

Remerciements

Au Professeur Weber, vous me faites l'honneur de présider ma thèse. Merci pour votre bienveillance et votre humour, ainsi que pour votre œil aguerrri qui prend tant de plaisir à éclairer nos lumières de part votre expertise.

Au Docteur Isabelle Orignac, tu me fais l'honneur de diriger ma thèse. Ce semestre à tes côtés m'a permis de confirmer mon désir de formation en glaucome et en chirurgie réfractive. Merci de poursuivre la transmission de ton savoir dans ces domaines que nous affectionnons conjointement.

Au Docteur Bertrand Vabres, merci de faire parti de mon jury. Mon dernier semestre d'interne réalisé à vos côtés m'a permis de perfectionner mon apprentissage en cornée, greffe, et orbite, et d'être ainsi fin prêt pour mon assistanat.

Au Docteur Guylène Le Meur, merci de faire parti de mon jury, ainsi que de m'avoir fait découvrir le monde de l'ophtalmo-pédiatrie et de la génétique.

Au Docteur Marc Baud'huin, merci de faire parti de mon jury. Ce semestre au sein de la Banque multi-tissus m'a permis d'approfondir mes connaissances et a sans doute amplifié mon appétence pour ce domaine.

A toute l'équipe de la BMT, merci pour votre accueil qui m'a permis de découvrir les coulisses de la greffe de cornée et des membranes amniotiques.

Au Docteur Hélène Masse, merci pour ce semestre qui m'a permis de mieux appréhender les pathologies rétiniennes, notamment uvéitiques.

Au Docteur Yvette Ducourneau, merci de m'avoir fait découvrir le versant anatomopathologique de l'ophtalmologie.

A Yannick, merci de t'être spontanément proposé de réaliser mes statistiques, ce qui m'a permis de garder ma sérénité face à l'ampleur du travail.

A toute l'équipe médicale et paramédicale du CHU de Nantes, merci pour vos enseignements et votre accueil, ainsi que pour votre volonté de soin auprès des patients.

Au service d'Ophtalmologie du CH de Saint Nazaire, merci de m'avoir accueilli et accompagné tout au long de mon premier semestre d'interne.

A mes anciens cointernes de Saint Nazaire, merci pour ce semestre de folie, je ne crois pas que l'on aurait pu faire beaucoup mieux ! Je plaide coupable pour vos vendredi matins difficiles.

A Brendan, Christophe et François, merci pour tous ces bons moments partagés ensemble depuis le lycée, qui, malgré la distance, resteront gravés dans ma mémoire.

A mes amis de la fac de Brest, Alisée, Alexis, Clément, Pauline, Naël, Géraldine, Nicolas, Emilie, Adrien, Laura, Amélie, Simon, Anaëlle, Camille, Damien. Pour toutes ces soirées, le ski, les vacances, merci pour votre amitié, votre joie de vivre et votre enthousiasme.

A mes amis Nantais, Jean-Baptiste, Maxime, Adeline, Manon, Aurélien, Raphaël, Julie, Thomas, Benoit, Bertrand, Louise, Laura, et tous les autres, pour ces incroyables moments passés en votre compagnie, et tous ceux à venir.

A Fanny et Lucie, mes techno-chilleuses préférées, merci de faire partie de ma vie, comment aurions-nous pu faire si l'on ne s'était pas rencontrés ? Votre amitié et soutien sans faille est une véritable chance !

A mes anciennes colocs, Laure, Chloé, Delphine et Lucie, merci de m'avoir accueilli dans votre château en péril non imminent, ce véritable labyrinthe aux multiples salons qui, finalement, ne s'est jamais écroulé.

A Quentin, Adam, Charlène, ainsi que l'ensemble de mes cointernes et assistants d'ophtalmo, merci de faire de ce service un lieu de convivialité.

A Guillaume, merci pour ta vitalité et ton incroyable sens de la fête qui fait de toi l'un de mes principaux acolytes, mais d'être avant tout un véritable ami fidèle à toi-même.

A Audrey, merci d'être à mes côtés depuis ce semestre au Mans qui, sans toi, aurait été bien différent. Ta passion, ta ferveur et ton dévouement m'impressionne chaque jour.

A Driss, merci pour ton altruisme, ton écoute et ta bienveillance. Nos entraides mutuelles depuis ton premier semestre nous ont permis de fonder cette belle amitié, que j'espère éternelle.

A Marie, on aurait pu se rencontrer à Brest mais c'est finalement à Nantes que nos chemins se sont croisés, et quel bonheur ! Merci d'être présente et souriante depuis le premier jour de notre rencontre.

A mes grands-parents, tantes, oncles, cousins et cousines, merci pour l'intérêt que vous porter à mon égard ainsi qu'à mon métier, bien que sans doute difficile à appréhender.

A Angélique et Tristan, ainsi que Eliott et Timoté, les derniers venus de la famille, merci pour votre incroyable énergie et vos sourires contagieux.

A ma sœur, Axelle, et mon frère, Fabien, merci pour votre soutien et tous les bons moments passés en famille, ainsi que ceux à venir.

A mes parents, Alain et Hélène, merci pour vos conseils et votre présence depuis mon arrivée dans ce monde. Merci d'avoir fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Qui aurait cru que finalement je devienne médecin !

Table des matières

Remerciements	- 2 -
Table des matières	- 4 -
I. Introduction	- 6 -
A. La greffe de cornée.....	- 6 -
1. Développement de la greffe endothéliale	- 6 -
2. Rejet de greffe de cornée.....	- 6 -
3. Avantages des greffes endothéliales.....	- 7 -
B. Anatomie et physiologie.....	- 7 -
1. La membrane de Descemet	- 7 -
2. L'endothélium cornéen.....	- 7 -
C. Indications des greffes endothéliales.....	- 8 -
1. Dystrophie de Fuchs.....	- 8 -
2. Dystrophies bulleuses du pseudophake ou de l'aphake.....	- 9 -
3. Autres indications.....	- 9 -
D. Complications des greffes endothéliales	- 10 -
1. Décollement du greffon.....	- 10 -
2. Défaillance primaire du greffon	- 11 -
3. Rejet de greffe endothéliale.....	- 11 -
4. Perte cellulaire endothéliale	- 12 -
5. Glaucome et hypertonie oculaire.....	- 13 -
6. Autres complications des greffes endothéliales.....	- 13 -
E. Banque de tissus et cornées	- 13 -
F. Banque multi-tissus du CHU de Nantes	- 14 -
1. Historique	- 14 -
2. Objectif.....	- 14 -
G. La greffe endothéliale au CHU de Nantes.....	- 14 -
H. Méthode de conservation des cornées	- 15 -
1. Conservation en organoculture (Figure 1).....	- 15 -
2. Conservation à froid	- 16 -
II. Matériels et méthodes.....	- 17 -
A. Objectifs	- 17 -
B. Greffons.....	- 18 -
C. Greffe et suivi post-opératoire.....	- 19 -
D. Analyses statistiques.....	- 20 -
III. Résultats	- 21 -
A. Population (Tableau 1)	- 21 -
B. Greffons (Tableau 1 et Tableau 2).....	- 21 -

C.	Receveurs (Tableau 2).....	- 22 -
D.	Succès / Echecs	- 23 -
1.	Descriptif quantitatif (Tableau 3).....	- 23 -
2.	Descriptif qualitatif (Tableau 4).....	- 23 -
3.	Risques relatifs (Tableau 5).....	- 24 -
IV.	Discussion	- 28 -
A.	Résultats	- 28 -
1.	Âges des donneurs et receveurs.....	- 28 -
2.	Durée de conservation du greffon	- 28 -
3.	Densité cellulaire endothéliale (DCE).....	- 29 -
4.	Année de greffe	- 29 -
5.	Type de don.....	- 29 -
6.	Etiologie de la greffe	- 30 -
7.	Chirurgie simple ou chirurgie combinée	- 30 -
8.	Décollement du greffon.....	- 30 -
9.	Hypertonie oculaire	- 31 -
10.	Défaillance primaire du greffon	- 31 -
11.	Echecs de greffe à long terme	- 32 -
12.	Facteurs prédictifs d'échec ou de réussite	- 32 -
B.	Greffons préparés en banque de cornée.....	- 32 -
C.	Comparaisons des différentes techniques de greffe endothéliale.....	- 33 -
1.	UT-DSAEK vs DMEK.....	- 33 -
2.	UT-DSAEK vs DSAEK	- 34 -
D.	Approches futures des traitements endothéliaux	- 34 -
1.	Contexte	- 34 -
2.	Approches médicales.....	- 35 -
3.	Approches chirurgicales	- 35 -
4.	Thérapies cellulaires.....	- 35 -
V.	Conclusion.....	- 36 -
VI.	Bibliographie	- 37 -
VII.	Annexes.....	- 42 -
A.	Liste des abréviations	- 42 -
B.	Annexe 1 : Procédure de qualification et de validation du greffon cornéen	- 43 -
C.	Annexe 2 : Découpe de Greffons Cornéens pour Greffes Endothéliales	- 46 -

I. Introduction

A. La greffe de cornée

Le première greffe de cornée fut réalisée en 1886 par Von Hippel (1) (qui était en fait une kératoplastie antérieure superficielle), puis en 1905 par Eduard Konrad Zirm qui effectua la première kératoplastie transfixiante (2).

1. Développement de la greffe endothéliale

Dans les années 1960, José Barraquer fut le premier à décrire une méthode de greffe endothéliale en utilisant une approche antérieure grâce au Laser-Assisted In Situ Keratomileusis (LASIK) (3).

Par la suite, Gerrit Melles révolutionna les techniques de greffe endothéliale. Tout d'abord en 1998, il développa la Deep Lamellar Endothelial Keratoplasty (DLEK) dont la technique consistait en une résection de l'endothélio-descemet et du stroma postérieur remplacés par un greffon endothélio-stromal via une approche antérieure (4).

Il modifia peu à peu cette technique pour développer par la suite la Descemet's Stripping Endothelial Keratoplasty (DSEK) ou Descemet's Automated Stripping Endothelial Keratoplasty (DSAEK) : l'approche est désormais postérieure, l'ablation endothélio-stromale est alors remplacée par un stripping postérieur de l'endothélio-descemet pathologique (5,6). En quête d'un greffon toujours plus fin, se développe l'Ultrathin-DSAEK (UT-DSAEK) qui, par la même procédure, permet d'obtenir un greffon d'épaisseur inférieur à 100µm, et ainsi une récupération visuelle plus rapide et meilleure (7).

En 2006 naît la Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK), qui permet le remplacement de l'endothélio-descemet pathologique par un homologue sain dépourvu de stroma cornéen (8,9).

2. Rejet de greffe de cornée

Le rejet de greffe est le principal risque d'échec de greffe à court et à long terme. Les principaux facteurs de risque de rejet de greffe de cornée sont : un receveur d'âge jeune, un antécédent de greffe de cornée ou de chirurgie du segment antérieur, un glaucome, la présence de synéchie antérieure ainsi que celles de néovaisseaux cornéens stromaux (10,11).

3. Avantages des greffes endothéliales

Les bénéfices de la kératoplastie endothéliale par rapport à la kératoplastie transfixiante sont :

- La diminution du risque de complications peropératoires (hémorragie expulsive notamment) et la possibilité d'une modalité anesthésique autre que générale
- La diminution ou l'absence d'astigmatisme induit une récupération visuelle plus rapide
- L'absence de gestion postopératoire des sutures
- L'absence de néovascularisation induite par les fils
- La diminution du risque d'ouverture traumatique de la cicatrice
- La diminution des complications épithéliales et stromales
- La diminution de la corticothérapie postopératoire.

Cliniquement, la puissance cornéenne moyenne et l'équivalent sphérique ne sont pas modifiés par les greffes endothéliales (12). Comparée à la kératoplastie transfixiante, la DSAEK permet une survie du greffon et de son endothélium comparable mais elle se complique moins souvent de rejet (11,13). Les résultats visuels de la greffe endothéliale sont habituellement comparables à ceux de la greffe transfixiante avec un astigmatisme plus faible et une amétropie sphérique moindre.

B. Anatomie et physiologie

1. La membrane de Descemet

La membrane de Descemet est située entre le stroma postérieur et l'endothélium cornéen. Il s'agit d'une membrane collagénique acellulaire très résistante (collagènes IV et VIII), amorphe et élastique, perméable à l'eau. Son épaisseur mesure environ 10 µm, et augmente avec l'âge ainsi que dans certaines pathologies, comme dans la dystrophie de Fuchs. Elle est sécrétée par l'endothélium cornéen (14).

2. L'endothélium cornéen

L'endothélium est la couche la plus postérieure de la cornée, directement en contact avec l'humeur aqueuse, reposant sur la membrane de Descemet. Son principal rôle repose sur la déturgescence cornéenne, qui permet à la cornée de maintenir une épaisseur relativement constante tout en préservant sa transparence. Il fonctionne comme une pompe active Na^+/K^+ ATPase, cette dernière expulse le Na^+ dans l'humeur aqueuse et libère le K^+ dans la cellule endothéliale, ce qui crée un gradient osmotique assurant la déturgescence du stroma puisque l'eau suit les mouvements de l'ion sodium (14).

L'endothélium est formé d'une monocouche de cellules uniformes hexagonales, plates et régulières dites en « nid-d'abeilles », mesurant 6 µm de hauteur et 15 à 20 µm de largeur, avec la présence de nombreuses interdigitations vers la membrane de Descemet, assurant la cohésion intercellulaire. Son exploration paraclinique est facilement réalisable grâce à la microscopie spéculaire, qui permet, outre une visualisation de la mosaïque endothéliale et de ses anomalies, de déterminer de manière objective la densité cellulaire endothéliale (DCE), dont la normalité chez un jeune est évaluée à 3500 cellules/mm² (15).

L'endothélium humain est un tissu très stable, quasiment incapable de se multiplier par mitose après la naissance (16). La diminution du nombre de cellules est irréversible (17).

Néanmoins, les cellules endothéliales sont très résistantes à l'apoptose et les réserves cellulaires endothéliales sont importantes. Ainsi, un modèle théorique basé sur le taux de perte cellulaire endothéliale annuel permet de prévoir une longévité fonctionnelle de l'endothélium (temps au bout duquel surviendrait un œdème cornéen) de 200 ans pour une perte de 0,5 %/an (taux physiologique chez l'adulte) (18).

C. Indications des greffes endothéliales

1. Dystrophie de Fuchs

Il s'agit d'une pathologie autosomique dominante, parfois sporadique, d'incidence 1/2000, de pénétrance complète, d'expressivité variable, impliquant l'endothélium cornéen, apparaissant classiquement vers la sixième décennie, mais parfois dès la deuxième (forme précoce). L'affection semble en relation avec un dysfonctionnement dans la production du collagène VIII et/ou un facteur de transition métaplasique des cellules endothéliales. Des altérations de l'ADN mitochondrial liées au stress oxydatif ont aussi été incriminées. Le métabolisme des cellules endothéliales pathologiques régresse. Elles produisent à nouveau du collagène VIII embryonnaire qui s'accumule en verrucosités à la face interne de la membrane de Descemet, qui prennent un aspect en goutte (cornea guttata). Au cours de l'évolution, les cellules les plus pathologiques disparaissent et ne sont pas régénérées, engendrant l'aspect classique en argent battu.

À son terme évolutif, l'incompétence fonctionnelle des cellules endothéliales et leur rupture de confluence engendrent un œdème cornéen, initialement aux dépens du stroma postérieur central, responsable d'un flou visuel matinal, s'estompant au cours de la journée. Lorsque l'œdème augmente, il diffuse dans le reste du stroma, jusque sous l'épithélium qu'il ne peut franchir. Des bulles sous-épithéliales se forment alors et stimulent les terminaisons nerveuses,

induisant une gêne. Les bulles peuvent se rompre au stade de la kératopathie bulleuse, entraînant des douleurs à type de kéralgies récidivantes. Au stade terminal, une fibrose stromale voire une néovascularisation peut s'installer (19).

