



Sérum autologue : intérêt, indications et technique de préparation Autologous serum : interest, indications and technique of preparation

M. By; S. Badri; A. Mchachi; I. Benhmidoune; A. Chakib; R. Rachid; M. Elbelhadji

Service d'ophtalmologie adultes, Hôpital 20 Aout 1953, CHU Ibn Rochd
Université Hassan II, Faculté de médecine et de pharmacie, Casablanca, Maroc

Correspondance: elmustapha.by@gmail.com Gsm :0650798223

Introduction

Le sérum autologue est une source intéressante de facteurs de croissance et d'éléments trophiques pour la cornée. Il est indiqué pour les formes sévères de sécheresse oculaire avec kératoconjonctivite sèche résistante à un traitement lubrifiant bien conduit.

BUT DU TRAVAIL : Montrer l'intérêt les indications et la technique de préparation du sérum autologue.

PRINCIPE DU SERUM AUTOLOGUE : Le principe repose sur la nécessité de supplémer la surface oculaire en facteurs trophiques, facteurs de croissance ,et vitamines présentes dans le sérum. Ceux-ci ont démontré un effet bénéfique sur la croissance cellulaire et sur la cicatrisation épithéliale, notamment l'épidermal growth factor (EGF) et le nerve growth factor (NGF).

INTÉRÊT DU SERUM DANS LE TRAITEMENT DU SYNDROME SEC

Les approches thérapeutiques dans les syndromes secs (SS) s'organisent de la façon suivante selon leur degré de gravité :

- Supprimer les facteurs aggravants (médicaments asséchants, tabac, mauvaise ergonomie des postes de travail) ;
- Apporter des facteurs lubrifiants permettant de limiter le manque de larmes (larmes artificielles, gels) ;
- Limiter l'évacuation des larmes (lunettes à chambre humide, clous méatiques) ;
- Traiter les réactions inflammatoires presque toujours associées (anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens, ciclosporine) ;
- Traiter la surface oculaire par apport de facteurs spécifiques (facteurs de croissance, fibronectine, acide rétinoïque, membrane amniotique (MA))

On constate donc que l'apport de facteurs trophiques à la surface oculaire constitue une approche thérapeutique même si elle est limitée aux cas les plus sévères. Ce traitement, souvent limité dans le temps, est avant tout intéressant en traitement adjuvant de tout l'arsenal thérapeutique rappelé ci-dessus pour des formes graves de sécheresse oculaire de type kératoconjonctivites sèches (KCS) et dans les kératites neurotrophiques (KN) (figure 2).

Le sérum autologue (SA) constitue toutefois une méthode efficace et rapide d'obtention d'une amélioration des symptômes et des signes cliniques notamment pour les patients présentant des kératites avec ulcération confluyente, qui sont parfois très douloureuses. Il est une arme très précieuse pour obtenir une cicatrisation dans les KN qui associent une altération

de la sensibilité cornéenne et un défaut de cicatrisation épithéliale. Les conséquences de celles-ci vont d'une simple kératite à des perforations cornéennes de mauvais pronostic. L'évolution torpide de ces affections nécessite une prise en charge rapide et agressive dans laquelle le SA a sa place.

Le SA apporte un complément essentiel dans des formes graves de kératolyse dans certaines polyarthrites rhumatoïdes parfois responsables de perforation cornéenne. Il faut savoir distinguer, lors des ulcérations liées aux affections systémiques (périartérite noueuse, maladie de Wegener, polyarthrite rhumatoïde), deux situations distinctes :

- les ulcérations périphériques d'origine inflammatoire, aggravées par la conjonctive en regard (Figure 1), dans lesquelles le principe est donc d'effectuer, avant tout, une résection de la conjonctive adjacente à l'ulcère ;

