Taxonomic assignment of uncultured prokaryotes with long range PCR targeting the spectinomycin operon

Jean-Pierre Flandrois, Céline Brochier-Armanet, Jérôme Briolay, Danis Abrouk, Guillaume P Schwob, Philippe Normand, Maria P. Fernandez

▶ **To cite this version:**

Jean-Pierre Flandrois, Céline Brochier-Armanet, Jérôme Briolay, Danis Abrouk, Guillaume P Schwob, et al.. Taxonomic assignment of uncultured prokaryotes with long range PCR targeting the spectinomycin operon. Research in Microbiology, 2019, 170 (6-7), pp.280-287. 10.1016/j.resmic.2019.06.005 . hal-02327832

HAL Id: hal-02327832
https://cnrs.hal.science/hal-02327832

Submitted on 20 Jul 2022

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.

Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

Version of Record: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923250819300622
Manuscript_a3029e881bffb94d49d8169787b59e5b

Résumé
Associer la pratique des aphérèses à l'hémodialyse est logique par la gestion des circulations extra-corporelles et dynamise le fonctionnement d'une unité. Les techniques mises en place comprennent échanges plasmatiques thérapeutiques par centrifugation et simple filtration, plasmaphérèse par double filtration et ses dérivés rhéophérèse et LDL aphérèse, immuno-adsorption semi-sélective et spécifique. L'offre de soins est conforme aux recommandations. Un investissement davantage humain que financier est indispensable. Il est récompensé par l'augmentation croissante des demandes issues de différentes spécialités. Les indications et les programmes sont cadrés et accompagnés d'une surveillance clinique et biologique répertoriée par des procédures. Les effets indésirables, dominés par des chutes initiales de pression artérielle, une inflation globale de la volémie, une hypocalcémie, une déperdition de facteurs plasmatiques utiles, des complications induites par les cathéters, sont identifiés, monitorés et maîtrisés. En 2 ans, 1845 séances ont été réalisées pour 134 patients dont 24 pour neuropathies, 12 pour syndrome hémolytique et urémique, 11 pour purpura thrombotique thrombocytopénique, 9 pour vascularites, 5 pour syndrome de Goodpasture, 4 pour artériopathie oblitérante des membres inférieurs, 2 pour myélome, 1 pour hypercholestérolémie. Les 66 autres ont été traités avant ou après une transplantation rénale, pour désimmunisation ABO ou HLA, rejet humoral ou récidive de hyalinose segmentaire et focale. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de la littérature. Ces pratiques, avec peu de décès toujours indépendants des techniques, améliorent quasi constamment le pronostic fonctionnel des patients et l'évolution des pathologies traitées. L'équipe, grâce à un programme reconnu de formation continue, peut, sur place, transmettre les modalités de mise en place et de développement aux soignants intéressés.

Mots clés : désimmunisation ABO et HLA ; échange plasmatique ; hyalinose segmentaire et focale ; immuno-adsorption ; plasmaphérèse par double filtration ; rhéophérèse

Abstract
Many apheresis techniques can be performed in a blood-bank facility or a hemodialysis (HD) facility. However, it makes sense to perform apheresis in a hemodialysis facility as apheresis involves extra-corporeal circuits and because HD can be performed at the same time as apheresis (tandem procedure). Apheresis techniques comprise therapeutic plasma exchange, double-filtration plasmapheresis, and its derivative (rheopheresis and LDL-apheresis), and immunoadsorption (specific and semi-specific).
We have setup an apheresis platform in our hospital that fulfills health recommendations. This process has involved financial investment and significant human resources, and has enabled us to network with different specialties (neurology, hematology, vascular medicine). We have setup protocols according to the type of pathology to be treated by apheresis, and to monitor clinical and biological data for each apheresis session.
The main side effects of apheresis are a fall in blood pressure when a session is initiated, an increase in fluid overload, hypocalcemia, and the loss of some essential plasmatic factors. However, these side-effects are easily identified and can be properly managed in real time.
Within two-years, we have performed 1845 apheresis sessions (134 patients). Of these, 66 received apheresis before and/or after kidney transplantation for ABO and/or HLA incompatibility (desensitization), for humoral rejection, or in the setting of relapsing focal-segmental glomerulosclerosis. Our patients' outcomes have been similar to those reported in the literature. The other 68 patients had various conditions.
Because our program is now well-established, we are currently forming a specialist center to train physicians and nurses in the various apheresis techniques/procedures.

© 2019 published by Elsevier. This manuscript is made available under the CC BY NC user license
https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/

Keywords: ABO and HLA desensitization; double-filtration plasmapheresis; focal-segmental glomerulosclerosis; hemodialysis; immunoadsorption; plasma exchange

1- Abréviations

AOMI	artériopathie oblitérante des membres inférieurs
DFPP	plasmaphérèse par double filtration
EP	échanges plasmatiques thérapeutiques
HD	hémodialyse
HSF	hyalinose segmentaire et focale
IA	immuno-adsorption
PTT	purpura thrombotique thrombocytopénique
SHU	syndrome hémolytique et urémique

2- Introduction

Pratiquer de l'hémodialyse (HD) sous-entend au moins 2 rationnels de fonctionnement : considérer son service davantage comme un plateau technique qu'un secteur d'hospitalisation, et maîtriser les circuits extra-corporels.
Ajouter la pratique d'aphérèses à une activité d'HD est logique, et permet de cibler au moins 3 objectifs.
Les différentes techniques d'aphérèses, anciennes comme plus innovantes, enrichissent l'arsenal thérapeutique pour améliorer le pronostic des patients [1]. En néphrologie, les pathologies principalement concernées sont les syndrome hémolytiques et urémiques (SHU), les purpuras thrombotiques thrombocytopéniques (PTT), les vascularites, le syndrome de Goodpasture, le rejet humoral, la récidive de hyalinose segmentaire et focale (HSF) sur le greffon, et les désimmunisations préalables à une greffe entre donneur et receveur incompatibles. En hématologie, l'hyperviscosité du myélome est accessible à ces pratiques qui sont également indiquées en neurologie, contre la myasthénie, la sclérose en plaques, la névrite optique, le syndrome de Guillain-Barré et des neuropathies mal étiquetées résistant aux traitements référencés. En médecine et chirurgie vasculaire, la symptomatologie et l'évolutivité de l'artériopathie chronique oblitérante des membres inférieurs (AOMI) peut être améliorée par l'aphérèse dédiée que représente la rhéophérèse.
En diversifiant son offre de soins pour l'adapter aux demandes, la mise en place d'un plateau technique d'aphérèses permet de moderniser et dynamiser le fonctionnement d'une unité de soins.
Enfin, elle favorise la cohésion d'équipe entre soignants de dialyse et de transplantation, et participe activement à la concrétisation du parcours-patient puisque le plus grand nombre des techniques s'adresse aux dialysés chroniques.