La pachymétrie permet d'évaluer l'épaisseur cornéenne et donc l'œdème cornéen, et la microscopie spéculaire met en évidence la diminution de la DCE, la présence de gouttes, un pléiomorphisme et un polymégatisme.

Le traitement des formes peu symptomatiques est médical, consistant en des collyres osmotiques d'instillation matinale qui permettent de réduire l'œdème cornéen et donc le flou matinal. Lorsque ce traitement n'est plus suffisant, une indication chirurgicale peut être préconisée, à type de kératoplastie majoritairement endothélio-descemétique en l'absence de fibrose centrale.

2. Dystrophies bulleuses du pseudophake ou de l'aphake

La dystrophie bulleuse du pseudophake désigne l'apparition d'un œdème cornéen après chirurgie de la cataracte, secondaire à la perte endothéliale engendrée par celle-ci. La décompensation bulleuse est favorisée en peropératoire par un excès d'ultrasons, une toxicité des solutions d'irrigations, un traumatisme direct de l'endothélium ou une rupture capsulaire postérieure, et, en post-opératoire, par une inflammation importante, un glaucome ou une subluxation de l'implant. Le délai moyen de décompensation endothéliale est de 8 mois à 7 ans (20), pour une incidence estimée de 1-2%.

La prise en charge thérapeutique est identique à celle de la dystrophie de Fuchs.

3. Autres indications

La greffe endothéliale peut être réalisée dans l'ensemble des pathologies et décompensations d'origine endothéliale, sous réserve d'un stroma cornéen de bonne qualité, en l'absence de fibrose ou de cicatrice cornéenne située dans l'axe visuel qui pourraient compromettre les résultats fonctionnels :

- Décompensation post-iridotomie
- Décompensation endothéliale après kératoplastie transfixiante
- Syndrome irido-cornéo-endothélial
- Dystrophie polymorphe postérieure
- Dystrophie endothéliale héréditaire
- Endothélite virale (herpès).

D. Complications des greffes endothéliales

1. Décollement du greffon

Le décollement du greffon est une complication propre aux greffes endothéliales. En fin d'intervention, une bulle d'air est laissée dans la chambre antérieure du patient afin de plaquer le greffon contre le stroma du receveur. Cependant, l'absence d'adhésion du greffon, voire la mobilisation de celui-ci, reste possible et serait comprise entre 4 et 50%, s'améliorant avec l'expérience du chirurgien (21).

Muraine rapporte 11 cas de décollement sur 50 greffes endothéliales (22%). La survenue d'un décollement descemétique dépendait alors nettement de l'habitude chirurgicale puisqu'il concernait 8 cas sur les 20 premiers patients et 3 cas sur les 30 suivants (22). La prise en charge consiste soit en une injection intra-camérulaire d'air ou rebubbling, qui peut être réalisée en consultation à la lampe à fente (23), soit en une reprise chirurgicale avec repositionnement du greffon, injection d'air en chambre antérieure et manœuvres de drainage du liquide de l'interface.



Figure 1. Décollement d'un greffon à J6

2. Défaillance primaire du greffon

La défaillance primaire du greffon correspond à l'échec de la greffe après une chirurgie malgré l'absence de complication, avec persistance d'un œdème cornéen secondaire à des altérations ou un dysfonctionnement de l'endothélium cornéen (24). Cette complication est plus fréquente lors des greffes endothéliales par rapport aux greffes transfixiantes, avec une incidence de 5.7% (25). Aucun facteur de risque n'a pu être clairement établi, mais plusieurs hypothèses ont pu être émises : âge du donneur supérieur à 70 ans (26), délai prolongé entre le décès et le prélèvement cornéen ou longue durée de conservation en banque de tissus (27), et traumatismes endothéliaux induits par la préparation du greffon ou son insertion lors de la chirurgie (28,29). Il requiert une nouvelle greffe qui peut être un changement de greffon lamellaire postérieur ou une conversion en kératoplastie transfixiante.

3. Rejet de greffe endothéliale

Le greffon provenant d'un donneur décédé, il s'agit d'une allogreffe, qui est donc soumise à un risque de rejet. Ce risque est présent dès les premiers jours suivant la greffe, jusqu'à plusieurs années ou décennies après l'intervention. Cependant, il diminue au cours du temps et est prévenu par un traitement local à base de corticoïdes et/ou ciclosporine. Le tableau clinique consiste habituellement en une baisse de vision associée à un œdème cornéen. Prakash ne constate aucun rejet après 3 ans d'expérience de DSAEK (30), alors qu'Allan rapporte un taux d'épisodes de rejet à 2 ans de 7,5% chez 199 patients ayant subi une greffe endothéliale contre 13% chez 708 patients ayant eu une kératoplastie transfixiante (31).

Cette baisse du taux de rejet peut s'expliquer par quatre facteurs (21) :

- Le tissu transplanté dans la chambre antérieure n'a aucun contact avec la surface oculaire où les cellules présentatrices d'antigènes sont présentes
- La diminution des sutures, voire leur absence, diminue le risque de rejet dû à celles-ci
- L'absence de contact avec d'éventuels vaisseaux stromaux
- L'immunogénicité du greffon probablement moindre en l'absence d'épithélium.

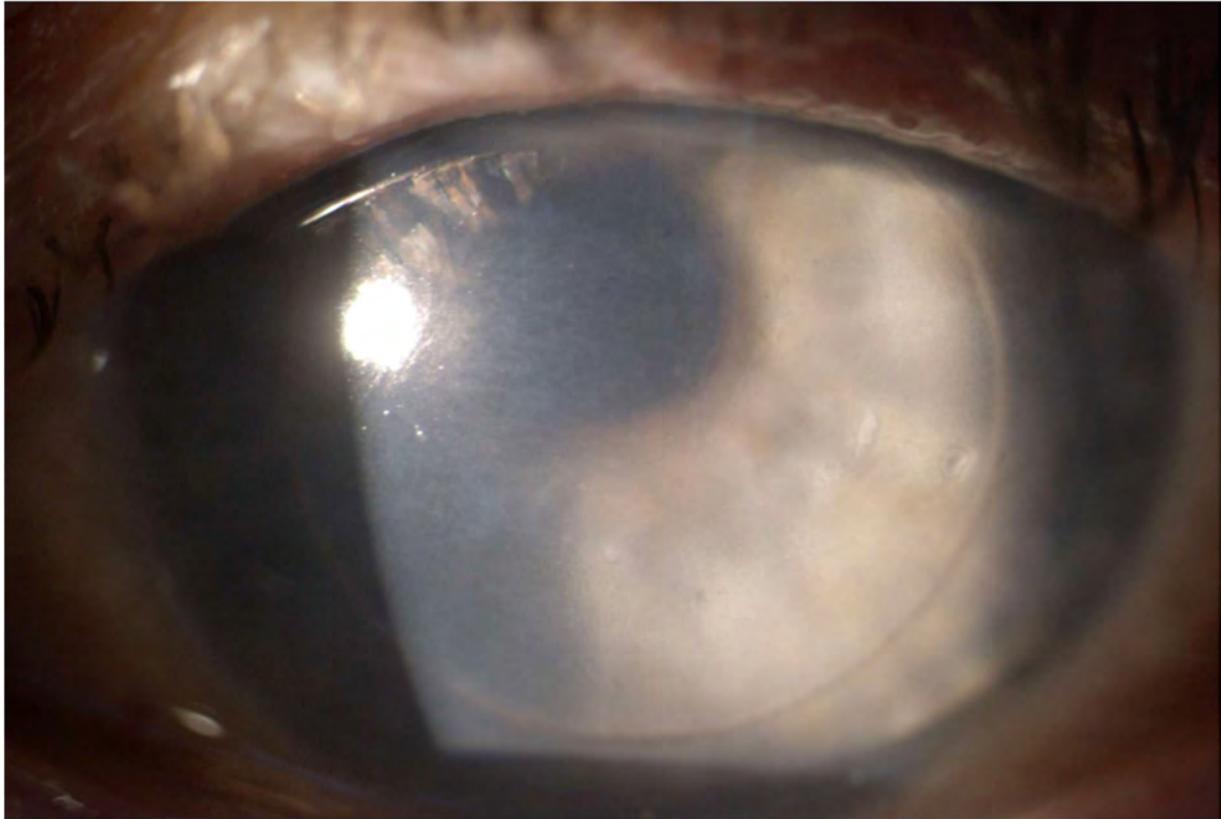


Figure 2. Œdème cornéen témoignant d'un rejet endothélial

4. Perte cellulaire endothéliale

Comme pour une cornée naturelle, il existe une perte de cellules endothéliales après la greffe, qui intervient, de ce fait, plus rapidement. Terry (32) retrouve une DCE moyenne à 6 mois de 2140 ± 426 cellules/mm², de 2090 ± 448 cellules/mm² à 12 mois. En comparant sa technique de préparation manuelle du greffon (DLEK) et la découpe automatisée DSAEK, il retrouve une baisse endothéliale identique dans les deux groupes, soit 34 % par rapport à la densité du greffon mesurée à la banque de cornées à 6 et 12 mois (33).

Price (34) a également confirmé ces résultats sur une série de 263 yeux opérés par DSEK. La densité endothéliale était de 2000 ± 550 cellules/mm² à 6 mois, ce qui représente une baisse de 34 ± 18 %. La perte cellulaire était comparable lorsque la préparation du greffon était réalisée manuellement ou de façon automatisée, mais toutefois supérieure à celle d'une série de kératoplasties transfixiantes réalisées à la même période et dans le même centre.

Ces résultats sont comparables à la perte endothéliale de 34% après kératoplastie transfixiante (35).

5. Glaucome et hypertonie oculaire

Le glaucome post-kératoplastie a été initialement décrit lors des greffes transfixiantes, mais concernerait également 0 à 18% des DSAEK (36). Celui-ci peut être provoqué par le développement de synéchies antérieures périphériques secondaires, mais également par un mécanisme cortico-induit. En effet, un traitement local par collyres de corticoïdes est nécessaire durant une durée de 1 à 2 ans afin de prévenir le risque de rejet. La prise en charge de ce glaucome consiste habituellement en l'instillation de collyres hypotonisants, et dans les cas réfractaires, en une chirurgie filtrante.

6. Autres complications des greffes endothéliales

Les autres complications possibles de cette intervention sont :

- Le blocage pupillaire aigu, qui apparaît lorsque la bulle d'air laissée en chambre antérieure en fin d'intervention est trop volumineuse et migre en arrière de l'iris. Ce risque peut être prévenu par une iridectomie et une dilatation pharmacologique.
- Le développement de complications inhérentes à toute chirurgie intraoculaire : cataracte, œdème maculaire cystoïde inflammatoire, endophtalmie.

E. Banque de tissus et cornées

Il existe actuellement en France 28 banques multi-tissus (BMT) dont 16 ayant l'autorisation banque de cornées. Le développement de la greffe endothéliale a été amplifié par la formation des techniciens en banque de cornée, avec un taux de succès de préparation élevé (98.5%) tout en préservant la bonne qualité du tissu. Ces bons résultats n'ont cessé de s'amplifier, en effet, alors que dans le premier quart on obtenait 95% de succès de découpe, on atteignait 99.5% dans le dernier (37).

Dans une autre étude, 20 paires de greffons ont été randomisées : un greffon était découpé par un chirurgien, l'autre par un technicien de banque de cornée, avec réalisation d'un protocole de découpe et microkératome identiques. Les résultats visuels, réfractifs et ceux de la perte cellulaire endothéliale étaient comparables (38).

F. Banque multi-tissus du CHU de Nantes

1. Historique

En octobre 2000, les activités de la BMT du CHU de Nantes ont été encadrées par une autorisation de préparation, conservation, distribution ou cession des tissus issus du corps humain délivrée par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). Au début de son activité en 2001, la BMT n'avait en gestion que des cornées et des tissus osseux.

En 2008, les autorisations de préparation des os massifs et des fragments de membranes amniotiques ont été reçues par la BMT. Depuis mars 2016, la BMT a une autorisation unique ANSM pour les activités de préparation, de conservation, et de distribution ou de cession concernant les :

- Cornées
- Os massifs
- Têtes fémorales
- Fragments de Membranes Amniotiques
- Valves cardiaques.

2. Objectif

L'objectif final est de garantir la préparation et la délivrance de produits tissulaires conformes. Pour cela, la BMT a pour missions :

- La réception des prélèvements
- Les opérations de préparation, de contrôle, d'étiquetage et de stockage des greffons
- La saisie et la conservation des informations relatives aux greffons, donneurs et greffés
- La validation des greffons
- La cession ou distribution des greffons et leur traçabilité.

G. La greffe endothéliale au CHU de Nantes

Le nombre de kératoplasties, toutes techniques confondues, a augmenté de 76,7% entre 2005 (86 kératoplasties) et 2015 (152 kératoplasties). Une diminution progressive des kératoplasties transfixiantes au profit des techniques lamellaires a été observée sur cette période (39).

En effet, depuis la réalisation de la première kératoplastie endothéliale en 2007, sa proportion n'a cessé d'augmenter au fil des années, devenant en 2014 la principale modalité de kératoplastie au CHU de Nantes.

En 2016, la BMT du CHU de Nantes a déposé une demande d'autorisation de procédé technique pour la préparation de greffons prédécoupés, accompagnée d'un dossier de validation établi à partir de 30 greffons à usage scientifique. Cette demande a été adressée à l'ANSM qui, après 4 mois d'instruction, a délivré l'autorisation de procédé. La mise en place de cette technique a permis un gain de temps considérable lors des chirurgies (trépanation et chargement du greffon restant à réaliser par le chirurgien), ainsi que des annulations de chirurgie au chevet du patient lors d'un « accident de découpe » ne permettant pas la transplantation du greffon chez le patient receveur.

H. Méthode de conservation des cornées

1. Conservation en organoculture (Figure 3)

En Europe, l'organoculture représente la méthode de référence pour la conservation des greffons cornéens. C'est la méthode de conservation réalisée dans la BMT du CHU de Nantes. Cette méthode permet de conserver les cornées entre 7 et 30 jours après leur prélèvement. Elle facilite notamment la logistique de gestion des tissus et des greffes en attente.

Lors du prélèvement, après sélection du donneur (antécédents, sérologies), la cornée est mise en culture dans un premier milieu de transport (Cornea Prep II®, Eurobio) puis envoyée à température ambiante à la banque pour être examinée. Si la cornée est de bonne qualité, elle est anonymisée puis transférée dans un milieu de culture (Cornea Max®, Eurobio) pendant une durée de 7 à 30 jours.

La cornée ainsi préparée est conservée à +31°C dans un incubateur. Une première lecture endothéliale est réalisée à $J10 \pm 2$, et une seconde lecture endothéliale est réalisée avant la mise en déturgescence, maximum 4 jours avant la date prévue de la greffe afin de s'assurer que la cornée soit toujours conforme aux standards de qualité minimum.

En cas de prescription pour greffon prédécoupé (UT-DSAEK), la découpe est réalisée entre 12 heures et 48 heures après la mise en déturgescence. Par des phénomènes naturels d'osmose, la cornée conservée en organoculture se gorge en eau et présente un œdème. Avant de pouvoir la greffer, il est nécessaire de procéder à une étape de déturgescence afin d'inverser le phénomène. Il suffit pour cela de mettre la cornée dans un milieu de culture contenant un agent osmotique (Cornea Jet®, Eurobio). Cette phase dure de 24 heures à 4 jours et permet à la cornée de

retourner à un état très proche de celui de départ. La cornée est envoyée dans le flacon de déturgescence directement au chirurgien greffeur.

L'organoculture présente l'avantage majeur de la sécurité par rapport à la conservation à froid. En effet, en cas de contamination bactérienne, les antibiotiques jouent leur rôle et peuvent la combattre. De plus, lorsque la contamination est trop importante, l'indicateur de pH présent dans le milieu de conservation permettra de détecter un virage de pH.



Figure 3. Parcours d'un greffon tissulaire

2. Conservation à froid

Il s'agit de la méthode de référence aux Etats-Unis (100% des cornées) et d'autres pays (83% des cornées dans le monde (40)). Lors du prélèvement, la cornée est directement mise dans le milieu de conservation qui sera le même jusqu'à la greffe. Le milieu de conservation à froid contient déjà un agent osmotique, il n'y a donc pas de phase de déturgescence nécessaire.

