

## **LA GREFFE DE CORNEE du prélèvement à la distribution**

Sophie GLEIZE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> BANQUE FRANCAISE DES YEUX, 172 rue de Charonne – 75011 PARIS

### **1. PRESENTATION DE LA BFY**

La Banque Française des Yeux est une association loi 1901, reconnue d'utilité publique et qui a pour vocation de lutter contre la cécité.

Pour cela, elle a pour mission de prélever, conserver, contrôler et distribuer des cornées d'origine humaine destinées à des greffes chez des patients malvoyants. Elle soutient la recherche en ophtalmologie et communique en faveur du don de cornée.

La cornée, décrite comme une petite fenêtre ronde à l'avant de l'œil, doit être parfaitement transparente afin de transmettre la lumière et les images à notre rétine située au fond de l'œil.

Toute opacité ou déformation importante de la cornée va entraîner une baisse de vision pouvant aboutir à la cécité.

Dans certaines situations cliniques, seul le remplacement de la cornée, en totalité ou partiellement, permet aux patients de recouvrer la vue. On parle de greffe de cornée ou de kératoplastie.



**Figure 1 – Vision avant et après greffe <sup>1</sup>**

### **2. LE PRELEVEMENT DES CORNEES**

Le prélèvement de cornée est un acte chirurgical réalisé par un médecin formé à ce geste et ne peut se faire que dans des centres hospitaliers autorisés à cette activité.

#### **2.1. CONTEXTE REGLEMENTAIRE**

##### **2.1.1. La loi bioéthique**

En France, depuis les lois bioéthiques de 1994, révisées en 2017, la loi indique que nous sommes tous donneurs d'organes et de tissus, sauf si nous en avons exprimé le refus sur le registre national des refus, ou auprès de nos proches.

Il s'agit du principe de consentement présumé.

Seule la cornée est prélevée.

Les règles du don de cornée sont les mêmes que celles du don d'organes et des autres tissus, à savoir :

- la garantie de l'anonymat du donneur et du receveur,
- la gratuité du don,
- le consentement présumé.

### **2.1.2. Les règles de bonnes pratiques de prélèvement <sup>2</sup>**

*« En application de la loi bioéthique des règles de bonnes pratiques de prélèvement de tissus font l'objet d'un décret publié au journal officiel et décrivent de façon très précise dans quelles conditions doit se faire un prélèvement.*

*Le prélèvement de tissus est un acte chirurgical effectué dans les établissements de santé autorisés à cet effet. Le prélèvement est effectué dans le respect des conditions médico-techniques et sanitaires visant à assurer la qualité et la sécurité, clairement définies dans le cadre des "bonnes pratiques de prélèvement des tissus". Les établissements de santé devront respecter les conditions ainsi définies lorsqu'ils auront obtenu l'autorisation de prélèvement accordée par l'autorité administrative. »*

## **2.2. ORGANISATION DE L'ACTIVITE DE PRELEVEMENT**

### **2.2.1 : La direction de l'hôpital**

L'hôpital ne peut être autorisé à cette activité que lorsque la direction s'est engagée dans les démarches suivantes :

- faire la demande à l'autorité administrative de l'autorisation de prélèvement pour son établissement ;
- identifier un ou plusieurs locaux de prélèvement dans son établissement et les personnes qui en ont la responsabilité ;
- désigner une ou plusieurs personnes pour assurer la fonction de coordination hospitalière des prélèvements ;
- établir des conventions afin de permettre à des médecins préleveurs n'appartenant pas à son établissement de réaliser des prélèvements dans son établissement ;
- s'assurer que les moyens en matériel, locaux et personnel nécessaires à cette activité sont conformes aux dispositions réglementaires relatives aux conditions d'autorisation des établissements de santé effectuant des prélèvements et aux règles de bonnes pratiques de prélèvement ;
- définir avec les instances compétentes de l'établissement le système de gardes ou d'astreintes opérationnelles de prélèvement ;
- mettre en place l'organisation générale du transport des greffons.

