



BANQUE
FRANÇAISE
DES YEUX

REVOIR

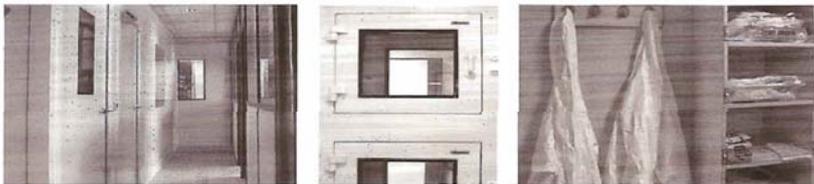
Bulletin N° 142 Janvier 2011 - 2,30 €



E
D
I
T
O

Notre projet de nouveaux locaux pour le laboratoire voit enfin le jour. Le conseil d'administration s'y est réuni pour une première fois le 20 novembre dernier avec une inauguration officielle qui est programmée pour le jeudi 05 mai à 18h30.

Les locaux, sur une surface de 174 m², sont très modernes et comportent en particulier une zone à atmosphère contrôlée (salle blanche) de 30 m², des salles annexes de 42 m² et des bureaux et salles de réunion répartis sur environ 100 m².



Ces nouveaux locaux devraient permettre de développer le projet ambitieux des greffons prédécoupés.

Une inspection de l'ASSAPS est prévue en début d'année et nous espérons pouvoir faire fonctionner de façon efficace le laboratoire en mars ou avril 2011.

Le prochain conseil d'administration aura lieu le lundi 09 mai 2011 lors du congrès de la SFO au Palais des Congrès et décidera des suites à donner aux locaux du quai des Célestins.

La BFY est en pleine mutation pour le bénéfice amélioré, nous l'espérons de nos patients malvoyants.

L'ensemble du conseil d'administration de la BFY se joint à moi pour vous adresser nos meilleurs vœux pour cette nouvelle année.

Professeur Jean-Paul ADENIS
Président

Sommaire

Comment améliorer et standardiser le comptage des cellules endothéliales dans les banques de cornées françaises et européennes.

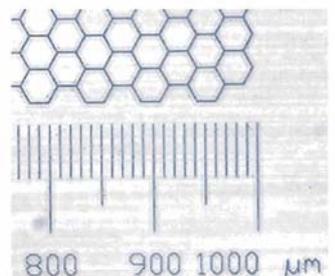
p. 2/5

La greffe de cornée n'est qu'une étape, le kératocône une maladie à rebondissements

p. 6/7



Réunion du Conseil
d'administration
le 20 novembre 2010



Détail de lames test étalons
(kératotest) 2^e génération.

Comment améliorer et standardiser le comptage des cellules endothéliales dans les banques de cornées françaises et européennes

Gilles Thuret, Sophie Acquart, Philippe Gain
CHU de Saint- Etienne

Les cellules endothéliales de la cornée forment une monocouche de cellules jointives disposées en mosaïque à la face interne de la cornée. Ces cellules endothéliales ont une intense activité métabolique et pour principale fonction de réguler l'hydratation du stroma cornéen. Elles le maintiennent dans un état de relative déshydratation garant d'une parfaite organisation de ses fibres de collagène. C'est cette parfaite organisation du collagène cornéen qui explique sa parfaite transparence. En absence d'un endothélium sain, le stroma a une tendance naturelle à s'imbibber d'eau et à perdre sa transparence.

Chez l'homme les cellules endothéliales ne se renouvellent pas chez l'adulte. Le capital acquis peu avant la naissance diminue tout au long de la vie. Rappelons qu'à l'âge adulte ce sont donc 350 000 cellules de chaque coté qui assurent le maintien de la transparence de nos cornées.

Dans de nombreuses pathologies cornéennes, la greffe de cornée constitue le seul traitement capable de restaurer la transparence cornéenne et donc rendre la vision. On estime à plus de 100 000 le nombre de greffes réalisées chaque année dans le monde : 50 000 sont recensées aux USA et 50 000 en Europe.

