



HAL
open science

Prévention des infections fongiques transmises par le greffon aux receveurs d'organes

Laure Chappaz

► **To cite this version:**

Laure Chappaz. Prévention des infections fongiques transmises par le greffon aux receveurs d'organes. Sciences pharmaceutiques. 2010. dumas-00592395

HAL Id: dumas-00592395

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00592395v1>

Submitted on 12 May 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année : 2010

N° :

**PREVENTION DES INFECTIONS FONGIQUES
TRANSMISES PAR LE GREFFON AUX
RECEVEURS D'ORGANES**

THESE PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU TITRE
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
DIPLOME D'ETAT

CHAPPAZ Laure

Née le 29/01/1985 à ANNECY (74)

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Le 05 février 2010

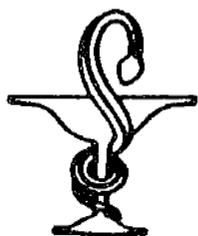
Devant le jury composé de :

- Président du jury : Madame Claudine Pinel, *Docteur en Pharmacie, MCU-PH*
- Maître de thèse : Mme Marie-Pierre Brenier Pinchart, *Docteur en Médecine, MCU-PH*
- Membre : Madame Bernadette Lebeau, *Docteur en Médecine*

Madame Marie-Jeanne Richard, *Docteur en Pharmacie*

Mademoiselle Cécile Barral-Baron, *Docteur en Pharmacie*

La faculté de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.



UFR
DE PHARMACIE
DE GRENOBLE

UNIVERSITE
JOSEPH FOURIER
SCIENCES. TECHNOLOGIE. SANTÉ.



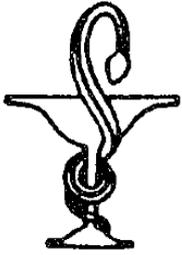
UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE
Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté : Mme le Professeur **Renée GRILLOT**
Vice –Doyen et Directeur des Etudes : Mme **Edwige NICOLLE**

Année 2009-2010

PROFESSEURS A L'UFR DE PHARMACIE (N=17)

BAKRI	Aziz	Pharmacie Galénique et Industrielle, Formulation et Procédés Pharmaceutiques (LR)
BOUMENDJEL	Ahcène	Chimie Organique (D.P.M.)
BURMEISTER	Wilhelm	Physique (U.V.H.C.I)
CALOP	Jean	Pharmacie Clinique (PU-PH)
DANEL	Vincent	Toxicologie (SMUR SAMU / PU-PH)
DECOUT	Jean-Luc	Chimie Inorganique (D.P.M.)
DROUET	Christian	Immunologie Médicale (GREPI – TIMC)
DROUET	Emmanuel	Microbiologie (U.V.H.C.I)
FAURE	Patrice	Biochimie (HP2 / PU-PH)
GODIN-RIBUOT	Diane	Physiologie – Pharmacologie (HP2)
GRILLOT	Renée	Parasitologie - Mycologie Médicale (Directeur UFR / LAPM, PU-PH)
LENORMAND	Jean Luc	Ingénierie Cellulaire, Biothérapies (Therex, TIMC)
PEYRIN	Eric	Chimie Analytique (D.P.M.)
SEVE	Michel	Biochimie - Biotechnologie (IAB, PU-PH)
RIBUOT	Christophe	Physiologie - Pharmacologie (HP2)
ROUSSEL	Anne-Marie	Biochimie Nutrition (L.B.F.A)
WOUESSIDJEW	Denis	Pharmacotechnie (D.P.M.)



UFR
DE PHARMACIE
DE GRENOBLE

UNIVERSITE
JOSEPH FOURIER
SCIENCES. TECHNOLOGIE. SANTÉ.



PROFESSEUR EMERITE (N=1)

FAVIER

Alain

PROFESSEURS ASSOCIES (PAST) (N=2)

RIEU
TROUILLER

Isabelle
Patrice

Qualitologie (Praticien Attaché - CHU)
Santé Publique (Praticien Hospitalier - CHU)

PROFESSEUR AGREGE (PRAG) (N=1)

GAUCHARD

Pierre Alexis

Chimie (D.P.M.)

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire

HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire

IAB : Institut Albert Bonniot

LBFA : Laboratoire de Bioénergétique Fondamentale et Appliquée

LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie

LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques

PAST : Professeur Associé à Temps Partiel

PRAG : Professeur Agrégé

UVHCI: Unit of Virus Host Cell Interactions



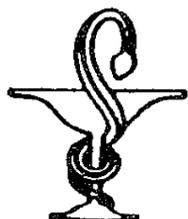
UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE
Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté : Mme le Professeur Renée GRILLOT
Vice –Doyen et Directeur des Etudes : Mme Edwige NICOLLE

Année 2009-2010

MAITRES DE CONFERENCES DE PHARMACIE (n = 32)

ALDEBERT	Delphine	Parasitologie - Mycologie (L.A.P.M)
ALLENET	Benoît	Pharmacie Clinique (ThEMAS TIMC-IMAG / MCU-PH)
BATANDIER	Cécile	Nutrition et Physiologie (L.B.F.A)
BRETON	Jean	Biologie Moléculaire / Biochimie (L.C.I.B - LAN)
BRIANCON-MARJOLLET	Anne	Physiologie Pharmacologie (HP2)
BUDAYOVA SPANO	Monika	Biophysique (U.V.H.C.I)
CAVAILLES	Pierre	Biologie Cellulaire et génétique (L.A.P.M)
CHOISNARD	Luc	Pharmacotechnie (D.P.M)
DELETRAZ-DELPORTE	Martine	Droit Pharmaceutique
DEMEILLIERS	Christine	Biochimie (L.B.F.A.)
DURMORT-MEUNIER	Claire	Biotechnologies (I.B.S.)
GEZE	Annabelle	Pharmacotechnie (D.P.M.)
GERMI	Raphaële	Microbiologie (U.V.H.C.I. / MCU-PH)
GILLY	Catherine	Chimie Thérapeutique (D.P.M.)
GROSSET	Catherine	Chimie Analytique (D.P.M.)
GUIEU	Valérie	Chimie Analytique (D.P.M)
HININGER-FAVIER	Isabelle	Biochimie (L.B.F.A)
JOYEUX-FAURE	Marie	Physiologie –Pharmacologie (HP2)
KRIVOBOK	Serge	Biologie Végétale et Botanique (L.C.B.M)
MOUHAMADOU	Bello	Cryptogamie, Mycologie Générale (L.E.C.A)
MORAND	Jean-Marc	Chimie Thérapeutique (D.P.M.)
MELO DE LIMA	Christelle	Probabilités Biostatistiques (LE.C.A)
NICOLLE	Edwige	Chimie Organique (D.P.M.)
PEUCHMAUR	Marine	Chimie Organique (D.P.M)
PINEL	Claudine	Parasitologie - Mycologie Médicale (CIB / MCU-PH)
RACHIDI	Walid	Biochimie (L.C.I.B)
RAVEL	Anne	Chimie Analytique (D.P.M.)
RAVELET	Corinne	Chimie Analytique (D.P.M.)
SOUARD	Florence	Pharmacognosie (D.P.M)
TARBOURIECH	Nicolas	Biophysique (U.V.H.C.I.)
VANHAVERBEKE	Cécile	Chimie organique (D.P.M.)
VILLET	Annick	Chimie Analytique (VP Form Adjoint UJF, D.P.M.)



ENSEIGNANTS ANGLAIS (N = 3)

COLLE Pierre Emmanuel	Maître de Conférence
FITE Andrée	Professeur Certifié
GOUBIER Laurence	Professeur Certifié

ATER (N = 5)

ATER	ELAZZOZI Samira	Pharmacie Galénique
ATER	SHEIKH HASSAN Amhed	Pharmacie Galénique
ATER	MAS Marie	Anglais Master ISM
ATER	ROSSI Caroline	Anglais Master ISM
ATER	SAPIN Emilie	Physiologie Pharmacologie

ATER : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CIB : Centre d'Innovation en Biologie

DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire

HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire

IAB : Institut Albert Bonniot, Centre de Recherche « Oncogenèse et Ontogenèse »

IBS : Institut de Biologie Structurale

LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes

LBFA : Laboratoire de Bioénergétique Fondamentale et Appliquée

LCBM : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux

LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie

LECA : Laboratoire d'Ecologie Alpine

TIMC-IMAG : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation et de Cognition

UVHCI : Unit of Virus Host Cell Interactions

Remerciements

À Madame Claudine Pinel, pour m'avoir fait l'honneur de présider mon Jury et pour son enseignement.

À Madame Marie-Pierre Brenier Pinchart, pour m'avoir fait l'honneur de diriger mon travail avec la plus grande attention. Merci pour votre disponibilité, vos conseils avisés et votre gentillesse.

À Madame Bernadette Lebeau, pour m'avoir fait l'honneur de participer à mon Jury. Merci pour m'avoir proposé ce sujet et m'avoir guidée tout au long de mon travail.

À Madame Marie-Jeanne Richard, pour m'avoir fait l'honneur de participer à mon Jury. Merci pour tout l'intérêt que vous avez porté à mon travail et pour votre aide précieuse.

À Cécile Barral-Baron, pour m'avoir fait l'honneur de participer à mon Jury. Merci pour ton soutien, ton amitié et tous les bons moments passés ensemble.

À Monsieur Marc Padilla, pour m'avoir aidée à finaliser mon travail.

À Madame Annie Diruscio, pour toutes les informations que vous m'avez fournies, pour votre gentillesse, votre disponibilité. Merci encore pour tout le temps que vous m'avez accordé.

À mes parents, merci pour votre soutien aussi bien moral que financier au cours de ces 6 années, merci de m'avoir encouragée à réaliser mes projets. Je remercie tout particulièrement ma mère pour avoir relu plusieurs fois mon travail et corrigé mes fautes.

À mon frère Rémi que j'adore, merci pour ta joie de vivre, ta bonne humeur et ton optimisme légendaire. Avec le regret que tu ne puisses pas assister à ma soutenance parce que tu préfères migrer au pays des lapons. Reviens nous vite !

À mes grands-parents, mes oncles, mes tantes, mes cousins et cousines, vous êtes tous géniaux, merci d'être toujours présent, en espérant qu'on restera toujours une famille aussi soudée.

À mes dindes : Popo, Banou, Sophie Roure, Anne-So, Fannyk, Romynik, Cilou, Barnéoude, Zezette, merci pour tous les bons moments passés ensemble, merci d'être des copines aussi rigolotes, pour que ça continue ainsi encore de longues années ! Je vous souhaite plein de bonheur et de réussite.

À mes dindons : Mig, Henri, Lolo, Flouxi, Dav de gar, complètement décalés et c'est pour ça qu'on vous aime !

À Jenni et Virginie, merci d'avoir été des colocs de choc, je n'oublierai jamais cette année passée avec vous.

À Cédric, merci pour ton amitié de longue date, ta gentillesse, ton écoute, je te souhaite plein de bonheur à Dijon pour ta nouvelle vie.

À Stéphane et Fabien, merci d'avoir été des supers voisins, merci pour les mousses au chocolat et les soirées hamburger.

À toute l'équipe de la pharmacie Grabit et à Monsieur Grabit, pour tout ce que vous m'avez appris sur l'officine au cours de mon stage de 6^{ème} année, merci d'avoir tous été aussi gentils et attentionnés envers moi.

Table des matières

Remerciements	6
Abréviations.....	12
Introduction	13
1 Transplantation et risque infectieux.....	14
1.1 La transplantation.....	14
1.1.1 Présentation	14
1.1.2 Organisation opérationnelle des transplantations.....	15
1.1.3 Epidémiologie	19
1.2 Le risque infectieux en transplantation.....	22
1.2.1 Epidémiologie	22
1.2.2 Profil des infections post transplantation	23
1.3 Les infections fongiques en transplantation	26
1.3.1 Facteurs de risque	26
1.3.2 Les principaux agents fongiques en cause	29
1.3.3 Mécanismes des infections fongiques.....	32
2 Données de la littérature et de l'Agence de la biomédecine	34
2.1 Cas de contamination fongique de greffon	34
2.1.1 Revue de littérature	34
2.1.2 Les différentes études françaises menées sur la transmission d'agents fongiques par le greffon aux receveurs d'organes.....	48
2.2 Recommandations de l'Agence de la biomédecine sur «la prévention de la transmission d'agents bactériens et fongiques aux receveurs d'organes»	54
2.2.1 Prélèvements biologiques recommandés pour détection des agents fongiques	55
2.2.2 Surveillance du ou des receveur(s) en cas de liquide de conservation contaminé et/ou de brèche digestive	58
2.2.3 Signalement d'un événement indésirable.....	59
3 Etat des lieux au CHU de Grenoble	60

3.1	Prévention de la transmission d'agents fongiques par le greffon aux receveurs d'organes	60
3.1.1	Donneur : prélèvements et analyses mycologiques actuellement effectués	60
3.1.2	Liquide de conservation des organes : prélèvements et analyses mycologiques actuellement effectués.....	63
3.1.3	Receveur : prélèvements et analyses mycologiques actuellement effectués	65
3.2	Gestion du risque infectieux en cas de liquide de conservation contaminé et/ou de brèche digestive.....	68
3.2.1	Biovigilance des liquides de conservation.....	68
3.2.2	En cas de brèche digestive lors du prélèvement.....	70
3.3	A propos de 5 cas de contamination fongique de liquides de conservation des organes	70
4	Procédures d'application des recommandations de l'Agence de la biomédecine au CHU de Grenoble.....	77
4.1	Propositions pratiques pour la mise en application des recommandations.....	77
4.2	Procédure destinée à la coordination hospitalière : « biovigilance des liquides de conservation »	78
4.3	Procédure destinée au laboratoire de mycologie : « analyses mycologiques/ greffes d'organes solides »	80
	Conclusion	83
	Références bibliographiques	84
	Annexes	88
	Serment des apothicaires.....	104

Liste des tableaux

Tableau I : Prélèvements d'organes en 2008 [Rapport d'activité de l'ABM 2008]	19
Tableau II : Evolution du nombre de greffes d'organes entre 2005 et 2008, en France et au CHU de Grenoble [Rapport d'activité de l'ABM 2008 et données du CHU de Grenoble].....	20
Tableau III : Evolution du nombre d'inscrits en liste d'attente de 2003 à 2009 (au 1er janvier de l'année 2009) auquel s'ajoutent ceux inscrits dans l'année [Rapport d'activité de l'ABM 2008]	20
Tableau IV: Infections en transplantation rénale : agents infectieux impliqués, site d'infection et mortalité [synthèse de l'étude d'Alangaden et al].....	23
Tableau V: Facteurs de risque d'infections fongiques en fonction du type de transplantation [tableau réalisé à partir des études de Robert-Gangneux, Morelon, Calmus et Abbott]	28
Tableau VI : Cas de contamination fongique de greffons, rapportés dans la littérature entre 1999 et 2009.....	40
Tableau VII : Résultats de mise en culture fongique, d'échantillons prélevés chez les receveurs de reins, en fonction des manifestations cliniques [tableau réalisé à partir de l'article d'Albano et al.]..	50
Tableau VIII : Prise en charge médicamenteuse et chirurgicale des receveurs d'organes infectés à <i>Candida sp</i> et évolution [tableau réalisé à partir de l'article d'Albano et al.]	50
Tableau IX : Liquide de conservation contaminé avec effet indésirable chez le receveur, survenu en France en 2006 [recommandation de l'ABM, septembre 2008].....	52
Tableau X : Liquides de conservation contaminés avec effet indésirable grave chez le receveur, survenu en France en 2008 [Rapport biovigilance de l'AB 2008].	53
Tableau XI : Liquides de conservation contaminés sans effet indésirable grave chez le receveur, survenu en France en 2008 [rapport biovigilance 2008].	53
Tableau XII : Prélèvements biologiques pour examens mycologiques recommandés par l'ABM au cours des différentes étapes de transplantation [tableau de synthèse des recommandations de l'ABM, septembre 2008].	56
Tableau XIII : Surveillance du receveur d'organe en cas de LCO contaminé et /ou de brèche digestive [tableau de synthèse des recommandations de l'ABM].	58
Tableau XIV: Techniques de laboratoire du CHU de Grenoble pour l'analyse de prélèvements réalisés sur donneurs d'organes.....	61
Tableau XV: Analyses mycologiques effectuées sur 10 donneurs au CHU de Grenoble.	62
Tableau XVI : Analyses mycologiques effectuées sur 20 LCO et 20 receveurs dans les 15 jours post greffe, au CHU de Grenoble.	67

Tableau XVII : Cas de contamination fongique de LCO et conséquences pour les receveurs, rapportés au CHU de Grenoble entre le 12/2006 au 11/2009.	75
Tableau XVIII : Analyses mycologiques/greffes d'organes solides [basée sur les recommandations de l'ABM, septembre 2008]	82

Liste des figures

Figure 1 : Evolution de l'activité de prélèvement sur les personnes en état de mort encéphalique [Rapport d'activité de l'ABM 2008].....	19
Figure 2 : Délais de survenue selon le type d'infection après transplantation [d'après Fishman]	24
Figure 3: Distribution des espèces à l'origine d'infections fongiques invasives dans une population de transplantés d'organe solide [Calmus et al.].....	29

Abréviations

ABM : Agence de la Biomédecine

AFFSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé

BA : BronchoAspiration

CdD : Cause de Décès

CH : Coordination Hospitalière

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CMV : Cytomégalovirus

DRASS : Direction Régionale des Affaires Sanitaires et Sociales

EBV : Epstein-Barr Virus

EFG : Établissement Français des Greffes

ITU : Infection du Tractus Urinaire

LBA : Lavage BronchoAlvéolaire

LCO : Liquide de Conservation des Organes

Pmh : Par million d'habitants

PMO : Prélèvement Multi-Organe

PTA : Produit Thérapeutique Annexe

RNR : Registre National de Refus

SAMS : *Staphylococcus Aureus* Sensible à la Méricilline

SRA : Service de Régulation et d'Appui

VHB : Virus de l'Hépatite B

VHC : Virus de l'Hépatite C

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

Introduction

En transplantation d'organe, l'utilisation d'immunosuppresseurs au long cours et les facteurs de risques propres au type de greffe favorisent la survenue de complications infectieuses. Si la majorité de ces infections demeure bactérienne et virale, les agents fongiques tiennent un rôle non négligeable dans la survenue d'infections post greffe. Les infections fongiques des receveurs sont souvent dues à une contamination exogène, liées à l'exposition environnementale ou endogène par la colonisation préalable du receveur [24]. Il faut désormais évoquer la possibilité de transmission d'agents fongiques aux receveurs via le greffon. En effet de nombreux cas de colonisation de greffon par des champignons ont été rapportés dans la littérature ces 10 dernières années [4,6,15,21,22,28]. Si cette situation demeure assez rare, elle ne doit pas pour autant être négligée car elle peut être à l'origine de conséquences gravissimes menant à la perte du greffon voire au décès du receveur [15,16,18, 21,28]. En France en 2006, l'Agence de la biomédecine (ABM) a recensé 2 décès et 8 détransplantations consécutives à ce type d'infection [39].

C'est dans ce contexte que l'ABM a publié, en septembre 2008, des recommandations pour la : « prévention de la transmission de bactéries et d'agents fongiques aux receveurs d'organes ». Ces recommandations répertorient tous les prélèvements en vue d'analyses fongiques et bactériologiques à effectuer sur les donneurs, les receveurs et le liquide de conservation des organes (LCO), ainsi que les conduites à tenir en cas de contamination. Si la réalisation d'analyses bactériennes et de sérologies virales est aujourd'hui systématique sur tous les donneurs et receveurs d'organes, cela ne semble pas encore le cas pour la recherche d'agents fongiques.

L'objectif final de ce travail était de rédiger des procédures courtes et claires facilitant la mise en application des recommandations de l'ABM, au CHU de Grenoble, en matière de gestion du risque de transmission d'agents fongiques aux receveurs d'organes.

Dans un premier temps, nous aborderons de façon générale la transplantation et le risque infectieux. Dans un second temps, nous reviendrons sur les différents cas de contamination fongique de greffons publiés dans la littérature et nous détaillerons les recommandations de l'ABM concernant la gestion du risque fongique. Enfin, un état des lieux au CHU de Grenoble, nous permettra de connaître ce qui est fait actuellement en termes de prévention des contaminations fongiques et nous proposerons des procédures pour remédier à d'éventuelles discordances par rapport aux recommandations.

1 Transplantation et risque infectieux

1.1 La transplantation

1.1.1 Présentation

Depuis la première greffe rénale interhumaine réalisée en Russie, en 1933, à partir d'un donneur à cœur arrêté et qui s'est avérée sans succès, la greffe d'organe est devenue aujourd'hui une thérapeutique phare dans la prise en charge des insuffisances d'organe terminales.

En France, les premières greffes d'organes ont été réalisées en 1951, 2 reins prélevés sur un sujet guillotiné furent greffés à 2 receveurs dont la survie fut de 17 et 19 jours [7]. Les premières greffes cardiaques, pulmonaires et hépatiques ne furent réalisées que bien plus tard, une dizaine d'année après les premières greffes rénales. L'apparition de technique efficace d'hémodialyse en 1962 a permis de promouvoir la greffe rénale, du fait de son possible recours en cas d'échec. Les greffes rénales à partir de donneurs à cœur arrêté ne vont donc cesser d'augmenter de 1962 à 1968 et persister jusqu'en 1990. Mais ce type de donneurs va progressivement perdre son intérêt car, en 1968, les textes ministériels français reconnaissent la mort encéphalique comme mort du sujet, autorisant les prélèvements à visée thérapeutique sur des sujets à cœur battant [7]. Toutefois malgré cette avancée et les progrès réguliers des techniques chirurgicales, les indications de greffe restent limitées à cause des rejets de greffe mal gérés par les corticoïdes. La nouvelle étape déterminante est la découverte des immunosuppresseurs modernes, avec l'apparition de la ciclosporine en 1982. Le nombre de greffes explosent alors, passant de 650 en 1982 à 2400 cinq ans plus tard, tous types d'organes confondus.

L'apparition et le développement de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine, puis le problème de sang contaminé, provoquent une inquiétude et une perte de la confiance de la population vis-à-vis des structures de santé. Il s'en suit une baisse brutale et prolongée du nombre de donneurs [7]. Ces évènements amènent le gouvernement à réglementer les prélèvements et les greffes d'organes et à redéfinir les règles de sécurité sanitaire. Ainsi voient le jour, en 1994, deux lois de bioéthique [32]. Elles imposent le remplacement de France Transplant, organisme privé à but non lucratif, par un établissement public d'état, l'Etablissement Français des Greffes (EFG). Elles redéfinissent les grands principes éthiques régissant le don d'organes et de tissus : le respect du consentement implicite du donneur, la gratuité du don, l'anonymat du donneur et du receveur. Elles ont également pour but

l'encadrement strict de l'ensemble du processus de prélèvement et de greffe, qu'il s'agisse de :

- la constatation de mort
- l'organisation du prélèvement
- règles de sécurité sanitaire relatives aux greffons, avec notamment les analyses bactériologiques, virales et parasitaires à réaliser sur les donneurs et la définition de contre-indications absolues ou relatives de prélèvement en cas d'infections du donneur
- la conservation et transport des greffons
- la réalisation des greffes et de leurs résultats [32].

La révision de la loi de bioéthique en 2004 substitue l'ABM à l'EFG, qui a les mêmes missions concernant le prélèvement et les greffes, et des missions étendues à l'assistance médicale, à la procréation, à la recherche sur l'embryon et la génétique [32].

1.1.2 Organisation opérationnelle des transplantations

1.1.2.1 Le prélèvement d'organe

L'organisation d'un prélèvement d'organe est complexe compte tenu du nombre important d'intervenants et surtout du contexte d'urgence. Cette organisation repose sur différents acteurs, tous supervisés par l'ABM [7,32] :

- les hôpitaux, universitaires ou non, ayant l'autorisation de prélèvement d'organes et de tissus donnée par leur direction régionale des affaires sanitaires et sociales (DRASS), après avis de l'ABM. Ces hôpitaux s'organisent en réseau avec les établissements de santé voisins non autorisés à prélever
- les acteurs de soins hospitaliers (SAMU, réanimateurs, urgentistes...) sont chargés de repérer les patients qui, malgré des soins adaptés vont décéder et peuvent être des donneurs potentiels
- la Coordination Hospitalière (CH) de prélèvements d'organes et de tissus est constituée de médecins et d'infirmières formés par l'ABM qui assurent l'organisation et la réalisation des prélèvements d'organes et de tissus
- le service de régulation et d'appui (SRA) sont des services de l'ABM répartis par interrégions, ils sont composés de médecins et de cadres animateurs réseaux. Leur principale mission est de répartir de façon équitable les greffons prélevés et font le lien entre le donneur et les différents receveurs.

Dès lors qu'un patient présente des signes cliniques de mort encéphalique toute une procédure doit être mise en place entre les membres de la CH et les équipes de réanimation de l'hôpital [32] :

- ventilation du donneur potentiel en l'absence de contre-indication absolue de don
- confirmation de tous les signes cliniques de mort encéphalique et élimination de facteurs confondants, confirmation paraclinique de la mort encéphalique par un ECG ou angiographie
- confirmation de l'absence d'opposition à un prélèvement sur le registre national de refus (RNR)
- entretien avec les proches pour annoncer le décès et parler du don
- l'équipe de soins assure l'homéostasie du corps du donneur potentiel pour assurer la viabilité des organes
- recueil des antécédents médicaux du donneur
- prélèvements biologiques sur le donneur en vue d'analyses bactériologiques, fongiques et virales ainsi que pour la qualification immunitaire du donneur : HLA, groupe ABO.

La coordination hospitalière rentre toutes les données concernant le donneur dans la base de données nationale CRISTAL, ce qui permet de les rendre anonymes et donne leur accès aux centres s'occupant des receveurs. Toutes ces données doivent être adressées en temps réel au SRA de l'Agence de biomédecine qui contrôle la qualification du donneur et de ses organes, et commence la recherche d'un receveur adapté.

Les équipes de greffes en charge de ces receveurs sont alors contactées par le SRA pour venir à l'hôpital où se trouve le donneur afin d'assurer le prélèvement de l'organe dont elles ont besoin. Cela impose de mettre en œuvre très rapidement jusqu'à 4 équipes chirurgicales différentes en cas de prélèvements multi-organes ou PMO, choisies sur le territoire national, voire à l'étranger et d'organiser leur transport pour que puissent être assurés de façon simultanée les différents prélèvements. Au moment du clampage aortique qui interrompt la circulation sanguine débute l'ischémie froide des organes.

1.1.2.2 La conservation

Après lavage vasculaire des organes par un liquide de conservation réfrigéré (4°C), on rentre dans la phase de conservation de l'organe. Les organes sont emballés et placés dans un

liquide de conservation des organes (LCO) à l'intérieur de conteneurs spéciaux remplis de glace (maintien de la température entre 2 et 4°C).

L'hypothermie constitue le principe de base de conservation des organes, la baisse de la température des tissus, aux alentours de 4°C, réduit de 95% les besoins en oxygène des cellules et adapte leur métabolisme à la situation d'anoxie. Les LCO sont formulés pour atténuer les effets de l'ischémie, et leur efficacité dépend à la fois de leur composition et du type d'organe.