### **2.2.2 : la coordination hospitalière**

La coordination hospitalière est assurée par un(e) infirmier(ère) spécialisé(e) ou non, ou un cadre infirmier. Elle assure sa fonction sous l'autorité du directeur de l'établissement. Lors des prélèvements, elle travaille en liaison avec le coordonnateur interrégional de l'agence de la Biomédecine et le médecin préleveur.

Placée sous la responsabilité du médecin préleveur, la coordination hospitalière assure les

opérations suivantes pour chaque prélèvement :

- elle effectue les démarches administratives et juridiques ;
- elle interroge le registre national du refus
- elle contacte les familles, les accueille dans un lieu approprié et concourt au recueil du témoignage pour vérifier la non-opposition du défunt au prélèvement ;
- elle s'assure que le prélèvement de sang pour la détermination des marqueurs biologiques d'infection a été effectué et elle récupère les résultats de ces marqueurs ;
- elle communique au médecin préleveur tous les éléments du dossier médical ;
- elle remplit une fiche de prélèvement où sont indiqués le numéro du donneur, le type de prélèvement, la date, l'heure, le nom du préleveur, les renseignements médicaux, l'organisme de transport et le code de l'organisme de conservation.

En outre, dans le cadre de ses missions :

- elle participe au recensement des donneurs ;
- elle participe à l'activité d'évaluation du site, conformément aux dispositions réglementaires relatives aux conditions d'autorisation des établissements de santé effectuant des prélèvements.

### **2.3. LA SELECTION CLINIQUE DU DONNEUR**

#### **Données générales**

- **Age** : de 7 à 90 ans
- **Facteurs de risques comportementaux dans les 12 derniers mois vis-à-vis VIH, HTLV, VHB, VHC**
- **Décès de cause inconnue**

#### **Pathologies neurologiques**

- **Maladie de Creutzfeldt – Jacob ou autre encéphalopathie spongiforme subaiguë**
- **Autres troubles neurologiques dégénératifs**

#### **Pathologies infectieuses**

#### **Pathologies oculaires**

#### **Pathologies cancéreuses**

### **2.4. L'ACTE CHIRURGICAL DU PRELEVEMENT**

#### **2.4.1 : le local de prélèvement**

Le local affecté à l'activité de prélèvement de tissus sur donneur décédé doit présenter des conditions réglementaires propres à garantir l'hygiène, la sécurité et le respect du corps humain

Ce local doit être équipé de manière adaptée aux gestes à effectuer et doit permettre un accès à un bac de lavage avec une arrivée d'eau pour le lavage des mains, une table de travail pour le corps, et permettre l'élimination des déchets dans les conditions requises pour les établissements de santé.

- Point d'eau pour le lavage des mains → système manœuvrable sans robinet manuel
- Si possible sol et murs lisses

- Table pour déposer le corps
- Table pour ranger le matériel nécessaire au prélèvement
- Système d'évacuation des déchets
- Scialytique
- Entretien régulier



Figure 2 – salle de prélèvement <sup>3</sup>

#### 2.4.2 : le médecin préleveur

Les personnes habilitées à prélever les tissus sont des médecins. Il peut s'agir de médecins qualifiés, ou de médecins en formation de spécialité placés sous la responsabilité d'un médecin qualifié.



Figure 3 – médecin préleveur <sup>4</sup>



Figure 4 – flacon de prélèvement <sup>5</sup>

#### 2.4.3 : le prélèvement

Le matériel de prélèvement des tissus est un matériel chirurgical spécifique à l'explantation de chaque type de tissu et un matériel de restauration tégumentaire adapté. Il est stérile et jetable



Figure 5 – Matériel de prélèvement <sup>6</sup>



Figure 6 – cornée après prélèvement <sup>7</sup>

Une fois prélevée, les cornées sont déposées dans un milieu de prélèvement et transportées vers la banque de cornées dans les meilleurs délais.