Les cornées prélevées après décès sont conservées, évaluées et sélectionnées par les banques de cornées. La sélection des greff-



ffons a pour but de fournir au receveur un greffon transparent portant le plus grand nombre de cellules endothéliales sans transmettre de pathologie infectieuse. Au terme de cette sélection, un peu plus d'une cornée sur deux est détruite.

Dans la plupart des banques de cornées européennes, la méthode utilisée pour la conservation des greffons est l'organoculture. Les cornées sont immergées dans un liquide nutritif dérivé des milieux de culture cellulaire et conservées dans des flacons étanches à 31-37°C. La conservation peut se prolonger jusqu'à 5 semaines, ce qui facilite l'organisation de la greffe et les échanges inter banques destinés à réduire les disparités territoriales entre nombre de prélèvements et nombre de receveurs en attente. La qualité de l'endothélium cornéen est mesurée durant la conservation à une ou deux reprises.

Les contrôles de qualité du greffon réalisés par les banques de cornées sont de trois ordres : tout d'abord les contrôles sérologiques standards pratiqués sur le sang du donneur comme pour toute autre transplantation, ensuite les contrôles de "stérilité" bactérienne et fongique s'assurant de l'innocuité du greffon et enfin le contrôle de la qualité cellulaire endothéliale s'assurant de "l'efficacité" du greffon.

Le contrôle de la qualité cellulaire endothéliale du greffon

Pour l'ensemble des banques de cornées européennes, la détermination de la qualité de la cornée repose sur un **critère principal** : **la densité cellulaire endothéliale (DCE)** (exprimée en cellules/mm²) qui évalue le capital en cellules endothéliales. Ces cellules, nous l'avons vu, sont primordiales car elles assurent la transparence du greffon et le maintien de celle-ci au fil du temps chez le receveur (survie du greffon). Comme elles sont dépourvues de capacité de division, le donneur doit donc en apporter le plus possible au receveur. La DCE est évaluée lors d'une observation sous microscope dans des conditions stériles sur un petit échantillonnage (de 50 à 300 sur les 250 à 300 000 que compte la cornée). En dessous d'un seuil de DCE variant entre 2 000 et 2 400 cellules/mm² selon les banques, la cornée est considérée inapte à la greffe et détruite. La fiabilité (précision et reproductibilité) de la détermination de **cette DCE est donc primordiale à double titre** : **en tout premier lieu pour l'avenir du receveur** (ne surtout pas greffer des cornées ayant un capital cellulaire insuffisant) mais également d'un point de vue **médico-économique** pour les banques de cornées (ne pas jeter à tort des cornées).

Différentes méthodes de mesure de la DCE existent. Elles peuvent être divisées en deux grandes catégories : manuelles ou informatisée.

Dans les méthodes manuelles, le comptage peut être réalisé en direct par le technicien qui compte des cellules visibles dans un réticule (grille généralement) placé dans un des oculaires du microscope sans possibilité de

vérification ni de traçabilité. A titre d'exemple, cette technique était utilisée il y a encore quelques années dans la plupart des banques françaises. Ce comptage manuel a été amélioré par pointage des cellules sur une photographie afin de permettre un contrôle et une traçabilité meilleurs. Ces deux méthodes ancestrales sont encore utilisées par certaines banques européennes.

Pour les méthodes informatisées, deux grands principes sont disponibles : soit analyse cellules à cellules, soit analyse de la fréquence spatiale du motif répétitif de la mosaïque (transformée de Fourier). Cette dernière méthode est utilisée par un seul analyseur (Nidek). Son principe ne permet pas d'obtenir de données sur la morphométrie des CE (polymorphisme et polymégethisme). Les analyseurs cellules à cellules sont eux même variables : soit analyse dans un cadre fixe dit "fixed frame" qui réalise une approximation en comptant toutes les cellules à l'intérieur du cadre plus les cellules coupées par 2 bords adjacents du cadre, soit analyse dans une surface variable dite "variable frame" tenant compte des contours réels des cellules (Nikon-Lucia, Tribvn-Sambacornea, Image pro et DPSoft). Pour toutes les méthodes d'analyse cellules à cellules, la reconnaissance des cellules peut être soit automatique, soit semi-automatique (correction manuelle des cellules mal reconnues) soit complètement manuelle (le plus souvent pointage des centres des cellules ou traçage manuel de tous les contours).