3- Matériel et méthodes

3-1 Rationnel

Il est double :
• le recours à une équipe d'unité d'hémodialyse qui pratiquait déjà des échanges plasmatiques thérapeutiques (EP) assure la maîtrise de la gestion des circuits extracorporels et rassure sur la mise en place d'un plateau technique d'aphérèses plus complet ;
• une équipe motivée par son appartenance universitaire, l'innovation et l'envie de s'adapter à l'évolution des pathologies et des pratiques thérapeutiques garantit le développement de cette diversification d'activité.

3-2 Préparation

Le projet est préparé en amont selon un plan tenant compte des apports et des contraintes matérielles, humaines et budgétaires. L'analyse expose clairement les dépenses prévisibles à court terme en regard des bénéfices à moyen terme. L'ensemble des matériels correspondant aux différentes techniques d'aphérèses est acquis grâce à ce programme annoncé et argumenté. Sont utilisés : séparateurs par centrifugation et simple filtration pour les EP, plasmaphérèse par double filtration (DFPP), immuno-adsorption (IA) semi-spécifique ou sélective.
La mise en place est possible à moyens humains constants dans des locaux existants, sous réserve d'aménagements.
Notre unité est implantée au sein d'un Centre hospitalier universitaire. Elle collabore, en bonne entente, sans notion de concurrence, avec les réanimations et une association, seule autre structure de dialyse ambulatoire de l'agglomération. Elle fonctionnait initialement et usuellement avec 8 postes d'hémodialyse et 1 poste d'échange plasmatique. Dotée d'un parc de 12 générateurs pour permettre des dépannages rapides et maintenir constante l'activité en palliant à l'absence de technicien sur place, elle pouvait, en fonction des besoins, apprêter 1 à 2 postes supplémentaires de dialyse, le temps de se réorganiser avec ses partenaires.
En conséquence, le fonctionnement de notre unité a toujours été atypique et son recrutement particulier. Les dialyses qu'elle pratique s'adressent davantage à des patients atteints d'une insuffisance rénale aiguë que chronique. La prise en charge des malades rénaux chroniques se limite aux malades qui n'étaient pas préparés au traitement de suppléance jusqu'à ce qu'ils soient transférables et ceux qui, dialysant habituellement dans d'autres structures, sont hospitalisés dans l'établissement. Elle effectue la plupart des EP de l'établissement, à l'exception de ceux qui dépendent de conditions de réanimation.
Au total, en dépit de son faible nombre de postes, l'unité accueille chaque année plus de 450 patients différents, de passage pour des séjours de durée relativement courte.
Dans l'optique d'intégrer l'activité d'aphérèse, l'unité a acté d'ajouter 2 postes d'aphérèses - éventuellement couplés à de la dialyse - aux 8 postes de dialyse, et donc d'exercer avec 2 moniteurs d'aphérèse et 8 à 10 générateurs de dialyse. Elle s'est réorientée pour se consacrer à la prise en charge des patients nécessitant des aphérèses, en renforçant le transfert des patients requérant de l'hémodialyse seule.
Le personnel de l'unité comptait et compte toujours 14 équivalents-temps-plein infirmiers, aucun aide-soignant, 5 agents de service hospitalier, 1,8 équivalent-temps-plein praticien hospitalier, 1 assistant et 1 interne. Les plannings du personnel soignant ont été modifiés : les horaires dérogatoires en 12 heures avec 2 plages de présence décalées (7 heures-19 heures et 8 heures-20 heures), ont été adoptés afin qu'en dépit du contexte économique très contraint, soient dégagés des postes dédiés aux nouvelles techniques, à l'éducation thérapeutique et à la formation. Parallèlement, pour absorber cette augmentation d'activité à moyens humains constants, les horaires d'accueil des patients ont été échelonnés.
L'installation pratique des salles de soins a été révisée. Les pièces les plus grandes sont logiquement dédiées aux techniques utilisant les matériels les plus encombrants, certaines pièces, au contraire, accueillent 2 postes et d'autres, récupérées grâce à une révision des modalités de stockage et une mise en conformité à moindre frais, ont été reconverties en salles de soins.

3-3 Mise en place pratique
Une formation initiale théorique basée sur des références bibliographiques initie la mise en place. Elle est associée à des simulations pratiques sur les différents séparateurs, assurée par les formateurs « experts » mettant à disposition les matériels. Le déplacement sur un site reconnu pour pratiquer ces traitements depuis longtemps et en grand nombre, d'au moins deux soignants - qui seront qualifiés de référents - permet d'acquérir une expérience, puis la formation progressive de l'ensemble de l'équipe.

3-4 Prescriptions et surveillance

3-4-1 Choix du type d'aphérèse

Le choix est guidé par la pathologie à traiter.

Les EP sont indiqués préférentiellement pour traiter les pathologies en dehors du domaine de la transplantation. Ils sont principalement effectués par centrifugation. La filtration qui, techniquement, ne parvient pas à traiter des volumes suffisants pour atteindre les objectifs requis, est utilisée en procédure dégradée uniquement lorsque les séparateurs par centrifugation ne sont pas disponibles.