### 3. LA BANQUE DE CORNEES

#### 3.1. LE CONTEXTE REGLEMENTAIRE

- Décision du 27 octobre 2010 définissant les règles de bonnes pratiques relatives à la préparation, à la conservation, au transport, à la distribution et à la cession des tissus, des cellules et des préparations de thérapie cellulaire, révisée par décision du 05 mai 2017. <sup>8</sup>
- Autorisation d'exercer l'activité « banking » délivrée par l'ANSM (agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé) après inspection et vérification, par leurs agents, du respect de l'application des règles de bonnes pratiques.

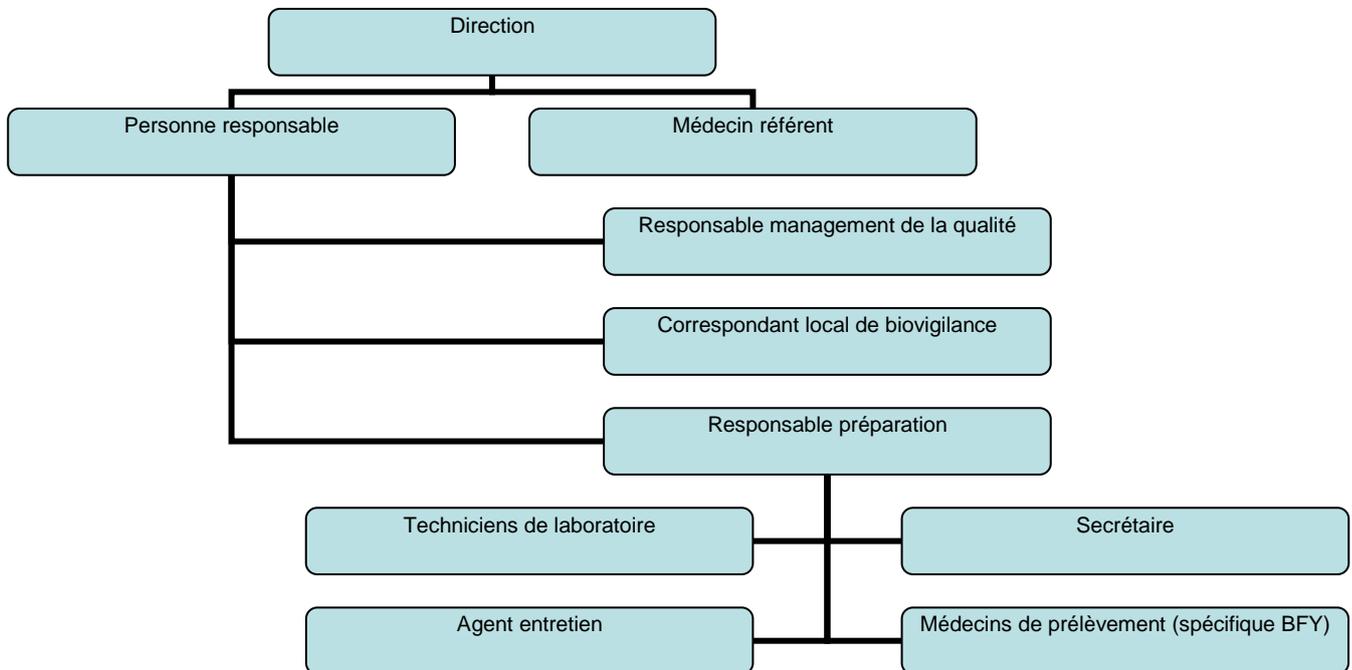
Les règles de bonnes pratiques définissent les conditions d'exercice de l'activité pour la banque de tissus telles que :

- **Le personnel**
- **Les locaux de préparation et de conservation**
- **Le matériel**
- **Le bionettoyage**
- **Les conditions de conservation**
- La distribution des tissus
- L'élimination des déchets
- Les sous-traitances
- Les conditionnements de tissus
- L'étiquetage
- **Le transport**
- **L'informatisation des données**
- **L'archivage des données**
- La gestion des non-conformités, des réclamations et de la biovigilance

### 3.2. LE PERSONNEL

Le personnel est habilité et en nombre adapté au fonctionnement de l'établissement.