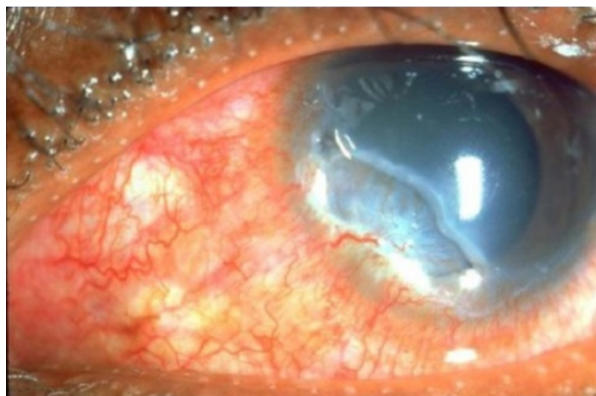


Figure 1 : Ulcère coréen périphérique sur une polyarthrite rhumatoïde

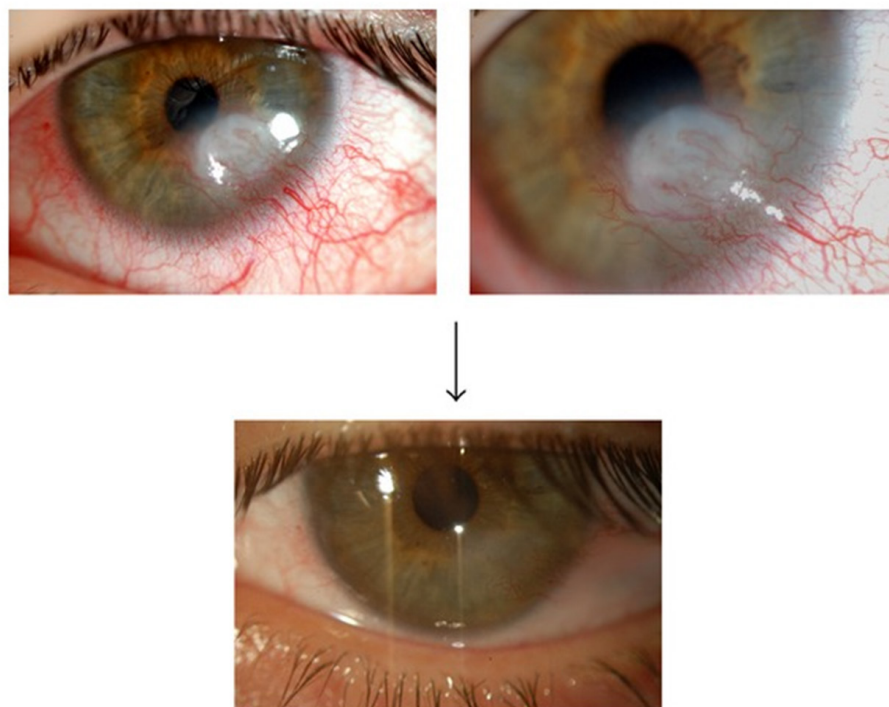


Figure 2 : kératite neurotrophique par lésion du nerf trijumeau lors de l'excision d'un neurinome du nerf acoustique, avant et après traitement par SA

- les kératolyses centrales liées, avant tout, à un défaut de lubrification de surface ; elles bénéficieront d'une lubrification active et de traitements procicatrisants (pommade, Greffe de membrane amniotique, SA). Certaines kératites sèches très sévères lors des syndromes de rejet du greffon contre l'hôte (GVH) ont été très nettement améliorées par les instillations de SA.

Les conservateurs, en particuliers les ammoniums quaternaires, sont particulièrement redoutables en cas de sécheresse oculaire en raison de leurs effets cytotoxiques, pro-inflammatoires et détergents. Leur usage doit être évité autant que possible en utilisation chronique sur des surfaces oculaires pathologiques. En cas d'atteinte cornéenne résistante à un traitement bien conduit, l'arrêt des produit potentiellement toxiques et en particulier des conservateurs s'impose et résout souvent des situations délicates [3].

INDICATIONS ET EFFICACITÉ DU SÉRUM AUTOLOGUE

Les syndromes secs sévères selon le Dry Eye Workshop (DEWS) sont définis par les critères suivants [4] :

- Symptômes de sécheresse souvent évalués par le score OSDI (ocular surface disease index) supérieur à 40/100 ;
- Signes objectifs de sécheresse oculaire. Au moins un signe parmi les suivants :
 - ◊ Break-up time (BUT) inférieur à 5 secondes,
 - ◊ Imprégnation cornéenne par la fluorescéine supérieure à 2/5 selon le score d'Oxford,
 - ◊ Test de Schirmer 1 inférieur à 5 mm à 5 minutes.