Ils sont composés :

- d'agents imperméants : saccharides (mannitol, sucrose, raffinose), colloïdes (hydroxyethyl amidon, dextran, polyéthylène glycol) et anions (phosphate, sulfate, lactobionate, gluconate), ces molécules permettent de réduire l'œdème cellulaire en maintenant une osmolarité extracellulaire suffisante
- d'antioxydant, le glutathion neutralise la formation de radicaux libres lors de la reperfusion
- d'électrolytes : potassium et sodium
- d'un système tampon : phosphates ou histidine pour prévenir l'acidose
- de précurseurs d'ATP : adénosine et phosphate, ils stimulent le métabolisme énergétique lors de la reperfusion du greffon [32].

Il existe différents types de LCO dont l'indication dépend de l'organe à conserver. Pour la conservation des viscères, 4 solutions semblent s'imposer [32] :

- Crustiol® (ou HTK), de faible coût et de manipulation aisée, cette solution permet une bonne conservation des viscères intra abdominaux (foie, reins, pancréas) mais pour une durée limitée
- Viaspan® ou solution de Belzer (UW), garantie une conservation prolongée pour le foie, rein et pancréas
- Celzior®, développé récemment par un laboratoire français (Sanofipasteur), cette solution constitue un mélange des concepts l'UW et de l'HTK, elle a été formulée spécifiquement pour la conservation des greffons cardiaque [32].
- Euro-Collins®, utilisée pour la conservation des poumons.

La surveillance des LCO relève de la biovigilance ; ce LCO est considéré comme un produit thérapeutique annexe (PTA) car ce produit thérapeutique rentre en contact avec des organes.

1.1.2.3 La transplantation

Les receveurs sont déjà préparés au bloc opératoire lors de l'arrivée de l'organe, ils ont été pris en charge pendant le temps de prélèvement de l'organe et le transport. La reperfusion de l'organe après anastomose artérielle et veineuse marque la fin de l'ischémie froide du greffon. Le temps d'ischémie froide lors d'une transplantation doit être réduit au maximum, le temps toléré varie selon les organes, il est de moins de 4 heures pour le cœur et va jusqu'à 30 heures pour le foie [32]. La multitude des tâches à réaliser entre la prise en charge d'un donneur en état de mort encéphalique et la greffe du receveur doit être faite en 12 à 24 heures suivant la précarité de la situation de ces donneurs [32].

1.1.2.4 La biovigilance

La surveillance des événements indésirables survenant au cours des activités de prélèvement et de greffe d'organes, de tissus et de cellules souches relève de la biovigilance « organe ». L'agence française de sécurité sanitaire et des produits de santé (AFSSAPS) est l'autorité compétente en matière de biovigilance, elle s'appuie sur un réseau national de structures et d'établissements de santé qui inclut l'ABM. L'AB et les établissements de santé disposent d'un correspondant local de biovigilance (CLB). Le CLB doit relever tous les incidents survenant au cours du processus de transplantation tels que les erreurs de groupe sanguin chez les receveurs, les qualifications de donneurs non-conformes, les tumeurs chez les donneurs, la contamination mycologique des LCO ainsi que les éventuels effets indésirables sur les receveurs en découlant : infections, tumeurs, détransplantations, décès [35]. En cas d'effet indésirable sur le receveur une déclaration de biovigilance doit être faite au CLB de l'ABM et à l'AFSSAPS. Chaque année, le CLB de l'ABM doit rédiger un rapport annuel reprenant les événements indésirables survenus dans le cadre de la transplantation d'organe [35].

En cas d'évènements indésirables chez un donneur ou un receveur la CH doit avant tout alerter le SRA qui transmet l'information à toutes les équipes en charge des receveurs d'organes issus du même PMO. La gestion de l'alerte qui revêt un caractère d'urgence, est assurée 24h sur 24, 7 jours sur 7 par le SRA de l'AB.

1.1.3 Epidémiologie

1.1.3.1 Activité de prélèvement

En 2008, le taux global de prélèvement au niveau national est de 25,3 par millions d'habitants (pmh) en tenant compte des sujets décédés par mort encéphalique et de ceux décédés après arrêt cardiaque.

Personnes en état de mort encéphalique recensées	3181 soit 50,2 pmh
Personnes en état de mort encéphalique prélevées	1563 soit 24,6 pmh
Personnes décédées après arrêt cardiaque prélevées	47 soit 0,7 pmh
Pourcentage d'opposition	30,7% des personnes recensées
Personnes vivantes prélevées	232 soit 3,6 pmh

Tableau I : Prélèvements d'organes en 2008 [Rapport d'activité de l'ABM 2008]

On distingue 3 types de donneurs : les donneurs en état de mort encéphalique, les donneurs à cœur arrêté et les donneurs vivants.

Les personnes en état de mort encéphalique représentent la principale source de donneur (85% des donneurs). Après une constante progression ces 5 dernières années, les activités de recensement et de prélèvement de ce type de donneurs marque un pallier en 2008 (figure 1).

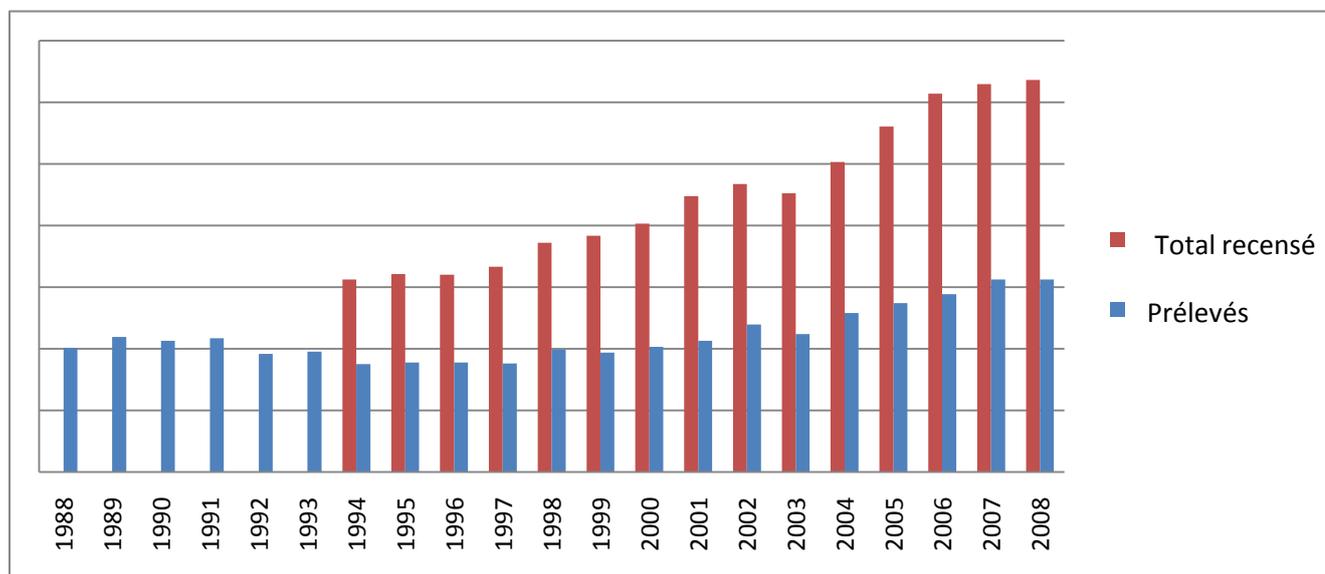


Figure 1 : Evolution de l'activité de prélèvement sur les personnes en état de mort encéphalique [Rapport d'activité de l'ABM 2008]

Le prélèvement sur donneur vivant reste encore limité en France malgré l'extension du lien de parenté entre donneur vivant et receveur par la loi de bioéthique de 2004. Sont autorisés à être

donneurs vivants : les pères ou mères, les frères et sœurs, les conjoints et plus récemment les filles et fils, les oncles, tantes et cousins.

Les donneurs à cœur arrêté ne représentent que 2,5% des donneurs et ce type de prélèvement n'est à nouveau autorisé que depuis août 2005. Dans un premier temps, il ne concerne que les greffes de rein.

1.1.3.2 Activité de greffe

Le nombre de personnes greffées est une bonne représentation de l'activité de greffe. Après une croissance constante du nombre de greffés depuis 1996, en 2008 la tendance s'inverse avec un déclin de 1% par rapport à 2007 (tableau II). Malgré tout, l'activité en 2008 a augmenté de 35,5% par rapport à 2003. D'autre part, le nombre de patients en attente de greffe ne cesse d'augmenter (tableau III). Ceci soulève l'un des principaux problèmes actuels, la pénurie des greffons. Cette pénurie peut se mesurer par le nombre total de candidats à une greffe pour un greffon, de 2,0 candidats par greffon en 2007, elle atteint 2,2 candidats par greffon en 2008 [38].

	2005		2006		2007		2008	
	France	Grenoble	France	Grenoble	France	Grenoble	France	Grenoble
Cœur	339	11	358	7	366	10	360	14
Cœur-poumon	21	-	22	-	20	-	19	-
Foie	1024	25	1037	24	1061	32	1011	29
Intestin	6	-	8	-	6	-	13	-
Ilôts pancréatique	92	8	90	4	99	5	84	4
Poumon	184	13	182	9	203	6	196	9
Rein	2572	85	2731	73	2912	106	2937	101
Total	4238	142	4428	117	4667	159	4620	157

Tableau II : Evolution du nombre de greffes d'organes entre 2005 et 2008, en France et au CHU de Grenoble [Rapport d'activité de l'ABM 2008 et données du CHU de Grenoble]

	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Cœur	745	734	711	707	748	778
Cœur-poumon	87	82	73	76	58	77
Foie	1516	1608	1693	1785	1920	1945
Intestin	16	12	19	22	27	39
Pancréas	295	311	312	293	275	265
Poumon	308	350	316	348	388	418
Rein	7863	8481	8868	9274	9725	10180
Total	10830	11578	11992	12496	13120	13698

Tableau III : Evolution du nombre d'inscrits en liste d'attente de 2003 à 2009 (au 1er janvier de l'année 2009) auquel s'ajoutent ceux inscrits dans l'année [Rapport d'activité de l'ABM 2008]

1.1.3.3 De la pénurie d'organes à l'utilisation de greffons marginaux :

La réussite grandissante des transplantations en termes de qualité de vie et de durée de vie, entraîne une augmentation des indications de greffes. Parallèlement, le nombre de prélèvements d'organes augmente régulièrement également, passant de 18 donneurs par millions d'habitants (pmh) en 2000 à 25,3 donneurs pmh en 2008. Cependant l'inscription des malades sur les listes d'attente de greffe augmente plus vite que le nombre de donneurs ce qui conduit à une pénurie de greffons disponibles.

Il est donc devenu capital de développer d'autres sources de donneurs. La voie la plus facile pour les greffes rénales est d'augmenter le recours aux donneurs vivants. Aux Etats-Unis, les greffons rénaux sont prélevés dans 30 à 40% des cas sur des donneurs vivants alors qu'en France ce taux atteint 7,6% en 2008 [7]. La deuxième source de donneurs est le prélèvement sur donneurs à cœur arrêté. Par l'arrêté du 2 août 2005, l'ABM autorise de nouveau cette activité et a mis en place un programme pour développer ce type de prélèvement [7]. La pénurie d'organes a également obligé une extension des critères de sélection des donneurs, la sélection des greffons « idéaux » n'est plus possible, on a recours à des greffons dit « marginaux ». Ces greffons sont prélevés sur des « donneurs limites » [32] :

- d'âge élevé qui peut atteindre, voire dépasser 80 ans
- atteints de pathologies infectieuses bactériennes, fongiques ou virales sauf pour le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), les maladies à prion et HTLV1, qui demeurent des contre- indications absolues
- présentant une pathologie cancéreuse
- atteint d'une maladie générale
- faisant l'objet d'une intoxication particulière.

Actuellement, très peu de critères demeurent des contre-indications absolues au prélèvement, la décision d'utiliser ou non un greffon marginal revient aux équipes de prélèvements et de greffes, mais surtout au receveur qui doit être informé des risques encourus. La transplantation de greffons marginaux est un facteur de risque de complication chez le receveur. Le médecin doit donc être d'autant plus vigilant dans l'évaluation du bénéfice/risque pour le receveur : proposer au malade un greffon de moindre qualité du fait du portage d'agent infectieux ou d'un fonctionnement dégradé ou risquer que l'état du malade s'aggrave avant qu'un autre greffon soit proposé.

L'élargissement des critères de sélection des greffons pourrait favoriser la survenue de complications infectieuses, dans ce contexte les cliniciens doivent donc redoubler de vigilance quant à la prévention de la transmission d'agents fongiques, viraux et bactériens aux receveurs d'organes.

1.2 Le risque infectieux en transplantation

1.2.1 Epidémiologie

Le résultat des transplantations d'organes s'est significativement amélioré ces dernières années. Ceci est en partie dû au déclin de la morbi-mortalité liée aux infections. Les articles de la littérature concernent principalement les transplantations rénales, en effet elles représentent près de 2/3 des transplantations, leur étude permet donc d'inclure une population importante. Avant 1980, 60% des receveurs de reins développait au moins une infection grave au cours de la 1^{ère} année post greffe, avec une mortalité qui frôlait les 50%. Bien que la mortalité liée aux infections ait sérieusement diminuée, la complication infectieuse demeure une sérieuse menace sur la réussite des transplantations, c'est la seconde cause de décès en transplantation rénale après les atteintes cardiovasculaires [1].

L'étude la plus récente rapportant l'incidence des infections bactériennes, fongiques et virales en transplantation d'organe et leurs facteurs de risques de survenue a été publiée en 2006 par Alengaden et al. Cette étude rétrospective a été menée de juillet 2001 à février 2004, à l'hôpital de Détroit aux USA et implique 127 transplantés rénaux. Soixante-cinq receveurs ont développé un ou plusieurs épisodes infectieux soit 127 infections au total. Dans le tableau IV, nous avons rapporté, les agents impliqués, les sites d'infections touchés, ainsi que la mortalité associée, lors d'infections en transplantation rénale. Bien que l'incidence des infections post transplantation soit élevée (51%), la mortalité attribuée à ces infections est inférieure à 2%. Les infections sont principalement bactériennes (79%), virales (15%) et plus rarement fongiques (6%).

Malgré une incidence faible, les infections fongiques sont associées à un fort taux de mortalité et ne doivent donc pas être négligées. En effet, dans cette étude, les 2 seuls décès observés à la suite d'une infection impliquent des champignons avec une septicémie à *C. albicans* et une infection disséminée à *Rhizopus*.

N=127	Nombre	%	Agents principaux impliqués	Issue
Bactérie	100	79%		Guérison
Virus	19	15%	- 6 CMV - 7 HSV - 1 parvovirus B19 - 3 pneumonies à VSR	Guérison
Champignon	8	6%	- 5 <i>Candida albicans</i> - 2 <i>Candida glabrata</i> - 1 <i>Rhizopus</i>	2 décès
ITU	60	47%	- Entérobactérie (76%): <i>Enterococcus sp</i> , <i>E. coli</i> - 3 cas de <i>Candida sp</i> (5%)	Guérison
Pneumopathie	10	8%	3 VSR, 1 <i>Rhizopus</i> , 1 Influenza A, 1 <i>Mycobacterium kansasii</i> , 1 <i>Staphylococcus aureus</i> , 1 <i>Moraxella catarrhalis</i> , 1 <i>Enterobacter agglomerans</i>	Guérison
Septicémie	10	6%	- 2 fongique à <i>C. albicans</i> et <i>Rhizopus</i> - 8 bactérienne, complication d'ITU	2 décès par infections fongiques
Infection cutanée	8	6%	Bactéries	Guérison
Infection chirurgicale	9	7%	Bactéries	Guérison

Tableau IV: Infections en transplantation rénale : agents infectieux impliqués, site d'infection et mortalité [synthèse de l'étude d'Alangaden et al].

CMV: cytomégalovirus; ITU : infection du tractus urinaire, ISC: infection superficielle cutanée; VSR : virus syncythial respiratoire

1.2.2 Profil des infections post transplantation

Le profil des infections chez les transplantés, que ce soit par les germes impliqués ou le tableau clinique, varie en fonction de la période post transplantation. On distingue les infections nosocomiales précoces survenant dans le premier mois post opératoire, liées à la chirurgie et à la réanimation post transplantation, des infections opportunistes se déclarant entre le premier et le sixième mois, liées à l'immunosuppression intense [7,33]. Quelque soit l'organe transplanté, une table des temps d'apparitions des différentes pathologies infectieuses post greffe a été établie (figure 2). Cette table peut être un outil pour les cliniciens dans le diagnostic différentiel de maladie infectieuse chez les transplantés.

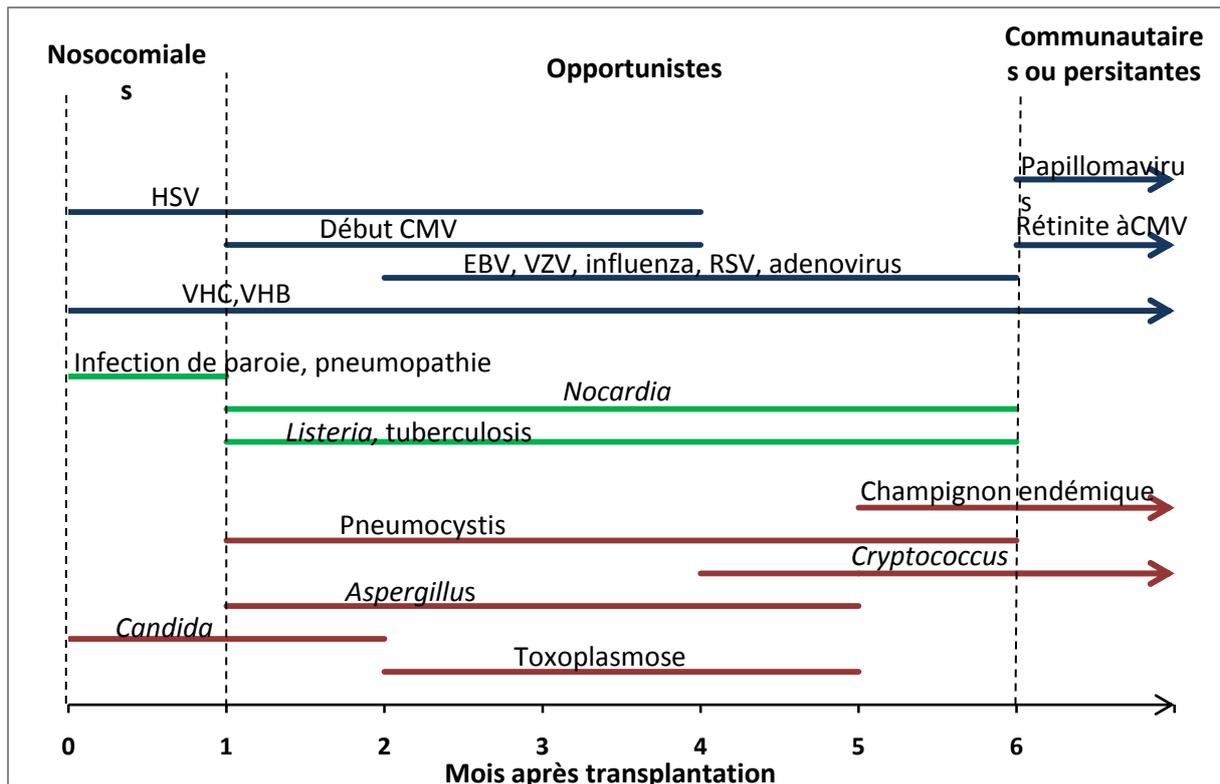


Figure 2 : Délais de survenue selon le type d'infection après transplantation [d'après Fishman]

1.2.2.1 Infections précoces

Deux types d'infections surviennent le premier mois après transplantation. Dans 90% des cas ce sont les mêmes infections nosocomiales du site opératoire, du cathéter central, des poumons ou du tractus urinaire qui surviennent après toute chirurgie chez des sujets immunocompétents [7,12]. Elles impliquent des germes usuels, presque tous bactériens et rarement fongiques [33].

Plus rarement des agents infectieux peuvent être transmis par le greffon, aboutissant à des infections qui se déclarent précocement chez le receveur. Ce n'est que depuis une dizaine d'années que ce type de contamination a été constaté et a fait l'objet de plusieurs articles [4,6, 8,15,18,19,21,22,28]. Dans la plupart des cas, des agents fongiques ou bactériens sont impliqués dans ce type de situation. Quelques cas d'infections disséminées à *Toxoplasma* ou HSV, suite à la contamination d'un organe, ont été rapportés [12]. Bien que ce type de contamination demeure rare, elle n'en est pas moins préoccupante car les conséquences pour les receveurs se sont avérées gravissimes dans certains cas, notamment lorsqu'un agent fongique est impliqué [4,6,15,18,22,28].

1.2.2.2 Infections dans les 6 premiers mois post greffe

A partir de la 3^{ème} semaine post transplantation apparaissent les infections opportunistes, particulières de par leur fréquence et leur gravité sur ces terrains immunodéprimés. Elles correspondent soit à une réactivation d'une infection latente, soit à une primo-infection liée à une exposition environnementale particulière.

Les infections virales sont dominées par le Cytomégalovirus (CMV), avec une incidence globale de 30 à 75% selon les séries [33]. L'immunodépression cellulaire induite par le CMV est à l'origine de fréquentes surinfections bactériennes, fongiques ou parasitaires associées. D'autres virus sont impliqués dans la survenue de pathologies infectieuses chez les transplantés, le HSV avec une fréquence de 35 à 50 % selon les séries, le VZV dont l'incidence est de 3 à 26%, l'EBV atteignant 24 à 45% des receveurs.

Les bactéries impliquées dans la survenue de complication infectieuse post transplantation sont principalement : *Legionella* avec une incidence de 3 à 14%, les mycobactéries touchant 0,5 à 1,7% des patients et plus rarement *Nocardia asteroides* et *Listéria monocytogène*.

La pneumocystose et la toxoplasmose sont 2 infections parasitaires opportunistes fréquemment retrouvées dans les 6 mois suivant la transplantation. *Pneumocystis carinii* est un protozoaire saprophyte commun du poumon, pouvant provoquer chez l'immunodéprimé une pneumopathie interstitielle fébrile. La toxoplasmose a une incidence de 1 à 12% chez les transplantés et peut être plus élevée en transplantation cardiaque [33] La toxoplasmose est une infection parasitaire à *Toxoplasma gondii*, pauci symptomatique chez le sujet immunocompétent, la toxoplasmose est redoutable chez l'immunodéprimé avec atteinte pulmonaire, hépatique, splénique, cardiaque, ophtalmologique, intracrânienne.

Les infections fongiques impliquent principalement les *Candida* et *Aspergillus*. Les candidoses sont les plus fréquentes et les plus précoces. Si elles restent le plus souvent localisées (bouche, tube digestif, appareil urinaire), elles peuvent également être responsables d'infections systémiques gravissimes. Ces candidoses disséminées sont responsables d'une mortalité qui peut atteindre 70% [33]. Les Aspergilloses sont plus rares, elles surviennent avec une incidence de 0,5 à 18% pour l'ensemble des greffes [33]. A partir du 4^{ème} mois post greffe, il y a un risque de contamination à *Cryptococcus neoformans*.

Six mois après transplantation, les doses d'immunosuppresseur sont diminuées, les problèmes infectieux deviennent des infections communautaires banales. Cependant, chez 5 à 10% des transplantés, un rejet chronique du greffon peut être constaté, obligeant une augmentation des

doses immunosuppressives, ils encourent alors les mêmes risques infectieux qu'au cours des 6 premiers mois.

Le patient greffé garde, tout au long de sa vie un risque d'infection bactérienne potentiellement grave comme les pyélonéphrites, l'angiocholite ou la pneumopathie, même si l'incidence est plus faible qu'en post greffe immédiat.

1.3 Les infections fongiques en transplantation

Les infections fongiques touchent 5 à 20% des receveurs d'organe solide et sont souvent responsables de mycoses profondes menaçant la fonctionnalité du greffon voire même le pronostic vital du receveur [12,28]. Lors d'une transplantation d'organes solides, l'émergence d'une infection fongique invasive est fortement favorisée par l'addition de plusieurs facteurs de risque, notamment les traitements immunosuppresseurs et d'autres propres à chaque transplantation (tableau V). Ces mycoses peuvent être dues à une contamination endogène ou exogène du receveur; ou à une colonisation du greffon au cours du processus de transplantation. L'incidence de ces mycoses profondes est en augmentation régulière [24]. Parmi elles, les candidoses et les aspergilloses sont les plus fréquentes [1]. Toutefois, plus rarement, des infections par des micromycètes tels que *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis carinii* et *Histoplasma capsulatum* en zone endémique ont été rapportées, ainsi que des contaminations à champignons filamenteux tels que *Fusarium* et *Altenaria*. La gravité de ces infections fongiques est le résultat de plusieurs facteurs incluant une trop faible vigilance vis-à-vis des agents fongiques, des difficultés diagnostiques, des traitements prophylactiques antifongiques limités du fait de leur toxicité et de l'interaction avec les immunosuppresseurs. Une stratégie préventive est donc de rigueur que ce soit vis-à-vis des réservoirs environnementaux de levure ou des sources endogènes chez le donneur ou receveur.

1.3.1 Facteurs de risque

Le premier facteur de risque infectieux, incontournable chez les transplantés d'organe solide, est l'immunosuppression thérapeutique. Les immunosuppresseurs entraînent une diminution de l'activation et de la prolifération des lymphocytes, favorisant les germes à parasitisme intracellulaire obligatoire ou facultatif. Les premiers jours post transplantation, un traitement immunosuppresseur d'induction puissant (anticorps monoclonaux ou polyclonaux [rituximab,

alemtuzumab] et forte dose de corticoïdes) est administré au receveur pour limiter le risque de rejet, le risque infectieux est alors maximal. Ensuite un traitement immunosuppresseur d'entretien associant 2 ou 3 molécules de cible d'action différente (anti-calcineurine [ciclosporine ou tacrolimus], +/- antiprolifératif [azathioprine ou mycophénolate], +/- corticoïdes). Actuellement les cliniciens essaient de diminuer au maximum les doses de corticoïdes.

Les facteurs de risque infectieux liés à la transplantation dépassent largement la diminution de défenses anti-infectieuses liée aux immunosuppresseurs, ils sont nombreux et certains sont spécifiques d'un type de transplantation (tableau V). Il ne faut pas négliger le risque de contamination du receveur par le greffon.