En transplantation rénale, 1 EP est pratiqué la veille de la greffe ABO et/ou HLA incompatible, avec substitution au plasma pour restituer les facteurs de coagulation et éviter un risque hémorragique au moment de l'acte chirurgical. Dans cette situation, le plasma perfusé doit être du groupe du donneur afin de respecter le résultat de la désimmunisation.

La rhéophérèse s'adresse aux hémodialysés atteints d'AOMI de stade 4, hyperalgiques et pour qui est évoquée une amputation.

La LDL aphérèse est spécifique et traite les hypercholestérolémies inaccessibles aux traitements hypolipémiants.

La transplantation rénale est préférable à la dialyse en qualité comme en quantité de vie comme le confirment les extraits des rapports de la Haute Autorité de santé (HAS) cités ci-dessous [2,3] : « *Lorsqu'elle est possible, la greffe rénale est la solution qui apporte la meilleure qualité de vie et la meilleure espérance de vie pour les personnes atteintes d'insuffisance rénale au stade terminal (stade 5). La transplantation rénale est considérée comme le traitement le plus efficient, plus efficace et moins coûteux que les traitements de suppléance par dialyse. Or, son développement est contraint par le manque de disponibilité de greffons, cette situation structurelle s'aggravant puisque le nombre de nouveaux inscrits sur la liste d'attente de greffe augmente régulièrement depuis 2005, alors que le nombre de reins prélevés sur personnes décédées est relativement stable.* »

Les DFPP et IA permettent, en faisant diminuer les taux d'anticorps circulants, l'accès à la greffe des patients hyperimmunisés avec des donneurs potentiels incompatibles en ABO et/ou HLA, et de palier en partie à la pénurie des greffons en augmentant le recours aux donneurs vivants [4].

Les séquences thérapeutiques sont planifiées en sorte que la date de greffe soit respectée.

L'IA semi-spécifique étant plus performante que la DFPP, le choix d'une technique par rapport à une autre est conditionné par les situations initiales, les cibles visées et la disponibilité des moniteurs d'aphérèses.

Pour les désimmunisations ABO, l'objectif est de descendre en dessous d'un taux d'anticorps naturels (isoagglutinines Ig G et IgM) de 1/8 selon la méthode de mesure recommandée [5, 6].

La DFPP est indiquée quand les taux initiaux sont inférieurs ou égaux à 1/128. En fonction du monitorage des isoagglutinines, si le taux ne diminue pas suffisamment vite et compromet la date planifiée pour la greffe, l'IA semi-sélective est prescrite en remplacement de la DFPP pour améliorer l'efficacité [7-9].

L'IA semi-sélective est utilisée en première intention pour les patients dont les taux d'isoagglutinines sont compris entre 1/128 et 1/256.

Si les taux dépassent 1/256, une première séance d'IA spécifique sur colonne identifiée anti-A ou anti-B (Glycorex®) est nécessaire. Elle est faite en sorte de traiter de grands volumes plasmatiques (supérieurs à 20 litres). En fonction de l'évolution, si persiste un taux trop élevé d'isoagglutinines, une seconde séance d'IA spécifique est ajoutée la veille du jour de la greffe programmée avec le donneur vivant correspondant [10].

L'IA semi-spécifique est l'outil de référence pour désimmuniser en anticorps anti-HLA et pour traiter des rejets humoraux ainsi que des récidives de HSF sur le greffon.

3-4-2 Accès vasculaire

Pour un traitement par les séparateurs actuellement disponibles sur le marché, compatible avec une durée acceptable, les patients doivent avoir un accès vasculaire utilisable en bi-ponction. L'utilisation de la fistule artério-veineuse des hémodialysés chroniques ne compromet pas sa durée de vie. Dans les autres cas, un cathéter à double lumière préexistant ou posé pour le début de la première séance rend possible les branchements.

3-4-3 Débits

Les débits des circuits sanguins sont faibles et adaptés au type de technique indiqué : 50 à 150 millilitres par minute pour la DFPP, 50 millilitres par minute initialement pour l'IA afin d'obtenir le débit plasmatique optimal d'efficacité de 35 millilitres par minute à ne pas dépasser pour préserver les qualités des membranes adsorbantes.

3-4-4 Anticoagulation

L'anticoagulation utilise du citrate sous forme d'une solution anticoagulante ACD-A (citrate dextrose, solution A), avec un ion citrate libre à 2,13 %, stérile, non pyrogène, présenté en poches.

3-4-5 Volumes traités

Les volumes plasmatiques traités sont régulés par la formule d'usage utilisée en aphérèse thérapeutique :

• chez la femme, 1 volume plasmatique = (65 mL x poids [kg]) x [1-Hématocrite du jour du traitement] ;

• chez l'homme, 1 volume plasmatique = (70 mL x poids [kg]) x [1-Hématocrite du jour du traitement].

Les critères d'efficacité, préalablement définis par des paramètres spécifiques de chaque indication, déterminent le nombre de séances et indiquent de traiter en moyenne 1,5 volume plasmatique par séance [11,12]. Parfois, en raison de contraintes techniques, ce seuil n'est pas toujours atteint. En revanche, le dépasser n'a pas montré d'efficacité supplémentaire.

3-4-6 Traitements associés

Un conditionnement médicamenteux des patients est associé à ces techniques.

La vaccination anti-pneumocoque est de rigueur et systématique.

Si la substitution du volume épuré fait appel à du plasma, un traitement antiallergique préventif par 2 mg de dexchlorphéniramine maléate (Polaramine®) est administré. Si cette première mesure est insuffisante et que des manifestations allergiques apparaissent, le patient reçoit une injection de 100 mg d'hemisuccinate d'hydrocortisone.

Des protecteurs gastriques sont ajoutés pour la prévention des ulcères de stress, comme pour un séjour en réanimation [13].

Dans la plupart des indications néphrologiques, un traitement immunosuppresseur est indispensable pour prolonger l'efficacité amorcée [14]. Dans ces cas où une hypogammaglobulinémie prévisible est attendue de façon prolongée, une antibiothérapie probabiliste est considérée comme utile pour éviter la survenue de complications. En consensus avec les infectiologues et en l'absence d'allergie, phénoxyméthylpénicilline (Oracilline®), et sulfaméthoxazole, triméthoprime (Bactrim®) sont prescrits. Les patients allergiques à ces molécules reçoivent une antibioprophylaxie discutée au cas par cas.