Le SA est également indiqué dans les défauts de cicatrisation chroniques de l'épithélium (persistant epithelial defect ou PED). Le diagnostic de PED repose sur l'existence d'une ulcération épithéliale résistante à un traitement lubrifiant depuis au moins 2 semaines [5]. Le SA s'est avéré efficace pour le traitement des SS graves liés aux syndromes de Gougerot-Sjogren, aux GVH ou pour traiter certaines kératites épithéliales d'origine trophique [6]. Il a été évalué en comparaison des autres possibilités thérapeutiques mais le plus souvent sans essai randomisé ou avec un insu difficile à contrôler [7-8]. Un essai clinique rapporte même une instillation d'un traitement dans un œil et d'un traitement dans l'autre, car les patients concernés par un traitement par SA sont rares [9].

Les auteurs retrouvent globalement une bonne efficacité du traitement avec une amélioration dans environ 80 % des cas de SS sévères [10-11]. Celle-ci semble dépendre de la durée des symptômes précédant la mise en route du traitement et de la pathologie systémique sous-jacente. Il semble que les états très inflammatoires soient plus résistants au traitement par SA. Celui-ci serait en effet plus efficace dans les SS primaires que dans les SS secondaires qui s'accompagnent d'une augmentation plus importante de la réaction inflammatoire locale [7].



Encadré 1 : Principales indications du traitement par Sérum autologue

Syndrome sec (SS) sévère avec kératoconjonctivite sèche (KCS), en particulier le syndrome de Gouge-rot-Sjögren, qu'il soit primaire ou secondaire mais également les SS survenant dans le cadre de rejet du greffon contre l'hôte ou du syndrome de Steven-Johnson

- Déficits chroniques de l'épithélium (persistant epithelial defect ou PED)
- Kératites neurotrophiques et plus généralement les états de mauvaise cicatrisation (herpès, diabète, greffe de cornée, débridement peropératoire de l'épithélium chez des patients diabétiques)
- Kératalgies récidivantes
- Insuffisances limbiques
- Kératite limbique supérieure de Théodore

PRÉPARATION DU SA

Encadré 2 : principes de fabrication du sérum autologue (concentration à 20 %)

1. Ponction veineuse (six tubes secs de 6 ml)
2. Mise en position verticale à température ambiante pendant 20 minutes
3. Centrifugation (3500 tours/min pendant 20 minutes)
4. Recueil du sérum autologue (environ 10 ml pour un prélèvement de sang total de 36 ml) sous hotte à flux laminaire (figure 3)
5. Reconstitution de la solution par dilution avec 80 % de sérum physiologique et 20 % de sérum autologue
6. Remplissage de flacons stériles, opaques avec compte-gouttes (à raison de 5 ml de solution par flacon) identifiées par l'étiquette du patient
7. Envoi de 1 ml de solution pour analyse bactériologique
8. Conditionnement de la solution, conservée en boîte isotherme avec les flacons et de la carboglace pour acheminement chez le patient
9. Mise en conservation : un flacon est maintenu au réfrigérateur, les autres flacons sont conservés dans un endroit propre et séparé des aliments, au congélateur à -20°C durant 3 mois. On rappelle au patient qu'il ne doit pas sortir son traitement longtemps à l'avance et qu'il doit limiter le plus possible les durées de maintien à température ambiante. Le patient doit stopper les instillations en cas d'œil rouge avec des sécrétions. Il doit alors impérativement ramener son flacon de collyre pour analyse bactériologique.