Ce type de conservation convient aux banques ayant du mal à obtenir des greffons ou ayant un fort turn-over de tissus, car elle permet de délivrer très rapidement les cornées, théoriquement dans un délai maximal de 14 jours suivant la date du prélèvement. Elle est également adaptée pour les banques avec peu de personnel.

II. Matériels et méthodes

A. Objectifs

Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique menée au CHU de Nantes. A partir de l'analyse des greffons cornéens prélevés sur donneur et des caractéristiques du receveur, nous avons recherché des facteurs prédictifs d'échec ou de réussite de greffe à 1 an dans le cadre d'UT-DSA EK prédécoupées en banque multi-tissus entre mai 2016 et octobre 2018.

Les données analysées étaient :

- L'âge du donneur et du receveur
- L'année de greffe
- Le type de prélèvement :
 - o Donneur décédé
 - o Prélèvement multiorganes (PMO)
 - o Cœur arrêté (Maastricht II et III)
- Le nombre de jours entre la date du prélèvement cornéen et celle de la greffe
- La densité cellulaire endothéliale (DCE)
- La perte cellulaire endothéliale pré-greffe : définit comme la différence de DCE entre la première et la seconde lecture endothéliale réalisée sur le greffon permettant la qualification de celui-ci
- Les causes de greffe : dystrophie de Fuchs, regreffe pour dystrophie de Fuchs, décompensation du pseudophake
- La réalisation d'une chirurgie combinée
- Antécédent de greffe endothéliale et regreffe précoce (réalisation d'une DSA EK dans les 12 mois suivant la précédente greffe)
- Rebutting
- Repositionnement du greffon
- La présence d'une hypertension oculaire ou d'un glaucome
- Une défaillance primaire du greffon : définit comme la persistance d'un œdème cornéen post-opératoire malgré un greffon de bonne qualité et une chirurgie sans complication
- Une infection post-opératoire précoce (< 1 mois).

Le critère de jugement principal était le succès ou l'échec à 12 mois de la greffe. Le succès de la greffe était définit comme une amélioration de l'aspect cornéen, de l'acuité visuelle ou d'une résolution des douleurs de kératalgies. Le cas échéant, la greffe était considérée comme un échec.

B. Greffons

Les données des greffons ont été extraites de la base de données BOXi Deski disponible à la BMT. Celles du receveur ont été recherchées dans le logiciel Softalmo.

Les greffons ont été centralisés par la BMT du CHU de Nantes où divers contrôles de qualité ont été réalisés (aspect et largeur de la collerette cornéo-sclérale, comptage endothélial réalisé à deux reprises, contrôles microbiologiques). Les différentes caractéristiques du greffon prélevé ont permis la qualification de celui-ci dans les différentes indications détaillées dans l'**Annexe 2**. Pour qu'un greffon soit éligible à une greffe endothéliale prédécoupée de type DSAEK, celui-ci doit présenter un nombre de cellules $\geq 2200/\text{mm}^2$, une mosaïque non dystrophique avec un nombre de cellules mortes $< 2\%$ et une collerette sclérale $\geq 2\text{mm}$ (afin d'assurer l'étanchéité sur la chambre antérieure artificielle lors de la découpe).

La préparation des UT-DSAEK est réalisée par les techniciens de la BMT selon un protocole strict (protocole détaillé dans l'**Annexe 3**) :

- Installation de la cornée :
 - o Prendre la cornée avec la pince et la rincer avec le BSS (20 ml)
 - o Mettre de la solution viscoélastique sur l'endothélium
 - o Ouvrir le clamp du set d'infusion à moitié et placer la cornée face concave sur la chambre artificielle, en la centrant
 - o Positionner l'anneau intérieur suivant le repère
 - o Visser l'écrou de verrouillage et s'assurer qu'il soit bien serré
 - o Essuyer la cornée avec une micro-éponge (en vue de retirer l'épithélium avant la pachymétrie)
 - o Mettre du BSS sur la cornée
- Mesurer l'épaisseur de la cornée et imprimer le ticket de mesures
- Choisir la tête de découpe selon l'épaisseur cornéenne
- Retirer l'excédent de BSS en inclinant la chambre puis à l'aide d'une lancette absorbante
- Positionner la tête de guidage
- Glisser la lentille aplanante sur les rails et la centrer, puis la retirer
- Déposer du BSS de chaque côté et sur la lame de la tête de découpe pour tester le fonctionnement de la tête
- Placer le support du moteur sur le rebord de la base, face à l'entrée de la tête de guidage
- Encliquer le moteur sur la tête de guidage
- Appuyer en continu sur la pédale FWD jusqu'au signal sonore (découpe)

- Appuyer en continu sur la pédale REV jusqu'au signal sonore (retour à la position de départ)
- Retirer le moteur encliqué sur la tête de guidage
- Retirer le capot de la cornée au niveau de la tête de découpe et le déposer dans une cupule
- Retirer la cornée restée plaquée au fond de l'anneau intérieur
- Déposer la cornée dans la cupule et remettre le capot
- Remettre la cornée et son capot dans le milieu de déturgescence initial
- Fermer le flacon avec le nouveau bouchon inviolable.

C. Grefe et suivi post-opératoire

La réalisation de l'UT-DSAEK, après découpe à la BMT était réalisée de cette manière :

- 1er temps opératoire : le jour de l'intervention conditionnement du greffon en conditions stériles
 - Greffon DSAEK ultrafine prédécoupée en banque trépané 7.50 ou 7.75 mm par voie endothéliale coloré au bleu trypan
 - Greffon transféré sur cartouche d'injecteur à implant AR 40 sous protection de BSS.
- 2ème temps opératoire : chez le patient après réinstallation
 - Paracentèse 3h-9h
 - Incision cornéenne supérieure
 - Iridectomie périphérique
 - Stripping de la Descemet au crochet de Sinsky
 - Injection du greffon déployé sous eau puis air
 - Centrage du greffon
 - Suture de l'incision cornéenne supérieure
 - Sterdex.

Le traitement post-opératoire comprenait un collyre anti-inflammatoire à base de Dexaméthasone 1% en décroissance sur 1 à 2 ans, associé à de l'Atropine 1% pendant 8 jours et un antibiotique local pendant 1 mois. Après l'intervention, le patient restait hospitalisé dans le service d'ophtalmologie durant 1 à 2 nuits, en décubitus dorsal strict afin de permettre à la bulle d'air de maintenir le greffon sur la face stromale du receveur. Un contrôle était ensuite réalisé à J7 afin de vérifier le bon positionnement du greffon. Le cas échéant, on réalisait un

rebubbling en consultation ou un repositionnement au bloc opératoire dans les 48 heures, avec nouveau contrôle à J7.

Par la suite, les contrôles au CHU avaient lieu à 1 mois, 4 mois et 12 mois afin d'évaluer l'acuité visuelle, le tonus oculaire et la réalisation d'un examen en lampe à fente afin de vérifier la bonne évolution et de rechercher des signes de rejet de greffe. Une pachymétrie et un comptage de la DCE était également mesuré par microscopie spéculaire (CEM6530, NIDEK).

D. Analyses statistiques

Les variables quantitatives sont décrites par leur minimum et maximum, moyenne et écart-type, médiane et écart interquartile. Les variables qualitatives sont décrites par leur effectif et pourcentage. La distribution des variables a été testée par méthode graphique et test de Shapiro-Wilk.

Pour les comparaisons univariées selon le succès ou l'échec de la greffe, les variables quantitatives ont été testées par test de Wilcoxon en raison de leur distribution non gaussienne (non normale). Ce test permet d'étudier si la distribution des valeurs est égale dans le groupe succès ou dans le groupe échec. Pour les variables qualitatives, un test exact de Fisher a été réalisé car ce test est plus fiable que le test de CHI-2, il permet de tester l'indépendance entre la variable testée et le succès ou l'échec de la greffe.

III. Résultats

A. Population (Tableau 1)

105 greffons ont été inclus entre mai 2016 et octobre 2018. Les patients receveurs avaient en moyenne 69.6 ans (40-92), les patients donneurs étaient âgés de 59.7 ans (18-90). La durée moyenne entre le prélèvement et la greffe était de 22 jours (12-32). Parmi les 105 greffons inclus, on retrouvait 97 succès et 8 échecs à 4 mois et 93 succès et 12 échecs à 12 mois.

	Données manquantes (% sur N total)	N minimum- maximum	Moyenne (écart-type)	Médiane (écart inter-quartile)
Age du receveur	0 (0)	40 - 92	69.6 (10.5)	70 (13)
Age du donneur	0 (0)	18 - 90	59.7 (17.7)	60 (28)
Durée avant greffe	0 (0)	12-32 jours	22 (5.1)	21 (8)
DCE moyenne pré-opératoire	0 (0)	2250 - 3112.5	2625.1 (189.2)	2600 (250)
Perte endothéliale pré- greffe	0 (0)	0 - 600	-34.5 (99.1)	0 (100)
DCE à 4 mois	49 (46.667)	424 - 2945	1431 (672.8)	1165 (1059.25)
DCE à 12 mois	36 (34.286)	405 - 3273	1325.3 (623.9)	1095 (794)
Taux de cellules à 4 mois	49 (46.667)	0.160373832 - 1.100934579	0.5 (0.3)	0.4586644665 (0.41693117775)
Taux de cellules à 12 mois	36 (34.286)	0.176086957 - 1.051566265	0.5 (0.2)	0.432 (0.327184466)

Tableau 1. Population. DCE = densité cellulaire endothéliale.

B. Greffons (Tableau 1 et Tableau 2)

La majorité des greffes a été réalisée en 2018 (46.7%), puis 2017 (30.5%) et enfin 2016 (22.9%). Le don de cornée provenait majoritairement d'un patient décédé dans 50.5% des cas, puis d'un PMO (34.3%) et enfin d'un patient cœur arrêté Maastricht 2 ou 3 (15.2%).

La DCE pré-opératoire moyenne était de 2625 cellules (2250-3112.5). Les greffons perdaient en moyenne 34.5 cellules avant la réalisation de la greffe (différence entre les deux mesures réalisées en BMT). La microscopie spéculaire retrouvait un nombre de cellules résiduelles moyen de 1431 cellules à 4 mois (424 – 2945) et 1325 cellules à 12 mois (405 – 3273), soit une perte moyenne de 45.5% à 4 mois et 49.5% à 12 mois.

Année de la greffe	2016	2017	2018
Effectif (%)	24 (22.9)	32 (30.5)	49 (46.7)
Type de don	Décédé	Maastricht	PMO
Effectif (%)	53 (50.5)	16 (15.2)	36 (34.3)
Cause de greffe	DP	Fuchs	Regreffe Fuchs
Effectif (%)	36 (34.3)	64 (61)	5 (4.8)
Chirurgie combinée	Non	Oui	
Effectif (%)	80 (76.2)	25 (23.8)	
Rebubbling	Non	Oui X1	Oui X2-3
Effectif (%)	70 (66.7)	28 (26.7)	7 (6.7)
Repositionnement de greffon	Non	Oui	
Effectif (%)	99 (94.3)	6 (5.7)	
HTO	Non	Oui	
Effectif (%)	79 (75.2)	26 (24.8)	
Regreffe	Non	Oui	
Effectif (%)	100 (95.2)	5 (4.8)	
ATCD de greffe	Non	Oui	
Effectif (%)	101 (96.2)	4 (3.8)	
Infection précoce < 1 mois	Non	Oui	
Effectif (%)	105 (100)	0	
Défaillance primaire du greffon	Non	Oui	
Effectif (%)	103 (98.1)	2 (1.9)	
Succès de la greffe à 4 mois	Non	Oui	
Effectif (%)	8 (7.6)	97 (92.4)	
Succès de la greffe à 12 mois	Non	Oui	
Effectif (%)	12 (11.4)	93 (88.6)	

Tableau 2. Descriptif qualitatif. DP = décompensation du pseudophake ; HTO = hypertension oculaire ; PMO = prélèvement multiorganes.

C. Receveurs (Tableau 2)

Les indications de greffe consistaient en une dystrophie de Fuchs (61%), une décompensation du pseudophake (34.3%) et une regreffe pour dystrophie de Fuchs (4.8%).

Une chirurgie combinée était réalisée dans 23.8% des cas, consistant soit en une phakoémulsification, soit en un retrait d'implant de chambre antérieure avec repositionnement d'un implant clippé à la face postérieure de l'iris.

Lors du suivi post-opératoire, 33.3% des patients bénéficiaient d'un ou plusieurs rebubbling (1 rebubbling : 26.7% ; 2 rebubbling : 4.8% ; 3 rebubbling : 1.9%) et 5.7% d'un repositionnement du greffon, réalisé entre J2 et J15.

Une hypertension oculaire ou un glaucome était présent chez 26 patients soit 24.8%. Douze d'entre-eux avait déjà un traitement hypotonisant avant la réalisation de la greffe, soit 15.1% (14/93 yeux) qui ont développé une hypertension oculaire suite à la greffe et au traitement par corticoïdes locaux.

Une regreffe endothéliale dans les 12 mois suivant la greffe initiale a été nécessaire dans 4.8% des cas.

Aucune infection post-opératoire précoce n'a été détectée. Deux défaillances primaires du greffon ont été constatées qui ont conduit à l'échec de la greffe.

D. Succès / Echecs

Parmi les 105 greffons inclus, on retrouvait 97 succès et 8 échecs à 4 mois et 93 succès et 12 échecs à 12 mois. Aucune valeur n'était statistiquement significative, cependant, des tendances ont pu être observées.

1. Descriptif quantitatif (Erreur ! Source du renvoi introuvable.)

L'âge du donneur jeune présentait plus de succès, alors que celui du receveur ne semblait pas avoir d'impact :

- Age donneur : en moyenne 59 ans lors des succès et 64.5 ans pour les échecs
- Age receveur : en moyenne 69.7 ans lors des succès et 68.8 ans pour les échecs

La durée de conservation du greffon était plus longue de 2.6 jours lors des succès de greffe (22.3 jours pour les succès, 19.7 jours pour les échecs). La DCE était plus forte dans le groupe succès (2634.6 cellules) que dans le groupe échec (2557.7 cellules), et la perte cellulaire endothéliale constatée en pré-opératoire était plus faible dans le groupe succès (-30.7 cellules) que dans le groupe échec (-61.5 cellules).

2. Descriptif qualitatif (Erreur ! Source du renvoi introuvable.)

On retrouvait une proportion d'échecs plus importante en 2016 (20.7% des succès et 38.5% des échecs en 2016). Concernant le type de don, on retrouvait une tendance positive dans le groupe PMO et une tendance négative dans le groupe Maastricht.

La dystrophie de Fuchs représentait 64.1% des succès et seulement 38.5% des échecs, alors que la greffe pour dystrophie de Fuchs représentait 3.3% des succès contre 15.4% des échecs. Les décompensations du pseudophake étaient recensées dans 32.6% des succès et 46.2% des échecs. La réalisation d'une chirurgie combinée ne montrait pas de différence de proportion dans les groupes succès et échec. La réalisation d'un rebubbling concernait 32.6% des succès mais 38.5% des échecs, alors que le repositionnement du greffon concernait 6.5% des succès mais aucun échec de greffe. L'hypertonie oculaire était retrouvée chez 26 patients mais un seul a présenté un échec de greffe (7.7%).

L'antécédent de greffe était retrouvé dans 15.4% des échecs contre seulement 2.2% des succès. Deux défaillances primaires du greffon ont été recensées et ont conduit à l'échec de la greffe.

3. Risques relatifs (Erreur ! Source du renvoi introuvable.)

Les taux d'échec étaient plus importants en 2016 par rapport à 2017 (RR = 0.8444 (0.6751-1.0563) p = 0.1255) et 2018 (RR = 0.9021 (0.7165-1.1358) p= 0.4870). Les prélèvements de cornée sur cœur arrêté Maastricht 2 et 3 étaient ceux avec le plus grand nombre d'échecs. L'étiologie avec le plus de réussite de greffes était la dystrophie de Fuchs (RR = 1.5365 (0.7485-3.1541) p = 0.0768 par rapport à la greffe pour dystrophie de Fuchs), suivie par les décompensations du pseudophake, alors que la greffe pour dystrophie de Fuchs était associée au risque le plus élevé d'échecs.

