

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Typage HLA
Anticorps anti-HLA (identification et détection,
cross-match)

Jocelyne OTZ (Afssaps)
 Dominique CHARRON (Hôpital Saint-Louis - Paris)
 Chantal GAUTREAU (Hôpital Saint-Louis - Paris)
 Antoine TOUBERT (Hôpital Saint-Louis - Paris)

	03HLA1	03HLA2	03HLA3	03HLA4
Expédition	26 /03/2003	18/06/2003	17/09/2003	05/11/2003
Clôture	28/04/2003	21/07/2003	20/10/2003	08/12/2003
Edition des compte-rendus individuels	29/08/2003	29/08/2003	15/12/2003	18/02/2004
Echantillons - Paramètres contrôlés	- TYP 001 à TYP 009 – typage HLA - 03S1 à 03S12 – recherche et identification d’Ac anti-HLA	- TYP 010 à TYP 015 – typage HLA - BML 001 et BML 002 – typage HLA	- TYP 016 à TYP 024 – typage HLA	- XMH 001 à XMH 003 - cross-match
Nombre de laboratoires concernés*	50	50	51	29
Nombre de laboratoires participants**	48	49	50	29

* Laboratoires ayant déclaré à l’Afssaps pratiquer les analyses concernées par l’envoi

**Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l’opération

Résumé des opérations de l’année 2003

Les opérations « histocompatibilité » comportent plusieurs analyses différentes : les typages HLA (par lymphocytotoxicité ou par biologie moléculaire), l’identification des anticorps anti-HLA et l’épreuve de compatibilité entre des lymphocytes et des sérums (cross-match).

Pour le typage HLA, les échantillons proposés en 2003 sont de deux types : sang frais (échantillons TYP...) ou solutions d’ADN déjà extrait (échantillons BML...). Les laboratoires inscrits pour cette analyse ont reçu, en fonction des techniques qu’ils ont déclaré utiliser : 8 échantillons de sang frais (TYP...) pour typage HLA par lymphocytotoxicité (ou « sérologie ») et/ou par biologie moléculaire et 2 échantillons d’ADN déjà extrait (BML...) pour typage HLA par biologie moléculaire. Les 8 échantillons TYP... (sang) ont été répartis, dans l’année, de la façon suivante : chaque laboratoire a reçu 3 échantillons de la série TYP 001 à TYP 009 lors de l’opération 03HLA1 ; 2 échantillons de la série TYP 010 à TYP 015 lors de l’opération 03HLA2 et 3 échantillons de la série TYP 016 à TYP 024 lors de l’opération 03HLA3. Les 2 échantillons, BML 001 et BML 002, ont été expédiés lors de l’opération 03HLA2.

Certains échantillons des opérations 03HLA1 et 03HLA3 sont issus d’un même donneur afin, d’une part d’accroître le nombre de laboratoires analysant un même échantillon et d’autre part, de permettre une étude de la reproductibilité intra-laboratoire quand ils sont adressés deux fois au même laboratoire. C’est la première fois que la reproductibilité intra-laboratoire est étudiée dans les opérations « histocompatibilité » du Contrôle national de qualité.

En fonction de leur pratique habituelle, les laboratoires réalisent les typages HLA-A, -B et -DR par lymphocytotoxicité et/ou HLA-A, -B, -C, -DRB, -DQA, -DQB et -DPB par biologie moléculaire.

Les résultats des typages HLA réalisés par les laboratoires lors des opérations « histocompatibilité » en 2003 sont satisfaisants.

Pour le dépistage et l’identification des anticorps anti-HLA, chaque laboratoire inscrit pour cette analyse a reçu 12 sérums lors de l’opération 03HLA1 ; les laboratoires inscrits pour les cross-matches ont reçu lors de l’opération 03HLA4, 3 échantillons (XMH 001, XMH 002 et XMH 003) pour épreuve de compatibilité entre les lymphocytes et les 12 sérums de l’opération 03HLA1 (cross-matches).

Les résultats des identifications des anticorps anti-HLA des opérations « histocompatibilité » en 2003 sont satisfaisants pour les sérums monospécifiques et sont d’interprétation plus difficiles pour les sérums polyspécifiques. En revanche, les résultats des cross-matches sont plus homogènes.

Méthode statistique et expression des résultats

Pour un échantillon donné, le consensus 75% correspond à la réponse (phénotype HLA, classe et isotype d'anticorps anti-HLA, spécificités d'anticorps anti-HLA) exprimée par au moins 75% des laboratoires.

Typage HLA

TYP 001 à TYP 024 ; BML 001 ; BML 002

Définition des échantillons

Les échantillons TYP... sont des échantillons de sang, les échantillons BML... sont des échantillons d'ADN déjà extrait. L'envoi d'échantillons d'ADN est une nouveauté de l'année 2003 ; en effet jusqu'alors, le panel des échantillons « typage HLA » était composé uniquement d'échantillons de sang.