3-4-7 Gestion des effets indésirables

En parallèle, la contre-indication et les effets indésirables sont répertoriés, anticipés et gérés.

Les traitements par inhibiteurs de l'enzyme de conversion, incompatibles avec certaines membranes, au risque de choc anaphylactique médié par les bradykinines, sont remplacés par des antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II [15].
L'hypocalcémie induite par le citrate est compensée par une perfusion adaptée, selon un ratio asservi au débit sanguin, de gluconate de calcium. Afin de compléter la sécurité des actes, les signes d'hypocalcémie sont recherchés tout au long de la séance et donnent lieu, si nécessaire, à une adaptation du traitement correctif [16].
Les déperditions obligatoires mais potentiellement délétères en dessous d'un certain seuil, des facteurs plasmatiques comme les immunoglobulines et le fibrinogène, sont managées. Si le taux plasmatique d'immunoglobulines descend en dessous de 2 g/L, 100 mg d'immunoglobulines polyvalentes/kg de poids du patient sont perfusés. Un taux de fibrinogène inférieur à 1 g/L est compensé préférentiellement par un espacement des séances pour permettre le renouvellement de la synthèse des facteurs en cause [17]. Un apport, sous forme d'un flacon de 1,5 gramme de Clottafact®, est exceptionnel et réservé à un haut risque hémorragique, conséquence d'une comorbidité.
L'inflation de la volémie principalement liée aux apports par les flacons de citrate est limitée au minimum et contrôlée avec l'aide des diurétiques ou de séance d'HD contemporaine lorsque le traitement concerne un hémodialysé chronique.

3-5 Améliorations itératives
La réalisation contemporaine - dite en tandem - de séance d'aphérèse et d'hémodialyse (HD) permet de limiter les contraintes pour les patients dialysés et d'éviter de saturer les plannings [18,19].
L'appropriation, les autocritiques et la pratique aboutissent à des améliorations spécifiques et personnalisées adaptées. Ainsi, ont été conçus des montages artisanaux, qui mériteraient d'être brevetés. Par exemple, pour l'IA, le filtre d'ultrafiltation dit Monet®, parfois surajouté après le séparateur par centrifugation et avant les colonnes adsorbantes, est dorénavant isolé par des robinets à 3 voies afin qu'il puisse être connecté et déconnecté à tout moment des séances, dans le respect de la sécurité d'un circuit fermé. De même, le choix de réaliser des procédures en tandem par dérivation et non en circuit parallèle, comme appris initialement, a généré la création d'un dispositif adéquat (*Figure 1*).
Au fur et à mesure du développement des techniques, la possibilité de recourir à différents filtres pour un même séparateur permet d'élargir l'offre de soins à d'autres spécialités que la néphrologie : rhéophérèse pour les artériopathies chroniques oblitérantes, LDL aphérèse pour les hypercholestérolémies sévères [20,21].

3-6 Cadre administratif
L'activité est assortie d'un accueil préparatoire des patients candidats. Une présentation sur site, avant tout début de traitement, à l'occasion d'un de leurs passages programmés - pour leur éviter une contrainte supplémentaire -, des locaux et du matériel vient compléter les explications précédemment données en consultation. Une information illustrée sous forme d'un document synthétique et accessible, consultable aisément, leur est remise en complément.
C'est à cette occasion que le capital vasculaire du patient est évalué et le choix de l'accès pour réaliser l'aphérèse décidé. En dehors du sujet hémodialysé qui possède déjà une voie d'abord, un cathéter veineux central double lumière sera posé en fémoral ou en jugulaire interne, en percutané ou avec tunnelisation, en fonction de la durée prévisible du traitement.
La rédaction de procédures de préparation, de prescriptions et de suivi concrétise la mise en place, la surveillance clinique et biologique des séances.
Les résultats sont évalués par des études observationnelles, des protocoles comparatifs pouvant donner lieu à des publications, et étayés par des bilans annuels d'activité.

Une campagne régulière de présentation aux différents services pouvant être concernés assure le maintien et le développement de l'activité.
Les actes considérés comme chronophages et coûteux sont valorisés et compensés par la tarification à l'acte en vigueur (T2a), et par le programme de médicalisation des systèmes d'information (PMSI), comme détaillé dans le *tableau 1*.

4- Résultats

4-1 Données générales

Les résultats exposés rendent compte de l'activité réalisée pendant les 2 premières années d'exercice, de mars 2016 à avril 2018, par 2 branchements quotidiens, 6 jours sur 7, jours fériés compris, avec 10 postes d'hémodialyse et 2 postes d'aphérèses. En effet, en plus des 8 postes dédiés à l'hémodialyse seule, les 2 postes d'aphérèses peuvent être couplés à 2 générateurs de dialyse pour assurer les prises en charge en tandem.
L'unité effectuait depuis plusieurs années des EP par centrifugation. Elle a intégré les techniques d'IA semi-spécifique, d'IA sélective, de DFPP avec ses variantes que sont la rhéophérèse et la LDL aphérèse, et l'EP par filtration. Les schémas des montages sont illustrés par les *figures 2 et 3*.
Les DFPP ont été réalisées par un séparateur par filtration (Plasauto HemaT) équipé de 2 filtres en série : un filtre primaire à gros pores, séparant cellules et plasma (*Plasmaflow*) suivi d'un filtre secondaire spécifique d'adsorption : *Cascaflow* pour les immunoglobulines, et la LDL aphérèse, Rheofilter ER4000 pour la rhéophérèse.
Les IA semi-spécifiques sont effectuées par une première étape de centrifugation sur séparateur (Fresenius Comtec® ou Terumo Optia®), suivie d'un passage du plasma sur le kit Adasord® équipé de 2 colonnes (Globaffin®), adsorbant en alternance pour permettre leur rinçage entre 2 passages.
L'interposition d'un premier filtre (Monet®) placé au décours de la centrifugation pour épurer le plasma d'éléments comme le cholestérol, le fibrinogène, les anticorps tous confondus, IgM, etc., saturant précocement les colonnes d'Immunoadsorption Globaffin®, est une option. Elle améliore l'efficacité à fixer les anticorps, mais aggrave par définition les déperditions. En pratique, son indication est ponctuelle en fonction des monitorages des différents paramètres [22].
L'IA sélective débute par une séparation du sang par centrifugation afin que le plasma circule sur une colonne adsorbante spécifique (Glycorex®) anti-A ou anti-B selon l'indication requise.