La réalisation d'une chirurgie combinée ne semblait avoir aucun impact sur le succès ou l'échec de la greffe (0.9943 (0.8416-1.1748) p = 1.0000). Le rebubbling avait une légère tendance au succès (RR = 1.0333 (0.8812-1.2118) p = 0.7561) et le repositionnement du greffon était retrouvé uniquement dans des greffes à succès.

L'hypertonie oculaire était un facteur d'échec (RR = 0.8820 (0.7816-0.9954) p= 0.1781). Une greffe précoce (moins de 12 mois) était le plus grand facteur de risque d'échec avec un risque relatif de 4.80 à 4 mois (p = 0.0001) et 4.60 à 12 mois (p = 0.0005). Un antécédent de greffe était également un facteur de risque d'échec (RR = 1.7822 (0.6673-4.7597) p = 0.0740).

	SUCCES N minimum- maximum	SUCCES moyenne (écart-type)	SUCCES médiane (écart inter- quartile)	ECHEC N minimum- maximum	ECHEC moyenne (écart-type)	ECHEC médiane (écart inter- quartile)	p.value test wilcoxon
Age du receveur	40 - 86	69.7 (10.2)	70 (13.25)	50 - 92	68.8 (13.2)	71 (15)	0.7964
Age du donneur	18 - 90	59 (17.7)	59 (26.25)	37 - 85	64.5 (17.6)	67 (29)	0.3402
Durée avant greffe	12 -- 32	22.3 (5)	22 (8.25)	14 - 31	19.7 (5.3)	19 (6)	0.0682
DCE moyenne pré- opératoire	2250 - 3112.5	2634.6 (188.7)	2600 (275)	2250 - 3000	2557.7 (186.4)	2525 (175)	0.1335
Perte endothéliale pré-greffe	-600	-30.7 (100.6)	0 (62.5)	-300	-61.5 (87)	-50 (100)	0.3054
DCE à 4 mois	424 - 2945	1467.2 (683.6)	1210 (1113.5)	685 - 1134	961.2 (193.5)	1013 (142.25)	0.1569
DCE à 12 mois	405 - 3273	1328.9 (627.8)	1095 (852)	1080 - 1080	1080 (NA)	1080 (0)	0.9001
Taux de cellules à 4 mois	0.160373832 - 1.100934579	0.6 (0.3)	0.4698873595 (0.4333177255)	0.249090909 - 0.459111111	0.4 (0.1)	0.3923 (0.1444550505)	0.1569
Taux de cellules à 12 mois	0.176086957 - 1.051566265	0.5 (0.2)	0.4329054945 (0.33010244075)	0.432 - 0.432	0.4 (NA)	0.432 (0)	1

Tableau 3. Descriptif quantitatif à 12 mois. DCE = densité cellulaire endothéliale.

	Succès				Echec				p-value test de Fisher
	2016	2017	2018		2016	2017	2018		
Année de la greffe	2016	2017	2018		2016	2017	2018		NA
Effectif (%)	19 (20.7)	30 (32.6)	43 (46.7)		5 (38.5)	2 (15.4)	6 (46.2)		0.253
Type de don	Décédé	Maastricht	PMO		Décédé	Maastricht	PMO		
Effectif (%)	46 (50)	13 (14.1)	33 (35.9)		7 (53.8)	3 (23.1)	3 (23.1)		0.5132
Cause de greffe	DP	Fuchs	Regrefe Fuchs		DP	Fuchs	Regrefe Fuchs		
Effectif (%)	30 (32.6)	59 (64.1)	3 (3.3)		6 (46.2)	5 (38.5)	2 (15.4)		0.0668
Chirurgie combinée	Non	Oui			Non	Oui			
Effectif (%)	70 (76.1)	22 (23.9)			10 (76.9)	3 (23.1)			1
Rebubbling	Non	Oui			Non	Oui			
Effectif (%)	62 (67.4)	30 (32.6)			8 (61.5)	5 (38.5)			0.7561
Repositionnement de greffon	Non	Oui			Non	Oui			
Effectif (%)	86 (93.5)	6 (6.5)			13 (100)	0			1
HTO	Non	Oui			Non	Oui			
Effectif (%)	67 (72.8)	25 (27.2)			12 (92.3)	1 (7.7)			0.1781
Regrefe	Non	Oui			Non	Oui			
Effectif (%)	92 (100)	0			8 (61.5)	5 (38.5)			0
ATCD de greffe	Non	Oui			Non	Oui			
Effectif (%)	90 (97.8)	2 (2.2)			11 (84.6)	2 (15.4)			0.074
Défaillance primaire du greffon	Non	Oui			Non	Oui			
Effectif (%)	92 (100)	0			11 (84.6)	2 (15.4)			0.0143

Tableau 4. Descriptif qualitatif à 12 mois. DP = décompensation du pseudophake

Comparaisons multiples	Risque relatif (IC 95%) M4	p-value test de Fisher M4	Risque relatif (IC 95%) M12	p-value test de Fisher M12
2016 vs 2017	0.9333 (0.7829-1.1126)	0.6416	0.8444 (0.6751-1.0563)	0.1255
2016 vs 2018	0.9321 (0.7885-1.1018)	0.3876	0.9021 (0.7165-1.1358)	0.4870
2017 vs 2018	0.9986 (0.8906-1.1198)	1.00	1.0683 (0.9310-1.2259)	0.4691
Décédé vs Maastricht	1.0782 (0.8857-1.3124)	0.3278	1.0682 (0.8255-1.3823)	0.6872
Décédé vs PMO	1.0292 (0.9141-1.1587)	0.6825	0.9468 (0.8199-1.0935)	0.7341
Maastricht vs PMO	0.9545 (0.7739-1.1773)	0.6374	0.8864 (0.6867-1.1440)	0.3565
DP vs Fuchs	0.9778 (0.8698-1.0992)	0.6999	0.9040 (0.7683-1.0635)	0.1964
DP vs Regrefe Fuchs	1.1458 (0.731-1.7956)	0.4183	1.3889 (0.6690-2.8833)	0.2465
Fuchs vs Regrefe Fuchs	1.1719 (0.7526-1.8247)	0.3216	1.5365 (0.7485-3.1541)	0.0768
Chirurgie combinée	1.0054 (0.8817-1.1466)	1.0000	0.9943 (0.8416-1.1748)	1.0000
Reubbling	1.0156 (0.9004-1.1456)	1.0000	1.0333 (0.8812-1.2118)	0.7561
HTO	0.9478 (0.8550-1.0508)	0.6760	0.8820 (0.7816-0.9954)	0.1781
Regrefe	4.80 (0.8312-27.7190)	0.0001	Non calculable	Non calculable
ATCD de greffe	1.2409 (0.7030-2.1905)	0.2752	1.7822 (0.6673-4.7597)	0.0740

Tableau 5. Comparaisons multiples et risques relatifs. ATCD = antécédent ; DP = décompensation du pseudophaque ; PMO = prélèvements multiorganes.

IV. Discussion

A. Résultats

Dans notre échantillon, aucune valeur n'a permis d'émettre de manière statistiquement significative des caractéristiques de la cornée du donneur ou du receveur imputables à un échec ou à une réussite d'UT-DSA EK prédécoupées en banque multi-tissus. Cependant, les antécédents généraux des donneurs n'ont pas pu être obtenus.

1. Ages des donneurs et receveurs

L'âge du donneur semblait avoir plus d'impact que celui du receveur pour la réussite d'une greffe :

- Age donneur : en moyenne 59 ans lors des succès et 64.5 ans pour les échecs
- Age receveur : en moyenne 69.7 ans lors des succès et 68.8 pour les échecs

La justification de ce résultat est que les donneurs d'âge plus jeune possèdent en moyenne une DCE plus importante que les patients plus âgés, qui par ailleurs ont parfois subi des interventions ophtalmologiques notamment une chirurgie de la cataracte, responsable d'une perte endothéliale. Une étude rapportait une diminution de la DCE de 4.6% à 1 mois et 6.4% à 3 mois après chirurgie de la cataracte (41).

Pour les greffes transfixiante, le jeune âge du receveur est corrélé à un taux de rejet et d'échec plus important (10,11), contrairement à ce que nous retrouvons dans nos résultats. Cela peut être expliqué par le fait que les patients éligibles à une greffe endothéliale ont un âge plus avancé que les greffes transfixiantes, et que les pathologies causales sont également différentes (majoritairement kératocône et opacités cornéennes).

2. Durée de conservation du greffon

La durée de conservation du greffon était plus longue de 2.6 jours lors des succès de greffe avec une moyenne de 22.3 jours pour les succès, et de 19.7 jours pour les échecs. Il est difficile de comparer ces résultats à la littérature étrangère car la méthode de conservation est différente selon les pays. En effet, en France les greffons sont conservés en organoculture, alors que dans certains pays étrangers notamment les Etats-Unis, il s'agit d'une méthode de conservation à froid. A l'inverse de nos résultats, une étude retrouvait un risque plus important de défaillance primaire du greffon en cas de longue durée de conservation en banque de tissus (27).

3. Densité cellulaire endothéliale (DCE)

La DCE pré-opératoire était plus forte dans le groupe succès (2634.6 cellules) que dans le groupe échec (2557.7 cellules), et la perte cellulaire endothéliale constatée en pré-opératoire était plus faible dans le groupe succès (-30.7 cellules) que dans le groupe échec (-61.5 cellules). Ces résultats s'avèrent logique étant donné que l'on apporte un stock de cellules endothéliales viables plus important, ce qui, par ailleurs, est concordant avec la littérature (26,42), et justifie les critères stricts de qualification des cornées.

Par ailleurs, une étude concernant 39 greffons ne rapportait pas de différence de la DCE avant et après conservation (43). Cependant, la notion de perte cellulaire endothéliale précoce n'a pas été retrouvée dans la littérature.

4. Année de greffe

Le taux de succès était moindre en 2016, année d'autorisation du procédé technique pour la préparation de greffons prédécoupés, par rapport à 2017 et 2018, que l'on pouvait expliquer par l'apprentissage et l'expérience des techniciens de laboratoire ainsi que de celle des chirurgiens greffeurs. De plus, en 2019, le protocole de préparation des greffons a été amélioré, notamment dans la gestion de la pression de la chambre antérieure artificielle qui conditionne, en partie, l'épaisseur finale du greffon.

D'autres études retrouvent un phénomène d'apprentissage avec un taux de succès sur les greffons préparés par des techniciens qui augmentait au cours du temps : 95% de succès dans le premier quart et 99.5% dans le dernier (37).

5. Type de don

Le don suite à un PMO retrouvait une tendance au succès de la greffe de cornée. Cela pourrait être expliqué par l'absence de conservation du corps suite au décès, et donc de tissu prélevé vivant, alors que le prélèvement était réalisé dans les 24 heures suivant le décès en cas de prélèvement sur cœur arrêté ou donneur décédé. Aucune donnée de la littérature n'a étudié ce critère -là.

Quelques études ont cependant étudié l'impact que pourrait engendrer la cause du décès (accident de la route, maladie cardiovasculaire, autres), sans mise en évidence de facteurs influençant le résultat final (42,44).

6. Etiologie de la greffe

On retrouvait plus de succès en cas de dystrophie de Fuchs, suivi par les décompensations du pseudophake, et enfin les greffes pour dystrophie de Fuchs :

- Dystrophie de Fuchs : atteinte prédominant au centre, qui correspond à la zone de descémétorhexis, permettant le retrait des zones pathologiques
- Décompensation post-chirurgicale : atteinte endothéliale diffuse par souffrance per-opératoire de l'ensemble de la cornée
- Greffe pour dystrophie de Fuchs : la greffe est un facteur de risque connu d'échec de greffe (7,44)

Une seconde étude retrouvait la même séquence étiologique mais avec une significativité insuffisante également ($p = 0.302$) (44). Une troisième étude de 1330 yeux retrouvait un taux de succès à 3 ans de 94.3% dans les dystrophies de Fuchs et de 83.7% pour les décompensations du pseudophake ($p = 0.03$) (42).

7. Chirurgie simple ou chirurgie combinée

La réalisation d'une chirurgie combinée ne montrait pas de différence de proportion dans le groupe succès et échec.

D'autres études ont obtenu des résultats similaires aux nôtres, que ce soit lors des chirurgies de cataracte combinée à la DSAEK (25,45) avec des résultats à 1 an identiques lors des chirurgies combinées ou lors d'une greffe endothéliale réalisée quelques mois après celle de la cataracte. Les mêmes résultats étaient retrouvés lors des explantations d'implant associées à une phakoémulsification avec implantation capsulaire postérieure et DSAEK (46).

8. Décollement du greffon

Le décollement post-opératoire du greffon est une complication fréquente. Dans notre étude, 33.3% des greffons ont bénéficié d'un rebubbling et 5.7% d'un repositionnement du greffon. Le rebubbling ne semblait avoir aucun impact sur le résultat final de la greffe. Par ailleurs, aucun échec de greffe n'a été constaté chez les greffons ayant nécessité un repositionnement au bloc opératoire.

Dans une étude de 394 DSAEK dont 26 décollements du greffon (47), le stockage des cornées en banque dans un milieu frais (12.7% de décollement) par rapport à l'organoculture (2.5%) ($p < 0.001$) en était le principal facteur de risque. Malgré la bonne réapplication du greffon après rebubbling chez 25 yeux, un total de 6 échecs conduisait à la réalisation d'une nouvelle DSAEK dans les 13 mois suivant la greffe initiale (soit 23.1% vs 14.3% dans notre étude). Une autre

étude rapportait 35% de défaillance primaire du greffon après un rebubbling malgré une bonne réapplication du greffon (48). La réduction de la proportion de décollement du greffon pourrait être améliorée par l'utilisation d'un OCT per-opérateur afin de détecter la présence de fluide en avant de l'UT-DSAEK qui inciterait le chirurgien à laisser en chambre antérieure une bulle d'air plus conséquente en fin de procédure, ce qui réduirait le risque de décollement du greffon (49). Par ailleurs, le risque de décollement du greffon augmente avec la finesse du greffon, et est encore plus important en cas de DMEK (50).

9. Hypertonie oculaire

L'hypertonie oculaire était retrouvée chez 26 patients mais un seul a présenté un échec de greffe (7.7%). L'analyse en comparaisons multiples a cependant pu mettre en évidence que l'hypertonie oculaire était un facteur d'échec (RR = 0.8820 (0.7816-0.9954) p= 0.1781).

Une méta-analyse de 76 articles a recherché les facteurs de risques de développement d'une hypertonie oculaire après une kératoplastie (51). Un glaucome ou une hypertonie pré-existante sur l'œil opéré, un retrait ou changement d'implant dans le même temps que la kératoplastie étaient fortement corrélés au développement d'une hypertonie oculaire. D'autres facteurs tels qu'une aphakie ou pseudophakie, un glaucome de l'œil adelphe, une greffe pour kératopathie bulleuse, une origine afro-américaine, un traitement pré-opérateur par ciclosporine, un traitement post-opérateur par acétate de prednisolone 1% (non commercialisé en France) et la réalisation d'une chirurgie combinée semblaient majorer ce risque.

Le glaucome étant un facteur de risque avéré d'échec de greffe (10,11), il est donc nécessaire de dépister et de prendre en charge une hypertonie, par un traitement médical ou chirurgical si nécessaire, avant d'envisager une greffe de cornée qui serait donc à fort risque d'échec en cas de méconnaissance de celui-ci.