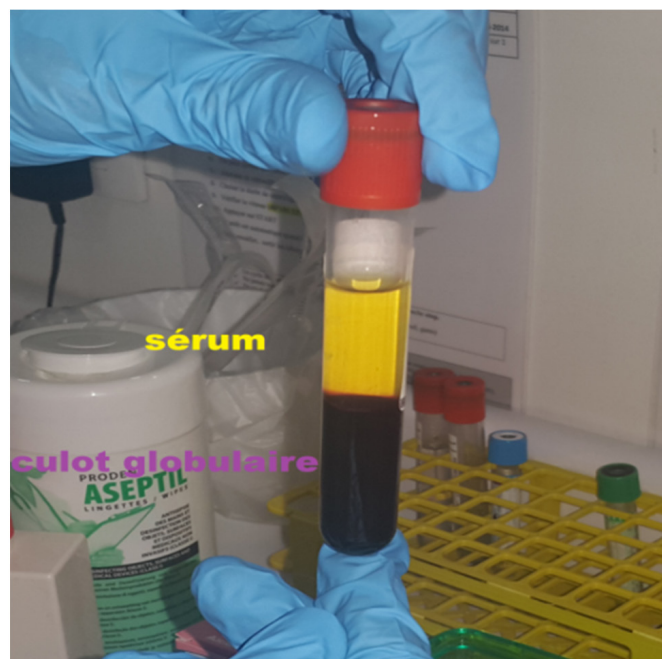


Figure 3 : résultat après 20min de centrifugation



CONCENTRATION

Les études ont montré que les concentrations du SA varient de 20 à 100 %. La concentration de 20 % est la plus commune depuis les travaux de Tsubota [12]. La concentration 100 % est parfois jugée peu agréable par les patients en raison de sa viscosité qui peut entraîner des dépôts de complexes immuns en périphérie de la cornée donnant un aspect d'infiltrats marginaux. Un traitement du SA à 100 % par « chauffage » à 56 °C pendant 1 heure avant conditionnement semble diminuer la concentration en immunoglobulines E et l'activité du complément tout en préservant son effet biologique. L'inconvénient majeur de l'absence de dilution est qu'il faut ainsi une quantité de sérum autologue plus importante pour un traitement au long cours contraignant alors à multiplier les prises de sang. L'avantage, outre une efficacité supposée meilleure, est l'absence de manipulation liée à la dilution permettant ainsi de limiter les risques de contamination [13].

PROBLÈMES PRATIQUES LIÉS À L'UTILISATION DE SÉRUM AUTOLOGUE

- Risque infectieux pour les agents préparant le sérum, en raison de la séropositivité pour l'hépatite B ou C chez les patients prélevés, retrouvé dans 3,3 % des cas [14]. L'utilisation de sérum allogénique chez des donneurs connus permettrait de limiter ce risque.
- Reconstitution du sérum supposant une dilution, donc une manipulation, avec un risque infectieux même si celui-ci semble négligeable. Celle-ci doit néanmoins être effectuée dans des conditions d'asepsie stricte (hotte à flux laminaire).
- Stockage du sérum à court et moyen terme : les travaux initiaux de Tsubota ont montré la très bonne stabilité des facteurs de croissance d'un sérum congelé pendant 3 mois et cette bonne conservation a été confirmée pour une conservation à -20 °C pendant 6 mois [15].
- Durée d'utilisation d'un flacon lors de son utilisation : les études donnent des conditions variables. Certains essais cliniques conditionnent le SA à raison d'un flacon par jour mais d'autres le renouvellent moins fréquemment (entre 1 et 3 semaines). Il semble raisonnable de limiter l'utilisation d'un même flacon à 1 semaine.
- Contrôle bactériologique des flacons avant délivrance et après utilisation (aisé à organiser lors d'essais cliniques mais plus complexe en cas de généralisation de la méthode) : les auteurs retrouvent une contamination des flacons de SA dans six des onze flacons après 1 mois de traitement. Une série récente fait état de 6,12 % de culture positive avec un taux non négligeable de mycoses en Thaïlande sans qu'aucun patient n'ait développé d'infection clinique [16].

ALTERNATIVES À L'UTILISATION DU SÉRUM AUTOLOGUE

La difficulté à organiser une collecte de sang pour reconstituer le SA chez les patients atteints de troubles sévères de la surface oculaire a conduit les auteurs à envisager diverses modalités pour obtenir des vitamines et des facteurs de croissance :

- Utilisation d'un milieu riche en facteurs de croissance, identique à celui qui est utilisé pour effectuer des cultures de cellules épithéliales [17].
- utilisation de sérum allogénique « prêt à l'emploi » : cette option est intéressante car elle suppose une préparation de sérum à partir de sang de donneurs mâles de groupe AB (pour éviter la présence d'anticorps anti-A ou B). Les premiers essais semblent montrer une efficacité meilleure dans les KCS que dans les troubles de cicatrisation type PED [18] et méritent d'être confirmés par des essais multicentriques. La même option a d'ailleurs été proposée dans certains cas de rejet du greffon contre l'hôte.
- Apport de facteurs de croissance plus ou moins purifiés : sérum du sang du cordon [19]