Bien que certains échantillons soient issus d'un même donneur, chaque échantillon a été typé au meilleur niveau de résolution possible en biologie moléculaire incluant notamment le séquençage pour le locus HLA-C (tableau I)

tableau I - définition des échantillons « typage HLA »

Echantillon (opération)	HLA-		
BML001 (03HLA2)	A*	0201	2601
	B*	1302	4701
	C*	0602	-
	DRB1*	0405	1401
	DRB3*	0202ou0217	-
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*	0104	0303
	DQB1*	0302	0503
	DPB1*	0401	1301
BML002 (03HLA2)	A*	0101	0301
	B*	3801	5501
	C*	0303	1203
	DRB1*	1301	1401
	DRB3*	0101ou0110	0202ou0217
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0103	0104
	DQB1*	0503	0603
	DPB1*	0201	0401
TYP001 (03HLA1) et TYP016 (03HLA3)	A*	2301	2501
	B*	1801	4501
	C*	0602	1203
	DRB1*	0401	0701
	DRB3*		
	DRB4*	0101	0103
	DRB5*		
	DQA1*	0201	0301
	DQB1*	0202	0302
	DPB1*	0402ou6001	1701

tableau I (suite) - définition des échantillons « typage HLA »

Echantillon (opération)	HLA-		
TYP002 (03HLA1) et TYP023 (03HLA3)	A*	0201	0301
	B*	0702	4001
	C*	0304	0702
	DRB1*	0401	1501
	DRB3*		
	DRB4*	0103	-
	DRB5*	0101	-
	DQA1*	0102	0303
	DQB1*	0301	0602
	DPB1*	0401	-
TYP003 (03HLA1) et TYP024 (03HLA3)	A*	0201	2902
	B*	4403	5101
	C*	1402	1601
	DRB1*	0701	0801
	DRB3*		
	DRB4*	0101	-
	DRB5*		
	DQA1*	0201	0401
	DQB1*	0202	0402
	DPB1*	0201	11011
TYP004 (03HLA1) et TYP017 (03HLA3)	A*	0201	2902
	B*	1801	3501
	C*	0401	1203
	DRB1*	0101	1101
	DRB3*	0202 ou 0217	-
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0501
	DQB1*	0301	0501
	DPB1*	0401	-
TYP005 (03HLA1) et TYP018 (03HLA3)	A*	0101	0201
	B*	0801	4402
	C*	0501	0701
	DRB1*	0401	1301
	DRB3*	0101	-
	DRB4*	0103	-
	DRB5*		
	DQA1*	0301	0103
	DQB1*	0301	0603
	DPB1*	0201	0401
TYP006 (03HLA1)	A*	0205	24021
	B*	0801	5101
	C*	0701	1402
	DRB1*	0301	1103
	DRB3*	0101	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0501	-
	DQB1*	0201	0301 ou 0313
	DPB1*	0401	0402

tableau I (suite) - définition des échantillons « typage HLA » (résultats attendus)

Echantillon (opération)	HLA-		
TYP007 (03HLA1) et TYP020 (03HLA3)	A*	0201	2402
	B*	3801	4402
	C*	0501	1203
	DRB1*	1301	-
	DRB3*	0101	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0103	-
	DQB1*	0603	-
	DPB1*	0201ou3201	1001
TYP008 (03HLA1) et TYP021 (03HLA3)	A*	0201	0205
	B*	0801	5001
	C*	0602	0701
	DRB1*	0301	1303
	DRB3*	0101	-
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0501	0505
	DQB1*	0201	0301ou0313
	DPB1*	0401	-
TYP009 (03HLA1) et TYP022 (03HLA3)	A*	1101	3002
	B*	0706	5301
	C*	0401	0702
	DRB1*	0102	1503
	DRB3*		
	DRB4*		
	DRB5*	0101	-
	DQA1*	0101	0102
	DQB1*	0501	0602
	DPB1*	0101	-
TYP010 (03HLA2)	A*	0301	2301
	B*	0702	1302
	C*	0602	0702
	DRB1*	1501	0701
	DRB3*		
	DRB4*	0103	-
	DRB5*	0101	-
	DQA1*	0102	0201
	DQB1*	0202	0602
	DPB1*	0401	0601
TYP011 (03HLA2)	A*	0101	1101
	B*	5201	3701
	C*	1202	0602
	DRB1*	0401	1502
	DRB3*		
	DRB4*	0103	-
	DRB5*	0102	-
	DQA1*	0103	0301
	DQB1*	0302	0601
	DPB1*	0401	1001

tableau I (suite) - définition des échantillons « typage HLA » (résultats attendus)