10. Défaillance primaire du greffon

Il s'agit d'une complication rare, 2 cas sur 105 dans notre étude, mais responsable de 16.7% des échecs à un an. En 2011, Ang (26) analysait 6 défaillances primaires du greffon chez 124 yeux, avec un risque majoré en cas de diamètre donneur inférieur à 8 mm (OR = 39.94, p = 0.0017) et une technique d'insertion directe chez 5 contre un seul en insertion par injecteur (OR = 34.03, p = 0.013). Ceci pourrait être expliqué par l'apport en cellules endothéliales plus important et le traumatisme chirurgical moindre lors d'une implantation à l'aide d'un injecteur. Il n'y avait pas de différence significative pour la durée entre le prélèvement et la greffe, la

DCE et l'âge du donneur. Dans notre étude, le diamètre cornéen greffé n'a pas été étudié car l'ensemble des greffons présentait un diamètre de 7.50 ou 7.75 mm.

11. Echecs de greffe à long terme

Madi (52) rapporte les résultats du suivi à 5 ans de 105 yeux ayant bénéficié d'UT-DSAEK. Il rapporte une acuité visuelle > 20/40 chez 96.6% et de 20/20 chez 53.4% des yeux. La probabilité de rejet de greffe était de 3.4%, 4.3%, 5% et 6.9% à 1, 2, 3 et 5 ans respectivement. Une étude multicentrique de 1223 yeux ayant bénéficié d'une DSAEK pour dystrophie de Fuchs (94%) ou décompensation du pseudophake (6%) a comparé la DCE pré-opératoire et la DCE à 6 mois pour savoir lequel était prédictif d'un échec de greffe (53). Une incidence cumulée de 1.3% de rejets de greffe a été recensée. La DCE pré-opératoire était similaire dans le groupe échec (2523 ; 2367 – 3161 cellules/mm²) et dans le groupe succès (2727 ; 2508-2973 cellules/mm²) (p = 0.34), ce qui n'était pas le cas de la DCE à 6 mois. En effet, un échec était retrouvé chez 6.5% des 97 greffes avec une DCE < 1200 cellules/mm², 0.3% des 310 greffes avec une DCE comprise entre 1200 et 2000 cellules/mm², et 0.6% des 589 greffes avec une DCE > 2000 cellules/mm². La DCE à 6 mois serait donc plus prédictible que la DCE pré-opératoire quant à la survenue d'un échec de greffe à 5 ans.

12. Facteurs prédictifs d'échec ou de réussite

Terry (42) a recherché les facteurs prédictifs de réussite d'une DSAEK à 3 ans pour dystrophie de Fuchs ou décompensation du pseudophake. Il y avait plus d'échecs en cas de donneur diabétique (RR = 3.56 [1.62 – 7.85] p = 0.002), de complications peropératoires (RR = 4.21 [1.42 – 12.47] p < 0.001), de décompensation du pseudophake (RR = 2.15 [0.84 – 5.53] p = 0.03) et d'antécédent de chirurgie du glaucome (RR = 2.50 [0.74 – 8.45] p = 0.05). Il semblait y avoir plus de succès en cas de donneur jeune (RR = 1.17 [0.89 – 1.53] p = 0.15 par décennies), de DCE donneur importante (RR = 1.10 [0.74 – 1.63] p = 0.53 par 500 cellules), et de grand diamètre de greffe (RR = 1.22 [0.39 – 3.76] p = 0.60 par millimètre).

B. Greffons préparés en banque de cornée

En 2020, Kanavi (44) recherche les facteurs de risques d'échec des DSAEK préparées en banque de cornée en comparant 131 échecs de greffe à un groupe témoin de 126 succès. Il rapporte un risque majoré d'échecs en cas de greffons préparés sans collerette cornéo-sclérale

(OR = 2.17 ; p = 0.026), ce que l'on peut expliquer par la perte cellulaire engendrée lors de la manipulation de l'endothélium et son contact avec la chambre antérieure artificielle utilisée lors de la découpe du greffon. La présence d'une hyperhémie conjonctivale chez le donneur était également associée à un risque d'échec plus important (OR = 1.62 ; p = 0.042). Il n'y avait pas de différence pour le sexe ou l'âge du donneur, la durée de conservation avant la greffe, la densité cellulaire endothéliale. Parmi les causes de greffes étudiées (dystrophie de Fuchs, décompensation du pseudophake, échec de kératoplastie transfixiante), aucune n'était associée à un risque majoré d'échec.

Une autre étude a également étudié l'impact d'un transport d'une UT-DSAEK de grand diamètre (9.5 mm) pré-chargée, puis transportée dans un autre centre ophtalmologique afin d'y être greffée dans un délai inférieur à 4 jours. Une perte moyenne de 1.7% de la DCE était rapportée à propos de 39 yeux suite à l'acheminement du greffon (43). La conclusion de cette étude pourrait inciter au développement et au conditionnement de greffons prédécoupés dans une banque de cornées constitués de techniciens expérimentés, afin d'être livrée dans des villes alentours ne disposant pas de banque de cornées ou de techniciens formés à la technique.

C. Comparaisons des différentes techniques de greffe endothéliale

1. UT-DSAEK vs DMEK

La plupart des études sont en faveur de la DMEK par rapport aux DSAEK. Cependant, peu de données dans la littérature existent concernant la comparaison DMEK et UT-DSAEK.

Une étude italienne a étudié chez 18 patients qui ont bénéficié d'une DMEK d'un côté et une UT-DSAEK de l'autre (55). Un an après la chirurgie, il n'existait pas de différence significative en terme de meilleure acuité visuelle, bien que les aberrations optiques de haut degré, de coma et d'astigmatisme postérieur étaient significativement plus faibles sur les yeux ayant bénéficié d'une DMEK. La sensibilité aux contrastes était meilleure après DMEK, et la DCE était supérieure après UT-DSAEK (p = 0.10). Les patients étaient satisfaits des deux procédures mais rapportaient un meilleur confort et une récupération plus rapide après DMEK.

Une autre étude prospective, randomisée, de 216 yeux atteints de dystrophie de Fuchs ou de décompensation du pseudophake retrouvait des résultats similaires à 12 mois : une acuité visuelle meilleure dans le groupe DMEK avec +1.4 lignes (95% CI, 2.2-0.7 lignes ; p < 0.001), mais une DCE moyenne de 1855 cellules/mm² en DMEK et de 2070 cellules/mm² en UT-DSAEK (P = 0.051) (56).

Une autre étude comparait les résultats de greffons préchargés de DMEK et de UT-DSAEK (57). Bien que le taux de rebubbling était significativement plus important dans le groupe DMEK (44%) par rapport au groupe UT-DSAEK (12.9%), $p < 0.01$, l'acuité visuelle à un an était meilleure dans le groupe DMEK : 76% présentaient une acuité supérieure à 20/30 alors que 34.4% ($p = 0.01$) du groupe UT-DSAEK atteignait ce niveau d'acuité.

Une autre étude n'a cependant pas retrouvé de différences en termes d'acuité visuelle finale et d'aberrations optiques entre les groupes DMEK et UT-DSAEK (58).

Cependant, l'avantage de la UT-DSAEK par rapport à la DMEK, tout comme la DSAEK, est qu'il s'agit d'une procédure qui peut être réalisée sur tous les yeux, même ceux avec une visualisation médiocre. (59)

2. UT-DSAEK vs DSAEK

Une étude multicentrique néerlandaise a comparé les résultats réfractifs, de DCE et de complications entre DSAEK et UT-DSAEK (60). La récupération visuelle était significativement plus rapide et meilleure à 12 mois dans le groupe UT-DSAEK (0.13 logMAR [95% IC 0.09-0.17], 0.20 logMAR [95% IC 0.15-0.25], $P = 0.03$). La diminution de la DCE (40% à 3 mois ; $p < 0.001$), et le décollement du greffon (5 yeux dans chacun des deux groupes [RR 1.0 {95% IC 0.34-3.33}; $p = 0.9$]) étaient comparables entre UT-DSAEK et DSAEK. Plusieurs autres études confirment ces résultats (7,61,62).

D. Approches futures des traitements endothéliaux

1. Contexte

Les kératoplasties endothéliales ont prouvé leurs bénéfices en termes de rapidité de récupération visuelle et de complications graves limitées. Cependant, la réalisation des greffes est limitée par le nombre de donneurs, largement insuffisants à ce jour. En 2016, sur 70 cornées nécessitant d'être greffées, une seule bénéficiait d'une kératoplastie, et près de 53% de la population mondiale n'avait pas accès à la greffe (40). De nouvelles approches sont donc nécessaires afin de contrecarrer cette pénurie mondiale, certaines médicales, d'autres chirurgicales, et parfois pouvant être combinées les unes aux autres. Par ailleurs, la thérapie cellulaire, en pleine expansion dans de nombreux domaines de la médecine, aura certainement des implications dans les décennies à venir.

2. Approches médicales

L'utilisation en ophtalmologie des inhibiteurs des Rho-associated kinases (ROCK) a déjà montré son efficacité dans la prise en charge du glaucome (63). Désormais, des études s'intéressent à leurs rôles dans la régénération cellulaire endothéliale et quelques cas d'amélioration de l'œdème cornéen dans des traumatismes endothéliaux ou dans la dystrophie de Fuchs ont été rapportés après instillation de collyre constitué d'inhibiteurs des ROCK (64–66).

3. Approches chirurgicales

La DWEK (Descemetorrhexis without endothelial keratoplasty) ou DSO (Descemet's stripping only) consiste en la réalisation d'un descémétorhexis central, dans l'hypothèse où cela permettrait d'éliminer les gouttes de la dystrophie de Fuchs prédominant au centre, et que les cellules en meilleur état situées plus en périphérie puissent migrer dans la zone retirée. Le patient présente donc un œdème cornéen important en post-opératoire, mais, en l'absence de greffon, permet d'éviter les complications à type de décollement du greffon et de rejet (67,68). Cette technique n'est pas recommandée dans les pays à faible pénurie de greffons et une sélection stricte des patients est nécessaire au préalable, qui reste à définir.

Pour poursuivre dans la quête d'un greffon toujours plus fin, alors que l'UT-DSAEK présente une épaisseur inférieure à 100µm, la NT-DSAEK (Nanothin-DSAEK) avec une épaisseur encore plus fine inférieure à 50µm a été proposée, mais avec un taux d'échec de découpe plus important de 4.8% (69).

4. Thérapies cellulaires

Deux concepts font actuellement l'objet de recherche dans le domaine de l'endothélium cornéen. Le premier consiste en l'injection intra-caméculaire de cellules souches, nécessitant une membrane de Descemet saine afin d'y permettre l'adhésion des cellules injectées (70). Le patient doit ensuite se positionner plusieurs heures face vers le sol, afin que les cellules souches sédimentent sur la membrane de Descemet. Leur adhésion pourrait ensuite être facilitée par certains matériaux tels que des nanoparticules (71).

Le second concept est l'expansion d'un tissu endothélio-descémétique de bonne qualité qui est mis en culture (70). L'endothélium du donneur en est extrait, puis mis en culture afin d'obtenir une surface démultipliée par rapport au prélèvement initial. Cette technique présente un avantage majeur : la possibilité de pouvoir greffer plusieurs patients à partir d'un unique donneur présentant un tissu de bonne qualité.

V. Conclusion

Cette étude avait pour but de rechercher des facteurs prédictifs d'échec ou de réussite des greffes endothéliales prédécoupées en UT-DSAEEK. Un total de 105 greffons avec 12 mois de suivi a pu être inclus : 93 succès et 12 échecs.

Bien que non significatif, la regreffe précoce dans les 12 mois était le principal facteur d'échec de greffe. La dystrophie de Fuchs était la pathologie avec le taux de succès le plus important. Une densité cellulaire endothéliale suffisante est nécessaire afin d'en assurer le succès, indépendamment de l'âge du donneur. La réalisation d'une chirurgie combinée et les manœuvres de repositionnement post-opératoires du greffon n'avaient pas d'influence sur le résultat final de la greffe. Bien que rare, la défaillance primaire du greffon doit conduire à la réalisation d'une nouvelle greffe dans les mois suivant son diagnostic.

Cependant, l'interprétation des résultats est limitée par la faible incidence des échecs de greffes permise grâce aux critères de qualification stricts des greffons.

Il est également intéressant de noter que 15.1% des patients ont développé une hypertonie oculaire dans les suites de la greffe. Ceci doit nous inciter à une vigilance accrue chez les patients présentant une hypertonie oculaire ou un glaucome préexistant, nécessitant une greffe de cornée, y compris endothéliale, et ainsi nous amener à une concertation préalable, dans certains cas, pour envisager en amont une chirurgie filtrante.

Par ailleurs, il serait difficile de réaliser une étude multicentrique pour plusieurs raisons :

- Certaines équipes privilégient largement la DMEK par rapport à l'UT-DSAEEK
- Peu de banques de cornée prédécoupent les greffons endothéliaux en UT-DSAEEK
- Les critères de sélection ne sont pas strictement identiques entre les différentes banques
- La méthode de conservation des greffons peut être différente (pays étrangers).

VI. Bibliographie

1. Von Hippel. Eine neue method der hornhaut transplantation Albrecht Von Graefes Arch. Ophthalmol. 1108-130; 1888.
2. Zirm EK. Eine erfolgreiche totale Keratoplastik (A successful total keratoplasty). 1906. Refract Corneal Surg. août 1989;5(4):258-61.
3. Kocaba V, Damour O, Auxenfans C, Burillon C. Descemet's Membrane Endothelial Keratoplasty. Indication, technique chirurgicale, gestion postopératoire et revue de la littérature. //www.em-premium.com/data/revues/01815512/v41i4/S0181551218300962/ [Internet]. 10 mai 2018 [cité 15 avr 2020]; Disponible sur: <https://www.em-premium.com/article/1213240>
4. Melles G, Eggink F, Lander F, Pels E, Rietveld F, Beekhuis W, et al. A Surgical Technique for Posterior Lamellar Keratoplasty. Cornea [Internet]. nov 1998 [cité 15 avr 2020];17(6). Disponible sur: insights.ovid.com
5. Melles GRJ, Lander F, Nieuwendaal C. Sutureless, Posterior Lamellar Keratoplasty: A Case Report of a Modified Technique. Cornea. avr 2002;21(3):325-7.
6. Melles GRJ, Lander F, Rietveld FJR. Transplantation of Descemet's Membrane Carrying Viable Endothelium Through a Small Scleral Incision. Cornea. mai 2002;21(4):415-8.
7. Busin M, Madi S, Santorum P, Scorcia V, Beltz J. Ultrathin descemet's stripping automated endothelial keratoplasty with the microkeratome double-pass technique: two-year outcomes. Ophthalmology. juin 2013;120(6):1186-94.
8. Melles G. Posterior Lamellar Keratoplasty: DLEK to DSEK to DMEK. Cornea. sept 2006;25(8):879-81.
9. Melles G, Ong T, Ververs B, Wees J van der. Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK). Cornea. sept 2006;25(8):987-90.
10. Maguire MG, Stark WJ, Gottsch JD, Stulting RD, Sugar A, Fink NE, et al. Risk factors for corneal graft failure and rejection in the collaborative corneal transplantation studies. Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group. Ophthalmology. sept 1994;101(9):1536-47.
11. Guilbert E, Bullet J, Sandali O, Basli E, Laroche L, Borderie VM. Long-term Rejection Incidence and Reversibility After Penetrating and Lamellar Keratoplasty. //www.em-premium.com/data/revues/00029394/v15i3/S0002939412006836/ [Internet]. 9 févr 2013 [cité 11 mai 2021]; Disponible sur: <https://www-em-premium-com.budistant.univ-nantes.fr/article/786172>
12. Borderie V. Kératoplasties lamellaires à but optique. //www.em-premium.com/data/traites/op/21-64335/ [Internet]. 9 févr 2016 [cité 11 mai 2021]; Disponible sur: <https://www-em-premium-com.budistant.univ-nantes.fr/article/1029958>
13. Price MO, Gorovoy M, Price FW, Benetz BA, Menegay HJ, Lass JH. Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty: Three-Year Graft and Endothelial Cell Survival Compared with Penetrating Keratoplasty. Ophthalmology. 1 févr 2013;120(2):246-51.
14. Allouch-Nahmias C, Goldschmit P, Borderie V, Touzeau O, Gaujoux T, Laroche L, et al. Anatomie de la cornée. //www.em-premium.com/data/traites/op/21-44155/ [Internet]. 18 mai 2011 [cité 25 avr 2020]; Disponible sur: <https://nomade.etu.univ-nantes.fr/article/,DanaInfo=www-em-premium-com.budistant.univ-nantes.fr,SSL+292150>