#### Organigramme BFY



Tout le personnel doit avoir les qualifications requises au poste qu'il doit occuper. Il doit être formé, évalué et habilité aux tâches qui lui sont assignées.

La formation théorique repose sur l'acquisition :

- du cadre organisationnel et des règles d'hygiène et de sécurité de la banque de cornées
- des connaissances générales relatives au produit préparé : cornée
- des règles de bases de qualité, de sécurité et d'utilisation des tissus, sur les étapes allant du prélèvement à la greffe
- de connaissances sur les aspects éthiques, juridiques et administratifs
- des règles d'utilisation des systèmes automatisés
- des notions relatives au système de management de la qualité.

La formation pratique du personnel technique en charge de la préparation des tissus est basée sur un nombre minimal de préparations à réaliser pour être habilité.

Le personnel en charge du nettoyage des locaux est également formé, évalué et habilité.

Pour chaque personnel, les dossiers comportant l'enregistrement des formations ainsi que les habilitations sont établis et tenus à jour.

### 3.3. LES LOCAUX

Les personnes travaillant dans la banque doivent respecter les conditions d'hygiène et de sécurité détaillés dans les procédures. Elles précisent les conditions d'accès aux zones propres, les conditions d'habillement et le comportement général dans les zones critiques.

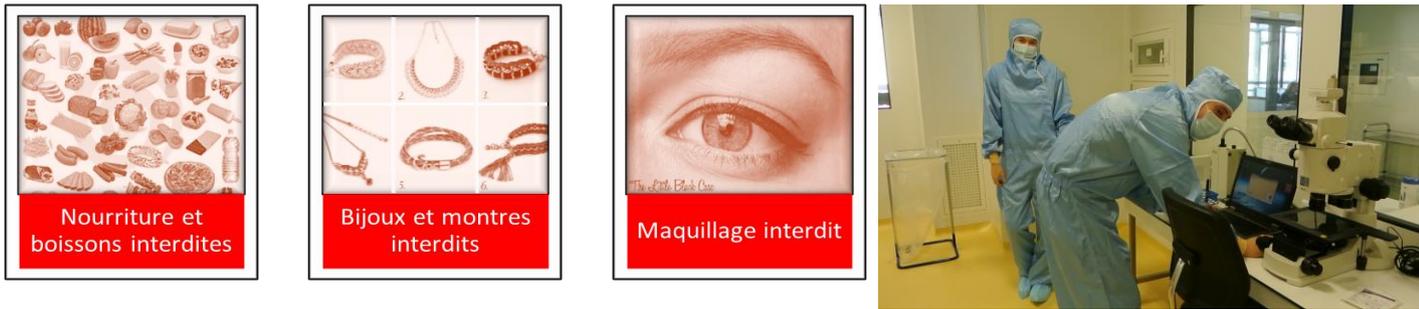


Figure 7 : conditions d'accès à la ZAC <sup>9</sup>

Les locaux sont adaptés et entretenus de manière qu'ils soient en adéquation avec les opérations à effectuer. Ils sont conçus afin de minimiser les risques de confusion ou d'erreur en établissant des circuits logiques pour :

- Les produits
- Le personnel
- Les consommables
- Les déchets et les produits éliminés

Les locaux de la BFY sont agencés avec des sas d'accès aux zones classées pour le personnel et aménagés de passe-plats pour le passage des produits, des consommables, sans risque de croisement entre les produits non contrôlés et les produits finis.

Les étapes de préparation se déroulent dans des locaux classés, à une température de +21°C+/-3°C.

