n'apparaîtra d'aucune façon.

A l'issue de l'étude, les résultats globaux de la recherche pourront vous être communiqués sur simple demande auprès du médecin coordonnateur de l'étude. La base de données de l'étude rendue totalement anonyme pourra être transmise à d'autres chercheurs qui travailleraient sur le même sujet.

➤ **Aspects éthiques et réglementaires**

La présente étude est conduite conformément à la législation et à la réglementation en vigueur. Bien que non interventionnelle, cette étude a fait l'objet d'une demande d'avis auprès du Comité de Protection des Personnes Sud est IV Avis favorable obtenu le 09/11/2016.

Les données vous concernant feront l'objet d'un traitement informatique. Ce traitement de données à caractère personnel sera effectué conformément à la loi « Informatique et Libertés » (loi 78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés) modifiée par la loi n°2004-801 du 6 août 2004 (relative à la protection des personnes physiques à l'égard des traitements de données à caractère personnel).

➤ **Qui contacter pour toute question ?**

Si vous avez des questions sur l'étude ou des inquiétudes, ou si vous ressentez une gêne ou un handicap résultant de votre participation à cette étude, vous pouvez à tout moment contacter le médecin qui assure votre prise en charge :

Nom / Prénom :

Adresse :

Téléphone :

L'ensemble de l'équipe du Pr. Dominique Chassard de l'Hôpital Femme Mère Enfant vous remercie d'avoir pris le temps de lire ce document, et le cas échéant, vous remercie pour votre participation à cette étude.

ANNEXE VI : Tableau général de toutes les tentatives d'inclusions

	A) CATS	B) i-Sep
Nombre de patientes considérées	13-14	13
Nombre de patientes incluses (2017-10-XX - 2017-12-19)	3	1
Pourcentage d'inclusion	21-23%	15% (si 2) -31% (si 4)
Données labo analysables ?	A1 et A2 : inversion des tubes ? Confirmer avec le labo. A3: données cytologie AVANT non analysables car tubes reçus coagulés au labo	oui (4/4)
Données conformes ?	A1 et A2 : avec doute sur origine (cf résultats plus loin)	non (4/4)
Nb de patientes restant à inclure	7	9
Nombre de ligne d'aspiration nécessaires	7 fresenius	7 fresenius
Nombre de bouches nécessaires	7 fresenius	7 fresenius
Nombre de kits de filtration disponibles	NA	6 Essai 1 - kit de traitement avec zone de prélèvement Lot: Essai 1-280717

Auteur : KIRSTETTER Rémi	Diplôme d'Etat de sage-femme, Lyon 2018
Titre : Etude pilote : Analyse comparative de deux procédés d'autotransfusion peropératoire.	
<p>Résumé :</p> <p>Objectif : Analyser et décrire les différences de performances de concentration sanguine et de contamination amniotique entre deux procédés d'autotransfusion peropératoire</p> <p>Matériel et méthode : Etude pilote, prospective et comparative de deux procédés de RSPO (C.A.T.Splus (Fresenius) et ISEP) menée à l'HFME à Lyon n'étant toujours pas terminé à ce jour. Il y a eu 3 inclusions dans le groupe C.A.T.Splus (Fresenius) et inclusions dans le groupe ISEP. Les critères d'inclusions étaient des césariennes programmées non éligible à la RSPO non en travail avec une NFS normale au 8^{ième} mois, des pertes sanguines d'au moins 500mL chez des patientes majeures. Les critères d'exclusions étaient des pathologies d'insertion du placenta, les urgences et les césariennes avec un travail spontané ou déclenché. Les analyses biologiques ont été faites sur le sang pertes sanguines liées à l'opération et traité par les laboratoires de biologie Est. L'analyse statistique sera faite par un test non paramétrique de Mann-Withney.</p> <p>Résultats : A ce stade de l'étude aucunes conclusions ne peuvent être avancées. Le C.A.T.Splus (Fresenius) montre une bonne concentration du sang épanché, dénué de plaquettes et des globules rouges fusiformes. Le procédé ISEP n'a pas été satisfaisant sur ses performances sur aucun critères de concentrations. Dans les deux groupes, l'élimination des déchets amniotique semble satisfaisante.</p> <p>Conclusion : A ce stade aucune conclusions ne peuvent être avancées toutefois nous ne remarquons pas de gains pour le moment avec le matériel ISEP.</p>	
Mots clés : hémorragie, autotransfusion, amniotique	

Title : Pilot study : comparative analyze between two types of cell salvage process
<p>Abstract:</p> <p>Objective: Analyze and compare concentration performance and amniotic contamination between two cell salvage process.</p> <p>Methodology: Prospective and comparative pilot study of 2 cell salvage process (C.A.T.Splus (Fresenius) and ISEP) drives in HFME. Study not finished yet. There was 3 inclusions in C.A.T.Splus (Fresenius) group and 1 in ISEP group. Inclusions criteria was prophylactic C-section without cell salvage eligibility, normal 8th month complete blood count, minimum blood loss of 500 mL of adult patients. Exclusions criteria was abnormal placenta insertion, emergency and C-section with which labor has begun. Biological analyzed were performed on blood loss and treated by East-laboratories. Statistical analyze will be a Mann-whitney test.</p> <p>Results: At this time, we couldn't tell anything sure about results. The C.A.T.Splus (Fresenius) shows a good washed blood concentration performance without platelets and with spindle-shaped red cells. ISEP washed blood concentration performance wasn't satisfying. However, both of process show a good performance for amniotic waste for the moment.</p> <p>Conclusion: We cannot conclude at this time of the study but for the moment, any gain cannot be seen with the ISEP hardware</p>
Key-words : hemorrhage, cell salvage, amniotic