Echantillon (opération)	HLA-		
TYP012 (03HLA2)	A*	0201	2501
	B*	1801	5501
	C*	0303	1203
	DRB1*	1601	1301
	DRB3*	0202ou0217	
	DRB4*		
	DRB5*	0202	
	DQA1*	0102	0103
	DQB1*	0502	0603
	DPB1*	0401	0402
TYP013 (03HLA2)	A*	0201	2601
	B*	0702	4402
	C*	0501	0702
	DRB1*	1201	1501
	DRB3*	0202ou0217	
	DRB4*		
	DRB5*	0101	
	DQA1*	0102	0505
	DQB1*	0301ou0313	0602
	DPB1*	0401	0402
TYP014 (03HLA2)	A*	0201	2402
	B*	1401	1801
	C*	0701	0802
	DRB1*	1401	1501
	DRB3*	0202ou0217	
	DRB4*		
	DRB5*	0101	
	DQA1*	0104	0102
	DQB1*	0503	0602
	DPB1*	0201	0301ou7801
TYP015 (03HLA2)	A*	0301	6801
	B*	3501	4402
	C*	0401	0501
	DRB1*	0101	03011
	DRB3*	0101ou 0110	
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0501
	DQB1*	0201	0501
	DPB1*	0401	0402
TYP019 (03HLA3)	A*	2301	2601
	B*	1401	5703
	C*	0701	0802
	DRB1*	0101	0701
	DRB3*		
	DRB4*	0101	-
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0201
	DQB1*	0202	05011
	DPB1*	0201	0401

Résultats des participants

Certains échantillons des opérations 03HLA1 et 03HLA3 sont issus des mêmes donneurs (tableau II) afin, d'une part, d'accroître le nombre de laboratoires analysant un même échantillon et d'autre part, de permettre une évaluation de la reproductibilité intra-laboratoire. Ainsi, pour évaluer la reproductibilité intra-laboratoire, les laboratoires qui ont reçu les échantillons TYP001 et TYP009 lors de l'opération 03HLA1 ont reçu, respectivement, les échantillons TYP016 et TYP022 lors de l'opération 03HLA3. Il s'agit de la première étude de la reproductibilité intra-laboratoire pour les opérations « histocompatibilité » du Contrôle national de qualité.

tableau II - nombre de laboratoires par échantillon « typage HLA » 2003

Echantillons	Opération			TOTAL
	03HLA1	03HLA2	03HLA3	
BML001		44		44
BML002		44		44
TYP001 ; TYP016 (*)	15		16	31
TYP002 ; TYP023	15		16	31
TYP003 ; TYP024	15		15	30
TYP004 ; TYP017	15		16	31
TYP005 ; TYP018	15		16	31
TYP006	15			15
TYP007 ; TYP020	16		17	33
TYP008 ; TYP021	16		16	32
TYP009 ; TYP022 (*)	17		16	33
TYP010		15		15
TYP011		15		15
TYP012		16		16
TYP013		16		16
TYP014		16		16
TYP015		16		16
TYP019			17	17

(*) ces échantillons ont été adressés aux mêmes laboratoires lors de l'opération 03HLA3

Les résultats obtenus par les laboratoires, résumés par les consensus 75% (tableaux III et IV), sont conformes aux résultats attendus.

Il y a, comme en 2001, correspondance parfaite entre les typages « sérologiques » (tableau III) et les typages par biologie moléculaire au niveau générique (tableau IV).

tableau III - consensus 75% typage HLA par lymphocytotoxicité

Echantillon (opération)	HLA-		
TYP001 (03HLA1) et TYP016 (03HLA3)	A	23	25
	B	18	45
	DR	4	7
TYP002 (03HLA1) et TYP023 (03HLA3)	A	2	3
	B	60	7
	DR	15	4
TYP003 (03HLA1) et TYP024 (03HLA3)	A	2	29
	B	44	51
	DR	7	8
TYP004 (03HLA1) et TYP017 (03HLA3)	A	2	29
	B	18	35
	DR	1	11
TYP005 (03HLA1) et TYP018 (03HLA3)	A	1	2
	B	44	8
	DR	13	4
TYP006 (03HLA1)	A	2	24
	B	51	8
	DR	11	3
TYP007 (03HLA1) et TYP020 (03HLA3)	A	2	24
	B	38	44
	DR	-	13
TYP008 (03HLA1) et TYP021 (03HLA3)	A	-	2
	B	50	8
	DR	13	3
TYP009 (03HLA1) et TYP022 (03HLA3)	A	11	30
	B	53	7
	DR	1	15
TYP010 (03HLA2)	A	23	3
	B	13	7
	DR	15	7
TYP011 (03HLA1)	A	1	11
	B	37	52
	DR	15	4
TYP012 (03HLA2)	A	2	25
	B	18	55
	DR	13	2
TYP013 (03HLA2)	A	2	26
	B	44	7
	DR	12	2
TYP014 (03HLA2)	A	2	24
	B	14	18
	DR	14	15
TYP015 (03HLA1)	A	28	3
	B	35	44
	DR	1	3
TYP019 (03HLA3)	A	23	26
	B	14	57
	DR	1	7