La ZAC comporte 3 salles distinctes :

- Le SAS propre séparé du sas gris par un banc.
- La salle de préparation avec les PSM et le microscope
- La salle de quarantaine avec les enceintes thermostatées (étuves)

La classe revendiquée est une **classe D** selon le tableau de référence des BPTC du 27/10/2010 ci-dessous :

CLASSE	NOMBRE MAXIMAL ADMISSIBLE de particules par mètre cube de taille égale ou supérieure à			
	Au repos		En activité	
	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
A .....	3 520	20	3 520	20
B .....	3 520	29	352 000	2 900
C .....	352 000	2 900	3 520 000	29 000
D .....	3 520 000	29 000	Non définie (*)	Non définie (*)

Ces valeurs s'entendent en activité pour :

- 4 personnes en salle de préparation
- 2 personnes dans le sas
- 1 personne en salle de quarantaine

La BFY a défini des valeurs cibles qui correspondent aux valeurs particulières d'une classe C selon les BPTC. Ces valeurs permettront à la BFY de suivre la performance de la ZAC.

**Les pressions de la ZAC sont les suivantes**

- Sas : 35 Pa ± 15
- Salle de préparation : 50 Pa ± 15
- Quarantaine : 45 Pa ± 15

Un delta de pression de 15 Pa +/- 5 entre la salle de préparation et le sas doit être conservé.

Les différentiels de pression sont visualisés avant l'entrée en ZAC et reportés sur une gestion technique centralisée (GTC) signalant toute défaillance du système, par alarme sonore et par envoi de SMS sur les téléphones d'astreintes.

Les locaux font l'objet de QI/QO/QP.

Les tests de QO et QP couvrent au moins les tests suivants selon une fréquence définie :

- Contrôles et mesures des pressions des locaux (en continu et contrôle annuel par sous-traitant)
- Débit d'air et taux de renouvellement (annuel)
- Intégrité et étanchéité des filtres terminaux (bisannuel)
- Classe de propreté particulaire au repos et en activité (annuel)
- Classe de propreté microbiologique en activité (mensuel)
- Cinétique de décontamination (bisannuel)

Les contrôles microbiologiques de l'air et des surfaces sont réalisés mensuellement quand la zone est en activité et quand le système est le plus sollicité (par exemple en fin de session de travail).

Les contrôles sont réalisés conformément aux normes ISO, selon une périodicité, un plan de surveillance et des méthodes d'échantillonnage décrits dans des procédures.

Les prélèvements d'air sont faits par impaction à l'aide d'un bio-collecteur d'air. Les prélèvements de surfaces sont faits avec un applicateur et par écouvillon pour les zones plus délicates et moins faciles d'accès.

La BFY a défini des valeurs cibles qui correspondent à minima aux valeurs d'une classe C selon les BPTC. Ces valeurs pourront être revues en fonction des données de l'expérience du suivi de la contamination et varier en fonction de la criticité des points.

CLASSE	CONCENTRATION MAXIMALE ADMISSIBLE pour la flore mésophile par point de prélèvement contrôlé en activité	
	PRÉLÈVEMENT DE SURFACE (ufc/25 cm <sup>2</sup> )	PRÉLÈVEMENT D'AIR (ufc/m <sup>3</sup> )
A .....	< 1 (*)	< 1 (*)
B .....	5 (*)	10 (*)
C .....	25 (*)	100 (*)
D .....	50 (*)	200 (*)

(\*) Un dépassement limité de cette valeur ne peut être accepté qu'exceptionnellement et est justifié.

**3.4. LE MATERIEL**

Une liste du matériel est tenue à jour. Leur localisation est reportée sur le plan des locaux. Chaque matériel a une fiche équipement et une fiche de vie reprenant tous les événements qui se sont produits (entretien, maintenance, réparation).

### 3.4.1. Postes de Sécurité Microbiologique

Les manipulations des greffons se font sous des postes de sécurité microbiologiques de type II de classe A.