Toutes transplantations d'organes solides	Transplantation pulmonaire	Transplantation hépatique	Transplantation rénale
<p>Avant transplantation</p> <ul style="list-style-type: none"> - Antécédent receveur: diabète, malnutrition, obésité, hépatopathie chronique, antibiothérapie antérieure, infections à virus diminuant l'immunité (CMV, EBV), colonisation préalable à agent fongique - Infection fongique évoluant chez le donneur <p>Période périopératoire</p> <ul style="list-style-type: none"> - Durée de l'intervention chirurgicale - Temps d'ischémie froide prolongé - Hémorragie ou transfusion multiple - <i>Contamination fongique du LCO et du greffon</i> <p>Période postopératoire</p> <ul style="list-style-type: none"> - Traitements immunosuppresseurs dont corticothérapie à forte dose et prolongées - Exploration invasive précoce et retransplantation - Antibiothérapie prolongée, infections nosocomiale par germes multirésistants - Leucopénie, thrombopénie - Cathéters centraux, sonde urinaires, sondes JJ, intubation prolongée - Hospitalisation prolongée avec risque d'infections nosocomiales 	<ul style="list-style-type: none"> - Transplantation d'un poumon unique - Bronchiolite oblitérante 	<ul style="list-style-type: none"> - Greffe pour hépatite fulminante, - Insuffisance rénale avec créatinine > 180 μmol/L, - Cholécocjéjunostomie 	<ul style="list-style-type: none"> - Dialyse prolongé avant transplantation, - Après greffe, insuffisance rénale aiguë, reprise retardée de fonction rénale, - Fuite urinaire, urinome, hématome, lymphocèle

Tableau V: Facteurs de risque d'infections fongiques en fonction du type de transplantation [tableau réalisé à partir des études de Robert-Gangneux, Morelon, Calmus et Abbott]

1.3.2 Les principaux agents fongiques en cause

Une étude américaine, menée entre 2001 et 2006, sur une population de 17000 transplantés d'organes solides rapporte la distribution des espèces fongiques à l'origine d'infection invasive post greffe (Figure 3) [20]. Les principaux champignons responsables d'infection fongique sont les *Candida sp* (55%) suivi par les *Aspergillus sp* (19%). Le *Cryptocoque* est quant à lui impliqué dans 8 % des infections fongiques post greffe [20]. Bien que ces chiffres diffèrent un peu en France car le pays n'est pas atteint par des *champignons endémiques* tel qu'*Histoplasma capulatum*, nous nous baserons sur cette étude pour évaluer la répartition des agents fongiques en cause dans les infections post greffe car c'est le seul recueil à impliquer une aussi grande population, les greffés de tous organes confondus et à inclure tous les agents fongiques.

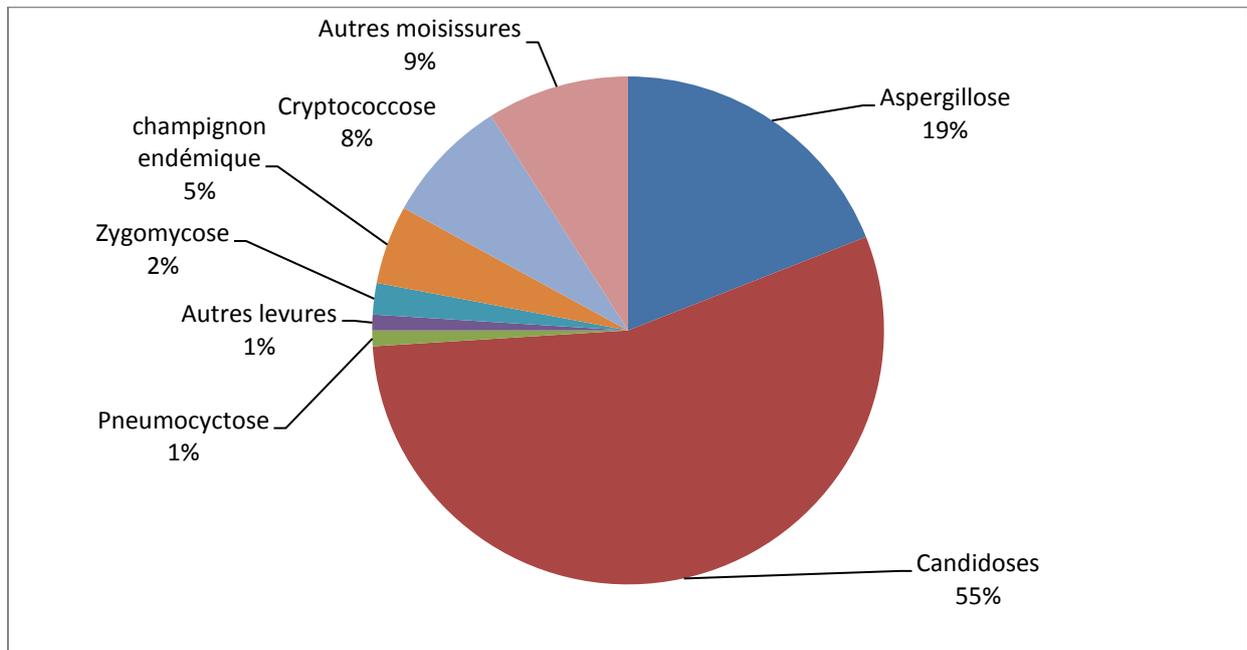


Figure 3: Distribution des espèces à l'origine d'infections fongiques invasives dans une population de transplantés d'organe solide [Calmus et al.].

1.3.2.1 *Candida sp*

Les levures du genre *Candida* sont les principales responsables d'infections fongiques en post transplantation, l'espèce la plus fréquente étant *Candida albicans*. Les candidoses sont responsables de 55% des infections fongiques invasives en transplantation aux USA (figure 3). En effet, le *Candida albicans* est un saprophyte courant du tube digestif de l'homme. Une dizaine d'autres espèces peuvent se retrouver sur la peau ou dans le tube digestif. Ces

dernières années on note une incidence croissante des contaminations à *Candida* « non *albicans* » comme le *Candida krusei* et *Candida glabrata*, dont la sensibilité au fluconazole, antifongique largement utilisé en prophylaxie, est diminuée [24,34].

En transplantation d'organe, la survenue de candidoses localisées au niveau de la bouche, du tube digestif ou de l'appareil urinaire est fréquente. Dans 90% des cas, les manifestations cliniques sont urinaires, mais peuvent être responsables également d'infections disséminées gravissimes (5% des cas) [27]. Les candidoses invasives peuvent se manifester dès le premier jour post greffe. Leur pronostic est mauvais avec un risque de dissémination viscérale secondaire [33].

Récemment, la possible transmission de *Candida sp* par le greffon a été mise en évidence, la manifestation clinique est alors particulière avec des anévrismes au niveau de l'anastomose artérielle et risque de rupture de l'artère du greffon [6,15,21,18,20,28].

Le diagnostic des candidoses invasives repose sur la mise en évidence de levures dans les flacons d'hémoculture ou sur des prélèvements profonds. La positivité à *Candida sp* d'un seul flacon d'hémoculture doit être prise en considération. La recherche d'une localisation secondaire est systématiquement effectuée : fond d'œil, auscultation cardiaque, échographie transoesophagienne, examen mycologique des urines, et recherche d'un foyer profond hépatique ou splénique. Les sérologies anticorps et antigène *Candida sp* n'ont pas fait la preuve de leur supériorité par rapport aux hémocultures. L'utilité de la PCR est encore en évaluation. En cas de culture positive, il est important d'identifier l'espèce et d'étudier la sensibilité aux différents agents antifongiques afin de choisir le traitement antifongique adapté [34].

1.3.2.2 *Aspergillus sp*

Les aspergilloses représentent moins de 20% des pathologies fongiques chez les transplantés mais possèdent le plus haut taux de mortalité de 40 à 100% selon les études [20,24]. Sur 3215 transplantations réalisées au CHU de Séoul en Corée entre 1979 et 2007, il y a eu seulement 9 cas d'aspergilloses pulmonaires invasives (IPA) soit une incidence de 0,003% [25]. La contamination aspergillaire se fait presque toujours par inhalation de spores présentes dans l'environnement [16]. Le foyer initial de l'aspergillose est en général sinusien ou pulmonaire et entraîne des aspergilloses pulmonaires invasives. Chez les transplantés immunodéprimés, il y a un grand risque de dissémination hématogène avec possible abcès cérébral, localisation cardiaque, hépatique, rénale, gastro-intestinale et osseuse [7]. Cette forme systémique, appelée aspergillose invasive a un très mauvais pronostic avec une mortalité élevée.

Lors de transplantation pulmonaire, du fait de l'exposition importante de cet organe aux spores, l'incidence des aspergilloses chez le receveur est importante avec un taux de contamination de 6% des transplantés. Le délai moyen d'apparition d'une aspergillose invasive après transplantation pulmonaire est de 4 mois. Pour les autres organes, l'incidence varie de 5,2% en transplantation cardiaque à 0,7% en transplantation rénal, et le délai d'apparition varie de 15 jours à 10 mois après la transplantation.

Dans plus de 80% des cas d'aspergilloses invasives l'espèce isolée est l'*A. fumigatus*, peuvent être également mises en cause *A. flavus*, *A. terreus* et plus rarement *A. nidulans* [24].

Plus récemment, des patients ont été contaminés par des *Aspergillus* colonisant le greffon [16,27]. En cas de contamination aspergillaire via le greffon, les lésions vont se situer au niveau du greffon [16].

1.3.2.3 *Cryptococcus neoformans*

Cryptococcus neoformans est une levure présente dans les fientes d'oiseaux, la contamination d'un patient se fait par inhalation des spores. La cryptococcose est une maladie opportuniste survenant dans les 4 mois post transplantation. Aucun cas de contamination par le greffon n'a été rapporté [24] L'atteinte pulmonaire est la première manifestation de la maladie, elle peut passer inaperçue. En cas d'immunosuppression, le champignon peut ensuite disséminer dans tout l'organisme avec un tropisme particulier pour l'encéphale et provoque des méningo-encéphalites graves. La cryptococcose est la deuxième cause de méningo-encéphalite, après la listériose chez les transplantés d'organe [33,34].

1.3.2.4 *Histoplasma capsulatum*

Histoplasma capsulatum est un champignon tellurique non présent en France, il est responsable d'infections systémiques gravissimes chez les personnes immunodéprimées dans les zones endémiques. On retrouve ce champignon principalement dans l'est et le centre des Etats-Unis, mais aussi dans certaines régions tropicales du globe (Amérique centrale et du Sud, Océanie, Japon, Inde, Vietnam, Malaisie, Proche orient, Afrique du Sud et Afrique noire). Dans la majorité des cas, l'histoplasmose est une maladie opportuniste contractée en post transplantation par inhalation de spores présentes dans l'air ou par réactivation d'une infection ancienne due au traitement immunodépresseur [25]. Cependant, 2 cas de

transmission par un greffon rénal ont été rapportés chez des receveurs ne vivant pas en zone endémique et n'ayant jamais voyagé [19].

La primo-infection par *H. capsulatum*, asymptomatique et localisée au niveau pulmonaire chez la personne immunocompétente, revêt un caractère disséminé et gravissime chez les transplantés. Les cas de réactivation d'une infection ancienne se manifestent toujours par une histoplasmosse généralisée avec fièvre, hépathosplénomégalie, lésions pulmonaires, digestives, ulcération des muqueuses, atteinte surrénalienne. L'incidence d'histoplasmosse chez les transplantés vivant en région endémique serait de 0.5% selon les études américaines. Le délai de survenue même en cas d'acquisition par le greffon est long, de 8 à 9 mois et peut atteindre 18 mois.

1.3.3 Mécanismes des infections fongiques

1.3.3.1 Non lié au greffon

Dans les risques de contamination fongique du receveur d'organe, il est important de souligner le rôle de la colonisation préalable du patient par un champignon, ainsi que le rôle de l'exposition environnementale pendant et après transplantation.

Il est fréquent que des levures du genre *Candida* colonisent préalablement le tractus digestif du receveur, ou que des *Aspergillus* soient retrouvés au niveau pulmonaire. Asymptomatique chez le sujet immunocompétent, la présence de ces champignons peut être à l'origine de mycoses invasives profondes chez le transplanté immunodéprimé.

Le receveur d'organe est exposé à de multiples risques environnementaux de contamination fongique, air, eau, surfaces, alimentation. Dans l'attente de protocole de chimioprophylaxie ayant prouvé son intérêt, la prévention des infections nosocomiales liées à des spores fongiques chez les patients immunodéprimés repose sur la maîtrise de l'environnement du patient. Les hôpitaux doivent mettre en place des mesures de surveillance de l'environnement en se fondant sur les normes, et recommandations en vigueur (normes Afnor). La surveillance mycologique de l'air ne se justifie que dans les zones possédant un système de traitement de l'air, notamment les services d'hématologie, de greffés d'organe, de réanimation et les blocs opératoires [24]. Des prélèvements de surface couplés à des prélèvements d'air sont recommandés par le comité technique national des infections nosocomiales et permettent d'avoir une représentation de la contamination des jours précédents [24]. Un contrôle particulier peut être associé au contrôle microbiologique lors de la qualification d'un système. Le contrôle mycologique de l'eau ne fait pas partie des recommandations Afnor,

pourtant elle peut être le vecteur de moisissures potentiellement pathogènes [24]. En parallèle au traitement et contrôle mycologique de l'air, il est indispensable de mettre en place un certain nombre de mesures : sas d'entrée et sortie pour les chambres et services, isolement protecteur du patient, protocole de bionettoyage, interdiction des plantes, dossiers médicaux, effets personnels dans la chambre, prise en compte de tout type de travaux dans les services hébergeant les patients immunodéprimés. L'objectif de la surveillance est de minimiser le risque fongique à la source, en intervenant dès l'apparition d'un résultat positif. En cas de contamination fongique environnementale, il est indispensable d'en trouver l'origine, de discuter les actions correctives.

D'autre part, l'acte de transplantation en lui-même, qui comme toute chirurgie comporte également un risque d'infection nosocomiale.

1.3.3.2 Lié au greffon

La colonisation du greffon chez le donneur avant prélèvement, ou au cours du prélèvement ou de la conservation de l'organe, peut faire courir un risque fongique supplémentaire au receveur.

La contamination d'un receveur via le greffon peut avoir plusieurs origines :

- 1- une infection disséminée évoluant chez le donneur lors du prélèvement d'organe ou la colonisation asymptomatique de l'organe prélevé
- 2- une contamination de l'organe lors du prélèvement au bloc opératoire ou au cours de la conservation
- 3- une contamination de l'organe au cours de la greffe.

Depuis une dizaine d'année, une trentaine de cas de contamination fongique du receveur d'organe via le greffon a été rapportée dans la littérature. Pour prévenir ce risque et gérer la situation en cas de contamination du greffon, l'ABM a rédigé des recommandations en 2005, qui ont été révisées en septembre 2008.

2 Données de la littérature et de l'Agence de la biomédecine

2.1 Cas de contamination fongique de greffon

2.1.1 Revue de littérature

Par des recherches bibliographiques, effectuées sur la base de donnée PubMed [à partir des mots clés suivants : transplantation, *Candida*, mycosis, infections] et recoupées avec les références des documents de l'ABM, nous avons retrouvé 10 articles, publiés entre 1999 et 2009, relatant 34 cas de contaminations fongiques de greffon [3,4,6,8,15,18,21,22,28]. Des cas avaient été rapportés ultérieurement, comme l'anévrisme fongique décrit chez un transplanté rénal par Kyriakides et al. en 1976, mais nous avons limité notre étude aux cas rapportés à partir de 1999.

Pour faciliter l'analyse de ces articles, nous avons dans un premier temps récapitulé les 34 cas de contaminations fongiques de greffon dans le tableau VI. A partir de ces articles, nous avons rapporté dans ce tableau :

- les caractéristiques des donneurs : âge, cause des décès (CdD), temps de séjour en unité de soins intensifs (USI), hémocultures, examens cytotactériologiques (ECBU) et sérologies
- les caractéristiques des receveurs: organe greffé, échantillons mis en culture : sang (hémoculture), urine (ECBU), LCO, liquide de drainage, hématome et greffon lorsqu'il y a eu détransplantation ; sont également précisées les conséquences de la contamination chez le receveur et leur prise en charge médicamenteuse ou chirurgicale
- les données concernant 4 transplantés dont les greffons n'ont pas été contaminés mais issus du même PMO qu'un greffon contaminé.

Les articles étudiés rapportent 2 types de situations évoquant une contamination fongique du greffon, il s'agit :

- soit de receveurs (n=9) ayant développés une infection fongique précoce, au niveau du greffon évoquant donc une transmission de l'agent fongique par le greffon mais sans qu'aucune analyse du liquide de conservation n'ai été réalisée pour confirmer cette hypothèse [4,6,16,19]
- soit une analyse du liquide de conservation de l'organe a été réalisée (n=25) et trouvée positive pour un agent fongique, avec une conséquence (n=9) ou non (n=16) pour le receveur [8,15,18,21,22,28]. L'analyse fongique du liquide de conservation demeure le

moyen le plus fiable de prouver une contamination du greffon, mais elle n'a pas été réalisée systématiquement.

Notons que les cas de contaminations fongiques rapportés par la littérature concernent principalement les greffons rénaux. Ceci s'explique d'une part par le nombre beaucoup plus important de transplantations rénales par rapport aux autres transplantations (les transplantations rénales représentent presque 2/3 des transplantations totales (tableau II) impliquant un plus grand nombre de contaminations fongiques en valeur absolue, d'autre part les auteurs choisissent souvent de n'inclure que les transplantés rénaux dans leur étude comme l'ont fait Matignon et Canaud, enfin physiologiquement il y aurait un plus grand risque de contaminations du rein lors d'un PMO, étant le dernier organe prélevé avant l'intestin les agents fongiques ont le temps contaminer cet organe.

Donneurs		Receveurs					
Références	Age CdD	organe greffé (TIF)	Prélèvements pour culture fongique	Levure isolée	Tableau clinique Lésions artérielles (temps de survenu post transplantation)	Traitement Antifongique (début traitement post transplantation)	Traitement chirurgical Issue de la greffe
Matignon et al. 2008	57 ans AVC	Rein (18h)	LCO Sang/urine	Cg Neg	Asymptomatique Pas de lésions	Aucun	Greffon fonctionnel
	43 ans Pendaïson	Rein	LCO Sang/urine	Ca Neg	Asymptomatique Pas de lésions	(J2-prophylactique) Fluconazole /14 jours	Greffon fonctionnel
	Age : 61 ans Trauma. crânien	Rein	LCO Sang/urine	Ck Neg	Asymptomatique Pas de lésions	Aucun	Greffon fonctionnel
	45 ans Trauma. crânien	Rein	LCO Sang/urine	Ct Neg	Asymptomatique Pas de lésions	(J4-prophylactique) Voriconazole /3 mois	Greffon fonctionnel
	55 ans Embolie pulmonaire	Rein	LCO Sang/urine	Ca Neg	Asymptomatique/ pas de lésions	(J5-prophylactique) Fluconazole/5 mois	Greffon fonctionnel
	66 ans CVA	Rein	LCO Sang/urine	Ca Neg	Asymptomatique Pas de lésions	(J1-prophylactique) Fluconazole /3 mois	Greffon fonctionnel
	58 ans CVA	Rein	LCO Sang/urine	Cg Neg	Asymptomatique Pas de lésions	(J2-prophylactique) Voriconazole /3 mois	Greffon fonctionnel
	58 ans CVA	Rein	LCO Sang/urine	Cg neg	Asymptomatique Pas de lésions	(J3-prophylactique) Casposfongin /3 mois	Greffon fonctionnel

Gari-toussaint et al. 2005	20 ans dissection carotidienne Sérologie antigénémie candidose : Neg	Rein1	LCO	Ca	Artérite Rupture de l'artère du greffon (26 jours)	(J26) Fluconazole 200mg/j/3 mois	Détransplantation
			Sang/urine	Neg			
		et Rein2 ^a	LCO	ND	Aucun signe d'infection	Traitement prophylactique : Fluconazole 200mg/j/21j	Greffon fonctionnel
Sang/urine	Neg						
		Foie ^a	LCO	ND			
			Sang/urine	Neg			
Calvino et al. 1999	16 ans PMO Hémoculture, culture urinaire fongique : neg USI : 72h	Rein1	LCO	ND	Artérite Rupture de l'artère rénale (17 jours)	AmphoB 3mg/j/40j Fluconazole 200mg/j/5 mois	Détransplantation
			Greffon	Csp			
		Urine	Neg				
		Rein2	LCO	ND	Artérite Rupture de l'artère rénale (22 jours)	AmphoB 2mg/j/30j Fluconazole 100mg/j/4mo	Détransplantation
Urine	Ca						
		greffon	Ca				
		Foie ^a	Aucunes complications infectieuses/Aucun traitement				
Mai et al. 2006	48 ans Trauma. crânien Hémoculture, culture urinaire fongique : neg	Rein1 (24h)	LCO/sang	EC	Septicémie suivie d'un collapsus cardiovasculaire (9 jours)	Pas de traitement	Résection de l'anastomose Mort pendant l'opération
			Urine	Neg			
		Greffon	Csp				
		Rein2 (17h)	LCO	EC+Ca	Artérite (10 jours) Rupture de l'artère du greffon (30 jours)	(J10) Fluconazole 200mg/j/14j puis Caspofungine 50mg/	Détransplantation
		Urine/sang	Neg				
Greffon	CA						
	21 ans Trauma. crânien Hémoculture	Rein1 (15h)	LCO	Ca	Artérite Rupture de l'artère du greffon (11 jours)	(J11) Fluconazole	Drainage chirurgical de l'hématome Mort par hémorragie
		Hématome	Ca				

	Culture urinaire fongique: neg	Rein2 (31h)	LCO Urine/sang Greffon	Ca Neg Ca	Artérite (1 jour)	Fluconazole 200mg/j/1mois Caspofungine IV 50mg/j/2 sem	Détransplantation "preventive"
Canaud et al. 2009	39 ans PMO	Rein (18h)	LCO Drainage	Cg Neg	Pas de signe clinique d'infection Aucunes lésions vasculaires de l'artère du greffon	(J3-prophylactique) Fluconazole + 5fluorocytosine/15j	A 12 mois tous les patients sont en vie avec un greffon fonctionnel
	8 ans PMO	Rein (22h)	LCO Drainage	Ca Ca		(J3- prophylactique) Fluconazole+ 5fluorocytosine/ 92j	
	28 ans PMO	Rein (26h)	LCO Drainage	Ca Neg		(J2- prophylactique) Fluconazole+ 5 fluorocytosine/18j	
	55 ans PMO	Rein (19,5)	LCO Drainage	Cg Cg		(J3-prophylactique) Fluconazole+ 5fluorocytosine/94j	
	58 ans PMO	Rein (15h)	LCO Drainage	Ca Neg		(J4-prophylactique) Fluconazole+ 5 Fluorocytosine/15j	
	43 ans PMO	Rein (28h)	LCO Drainage	Ca Neg		(J8-prophylactique) Fluconazole+ 5 Fluorocytosine/18j	
	20 ans PMO	Rein (18h)	LCO Drainage	Ct Neg		(J3-prophylactique) Fluconazole+ 5fluorocytosine/15j	
	53 ans PMO	Rein (24h)	LCO Drainage	Ca Neg		(J4-prophylactique) Fluconazole+ 5 fluorocytosine/16j	
Laouad et al. 2005	21 ans traum. crânien PMO Cultures fongiques : neg	Rein	LCO Sang Artère greffon	Ca Ca Ca	Artérite Anévrisme de l'artère du greffon (3 mois)	(3mois) Fluconazole/4mois AmphotéricineB/30j	Détransplantation

Laouad et al. 2005	45ans trauma. crânien PMO Brèche digestive Cultures fongiques : neg	Rein	LCO Drainage	ND Ca	Artérite Anévrisme de l'artère du greffon (50 jours)	Fluconazole (50J)	Détransplantation
	33 ans CdD : intox CO Brèche digestive Cultures fongiques : neg	Rein1	LCO	Ca	Artérite Anévrisme de l'artère greffon (90 jours)	Fluconazole (90J)	Détransplantation
		Rein2	LCO Artère greffon (autopsie)	Ca Ca	Artérite Rupture de l'artère du greffon (9 jours)	Aucun	Mort par arrêt cardiaque brutal
Verroux et al. 2009	73 ans CdD : AVC Hémoculture et culture fongique urinaire: neg	Rein	LCO Masse tissulaire	Ca (RF)	Asymptomatique puis obstruction urétrale par un amas fongique (1 mois)	Fluconazole IV 100mg/j puis Voriconazole IV puis Voriconazole PO 200mg/j	Néphrostomie Greffon fonctionnel à 6 mois
Battaglia et al. 2000	28 ans Hémoculture et culture fongique urinaire: neg	Rein1	LCO Urine Artère greffon	ND Neg Ca	Hématome péri-rénal Puis rupture de l'artère du greffon (7 jours)	AmphotéricineB +Itraconazole (J15) +Nistatine (J21)	Détransplantation
		Rein2	LCO Greffon	ND Ca (RF)	Anévrisme de l'artère du greffon (1mois)	AmphotéricineB (J30)	Détransplantation

Garrido et al. 2003	39 ans tumeur crânienne USI : 7 jours Hémoculture et culture fongique urinaire: neg	Rein1	LCO Greffon (autopsie)	ND Asp spp	Anévrisme de l'artère iliaque Fistule artère-veineuse (42 jours)	AmphotéricineB 4mg/kg/j	Résection de la fistule et de l'anévrisme Détransplantation Décès par choc hémorragique
		Rein2	LCO Artère greffon	ND Asp spp	Anévrisme de l'artère du greffon (5 mois)	AmphoB IV 4mg/kg/j/ 7j puis 3/mg/kg/j/21 jours Puis Itraconazole PO 200mg/j /5 mois	Détransplantation
Limaye et al. 2000	41 ans trauma. crânien Vivait dans une région endémique à HC Sérum : Ac anti HC	Rein 1	LCO Sang Sérum (sérologie)	ND Hc Ac Anti- HC	Signes d'infection : fièvre, pancytopénie (8 mois)	AmphoB	Greffon fonctionnel
		Rein2	LCO Sang Sérum (sérologie)	ND Hc Ac anti- Hc	Signes d'infection : Fièvre, pancytopénie (9 mois)	AmphoB	Greffon fonctionnel
		Foie ^a	LCO Sang Sérum (sérologie)	ND Neg Neg	Aucuns signes infectieux	Aucun	Greffon fonctionnel

Tableau VI : Cas de contamination fongique de greffons, rapportés dans la littérature entre 1999 et 2009.

TIF= temps d'ischémie froide ; CdD = cause de la mort ; AVC= accident vasculaire cérébral ; USI= temps de séjour en unité de soin intensif ; PMO= prélèvement multi-organe ; trauma. crânien = traumatisme crânien ; LCO= liquide de conservation des organes ; LBA= lavage broncho alvéolaire, Neg = négatif ; pt = post transplantation ; Cg= *Candida glabrata* ; Ca=*Candida albicans* ; Ck= *Candida krusei* ; Ct=*Candida tropicalis* ; Cd= *Candida dubliniensis* ; Csp= *Candida* sp (pas de genre identifié) ; Cp= *Candida palmiophila* ; Ec= *Enterobacter cloacae* ; Hc= *Histoplasma capsulatum* ; Asp spp ;= *Aspergillus spp* (pas de genre identifié) ;Ac anti-Hc= anticorps anti *Histoplasma capsulatum* ; ND= non documenté ; RF= résistant au fluconazole ; AmphoB= amphotéricineB ; Intox CO= intoxication au monoxyde de carbone

^a Greffon non contaminé mais issu du même PMO qu'un organe contaminé.