Les taux élevés de consensus alléliques pour les locus HLA de classe II par rapport aux locus HLA de classe I s'expliquent par leur pratique plus ancienne que pour les typages HLA de classe I (tableau IV).

tableau IV - consensus 75% typage HLA par biologie moléculaire

Echantillon (opération)	Consensus 75% tous typages confondus (consensus 75% typages définition allélique) (1) HLA-		
BML001 (03HLA2)	A*	02 (0201)	26 (2601)
	B*	13	47 (4701)
	C*	-	06 (0602)
	DRB1*	04 (0405)	14 (1401)
	DRB3*	-	02 (0202)
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*	0104	0303
	DQB1*	03 (0302)	0503
	DPB1*	0401	1301
BML002 (03HLA2)	A*	01 (0101)	03 (0301)
	B*	38	55 (5501)
	C*	03 (0303)	12 (1203)
	DRB1*	13	14
	DRB3*	01	02
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0103	0104
	DQB1*	0503	06 (0603)
	DPB1*	0201	0401
TYP001 (03HLA1) et TYP016 (03HLA3)	A*	23 (2301)	25 (2501)
	B*	18 (1801)	45 (4501)
	C*	06 (0602)	12
	DRB1*	0401	0701
	DRB3*		
	DRB4*	-	01
	DRB5*		
	DQA1*	0201	0301
	DQB1*	0202	0302
	DPB1*	0402	1701
TYP002 (03HLA1) et TYP023 (03HLA3)	A*	02 (0201)	03 (0301)
	B*	07	40 (4001)
	C*	03 (0304)	07 (0702)
	DRB1*	04 (0401)	15 (1501)
	DRB3*		
	DRB4*	-	0103
	DRB5*	-	0101
	DQA1*	0102	0303
	DQB1*	03 (0301)	0602
	DPB1*	-	0401

(1) : les consensus 75% des typages de définition allélique sont indiqués entre parenthèses quand ils ont été atteints
NC : non consensus

tableau IV (suite) - consensus 75% typage HLA par biologie moléculaire

Echantillon (opération)	Consensus 75% tous typages confondus (consensus 75% typages définition allélique) (1) HLA-		
TYP003 (03HLA1) et TYP024 (03HLA3)	A*	02 (0201)	29 (2902)
	B*	44 (4403)	51
	C*	14 (1402)	16 (1601)
	DRB1*	07 (0701)	08 (0801)
	DRB3*		
	DRB4*	-	0101
	DRB5*		
	DQA1*	0201	0401
	DQB1*	02 (0202)	0402
	DPB1*	0201	1101
TYP004 (03HLA1) et TYP017 (03HLA3)	A*	02 (0201)	29
	B*	18 (1801)	35
	C*	04 (0401)	12
	DRB1*	01 (0101)	11 (1101)
	DRB3*	-	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	01 (0101)	05
	DQB1*	03	05 (0501)
	DPB1*	-	0401
TYP005 (03HLA1) et TYP018 (03HLA3)	A*	01 (0101)	02 (0201)
	B*	08 (0801)	44 (4402)
	C*	05	07
	DRB1*	04 (0401)	13 (1301)
	DRB3*	-	0101
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*	0103	03 (0301)
	DQB1*	03 (0301)	0603
	DPB1*	0201	0401
TYP006 (03HLA1)	A*	02 (0205)	24 (2402)
	B*	08 (0801)	51
	C*	07 (0701)	14
	DRB1*	03	11
	DRB3*	0101	02 (0202)
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	05 (0501)	05
	DQB1*	02 (0201)	03 (0301)
	DPB1*	NC	NC
TYP007 (03HLA1) et TYP020 (03HLA3)	A*	02 (0201)	24 (2402)
	B*	38 (3801)	44 (4402)
	C*	05	12
	DRB1*	-	13 (1301)
	DRB3*	01	02
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	-	0103
	DQB1*	-	06
	DPB1*	NC (0201)	1001

(1) : les consensus 75% des typages de définition allélique sont indiqués entre parenthèses quand ils ont été atteints
NC : non consensus