Ces PSM font également l'objet de QI/QO/QP et de contrôles particulières et microbiologiques réguliers

- Classe de propreté microbiologique en activité (mensuel)
- Classe de propreté particulaire au repos et en activité (semestriel)
- Laminarité des flux unidirectionnels (PSM) (semestriel)



**Figure 8 : les PSM <sup>10</sup>**

### 3.4.2. Les incubateurs

Les greffons sont conservés dans des incubateurs thermostatés à +31°C.

Les enceintes climatiques font l'objet de QI/QO/QP.

Des cartographies en 9 points des enceintes sont réalisés tous les 3 ans

Tous les incubateurs sont monitorés par des sondes d'enregistrement de température sur une centrale de surveillance des températures.

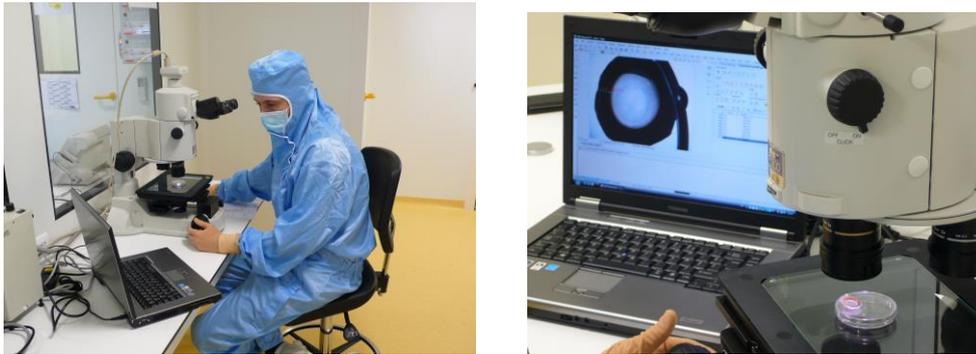
Les sondes sont calibrées annuellement.



**Figure 9 : Incubateur + 31°C <sup>11</sup>**

### 3.4.3. Le microscope

Un microscope est utilisé pour le contrôle de la qualité des greffons. Il permet d'observer le tissu du plus faible au plus fort grossissement permettant un comptage cellulaire précis de l'endothélium.



**Figure 10 : Macroscopie** <sup>12</sup>

### **3.5. LE BIONETTOYAGE**

Tous les matériels et zones à risques subissent un bionettoyage selon des fréquences définies dans les procédures.

L'alternance d'un produit « tout en un » détergent/désinfectant avec un produit détergent seul a été mise en place pour éviter la formation de biofilm sur les sols de la ZAC. Dans ce cas les trois étapes suivantes sont effectuées : détersion, rinçage, puis application d'un désinfectant.

Les produits détergent désinfectant utilisés sous PSM sont stériles.

Chaque bionettoyage est enregistré et tracé. Le personnel est formé et habilité.

Des contrôles du bionettoyage sont réalisés périodiquement.

### **3.6. LES CONDITIONS DE CONSERVATION**

#### **3.6.1. La réception**

Les tissus réceptionnés et les documents accompagnant les prélèvements (FOPT) sont enregistrés en arrivant à la banque et sont immédiatement anonymisés.

Un dossier de préparation reprenant toutes les étapes du prélèvement à la greffe est ouvert pour chaque greffon.

Les échantillons sanguins prélevés sur le donneur pour la recherche de marqueurs virologiques sont adressés à un laboratoire sous-traitant.

#### **3.6.2. La préparation des greffons**

##### **3.6.2.1 *Mise en culture et contrôles microbiologiques du milieu de prélèvement.***

Les cornées prélevées sont réceptionnées dans leur milieu de prélèvement puis transférées dans un milieu de conservation et placées ensuite en quarantaine pendant 7 jours dans un incubateur à +31°C.

En même temps des contrôles microbiologiques du milieu de prélèvement sont réalisés et les milieux spécifiques sont incubés à +36°C pour la bactériologie et à +22°C pour la mycologie.