Bien que censées répondre à des standards minimaux, ceux de l'European Eye Bank Association (EEBA) par exemple ou ceux recommandés par les autorités de santé nationales de chaque pays, les méthodes d'évaluation de la qualité endothéliale sont donc loin d'être standardisées. Il est facile de comprendre

Comment améliorer et standardiser le comptage des cellules endothéliales dans les banques de cornées françaises et européennes. (suite)

que la multiplicité des techniques utilisées représente des sources manifestes de variabilité et d'erreur de mesure. Nous avons déjà confirmé ce point à deux reprises en réalisant deux audits auprès de l'ensemble des banques de cornées françaises en 2003 puis en 2009 et nous savons qu'il en est de même pour l'ensemble des banques européennes.

Lors de nos deux évaluations, Nous avons ainsi démontré dès 2003 qu'il existait parmi les 22 banques de France, des erreurs parfois intolérables allant de 40 % de sous estimation à 82% de surestimation systématique de la DCE (Figure 1). Nous avons alors identifié deux grands types d'erreurs : des erreurs systématiques (biais) responsable d'une sur ou d'une sous estimation permanente des

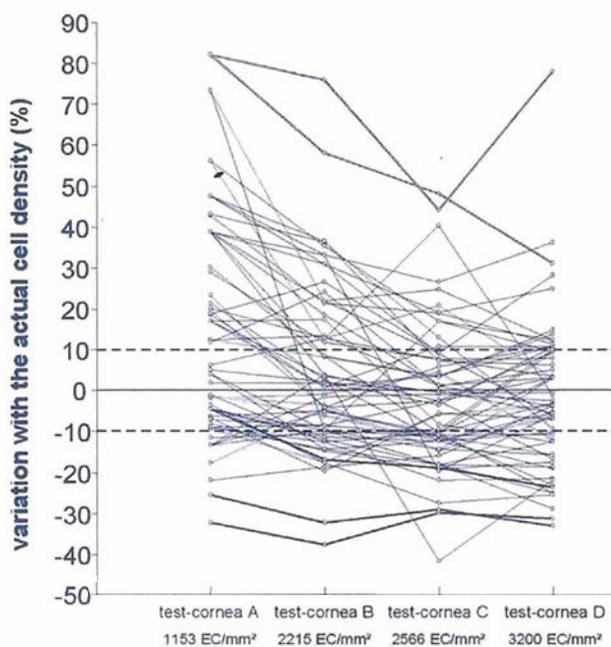
DCE par tous les techniciens d'une même banque et des erreurs plus aléatoires responsables plutôt d'une grande variabilité intra banque.

Les erreurs systématiques étaient le plus souvent simplement liées à un mauvais étalonnage (ou son absence !) du microscope. Cette erreur, surprenante à ce niveau, peut néanmoins concerner des banques de grande taille. Nous avons également constaté que cette erreur s'accompagnait d'une "habituat-ion" des techniciens à des résultats erronés pendant parfois de très nombreuses années avec des dérives tendant à corriger partiellement les erreurs, et qu'il était difficile de "faire face à la réalité" après correction.

Les erreurs "aléatoires" sont multifactorielles et directement liées à la stratégie de comptage inadapté : réticule inadapté, échantillonnage trop petit, méthodologie de dénombrement fausse.

Jusqu'à présent aucune méthode n'existe pour évaluer et comparer à grande échelle la fiabilité (précision et reproductibilité intra et inter-banque) des méthodes utilisées en routine dans les banques de cornées pour mesurer la DCE. Il faut donc, si l'on veut améliorer la fiabilité des mesures réalisées dans les banques de cornées, se doter d'outils calibrés permettant à chaque banque de cornées de s'auto évaluer et par ailleurs les inciter à abandonner les techniques de mesure manuelle insuffisamment précises.

Nous avons développé au laboratoire "Biologie, ingénierie et imagerie de la Greffe de Cornée" plusieurs générations successives de lames tests originales destinées au contrôle des banques de cornées.