4-2 Patients

Du fait de son recrutement particulier évoqué dans le chapitre 3, l'unité a accueilli 569 patients en 2016 et 634 en 2017, répartis selon la *Figure 4*.
Pour la période concernée par notre étude, de mars 2016 à avril 2018, 134 patients ont eu des séquences thérapeutiques d'aphérèses, dont 24 pour neuropathies, 12 pour SHU, 11 pour PTT, 9 pour vascularites, 5 pour syndrome de Goodpasture, 4 pour AOMI, 2 pour hyperviscosité dans un contexte de myélome, 1 pour hypercholestérolémie. Les 66 autres, soit un peu moins de la moitié, ont été traités avant ou après une transplantation rénale : 38 pour des désimmunisations dont 21 anti-ABO et 17 anti-HLA, 21 pour rejets humoraux et 7 pour lutter contre la récidive d'une HSF sur le greffon.
Ils se répartissent en 63 % d'hommes et 37 % de femmes, et sont âgés de 21 à 77 ans.
La plupart ont eu leurs soins en ambulatoire. Un cathéter a été posé à la quasi-totalité des patients aux indications sans lien avec la transplantation. Et en toute logique, la majorité des autres a utilisé son accès préexistant, principalement une fistule artério-veineuse. Aucune ponction veineuse périphérique n'a été tentée.

4-3 Séances

4-3-1 Généralités

Le nombre de séances total varie selon le mode comptable.

Ainsi, 2438 séances d'aphérèses ont été recensées administrativement, puisque la cotation à l'acte autorise de comptabiliser comme 1 EP à part entière, le premier temps de chaque IA. Mais seules 1845 (EP décomptés des IA) concernent des sessions thérapeutiques différentes et seront donc étudiées.

Ces 1845 séances ont été réalisées avec une répartition entre les différentes techniques lisibles sur la courbe des bilans annuels de 2016 et 2017, en *Figure 5*. Le développement exponentiel exprime, en dehors de l'argument comptable des EP précédemment évoqué, la réponse aux demandes croissantes, une fois l'activité « rodée ». Auparavant, faute de place disponible pour une offre en adéquation avec les sollicitations, certaines aphérèses étaient effectuées en secteur de réanimation, même si l'état des patients n'en nécessitait pas l'environnement.

Le nombre de séances moyen par patient est de 13,77. Cette valeur brute est à nuancer par la disparité des populations prises en charge. Certaines requièrent des séquences thérapeutiques lourdes et d'autres nécessitent un traitement d'entretien. Les données sont détaillées dans le *tableau 2*.

4-3-2 EP

Les EP ont tous été effectués par centrifugation. Les prescriptions ont suivi les référentiels basés sur les études avec niveau de preuves [1].

4-3-3 Rhéophérèse

Le protocole thérapeutique classique appliqué comporte 3 séances hebdomadaires pendant 2 semaines, puis 2 par semaine les 2 semaines suivantes, avec un entretien 1 à 2 fois par mois.

Chaque séance est évaluée par un critère subjectif : la cotation de la douleur par l'échelle visuelle analogique (EVA). Objectivement, une mesure de la pression trans-capillaire en CO2 (TPCO2) est effectuée avant le début de la séquence thérapeutique, puis 1 fois par mois.

4-3-4 LDL aphérèse

L'unique patient concerné était traité antérieurement dans un centre plus éloigné de son domicile et nous a été transféré pour limiter les contraintes de transport. La fréquence de ses séances (1 tous les 15 jours) a été déterminée par l'observation rétrospective du délai d'ascension de son taux de cholestérol.

4-3-5 La DFPP

En préparation à une greffe ABO incompatible avec donneur vivant, 6 séances ont été planifiées sur 10 jours. Mais en fonction des taux initiaux d'isoagglutinines à faire décroître et des résultats constatés, des séances supplémentaires ont dû être ajoutées, si bien que dans notre série, la moyenne a été de 7,5 séances par patient.

4-3-6 L'IA

En greffe HLA incompatible, 4 séances par semaine ont été effectuées pendant 2 semaines avant une greffe à partir de donneur vivant. En cas de donneur issu de mort encéphalique, un entretien par 1 à 2 séances par semaine a été effectué jusqu'à la greffe.

Les anticorps spécifiques du donneur (DSA) ont été détectés par *solid phase assay* selon la technique Luminex. L'aspect quantitatif déterminé par *Mean Fluorescent Intensity* ou Intensité moyenne de fluorescence (MFI) bien qu'insuffisant pour prédire les rejets, est utile

en désimmunisation HLA, et l'IA semi-spécifique a visé une valeur de MFI inférieure à 3000 [23-26].
L'IA semi-spécifique est efficace si les anticorps initiaux ne dépassent pas 15 000. Des taux plus élevés ont donné lieu à un conditionnement préalable par tocilizumab réalisé au décours d'une séance d'HD, sous forme d'une perfusion mensuelle jusqu'à obtention du taux requis pour pouvoir débuter l'IA semi-spécifique (données personnelles).
L'IA semi-spécifique a également été indiquée pour contrôler un rejet humoral et traiter la récidive de la hyalinose segmentaire et focale sur le greffon, monitorée par le taux de protéinurie et la créatininémie [27].