Dans un deuxième temps, nous avons analysé les publications selon 5 items différents :

- origines des contaminations du greffon et facteurs de risque
- agents fongiques responsables
- conséquences pour le receveur
- diagnostic et prévention
- prise en charge.

2.1.1.1 Origine de contamination du greffon et facteurs de risque

- Origine de la contamination :

La contamination d'un greffon a plusieurs origines possibles [22] :

- une infection disséminée évoluant chez le donneur ou la colonisation asymptomatique de l'organe prélevé
- une contamination exogène au cours du prélèvement
- une contamination exogène au cours de la conservation de l'organe prélevé
- une contamination exogène lors de la greffe.

Une infection fongique systémique évoluant chez le donneur est rarement la cause de contamination du greffon. Dans ce cas, la même souche fongique est retrouvée chez le donneur, dans le LCO et chez le receveur. Le donneur peut être porteur de l'agent fongique avant son hospitalisation mais peut également être infecté en unité de soins intensifs, avant ou après son décès. La mise en évidence d'un champignon chez un donneur, n'est pas une contre-indication au prélèvement d'organes [32].

Parmi les cas de littérature (tableau VI), seuls Limaye et al. rapportent l'identification d'un même champignon, *H. capsulatum*, dans le sérum du donneur et dans le sang des 2 receveurs de reins (le LCO n'avait pas été analysé). Les receveurs n'avaient jamais été dans une région endémique et leurs sérologies avant la transplantation ne mettaient pas en évidence d'anticorps anti *H. capsulatum*. En revanche, dans le sérum du donneur ont été détectés des AC anti- *H. capsulatum*. Un génotypage moléculaire (RAPD-PCR) des souches isolées chez le donneur et les 2 receveurs a confirmé qu'il s'agissait bien du même champignon. Ces différents éléments sont très en faveur de l'hypothèse de la transmission *H. capsulatum* du donneur aux receveurs via le greffon.

Dans la majorité des cas la contamination fongique semble avoir eu lieu lors du prélèvement d'organe ou au cours de la conservation. Le moyen le plus simple de savoir si un organe a été contaminé par un champignon au cours du prélèvement ou de la conservation est d'analyser le

LCO. Dans cette situation, le LCO est contaminé alors que les analyses mycologiques du donneur sont négatives. Chez 24 transplantés (tableau VI) la culture des LCO a révélé la présence d'agent fongique alors que les analyses mycologiques réalisées sur les donneurs correspondants étaient toutes négatives. Cette constatation nous permet de penser que 25 des 34 cas de contamination de greffon étaient dus à une colonisation au cours du prélèvement ou de la conservation de l'organe.

Quant aux 10 cas restants, l'analyse fongique du LCO n'ayant pas été réalisée, il est difficile de dire à quel moment exact la contamination du greffon a eu lieu. Cependant, une contamination du greffon au cours du processus de transplantation a tout de même été suspectée pour deux raisons : la survenue précoce d'une infection fongique chez le receveur, dans le mois suivant la transplantation et la localisation du foyer fongique au niveau du greffon, confirmée par la mise en culture de tissus du greffon après détransplantation. De plus dans certains cas, on retrouve le même agent fongique chez les 2 receveurs de reins issus du même PMO, cet élément est en faveur d'une origine commune de la contamination des 2 reins au cours du PMO.

Il ne faut pas exclure la possible contamination d'un lot de LCO au cours de sa fabrication même si à ce jour aucun cas n'a été rapporté. Certains fabricants de LCO recommandent l'adjonction d'adjuvants (type corticoïdes, pénicilline) sans que l'on sache à ce jour si cette adjonction est justifiée. Ces manipulations supplémentaires peuvent être source de contamination, c'est pourquoi l'ABM recommande fortement de ne pas introduire d'adjuvant dans les LCO [39].

Le transplant peut également être contaminé lors de la greffe. Dans ce cas là, l'agent fongique retrouvé chez le receveur n'est pas présent dans le LCO. Aucun cas de littérature ne rapporte cette situation, en effet il est très difficile de la différencier d'une contamination post greffe.

- Facteurs de risque :

Les facteurs de risque d'infections fongiques d'un donneur en unité de soins intensifs (USI) et donc potentiellement des organes à prélever sont :

- un temps de séjour prolongé en USI (plus de 7 jours) [18]
- un décès secondaire à un traumatisme crânien associé à un traumatisme abdominal [18]
- l'administration d'antibiotiques à spectre large [21]
- un donneur âgé [21].

Plusieurs facteurs de risque favorisent la contamination fongique du greffon lors du prélèvement [18] :

- les prélèvements multi-organes (PMO)
- les prélèvements chez un donneur à cœur arrêté
- la survenue de brèche digestive chez le donneur car les bactéries et levures digestives passent dans le sang
- un temps prolongé de conservation de l'organe : le temps d'ischémie froide (qui est le temps écoulé entre le clampage de l'aorte du donneur et la restauration de la circulation sanguine chez le receveur) doit être le plus court possible.

D'autres facteurs de risque favorisent la contamination du greffon au cours de la greffe :

- un temps d'intervention chirurgical prolongé [16,18]
- la colonisation par des levures de la vessie du receveur de rein : la dissection de la muqueuse vésicale pour l'anastomose urétrale favorise la dissémination de ces levures [21].

2.1.1.2 Les agents fongiques responsables :

Les contaminations du greffon par les champignons du genre *Candida* sont les plus fréquentes, sur les 34 contaminations du greffon décrites dans la littérature, 30 sont dues à *Candida sp* (88,2%) : 22 *C. albicans*, 4 *C. glabrata*, 2 *C. tropicalis*, 1 *C. krusei*, 2 *Candida* dont l'espèce n'a pas été identifiée. Sont également rapportées 2 contaminations à *Aspergillus spp* de 2 reins issus d'un même donneur [16]. Enfin on relève 2 receveurs reins issus d'un même PMO contaminés par *Histoplasma* (tableau VI).

Il faut rajouter à ces cas, une contamination d'un greffon pulmonaire par *Coccidioïdomycosis immitis*, rapporté à Paris, fin décembre 2009 [5]. Ce champignon endémique au sud-ouest des Etats-Unis, n'est pas présent en France. Les cliniciens ont attribué cette contamination à une transmission du donneur au receveur via le greffon pour plusieurs raisons : (1) le receveur n'avait jamais voyagé en zone endémique, (2) le donneur avait voyagé en Arizona peut avant le PMO, (3) le diagnostic tardif (J35 post greffe) s'explique par l'administration d'itraconazole (traitement d'une Aspergillose pendant 6 mois après la greffe). Trois ans après le diagnostic, la fonction pulmonaire est stabilisée sous itraconazole.

2.1.1.3 Conséquences pour le receveur

La contamination d'un greffon n'entraîne pas systématiquement de complications chez le receveur. En effet, en cas de positivité des cultures du LCO, le taux d'infection bactérienne ou fongique avérée du receveur varie entre 0,5 et 5%, dans ces cas là sont souvent impliquées des levures ou des bactéries gram négatif [21]. Dans les publications, seulement 8 des 24 LCO colonisés à *Candida sp* ont entraîné des complications infectieuses chez le receveur (tableau VI).

Les *Candida sp* transmis via le greffon rénal conduisent, dans la majorité des cas, à des lésions artérielles au niveau de l'anastomose, dans le tableau VI sont rapportés 30 cas de greffons colonisés par de *Candida sp* (*Candida* retrouvé dans le LCO ou au niveau du greffon en post greffe) ayant entraînés chez les receveurs : 14 artérites, 1 obstruction de l'artère par un amas fongique et une septicémie. Ces complications sont survenues dans le mois suivant la transplantation pour 13 d'entre elles. La capacité des *Candida sp* à pénétrer dans les cellules de la paroi artérielle est à l'origine d'une réaction inflammatoire intense (artérite) aboutissant à la destruction de la structure vasculaire avec risque d'anévrisme suivie d'une rupture de la paroi artérielle [21]. Cette rupture de la paroi artérielle risque d'entraîner la mort du receveur et impose une néphrostomie [21]. L'évolution de l'artérite candidosique est souvent défavorable, sur les 14 receveurs atteints d'artérite candidosique, 3 sont décédés et 11 ont perdu leur transplant.

Les aspergilloses sont de très mauvais pronostics avec un taux de mortalité allant de 40 à 100% selon les études [16,17]. Les *Aspergillus* colonisant le greffon vont conduire, comme les *Candida* à des lésions de la paroi de l'artère du greffon, les 2 cas publiés par Guarrido et al. (tableau VI) ont conduit tous les 2 à des anévrismes de l'artère du greffon, aboutissant pour l'un à une détransplantation et pour l'autre au décès du receveur. Notons que les aspergilloses se sont déclarées plus d'un mois après la greffe : 42 jours pour l'une et 5 mois pour l'autre.

Les infections à *H. capsulatum* transmises par 2 greffons rénaux, rapportées dans la publication de Limaye, ne se sont pas manifestées par des lésions vasculaires contrairement aux candidoses et aspergilloses, et se sont révélées plus tardivement, à 8 et 9 mois post transplantation (tableau VI). Les transplantés présentaient des signes cliniques infectieux non spécifiques (fièvre, pancytopenie, perte de poids), l'infection a été confirmée par la présence de *H. capsulatum* dans les cultures sanguines. Ces 2 cas sporadiques de transmission d'*H. capsulatum* via le greffon ne permettent pas de généraliser sur les conséquences engendrées chez le receveur [19].

2.1.1.4 Diagnostic et prévention :

Le diagnostic d'une infection fongique transmise par le greffon a été très difficile pour les cas où le LCO n'avait pas été analysé. Souvent, il a été retardé car il n'y a aucun signe clinique, ni biologique d'infection fongique (cultures urinaires et sanguines stériles) précédant la survenue de complication grave comme l'artérite voire l'anévrisme de l'artère du greffon [18]. Une imagerie à résonance magnétique (IRM) de l'anastomose vasculaire du greffon a été effectuée dans certains cas afin de détecter une éventuelle artérite [18], mais il n'est pas aisé de détecter un site de contamination par les techniques radiologiques [21]. Il faut ajouter, l'évolution insidieuse des pathologies fongiques, en effet les micromycètes se multiplient lentement dans l'organisme et peuvent donc ne pas être mises en évidence car en quantité trop faible. Finalement la confirmation d'une infection à *Candida* du greffon a souvent été faite après détransplantation par analyse fongique du greffon ou de l'artère du greffon (n= 9) (tableau VI).

Le retard diagnostique est souvent à l'origine d'un échec de la transplantation avec perte du greffon voir décès du receveur, les lésions artérielles étant trop importantes pour une prise en charge médicamenteuse. Sur les 34 cas de contamination du greffon (tableau VI) :

- 24 ont été diagnostiqués précocement grâce à une analyse du LCO, 5 ont conduit à une détransplantation et 2 à la mort du receveur, soit 29% d'échec de la transplantation
- 10 ont été diagnostiqués plus tardivement car le LCO n'avait pas été analysé, 6 ont mené à une détransplantation et 2 à la mort du receveur, soit 80% d'échec de transplantation.

Ce constat souligne l'importance d'une prévention de ce type de contamination grâce à l'analyse systématique des liquides de conservation des organes. Les cultures fongiques du LCO doivent être réalisées sur au moins 6 jours car les levures peuvent mettre du temps à pousser [21]. Tout agent fongique retrouvé dans le LCO doit être considéré comme pathogène pour le receveur même s'il ne présente aucun signe clinique d'infection.

Rappelons que 2 transplantés rénaux ont été contaminés par *H. capsulatum* [19] et un greffé pulmonaire par *C. immitis* [5], alors que ces patients ne s'étaient jamais rendus dans une zone endémique à ces champignons. Ces cas révèlent la nécessité de connaître l'origine géographique d'un donneur ou son éventuel séjour dans une zone endémique afin de déterminer s'il est nécessaire d'effectuer certaines sérologies de champignons exotiques.

2.1.1.5 Prise en charge

Dans le tableau VI, en cas de culture fongique du LCO révélant une colonisation du greffon, deux attitudes de prise en charge s'opposent : certains auteurs recommandent une détransplantation systématique [18,21], d'autres ont une attitude plus pondérée par l'administration d'antifongique et la surveillance biologique, clinique et radiologique du patient [8,22].

Nous avons vu précédemment que la transmission d'agent fongique à un receveur via le greffon peut conduire au décès du receveur (tableau VI), Mai et al. recommandent donc une détransplantation systématique en cas de positivité des cultures fongiques du LCO [21]. Cette attitude conduirait un grand nombre de détransplantations préventives, étant donné la colonisation fongique des LCO de 1,7% à 3,7%, suivant les études [22,28].

Canaud et al. proposent une prise en charge plus conservative sans détransplantation, mise en place en cas de culture du LCO positive à *Candida*. Elle implique donc une analyse systématique des LCO et se base sur :

- l'administration d'un traitement antifongique : fluconazole + 5 fluoro-cytosine à J0 (J0 étant le jour des résultats des cultures mycologiques du LCO);
- la surveillance biologique du receveur par mise en culture de prélèvement sanguin, urinaire, du liquide de drainage et du liquide péritonéal ; ainsi qu'un dosage de la CRP
- la surveillance clinique journalière
- la surveillance radiologique avec un premier doppler à J1 et un deuxième à J10, ainsi qu'un examen tomodensitométrique à J10 ;
- un examen chirurgical de l'artère du greffon entre J10 et J15, pour les patients présentant un haut risque de lésion artérielle (douleur abdominale, fièvre, CRP élevée, infection fongique du liquide de drainage, artérite ou anévrisme détecté par la radiologie).

Afin d'évaluer cette prise en charge, une étude a été menée de novembre 2004 à juin 2007 à l'hôpital Descartes à Paris, avec mise en culture systématique de LCO lors de transplantation rénale [8]. Les cultures se sont révélées positives à *Candida* dans 8 prélèvements sur 474 (1,7%). Pour 6 des 8 patients, tous les prélèvements (sang, urine, liquide de drainage, liquide péritonéal) se sont révélés stériles et chez les 2 autres patients, *Candida sp* a été retrouvé dans le liquide de drainage. Dans ces 8 cas, aucune lésion artérielle n'a été observée et à 12 mois tous les patients sont en vie avec un greffon fonctionnel. Cette stratégie de prise en charge a donc donné d'excellents résultats et paraît intéressante. De Janvier 2004 à décembre 2006, Matignon et al. ont mené une étude similaire avec mise en culture systématique des LCO des

greffons rénaux et administration d'antifongique prophylactique en cas de détection de *Candida sp* dans le LCO (tableau VI). *Candida sp* a été retrouvé dans 8 LCO sur 214 analysés (3,7%), aucun des patients n'a présenté par la suite de signes cliniques d'infections, ni de lésions vasculaires au niveau de l'artère rénale. Ceci confirme qu'une mise en culture systématique des LCO, l'administration immédiate d'antifongiques en prophylactique en cas de positivité de culture à *Candida sp*, puis surveillance rapprochée du receveur, apparaît comme un moyen de prévention efficace de survenue de complication vasculaire lors de contamination fongique du greffon. Cependant, l'absence d'évolution défavorable dans ces 16 cas ne permet pas d'exclure catégoriquement le recours à la détransplantation, elle doit être évaluée au cas par cas. Ces résultats requièrent une confirmation par une étude plus large [8,22].

Malgré tout, l'instauration d'une thérapeutique antifongique prophylactique n'est pas le seul facteur conditionnant l'évolution d'une colonisation du greffon (en cas de LCO positif). En effet, 2 patients non traités par thérapie antifongique n'ont pas développé de complications malgré un LCO positif à *C. albicans* [22], alors qu'un patient traité précocement par fluconazole suite à un LCO positif à *C. albicans* a développé malgré tout une pathologie fongique avec obstruction de l'urètre par une masse fongique [28]. Ainsi, d'autres facteurs qui n'ont pas encore été clairement identifiés rentrent en jeu. On peut notamment citer l'espèce de *Candida*, sa virulence et sa capacité à pénétrer dans les cellules endothéliales, sa potentielle résistance à l'antifongique, la présence d'un hématome péri-rénal, du traitement immunosuppresseur, le temps et la durée du traitement antifongique [22].

L'élément fondamental, mis en avant par toutes ces études, est l'importance de la recherche systématique d'agent fongique dans le LCO, permettant l'identification des patients requérant une thérapeutique antifongique prophylactique adaptée au champignon isolé ainsi qu'une surveillance biologique, clinique et radiologique rapprochée [8,22,28]. Le traitement du receveur par un antifongique approprié peut être très efficace et évite le recours à la détransplantation.

2.1.2 Les différentes études françaises menées sur la transmission d'agents fongiques par le greffon aux receveurs d'organes

2.1.2.1 Etude rétrospective multicentrique française : preuve que les candidoses du site de greffe sont dues à une contamination du greffon au cours du prélèvement d'organe.

Suite à l'observation par le Centre National de Recherche en Mycologie et Antifongique (CNRMA) de plusieurs cas d'artérites graves à *Candida* chez des transplantés rénaux, l'ABM et le CNRMA ont mené une étude rétrospective afin de déterminer l'incidence, l'origine, les caractéristiques et les conséquences de ces candidoses en France. Cette étude rétrospective menée de 1997 à 2005 a été publiée en 2006 [3].

Grâce à la base de données nationale CRISTAL, tous les cas de contamination du greffon à *Candida sp* ont été répertoriés sur l'ensemble des 37 centres de transplantation rénale français dont celui de Grenoble. Tout receveur ayant au moins un échantillon de LCO, artère, veine, hématome, liquide péritonéal, pus ou hémoculture positifs à *Candida sp* est considéré comme infecté. Les souches isolées par les laboratoires de mycologies des différents centres, devaient être envoyées au CNRMA pour un génotypage.

Sur 18 617 greffes effectuées sur cette période, 24 colonisations de greffons rénaux à *Candida sp*, ont été répertoriées conduisant à 18 infections avérées du receveur ce qui correspond à une incidence de 1/1000.

Les caractéristiques des **donneurs** à l'origine d'un greffon contaminé étaient les suivantes :

- douze donneurs (PMO) dont la moyenne d'âge est 35 ans (20 à 48 ans)
- neuf avaient reçu une antibiothérapie prophylactique en USI
- le temps moyen de séjour en USI était de 4 jours (2-11 jours)
- aucun prélèvement sanguin et urinaire n'était positif à *Candida*
- une brèche digestive était observée chez 7 donneurs.

Sur ces 12 donneurs ont été prélevés 24 reins, 12 foies et 9 cœurs. Dix huit reins et 7 foies contaminés à *Candida sp* ont été à l'origine d'infections fongiques chez les receveurs :

- pour 6 donneurs, les 2 receveurs de reins et le receveur de foie ont été contaminés
- pour 1 donneur, seulement un des deux receveurs de rein et le receveur de foie ont été contaminés

- pour 5 donneurs, seulement le receveur d'un rein a été contaminé.

Aucun transplanté cardiaque n'a été infecté par *Candida sp.* Les complications infectieuses chez les transplantés hépatiques ne sont pas rapportées dans l'étude, on ne s'intéresse qu'aux transplantations rénales.

Les caractéristiques des **receveurs** ayant développé une infection fongique du site de greffe étaient les suivantes :

- âge moyen de 40 ans (de 24 à 67 ans)
- le temps d'ischémie froide moyen était de 21,5 heures (13,8 à 34 heures)
- tous avaient reçu un traitement antibiotique prophylactique, mais aucun traitement antifongique prophylactique.

Les complications fongiques :

Les 24 greffons rénaux contaminés à *Candida* ont entraîné des complications infectieuses chez 18 transplantés se manifestant cliniquement par :

- **14 artérites** de l'artère iliaque du greffon (site de l'anastomose) survenues en moyenne 27 jours post transplantation (3-154j), sur les 14 receveurs 3 sont morts par rupture de l'anastomose de l'artère rénale, 9 ont dû être détransplantés en urgence et seulement 2 ont conservé un greffon fonctionnel
- **2 abcès** survenus en moyenne 17 jours post transplantation, les 3 patients ont conservé leur greffon après un traitement par drainage chirurgical de l'abcès et traitement antifongique
- **1 urinome**, survenu 26 jours post transplantation, traité par fluconazole, le greffon est fonctionnel
- **1 infection du site chirurgical**, traité par amphotéricine B le greffon est fonctionnel.

A partir de la publication d'Albano et al., nous avons résumé les résultats d'analyses fongiques effectuées sur les receveurs en fonction des manifestations cliniques (tableau VII).

	Artérite n=14	Abcès n=2	Urinome n=1	Infection du site chirurgical n=1	Asymptomatique n=6
LCO	7pos/7neg	2 pos	1 neg	1 pos	2pos/3neg/1ND
Artère	10 pos	-	-	-	-
Drain	4 pos	2pos	1 pos	1pos	-
pus	1pos	2pos	-	-	-
urine	-	-	1 pos	-	-
sang	2pos	-	-	-	-

Tableau VII : Résultats de mise en culture fongique, d'échantillons prélevés chez les receveurs de reins, en fonction des manifestations cliniques [tableau réalisé à partir de l'article d'Albano et al.].

LCO= liquide de conservation des organes ; Pos= culture positive à *Candida sp* ; Neg= culture négative à *Candida sp*

Prise en charge thérapeutique et chirurgicale et résultat :

Nous avons récapitulé la prise en charge des patients infectés à *Candida* en fonction de la complication développée dans le tableau VIII. Le traitement antifongique a été soit prophylactique (n=5), débuté en présence d'un LCO positif ou chez le receveur de rein adelphe d'un donneur contaminé, soit curatif (n=11), initié après constatation clinique et biologique d'infection.

	Artérite n=14	Abcès n=2	Urinome n=1	Infection du site chirurgical n=1	Assymptomatiques n=6
Antifongique prophylaxie N=5	- 1 Flu -> décès à 3 jours	- 1 Flu	aucun	aucun	-3 Flu
Antifongique en curatif N= 11	- 10 Flu +/- Amp B +/- vcz - 1 ND	- 1 Flu - 1 Flu puis Vcz	- 1 Flu	- 1 Amp B	aucun
Traitement chirurgical N=11	- 9 pontages : 7 associés à néphrectomie, 2 greffons fonctionnels après pontage - 2 néphrectomies sans pontage	- 2 drainages chirurgicaux	Aucun	- Drainage chirurgical -réfection de l'anastomose urétrale	aucun
résultats	- 3 décès - 9 néphrectomies - 2 greffons fonctionnels	- 2 greffons fonctionnels	- greffon fonctionnel	- greffon fonctionnel	- 6 greffons fonctionnels

Tableau VIII : Prise en charge médicamenteuse et chirurgicale des receveurs d'organes infectés à *Candida sp* et évolution [tableau réalisé à partir de l'article d'Albano et al.].

Flu : Fluconazole, AmpB : Amphotéricine B, Vcz : Voriconazole, ND : non documenté.

Cette première étude française a permis de montrer que les infections à *Candida* du greffon chez les transplantés rénaux proviennent de la contamination du greffon lors du prélèvement

de l'organe. La similitude des génotypes des différents isolats retrouvés dans les LCO et dans les sites opératoires des receveurs correspondants confirme cette hypothèse. Les 2 cas de contaminations par des espèces rares de *Candida*, *C. dubliniensis* et *C. palmiophila*, mettent également en évidence une origine commune de contaminations des greffons lors de PMO.

Plusieurs facteurs peuvent potentiellement expliquer la contamination des donneurs d'organes et particulièrement la survenue de brèche digestive qui a été reportée ici dans 7 cas sur 12. Lors de brèche digestive les levures intestinales contaminent les organes, qui eux même vont contaminer le LCO puis le receveur. De plus, tous les donneurs avait reçu une antibiothérapie prophylactique à large spectre qui élimine les bactéries de la flore intestinale commensale et favorise donc la prolifération des *Candida*. Le risque majeur en cas de contamination fongique du greffon est l'artérite candidosique au niveau de l'anastomose (14 cas sur 18) qui conduit souvent à une perte du greffon voire le décès par rupture de la paroi artérielle : 3 décès sur 14 cas d'artérites et 9 détransplantations.

Les conséquences graves observées chez les receveurs au cours de cette étude montrent la nécessité de prévenir les contaminations fongiques du greffon notamment par analyse fongique des LCO. Afin de définir clairement quels sont les prélèvements biologiques à réaliser en terme de prévention, l'ABM a émis, en juin 2005, des recommandations « pour la prévention des infections à *Candida* survenant au décours de greffes rénales » [40].

2.1.2.2 Etude prospective sur l'analyse des liquides de conservation des organes : 2006 et 2008

En 2006 et en 2008, l'ABM a mené deux études prospectives dans tous les centres de transplantation français afin d'évaluer le taux de contamination infectieuse du LCO et ses conséquences sur les receveurs [35,39].

Au cours de l'année 2006, l'ABM a comptabilisé 650 LCO contaminés par des bactéries ou levures. Sur 650 contaminations de LCO, 8 ont conduit à des effets indésirables graves chez les transplantés et ont abouti à 5 détransplantations, 1 candidose invasive et 2 décès.

Organe	Microorganismes	Événement grave chez le receveur
Rein droit	<i>Candida albicans</i>	Décès
Foie	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Candida albicans</i>	Décès avec choc septique
Rein gauche	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Hafnia alvei</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Détransplantation
Foie	<i>Escherichia coli</i>	Détransplantation pour thrombose portale
Rein droit	<i>Candida albicans</i>	Détransplantation pour thrombose veineuse positive à levure
Rein gauche	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Candida albicans</i>	Détransplantation dans contexte de syndrome hyperalgique dans la région du greffon
Rein gauche	<i>Candida tropicalis</i>	Détransplantation pour thrombose de l'artère polaire inférieure
Foie	<i>Candida glabrata</i> <i>Candida krusei</i>	Candidose invasive

Tableau IX : Liquide de conservation contaminé avec effet indésirable chez le receveur, survenu en France en 2006 [recommandation de l'ABM, septembre 2008].

En 2008, le correspondant local de biovigilance de l'ABM a rédigé un rapport annuel synthétisant toutes les déclarations relatives à la vigilance des organes et des tissus et cellules [35]. Ce rapport est rédigé chaque année à partir des signalements d'incidents ou d'effets indésirables concernant les organes, transmis à l'ABM (souvent par l'intermédiaire du SRA) et/ou à l'AFSSAPS.

- Les incidents et effet indésirables déclarés à l'AFSSAPS :

En 2008, 52 incidents relatifs à la vigilance des organes ont été déclarés à l'AFSSAPS. Sur 52 incidents, 27 correspondaient à une contamination fongique du LCO, 2 à une erreur de groupe sanguin du receveur, 3 à une qualification biologique non-conforme du donneur, 19 à une tumeur chez le donneur. Les 27 incidents concernant une contamination fongique du LCO correspondaient à la contamination de 41 LCO car un incident peut correspondre à plusieurs LCO positifs quand les organes sont issus du même donneur.