### 3.6.2.2 Contrôles de la qualité tissulaire

Après 7 jours, la cornée est observée sous le microscope pour évaluer sa qualité. Le diamètre total et de la zone claire sont mesurés. Le nombre de cellules endothéliales est compté à l'aide d'une micro grille de 1 mm<sup>2</sup> placée sous l'oculaire du microscope.

Le milieu de conservation dans lequel la cornée a été incubée fait également l'objet d'un nouveau contrôle microbiologique.

Après contrôle de la qualité, la cornée est redéposée dans son milieu de conservation et est soit :

- remise dans l'incubateur si la qualité est conforme pour la greffe
- soit éliminée si la cornée n'est pas conforme pour la greffe.

### 3.6.2.3 La validation des greffons

Lorsque tous les résultats sont conformes, la cornée est dite « greffable » et est attribuée à un chirurgien pour un patient prévu.

Les éléments suivants permettent la validation des tissus :

- Validation du dossier Donneur
- Résultats des examens virologiques conformes
- Qualité tissulaire conforme
- Contrôles microbiologiques négatifs

Les chirurgiens ophtalmologistes doivent adresser à la BFY 3 semaines avant la date prévue de la greffe une prescription médicale nominative accompagnée de l'attestation d'inscription sur la liste d'attente cornée.

48 heures avant la date de greffe prévue la cornée est contrôlée à nouveau sous le microscope et de nouveaux contrôles microbiologiques sont également faits.

La veille de la greffe, la cornée est transportée vers le site de greffe.

## 3.7. LE TRANSPORT

Le transport des greffons est sous-traité. Les obligations et responsabilités sont définies par le biais d'un contrat établi à partir d'un cahier des charges.

Les cornées sont transportées dans les conditions permettant :

- d'assurer leur conservation et leur intégrité
- d'assurer leur acheminement dans un délai préalablement défini
- de respecter les règles d'hygiène et de sécurité vis-à-vis de l'environnement et des personnes chargées du transport.

Des procédures définissent les conditions d'étiquetage, les instructions à donner et les documents à remettre aux personnes en charge du transport.

Des consignes sont établies en ce qui concerne :

- les moyens de transport  
les circuits et les durées maximales d'acheminement
- la maîtrise des températures

A la réception du greffon, le destinataire vérifie l'état du colis, du produit, du maintien de la température, et des documents d'accompagnement.

### 3.8. L'INFORMATISATION DES DONNEES

Les données relatives aux greffons sont à la fois manuscrites et informatisées. Un logiciel de traçabilité des cornées a été conçu et tous les documents de traçabilité d'envoi du greffon sont imprimés à chaque distribution :

- fiche de distribution
- certificat de validation du produit fini
- fiche de greffe

### 3.9. L'ARCHIVAGE

Tous les documents relatifs au dossier du donneur et aux cornées sont archivés pendant une durée de 30 ans par une société d'archivage et sont également numérisés.

Les dossiers numérisés sont stockés à la BFY pour une consultation immédiate en cas de besoin.

Les locaux d'archivage sont sécurisés, protégés contre les dégâts des eaux et conforme à la réglementation en vigueur concernant la protection incendie.

## 4. LA GREFFE

La cornée est constituée de 3 couches principales :

- L'épithélium
- Le stroma
- L'endothélium qui repose sur la membrane de la Descemet