tableau IV (suite) - consensus 75% typage HLA par biologie moléculaire

Echantillon (opération)	Consensus 75% tous typages confondus (consensus 75% typages définition allélique)		
	(1) HLA-		
TYP008 (03HLA1) et TYP021 (03HLA3)	A*	02	02
	B*	08 (0801)	50 (5001)
	C*	06 (0602)	07 (0701)
	DRB1*	03 (0301)	13
	DRB3*	01	NC
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0501	0505
	DQB1*	02 (0201)	03 (0301)
	DPB1*	-	0401
	TYP009 (03HLA1) et TYP022 (03HLA3)	A*	11 (1101)
B*		07 (0706)	53
C*		04 (0401)	07 (0702)
DRB1*		01 (0102)	15 (1503)
DRB3*			
DRB4*			
DRB5*		-	0101
DQA1*		0101	0102
DQB1*		0501	06 (0602)
DPB1*		0101	NC (0101)
TYP010 (03HLA2)		A*	0301
	B*	0702	1302
	C*	06	07 (0702)
	DRB1*	07 (0701)	15 (1501)
	DRB3*		
	DRB4*	-	0103
	DRB5*	-	0101
	DQA1*	0102	0201
	DQB1*	02	06
	DPB1*	NC (0401)	NC
	TYP011 (03HLA1)	A*	0101
B*		37 (3701)	52 (5201)
C*		04 (06)	15 (1202)
DRB1*		04 (0401)	15 (1502)
DRB3*			
DRB4*		-	0103
DRB5*		-	0102
DQA1*		0103	0301
DQB1*		03 (0302)	06 (0601)
DPB1*		NC	NC
TYP012 (03HLA2)		A*	02 (0201)
	B*	18	55 (5501)
	C*	03	12
	DRB1*	13 (1301)	16 (1601)
	DRB3*	-	02 (0202)
	DRB4*		
	DRB5*	-	0202
	DQA1*	0102	0103
	DQB1*	05 (0502)	06 (0603)
	DPB1*	0401	0402

(1) : les consensus 75% des typages de définition allélique sont indiqués entre parenthèses quand ils ont été atteints
NC : non consensus

tableau IV (suite) - consensus 75% typage HLA par biologie moléculaire

Echantillon (opération)	Consensus 75% tous typages confondus (consensus 75% typages définition allélique)		
	(1) HLA-		
TYP013 (03HLA2)	A*	02 (0201)	26 (2601)
	B*	07 (0702)	44 (4402)
	C*	05	07 (0702)
	DRB1*	12	15 (1501)
	DRB3*	-	02 (0202)
	DRB4*		
	DRB5*	-	0101
	DQA1*	0102	05
	DQB1*	03 (0301)	06 (0602)
	DPB1*	0401	0402
	TYP014 (03HLA2)	A*	02 (0201)
B*		1401	18
C*		07 (0701)	08 (0802)
DRB1*		14 (1401)	15 (1501)
DRB3*		-	02 (0202)
DRB4*			
DRB5*		-	0101
DQA1*		0102	0104
DQB1*		05 (0503)	06 (0602)
DPB1*		NC	NC
TYP015 (03HLA1)		A*	03 (0301)
	B*	35	44
	C*	04 (0401)	05 (0501)
	DRB1*	01 (0101)	03
	DRB3*	-	01
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0501
	DQB1*	02 (0201)	05 (0501)
	DPB1*	NC	NC
	TYP019 (03HLA3)	A*	23
B*		1401	57
C*		07 (0701)	08 (0802)
DRB1*		01	07
DRB3*			
DRB4*		-	01 (0101)
DRB5*			
DQA1*		01	0201
DQB1*		02 (0202)	05 (0501)
DPB1*		0201	0401

(1) : les consensus 75% des typages de définition allélique sont indiqués entre parenthèses quand ils ont été atteints
 NC : non consensus

Commentaires

Les discordances par rapport au consensus 75% sont les manques (antigènes ou allèles non détectés), les erreurs (antigènes ou allèles différents) et les défauts de subdivision de spécificités larges.

En 2003, parmi les 326 typages HLA par « sérologie » réalisés dans le cadre du Contrôle national de qualité 29, (soit 9%) étaient discordants par rapport au consensus 75% ; les discordances antigène par antigène sont détaillées dans le tableau V. Ce « taux de discordance » est en amélioration par rapport à l'année 2001 où 49 discordances avaient été relevées pour un nombre équivalent de typages par « sérologie ».

tableau V - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par « sérologie »

HLA-	Nombre de discordances	Taux de discordance (*)
A	5	2% (5/326)
B	20	6% (20/326)
DR	4	3% (4/146)

(*) : nombre de discordances observées / nombre de typages réalisés

Pour les typages par biologie moléculaire, ce sont les discordances par rapport au consensus 75% tous niveaux de définition confondus (allélique et générique) qui sont retenues (tableau VI).

tableau VI - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par biologie moléculaire

HLA-	Nombre de discordances	Taux de discordance (*)
A	4	1% (4/349)
B	4	1% (4/347)
C	1	0% (1/279)
DRB1	2	0% (2/426)
DQB1	11	3% (11/413)

(*) : nombre de discordances observées / nombre de typages réalisés

La reproductibilité intra-laboratoire (tableau II) a pu être réalisée pour 31 laboratoires (« sérologie » et/ou biologie moléculaire) ; les typages HLA trouvés par les laboratoires qui ont reçu successivement, lors de l'opération 03HLA1 puis lors de l'opération 03HLA3, un échantillon provenant d'un même donneur sont présentés dans les tableaux VII et VIII.

tableau VII - reproductibilité intra-laboratoire typage HLA par « sérologie »