^ Figure 1
Dispersion des mesures de densité cellulaire endothéliales réalisées par 64 techniciens de banque de cornées françaises en 2003 sur 4 cornées test. La zone délimitée par les deux lignes horizontales hachurées correspond à la zone de mesure acceptable.

La greffe de cornée n'est qu'une étape, le kératocône une maladie à rebondissements

Sylvie témoigne ici de son expérience d'environ 30 ans avec le kératocône. La précocité de son kératocône et son évolution rapide ont fortement altéré son acuité visuelle dès son adolescence avec des impacts forts sur sa vie d'étudiante et de jeune fille.

Elle nous livre ici des passages de sa vie assez durs, des moments de doutes et des moments de joie, mais on sent qu'il émane de ce témoignage une volonté de ne pas renoncer et... une sacrée force de caractère !

Rappelons que cette "trajectoire" rapide est très rare chez les kératocôniens. Nous avons choisi de le diffuser parce qu'il aborde des éléments que beaucoup d'entre nous ont connus avec en général beaucoup moins de gêne et beaucoup plus de réussite... Elle nous montre également que le kératocône est une maladie de long terme, avec des rebondissements, la greffe n'est pas une fin en soi et il faut toujours garder l'espoir.

Bonjour Sylvie, quand ton kératocône a-t-il été déclaré ?

Bonjour, j'ai commencé à perdre la vue à l'âge de 14 ans (j'ai actuellement 42 ans). Par rapport à d'autres témoignages que j'ai pu lire sur votre site, j'ai eu la "chance" que mon kératocône bilatéral soit diagnostiqué dès ma première visite chez un ophtalmologue (même s'il a fallu environ une année pour que je sois progressivement informée sur le pronostic de cette maladie).

14 ans... c'est très jeune, quelle a été l'évolution dans les premières années ?

Dans mon cas, l'évolution du kératocône a été dès le début extrêmement rapide : port de lunettes pendant seulement 1 année avec chute vertigineuse de mon acuité visuelle aux deux yeux, puis port de lentilles rigides pendant 1 an, et enfin port de verres scléaux pendant 4 années supplémentaires afin de reculer le plus possible l'échéance des greffes de cornées.

Les lentilles puis les verres scléaux ont représenté pour moi un véritable calvaire avec des douleurs abominables et, sur les dernières années, je ne supportais mes verres scléaux que 30 minutes par jour. Il faut remettre tout cela dans le contexte d'il y a 28 ans en arrière, où les lentilles n'étaient pas aussi performantes que maintenant. J'exprime au passage, toute ma reconnaissance au contactologue spécialisé dans le traitement du kératocône qui m'a suivie pendant toutes ces années, car mes verres scléaux devaient alors être modifiés environ tous les mois du fait de la rapidité d'évolution de mon kératocône.

Quel bilan fais-tu de ces 6 premières années ?

En 6 ans, je suis devenue malvoyante avec toutes les difficultés que l'on peut imaginer sur le plan personnel (vie d'une jeune fille puis d'une jeune femme mise entre parenthèses de 14 à 20 ans, charges financières pour mes parents, impact psychologique, fatigue chronique, hypersensibilité à la lumière, etc.) mais aussi concernant la poursuite de mes études au lycée puis à l'université (j'écoutais les cours mais ne pouvais prendre quasiment aucune note).

Cela reste difficile pour moi de parler de cette période de ma vie, source de grandes souffrances physiques et psychologiques. Ma ténacité m'a cependant permis de poursuivre mes études sans jamais faire état de mes problèmes de santé, et au final d'obtenir brillamment mon doctorat après 8 années d'études supérieures entrecoupées par deux greffes de cornées.

La suite a donc été la greffe ?

Effectivement. Très rapidement, j'ai dû m'orienter vers la greffe de cornée. Cette décision a été notamment guidée par le fait que je ne supportais plus du tout mon mode de correction (verres scléaux) et pour pouvoir poursuivre mes études supérieures scientifiques qui nécessitaient une vue suffisante. Les deux yeux ont donc été greffés à un an d'intervalle en 1987

et 1988 : ce fut une véritable renaissance malgré les contraintes postopératoires qui nécessitent notamment de faire preuve de patience avant l'obtention d'un résultat stable avec port de lunettes. Cela valait vraiment le coup car j'ai pu profiter pleinement de ma nouvelle vue et donc de ma nouvelle vie pendant une quinzaine d'années, aussi bien sur le plan personnel que professionnel. Je suis même partie vivre au Canada pendant quelques années !