Quatre cas de contamination de LCO ayant conduit à des effets indésirables graves chez les receveurs ont été déclarés à l'AFSSAPS (tableau X). Deux LCO positifs à agent fongique ont conduit à un décès et une détransplantation et 2 LCO positifs à bactéries ont conduit également à un décès et une détransplantation. Le ratio du nombre d'effets indésirables découlant d'une contamination de greffon par rapport au nombre de greffes totales reste

faible, cependant encore une fois cette étude met en avant les conséquences gravissimes pour le receveur en cas d'infection du site de greffe.

Nature du greffon	Nature de l'effet indésirable	Agents isolés dans le LCO	Ratio nombre d'EI déclarés/ greffes réalisées
Foie	Décès Septicémie à <i>Escherichia coli</i>	bactéries	1/1011
Rein G	Décès Anévrisme mycotique, septicémie à <i>Candida</i> puis décès	Levures (<i>Candida</i>)	4/2937
Rein G	Détransplantation Anévrisme mycotique	Levures	
Rein	Détransplantation Choc hémorragique massif	Bactéries	

Tableau X : Liquides de conservation contaminés avec effet indésirable grave chez le receveur, survenu en France en 2008 [Rapport biovigilance de l'AB 2008].

EI : effet indésirable, LCO : liquide de conservation, G : gauche

- Les incidents non déclarés à l'AFSSAPS :

Aux cas de contamination du LCO déclarés à l'AFSSAPS, il faut ajouter ceux qui n'ont pas été déclarés : 695 LCO contaminés par des bactéries seules sans effets indésirables graves chez le receveur et 14 LCO contaminés par des agents fongiques seuls ou des agents fongiques + bactéries sans effet indésirable grave sur le receveur.

En définitive si l'on additionne les cas déclarés à l'AFSSAPS et ceux non déclarés au cours de l'année 2008, **750** LCO ont été contaminés par des agents fongiques et/ou bactériens sans effet indésirable sur le receveur, ces cas sont rapportés dans le tableau XI.

Nature du greffon	Nombre d'organe prélevé	Etape de constatation de la contamination	Nature de la contamination du PTA	Nombre de contamination
Rein Pancréas Cœur Cœur-poumon Poumon Foie Intestin	4080	Après greffe	Bactérie seule	695
		Après greffe	Agent fongique Ou Agent fongique et bactérie	55 (incidents déclarés : 41 + incidents non déclaré : 14)

Tableau XI : Liquides de conservation contaminés sans effet indésirable grave chez le receveur, survenu en France en 2008 [rapport biovigilance 2008].

- Les incidents liés à la qualité intrinsèque du LCO :

Aucun incident lié à la qualité intrinsèque du LCO n'a été signalé en 2008.

Au total, au cours de l'année 2008, 59 greffons ont été contaminés par un agent fongique dont 4 ont conduit un effet indésirable grave pour le receveur. Par rapport à 2006, il y a donc eu 2 fois moins de conséquences graves pour les receveurs, peut être que la mise en place progressive de l'analyse fongique des LCO dans les différents centres de transplantation français commence à porter ses fruits.

2.2 Recommandations de l'Agence de la biomédecine sur «la prévention de la transmission d'agents bactériens et fongiques aux receveurs d'organes»

Une première série de recommandations a été rédigée par l'ABM, en juin 2005, suite à la survenue de 2 décès et 2 détransplantations rénales secondaires à *Candida sp* [40]. Leur champ d'action était alors limité à la «prévention des infections à *Candida* survenant au décours de greffes rénales».

En 2006, l'ABM constatait que les contaminations fongiques ou bactériennes des greffons sont encore responsables d'effets indésirables graves chez le receveur. Cet état des lieux montrait la nécessité de mettre en place de nouvelles recommandations.

Ainsi dès 2007, l'ABM a réuni un groupe de travail dont l'objectif était de rédiger des recommandations visant à prévenir la transmission d'agents fongiques et bactériens aux receveurs d'organes via le greffon. Ces recommandations ont été validées en septembre 2008. L'ensemble du travail d'élaboration des recommandations a été coordonné par le pôle Sécurité-Qualité de l'ABM chargé de la biovigilance des organes et de la sécurité sanitaire : Dr Leluong T., Dr Creusvaux H. et Mme Roche M. Ces recommandations ont été validées par le comité médical et scientifique de l'AB le 15 septembre 2008 et sont disponibles en version pdf sur le site internet de l'ABM : <http://www.agence-biomedecine.fr>, rubrique « espace expert/prélèvement et greffe/organe », elles sont disponibles sous 2 versions : un texte long comportant une argumentation scientifique et un texte court, plus opérationnel, se limitant aux seules recommandations (annexe 1).

Le champ de ces recommandations est limité à la greffe d'organes solides et plus particulièrement aux organes stériles (rein, foie, cœur). Cependant, la situation s'appliquant spécifiquement à la greffe de poumons a été abordée dans le chapitre : « 1.2 Analyses broncho-pulmonaires en cas de prélèvements poumons/cœur-poumons ». Ces recommandations prennent en compte l'ensemble des étapes de la chaîne de la greffe d'organes : qualification biologique du donneur, prélèvement d'organes, greffe d'organes et

suivi du receveur et circuit d'alerte mis en cas de survenue d'évènements indésirables. Les recommandations traitent de la prévention des contaminations fongiques et bactériennes, mais dans ce travail nous nous intéresseront uniquement à la gestion du risque fongique.

Ces recommandations sont destinées :

- aux coordinations hospitalières de prélèvement d'organes
- aux équipes de prélèvement et de greffes
- aux laboratoires de bactériologie et de mycologie
- au SRA de l'ABM
- aux CLB des établissements de santé
- aux centres de lutte contre les infections nosocomiales (CCLIN)
- à la direction des établissements de santé.

On distingue différents niveaux de recommandation :

- (A) = il est fortement recommandé de faire
- (B) = il est recommandé de faire
- (C) = il est recommandé de faire ou de ne pas faire
- (D) = il est recommandé de ne pas faire
- (E) = il est fortement recommandé de ne pas faire

2.2.1 Prélèvements biologiques recommandés pour détection des agents fongiques

L'ABM recommande d'effectuer la mise en culture fongique de différents échantillons prélevés chez les donneurs et receveurs d'organes, ainsi que sur LCO. Toutes ces analyses ont pour objectif la prévention de la contamination fongique des receveurs via le greffon. A partir des textes de recommandations nous avons récapitulé dans le tableau XII les prélèvements qu'il est fortement recommandé de faire (A) ou recommandé de faire (B).

Pour tout échantillon prélevé, il est fortement recommandé :

- d'acheminer les échantillons sans délai au laboratoire qui les analysera en fonction de la température recommandée pour chaque échantillon (A)
- de conserver toutes souches isolées au minimum 12 mois (B)
- de conserver les souches isolées à -80°C (B) où à -20°C dans 10% de glycérol.

Qui prélever	Type de prélèvement	Quand prélever	Etiquetage des échantillons
Donneur : avant prélèvement d'organe	Tous	Sang ^a (A) R3	
	Poumon Cœur-poumon	Urine ^a (A) R3-R8 Prélèvement profond pulmonaire ^a (B) R9 - LBA ou, - Brossage protégé ou, - Prélèvement distal protégé R10 NB : ne pas faire d'aspiration trachéale (E)	Délai entre prélèvement et passage au bloc opératoire du donneur le plus court possible (A) - « donneur d'organe » - n° cristal R13
Donneur : lors du prélèvement d'organe	En cas de présence de liquide d'épanchement à l'incision	Liquide d'épanchement ^a (A) R20	- « donneur d'organe » - n° cristal R13
	En cas de brèche digestive	Liquide péritonéal ^a (A) R21	
Receveur : lors de la greffe	Tous	Liquide de conservation des organes : 2 flacons stériles de 25ml ^b R34-R35 (1 pour analyse bactériologique et 1 pour analyse mycologique)	Dès ouverture du conteneur interne - « liquide de conservation rein, foie ou cœur » - nom du receveur - n° cristal du donneur R36
	Rein	Liquide de drainage aspiratif (redon) ^{a,c} (A) R52	
	Foie	Liquide de drainage (liquide de lame) ^a (B) R53	-receveur d'organe R55
	Cœur	Recoupe de vaisseaux ^a (B) R54	

Tableau XII : Prélèvements biologiques pour examens mycologiques recommandés par l'ABM au cours des différentes étapes de transplantation [tableau de synthèse des recommandations de l'ABM, septembre 2008].

R : Référence dans les recommandations de l'ABM

^a Il est fortement recommandé que les laboratoires de microbiologie détectent sur ce prélèvement les agents fongiques conformément au référentiel REMIC.

^b Propositions pour la recherche d'agents fongiques dans le LCO :

- examen microscopique direct avec un agent clarifiant (B)
- ensemencement sur flacon hémoculture (BACTEC mycosis®, BacTec/AlertMB®) ou 2 tubes Sabouraud chloramphénicol, gentamycine (B)
- en cas d'examen microscopique direct positif, utiliser un milieu gélosé d'identification rapide type chromogène permettant une identification rapide de certaines espèces selon la gélose utilisée (B)
- identifier toutes souches qui ont pu être isolées (A)
- réaliser un antifongigramme (B)
- Si conséquences infectieuses pour le receveur : centraliser les isolats au CNRMA pour des études supplémentaires notamment de typage (A) (cette analyse est à visée étiologique, elle permet de confirmer le caractère unique de la souche isolée sur plusieurs échantillons d'un couple donneur-receveur). *R51*

^c L'intérêt de réaliser des analyses fongiques des artères, veines, uretère du greffon rénal et de graisse périrénale reste à confirmer

2.2.2 Surveillance du ou des receveur(s) en cas de liquide de conservation contaminé et/ou de brèche digestive

Les études menées par l'ABM ont permis d'établir des recommandations de niveau A concernant la surveillance des transplantés rénaux en cas de contamination du liquide de conservation et lors de la survenue de brèche digestive. Nous avons synthétisé ces recommandations dans le tableau XIII. Cependant, il n'existe pas de donnée spécifique relative à la surveillance des receveurs de foie et cœur/poumon, chez qui on appliquera les mêmes recommandations mais à niveau B.

	En cas de contamination du LCO par un agent fongique	En cas de brèche digestive lors d'un PMO
Traitement antifongique chez le receveur concerné	Pour receveur reins, foie cœur, poumon : Traitement préemptif adapté à l'espèce dès la connaissance de la positivité du résultat (A) <i>R61-R71-R76</i> - En cas de <i>C. albicans</i> isolé, fluconazole pendant 15 jours (A) <i>R61bis-R71bis</i>	Pour les receveurs reins : - en 1 ^{ère} intention et en l'absence de traitements antérieurs par azolés, fluconazole pendant 15 jours (A) <i>R64</i>
Surveillance du/des receveur(s)	- clinique - biologique - radiologique par scanner multibarette centré sur l'anastomose artérielle (A) <i>R62-R72-R77</i>	Pour les receveurs reins et foie : - clinique - biologique - radiologique par scanner multibarette centré sur l'anastomose artérielle (A) - disposer au plus vite de l'examen microscopique et de la culture de LCO pour envisager un traitement <i>R65-R73</i>
Chez les receveurs des autres organes abdominaux	- Disposer au plus vite des examens des LCO, pour envisager un traitement antifongique (A) - L'utilité d'un traitement préemptif systématique n'est pas résolue. <i>R63</i>	- Pour les reins : traitement et surveillance du receveur - Pour le foie : uniquement surveillance du receveur
En cas de complications fongiques chez le receveur ^a	- Avis chirurgical et vasculaire à la recherche d'une artérite infectieuse (A) <i>R67</i> - Prélèvements à visée mycologique <i>R67</i>	
En cas de détransplantation dans les 3 mois suivant la greffe	- recherche mycologique sur le greffon (A) <i>R68</i>	

Tableau XIII : Surveillance du receveur d'organe en cas de LCO contaminé et /ou de brèche digestive [tableau de synthèse des recommandations de l'ABM].

^a On entend par « complication fongique » chez le receveur la manifestation clinique ou biologique d'une infection fongique :

- liquide de drainage aspiratif positif à agent fongique
- ou signe clinique d'infection inexpliquée par ailleurs (fièvre, douleur de la loge de transplantation, syndrome inflammatoire)

- ou anomalie de l'icographie (collection de la loge de transplantation, et/ou anomalie du pédicule vasculaire).

2.2.3 Signalement d'un événement indésirable

- **En cas de brèche digestive, il est fortement recommandé que (A) :**

- l'équipe chirurgicale informe toutes les équipes de l'existence d'une brèche, de son niveau anatomique, et la signale sur le compte-rendu opératoire
- la coordination hospitalière prend connaissance de la présence de brèche grâce au compte-rendu opératoire et doit vérifier la notion de brèche digestive auprès de l'équipe chirurgicale
- la coordination hospitalière s'assure que la brèche soit bien mentionnée sur le bordereau rein ou foie et sur la demande d'analyse bactériologique et mycologique transmise au laboratoire
- la coordination hospitalière informe ensuite le SRA
- le SRA informe toutes les équipes de greffes concernées par cette brèche.

- **En cas de contamination du liquide du LCO, il est fortement recommandé que (A) :**

- chaque structure hospitalière mette en place un circuit d'alerte qui fasse l'objet de procédure interne
- l'équipe de greffe alerte le SRA afin qu'il alerte d'autres équipes de greffe en charge des organes provenant du même prélèvement
- l'équipe de greffe alerte le correspondant local de biovigilance (CLB) en vue d'un suivi du receveur et éventuellement d'une déclaration de biovigilance.

- **En cas d'infection du receveur suite à la contamination du LCO, il est fortement recommandé (A) :**

- que le CLB fasse une déclaration à la biovigilance de l'AB
- de le signaler au SRA qui alerte les équipes de greffe chargées des autres receveurs, la gestion de l'urgence est assurée 24h sur 24, 7 jours sur 7 par l'AB
- de le signaler au CCLIN et à la DASS car c'est une infection nosocomiale.

3 Etat des lieux au CHU de Grenoble

3.1 Prévention de la transmission d'agents fongiques par le greffon aux receveurs d'organes

3.1.1 Donneur : prélèvements et analyses mycologiques actuellement effectués

- Prélèvements:

La coordination hospitalière de Grenoble a établi une « fiche de prélèvement multi organe » sur laquelle sont notifiés les prélèvements et autres examens à effectuer sur un donneur avant le prélèvement d'organe (annexe 2). Lors d'un PMO, l'infirmière de coordination est contactée, elle se rend en salle d'opération avec la « fiche PMO » et l'ensemble des demandes d'analyses bactériologiques et parasitologiques (annexe3). La fiche PMO est remplie par l'infirmière de coordination afin de vérifier et tracer chaque examen qui a été effectué sur le donneur, elle est ensuite placée dans le dossier médical du donneur. Quatre prélèvements biologiques pour analyse mycologique et parasitologique sont mentionnés sur la fiche PMO et systématiquement réalisés :

- 1 urinaire (vacutainer urine de 10ml) → mycologie des urines
- 1 sanguin (tube sec) → sérologie toxoplasmose
- 2 sanguins à 1 heure d'intervalle (flacon BD Bactec Mycosis IC/F opercule vert) → hémoculture fongique.

La recherche de paludisme n'est effectuée que si le donneur a voyagé dans une zone endémique. Deux tubes sanguins sont prélevés (2 tubes secs et 2 tubes EDTA). Chaque tube est accompagné d'une demande d'analyse parasitologique (bon jaune) où il est précisé :

- prélèvement multi-organe
- le caractère d'urgence de l'analyse
- l'identité du donneur
- l'analyse prescrite et les échantillons associés.

Les tubes et bons sont placés dans des sachets rouges.

- Technique d'analyses mycologiques :

Les techniques utilisées par le laboratoire pour la recherche d'agent fongique sont résumées dans le tableau XIV. En cas de culture positive, l'espèce est identifiée par une

galerie ID32C (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France). Un antifongigramme est réalisé par Etest (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France).

Prélèvement	Examen direct	Milieu de culture	Temps d'incubation
		Technique d'ensemencement	
Hémoculture	Non	Flacon hémoculture mycosis IC/F incubé dans Bactec 9240 (Becton Dickinson) à 37°C	6 jours
Urine	Non	100µl déposés sur une boîte Candida ID2 ^b incubé à 37°C	3 jours
Lavage broncho-alvéolaire	Coloration de Musto ^a	Gélose Candida ID2 ^b incubé à 35°C Tube Sabouraud Chloramphénicol ^c à 27°C	6 jours
Liquide d'épanchement (hors digestif)	Noir chlorazole Coloration de Musto ^a	Gélose Candida ID2 ^b incubé à 35°C Tube Sabouraud Chloramphénicol ^c à 27°C (+/-Flacon hémoculture mycosis IC/F)	6 jours
Liquide péritonéale	Noir chlorazole	Gélose Candida ID2 ^b incubé à 35°C (+/-Flacon hémoculture mycosis IC/F)	3 jours

Tableau XIV: Techniques de laboratoire du CHU de Grenoble pour l'analyse de prélèvements réalisés sur donneurs d'organes.

^aGOMORI-GROCOTT modifié; ^bCandida ID2 (CAN2, Biomérieux, Marcy l'Etoile, France); ^cTube Sabouraud Chloramphénicol (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France).

Le reste de prélèvement est conservé 15 jours à 4°C.

• Transmission des résultats et traçabilité :

Le laboratoire de Parasitologie-Mycologie communique les résultats des examens mycologiques aux prescripteurs grâce au système de gestion des laboratoires qui les transfère dans le dossier Cristalnet du donneur. La coordination hospitalière récupère ces résultats et les retranscrit dans le dossier donneur, les résultats sont alors rendus anonymes grâce au n° cristal.

Les infirmières de coordination impriment une fiche de suivi des analyses fongiques et bactériologiques effectuées sur le donneur appelée FT60/P5-annexe 50 (annexe 5), la placent dans le dossier donneur et la complètent lorsqu'elles reçoivent les résultats.

En cas de positivité d'un examen bactériologique ou mycologique du donneur :

- receveur à Grenoble : édition de la « feuille 46 Complément d'examen du donneur » (annexe 6) et fax au service concerné avec le résultat de l'analyse
- receveur à l'extérieur : fax du résultat au SRAIII pour qu'il puisse le transmettre aux hôpitaux en charge des receveurs.

• Analyses mycologiques sur donneur : étude de 10 dossiers de donneur

Afin de savoir quelles analyses mycologiques sont réalisées en pratique sur un donneur avant et au cours d'un PMO, nous avons relevé les examens fongiques effectués lors de 10 PMO réalisés au CHU de Grenoble. Nous avons choisi d'étudier des PMO récents reflétant

ainsi les pratiques actuelles du CHU de Grenoble mais datant d'au moins 2 semaines avant l'étude pour que toutes les analyses fongiques aient été rendues. L'étude réalisée le 04/12/09 inclue 10 PMO effectués entre août et mi-novembre 2009.

Nous avons examiné en particulier si les 5 examens fongiques recommandés par l'AB (urine, sang, prélèvement profond pulmonaire, liquide péritonéal en cas de brèche digestive, liquide d'épanchement - tableau XV) sont bien réalisés.

	urine	sang	Prélèvement profond pulmonaire	Liquide péritonéal en cas de brèche digestive	Liquide d'épanchement	Autres prélèvements
1	Oui	Oui : 2 hémocultures			Non ^a	-
2	Non ^a	Oui : 2 hémocultures	Non car pas de prélèvements pulmonaire		Non ^a	-
3	Non ^a	Oui : 2 hémocultures			Pas de liquide d'épanchement	-
4	Oui	Oui : 1 seule hémoculture			Non ^a	-
5	Oui	Oui : 2 hémocultures	Non ^a	Pas de brèche digestive	Non ^a	-
6	Oui	Oui : 2 hémocultures			Non ^a	-
7	Non ^a	Oui : 2 hémocultures	Non car pas de prélèvements pulmonaire		Pas de liquide d'épanchement	-
8	Oui	Oui : 2 hémocultures				-
9	Oui	Oui : 2 hémocultures			Non ^a	-
10	Oui	Oui : 2 hémocultures			Non ^a	-

Tableau XV: Analyses mycologiques effectuées sur 10 donneurs au CHU de Grenoble.

^aUniquement analyse bactériologique

Cette étude montre qu'au moins une hémoculture fongique est toujours réalisée.

L'analyse fongique urinaire a été oubliée 3 fois sur 10, cependant on peut tout de même dire que cette analyse est bien réalisée en routine car les infirmières de coordination veillent à la réalisation de cet examen, de plus la fiche PMO en fait mention (annexe 2).

En cas de prélèvement du poumon, un prélèvement profond pulmonaire est bien réalisé mais il semble que seule une analyse bactériologique soit effectuée. Dans l'étude un seul poumon a été prélevé, on ne peut donc pas généraliser mais l'infirmière de coordination

hospitalière a confirmé qu'aucun examen fongique n'est réalisé sur les prélèvements profonds pulmonaires.

En cas de présence de liquide d'épanchement, seule l'analyse bactériologique est réalisée.

Au cours des 10 PMO étudiés, aucune brèche digestive n'a été signalée, ne permettant donc pas de confirmer si une analyse fongique du liquide péritonéal est réellement réalisée en cas de brèche digestive.

Notons que sur la fiche PMO, il n'est pas fait mention de prélèvement particulier à faire en cas de brèche digestive ou de présence de liquide d'épanchement. Il n'est pas non plus précisé qu'un prélèvement profond pulmonaire en vue d'analyse mycologique doit être réalisé lorsque les poumons sont prélevés. Ceci pourrait expliquer l'absence de ces analyses mycologiques sur les 10 donneurs.

3.1.2 Liquide de conservation des organes : prélèvements et analyses mycologiques actuellement effectués

- Techniques d'analyses mycologiques :

Examens mycologiques effectués au CHU de Grenoble pour la recherche d'agent fongique dans le LCO :

- aucun examen direct n'est réalisé
- deux types d'ensemencement sont réalisés :
 - o ensemencement sur flacon d'hémoculture : Mycosis IC/F, incubé dans un Bactec (Becton Dickinson) 9240 à 35°C pendant 6 jours
 - o ensemencement de 100µl sur milieu chromogénique : gélose Candida ID2 (CAN2, BioMérieux), incubé à 35°C durant 6 jours
- identification de toute souche isolée par galerie ID32C (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France)
- réalisation d'un antifongigramme par Etest (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France)
- les souches isolées sont envoyées au CNRMA dans un conteneur à triple emballage
- les souches isolées sont conservées à -20°C dans un milieu Sabouraud liquide avec 10% de glycérol dans lequel sont ajoutées des perles stériles. Ces souches sont stockées dans la mycothèque du laboratoire de Parasitologie Mycologie.

- Transmission des résultats et traçabilité:

Le laboratoire de Parasitologie Mycologie rapporte les résultats sur Cristalnet au nom du receveur. Les infirmières de la coordination hospitalière récupèrent ces résultats et les notent dans le dossier donneur (quand le donneur vient de Grenoble) ou le dossier importé (quand le donneur vient de l'extérieur), ainsi que dans le dossier du receveur.

Dès qu'un organe est greffé à Grenoble la fiche de suivi des greffes FT14/P6-annexe70 (annexe 5) est imprimée par l'infirmière de coordination. Elle est constituée de 2 parties, l'une pour le suivi des LCO qui est placé à la fois dans le dossier receveur et le dossier donneur (si le donneur est à Grenoble), et l'autre pour le suivi des sérologies du receveur.

Les résultats sont également reportés dans un tableau informatique de « sécurisation sanitaire » où sont notés : le n° cristal du donneur, la date de prélèvement, les noms des receveurs, les organes greffés, les analyses des liquides de conservation et les sérologies virales.

- Analyses mycologiques sur LCO : étude de 20 dossiers de receveurs :

D'après l'infirmière de coordination hospitalière, normalement 2 échantillons de LCO devraient être prélevés : un pour l'analyse bactériologique et un pour l'analyse fongique. Sur l'étiquette, il est mentionné le nom du receveur, la nature de l'échantillon « liquide de conservation rein, foie ou poumon.. ». Afin de savoir si en pratique la recherche d'agent fongique dans le LCO est effectivement demandée, nous avons étudié les dossiers de 20 transplantations effectuées au CHU de Grenoble entre juillet et octobre 2009 (5 transplantations rénales, 5 pulmonaires, 5 hépatiques et 5 cardiaques).

Les résultats des analyses fongiques des LCO sont rapportés dans le tableau XVI. Les analyses mycologiques du LCO ont été réalisées pour les 5 transplantations rénales et 4 des 5 transplantations hépatiques mais aucune n'a été effectuée pour les greffes cardiaques et pulmonaires. Précisons qu'en revanche, tous les LCO ont été analysés en bactériologie.

Nous pouvons nous demander si les données de la littérature en matière de transplantation rénale et hépatique, conduisent déjà les équipes de greffe de rein et de foie à réaliser le contrôle mycologique des LCO, ce qui ne semble pas encore le cas pour les autres équipes de greffe (cœur, poumon). En revanche la recherche de bactérie dans LCO semble être effectuée systématiquement quelque soit l'organe transplanté.

3.1.3 Receveur : prélèvements et analyses mycologiques actuellement effectués

En ce qui concerne les analyses réalisées sur les receveurs d'organes, nous n'avons pas détaillé les techniques de laboratoire utilisées. En effet les techniques d'analyses sont les mêmes que pour tout autre échantillon provenant de n'importe quel patient car les prélèvements ne sont pas identifiés comme provenant d'un « receveur d'organe ».

- Transmission des résultats et traçabilité :

Les résultats des analyses fongiques sont transmis aux cliniciens en charge du receveur par l'intermédiaire de Cristalnet.

Ces résultats ne sont pas récupérés par les infirmières de coordinations, elles s'occupent uniquement des résultats des analyses fongiques faites sur les donneurs et le LCO.

- Analyses mycologiques sur receveurs : étude de 20 dossiers de receveurs :

Il n'existe actuellement, au CHU de Grenoble, aucune procédure précisant les prélèvements biologiques pour la recherche d'agents fongiques à effectuer sur les receveurs d'organe. Afin de connaître quels sont les prélèvements effectués en pratique par les équipes de greffe, nous avons étudié rétrospectivement 20 dossiers de transplantations effectuées au CHU de Grenoble entre mi-mai et fin octobre 2009 (tableau XVI).

Les prélèvements pouvant être différents en fonction du type d'organe transplanté, nous avons étudié 5 dossiers de greffe hépatique, 5 de greffe rénale, 5 de greffe pulmonaire et 5 de greffe cardiaque. Nous nous sommes intéressés aux examens fongiques réalisés dans les 2 semaines suivant la transplantation. Nous avons choisi d'étudier des greffes les plus récentes mais avec un recul d'au moins 1 mois.