HLA-	TYP001 (03HLA1) (*)	TYP016 (03HLA3) (*)	Nombre de laboratoires
A	23/25	°	1
	23/25	23/25	11
B	18/45	°	1
	18/45	18/45	11
DR	4/7	4/7	5
	TYP009 (03HLA1)	TYP022 (03HLA3)	
A	°	11/30	1
	11/30	11/30	13
B	-/7	53/7	1
	-/7	7/X	1
	°	53/7	1
	53/7	53/7	11
DR	°	1/2	1
	1/15	1/15	4

(*) : ° : non réalisé

tableau VIII - reproductibilité intra-laboratoire typage HLA par biologie moléculaire

HLA-	TYP001 (03HLA1) (*)	TYP016 (03HLA3) (*)	Nombre de laboratoires
A*	23/25	09/25	1
	23/25	23/25	2
	2301/2501	2301/2501	8
B*	18/45	12/18	1
	18/45	18/45	2
	1801/4501	1801/4501	8
C*	06/12	06/12	3
	0602/12	0602/1202	1
	0602/1202	0602/1202	1
	0602/1202	0602/1203	2
	0602/1203	0602/1203	3
DRB1*	0401/0701	0401/0701	11
DRB3*	°	°	13
DRB4*	-/0101	-/0101	1
	-/0101	0101/0103	3
	0101/0103	0101/0103	5
	0101/0401	-/0101	1
DRB5*	°	°	13
DQA1*	0201/0301	°	1
	0201/0301	0201/0301	2
DQB1*	0201/0302	0201/0302	1
	0202/0302	0202/0302	10
DPB1*	0402/1701	0402/1701	9
	TYP004 (03HLA1) (*)	TYP017 (03HLA3) (*)	
A*	02/29	02/29	1
B*	18/35	18/35	1
C*	°	°	1
DRB1*	01/11	01/11	1
DRB3*	°	°	1
DRB4*	°	°	1
DRB5*	°	°	1
DQA1*	°	°	1
DQB1*	03/05	03/0501	1
DPB1*	°	°	1
	TYP005 (03HLA1) (*)	TYP018 (03HLA3) (*)	
A*	01/02	01/02	1
B*	08/44	08/44	1
C*	°	°	1
DRB1*	04/13	04/13	1
DRB3*	°	°	1
DRB4*	°	°	1
DRB5*	°	°	1
DQA1*	°	°	1
DQB1*	03/06	03/0603	1
DPB1*	°	°	1

(*) : ° : non réalisé ou pas de spécificité détectée

tableau VIII - reproductibilité intra-laboratoire typage HLA par biologie moléculaire (suite)

HLA-	TYP009 (03HLA1) (*)	TYP022 (03HLA3) (*)	Nombre de laboratoires
A*	11/30	11/30	2
	1101/3001	1101/30	1
	1101/3002	°	1
	1101/3002	11/30	1
	1101/3002	1101/3002	5
B*	07/53	07/53	2
	0702/5301	0702/53	1
	0705/5301	0706/5301	1
	0706/5301	°	1
	0706/5301	0706/53	1
	0706/5301	0706/5301	3
	0706/5302	0706/5301	1
C*	04/07	04/07	1
	04/07	0401/0702	2
	0401/0702	°	1
	0401/0702	04/07	1
	0401/0702	0401/0702	4
DRB1*	01/15	01/15	4
	0102/1503	°	1
	0102/1503	01/15	2
	0102/1503	0102/1503	6
DRB3*	°	°	14
DRB4*	°	°	14
DRB5*	-/0101	-/0101	5
	-/0101	-/X	1
	-/0101	°	2
	°	-/0101	2
DQA1*	0101/0102	°	1
	0101/0102	0101/0102	4
DQB1*	05/06	05/06	2
	05/0602	05/06	1
	0501/0602	°	1
	0501/0602	05/06	1
	0501/0602	0501/0602	8
DPB1*	-/0101	-/0101	4
	-/0101	°	2
	°	-/0101	1
	0101/0101	0101/0101	1

(*) : ° : non réalisé ou pas de spécificité détectée

Conclusion

Les résultats des typages HLA réalisés par les laboratoires lors des opérations « histocompatibilité » en 2003 sont satisfaisants. Il y a concordance parfaite entre les consensus 75% des typages réalisés par lymphocytotoxicité et ceux des typages par biologie moléculaire au niveau générique.