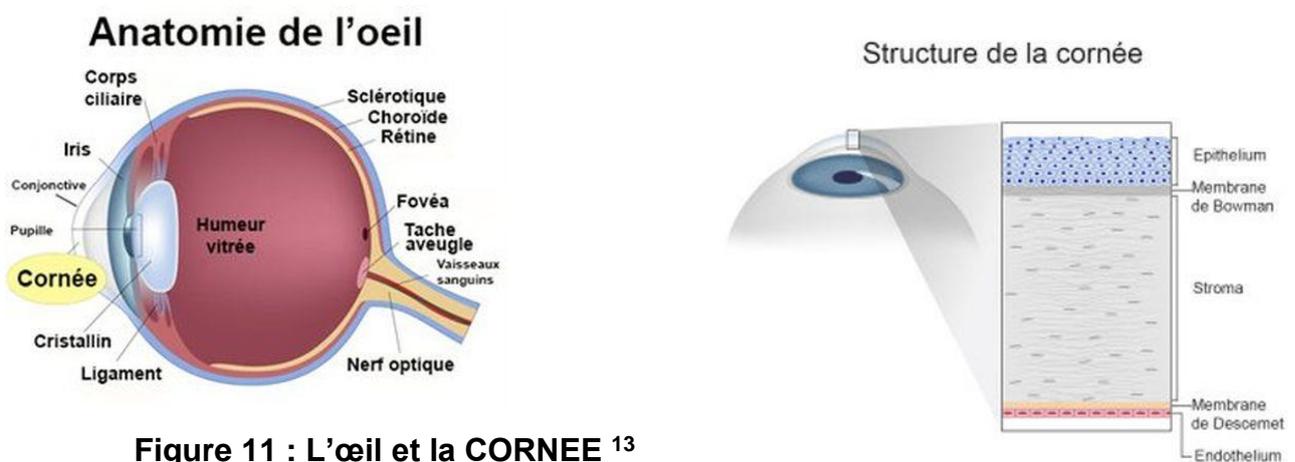
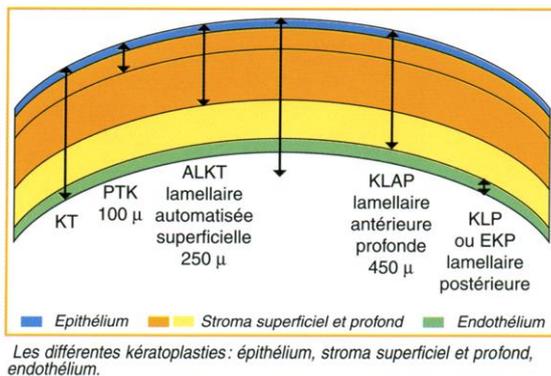


Figure 11 : L'œil et la CORNEE <sup>13</sup>

Selon la pathologie de la cornée, la technique de greffe varie et seule une zone peut être greffée.



➔ La cornée est malformée (Keratocone) perte de la sphéricité de la cornée (cône) et amincissement du stroma => greffe lamellaire antérieure (ALTK ou KLAP)

➔ La cornée est opaque (décompensation et dystrophie)

Taux d'hydratation du stroma augmente provoquant un œdème qui fait perdre sa transparence à la cornée => greffe lamellaire postérieure (DMEK ou DSAEK)

Figure 12 : Les différentes techniques de greffe <sup>14</sup>

## 5. LES CHIFFRES D'ACTIVITE

Chaque année, en France un peu plus de 4000 patients sont greffés. La Banque Française des Yeux en distribue le ¼ en Ile de France (plus de 1000 en 2018).

## 6. REFERENCES

<sup>1</sup> <http://www.drhay-ophtalmo.fr/>

<sup>2</sup> Règles de bonnes pratiques de prélèvement : arrêté du 1<sup>er</sup> avril 1997

<sup>3</sup> <sup>4</sup> <sup>5</sup> <sup>6</sup> <sup>7</sup> <sup>9</sup> <sup>10</sup> <sup>11</sup> <sup>12</sup> Photos BFY

<sup>8</sup> Règles de bonnes pratiques de conservation des tissus et cellules : décision du 27 octobre 2010 révisée par décision du 05 mai 2017.

<sup>13</sup> [www.docteurclic.com](http://www.docteurclic.com)

<sup>13</sup> [www.mediris.com](http://www.mediris.com)

<sup>14</sup> <http://www.ophtalmologie-besancon.fr/greffe-de-cornee/>