4-4 Effets indésirables

Dans notre série, 7 patients sont décédés. Les décès étaient dus à l'évolution défavorable des pathologies traitées et non aux techniques. Trois étaient atteints de PTT, 1 de SHU, 1 du syndrome de Goodpasture et 2 de myélome. Le traitement indiqué pour l'hyperviscosité et efficace sur ce point leur avait cependant permis d'accéder à la chimiothérapie spécifique, prolongeant d'autant leur durée de vie.
La tolérance hémodynamique, moins bonne en DFPP qu'en IA semi-spécifique, avec chute de pression artérielle symptomatique en début de technique, a été gérée pour ne pas compromettre les programmes de soins. L'allègement du traitement antihypertenseur a toujours amélioré les situations. Lorsque cette mesure s'est avérée insuffisante, un remplissage par de l'albumine à 20 %, ou le raccourcissement des séances initiales, ou l'ultrafiltration progressive pendant les séances d'HD en tandem, ou encore le transfert de DFPP en IA semi-spécifqiue a permis d'éviter les arrêts précoces de séquences et de poursuivre le but thérapeutique.
Toutes les séances de DFPP et d'IA semi-spécifiques se sont soldées par une hypervolémie. Celle-ci a toujours été supportée et contrôlée en dehors des rhéophérèses qui ont indiqué des augmentations de durée de séances d'hémodialyse ou des séances d'hémodialyse supplémentaires pour limiter l'ultrafiltration préjudiciable aux AOMI justifiant initialement la technique.
Le débit de gluconate de calcium étant adapté dès le repérage de « goût métallique dans la bouche » ou de dysesthésies péribuccales, l'hypocalcémie n'a jamais constitué un risque.
Une infection opportuniste chez une patiente désimmunisée pour greffe HLA incompatible a été observée : il s'agissait d'une aspergillose pulmonaire invasive d'évolution favorable.
Équiper d'un cathéter les 80 patients sans accès vasculaire préalable a induit 9 complications :
• 5 thromboses des dispositifs ont indiqué une nouvelle pose ;
• 2 thromboses de la veine fémorale ont nécessité une anticoagulation avec l'arrêt des aphérèses dans un cas et la pose d'un nouveau cathéter sur un site différent pour l'autre ;
• 1 hématome circulant fémoral a conduit à suspendre les aphérèses ;
• 1 complication infectieuse a également conduit à suspendre les aphérèses.

4-5 Constats

Toutes les neuropathies ont vu leur pronostic fonctionnel progresser, dont une au prix d'une dépendance au traitement avec 2 séances par semaine.
Les rhéophérèses ont permis de soulager les douleurs de toutes les AOMI traitées et de retarder l'échéance des amputations.
La LDL aphérèse n'a concerné qu'un patient. Il a souhaité arrêter le traitement en raison des contraintes et d'incompatibilités entre son planning et le nôtre.
Les patients traités pour récidive de HSF ont tous réduit leur débit de protéinurie. Aucun n'est retourné en HD. La fonction rénale s'est améliorée ou est restée stable. Après les séquences thérapeutiques initiales, une fois un résultat stable observé, un traitement d'entretien d'une séance toutes les 3 à 4 semaines sauvegarde la fonction du greffon.

Nous avons pu augmenter le nombre global de greffes rénales grâce aux désimmunisations par aphérèses chez des patients ayant des donneurs vivants potentiels incompatibles. En 2017, 152 greffes ont été réalisées dont 31 incompatibles contre respectivement 140 et 22 en 2016.
Le recul est cependant encore faible et le devenir des greffons de notre série continue à être surveillé. Les résultats semblent moins encourageants pour les greffes issues de désimmunisation HLA pratiquées à partir d'un donneur de mort encéphalique. Dans notre étude, les 3 patients concernés avaient des taux très élevés d'anticorps anti-HLA et aucune possibilité spontanée d'accès à la greffe. Ils étaient demandeurs et motivés. Un seul est retourné en dialyse au bout d'un mois. Ils ont tous les 3 déclaré un gain en qualité de vie appréciable, y compris celui pour qui il a été de courte durée.

5- Discussion

5-1 Les patients

Les indications vont évoluer. Certaines risquent de disparaître. Les progrès pharmaceutiques en cours vont bientôt transformer le traitement du syndrome de Goodpasture en proposant une biothérapie par imlifidase. Les résultats du protocole Pexivas vont nous conduire à réviser la prise en charge des vascularites à ANCA.
Dans notre expérience, la rhéophérèse s'est adressée uniquement à des AOMI. Contrairement à la littérature, aucune équipe d'ophtalmologie ne nous a sollicités pour traiter l'indication classique de dégénérescence maculaire liée à l'âge [28]. Les patients atteints de sclérodermie en poussée à qui ces techniques ont été proposées ont été évalués, mais n'ont pas donné suite par appréhension de la pose d'un accès vasculaire à type de cathéter permanent.
En transplantation, seuls les candidats à la transplantation rénale ont été concernés. L'équipe de transplantation pulmonaire souhaitait participer avec un programme de désimmunisation anti-HLA, mais elle n'a pas pu donner suite, contrainte de cesser transitoirement son activité de greffe.
En transplantation rénale, ces techniques pratiquées depuis plusieurs années offrent une survie des greffons incompatibles comparable à celle des greffes issues de donneurs compatibles en ABO. En HLA, ce constat reste vrai si les anticorps sont peu nombreux en variété, leur MFI faible et le donneur vivant. Nos résultats observés sont conformes à ceux de la littérature [29-31].
Dans le cadre de la préparation à une greffe rénale HLA incompatible sans donneur vivant potentiel, les candidats doivent attendre l'effet des séances d'aphérèse sur le taux des MFI des anticorps anti-HLA avant de trouver un donneur en état de mort encéphalique devenu compatible. Le maintien de leurs séances d'entretien pour une durée indéterminée, tout en respectant les séquences des autres programmes de désimmunisation en cours, est parfois difficile et nécessite une souplesse d'aménagement des plannings. Leurs résultats, bien moins performants qu'avec un donneur vivant, pourraient bénéficier de la conception de protocoles communs validés par des instances de greffe.
Dans les cas de récidive de HSF, l'accès vasculaire n'est pas toujours pérenne et peut être un facteur limitant. En effet, la plupart des patients n'ont pas conservé leur fistule artério-veineuse. Vu l'ancienneté de leur maladie rénale chronique, les cathéters peuvent être difficiles à poser. Ils ne demeurent pas toujours perméables entre les séances trop espacées, ou imposent des réfections de verrous contraignantes.
Une formation aux ponctions veineuses périphériques pourrait avoir sa place pour les indications d'aphérèses dans les populations en dehors de la maladie rénale chronique et autres pathologies ayant lésé le capital vasculaire.