REINS	1	2	3	4	5
LCO	oui	oui	oui	oui	oui
Examens fongiques (jour post greffe)	Aucun	Urine J0 → Neg	Aucun	Aucun	Aucun
FOIES	1	2	3	4	5
LCO	oui	non	oui	oui	oui
Examens fongiques - jour post greffe	Liquide de lame J0, J2, J4, J5, J14 → Neg Urine J0, J14 → Neg Hémoculture J1, J7 → Neg Aspiration trachéale J0, J14 → Rare Ct Bronchoaspiration J8 → Ct Séro. Aspergillaires J4, J11 → Neg Bouche J14 → Ct Marge anale J14 → Ct	Liquide de lame J0, J2, J3, J5, J14 → Neg Urine J8 → Neg Hémoculture J2, J4 → Neg BA J6 → Ca Sérologies Aspergillaires J12 → Neg Bouche J8 → Ct Marge anale J8 → Ct	Liquide de lame J1, J2, J3, J4, J5, J6, J8, J15 → Neg Urine J1, J8 → Neg Hémoculture J1 → Neg Bouche J8 → Ct Marge anale J8 → Ct	Liquide de lame J0, J1, J4, J5, J14 → Neg Urine J0 → Neg, J12 → Cg Hémoculture J0, J9, J14 → Neg Aspiration trachéale J0 → Neg, J12 → Rare Ca, Cg Liquide pleural J15 → Neg Liquide drain J9 → Neg Liquide d'épanchement péritonéal (ascite) J10, J11, J14 → Neg Bouche J12 → Neg Marge anale J12 → Ca	Liquide de lame J0, J1, J2, J3, J4 → Neg Urine J4 → Neg Hémoculture J0 → Neg Aspiration trachéale J0 → Neg Bouche J4 → Ca

POUMONS		1	2	3	4	5
LCO		Non	Non	Non	Non	Non
Examens fongiques (jour post greffe)	LBA J0, J2, J15 → Ca Biopsie bronchique J0 → Neg BA J15 → Neg Bouche J10 → Neg Antigénémie aspergillaire (sérum) J10, J11 → Neg	LBA J1 → Ca Aspiration trachéale J11 → Ca, rare Cg Bouche J3, J9, J16 → Ca Antigénémie aspergillaire (sérum) J5 → Neg	Biopsie bronchique J0 → Neg	BA J0 → Neg Bouche J5 → rare Ca Sérol. aspergillaire J12 → Neg		Biopsie bronchique (droite et gauche) J0 → Cp BA J4 → Ct, Ca Bouche J8 → Neg Urine J8 → Neg Antigénémie aspergillaire (sérum) J8 → Neg
COEURS		1	2	3	4	5
LCO		Non	Non	Non	Non	Non
Examens fongiques (jour post greffe)	Hémoculture J0, J8 → Neg Prélèvement nasal J0 → Neg Séro.aspergillaires J0, J7 → Neg	Crachat J8 → Ca Bouche J8 → Ca	Bouche J2 → Neg Urine J2 → Neg Séro.Aspergillaire → Neg	Aspiration trachéale J7, J14 → Ca Bouche J7, J14 → Cp		Bouche J5, J13 → Ca Urine J5, J13 → Neg Crachat J6 → Ca Hémoculture J14 → Neg Séro. aspergillaire J15 → Neg Sérologie Candida J15 → Neg

Tableau XVI : Analyses mycologiques effectuées sur 20 LCO et 20 receveurs dans les 15 jours post greffe, au CHU de Grenoble.

Ct : *Candida tropicalis*, Ca : *Candida albicans*, Cg : *Candida glabrata*, Cp : *Candida parapsyllosis*, BA : bronchoaspiration, LBA : lavage bronchoalvéolaire

Pour les receveurs de rein, l'ABM recommande de faire une analyse fongique des redons en post greffe (tableau XVI), cependant dans les cas étudiés aucune analyse fongique des redons n'a été réalisée. A part une analyse d'urine sur un des 5 transplantés rénaux, aucun examen fongique n'a été réalisé en post greffe.

Pour les receveurs de foie, l'ABM recommande d'effectuer une analyse fongique du liquide de lame en post greffe (tableau XVI), ce qui a effectivement été réalisé dans les 5 dossiers étudiés. D'autres analyses ont également été réalisées systématiquement sur les 5 receveurs : culture fongique des urines, du sang, de la bouche, de la marge anale et d'une aspiration trachéale et/ou BA. Dans 2 cas sur 5 une sérologie aspergillaire a été effectuée. Dans le cas 4, des examens fongiques supplémentaires du liquide pleural, du drain et du liquide péritonéal ont été réalisés car le receveur souffrait d'une ascite.

L'ABM n'a émis aucune recommandation quant aux analyses fongiques à effectuer sur les **receveurs de poumon**. Dans 4 cas sur 5, un prélèvement profond pulmonaire (LBA et/ou BA) ainsi qu'un prélèvement buccal ont été effectués dans la semaine suivant la greffe en vue d'analyse fongique, puis à J+10 une sérologie ou antigénémie aspergillaire a également été réalisée. Il n'y a que pour le receveur numéro 3 que ces examens n'ont pas été faits.

En ce qui concerne les **greffes cardiaques**, l'ABM recommande de réaliser une analyse fongique d'une recoupe de vaisseaux, mais dans les 5 cas étudiés cette analyse n'a pas été effectuée. Dans les 5 cas étudiés les analyses fongiques sont très différentes d'un cas sur l'autre (tableau XVI).

3.2 Gestion du risque infectieux en cas de liquide de conservation contaminé et/ou de brèche digestive

3.2.1 Biovigilance des liquides de conservation

Le centre de biovigilance du CHU de Grenoble (responsable Dr Richard MJ) a établi une procédure décrivant les actions à mener par la coordination hospitalière en cas de contamination bactériologique des liquides de conservation. Il n'existe pas de procédure spécifique concernant la contamination des LCO par des agents fongiques.

La procédure aborde 3 situations différentes dans lesquelles la bactériologie du LCO peut être positive, elle est rapportée ci-après.

1. Prélèvement à Grenoble et greffe à Grenoble :

- Prévenir les équipes de transplantation en charge du receveur et s'enquérir des conséquences pour ce patient.
- 2 conduites à tenir en fonction d'effet indésirable ou non chez le receveur
 - Si oui :
 - Déclaration de biovigilance par MJ Richard (CLB au CHU de Grenoble).
 - Prévenir le SRA 3.
 - Si non^a :
 - Conserver les documents dans le dossier importé.

2. Prélèvement à l'extérieur et greffe à Grenoble :

- Prévenir les équipes de transplantation en charge du receveur et s'enquérir des conséquences pour le patient.
- 2 conduites à tenir en fonction d'effet indésirable ou non chez le receveur
 - Si oui :
 - Déclaration de biovigilance par MJ Richard (CLB au CHU de Grenoble).
 - Prévenir le SRA 3.
 - Si non^a :
 - Vérifier la mise en route d'une antibiothérapie.
 - Conserver les documents dans le dossier importé.

3. Bactériologie d'un LCO analysé à l'extérieur retrouvé positif et organe(s) correspondant au même numéro cristal greffé(s) à Grenoble :

- Prévenir les équipes de transplantation en charge du ou des receveur(s) et s'enquérir des conséquences pour ce ou ces patient(s).
- 2 conduites à tenir en fonction d'effet indésirable ou non chez le receveur
 - Si oui :
 - Déclaration de biovigilance par MJ Richard (CLB au CHU de Grenoble).
 - Prévenir le SRA3.
 - Si non^a :
 - Vérifier la mise en route d'une antibiothérapie.
 - Conserver les documents dans le dossier importé.

Procédure : Biovigilance des liquides de conservation des organes, bactériologie du liquide de conservation [rédigé par le centre de biovigilance du CHU de Grenoble]

^a En pratique lorsque le LCO est contaminé par un agent fongique, le SRA 3 est toujours prévenu, même si il n'y a aucune conséquence pour le receveur. Une enquête est menée afin de savoir si les LCO contenant les organes issus du même PMO ont été contaminés. Si les LCO des autres receveurs sont stériles, aucune déclaration de biovigilance n'est faite. Par contre si d'autres LCO sont contaminés par le même agent fongique une déclaration de biovigilance est faite, même si aucun receveur ne présente de complication infectieuse.

L'annexe 20, rédigée par la biovigilance en octobre 2009, précise que lorsque la bactériologie est positive chez le donneur ou sur le LCO d'autres receveurs issus du même PMO, une copie des résultats ainsi que la feuille « 46 de complément d'examens » (annexe 6) doivent être faxées aux services d'accueil du receveur et une copie doit être classée dans le dossier du receveur.

Les déclarations de biovigilance, rédigées par les correspondants de biovigilance du CHU de Grenoble (Dr Richard MJ), sont transmises au CLB de l'ABM et à l'AFFSAPS. Un dossier sur les cas déclarés est conservé à la biovigilance du CHU. Aucune déclaration n'est faite au CLIN et à la DASS car il n'y a pas de risque infectieux épidémique, c'est un cas isolé.

3.2.2 En cas de brèche digestive lors du prélèvement

En cas de survenue de brèche digestive lors d'un prélèvement d'organe effectué au CHU de Grenoble, un échantillon de liquide péritonéal est systématiquement prélevé pour la recherche de bactérie. Cependant, la recherche d'agents fongiques ne semble pas être réalisée. La brèche digestive est signalée sur le compte-rendu opératoire par le chirurgien. Ce compte-rendu est transmis au centre de coordination qui le range dans le dossier donneur. La coordination signale immédiatement la survenue de brèche digestive au SRA par un appel téléphonique.

3.3 A propos de 5 cas de contamination fongique de liquides de conservation des organes

Sur l'ensemble des LCO analysés de décembre 2006 à novembre 2009, 5 se sont révélés colonisés par des agents fongiques. Les organes contaminés sont 2 greffons rénaux, 1 greffon hépatique et 2 greffons pulmonaires.

Dans le tableau XVII sont décrites : les caractéristiques des donneurs, les conséquences engendrées chez les receveurs, leur prise en charge médicamenteuse ou chirurgicale ainsi que l'issue de la transplantation.

- **Cas 1** : Présence de *C. albicans*, *C. Norvegenesis*, *C. Glabrata* et *C. kefyr* dans le LCO d'un poumon.

Donneur :

Il s'agit d'un homme de 63 ans mort d'un AVC hémorragique. Les analyses fongiques du sang et des urines du donneur sont toutes négatives. Aucune brèche digestive n'est survenue au cours de l'opération. Par contre, les cultures des sécrétions bronchiques du donneur mettent en évidence la présence de *C. Norvegenesis*, *Candida glabrata* et *C. kefyr*.

Receveur de poumon :

Un homme de 58 ans atteint d'une insuffisance pulmonaire sur BPCO, a bénéficié d'une greffe bipulmonaire le 12/12/2006 au CHU de Grenoble. Avant transplantation, ses sérologies aspergillaires et de la toxoplasmose étaient positives, les cultures fongiques de l'aspiration bronchique étaient négatives. La mise en culture fongique du LCO a révélé la présence de : *C. albicans*, *C. kefyr*, *C. norvegensis* et *C. glabrata*. Les sécrétions bronchiques et le LBA étaient également contaminés par *C. albicans*, *C. norvegensis* mais aussi par quelques colonies de *C. glabrata*. Les examens fongiques des urines, de la bouche et du crachat, réalisés dans les jours qui suivirent, étaient tous négatifs. Le receveur n'a pas développé de complication infectieuse et n'a pas reçu de traitement antifongique. Le greffon était fonctionnel un an après la transplantation.

Aucune déclaration de biovigilance n'a été faite à l'AFFSAPS pour ce cas de contamination du LCO puisqu'il n'y a pas eu de conséquence pour le receveur. Par contre ce cas a été signalé au SRA de l'AB afin qu'il en informe les équipes de greffe en charge des receveurs d'organes issus du même PMO.

Le LCO contenant le rein droit a également été contaminé par *C. glabrata*.

- **Cas 2** : Présence de *C. albicans* dans un LCO de rein droit

Donneur :

Il s'agit d'un jeune homme de 18 ans avec traumatisme crânien lors d'un accident de scooter, la mort encéphalique était constatée 2 jours après son admission en réanimation. Il ne présentait aucun antécédent médical, les cultures mycologiques urinaires et sanguines étaient négatives. Aucune brèche digestive n'a été signalée au cours de l'opération, par contre une rupture complète et spontanée de l'aorte a entraîné une hémorragie massive et ¼ d'ischémie chaude au cours du prélèvement d'organes. Le rein a été conditionné dans un LCO : IGL1®.

Receveur de rein droit:

Cet homme de 40 ans, insuffisant rénal depuis 98 et dialysé depuis 2001, a été transplanté le 04/12/06 au CHU de Grenoble. Le temps d'ischémie froide fut de 26h10. Le receveur présentait dans ses antécédents 5 épisodes de péritonites fongiques à *C. albicans*. Avant transplantation aucun examen mycologique n'a été effectué. A J+1, l'examen direct du LCO montrait la présence de levure dans le LCO. Une surveillance mycologique rapprochée du donneur a été alors entreprise avec un examen mycologique hebdomadaire des urines, des selles et de la bouche, qui se révélèrent tous négatifs. En revanche, les cultures fongiques de

l'artère du greffon et de la graisse péritonéale à J+1 ont mis en évidence la présence de *C. albicans*. A J+1 post greffe le patient présentait un épisode fébrile avec leucopénie, son traitement immunosuppresseur a été alors modifié, les doses de thymoglobuline ont été diminuées, le mycophénolate mofétil (cellcept®) et gancyclovir (cymevan®) arrêtés pendant 24h, le taux de leucocyte est revenu à la normale. Dans les jours qui suivirent, le patient s'est plaint de douleurs abdominales importantes, un examen tomodensitométrie (TDM) a montré une thrombose de l'artère du greffon, un traitement par Innohep® à visée antalgique est alors débuté. A J+5, les résultats de culture fongique du LCO ont été rendus et révélèrent la contamination du greffon par *C. albicans*, un antifongogramme a été réalisé et a montré la sensibilité de cette levure au fluconazole et à l'amphotéricineB. Un traitement par fluconazole (Triflucan®) 400mg/jour a alors été entrepris pour une durée de 3 semaines. Une biopsie de l'artère du greffon et du greffon a été réalisée en vue d'analyse mycologique, la graisse péri-rénale, l'artère du greffon ainsi que les tissus du greffon se révélèrent tous colonisés par *C. albicans*. A J+9 post greffe, une antigénémie candidosique du sérum a été réalisée et était négative, par contre l'analyse fongique des redons était positive à *C. albicans*. Puis à J+25 le contrôle par TDM de l'artère du greffon se révélait normal, le patient ne présentait aucun signe clinique d'infection. Un an après la transplantation le greffon était fonctionnel et le patient en bon état général.

- **Cas 3** : Présence de *C. albicans* dans un LCO de rein droit

Donneur :

Il s'agissait d'un homme âgé de 62 ans, mort d'un traumatisme crânien à la suite d'une chute. Les hémocultures sanguines et la culture mycologique urinaire réalisées sur le donneur étaient négatives. Aucune brèche digestive n'a été signalée lors du PMO. Les organes ont été placés dans un LCO type Viaspan®.

Receveur de rein droit:

Un homme âgé de 58 ans, dialysé depuis 1968, avait déjà été transplanté une 1^{ère} fois en 1968 aboutissant à un rejet aigu au bout de 6 mois puis une 2^{ème} fois en 1990 avec détérioration du greffon en 1997 et transplantectomie. Ce patient présentait de nombreuses pathologies métaboliques associées : insuffisance surrénalienne (lésions dues à la binéphrectomie), insuffisance parathyroïdienne (parathyroïdectomie en 1976) et hypogonadisme. Le 11/04/08 une 3^{ème} transplantation rénale a été réalisée au CHU de Grenoble, le temps d'ischémie froide était de 33h45. Les cultures mycologiques du LCO montraient la présence de *C. albicans* en

quantité très faible car les levures n'étaient présentes qu'en rétroculture et non en primoculture. Un antifongogramme a été alors réalisé et montre que *C. albicans* est sensible au fluconazole et à l'amphotéricine B. Les cultures fongiques des selles et urines du receveur étaient négatives. Aucun traitement antifongique prophylactique n'a été administré. Un échodoppler effectué à J3 montrait une artère du greffon normale. Aucune complication infectieuse n'a été rapportée et à 1 an post greffe le greffon était fonctionnel.

Ce cas a tout de même été signalé à la biovigilance et au SRA, une enquête a été réalisée, montrant que le LCO du rein jumeau n'a pas été contaminé à *Candida*. Le receveur du rein jumeau n'a donc reçu aucun traitement antifongique.

- **Cas 4** : Présence de *C. albicans* dans le LCO d'un foie.

Donneur :

Il s'agissait d'un homme de 23 ans mort d'un accident de la voie publique, après avoir passé 8 jours en réanimation. Aucune brèche digestive n'avait été signalée lors du PMO. Les hémocultures sanguines et cultures urinaires fongiques étaient négatives. Par contre, des *Staphylococcus aureus* avaient été mis en évidence dans le sang, la trachée et le liquide péritonéal du donneur.

Receveur foie :

Un homme de 60 ans, souffrant d'une cirrhose sur hépatite B chronique et d'un carcinome hépatocellulaire a bénéficié d'une transplantation hépatique le 20/03/2008 au CHU de Grenoble. Le temps d'ischémie froide était de 4h48. Lors de la transplantation, les examens mycologiques et bactériologiques du LCO révélèrent la présence de *C. albicans* et *S. aureus* sensibles à la méticilline (SAMS). Un traitement prophylactique antibiotique avec du cefpirome (cefrom®) en IV est alors initié à J1. Aucun traitement antifongique prophylactique n'a été initié mais des analyses mycologiques complémentaires ont été réalisées. L'analyse mycologique des urines et du liquide de lame ainsi que les hémocultures fongiques se révélèrent négatives. Le patient ne manifesta aucun signe clinique infectieux dans le mois suivant la greffe. A J15 a été rapporté un épisode de cholestase dû à un foie septique à SAMS avec une issue favorable. Un an après la transplantation, le greffon était fonctionnel et le patient présentait un bon état général.

- **Cas n°5** : Présence de *C. albicans* dans LCO de poumon

Donneur :

Il s'agissait d'une femme de 24 ans, morte d'une méningite à méningocoque après 2 jours d'hospitalisation en réanimation. Les examens mycologiques réalisés sur le sang et les urines du donneur étaient tous négatifs. Par contre, l'analyse fongique d'un LBA révéla la colonisation du poumon par *C. albicans*. Aucune brèche digestive n'a été signalée au cours du prélèvement.

Receveur :

Une femme de 30 ans atteinte d'une mucoviscidose depuis l'âge de 3 ans, a été hospitalisée fin octobre 2009 pour détresse respiratoire aigüe, elle bénéficia d'une transplantation mono double pulmonaire le 27/10/09. Une première greffe pulmonaire avait été réalisée en septembre 2008 mais le greffon s'était dégradé en raison d'une aspergillose aigüe. Elle présentait également un diabète insulino-résistant et une insuffisance rénale. L'hémoculture fongique du LCO du poumon gauche révéla la présence de *C. albicans*. Par contre le LCO contenant le poumon droit demeurait stérile. La patiente reçut immédiatement un traitement prophylactique par voriconazole, même si elle ne présentait aucun signe clinique d'infection. À J+6, un prélèvement buccal montra la présence de rares colonies de *C. albicans*, la sérologie aspergillaire se révéla négative. Deux semaines après transplantation la patiente présentait un bon état général et pu sortir de l'hôpital.

La contamination du LCO de poumon a été signalé au SRA sud est de l'ABM. Aucune déclaration n'a été faite à l'AFFSAPS puisqu'il n'y a pas eu d'effet indésirable sur le receveur.

Les LCO du foie et des 2 reins issus du même PMO étaient également contaminés par *C. albicans*.

Cas	Donneur		Receveurs					
	Age CdD	Organe greffé	Sérologies avant greffe	Prélèvements mis en culture fongique	Agents isolées	Conséquences cliniques Lésions artérielles	Traitement antifongique	Traitement chirurgical Résultat
1	63 ans AVC hémorragique LBA : <i>Cn, Cg, Ck</i>	Poumon	- Asp : pos - Toxo : pos	LCO Sécrétion bronchique LBA Crachat, bouche, urine	Ca, Cj, Cn, Cg Ca, Cg, Cn Ca, Cg, Cn Neg	Aucune	Aucun	Aucun Greffon fonctionnel
2	18 ans Traumatisme crânien	Rein droit	- EBV : pos - CMV : neg - Toxo : neg	LCO Artère du greffon/greffon Graisse péri-rénale Bouche, selle, urine (J9) Redon (J9)	Ca Ca Neg Ca	Episode fébrile associé à une leucopénie ; Thrombose artère du greffon	Curatif a J5 : Fluconazole 400mg/j/3 semaines	Aucun Greffon fonctionnel à 1 an
3	58 ans Traumatisme crânien	Rein droit	- CMV : pos, - EBV : pos - Toxo : pos	LCO Urine Selle	Ca Neg Neg	Echodoppler à J3 montre une artère rénale normale	Aucun	Aucun Greffon fonctionnel
4	23 ans AVP	Foie	- Asp : Neg - Ca : Neg - CMV : pos - Toxo : pos	LCO Urine Liquide lame	Ca + SAMS Neg Neg	Foie septique à SAMS ; Pas de complication fongique	Aucun	Aucun Greffon fonctionnel
5	24 ans Méningite LBA : <i>C. albicans</i>	Poumon droit	- CMV : pos - EBV : pos - Toxo : Neg	LCO Bouche	Ca Ca	Aucune complication infectieuse	Prophylactique à J3 : Voriconazole	Aucun Greffon fonctionnel à 15 jours

Tableau XVII : Cas de contamination fongique de LCO et conséquences pour les receveurs, rapportés au CHU de Grenoble entre le 12/2006 au 11/2009.

CdD : Cause de décès ; LCO : liquide de conservation des organes ; Ca : *Candida albicans* ; Cj : *Candida jefyr* ; Cg : *Candida glabrata* ; Cn : *Candida norvegensis* ; SAMS : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline ; CMV : cytomegalovirus ; EBV : epstein barr virus ; Toxo : toxoplasmose, AVP : accident vasculaire périphérique.

En cas de LCO colonisé par un champignon, les équipes de transplantation en charge du receveur ont un rôle primordial à jouer dans la prévention de complications infectieuses, d'une part par une surveillance biologique et clinique rapprochée du receveur et d'autre part par l'administration d'un traitement antifongique prophylactique adapté à la souche isolée.

Quelque soit l'organe greffé un examen mycologique des urines a été réalisé sauf pour le cas 5 (tableau XVII). Les autres examens mycologiques effectués sur les receveurs dépendaient du type d'organe greffé :

- examen des selles chez les transplantés rénaux
- examen du liquide de lame chez le transplanté hépatique
- examen du LBA, des sécrétions bronchiques, du crachat et de la bouche chez le transplanté pulmonaire.

En ce qui concerne le cas n° 2, des analyses mycologiques plus poussées ont été réalisées car le receveur a développé une complication infectieuse à *Candida* avec thrombose de l'artère rénale. La recherche d'agent fongique a été effectuée sur les redons, la graisse péri rénale, l'artère du greffon et le greffon. Il est important de noter que les recommandations de l'ABM sur « la prévention de la transmission de bactéries et d'agents fongiques aux receveurs d'organes » ne précisent pas les analyses mycologiques à réaliser en cas de contamination du LCO et /ou d'infection fongique avérées du receveur.

Concernant la prise en charge médicamenteuse, seul le receveur n°5 a reçu un traitement antifongique prophylactique par voriconazole dès retour des résultats fongiques positifs. Nous remarquons qu'il s'agit du seul cas étant survenu après la publication des recommandations de septembre 2008. L'attitude de prise en charge médicamenteuse en cas de contamination fongique d'un greffon semble donc avoir évolué récemment, avec l'administration de traitement antifongique prophylactique dès retour des cultures positives de LCO. Cependant l'observation d'un seul cas ne permet pas de généraliser.

4 Procédures d'application des recommandations de l'Agence de la biomédecine au CHU de Grenoble

4.1 Propositions pratiques pour la mise en application des recommandations

L'étude de 10 dossiers de **donneurs d'organes prélevés au CHU de Grenoble** (tableau XV) a mis en évidence que les analyses mycologiques des liquides d'épanchement ainsi que celles des prélèvements profonds pulmonaires n'étaient pas réalisées. Or, l'ABM recommande de faire ces prélèvements.

Depuis l'étude, toutes les infirmières de coordination ont été informées de la nécessité des ces analyses et elles vérifient donc maintenant que ces examens soient bien réalisés.

Pour que la réalisation de ces analyses soit systématique, nous pouvons également proposer que des demandes d'analyses informatiques préremplies : « Parasitologie-Mycologie des liquides d'épanchements » et « Parasitologie-Mycologie des prélèvements pulmonaires », soient disponibles pour les infirmières de coordination. Ces bons pourraient être rédigés sur le même modèle que ceux déjà disponibles pour les analyses mycologiques de sang et d'urine réalisées lors d'un PMO (annexe 3).

L'analyse de 20 dossiers de **receveurs d'organes** au CHU de Grenoble (tableau XVI) a mis en évidence que les analyses fongiques recommandées sur les receveurs de foie (redon) et sur les receveurs de cœur (recoupe de vaisseaux) ne sont pas toujours réalisées.

En ce qui concerne les équipes de transplantation, le message est moins évidant à faire passer car il n'y a pas de coordination de transplantation, il faut donc informer chaque service.

Pour que les équipes de transplantations réalisent systématiquement ces analyses, il serait intéressant qu'elles disposent de demandes d'analyses informatiques Parasitologie-Mycologie spécifiques. Sur ces bons il serait notifié : le nom du receveur, la nature de l'échantillon : « liquide de lame receveur de foie », « recoupe de vaisseaux receveur de cœur », « redon receveur de rein ». En effet il est indispensable que les biologistes sachent que l'échantillon provient d'un receveur d'organe pour qu'en cas d'analyse positive ils puissent prévenir le service en urgence et conserve les souches isolées 12 mois au minimum.

4.2 Procédure destinée à la coordination hospitalière : « biovigilance des liquides de conservation »

L'étude menée au CHU de Grenoble, sur 20 transplantations effectuées entre janvier et juillet 2009, a mis en évidence que les analyses des LCO n'étaient encore pas réalisées systématiquement notamment lors des greffes cardiaques et pulmonaires.

D'autre part, la procédure actuelle à suivre en cas de contamination d'un LCO ne concerne que les contaminations bactériennes et serait à modifier sur certains points car elle ne suit pas les recommandations de l'ABM.

Face à ce constat, nous avons décidé de rédiger une nouvelle procédure destinée à la coordination hospitalière, en accord avec les recommandations de l'ABM de 2008. Cette procédure décrit le rôle de la coordination hospitalière dans la biovigilance des liquides de conservation, cette dernière a 2 responsabilités majeures :

- **la traçabilité des LCO** : s'assurer que les analyses bactériologiques et fongiques ont bien été effectuées et s'enquérir des résultats ; le cas échéant informer les équipes de transplantation de la nécessité de ce prélèvement
- la mise en place d'un **circuit d'alerte** en cas de contamination

	Unité de Coordination Hospitalière	
	BIOVIGILANCE DES LIQUIDES DE CONSERVATION D'ORGANE (LCO)	
Version : 1	Rédigé par : L.Chappaz	Décembre 2009
	Vérifié par :	

OBJET : Rôle de la coordination hospitalière et des équipes de transplantations dans la biovigilance des LCO : traçabilité et mesure à prendre en cas de contamination bactériologique et/ou fongique.