CONCLUSION

L'utilisation du sérum autologue est une approche thérapeutique indiquée dans plusieurs affections de la surface oculaire. Il est efficace et facile à préparer, sa généralisation reste problématique en raison des conditions de préparation impliquant les laboratoires de biologie et les centres de transfusion sanguine ; Ceci ne doit pas limiter son utilisation en pratique, et par conséquent ne doit pas priver les patients en besoin des ses avantages.



RÉFÉRENCES

1. Baudouin C. A new approach for better comprehension of diseases of the ocular surface. *J Fr Ophtalmol* 2007; 30: 239-46.
2. Dogru M, Nakamura M, Shimazaki J, Tsubota K. Changing trends in the treatment of dry-eye disease. *Expert Opin Investig Drugs* 2013 ; 22 : 1581-601.
3. Baudouin C, surface oculaire .Rapport de la sfo 2015. Partie 2, chapitre3 .p 188 Elsevier Masson,Paris
4. Research in dry eye : report of the Research Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf* 2007; 5: 179-93.
5. Young AL, Cheng AC, Ng HK, et al. The use of autologous serum tears in persistent corneal epithelial defects. *Eye (Lond)* 2004 ; 18 : 609-14.
6. Rocha EM, Pelegrino FS, de Paiva CS, et al. GVHD dry eyes treated with autologous serum tears. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 1101-3.
7. Hwang J, Chung SH, Jeon S, et al. Comparison of clinical efficacies of autologous serum eye drops in patients with primary and secondary Sjogren syndrome. *Cornea* 2014 ; 33 : 663-7
8. Celebi AR, Ulusoy C, Mirza GE. The efficacy of autologous serum eye drops for severe dry eye syndrome: a randomized double-blind crossover study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2014 ; 252 : 619-26
9. Lopez-Garcia JS, Garcia-Lozano I, Rivas L, et al. Autologous serum eye drops diluted with sodium hyaluronate: clinical and experimental comparative study. *Acta Ophthalmol* 2014 ; 92 : e22-9
10. Jeng BH. Use of autologous serum in the treatment of ocular surface disorders. *Arch Ophthalmol* 2011 ; 129 : 1610-2
11. Jeng BH, Dupps WJ Jr. Autologous serum 50 % eye-drops in the treatment of persistent corneal epithelial defects. *Cornea* 2009; 28 : 1104-8.
12. Tsubota K, Goto E, Shimmura S, Shimazaki J. Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology* 1999; 106: 1984-9.
13. Cho YK, Huang W, Kim GY, Lim BS. Comparison of autologous serum eye drops with different diluents. *Curr Eye Res* 2013 ; 38 : 9-17
14. Weisbach V, Dietrich T, Kruse FE, et al. HIV and hepatitis B/C infections in patients donating blood for use as autologous serum eye drops. *Br J Ophthalmol* 2007; 91: 1724-5.
15. Fischer KR, Opitz A, Boeck M, Geerling G. Stability of serum eye drops after storage of 6 months. *Cornea* 2012 ; 31 : 1313-8
16. Thanathane O, Phanphruk W, Anutarapongpan O, et al. Contamination risk of 100 % autologous serum eye drops in management of ocular surface diseases. *Cornea* 2013 ; 32 : 1116-9.
17. Watson SL, Geerling G, Dart JK. Clinical study of therapeutic ocular surface medium for persistent epithelial defect. *Ophthalmic Res* 2014 ; 51 : 82-7
18. Harritshoj LH, Nielsen C, Ullum H, et al. Ready-made allogeneic ABO-specific serum eye drops: production from regular male blood donors, clinical routine, safety and efficacy. *Acta Ophthalmol* 2014 ; 92 : 783-6
19. Yoon KC, Heo H, Im SK, et al. Comparison of autologous serum and umbilical cord serum eye drops for dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2007 ; 144 : 86-92