15. Microscopie spéculaire de l'endothélium cornéen. /data/revues/01815512/00220002/255/ [Internet]. 8 mars 2008 [cité 26 avr 2020]; Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/en/article/111149>
16. Borderie V, Touzeau O, Bourcier T, Laroche L. Physiologie de la cornée. //www.em-premium.com/data/traites/op/21-37706/ [Internet]. [cité 25 avr 2020]; Disponible sur: <https://nomade.etu.univ-nantes.fr/article/30698/resultatrecherche/,DanaInfo=www-em-premium-com.budistant.univ-nantes.fr,SSL+1>
17. Hogan MJ, Alvarado JA, Weddell JE. Histology of the human eye : an atlas and textbook [Internet]. Philadelphia : Saunders; 1971 [cité 25 avr 2020]. Disponible sur: <https://trove.nla.gov.au/version/25355184>
18. Chandler JW, Sugar J. External Diseases: Cornea, Conjunctiva, Sclera, Eyelids, Lacrimal System. Edelhauser HF, éditeur. New York: Gower Pub Co; 1994. 200 p.
19. Bourges J-L. Les dystrophies de cornée. //www.em-premium.com/data/revues/01815512/v40i7/S0181551217301675/ [Internet]. 7 sept 2017 [cité 11 mai 2021]; Disponible sur: <https://www-em-premium-com.budistant.univ-nantes.fr/article/1139548/resultatrecherche/3>
20. Narayanan R, Gaster RN, Kenney MC. Pseudophakic corneal edema: A review of mechanisms and treatments. *Cornea*. 1 oct 2006;25(9):993-1004.
21. Muraine M. Les greffes endothéliales. //www.em-premium.com/data/revues/01815512/00310009/907/ [Internet]. 5 déc 2008 [cité 25 avr 2020]; Disponible sur: <https://www-em-premium-com.budistant.univ-nantes.fr/article/194823/resultatrecherche/4>
22. Muraine M, Gardea E, Toubeau D, Brasseur G. Descemet membrane endothelial keratoplasty using descemetorhexis and organ-cultured donor corneal tissue. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*. 2007;85(s240):0-0.
23. Srinivasan S, Rootman DS. Slit-lamp technique of draining interface fluid following Descemet's stripping endothelial keratoplasty. *Br J Ophthalmol*. sept 2007;91(9):1202-5.
24. Wilhelmus KR, Stulting RD, Sugar J, Khan MM. Primary Corneal Graft Failure: A National Reporting System. *Archives of Ophthalmology*. 1 déc 1995;113(12):1497-502.
25. Coster DJ, Lowe MT, Keane MC, Williams KA, Australian Corneal Graft Registry Contributors. A comparison of lamellar and penetrating keratoplasty outcomes: a registry study. *Ophthalmology*. mai 2014;121(5):979-87.
26. Ang M, Htoon HM, Cajucom-Uy HY, Tan D, Mehta JS. Donor and surgical risk factors for primary graft failure following Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty in Asian eyes. *Clin Ophthalmol*. 2011;5:1503-8.
27. Buxton JN, Seedor JA, Perry HD, Eagle RC, Pecego JA. Donor failure after corneal transplantation surgery. *Cornea*. 1988;7(2):89-95.
28. Mead MD, Hyman L, Grimson R, Schein OD. Primary graft failure: A case control investigation of a purported cluster. *Cornea*. 1994;13(4):310-6.
29. Price FW, Price MO. Descemet's stripping with endothelial keratoplasty in 200 eyes: Early challenges and techniques to enhance donor adherence. *J Cataract Refract Surg*. mars 2006;32(3):411-8.

30. Prakash G, Jhanji V, Titiyal JS. Will Descemet's stripping with automated endothelial keratoplasty (DSAEK) lower the rates of allograft rejection in corneal transplants for endothelial failure? *Med Hypotheses*. 2007;69(5):1117-9.
31. Allan BDS, Terry MA, Price FW, Price MO, Griffin NB, Claesson M. Corneal transplant rejection rate and severity after endothelial keratoplasty. *Cornea*. oct 2007;26(9):1039-42.
32. Terry MA, Wall JM, Hoar KL, Ousley PJ. A prospective study of endothelial cell loss during the 2 years after deep lamellar endothelial keratoplasty. *Ophthalmology*. avr 2007;114(4):631-9.
33. Terry MA, Chen ES, Shamie N, Hoar KL, Friend DJ. Endothelial cell loss after Descemet's stripping endothelial keratoplasty in a large prospective series. *Ophthalmology*. mars 2008;115(3):488-496.e3.
34. Price MO, Price FW. Endothelial cell loss after descemet stripping with endothelial keratoplasty influencing factors and 2-year trend. *Ophthalmology*. mai 2008;115(5):857-65.
35. Ing JJ, Ing HH, Nelson LR, Hodge DO, Bourne WM. Ten-year postoperative results of penetrating keratoplasty. *Ophthalmology*. oct 1998;105(10):1855-65.
36. Al-Mahmood AM, Al-Swailem SA, Edward DP. Glaucoma and Corneal Transplant Procedures. *Journal of Ophthalmology* [Internet]. 1 janv 2012 [cité 23 juill 2021];2012. Disponible sur: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/576394>
37. Kelliher C, Engler C, Speck C, Ward D, Farazdaghi S, Jun AS. A comprehensive analysis of eye bank-prepared posterior lamellar corneal tissue for use in endothelial keratoplasty. *Cornea*. oct 2009;28(9):966-70.
38. Price MO, Baig KM, Brubaker JW, Price FW. Randomized, prospective comparison of precut vs surgeon-dissected grafts for descemet stripping automated endothelial keratoplasty. *Am J Ophthalmol*. juill 2008;146(1):36-41.
39. Bordereau S. Evolution des techniques et indications de k eratoplasties au Centre Hospitalier Universitaire de Nantes entre 2005 et 2015.
40. Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Cognasse F, et al. Global Survey of Corneal Transplantation and Eye Banking. *JAMA Ophthalmol*. 1 f evr 2016;134(2):167.
41. Mencucci R, Ponchiotti C, Virgili G, Giansanti F, Menchini U. Corneal endothelial damage after cataract surgery: Microincision versus standard technique. *J Cataract Refract Surg*. ao ut 2006;32(8):1351-4.
42. Terry MA, Aldave AJ, Szczo tka-Flynn LB, Liang W, Ayala AR, Maguire MG, et al. Donor, Recipient, and Operative Factors Associated with Graft Success in the Cornea Preservation Time Study. *Ophthalmology*. 2018;125(11):1700-9.
43. Parekh M, Ruzza A, Steger B, Willoughby CE, Rehman S, Ferrari S, et al. Cross-Country Transportation Efficacy and Clinical Outcomes of Preloaded Large-Diameter Ultra-Thin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty Grafts. *Cornea*. janv 2019;38(1):30-4.
44. Kanavi MR, Javadi MA, Chamani T, Rahmanian M, Kanavi MR, Kheiri B. Proposed risk factors for failure of transplanted eye bank-prepared descemet stripping automated endothelial keratoplasty tissues. *Cell Tissue Bank*. mars 2020;21(1):151-8.
45. Sykakis E, Lam FC, Georgoudis P, Hamada S, Lake D. Patients with Fuchs Endothelial Dystrophy and Cataract Undergoing Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty and Phacoemulsification with Intraocular Lens Implant: Staged versus Combined Procedure Outcomes. *J Ophthalmol*. 2015;2015:172075.

46. Nahum Y, Busin M. Quadruple procedure for visual rehabilitation of endothelial decompensation following phakic intraocular lens implantation. *Am J Ophthalmol.* déc 2014;158(6):1330-1334.e1.
47. Sæthre M, Krekling ED, Drolsum L. Lower risk of graft dislocation applying organ cultured corneas compared with cold short-term cultured corneas during DSAEK surgery. *Eye (Lond).* avr 2020;34(4):711-6.
48. Chaurasia S, Vaddavalli PK, Ramappa M, Garg P, Sangwan VS. Clinical profile of graft detachment and outcomes of rebubbling after Descemet stripping endothelial keratoplasty. *Br J Ophthalmol.* nov 2011;95(11):1509-12.
49. Mimouni M, Kronschläger M, Ruiss M, Findl O. Intraoperative optical coherence tomography guided corneal sweeping for removal of remnant Interface fluid during ultra-thin Descemet stripping automated endothelial keratoplasty. *BMC Ophthalmol.* 15 avr 2021;21:180.
50. Deng SX, Lee WB, Hammersmith KM, Kuo AN, Li JY, Shen JF, et al. Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: Safety and Outcomes: A Report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology.* févr 2018;125(2):295-310.
51. Liesenborghs I, Schouten JSAG, Berendschot TTJM, Beckers HJM, Nuijts RMMA, Visser N, et al. Risk Factors for the Development of Ocular Hypertension After Keratoplasty: A Systematic Review. *Cornea.* mars 2020;39(3):394-402.
52. Madi S, Leon P, Nahum Y, D'Angelo S, Giannaccare G, Beltz J, et al. Five-Year Outcomes of Ultrathin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty. *Cornea.* sept 2019;38(9):1192-7.
53. Patel SV, Lass JH, Benetz BA, Szczotka-Flynn LB, Cohen NJ, Ayala AR, et al. Postoperative Endothelial Cell Density Is Associated with Late Endothelial Graft Failure after Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty. *Ophthalmology.* août 2019;126(8):1076-83.
54. Lass JH, Benetz BA, Patel SV, Szczotka-Flynn LB, O'Brien R, Ayala AR, et al. Donor, Recipient, and Operative Factors Associated With Increased Endothelial Cell Loss in the Cornea Preservation Time Study. *JAMA Ophthalmology.* févr 2019;137(2):185.
55. Mencucci R, Favuzza E, Marziali E, Cennamo M, Mazzotta C, Lucenteforte E, et al. Ultrathin Descemet stripping automated endothelial keratoplasty versus Descemet membrane endothelial keratoplasty: a fellow-eye comparison. *Eye Vis (Lond).* 6 mai 2020;7:25.
56. Chamberlain W, Lin CC, Austin A, Schubach N, Clover J, McLeod SD, et al. Descemet Endothelial Thickness Comparison Trial: A Randomized Trial Comparing Ultrathin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty with Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Ophthalmology.* 2019;126(1):19-26.
57. Romano V, Pagano L, Gadhvi KA, Coco G, Titley M, Fenech MT, et al. Clinical outcomes of pre-loaded ultra-thin DSAEK and pre-loaded DMEK. *BMJ Open Ophthalmol.* 2020;5(1):e000546.
58. Hirabayashi KE, Chamberlain W, Rose-Nussbaumer J, Austin A, Stell L, Lin CC. Corneal Light Scatter After Ultrathin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty Versus Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty in Descemet Endothelial Thickness Comparison Trial: A Randomized Controlled Trial. *Cornea.* 14 janv 2020;
59. Busin M, Albé E. Does thickness matter: ultrathin Descemet stripping automated endothelial keratoplasty. *Curr Opin Ophthalmol.* juill 2014;25(4):312-8.

60. Dickman MM, Kruit PJ, Remeijer L, van Rooij J, Van der Lelij A, Wijdh RHJ, et al. A Randomized Multicenter Clinical Trial of Ultrathin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (DSAEK) versus DSAEK. *Ophthalmology*. 2016;123(11):2276-84.
61. Droutsas K, Petrelli M, Miltsakakis D, Andreanos K, Karagianni A, Lazaridis A, et al. Visual Outcomes of Ultrathin-Descemet Stripping Endothelial Keratoplasty versus Descemet Stripping Endothelial Keratoplasty. *J Ophthalmol*. 2018;2018:5924058.
62. Durrani AF, Faith SC, Jhanji V. Ultrathin Descemet stripping automated endothelial keratoplasty. *Curr Opin Ophthalmol*. juill 2019;30(4):264-70.
63. Pakravan M, Beni AN, Ghahari E, Varshochian R, Yazdani S, Esfandiari H, et al. The Ocular Hypotensive Efficacy of Topical Fasudil, a Rho-Associated Protein Kinase Inhibitor, in Patients With End-Stage Glaucoma. *American Journal of Therapeutics*. déc 2017;24(6):e676.
64. Koizumi N, Okumura N, Ueno M, Nakagawa H, Hamuro J, Kinoshita S. Rho-Associated Kinase Inhibitor Eye Drop Treatment as a Possible Medical Treatment for Fuchs Corneal Dystrophy. *Cornea*. août 2013;32(8):1167-70.
65. Okumura N, Koizumi N, Kay EP, Ueno M, Sakamoto Y, Nakamura S, et al. The ROCK Inhibitor Eye Drop Accelerates Corneal Endothelium Wound Healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1 avr 2013;54(4):2493-502.
66. Macsai MS, Shiloach M. Use of Topical Rho Kinase Inhibitors in the Treatment of Fuchs Dystrophy After Descemet Stripping Only. *Cornea*. mai 2019;38(5):529-34.
67. Davies E, Pineda R. Corneal Tomography Changes and Refractive Outcomes After Descemet Stripping Without Endothelial Keratoplasty. *Cornea*. juill 2019;38(7):817-9.
68. Huang MJ, Kane S, Dhaliwal DK. Descemetorhexis Without Endothelial Keratoplasty Versus DMEK for Treatment of Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. *Cornea*. déc 2018;37(12):1479-83.
69. Cheung AY, Hou JH, Bedard P, Grimes V, Buckman N, Eslani M, et al. Technique for Preparing Ultrathin and Nanothin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty Tissue. *Cornea*. mai 2018;37(5):661-6.
70. Peh GSL, Ong HS, Adnan K, Ang H-P, Lwin CN, Seah X-Y, et al. Functional Evaluation of Two Corneal Endothelial Cell-Based Therapies: Tissue-Engineered Construct and Cell Injection. *Sci Rep*. 15 avr 2019;9(1):6087.
71. Bartakova A, Kunzevitzky NJ, Goldberg JL. Regenerative Cell Therapy for Corneal Endothelium. *Curr Ophthalmol Rep*. 1 sept 2014;2(3):81-90.

VII. Annexes

A. Liste des abréviations

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

BMT : Banque Multi-Tissus

DCE : Densité Cellulaire Endothéliale

DLEK : Deep Lamellar Endothelial Keratoplasty

DMEK : Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty

DSAEK : Descemet's Automated Stripping Endothelial Keratoplasty

DSEK : Descemet's Stripping Endothelial Keratoplasty

HTO : Hypertonie Oculaire

LASIK : Laser-Assisted In Situ Keratomileusis

OCT : Optical Coherence Tomography

NT-DSAEK : Nanothin- Descemet's Automated Stripping Endothelial Keratoplasty

PMO : Prélèvement Multi-Organes

ROCK : Rho-associated kinases

UT-DSAEK : Ultrathin-Descemet's Automated Stripping Endothelial Keratoplasty

B. Annexe 1 : Procédure de qualification et de validation du greffon cornéen

	DOCUMENT INFORMATIF	Diffusion par :	BMT-PR-003
	Procédure de Qualification et de Validation du Greffon Cornéen	PHU 07 - Biologie - BMT	
	Processus : *Métier BMT\CTL-Contrôles	Page 1 / 3	V. 05

1. OBJET

Cette procédure décrit les conditions de qualification et de validation d'un greffon cornéen prélevé en France par les coordinations partenaires de la BMT.

Les greffons provenant d'autres banques de tissus françaises doivent être validés par les banques d'origine.

2. OBJECTIFS

Définir les critères d'acceptation des contrôles in-process de qualification d'un greffon cornéen et le contrôle final avant validation et pour distribution sur un centre greffeur ou cession à une autre banque de tissus.

3. DOMAINE D'APPLICATION

Le(s) secteur(s) concerné(s) est (sont) :
PHU 07 - Biologie\BMT.