Recherche et identification d'anticorps anti-HLA

03S1 à 03S12

Définition des échantillons

Les caractéristiques des échantillons (sérums) pour recherche et identification des anticorps anti-HLA de l'opération 03HLA1 (tableau IX) recouvrent la majorité des cas observés ; les anticorps anti-HLA présents sont des IgG et/ou des IgM.

tableau IX - définition des échantillons « recherche et identification des anticorps anti-HLA »

Echantillon	définition
03S1	Présence d'anticorps anti-HLA – classe I et classe II
03S2	Absence d'anticorps anti-HLA
03S3	Présence d'anticorps anti-HLA – classe I et classe II
03S4	Présence d'anticorps anti-HLA – classe II (présence d'IgM anti-classe I)
03S5	Présence d'anticorps anti-HLA – classe I
03S6	Présence d'anticorps anti-HLA – classe I et classe II
03S7	Présence d'anticorps anti-HLA – classe I
03S8	Présence d'anticorps anti-HLA – classe II
03S9	Présence d'anticorps anti-HLA – classe I
03S10	Présence d'anticorps anti-HLA – classe I et classe II
03S11	Absence d'anticorps anti-HLA
03S12	Présence d'anticorps anti-HLA – classe II (présence d'IgM anti-classe I)

Résultats des participants

Pour la première fois depuis que les opérations « anticorps anti-HLA » sont organisées, les laboratoires avaient la possibilité d'indiquer les résultats de leur recherche d'anticorps anti-HLA (dépistage) qu'ils effectuent avant de procéder à l'identification proprement dite. Les résultats de ces dépistages (tableau X) sont globalement homogènes (81 à 100% de réponses identiques) et conformes à la définition des échantillons. Les échantillons 03S4 et 03S12 possèdent des IgM qui sont détectées par la technique de lymphocytotoxicité et non par la technique ELISA.

tableau X - dépistage des anticorps anti-HLA

Echantillon	Classe I			Classe II		
	positif	négatif	nombre de dépistages	positif	négatif	nombre de dépistages
03S1	33 (100%)	0 (0%)	33	26 (84%)	5 (16 %)	31
03S2	1 (3%)	31 (97%)	32	0 (0%)	31 (100%)	31
03S3	32 (100%)	0 (0%)	32	29 (94%)	2 (6%)	31
03S4	19 (61%)	12 (39%)	31	26 (84%)	5 (16%)	31
03S5	32 (100%)	0 (0%)	32	1 (3 %)	30 (97%)	31
03S6	32 (100%)	0 (0%)	32	25 (83%)	5 (17%)	30
03S7	32 (100%)	0 (0%)	32	0 (0%)	31 (100%)	31
03S8	3 (9%)	29 (91%)	32	25 (81%)	6 (19%)	31
03S9	32 (100%)	0 (0%)	32	0 (0%)	31 (100%)	31
03S10	31 (97%)	1 (3%)	32	27 (87%)	4 (13%)	31
03S11	1 (3%)	31 (97%)	32	0 (0%)	31 (100%)	31
03S12	11 (34%)	21 (66%)	32	26 (84%)	5 (16%)	31

Les techniques les plus fréquemment citées par les laboratoires pour le dépistage et/ou l'identification des anticorps anti-HLA sont la lymphocytotoxicité et l'ELISA (tableau XI).

tableau XI - techniques utilisées pour l'identification et/ou le dépistage des anticorps anti-HLA

Technique	Nombre de laboratoires
lymphocytotoxicité	23
ELISA	22
cytofluorométrie	5
lymphocytotoxicité sensibilisée à l'antiglobuline	3

Pour identifier les anticorps anti-HLA, les laboratoires utilisent plusieurs types de panels en fonction de la technique utilisée. Pour la lymphocytotoxicité, il s'agit de panels de cellules vivantes alors que pour les techniques ELISA ou fluorométriques, il s'agit de panels d'antigènes HLA fixés sur un support solide, respectivement des microplaques et des billes. Les panels de cellules vivantes pour la lymphocytotoxicité sont généralement composés d'un panel de lymphocytes T, le plus souvent panel de lymphocytes totaux du sang périphérique et d'un panel de lymphocytes B isolés ou lignées EBV. Le panel de lymphocytes T (panel LyT) permet la détection des anticorps anti-HLA de classe I, le panel de lymphocytes B (panel LyB) permet la détection des anticorps anti-HLA de classe I et de classe II ; ce même panel de lymphocytes B (panel LyB – absorbé) utilisé avec un sérum préalablement absorbé sur un pool de plaquettes afin d'éliminer les anticorps anti-HLA de classe I, permet la détection des anticorps anti-HLA de classe II restant. Parmi les 25 laboratoires qui ont détaillé leur technique de lymphocytotoxicité (tableau XII), 19 composent eux-mêmes leur panels et 6 utilisent des plaques de cellules du commerce.

tableau XII - lymphocytotoxicité : nombre de cellules par panel d'identification

	panel LyT	panel LyB	panel LyB - absorbé
nombre de laboratoires	22	17	13
nombre de cellules par panel : min - max	28 - 80	15 - 60	25 - 60

Les spécificités anti-HLA identifiées ou l'absence d'anticorps anti-HLA reconnue par les laboratoires sont résumées par les consensus 75% (tableau XIII).