5-2 Les soignants

Notre secteur est géré exclusivement par des soignants infirmiers, sans aides-soignants. Leurs horaires de travail sur 12 heures avec arrivée décalée permettent de compenser la chronophagie de l'activité d'aphérèse et de la réaliser en toute sécurité. En pratique, un infirmier peut gérer simultanément 2 DFPP, mais une seule IA.
En moyenne, 10 séances sont nécessaires pour qu'un infirmier devienne autonome. Pour demeurer fonctionnel en toutes circonstances, nous avons préféré au choix de référents, former l'ensemble des soignants. En 2 ans, la moitié de l'effectif des infirmiers a pu devenir opérationnelle.

5-3 Les autres équipes

Un programme de formation continue, reconnu et homologué, est à disposition des personnels et équipes intéressés pour suivre cette expérience.

6- Conclusion

Intégrer un plateau technique d'aphérèses à un secteur d'HD actualise l'offre de soins et l'adapte aux demandes issues de toutes spécialités médicales confondues.
La mise en place est faisable à moindre coût, sous réserve d'une motivation initiale et constante, d'une préparation soigneuse en amont et de transformations progressives des pratiques.
Le service rendu, suggéré par la littérature, est indéniable comme en témoignent les résultats.
L'activité, certes chronophage, est rentable lorsque la valorisation des actes est respectée.

Conflit d'intérêt : aucun

Références

[1] Schwartz J, Padmanabhan A, Aqui N, Balogun RA, Connelly-Smith L, Delaney M, et al. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice-evidence-based approach from the writting committee of the American Society for Apheresis: The Seventh Special Issue. J Clin Aphe 2016;31:149-62.
[2] Haute Autorité de santé (HAS). Greffe rénale. www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/.../qr_-_greffe_renale.pdf
[3] Haute Autorité de santé (HAS). Transplantation. www.hassante.fr/portail/upload/docs/.../note_cadrage_greffe_renale_mel.pdf
[4] Yu JH, Chung BH, Yang CW; Korean Organ Transplantation Registry Study Group. Impact of ABO incompatible kidney transplantation on living donor transplantation. PLoS One 2017;12:e0173878.
[5] Becker LE, Siebert D, Süsal C, Opelz G, Leo A, Waldherr R, et al. Outcomes following ABO-incompatible kidney transplantation performed after desensitization by nonantigen-specific immunoadsorption. Transplantation 2015;99:2364-71.
[6] Khalili I, Koch M, Thaiss F, Plaetke R, Bruegger J, Peine S. Systematic comparison of IgM and IgG ABO antibody titers by using tube and gel card techniques and its relevance for ABO-incompatible kidney transplantation. Clin Lab 2017;63:1393-401.
[7] Maggioni S, Hermelin M, Faubel E, Allal A, Kamar N, Rostaing L. How to implement immunoadsorption in a polyvalent dialysis unit: a review. J Ren Care 2014;40:164-71.
[8] Gungor O, Sen S, Kircelli F, Yilmaz M, Sarsik B, Ozkahya M, et al. Plasmapheresis therapy in renal transplant patients: five-year experience. Transplant Proc 2011;43:853-7.
[9] Higgins R, Lowe D, Hathaway M, Lam FT, Kashi H, Tan LC, et al. Double filtration plasmapheresis in antibody-incompatible kidney transplantation. Ther Apher Dial 2010;14:392-9.

[10] Rostaing L, Allal A, Del Bello A, Sallusto F, Esposito L, Doumerc N, et al. Treatment of large plasma volumes using specific immunoadsorption to desensitize ABO-incompatiblekidney-transplant candidates. J Nephropathol 2016;5:90-7.
[11] Lefrère F. Échanges plasmatiques thérapeutiques : procédés et indications. Hematologie 2012;18:51-8.
[12] Hafer C, Kielstein JT. Pro: High dose of therapeutic plasma exchange-mind the gap! Nephrol Dial Transplant 2017;32:1457-60.
[13] Léon A, Lepousé C, Thiefin G. Protection gastrique en réanimation. Conférences d'actualisation. Paris: Elsevier et SFAR ; 1998:349-68.
[14] Takahashi K, Saito K, Takahara S, Fuchinoue S, Yagisawa T, Aikawa A, et al.; IDEC-C2B8 ABO-I KTx Study Group. Results of a multicenter prospective clinical study in Japan for evaluating efficacy and safety of desensitization protocol based on rituximab in ABO-incompatible kidney transplantation. Clin Exp Nephrol 2017;21:705-13.
[15] Siami GA, Siami FS, Morrow JD, Stone WJ. Cryofiltration apheresis and plasma fractionation causing anaphylactoid reactions in patients receiving angiotensin converting enzyme inhibitors. Ther Apher 1997;1:325-9.
[16] Lee G, Arpally GM. Anticoagulation techniques in apheresis: from heparin to citrate and beyond. J Clin Apher 2012;27:117-25.
[17] Hebibi H, Weclawiak H, Rostaing L, Beaudreuil S, Allal A, François H, et al. Non-tolerability of double-filtration plasmapheresis in antibody-incompatible kidney transplant candidates. Saudi J Kidney Dis Transpl 2015;26:297-301.
[18] Farah M, Levin A, Kiaii M, Vickars L, Werb R. Combination hemodialysis and centrifugal therapeutic plasma exchange: 18 years of Canadian experience. Hemodial Int. 2013;17:256-65.
[19] Maggioni S, Allal A, Kamar N, Hermelin M, Faubel E, Rostaing L. Immunoadsorption and hemodialysis as a tandem procedure: a single-center experience of more than 60 procedures. Int J Artif Organs 2015;38:304-10.
[20] Weiss N. Semin Dial. A critical review on the use of lipid apheresis and rheopheresis for treatment of peripheral arterial disease and the diabetic foot syndrome. 2012;25:220-7.
[21] Moussi-Frances J, Sallée M, Jourde-Chiche N. Apheresis to treat systemic vasculitis. Joint Bone Spine 2018;85:177-83.
[22] Eskandary F, Wahrmann M, Biesenbach P, Sandurkov C, König F, Schwaiger E, et al. ABO antibody and complement depletion by immunoadsorption combined with membrane filtration--a randomized, controlled, cross-over trial. Nephrol Dial Transplant 2014;29:706-14.
[23] Aubert V, Venetz JP, Pantaleo G, Pascual M. Low levels of human leukocyte antigen donor-specific antibodies detected by solid phase assay before transplantation are frequently clinically irrelevant. Hum Immunol 2009;70:580-3.
[24] Zecher D, Bach C, Staudner C, Böger CA, Bergler T, Banas B, Spriewald BM. Characteristics of donor-specific anti-HLA antibodies and outcome in renal transplant patients treated with a standardized induction regimen. Nephrol Dial Transplant 2017;32:730-7.
[25] Bertrand D, Farce F, Laurent C, Hamelin F, François A, Guerrot D, Etienne I, Hau F. Comparison of two Luminex single-antigen bead flow cytometry assays for detection of donor specific antibodies after renal transplantation. Transplantation 2018;doi:10.1097/TP.0000000000002351.
[26] Lefaucheur C, Loupy A, Hill GS, Andrade J, Nochy D, Antoine C, et al. Preexisting donor-specific HLA antibodies predict outcome in kidney transplantation. J Am Soc Nephrol 2010;21:1398-406.
[27] Ridel C, Kissling S, Mesnard L, Hertig A, Rondeau E. Échanges plasmatiques en néphrologie : techniques et indications. Nephrol Ther 2017;13:43-55.