Ce document concerne :

- les greffons cornéens
- les techniciens habilités de la BMT
- La Personne Responsable Contrôle Qualité ou son suppléant
- La Personne Responsable de la BMT et les médecins référents suppléants habilités à valider les greffons cornéens.

4. DESCRIPTION

4.1 Constitution du dossier de greffon

La constitution du dossier de greffon est sous la responsabilité des techniciens de la BMT.

Le dossier est constitué au fur et à mesure des étapes de réception, stockage, contrôles, préparation, (changements de milieu, lecture endothélium, ...), décrites dans la procédure générale de préparation des greffons cornéens à la BMT ([BMT-PR-007](#)).

L'imprimé « Contrôle dossier greffon cornéen » [BMT-IM-009](#) permet de vérifier la présence des éléments nécessaires à la validation du dossier :

- Fiche de contrôle à réception [BMT-IM-022](#), attestant la présence des éléments transmis par la coordination des prélèvements
- Résultats des contrôles de qualification biologique du donneur (conformément à la procédure [BMT-PR-018](#)), une copie anonymisée sera jointe à la fiche descriptive
- Résultats des contrôles microbiologiques de la préparation et au minimum les résultats des contrôles suivants :
 - o Milieu de collecte :
 - bactériologie à 8 jours
 - parasitologie à 7 jours
 - o Milieu de conservation :
 - Bactériologie à 48H.
- Fiche descriptive du greffon [BMT-IM-035](#)

Toute anomalie ou non-conformité sera mentionnée dans le dossier de greffon et peut faire l'objet d'une FEI ([BMT-PR-011](#)).

L'ensemble de ces documents doit être cohérent et comporter systématiquement le même Numéro de Don et de Greffon.

4.2 Validation d'un greffon cornéen

Lorsque tous les éléments sont réunis, et selon les spécifications nécessaires pour autoriser son utilisation thérapeutique chaque dossier est validé avant distribution ou cession, par :

- la Personne Responsable Contrôle Qualité ou son suppléant, pour conformité (ou non) en signant le « Contrôle dossier procédé » [BMT-IM-009](#).
- la Personne Responsable de la BMT ou l'un de ses suppléants (si contrôle qualité conforme) en signant la « Fiche descriptive du greffon ». L'original de la « Fiche descriptive du greffon » est destiné au prescripteur, une copie étant conservée dans le dossier BMT.

Le personnel de la BMT saisit ensuite cette validation dans MO Tissus.

REDACTEUR(S)	VERIFICATEUR(S)	APPROBATEUR(S)	Date d'application
Nathalie LARDENCOIS (Technicien de laboratoire - PHU 07 - Biologie\BMT)	10/06/2020, 10/06/2020	Marc BAUD HUIN ([Responsable] - PHU 07 - Biologie\BMT)	17/06/2020

5. LOGIGRAMME DECISIONNEL DE QUALIFICATION ET D'ATTRIBUTION DES GREFFONS CORNEENS

5.1 Examen visuel = Descriptif macroscopique :

Objectif : recherche d'anomalies majeures de taille et de transparence. Toute anomalie majeure interdit une validation VK.

- Caractéristiques de la partie antérieure : Transparence, opacification, gérontoxon, plaie (sans atteinte stromale)
 - ↳ Si le défaut apparaît dans la partie centrale ($\varnothing < 8$ mm), le greffon peut être validé en VEK ou VLC.
 - ↳ Si le défaut apparaît plus en périphérie ($\varnothing \geq 8$ mm), le greffon peut être validé en VK, VLA, VLB, VLC ou VEK, selon les autres paramètres, mais suppose une restriction d'utilisation chirurgicale qui doit figurer sur la fiche de validation.
- Taille de la collerette : la taille détermine l'utilisation d'une chambre antérieure artificielle pour la préparation de la cornée pour la technique de greffe
 - ↳ Une cornée prélevée dont le diamètre est supérieur ou égal à 16 mm peut être validée sans restriction (suivant la qualité des autres paramètres)
 - ↳ Une cornée prélevée dont le diamètre est supérieur à 12mm et inférieur à 16 mm suppose une restriction d'utilisation chirurgicale; celle-ci doit donc figurer sur la fiche de validation et sur le document transmis au chirurgien greffeur.

5.2 Examen au microscope

- Qualité de la dilatation :
 - ↳ Si la dilatation est insuffisante, le contrôle peut être reporté au lendemain ou de quelques jours.
 - ↳ Si, lors de cette deuxième tentative, la dilatation n'est toujours pas bonne, soit le greffon est détruit, soit il peut être mis en attente de validation en VL pour greffe bouchon, dans le cas où un tel besoin existe.
- La mosaïque endothéliale non dystrophique (dystrophique : absence de forme hexagonale) peut être régulière (taille des cellules uniforme) ou irrégulière (taille des cellules hétérogène).

5.3 Antécédents du donneur

Certaines données et antécédents du donneur peuvent orienter la qualification du greffon et son acceptation par le greffeur. Comme par exemple :

- Age
Il faut privilégier les cornées de donneurs âgés de plus de 50 ans pour une greffe endothéliale DMEK.
- Antécédents chirurgicaux de la cornée
Certains antécédents ne permettent pas une greffe endothéliale DMEK, risque de déchirure du greffon (kératotomie radiaire, cataracte ...)
- Diabète
Il est fortement conseillé de proscrire les cornées issues de diabète de type II pour une greffe endothéliale DMEK

5.4 Dénomination des greffons

VEKD = Cornée prédécoupée, validation pour endothélio-kératoplastie.

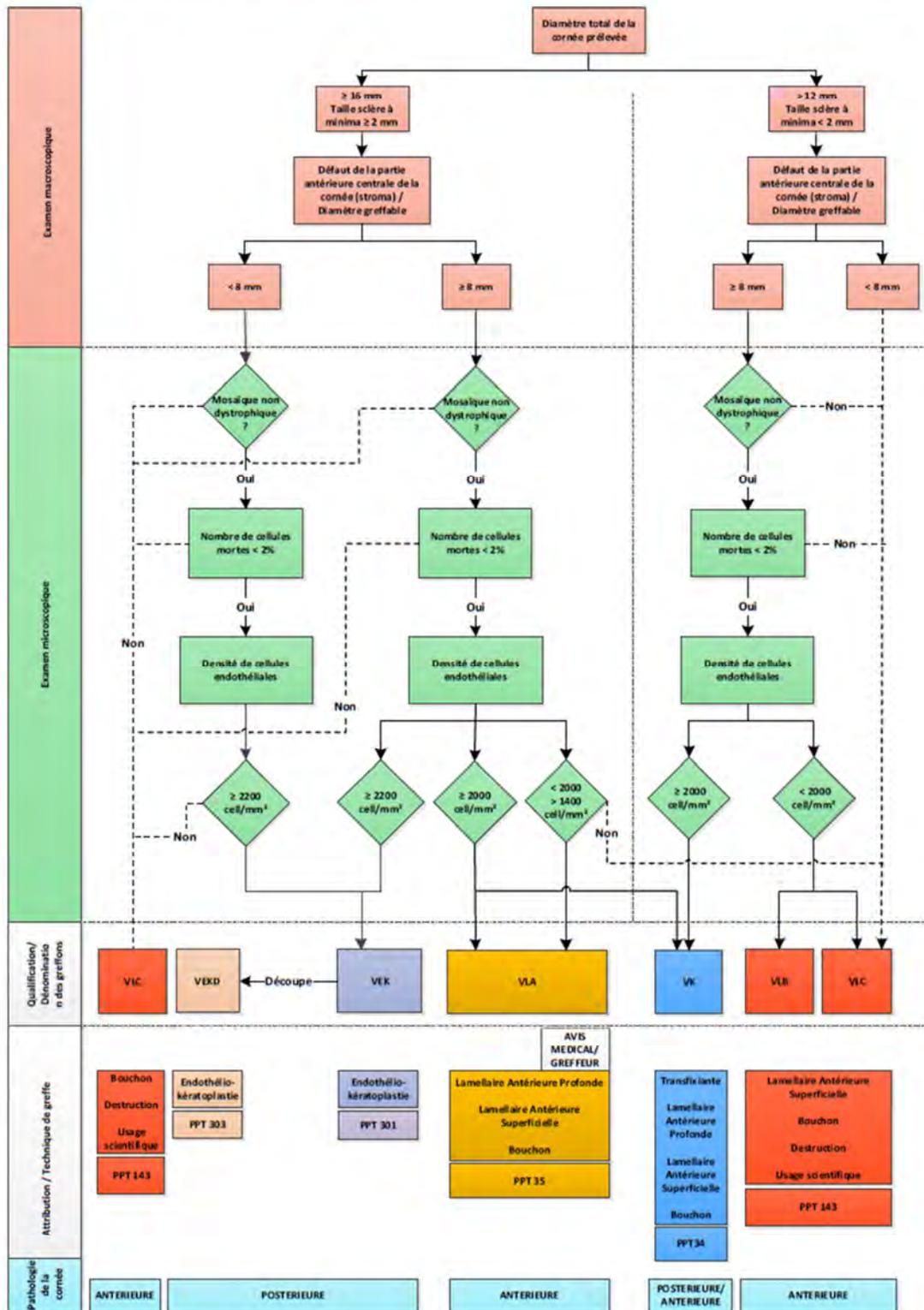
VEK = Validation pour endothélio-kératoplastie ; une validation VEK autorise aussi une utilisation pour greffe bouchon.

VK = Validation pour greffe transfixiante; une validation VK autorise aussi une utilisation pour endothélio-kératoplastie (si diamètre cornée ≥ 16 mm), lamellaire antérieure profonde et superficielle et une greffe bouchon.

VLA : Validation pour greffe lamellaire antérieure profonde ; une validation VLA autorise aussi une utilisation pour greffe lamellaire antérieure superficielle et bouchon.

VLB : Validation pour greffe lamellaire antérieure superficielle ; une validation VLB autorise aussi une utilisation pour greffe bouchon.

VLC : Validation pour greffe bouchon.



C. Annexe 2 : Découpe de Greffons Cornéens pour Greffes Endothéliales

 CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE NANTES	MODE OPERATOIRE Découpe de Greffons Cornéens pour Greffes Endothéliales	Diffusion par : PHU 07 - Biologie - BMT Page 1 / 9	BMT-MO-023 V. 04
Processus : *Métier BMT\PRD-Production			

1. OBJECTIFS

Modalités de préparation des greffons cornéens pour Kératoplastie Lamellaire Postérieure ou Endothélio-Kératoplastie.

2. DOMAINE D'APPLICATION

Le(s) secteur(s) concerné(s) est(sont) :
 PHU 07 - Biologie\BMT.

Ce document concerne les techniciens habilités de la BMT

3. DESCRIPTION

Légende : Les manipulations surlignées en gris peuvent être faites par un deuxième opérateur.
 Les manipulations surlignées en vert indiquent l'ouverture ou la fermeture de la perfusion.

QUAND	OPERATION	Où?	QUI ?	INFORMATION
Phase préparatoire	<ul style="list-style-type: none"> • Sortir de l'étuve les flacons des cornées mises en déturgescence et affectées pour découpe ☛ Afin d'assurer l'étanchéité sur la chambre antérieure artificielle, les greffons cornéens doivent avoir une scièrè régulière d'au moins 2 mm. Contrôler visuellement : Si le milieu est trouble ou si l'indicateur coloré a viré, ce greffon ne sera pas manipulé et sera détruit Décontaminer la surface du matériel entrant (sauf conditionnements papier) notamment le bouchon des flacons contenant la cornée et les déposer dans le passe-plat. Remarque : En cas de perforation d'une cornée au moment de la découpe ou en cas de demande en urgence d'un chirurgien greffeur, on pourra être amené à utiliser un greffon mis en déturgescence à minima 12 heures avant l'acte de découpe, sachant que l'optimum est 24 heures.	Zone de conservation	Technicien	Détergent-Désinfectant prêt à l'emploi Chiffonnette à usage unique

QUAND	OPERATION	Où ?	QUI ?	INFORMATION
Phase préparatoire	<ul style="list-style-type: none"> • Vérifier que les produits nécessaires sont disponibles soit en ZAC, soit placés dans le passe-plat : <ul style="list-style-type: none"> - 1 greffon cornéen à découper (en milieu de déturgescence) - Matériel et réactifs de la liste spécifique - 6 paires de gants à minima - Gommets jaunes avec le sigle « >< » - Etiquettes oranges « A DETRIURE » - Console SLC et son bloc pédales - Moteur de découpe - Sonde pachymètre - Pachymètre • Préparer une poubelle de carton DASRI 	Zone de conservation	Technicien	<p>BMT-DI-060</p> <p>BMT-PR-001</p> <p>BMT-EXT-009</p> <p>La poubelle carton reste en salle de conservation</p>
Entrée en zone contrôlée	<ul style="list-style-type: none"> • Habillage • Entrée dans la ZAC • Noter la pression de la salle relevée sur la KIMO du SAS et la valeur du différentiel de la salle • Vérifier la dernière date de nettoyage du PSM 	SAS	Technicien	<p>BMT-MO-003</p> <p>BMT-DI-065</p> <p>BMT-IM-052</p>
Préparation manipulation	<ul style="list-style-type: none"> • Allumer le PSM • Réaliser une désinfection du PSM puis des surfaces (paillasses, clavier, souris...) • Laisser en contact 3 mn • Préparer le sac plastique jaune DASRI • Allumer l'ordinateur et ouvrir le logiciel MO-Tissus • Récupérer, décontaminer le matériel sortant du passe-plat et le déposer sur la paillasse. • Préparer le Micro Kératome <ul style="list-style-type: none"> - Brancher la console SLC avec le cordon d'alimentation - Brancher le câble du bloc pédales sur la console SLC, au niveau du trou inférieur (anneau noir), attention au repère - Mettre la console SLC sur « ON » - Appuyer en continu sur la pédale VAC - Relâcher après le Bip-Bip - S'assurer que les LEDs de la console soient allumées • Préparer la solution BSS 500 ml 	Salle de préparation	Technicien	<p>BMT-MO-019 et BMT-IM-052</p> <p>Alcool stérile + Compresses stériles</p> <p>Collecteur d'aiguilles</p> <p>Alcool stérile</p> <p>Manuel utilisateur</p>

QUAND	OPERATION	Où ?	QUI ?	INFORMATION
Préparation manipulation	<ul style="list-style-type: none"> • Déposer l'ensemble du matériel nécessaire pour la découpe d'une cornée dans le PSM (sur un côté) • Ouvrir l'emballage du champ 1 • Prendre le champ par un coin extérieur et le déplier en le prenant par les deux parties extérieures. Le champ est placé à droite du plan du PSM. • Ouvrir et déposer sur le champ 1 : <ul style="list-style-type: none"> - compresses stériles - 4 cupules - 1 flacon BSS (20ml) - 1 aiguille (à adapter sur le flacon de BSS 20 ml) - 1 pochette de micro-éponges (dans une cupule) - 1 seringue de solution visco-élastique (dans une cupule) • Positionner une 5^{ème} cupule en dehors du champ 1 pour l'ampoule d'eau stérile • Vérifier que l'embout du moteur soit rétractile en appuyant dessus avec le doigt et le poser sur le champ 1 après désinfection • Brancher le câble de la sonde au pachymètre • Positionner la sonde préalablement désinfectée avec une compresse imbibée d'alcool sur le champ 1 ⚡ Temps de contact 3 minutes minimum • Allumer le pachymètre • Ouvrir l'emballage des champs 2 et 3 et les installer • Ouvrir et déposer sur le champ les réactifs et l'ensemble du petit matériel nécessaires à la découpe d'une cornée : <ul style="list-style-type: none"> - 2 cupules - 1 pince à usage unique - 1 bouchon inviolable stérile de flacon Eurobio pour Coméajet® - 1 set d'infusion (uniquement lors de la 1^{ère} découpe) • Ouvrir et déposer le câble stérile (pour la 1^{ère} découpe, puis si applicable) • Ouvrir l'emballage extérieur du coffret « matériel stérile GEBAUER » • Ouvrir l'emballage secondaire et déposer le coffret « matériel stérile GEBAUER » sur le champ 3 • Changer de gants stériles • Déposer les 10 éléments Gebauer stériles nécessaires à la découpe sur le champ 2 <ul style="list-style-type: none"> - Prendre la « Base » - Visser la « Douille de la chambre » sur la base - Visser le set d'infusion à la chambre (entrée perfusion vers l'arrière) (clamp fermé) 	PSM	Technicien	<p>Les sachets contenant du matériel stérile doivent être ouverts sans que les parois du sachet entrent en contact avec le champ stérile ; le contenu doit se déposer sur le champ et ne pas être manipulé avant d'avoir changé de gants stériles, pour commencer la technique</p> <p>BMT-MO-03Z</p> <p>BMT-EXT-009 Nettoyage/ Décontamination</p> <p>L'emballage secondaire contenant le matériel stérile doit être ouvert sans qu'il entre en contact avec le champ stérile</p>