Par la suite, comment ont vécu tes greffons ?

Quinze ans après ma greffe à l'œil droit, mon greffon est devenu dystrophique et a atteint une épaisseur anormale et incompatible avec une quelconque correction. Je tiens à préciser qu'il ne s'agissait ni d'un rejet de greffe, ni d'une évolution du kératocône. Une seule solution m'a alors été proposée : une nouvelle greffe de cornée ! Et de trois ! Cette nouvelle greffe de cornée a été réalisée en 2003 et m'a permis de renaître grâce à une nouvelle correction tout à fait satisfaisante avec lunettes quelques années après l'opération.

L'œil droit semble reparti pour un tour, et l'œil gauche ?

Ma vue s'est ensuite dégradée fortement à l'œil gauche (à cet œil, mon greffon date de 23 ans). Je suis victime d'une ectasie du greffon associée à une forte distorsion de sa surface (déformée et totalement irrégulière probablement à cause de l'évolution du kératocône en périphérie du greffon). Cela engendre un astigmatisme géant (non mesurable mais plus de 12 dioptries...) et non corrigible de manière satisfaisante (pas d'adaptation possible de lentille sur une cornée aussi déformée). Pour tenter d'améliorer la situation, il ne restait à nouveau que la chirurgie qui ne visait qu'à diminuer mon astigmatisme et à éviter ainsi une quatrième greffe de cornée. L'intervention chirurgicale, appelée résection cunéiforme de la cornée, a été effectuée sur l'œil gauche en octobre 2009, sur mon greffon de 1987. Pendant ces 8 derniers mois, j'ai subi de nombreux contrôles mais jusqu'à la semaine dernière mon astigmatisme était toujours aussi fort (10 dioptries), sans adaptation de correction jus-

qu'à aujourd'hui. J'ai repris mon travail environ 6 semaines après mon intervention chirurgicale, malgré le déséquilibre énorme entre mes deux yeux et la fatigue visuelle.

La semaine dernière, le chirurgien a décidé de retirer quelques points du surjet qui tiraient davantage que les autres, en espérant ainsi réduire mon astigmatisme. Je dois de nouveau patienter quelques jours avant un nouveau contrôle à l'hôpital, et qui sait, peut-être aurai-je une bonne nouvelle ! En tout cas, j'ai bon espoir.

Aujourd'hui quel bilan fais-tu de ton kératocône ?

"En premier lieu", devant les difficultés que je rencontre depuis 28 ans maintenant, je me préoccupe à nouveau de me renseigner sur les avancées de la recherche. J'ai découvert grâce à votre site internet qu'il existe un Centre de Référence National du Kératocône et je me pose des questions concernant la possibilité de consulter ce centre dans un cas comme le mien.

Par ailleurs, malgré mon histoire qui ressemble parfois à un cauchemar, je veux dire que ma vie est une aventure à rebondissements : je me bats et j'avance. Et ça vaut le coup ! Même si comme tout le monde j'ai de temps en temps des baisses de moral... Ma vie a pu garder un sens grâce à la compréhension et au soutien permanent et sans faille de mes proches, et à plusieurs greffes de cornées (qui doivent rester le recours ultime). Je veux être très positive à ce sujet. Je n'aurai jamais de mots assez forts pour exprimer ma gratitude aux donateurs et à leurs familles. Imaginez le bonheur d'une personne qui vivait dans le flou le plus total et ne reconnaissait même pas ses proches à 2 mètres devant elle, et qui au sortir d'une greffe redécouvre les couleurs, les personnes qu'elle aime, des activités normales, et tout simplement la vie. Merci !

Merci à Monsieur et Madame de Fonvillars de l'association Kératocône pour nous avoir transmis ce beau témoignage d'une patiente greffée.