[28] Julius U, Tselmin S, Fischer S, Passauer J, Bornstein SR. The dresden apheresis center - experience with LDL apheresis and immunoadsorption. Atheroscler Suppl 2009;10:12-6.
[29] Sawada T, Fuchinoue S, Teraoka S. Successful A1-to-O ABO-incompatible kidney transplantation after a preconditioning regimen consisting of anti-CD20 monoclonal antibody infusions, splenectomy, and double-filtration plasmapheresis.Transplantation 2002;74:1207-10.
[30] Kenmochi T, Saigo K, Maruyama M, Akutsu N, Iwashita C, Otsuki K, et al. Results of kidney transplantation from ABO-incompatible living donors in a single institution. Transplant Proc 2008;40:2289-91.
[31] De Sousa-Amorim E, Revuelta I, Blasco M, Diekmann F, Cid J, Lozano M, et al. Desensitization before living donor kidney transplantation in highly HLA-sensitized patients: A Single-Center Study. Transplant Proc 2015;47:2332-5.

Tableau 1
Coût et valorisation des techniques d'aphérèses

Nom	Prix (euros)	Cotation (T2a)	Valorisation par diagnostic principal (DP)
DFPP (2,5h) Kit Filtre + lignes + ligne citrate	647 + 185 + 24 = 856	FEJF001	Si le DP est « Séance de dialyse », le patient aura un GHS de séance de dialyse et deux suppléments d'aphérèses (soit 257 € + 2 fois 1242 €, soit 2741 €) Si le DP est « Séance d'aphérèse », le patient aura un GHS de séance d'aphérèse et un supplément de dialyse (soit 1242 € + 257 €, soit 1499 €)
IA spécifique (8h) Anneau centrifugation Colonne Glycorex (usage unique)	178 + 2535 = 2713		
IA (4 à 5h) Anneau centrifugation Colonnes Globaffin sur Adasord (~18 séances)	145 + 3600 = 3745	FEJF007	
Filtre d'ultrafiltration (optionnel)	702	FEJF009	

GHS : groupe homogène de séjour

Tableau 2
Séquences thérapeutiques

Indications	KT	FAV	Séances initiales	Durée	Séances suivantes	Durée	Nombre moyen de séances
Polyradiculonévrite chronique	7		3 par semaine	3 semaines	1 par semaine	Indéterminée	9 + n
Guillain-Barré	5		5	10 jours			5

Myasthénie	5		3 à 5 par semaine	2 à 4 semaines			6 à 20
Névrite optique	3		5	10 jours			5
Sclérose en plaques	4		5 à 7	14 jours			6
SHU	12		5 par semaine	Semaines 1 et 2	3 puis 2 par semaine	Semaines 3 et 4	15
PTT	11		1 par jour 6 jours sur 7	Jusqu'à réponse			24
Vascularite	9		1 par jour 6 jours sur 7	Semaine 1	1 tous les 2 à 3 jours	Semaine 2	9
Goodpasture	5		1 par jour 6 jours sur 7	2,5 semaines			14
Hyperviscosité (myélome)	2		2	2 jours			2
AOMI	0	4	3 puis 2 par semaine	4 semaines	1 toutes les 2 semaines	2 à 6 mois	10 + n
Hypercholestérolémie	1				1 toutes les 2 semaines	Indéterminée	6 + n
Désimmunisation ABO	3	18	6 ± 2	10 jours			7,5
Désimmunisation HLA	2	15	4 par semaine	2 semaines	2 par semaine	Jusqu'à greffe donneur mort encéphalique	8 + n
Rejet humoral	7	14	6	10 jours			6
HSF	4	3	3 par semaine	3 semaines	1 tous les 10 à 20 jours	Indéterminée	9 + n

KT : cathéter ; FAV : fistule artério-veineuse

Figure 1. Traitement en tandem.
Figure 2. Schéma de montage de DFPP (emprunté avec leur accord à HemaT).
Figure 3. Schéma de montage d'IA.
Figure 4. Nombre de patients traités par dialyse et aphérèse dans l'unité.
Figure 5. Nombre de séances d'aphérèses.