I. Analyses microbiologiques des LCO

- Une analyse bactériologique et fongique doit être réalisée sur tous les LCO des organes greffés à Grenoble (R34- recommandation agence biomédecine 2008).
- Traçabilité de la réalisation de ces analyses grâce aux outils suivants :
 1. Chaque jour se connecter à Cristalnet pour vérifier les résultats en attente

2. Quand les résultats sont disponibles, les imprimer, inscrire dessus le numéro cristal et la date:
 - 1 exemplaire est conservé dans le dossier receveur : remplir la fiche « biovigilance greffe d'organe, liquide de conservation » (annexe 70) et classer les résultats à l'intérieur.
 - **si le donneur a été prélevé à Grenoble** : 1 exemplaire est conservé dans le dossier donneur
 - **si le donneur a été prélevé dans un autre site** : 1 exemplaire est conservé dans le dossier « organe importé » : remplir l'annexe 50 et les classer à l'intérieur
3. Saisir les résultats dans le tableau de sécurisation informatique de l'année en cours : « coord/sécurisation sanitaire/ sécurisation de l'année en cours»
4. Si les analyses de LCO n'ont pas été faites, envoyer un mail de rappel aux services concernés sur la nécessité de cette analyse.

II. Déclaration de biovigilance

A. LCO contaminé par agent fongique ou bactérie : organe greffé à Grenoble :

Lorsque les analyses d'un LCO sont positives pour un agent fongique ou bactérien, suivre le système d'alerte suivant :

1. **Appeler le service d'accueil du receveur** : s'assurer que les cliniciens ont été informés et se renseigner sur l'état clinique du receveur. Noter les conséquences sur le receveur sur la feuille de résultats d'analyses de LCO.
Vérifier l'administration d'ATF aux receveurs.
2. **Prévenir le SRA** en leur faxant les résultats d'analyses de LCO avec la date de transmission aux SRA et le numéro cristal du donneur.
Faxer les résultats au secrétariat du **SRA : 04 72 11 52 35**
3. **Prévenir MJ Richard** (correspondant local de biovigilance) dans les situations suivantes :
 - LCO de l'organe greffé à Grenoble contaminé par un **agent fongique** avec ou sans conséquence pour le receveur
 - LCO de l'organe greffé à Grenoble contaminé par un **agent fongique ou bactérien** avec conséquences pour le receveur
 - LCO de **plusieurs** organes greffés à Grenoble et autres sites contaminés par un **agent fongique ou bactérien**

B. LCO contaminé par un agent fongique ou bactérie : Organe greffé à l'extérieur (avec organe prélevé chez même donneur greffé à Grenoble)

Lorsque le SRA, par un fax, signale la contamination d'un organe prélevé chez un même donneur qu'un autre organe greffé à Grenoble, donner l'alerte selon les étapes suivantes :

1. Vérifier l'anonymat des résultats d'analyses envoyés par le SRA
2. Editer la **feuille 46** « complément d'examen » et **l'annexe 20**
3. Faxer la feuille 46 et la copie des résultats d'analyse du LCO au service d'accueil du receveur
4. Classer les informations transmises par le SRA dans dossier receveur avec l'annexe 20
5. Faxer aux SRA les résultats d'analyses du LCO du greffon transplanté à Grenoble et les conséquences sur le receveur.

Annexe : procédure biovigilance des liquides de conservation.

Afin que les équipes de transplantation soit toutes informées de la nécessité d'effectuer une analyse mycologique sur les LCO, peut-être serait-il bien que les infirmières de coordination envoient un mail de rappel lorsque le prélèvement est oublié. Cette procédure sur la « biovigilance des liquides de conservation » pourrait être diffusée à tous les cadres infirmières des services de transplantations par l'intermédiaire du laboratoire de biovigilance.

D'autre part, pour que ce prélèvement ne soit pas oublié, il serait intéressant qu'une demande d'analyse « parasitologie des liquides de conservation rein, foie, cœur ou poumon » soit disponible pour les infirmières des équipes de transplantation. Sur ce bon seraient rapportés :

- la nature de l'échantillon : « liquide de conservation d'organe »
- le nom du receveur
- le n° cristal du donneur
- le caractère d'urgence de l'analyse.

4.3 Procédure destinée au laboratoire de mycologie : « analyses mycologiques/ greffes d'organes solides »

Il paraît également important de récapituler les recommandations de l'ABM concernant les analyses mycologiques à effectuer sur les donneurs et les receveurs d'organes ainsi que les mesures à prendre en cas de résultat positif (tableau XVIII).

	Laboratoire de Parasitologie-Mycologie	
	ANALYSES MYCOLOGIQUES/GREFFES D'ORGANES SOLIDES Selon les recommandations de l'Agence de biomédecine de septembre 2008	
Version 1	Rédigé par : L. Chappaz / Vérifié par :	Décembre 2009

OBJET : Analyses mycologiques recommandées sur donneurs et receveurs d'organes ; techniques de laboratoires à utiliser ; mesures à prendre en cas de résultats positifs.

DONNEUR						
Qui	Prélèvement (nombre)	Examen direct	Milieu/technique ensemencement	Durée incubation	Souche à conserver	Alerte
Tous	Hémoculture (2)	Non	Flacon hémoculture mycosis IC/F incubé dans Bactec 9240 à 37°C	6 jours	Oui : Conservation au minimum 12 mois	Allo infirmières de coordination : A. DiRuscio/68903
	Urine (1)	Non	100µl déposés sur une boîte Candida ID2 incubé à 35°C	3 jours		
Poumon	Lavage broncho-alveolaire (1)	Coloration de Musto	Gélose Candida ID2 incubé à 35°C Tube Sabouraud Chloramphénicol à 27°C	6 jours		
En cas de liquide d'épanchement où brèche digestive	Liquide d'épanchement péritonéal (1)	Noir chlorazole Coloration de Musto	Gélose Candida ID2 incubé à 35°C Tube Sabouraud Chloramphénicol à 27°C (+/- Flacon hémoculture mycosis IC/F)	6 jours		
	Liquide d'épanchement hors digestif (1)	Noir chlorazole	Gélose Candida ID2 incubé à 35°C (+/- Flacon hémoculture mycosis IC/F) ^a	3 jours ^a		

^a les liquide d'épanchement pulmonaire sont à conservés pendant 6 j et faire également un tube Sabouraud.

RECEVEUR						
Qui	Prélèvement (nombre)	Examen direct	Milieu/technique ensemencement	Durée incubation	Souche à conserver et ATF	Alerte
Tous	Liquide de conservation des organes	Noir chlorazole	Flacon d'hémoculture : Mycosis IC/F incubé dans Bactec9240 à 35°C ¹ + CAN2 à 35°C +/- tube Sabouraud-Chloramphénicol à 27°C	6 jours	Oui : Conservation 12 mois	Allo infirmière de coordination : A.Diruscio/68903
Rein	Liquide de drainage aspiratif = redon	Noir chlorazole	Gélose Candida ID2 incubé à 35°C	3 jours	ATF fonction de la souche isolée	Allo service en charge du receveur
Foie	Liquide de lame	Noir chlorazole	Gélose Candida ID2 incubé à 35°C	3 jours		
Cœur	Recoupe de vaisseaux	Noir chlorazole Coloration de Musto	Gélose Candida ID2 incubé à 35°C Tube Sabouraud Chloramphénicol à 27°C	6 jours		

¹En cas de culture de liquide de conservation positive :

- Identifier la souche isolée par galerie ID32C (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France)
- Réaliser un antifongigramme par Etest (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France)
- Si conséquences pour le receveur : envoi des souches aux CNRMA dans un conteneur à triple emballage
- Conservation de la souche isolée dans tube Sabouraud liquide avec 10% de glycérol dans lequel sont ajoutées des perles stériles, stockage dans la mycothèque du laboratoire de Mycologie Parasitologie

Tableau XVIII : Analyses mycologiques/greffes d'organes solides [basée sur les recommandations de l'ABM, septembre 2008]

THESE SOUTENUE PAR : Laure CHAPPAZ

TITRE : Prévention des infections fongiques transmises par le greffon aux receveurs d'organes.

Conclusion

Ces 10 dernières années, une trentaine de cas d'infections fongiques transmises par le greffon aux receveurs d'organes ont été rapportés dans la littérature. En raison d'un diagnostic souvent trop tardif, ce type d'infection peut conduire à des détransplantations voire au décès du receveur. Ce constat montre l'importance de la prévention de la transmission des mycoses via le greffon. Cette prévention est basée sur la réalisation d'analyses mycologiques sur les donneurs et receveurs d'organes, mais également sur le contrôle de stérilité des liquides de conservation des organes (LCO).

En cas de détection d'agents fongiques dans ces prélèvements, une surveillance rapprochée du receveur s'impose, et un traitement antifongique curatif doit être envisagé. Dans ce contexte, en septembre 2008, l'Agence de la biomédecine a publié des recommandations concernant les analyses mycologiques et bactériologiques à effectuer au cours du processus de transplantation ainsi que les mesures à prendre en cas de contamination du greffon.

L'étude détaillée de 10 dossiers récents de donneurs d'organes, et 20 dossiers de receveurs nous a permis de constater que toutes les analyses mycologiques recommandées par l'Agence de la biomédecine ne sont pas encore systématiquement réalisées au CHU de Grenoble. De plus, les pratiques semblent différer selon les services de transplantation. Nous avons pu constater notamment que si les analyses des LCO de rein et de foie sont déjà effectuées systématiquement, cela n'est pas encore le cas pour les autres organes (cœur et poumon). Ce travail a également mis en évidence l'absence de procédure précisant le circuit d'alerte à suivre en cas de contamination fongique d'un LCO. Celle-ci est d'autant plus importante qu'au cours des 4 dernières années, 5 cas de contamination fongique de LCO ont été recensés au CHU de Grenoble.

Afin de faciliter la mise en application des recommandations au CHU de Grenoble, nous avons proposé une première procédure, destinée au laboratoire de Parasitologie-Mycologie, récapitulant les différentes analyses mycologiques recommandées par l'Agence de la biomédecine au cours du processus de transplantation. Une seconde procédure a été proposée à la coordination hospitalière concernant la biovigilance des LCO. En effet, le contrôle bactériologique et fongique de ces LCO est indispensable pour la détection précoce d'une éventuelle colonisation du greffon. La coordination hospitalière a un rôle capital dans la sensibilisation des services de transplantation sur la nécessité de réaliser ce contrôle, ainsi que dans la mise en place d'un circuit d'alerte en cas de contamination.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 18 février 2010

LE DOYEN
Professeur René GRILLOT

[Tapez un texte]



LE PRESIDENT DE LA THESE
Docteur Claudine PINEL

Références bibliographiques

A. Articles de périodiques

- 1- ABBOTT KC., HYPOLITE I., POROPATICH RK., *et al.* Hospitalizations for fungal infections after renal transplantation in the United States.
Transplant. Infect. Dis., 2001, **3** : 203-211.
- 2- ALANGADEN GJ., THYAGARAJAN R., GRUBER SA., *et al.* Infectious complications after kidney transplantation : current epidemiology and associated risk factors.
Clin. Transplant., 2006, **20** : 401-409.
- 3- ALBANO L., BRETAGNE S., MAMZER- BRUNEL M.F. *et al.* Evidence that graft-site candidiasis after kidney transplantation is acquired during organ recovery : a multicenter study in France.
Clin. Infect. Dis., 2009 Jan, **48** : 194-202.
- 4- BATTAGLIA M., DITONNO P., FIORE T., *et al.* True mycotic arteritis by *Candida albicans* in two kidney transplant recipients from the same donor.
J. Urol., 2000, **163** : 1236-1237.
- 5- BRUGIERE O., FORGET E., BONDI G., *et al.* Coccidioïdomycosis in a lung transplantation recipient acquired from the donor graft in France.
Transplant., 2009, **11** : 1319-1320.
- 6- CALVINO J., ROMERO R., PINTOS E. *et al.* Renal artery rupture secondary to pretransplantation *Candida* contamination of the graft in two different recipients.
Am. J. Kidney. Dis., 1999 Jan, **33** : E3.
- 7- CAMBY C., TENAILLON A. Don d'organe et greffe.
Rev. Prat., 2007, **57** : 247-309.
- 8- CANAUD G., TIMSIT M.O., ZUBER J. *et al.* Early conservative intervention for candida contamination of preservative fluid without allograft nephrectomy.
Nephrol. Dial. Transplant., 2009, **24** : 1325-1327.
- 9- CERUTTI E., STRATTA C., ROMAGNOLI R., *et al.* Bacterial- and fungal-positive cultures in organ donors : clinical impact in liver transplantation.
Liver Transplant., 2006, **12** : 1253-1259.

- 10- CRUCIANI M., MENGOLI C., MALENA M., *et al.* Antifungal prophylaxis in liver transplant patients : a systematic review and meta-analysis.
Liver Transplant., 2006, **12** : 850-858.
- 11- DROICOURT C., ADAMSKI H., ARVIEUX C., *et al.* Cryptococcoses cutanées primitives chez des patients transplantés: à propos de 2 observations.
Rev. Med. Int., 2005, **26** : 153-161.
- 12- FISCHMAN J., RUBIN R., *et al.* Infection in organ-transplant Recipients.
N. Engl. J. Med., 1998, **338** : 1741-1775.
- 13- FREEMAN, RICHARD B., GIATRAS. Outcome of transplantation of organs procured from bacteremic donors.
Clin. Transplant., 1999, **68** : 1107-1111.
- 14- GANGNEUX J.P., BOUSSEAU A., CORNILLET A., KAUFFMANN-LACROIX C. Maîtrise du risque fongique environnemental dans les établissements de santé.
J. Mycol. Med., 2006, **16** : 204-211.
- 15- GARI-TOUSSAINT M., HUYNH NGOC L., GIGANTE M. *et al.* Greffe rénale et artérite du greffon à *Candida albicans* Importance de l'analyse du liquide de conservation du greffon.
Press. Med., 2004, **33** : 866-868.
- 16- GARRIDO J., LERMA J., HERAS M., *et al.* Pseudoaneurysm secondary to *Aspergillus* infection in two recipients of kidney transplants from the same donor.
Am. J. Kidney. Dis., 2003, **41** : 488-492.
- 17- JU M.K., JOO D.J, KIM S.J, *et al.* Invasive pulmonary aspergillosis after solid organ transplantation: diagnosis and treatment based on 28 years of transplantation experience.
Transplant. Proc., 2009, **41**: 375-378.
- 18- LAOUAD I., BUCHLER M., NOEL C. *et al.* Renal artery aneurysm secondary to *Candida albicans* in four kidney allograft recipients.
Transplant. Proc., 2005, **37** : 2834-2836.
- 19- LIMAYE A., CONNOLLY P., SAGAR M., *et al.* Transmission of *Histoplasma capsulatum* by organ transplantation.
N. Engl. J. Med, 2000, **343** : 1163-1164.
- 20- LORTHOLARY O. Infection fongique transmise par le greffon.
Cour. Transplan., 2008, **8** : 78-81.
- 21- MAI H., CHAMPION L., OUALI N., *et al.* *Candida albicans* arteritis transmitted by conservative liquid after renal transplantation : a report of four cases and review of literature.
Transplantation, 2006, **82** : 1163-1167.

- 22- MATIGNON M., BOTTEREL F., AUDARD V. *et al.* Outcome of renal transplantation in eight patient with *Candida sp.* Contamination of preservation fluid.
Am. J. Transplant., 2008, **8** : 697-700.
- 23- MORELON E., TOURRAINE JL. Complications infectieuses liées à l'immunosuppression dans la transplantation d'organe.
Rev.Prat., 2007, **57** : 1677-1685.
- 24- ROBERT-GANGNEUX F., DEGEILH B., CHEVRIER S., GUIGUEN C., GANGNEUX J.P. Mycose profonde et transplantations.
Rev. Franco. Labo., 2008, **403** :43-48.
- 25- SANJEEV S. Acute renal failaure in a renal allograft : an unusual infectious cause of thrombotic microangiopathy.
Am. J. Kidney. Dis., 2005 , **46** : 159-162.
- 26- SHARMA A.K., SMITH G., SMITH D., *et al.* Clinical outcome of cadaveric renal allografts contaminated before transplantation.
Transplant. International, 2005, **18**: 824-827.
- 27- SINGH N., *et al.* Infectious disease in transplantation.
Infect. Dis. Clin. North Am., 2003, **37** : 221-222
- 28- VEROUX M., CORONA D., GIUFFRIDA G., *et al.* Acute renal failure due to uretral obstruction in a kidney transplant recipient with *Candida albicans* contamination of preservation fluid.
Transplant. Infect. Dis., 2009, **8**: 1-3.
- 29- WAKELIN J.S, CASEY J., ROBERTSON A., *et al.* The incidence and importance of bacterial contaminants of cadaveric renal perfusion fluid.
Transpl. Int., 2005, **17**: 680-686.
- 30- WASI N., REDDIVARI V., SLINAS-MADRIGAL L., *et al.* A rare case of acute renal failure due to massive renal allograft infiltration with *Candida glabrata*.
Nephrol. Dial. Transplant., 2008, **23** : 374-376.
- 31- ZIBARI G.B., LIPKA J., ZIZZI H., *et al.* The use of contaminated donor organs in transplantation.
Clin. Transplant., 2000, **14** : 397-400.

B. Ouvrages

- 32- BOULARD G., GUIOT P., POTTECHER T.,TENAILLON A. Prise en charge des sujets en état de mort encéphalique dans l'optique du prélèvement d'organes et de tissus, Elsevier, Paris, 2005.

33- FARG G., AMREIN H. Complications infectieuses après transplantation, Traité de médecine, Flammarion, 1996.

34- KOEING H. Guide pratique de mycologie médicale, Paris ellipses, 1995.

C. Rapports

35- ROCHE M., CREUXVAUX H. Rapport annuel de synthèse de biovigilance, Agence de biomédecine, 2008

36- Rapport d'activité 2007 des coordinations hospitalières de prélèvement, Agence de la biomédecine, 2008

37- Rapport d'activité 2008 des coordinations hospitalières de prélèvement, Agence de la biomédecine, 2009

38- Bilan des activités de prélèvement et de greffe en France 2007, Agence de la biomédecine, 2008.

D. Recommandations :

39- BOTTERREL-CHARTIER F., CHATELUT M., GUERRINI P., *et al.* Prévention de la transmission de bactéries et d'agents fongiques aux receveurs d'organes. Agence de la biomédecine, septembre 2008.

40- LOTHOLARY O., DROMER F. Recommandation pour la prévention des infections à *Candida* survenant au décours de greffes rénales. Agence de la biomédecine, juin 2005.

E. Sites internet

41- <http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2008/accueil.htm>

Annexes

ANNEXE 1
TEXTE DES RECOMMANDATIONS (Version courte)
PROFESSIONNELLES

Prévention de la transmission
de bactéries et d'agents fongiques
aux receveurs d'organes

16 septembre 2008

Agence de la biomédecine

1 avenue du Stade de France, 93212 SAINT-DENIS LA PLAINE Cedex

SOMMAIRE

1. Analyses chez le donneur en état de mort encéphalique avant prélèvement d'organes	
.....	3
1.1 Analyses de sang et d'urine	3
1.2 Analyses broncho-pulmonaires spécifiques en cas de prélèvements poumons/cœur-poumons	
.....	4
1.3 Recommandations générales - Analyses chez le donneur en état de mort encéphalique avant prélèvement multi organes (PMO)	4
2. Préparation et utilisation d'antibiotiques chez le donneur en état de mort encéphalique	
.....	5
2.1 Préparation du donneur en état de mort encéphalique	5
2.2 Utilisation des antibiotiques chez le donneur en état de mort encéphalique ...	5
3. Prélèvement d'organes chez le donneur	5
3.1 Prélèvement	5
3.2 Analyses de tout liquide d'épanchement	6
3.3 Préparation et traçabilité du liquide de conservation d'organes	7
4. Receveur	7
4.1 Préparation du receveur	7
4.2 Utilisation des antibiotiques chez le receveur	7
5. Greffe	8
5.1 Prélèvement et mise en culture des liquides de conservation d'organes	8
5.2 Analyses microbiologiques chez le patient greffé	11
6. Surveillance du receveur	12
6.1 Génotypage de souches isolées	12
6.2 Surveillance du receveur en cas du liquide de conservation contaminé et/ou de brèche digestive	
.....	12
7. Signalements des événements indésirables	16

R1. Il est fortement recommandé pour chaque centre de prélèvement et de greffe de rédiger des procédures de prélèvements utilisés à des fins d'analyses bactériologiques et fongiques, de réception et prise en compte des résultats d'analyses et de leur transmission (A).

R2. Il est fortement recommandé que les équipes en charge des receveurs disposent sans délai des résultats positifs des analyses bactériologiques et fongiques (y compris le week-end ou les jours fériés) (A).

1. Analyses chez le donneur en état de mort encéphalique avant prélèvement d'organes

1.1 Analyses de sang et d'urine

Recommandations existantes : *“Recommandations pour la prévention des infections à Candida survenant au décours de greffes rénales – Agence de la biomédecine – Juin 2005 (1)”*.

R3. Il est fortement recommandé de réaliser systématiquement des analyses de sang et d'urine avec recherche de bactéries et d'agents fongiques (A).

R4. Il est fortement recommandé que le délai entre la réalisation des prélèvements et le passage du donneur au bloc opératoire soit le plus court possible (A).

1.1.1 Analyses sanguines

R5. Il est fortement recommandé d'effectuer un prélèvement de sang constitué de 2 “paires” d'hémocultures comportant chacune au minimum (A) :

– un flacon d'hémoculture aérobie et

– un flacon d'hémoculture anaérobie

R6. Il est fortement recommandé de ne pas faire ce prélèvement sur cathéter (E).

R7. Il est fortement recommandé que le laboratoire de microbiologie détecte sur ce prélèvement les bactéries et les agents fongiques conformément au référentiel de bactériologie REMIC (15) (A).

Prévention de la transmission de bactéries et d'agents fongiques aux receveurs d'organes

1.1.2 Analyses urinaires : examen cytotabériologique des urines (ECBU)

01/05/2006-31/03/2008 : base de données CRISTAL – Agence de la biomédecine

R8. Il est recommandé d'effectuer un ECBU avec mise en culture bactériologique et fongique (B).

1.2 Analyses broncho-pulmonaires spécifiques en cas de prélèvements poumons/cœur-poumons

NB : ce chapitre se rapporte aux seuls prélèvements pulmonaires et cardio-pulmonaires.

R9. Il est recommandé de réaliser des analyses microbiologiques broncho pulmonaires en cas de prélèvement poumons/cœur-poumons (B).

R10. Il est fortement recommandé que ces analyses soient effectuées à partir d'un prélèvement profond pulmonaire (LBA, brossage protégé ou prélèvement distal protégé) conformément au référentiel de bactériologie REMIC (A).

R11. Il est fortement recommandé de ne pas faire d'aspiration trachéale à but microbiologique (E).

1.3 Recommandations générales – Analyses chez le donneur en état de mort encéphalique avant prélèvement multi organes (PMO)

R12. Il est fortement recommandé d'acheminer les échantillons sans délai (en fonction de la température recommandée pour chaque analyse) au laboratoire qui le traitera (A).

R13. Il est fortement recommandé que la mention générique “donneur d'organes” accompagnée du n° Cristal soit étiquetée sur le flacon contenant l'échantillon (A).

R14. Il est recommandé de conserver toutes les souches isolées au minimum 12 mois (B).

R15. Il est recommandé de conserver préférentiellement les souches isolées à – 80°C (B).

2. Préparation et utilisation d'antibiotiques chez le donneur en état de mort encéphalique

2.1 Préparation du donneur en état de mort encéphalique

Recommandations existantes : *conférence de consensus – Société Française d'Hygiène Hospitalière “gestion pré-opératoire du risque infectieux”* : <http://www.sfh.net> (16).

R16. Il est fortement recommandé que la préparation pré-opératoire du donneur en état de mort encéphalique soit faite selon les mêmes conditions que celle de l'opéré dans le cadre d'une intervention chirurgicale non programmée (A).

2.2 Utilisation des antibiotiques chez le donneur en état de mort encéphalique

R17. Il est recommandé de poursuivre le traitement antibiotique curatif en cours chez le patient qui passe en état de mort encéphalique jusqu'au clampage aortique (B).

3. Prélèvement d'organes chez le donneur

Les recommandations de ce chapitre concernent le donneur en état de mort encéphalique. Cependant les recommandations relatives aux liquides de conservation d'organes (**R28** et **R29**) se rapportent aux donneurs en état de mort encéphalique et aux donneurs vivants.

3.1 Prélèvement

R18. Il est fortement recommandé que les conditions d'asepsie soient celles de toute intervention chirurgicale (A). *La multiplicité des équipes de prélèvement ne doit pas empêcher que les conditions d'asepsie soient strictement observées.*

R19. Il est fortement recommandé de réduire la durée du prélèvement (chirurgical) pour réduire le risque de contamination opératoire (A).

Prévention de la transmission de bactéries et d'agents fongiques aux receveurs d'organes

3.2 Analyses de tout liquide d'épanchement

Recommandations existantes : *“Recommandations pour la prévention des infections à Candida survenant au décours de greffes rénales – Agence de la biomédecine – Juin 2005 (1)”*.

3.2.1 En cas de présence de liquide d'épanchement à l'incision

R20. Il est fortement recommandé d'effectuer un prélèvement de tout liquide d'épanchement détecté lors de l'incision à la recherche de bactéries et d'agents fongiques (A).

3.2.2 En cas de brèche digestive

R21. Il est fortement recommandé d'effectuer au minimum un prélèvement pour recherche d'agents fongiques (A).

R22. La réalisation des analyses bactériologiques en cas de brèche per opératoire chez le donneur reste discutée (il est possible de faire ou de ne pas faire) (C).

R23. Il est fortement recommandé que l'équipe chirurgicale informe toutes les équipes présentes lors du prélèvement de l'existence de cette brèche et de son niveau anatomique et la collige sur le compte-rendu opératoire (A).

R24. Il est fortement recommandé que la coordination hospitalière vérifie auprès de l'équipe chirurgicale la notion de brèche digestive (A).

R25. Il est fortement recommandé, en cas de brèche digestive, que la coordination hospitalière s'assure que celle-ci soit mentionnée sur le bordereau rein ou foie, sur la demande d'examen transmise au laboratoire et sur le compte rendu opératoire (A).

R26. Il est fortement recommandé que la coordination hospitalière informe en temps réel le SRA de la survenue d'une brèche digestive (A).

R27. Il est fortement recommandé que le SRA alerte en temps réel toutes les équipes de greffes concernées de cette brèche digestive (A).

3.2.3 Recommandations générales – Analyses de tout liquide d'épanchement

Les recommandations **R12** à **R15** s'appliquent aux analyses de tout liquide d'épanchement.

3.3 Préparation et traçabilité du liquide de conservation d'organes

3.3.1 Préparation du liquide de conservation d'organes

R28. Il est fortement recommandé de ne pas introduire d'adjuvants dans les liquides de conservation d'organes lors de leur utilisation (E).