QUAND	OPERATION	Où?	QUI ?	INFORMATION
<p>Préparation manipulation Installation</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Installer le set d'infusion au niveau du flacon BSS (pour la 1^{ère} découpe) • Accrocher cette solution sur le pied de perfusion (pour la 1^{ère} découpe) • Changer de gants stériles ou 2^{ème} opérateur avec gants stériles • Amorcer la perfusion (ouvrir l'irrigation et purger la ligne) •  Attention : le niveau de l'ampoule du set doit se trouver à 95 cm du plan) • Installer le moteur dans la pièce à main bleue. Prendre le moteur par son extrémité pointue et le laisser glisser dans la pièce à main. • Vérifier qu'il soit bien positionné (Entendre le Clic !) • Déposer la pièce à main équipée du moteur sur le champ 2 • Changer de gants stériles ou 2^{ème} opérateur avec gants stériles • Connecter le câble stérile à ce « moteur » en tenant compte du repère • Connecter l'autre extrémité de ce câble à la console SLC au niveau du trou repéré par un anneau vert en tenant compte du repère • Appuyer sur la pédale FWD jusqu'à sa position finale notifiée parle Bip-bip (le moteur se déplace, l'embout tourne). • Appuyer en continu sur la pédale REV et relâcher après le Bip-Bip (retour à la position de départ). 	<p>PSM</p>	<p>Technicien</p>	<p> Attention : le moteur est très fragile</p>
<p>Enregistrement MO-Tissus</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Vérifier le code barre du flacon de la corée avec MO-Tissus : • « Gérer un greffon » • Scanner l'étiquette du flacon • Cliquer sur le bouton vert de « Manip. » • Choisir l'onglet « Pré découpe » • Renseigner la date, l'heure, le(s) nom de(s) opérateur(s) et la date du dernier nettoyage du PSM. • Renseigner les différents items, notamment les numéros de lots et péremptions des réactifs et consommables qui ont été utilisés 	<p>Salle de préparation</p>	<p>Technicien</p>	

QUAND	OPERATION	Où?	QUI ?	INFORMATION
<p>Manipulation Installation</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Déposer le flacon de déturgescence dans le PSM à côté du champ 3 • Dévisser le bouchon • Verser le contenu du flacon dans une cupule et reposer le flacon vide à côté du champ • Déposer le bouchon ouverture vers le haut à côté du champ • Changer de gants stériles • Transvaser la totalité du milieu de déturgescence dans une cupule pour isoler la cornée • Remettre le liquide de déturgescence dans le flacon initial resté à côté du champ • Changer de gants stériles <p>△ Pour les manipulations à venir, s'aider régulièrement du document informatif plastifié affiché le long de la paroi transparente du PSM :</p> <p>« Points importants de vérification lors d'une découpe de cornée »</p> <ul style="list-style-type: none"> • Installation de la cornée <ul style="list-style-type: none"> - Prendre la cornée avec la pince et la rincer avec le BSS (20ml) - Mettre de la solution visco-élastique sur l'endothélium (côté concave de la cornée) - Ouvrir le clamp du set d'infusion à moitié et placer la cornée face concave sur la chambre artificielle, en la centrant. <p>※ Attention à ne pas laisser de bulles sous la cornée</p> <ul style="list-style-type: none"> - Fermer le set d'infusion - Positionner l'anneau intérieur suivant le repère - Visser l'écrou de verrouillage et s'assurer qu'il soit bien serré - Ouvrir à fond le set d'infusion - Refermer le set d'infusion - Essuyer la cornée avec une micro-éponge (en vue de retirer l'épithélium avant la pachymétrie) - Ouvrir à fond le set d'infusion - Mettre du BSS sur la cornée. <ul style="list-style-type: none"> • Rincer la sonde à l'eau distillée stérile, l'essuyer avec une compresse stérile posée sur le champ 1 • Mesurer l'épaisseur de la cornée et imprimer le ticket de mesures • Désinfecter la sonde avec une compresse imbibée d'alcool et la repositionner sur le champ 1 • Choisir la tête de découpe • Déposer stérilement la tête choisie sur le champ de manipulation 	<p>PSM</p>	<p>Technicien</p>	<p>BMT-DI-070</p> <p>Manuel utilisation pachymètre BMT-EXT-009 Nettoyage/ Décontamination BMT-DI-059 Guide choix des têtes de découpe</p>

QUAND	OPERATION	Où?	QUI ?	INFORMATION
Enregistrement MO-Tissus	<ul style="list-style-type: none"> • Renseigner l'épaisseur initiale de la cornée et la taille de tête de découpe ainsi que le numéro de lot et préemption de la tête de découpe • Renseigner le fichier « Gestion stock découpe » (tête + set d'infusion) 	Salle de préparation	Technicien	
Manipulation Découpe du greffon	<ul style="list-style-type: none"> • Changer de gants stériles • Retirer l'excédent de BSS en inclinant la chambre puis à l'aide d'une lancette absorbante • Positionner la tête de guidage • Glisser la lentille aplanante sur les rails et la centrer • Visser la tête de guidage jusqu'aux repères 9-10 mm de la lentille aplanante • Retirer la lentille aplanante • Installer la tête de découpe sur le moteur (Clic) • Déposer du BSS de chaque côté et sur la lame de la tête de découpe pour tester le fonctionnement de la tête. • Tenir la pièce à main bleue du moteur à l'envers, verticalement vers le bas, pour visualiser la lame de la tête de découpe • Appuyer sur la pédale FWD jusqu'au Bip-Bip pour s'assurer de l'oscillation de la lame (bruit) • Appuyer en continu sur la pédale REV, relâcher après le Bip-Bip (retour à la position de départ) • Inonder la cornée de BSS • Revérifier l'écrou de serrage • Refermer le set d'infusion • Placer le support du moteur sur le rebord de la base, face à l'entrée de la tête de guidage • Encliquer le moteur sur la tête de guidage • Remettre du BSS sur la cornée • Appuyer <u>en continu</u> sur la pédale FWD jusqu'au Bip-Bip (découpe) •  Maintenir le câble du moteur pour un avancement rectiligne • Appuyer <u>en continu</u> sur la pédale REV jusqu'au Bip-Bip (retour à la position de départ) 	PSM	Technicien	

		MODE OPERATOIRE			Diffusion par : PHU 07 - Biologie - BMT Page 7 / 9	BMT-MO-023 V. 04
		Découpe de Greffons Cornéens pour Greffes Endothéliales Processus : "Métier BMT/PRD-Production"				
QUAND	OPERATION	Où?	QUI ?	INFORMATION		
Manipulation Retour/Mise du greffon en milieu de déturgescence	<ul style="list-style-type: none"> Retirer le moteur encliqué sur la tête de guidage, en positionnant la clé à plat Retirer le capot de la cornée au niveau de la tête de découpe et le déposer dans une cupule Poser le moteur et sa pièce à main sur le champ Retirer le support du moteur Dévisser et retirer la tête de guidage Dévisser l'écrou de verrouillage Ouvrir doucement la perfusion (<i>perfusion légèrement ouverte, afin d'éviter l'effondrement du greffon</i>) Soulever délicatement l'anneau intérieur Refermer la perfusion Retirer la cornée restée plaquée au fond de l'anneau intérieur Déposer la cornée dans la cupule et remettre le capot Dévisser le set d'infusion au niveau de la chambre (le positionner sur le champ 1 en cas de nouvelle découpe) Déconnecter le câble côté moteur (le positionner sur le champ 1 en cas de réutilisation pour une nouvelle découpe) Remettre la cornée et son capot dans le milieu de déturgescence initial ⚠ Veiller à déposer les 2 parties attenantes du greffon délicatement, perpendiculairement à la surface du milieu, en l'accompagnant à l'intérieur du flacon de façon à ne pas désolidariser les deux parties. Fermer le flacon avec le nouveau bouchon inviolable Remarque: En cas de perforation, rechercher un autre greffon compatible.	PSM	Technicien			
Manipulation Finalisation	<ul style="list-style-type: none"> Sortir le flacon de déturgescence du PSM Mettre une gomme jaune avec le sigle « >< » sur l'étiquette rose « VEK » du flacon où sont déjà indiquées les dates de mise en déturgescence et de péremption En cas de greffon perforé, à détruire, apposer une étiquette orange « A DETRUIRE »	Salle de préparation	Technicien	BMT-PR-001 BMT-MO-024		
Enregistrement MO-Tissus	<ul style="list-style-type: none"> Compléter la saisie dans MO-Tissus. Editer la fiche de manipulation Editer la fiche descriptive 	Salle de préparation	Technicien			
REDACTEUR(S) Nathalie LARDENOIS (Technicien de laboratoire - PHU 07 - Biologie/BMT)		VERIFICATEUR(S) Virginie FERRE (Responsable contrôle qualité - PHU 07 - Biologie/BMT)	APPROBATEUR(S) Marc BAUD HUIN (Responsable - PHU 07 - Biologie/BMT)		Date d'application 15/05/2020	

MODE OPERATOIRE		Diffusion par :		BMT-MO-023
Découpe de Greffons Cornéens pour Greffes Endothéliales		PHU 07 - Biologie - BMT		
Processus : *Métier BMT/PRD-Production		Page 8 / 9		V. 04
INVENTAIRE DE TÂCHES		Où ?		INFORMATION
QUAND	OPERATION	QUI ?		
<p>Manipulation Démontage du système</p>	<ul style="list-style-type: none"> Retirer la tête de découpe du moteur (pouce et index sur la partie plastique afin de ne pas se couper) Déclipser le moteur de la pièce à main bleue en appuyant sur le bouton à l'arrière à la base de l'étui et le déposer à l'emplacement dédié sur le champ 1, en cas de nouvelle découpe Démonter la chambre antérieure artificielle Remettre les 10 éléments Gebauer dans le panier de découpe initial Déposer dans le passe-plat le matériel à décontaminer pour stérilisation, ainsi que le flacon de détergescence et les étiquettes de traçabilité des lots Replier les champs 2 et 3, jeter la totalité des consommables dans le sac plastique jaune ou le collecteur d'aiguille Effectuer les mêmes opérations en reprenant à ☆ dans le cas d'une autre découpe 	<p>Technicien</p> <p style="text-align: center;">9231-MO-140</p>		
<p>Arrêt des manipulations</p>	<ul style="list-style-type: none"> Procéder à l'entretien du moteur après la dernière manipulation Déconnecter le câble des 2 côtés et le mettre dans le passe-plat Appuyer en continu sur la pédale VAC Nettoyer la sonde pachymètre avec une compresse imbibée d'alcool stérile (*Nettoyage javel après la dernière découpe de la semaine) Mettre la console SLC sur « OFF » Débrancher le câble pédale Débrancher la console 	<p>Technicien</p> <p style="text-align: center;">Salle de préparation</p>	<p style="text-align: center;">BMT-MO-037</p> <p style="text-align: center;">BMT-EXT-009</p>	
<p>Clôture des manipulations techniques</p>	<ul style="list-style-type: none"> Réaliser une détergescence-désinfection du PSM puis des surfaces (paillasses, clavier, souris...) Documenter le nettoyage sur l'imprimé Sortir le sac jaune DASRI par le SAS, il sera déposé dans la poubelle carton DASRI en zone de conservation 	<p>Technicien</p> <p style="text-align: center;">Salle de préparation</p>	<p style="text-align: center;">BMT-MO-019</p> <p style="text-align: center;">Détergent-désinfectant (DD) stérile prêt à l'emploi + Compresses stériles</p> <p style="text-align: center;">BMT-IM-052</p>	
REDACTEUR(S)	VERIFICATEUR(S)	APPROBATEUR(S)	Date d'application	
Nathalie LARDENOIS (Technicien de laboratoire - PHU 07 - Biologie/BMT)	Virginie FERRE (Responsable contrôle qualité - PHU 07 - Biologie/BMT)	Marc BAUD HUIJN (Responsable - PHU 07 - Biologie/BMT)	15/05/2020	

		MODE OPERATOIRE Découpe de Greffons Cornéens pour Greffes Endothéliales		Diffusion par : PHU 07 - Biologie - BMT Page 9 / 9		BMT-MO-023 V. 04	
Processus : *Métier BMTIPRD-Production							
QUAND	OPERATION	Où?	QUI ?	INFORMATION			
Sortie de zone contrôlée Retour en zone de conservation BMT	<ul style="list-style-type: none"> Déshabillage Retour en zone de conservation Vider le passe-plat Déposer le(s) greffon(s) découpé(s) et remis en milieu de déturgescence dans l'étuve « En attente de distribution », niveau 1(VL-VEKD) Désinfecter le passe-plat Si un/des greffon(s) est/sont à détruire, saisir dans MO Tissus le changement de statut « A détruire » et déposer le(s) greffon(s) à détruire dans le réfrigérateur de destruction. Nettoyer et décontaminer le matériel et transmettre à la stérilisation le matériel stérilisable. 	SAS Zone de conservation	Technicien Technicien	BMT-MO-003 BMT-DI-065 BMT-PR-012 Détergent-désinfectant prêt à l'emploi Chiffonnette à usage unique 9231-MO-140			
REDACTEUR(S)	VERIFICATEUR(S)	APPROBATEUR(S)		Date d'application			
Nathalie LARDENOIS (Technicien de laboratoire - PHU 07 - Biologie/BMT)	Virginie FERRE (Responsable contrôle qualité - PHU 07 - Biologie/BMT)	Marc BAUD HUJIN (Responsable - PHU 07 - Biologie/BMT)		15/05/2020			

Titre de Thèse : Facteurs prédictifs d'échec ou de réussite des greffes de cornée endothéliales UT-DSAEEK prédécoupées en banque multi-tissus

RESUME

Introduction : Les principaux facteurs de risque d'échec des greffes transfixiantes de cornée sont bien connus dans la littérature. Cependant, peu d'études se sont intéressées aux caractéristiques du donneur ainsi que des données plus précises sur les greffes endothéliales.

Matériels et Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique au CHU de Nantes, qui avait pour but de rechercher des facteurs prédictifs d'échec ou de réussite de greffe à 1 an dans le cadre d'UT-DSAEEK préparés en banque multi-tissus entre mai 2016 et octobre 2018. Le critère de jugement principal était le succès ou l'échec à 12 mois de la greffe.

Résultats : Parmi les 105 greffons inclus, on retrouvait 93 succès et 12 échecs à 12 mois. Le taux d'échec était plus important en 2016 par rapport à 2017 et 2018. Les caractéristiques associées avec un taux d'échec le plus important étaient : prélèvements de cornée sur cœur arrêté Maastricht 2 et 3, donneur âgé, durée plus courte entre le prélèvement et la réalisation de la greffe, faible densité cellulaire endothéliale, perte cellulaire endothéliale pré-greffe importante, regreffe endothéliale pour dystrophie de Fuchs, hypertonie oculaire, antécédent de greffe de cornée.

Conclusion : Bien que non significatif, la regreffe précoce dans les 12 mois était le principal facteur d'échec de greffe. Cependant, la faible incidence des échecs de greffe en limite l'interprétation.

MOTS-CLES

UT-DSAEEK ; Banque multi-tissus ; Kératoplastie endothéliale ; Echec de greffe