3.3.2 Traçabilité des liquides de conservation d'organes

Réglementation : Article R1211-43 issu des décrets n°2003-1206 du 12 décembre 2003 et n°2007-1110 du 17 juillet 2007 relatifs à la biovigilance et à l'hémovigilance.

R29. Il est fortement recommandé de mettre en place dans l'établissement des procédures permettant d'assurer une traçabilité exhaustive des liquides de conservation d'organes utilisés dans le cadre d'un prélèvement d'organes (A).

4. Receveur

4.1 Préparation du receveur

Recommandations existantes : *Société Française d'Hygiène Hospitalière (SFHH).*

Conférence de consensus, “gestion préopératoire du risque infectieux” : <http://www.sfh.net> (16).

4.2 Utilisation des antibiotiques chez le receveur (19–27)

Recommandations existantes : *Recommandations de la société française d'anesthésie et de réanimation (SFAR) : "Recommandations pour la pratique de l'antibioprophylaxie en chirurgie, actualisation 1999, principes généraux du choix d'un antibiotique pour l'antibioprophylaxie en chirurgie – malades présentant un risque infectieux particulier : transplantations (27)".*

Prévention de la transmission de bactéries et d'agents fongiques aux receveurs d'organes

L'antibioprophylaxie a pour but de prévenir la contamination du site opératoire en per-opératoire. Seules l'initiation et la durée de l'antibioprophylaxie font actuellement l'objet d'un consensus. Il faut adapter l'antibioprophylaxie à la flore potentiellement contaminante du site opératoire.

R30. Il est fortement recommandé de disposer de protocoles écrits d'antibioprophylaxie (A).

R31. Il est fortement recommandé que la première dose d'antibiotique soit impérativement injectée dès l'installation du donneur en salle d'opération, si possible lors de l'induction de l'anesthésie (A).

R32. Il est fortement recommandé que la durée de l'antibioprophylaxie ne dépasse pas 24 heures (A).

5. Greffe

5.1 Prélèvement et mise en culture des liquides de conservation d'organes

Recommandations existantes : *"Recommandations pour la prévention des infections à Candida survenant au décours de greffes rénales – Agence de la biomédecine – Juin 2005 (1)".*

5.1.1 Salle d'opération

R33. Il est fortement recommandé que le conteneur externe de transport de type Vitalpack® reste en dehors de la salle d'opération (A).

R34. Il est fortement recommandé de prélever systématiquement 50 ml de liquide de conservation de l'organe avec une seringue stérile dès l'ouverture du conteneur interne pour recherche de bactéries et d'agents fongiques (A).

R35. Il est fortement recommandé de répartir ces 50 ml dans 2 flacons stériles de 25 ml minimum pour les analyses bactériologiques et fongiques (A).

5.1.2 Identification des échantillons

R36. Il est fortement recommandé d'identifier les flacons et les feuilles de prescription avec la nature de l'échantillon : "liquide de conservation rein, liquide de conservation foie, liquide de conservation cœur", le nom du receveur et le N° Cristal du donneur (A).

5.1.3 Conditionnement et transport des échantillons

R37. Il est fortement recommandé d'acheminer les flacons fermés hermétiquement sans délai aux laboratoires de bactériologie et de mycologie (A).

5.1.4 Laboratoires : procédure d'analyses bactériologiques et fongiques du prélèvement des liquides de conservation d'organes

NB : la contamination bactérienne ou fongique d'un liquide de conservation d'organes n'intervient pas dans la prise de décision de la greffe.

5.1.4.1 Analyses bactériologiques du prélèvement du liquide de conservation d'organes

R38. Il est recommandé de réaliser un examen microscopique direct après coloration de Gram(B).

R39. Il est recommandé d'ensemencer sans délai le liquide de conservation au laboratoire sous PSM dans de parfaites conditions d'asepsie dans (B) :

- un flacon d'hémoculture aérobie (inoculé avec 5 ml de liquide de conservation)
- un flacon d'hémoculture anaérobie (inoculé avec 5 ml de liquide de conservation)
- une gélose au sang incubée sous 5 % de CO₂ (0,1 ml de liquide de conservation ensemencé avec un étaleur)
- une gélose au sang + vitamine K1 + hémine incubée en condition anaérobie (0,1 ml de liquide de conservation ensemencé avec un étaleur).

R40. Il est recommandé d'incuber ces milieux durant 5 jours à une température de 35°C (REMIC) (15) (B).

Prévention de la transmission de bactéries et d'agents fongiques aux receveurs d'organes

R41. En cas de culture positive, il est recommandé de dénombrer le nombre de colonies bactériennes par ml de liquide de conservation (B) et d'indiquer sur le compte-rendu d'analyse le délai de positivité des hémocultures bactériologiques (reflet de l'inoculum bactérien) et le système d'hémoculture utilisé (B).

5.1.4.2 Analyses fongiques du prélèvement du liquide de conservation d'organes

Propositions : pour la recherche d'agents fongiques dans un liquide de conservation d'organes (cf. annexe 2 version longue).

R42. Il est recommandé de réaliser un examen microscopique direct au mieux avec un agent clarifiant (B).

R43. Il est recommandé d'ensemencer sans délai le liquide de conservation sur un flacon d'hémoculture convenant pour les agents fongiques (type BACTEC mycosis® ou BacT/AlertMB®) ou sur 2 tubes Sabouraud chloramphénicol gentamycine (B).

R44. En cas d'examen microscopique direct positif, il est recommandé d'utiliser un milieu gélosé d'identification rapide de type chromogène permettant d'obtenir une identification de certaines espèces selon les géloses utilisées (B).

5.1.5 Recommandations générales - Laboratoires : Procédure d'analyses bactériologiques et fongiques du liquide de conservation d'organes

R45. Il est fortement recommandé d'identifier toutes les souches qui ont pu être isolées à partir du liquide de conservation d'organes (A).

R46. Il est fortement recommandé de réaliser un antibiogramme sur le(s) microorganisme(s) isolé(s) à partir du liquide de conservation d'organes (A).

R47. Il est recommandé de tester la sensibilité aux antifongiques avec un système validé par rapport aux méthodes de référence selon les recommandations du fabricant (B).

R48. Il est recommandé de ne pas réaliser l'antibiogramme en première intention pour les souches de Staphylocoques à coagulase négative, *Propionibacterium acnes*, *Bacillus* spp et Corynébactéries (marqueurs d'hygiène mais souvent non pathogènes) (D).

Prévention de la transmission de bactéries et d'agents fongiques aux receveurs d'organes

R49. Il est recommandé de conserver toutes les souches isolées au minimum 12 mois (B).

R50. Il est recommandé de conserver préférentiellement les souches isolées à -80°C. (B).

R51. En cas de problème infectieux survenant chez un receveur il est fortement recommandé de centraliser les isolats au CNR concerné pour des études supplémentaires, notamment de typage (A).

5.1.6 Circuit d'alerte en cas de contamination du liquide de conservation d'organes

Il est rappelé qu'un circuit d'alerte doit être mis en place dans chaque structure hospitalière en cas de contamination du liquide de conservation d'organes et doit faire l'objet d'une procédure interne à la structure. L'équipe de greffe informe alors le SRA qui alerte les autres équipes de greffe concernées. Cette information est également transmise au CLB sans délai en vue d'un suivi du receveur et éventuellement d'une déclaration de biovigilance.

5.2 Analyses microbiologiques chez le patient greffé

Recommandations existantes: "*Recommandations pour la prévention des infections à Candida survenant au décours de greffes rénales – Agence de la biomédecine – Juin 2005 (1)*".

5.2.1 Greffe de rein

R52. Il est fortement recommandé d'effectuer en post-opératoire un prélèvement systématique du liquide de drainage aspiratif pour recherche d'agents fongiques uniquement (la recherche bactériologique n'est pas nécessaire) (A).

5.2.2 Greffe hépatique

R53. Il est recommandé d'effectuer en post-opératoire un prélèvement systématique du liquide de drainage pour recherche d'agents fongiques et de bactéries (B).

Prévention de la transmission de bactéries et d'agents fongiques aux receveurs d'organes

5.2.3 Greffe cardiaque

R54. Il est recommandé que les recoups de vaisseaux cardiaques qui sont effectuées au bloc opératoire soient adressées au laboratoire de bactériologie et de mycologie pour recherche systématique de bactéries et d'agents fongiques selon les procédures habituelles du laboratoire (B).

5.2.4 Recommandations générales – Analyses microbiologiques chez le patient greffé

R55. Il est fortement recommandé que tous les échantillons prélevés chez le receveur à des fins d'analyse portent la mention "receveur d'organes" sur l'étiquette du flacon et sur la feuille de demande (A).

R56. Il est recommandé de conserver toutes les souches isolées au minimum 12 mois (B).

R57. Il est recommandé de conserver préférentiellement les souches isolées à -80°C (B).

6. Surveillance du receveur

6.1 Génomotypage de souches isolées

R58. En cas de survenue d'un événement grave chez le receveur, il est fortement recommandé de réaliser ou faire réaliser un génotypage des souches isolées, à visée d'enquête étiologique ; analyse qui pourra conforter le caractère unique de la souche retrouvée sur plusieurs échantillons le cas échéant (A).

6.2 Surveillance du receveur en cas du liquide de conservation contaminé et/ou de brèche digestive

6.2.1 Receveur de rein

➤ En cas de contamination du liquide de conservation par des bactéries

R59. Il est fortement recommandé d'organiser une surveillance clinico-biologique rapprochée (A).

R60. Il est fortement recommandé de consulter l'infectiologue de l'établissement pour éventuellement débiter un traitement antibiotique préemptif (A).

Idéalement, cette consultation ne doit pas retarder un traitement si celui-ci est formellement indiqué.

➤ En cas de contamination du liquide de conservation du rein par un agent fongique

Chez le receveur de rein concerné :

R61. Il est fortement recommandé de débiter un traitement préemptif adapté à l'espèce dès la connaissance de la positivité du résultat (A).

R61 bis. Il est fortement recommandé en cas de *Candida albicans* et en l'absence de traitement antérieur par azolés chez le donneur (*notion à récupérer dans le dossier donneur*) de traiter par fluconazole pendant 15 jours (A).

R62. Il est fortement recommandé d'organiser une surveillance clinico-biologique et radiologique rapprochée de préférence par scanner multibarrette centré sur l'anastomose artérielle (A).

Chez les receveurs des autres organes abdominaux (rein adelphe, foie) :

R63. Il est fortement recommandé de disposer au plus vite des résultats de l'examen microscopique direct et de la culture du liquide de conservation dès la connaissance de la positivité du liquide de conservation du rein concerné, pour envisager éventuellement un traitement antifongique des autres receveurs des organes abdominaux (rein adelphe, foie) (A).

La question de débiter systématiquement un traitement préemptif pour les autres receveurs dès la connaissance de la positivité du résultat du liquide de conservation du rein concerné n'est pas résolue actuellement.

➤ En cas de brèche digestive signalée lors d'un PMO

R64. Il est fortement recommandé de débiter en 1^{re} intention et en l'absence de traitement antérieur par azolés chez le donneur un traitement par fluconazole pendant 15 jours (A).

R65. Il est fortement recommandé d'organiser une surveillance clinico-biologique et radiologique rapprochée de préférence par scanner multibarrette centré sur l'anastomose artérielle (A).
R66. Il est fortement recommandé de disposer au plus vite des résultats de l'examen microscopique direct et de la culture du liquide de conservation pour envisager éventuellement un traitement antibactérien (A).

➤ Si de plus l'une des conditions suivantes est présente :

- liquide de drainage aspiratif positif à agent fongique,
- ou signes d'infection inexplicée par ailleurs (fièvre, douleurs de la loge de transplantation, syndrome inflammatoire),
- ou anomalies de l'iconographie (collection de la loge de transplantation, et/ou anomalies du pédicule vasculaire),

R67. Il est fortement recommandé de demander un avis chirurgical et vasculaire à la recherche d'une artérite infectieuse et, dans le but de drainer la loge de transplantation, de réaliser des prélèvements à visée bactériologique et mycologique spécifique (A).

En cas d'artérite et/ou de décision de détransplantation, le mode opératoire retenu devra tenir compte de la dangerosité de laisser un moignon artériel infecté in situ.

R68. Il est fortement recommandé de faire une recherche bactériologique et mycologique sur le greffon en cas de détransplantation dans les 3 mois suivant la greffe, quelle qu'en soit la cause (A).

6.2.2 Receveur de foie

➤ En cas de contamination du liquide de conservation par des bactéries

R69. Il est recommandé d'organiser une surveillance clinico-biologique rapprochée (B).

R70. Il est recommandé de consulter l'infectiologue de l'établissement pour débiter éventuellement un traitement antibiotique préemptif (B). *Idéalement, cette consultation ne doit pas retarder un traitement si celui-ci est formellement indiqué.*

➤ **En cas de contamination du liquide de conservation par un agent fongique**

R71. Il est recommandé de débiter un traitement préemptif adapté à l'espèce dès la connaissance de la positivité du résultat (B).

R71 bis. Il est recommandé en cas de *Candida albicans* et en l'absence de traitement antérieur par azolés chez le donneur (notion à récupérer dans le dossier donneur) de traiter par fluconazole pendant 15 jours (B).

R72. Il est recommandé d'organiser une surveillance clinico-biologique et radiologique rapprochée de préférence par scanner multibarrette centré sur l'anastomose artérielle (B).

➤ **En cas de brèche digestive signalée lors d'un PMO**

R73. Il est recommandé de disposer au plus vite de l'examen microscopique direct et de la culture du liquide de conservation pour envisager éventuellement un traitement antifongique ou un traitement antibactérien (B). En cas de contamination du liquide de conservation la recommandation **R72** s'applique.

6.2.3 Receveur de cœur ou cœur/poumons

➤ **En cas de contamination du liquide de conservation par des bactéries**

R74. Il est recommandé d'organiser une surveillance clinico-biologique rapprochée (B).

R75. Il est recommandé de consulter l'infectiologue de l'établissement pour débiter éventuellement un traitement antibiotique préemptif (B). *Idéalement, cette consultation ne doit pas retarder un traitement si celui-ci est formellement indiqué.*

En cas de contamination du liquide de conservation par un agent fongique

R76. Il est recommandé de débiter un traitement préemptif adapté à l'espèce dès la connaissance de la positivité du résultat (B).

R76 bis. Il est recommandé en cas de *Candida albicans* et en l'absence de traitement antérieur par azolés chez le donneur (notion à récupérer dans le dossier donneur) de traiter par fluconazole pendant 15 jours (B).

R77. Il est recommandé d'organiser une surveillance clinico-biologique et radiologique rapprochée (B).

7. Signalements des événements indésirables

7.1 Signalement de biovigilance – Articles R.1211-42, 46 et 47 du code de la santé publique issus des décrets n° 2003-1206 du 12 décembre 2003 et n° 2007-1110 du 17 juillet 2007 relatifs à la biovigilance et à l'hémovigilance (30).

7.2 Signalement des infections nosocomiales – Articles R.6111-12 et suivants du code de la santé publique issus du décret n° 2006-550 du 15 mai 2006 (31).

7.3 Système d'alerte

Simultanément, si d'autres receveurs sont concernés par les incidents et effets indésirables signalés, le SRA de l'Agence de la biomédecine alerte les autres équipes de greffe en charge des receveurs. La gestion de l'urgence est assurée à tout moment, 24 h sur 24, 7 jours sur 7 par les SRA de l'Agence de la biomédecine.

1 avenue du Stade de France
93212 SAINT-DENIS LA PLAINE CEDEX
Tél. : 01 55 93 65 50
Fax : 01 55 93 65 55
www.agence-biomedecine.fr

ANNEXE 2

Fiche prélèvement multi organes



CHU GRENOBLE - HOPITAL MICHALLON

FICHE PRELEVEMENT MULTI ORGANES = PMO

ETIQUETTE
PATIENT

Fiche à conserver dans le dossier
médical.

COORDINATRICES HOSPITALIERES

POSTE 68903

BIP 559

- Pascale REVEL
- Christophe JOBAZE
- Annie DI RUSCIO
- Annie LAJOINIE

- Delphine BUENERD
- Maud DECLIPELEIR
- Virginie SAINTAGNE

Procédure de l'organisation d'un PMO pour réa - Disponible à la coord

Diagnostic de la mort encéphalique

- Vérification de l'abolition des réflexes du tronc cérébral.
- Teste d'hypercapnie.
- Confirmation para clinique du diagnostic de mort encéphalique par :
 - Soit 2 EEG (4 h d'intervalle minimum)
Vérifier avant la réalisation de l'examen : Absence de sédation I.V,
Température > 35°C
 - Soit 1 ANGIOSCANNER OU ARTERIO CEREBRALE (si ce moyen de diagnostic de
mort encéphalique est privilégié, penser à demander à visualiser les organes abdominaux.
Ceci est plus précis que l'échographie abdo-pelvienne et dispense de cette dernière).

DATE ET HEURE DE DECES

(= Heure d'interprétation des examens complémentaires du diagnostic paraclinique)

Cf procès verbal de constat de décès

Certificat de décès

à rédiger par le réanimateur responsable du donneur

BILAN DU DONNEUR

A GERER PAR LA REANIMATION

MENSURATION

POIDS :	TAILLE :
PERIMETRE MAMELONNAIRE :	cm
PERIMETRE OMBILICAL :	cm
HAUTEUR STERNALE :	cm

NEPHURTEST - bandelette urinaire important pour l'évaluation du fonctionnement des reins

Glucose :	Protéine :
Sang :	Leuco :

EXAMENS COMPLEMENTAIRES

ECG RADIO PULM

BILAN A PRELEVER

Utiliser la valise PMO dans les prescriptions informatisées (examens-soins / prescription / prélèvements Multi-Organes). Bien penser à choisir l'option « PMO urgent » dans renseignements cliniques.

LE PLUS URGENT Ces prélèvements seront portés par la coordinatrice

- Sérologies : 2 bons virologie + 3 tubes jaunes + 1 tube violets.
A porter en virologie 8^{ème} étage - tel Labo de virologie : 65604
- Groupage HLA : 1 bon EFS + 3 tubes jaunes pâles + 2 tubes verts + 1 tube violet.
EFS HLA : 04 76 42 94 44
- Si nécessaire
- Groupe sanguin : 1^{ère} et 2^{ème} détermination 2 bons EFS + 2 tubes violets

Flacons et tubes à acheminer **EN URGENCE**. Les confier à un technicien.

POUR EVALUER LE FONCTIONNEMENT DES ORGANES

1 BON de DBI Labo de biochimie : 64 267 4° étages
1 tube vert dans glace - Iono sang / Glucose / Urée / Bilirubine / troponine / CK-MB
1 monovette - Protéinurie
1 seringue GDS + lactates - Après 15' sous FiO2 40%
1 seringue GDS - Après 15' sous FiO2 100%

1 BON d' Hématologie Labo d'hémato : 60 090 5° étage
1 tube violet - NFS+ Plaquettes
1 tube bleu - bilan de coag (fibrinogène - INR - TP - TCA)

1 BON d'enzymologie Labo d'enzymologie : 64 677 6° étages
1 tube jaune - ASAT / ALAT / PAL / Gamma GT / Amylase / Lipase
- CPK

BILAN BACTERIOLOGIQUE ET PARASITOLOGIQUE

2 bons parasito
1 vacutainer urines (bouchon kaki) - mycologie urines
1 tube rouge - sérologie toxoplasmose
Si besoin : 1 tubes mauve et 1 tube rouge - sérologie et recherche Paludisme

2 bons parasito - 2 séries d'hémocultures fongiques à 1 h d'intervalle

1 bon bactério - hémocultures N°1 aérobie et anaérobie
 1 bon bactério - hémocultures N°2 aérobie et anaérobie
(1h d'intervalle entre les 2 séries)

1 bon bactério - ECBU
- CBT

A GERER PAR LA COORDINATION OU PAR MEDECIN DU SERVICE

Echographie abdomino-pelvienne
 Echographie cardiaque

PREPARATION POUR LE BLOC OPERATOIRE

Le respect des règles d'hygiène reste important pour la prévention de l'infection des organes
Le patient est instable sur le plan hémodynamique et nécessite une manutention douce

- Dossier médical avec radios
- Dossier infirmier
- Etiquettes du patient.
- Bracelet de décès + feuille de transport de corps si transport à la chambre mortuaire du CHU

(le certificat de DC et +/- l'imprimé de transport de corps sans mise en bière sont à conserver dans le service et doivent suivre le circuit habituel)

TRANSFERT DU CORPS APRES LE BLOC

(Selon les volontés de la famille)

CONSIGNES PARTICULIERES

ANNEXE 3 : Bon Parasitologie-Mycologie pour PMO

Laboratoire de
**PARASITOLOGIE-
MYCOLOGIE**
5° étage
 C H U de Grenoble - Hôpital A.Michallon
 B.P. 217 - 38043 GRENOBLE Cedex 9
 Tél : 04.7676.54.90 Fax : 04.76.76.56.60
 Chef de : 0413

IPP

 96045750

Identité patient	Demande	Infos Prescripteur
	Demande d'examen n° [9111304653]	Code : 6040 (CH) HTC NEPHROLOGIE 3ÈME Presc: PADILLA Marc Tél : 0476764416

Numéro venue

 0900012708806

Numéro de demande

 9111304653

----- Prescription -----

[Prescription: 8265827 12/11/2009 15:50]

Hémoculture fongique en périphérie (HPER)
 - Nature de Prélèvement :
 Hémoculture fongique sur VVP (HVVP)

----- Informations complémentaires -----

Rens. Cliniques :
 URGENT Prélèvement Multi-organes

Protocole de recherche :

----- Echantillon(s) associé(s) -----

1 x  (Flacon BD Bactec Mycosis IC/F (opercule VERT) - !! parasito / myco) de Hémoculture périphérique - A faire 

1 x  (Flacon BD Bactec Mycosis IC/F (opercule VERT) - !! parasito / myco) de Hémoculture sur VVP - A faire 
 (HVVP)

----- Suivi -----

	Responsable	Date/Heure
A prélever		13/11/2009 07:00

ANNEXE 4 :

Fiche suivi analyses fongiques et bactériologiques sur donneur

Copie BORDEREAU REINS
Transmis au SRA

**TRACABILITE LIQUIDE DE
CONSERVATION**
Transmis EFS (si vaisseaux)

BACTERIO - LEVURES

	Edité	Transmis au SRA
CBT	<input type="checkbox"/>	le _____
CBU	<input type="checkbox"/>	le _____
Hémoc 1	<input type="checkbox"/>	le _____
Hémoc 2	<input type="checkbox"/>	le _____
Levures 1	<input type="checkbox"/>	le _____
Levures 2	<input type="checkbox"/>	le _____
Levures urines	<input type="checkbox"/>	le _____
_____	<input type="checkbox"/>	le _____
_____	<input type="checkbox"/>	le _____

NB : transmettre des résultats validés et informer le SRA si des prélèvements non pas été fait.

Si résultat positif

**= transmis, anonyme, aux services de
transplantation de Grenoble**

**= transmis, non anonyme, à la banque de
tissus, si nécessaire**

Noter la date et le ou les service(s) d'envoi(s)

ANNEXE 5 :
Fiche des LCO et
sérologies receveur

**BIOVIGILANCE GREFFE D'ORGANE
LIQUIDE DE CONSERVATION**

Receveur : _____

Organe : _____

- Editer et transmettre au SRA3
Noter le N°Cristal + date de transmission

Organe digestif

- Bactério
 Parasito

Organe thoraciq

- Bactério poum dt /coeur
 Bactério liq poum gche
 Parasito poum dt / cœur
 Parasito poum gche

SI + : allo service d'accueil du receveur, demander s'il y a des conséquences et le noter sur la feuille de résultat



Ranger ce gadget dans la corbeille d'Annie DR quand les résultats sont édités et transmis.

✂

Sécurisation Sanitaire des greffes

1^{ère} Partie du suivi

2^{ème} Partie du suivi par Annie DR

Receveur : _____

Né le : _____

Organe : _____

Le : _____

N°Cristal : _____

Lieu de prélèvement : _____

Valves ou Vx prélevés ?

Oui non

J 0
compléter le tableau informatique suivi greffe

préparer le bon pour la sécurisation à J 120

J 120
compléter le tableau informatique suivi greffe

Sérologies J0 et J120 à transmettre ?

- Au SRA à B.Bouttin fax : 04.72.11.52.35
 A l'EFS à Mme RIEBEL (joindre le dossier de sécurisation sanitaire vaisseaux, annexe 67)



Ranger ce gadget dans la corbeille d'Annie DR
Dans la pochette prévue à cet effet

Annexe 70

FT14/P6

version avril 09

Dossier donneur : imprimer pages 1 à 3

Lister les sérologies manquantes à l'entrée au bloc :

	_____	_____	_____
Reçue	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
transmis service			
receveurs Grenoble	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Annexe 20

Transmis par le SRA dans les jours suivants la greffe

**BACTERIO positive du donneur
ou PTA d'autres receveurs**

à la réception d'un examen :

- 1 - Vérifier l'anonymat
- 2 - Editer la feuille « 46. Complément d'exam »
- 2 - Puis transmettre par fax une copie du résultat dans le service d'accueil du receveur accompagné de la feuille 46.
- 4 - Mettre le résultat dans casier d'Annie DR qui classera ensuite dans ce gadget !

ANNEXE 6 :

Feuille 46 compléments d'examens donneur



UNITE DE
COORDINATION
HOSPITALIERE
Hall Chartreuse
A MICHALLON
Tel : 6 89 03

Date : 04/12/2009

RECEVEUR CONCERNE :
GREFFE-LE :

DONNEUR N°cristal :

COMPLEMENTS D'EXAMENS DU DONNEUR

- EBV
- TOXO
- HLA
- Syphilis
- AUTRES :

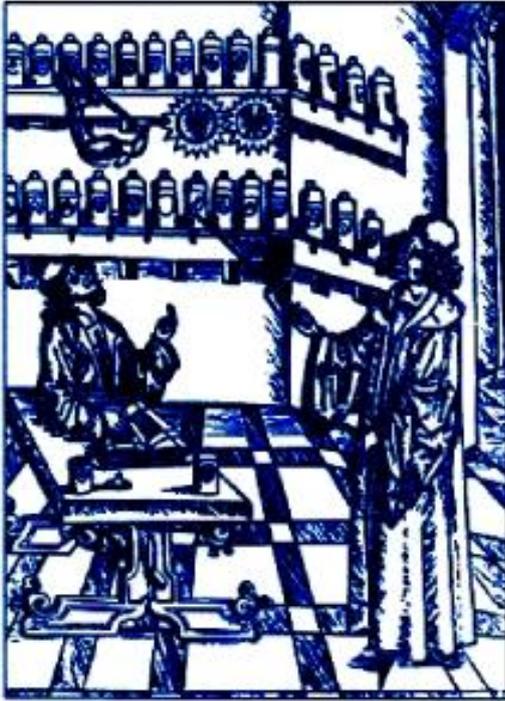
POUR INFORMATION A L'EQUIPE MEDICALE
A CONSERVER DANS LE DOSSIER DU RECEVEUR

Fax envoyé en

Annexe 46

FT 30 / P6

version - mai 07



Serment des Apothicaire



Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.