tableau XIII - identification d'anticorps anti-HLA – consensus 75%

échantillon	Classe et/ou isotype Ig			Spécificités			
	I	G					
03S1	I	G		non consensus			
	II	G		non consensus			
03S2	absence d'anticorps anti-HLA (« négatif »)						
03S3	I	G		non consensus			
	II	G		non consensus			
03S4	I		M	A30	A31		
	II	G		DR7			
03S5	I	G		A2			
03S6	I	G		B22	B7		
	II	G		non consensus			
03S7	I	G		B35	B5		
03S8							
03S9	II	G		DR1			
	I	G		B8			
03S10	I	G		B21			
	II	G		DR7			
03S11	absence d'anticorps anti-HLA (« négatif »)						
03S12	I		M	A30	A31		
	II	G		DR7			

Commentaires

Pour 8 des 10 échantillons (sérums) contenant des anticorps anti-HLA, des spécificités anti-HLA ont été identifiées. Pour les 2 autres sérums, 03S1 et 03S3, aucune spécificité anti-HLA n'a été identifiée de façon « consensuelle » ; ces sérums correspondent à des sérums polyspécifiques ou à des taux faibles d'anticorps anti-HLA.

On rappelle que dans le cadre des opérations « histocompatibilité », le consensus a été fixé à 75% des réponses identiques ou équivalentes. Pour les spécificités faisant l'objet de subdivisions sérologiques, telle que A9 (A23, A24), la réponse « A23+A24 » est équivalente à « A9 ». En revanche, les réponses « A23 » (seul) ou « A24 » (seul) sont différentes l'une de l'autre et différentes de la réponse « A9 ».

Conclusion

Les résultats des dépistages des anticorps anti-HLA sont homogènes. En revanche pour ce qui concerne l'identification, on a observé un manque d'homogénéité des résultats des laboratoires, en particulier, pour certains sérums polyspécifiques. Une analyse de l'identification des anticorps technique par technique devrait permettre d'améliorer le taux de réponses « consensuelles » et une comparaison de ces techniques de sensibilités différentes.

Cross-matches HLA

XMH001, XMH002, XMH003 vis à vis de 03S1 à 03S12 (cf. chapitre précédent)

Définition des échantillons

Les échantillons XMH001, XMH002 et XMH003 correspondant aux donneurs d'organes, les typages HLA (tableau XIV) ont été communiqués aux laboratoires lors de l'opération 03HLA4.

tableau XIV - définition des échantillons : typage HLA

échantillon	Typage											
	HLA-A		HLA-B		HLA-C		HLA-DR		HLA-DRw		HLA-DQ	
XMH001	03	24	35	55	03	04	04	07	53	53	02	03
XMH002	03	68	35	44	04	05	01	17	52	-	02	05
XMH003	02	68	15	53	04	-	7	11	52	53	02	03

Résultats des participants

Les cross-matches sont réalisés contre des lymphocytes T et B avec et sans réducteur (DTT, par exemple) pour détecter les IgM. Les résultats des cross-matches sont rendus négatif (N) ou positif (P) contre les lymphocytes T (T) et/ou B (B) avec des IgG (G) et/ou IgM (M). Après les cross-matches, les laboratoires avaient la possibilité de donner leur réponse au clinicien (greffe interdite, possible ou à discuter).

Les résultats des cross-matches des laboratoires, résumés par le consensus 75%, sont présentés dans le tableau XV. Dans ce tableau, ne sont présentés que les consensus 75% des cross-matches réalisés par lymphocytotoxicité. En effet, les deux autres techniques, la lymphocytotoxicité sensibilisée à l'antiglobuline et la cytofluorométrie, ont très peu d'utilisateurs, respectivement, 9 et 4 utilisateurs.

tableau XV - Cross-match – consensus 75% (lymphocytotoxicité)

<div style="display: inline-block; transform: rotate(-45deg); font-size: small;">sang</div> <div style="display: inline-block; transform: rotate(-45deg); font-size: small;">Echantillons</div> <div style="display: inline-block; transform: rotate(-45deg); font-size: small;">sérum</div>	XMH001	XMH002	XMH003
03S1	non consensus	PTBG	PBG
03S2	N	N	N
03S3	P	N	P
03S4	N	N	N
03S5	N	N	PTBG
03S6	PTBG	N	non consensus
03S7	PTBG	PTBG	PTG
03S8	non consensus	P	non consensus
03S9	N	N	N
03S10	P	PBG	non consensus
03S11	N	N	N
03S12	N	N	N

Commentaires

Les résultats des laboratoires pour les cross-matches sont globalement homogènes : pour 90% (31/36) des cross-matches de cette opération, le consensus 75% a été atteint. En revanche, la réponse au clinicien est moins homogène. Le consensus 75% a été atteint pour 64% des cross-matches. En effet, ce conseil à la greffe tient compte à la fois, des résultats du cross-match, des anticorps anti-HLA identifiés, des typages HLA du donneur et du receveur et des données cliniques. Or tous ces éléments ne sont pas disponibles dans les documents de l'opération. Globalement, un cross-match IgG positif sur lymphocyte T « interdit » la greffe et un cross-match négatif « autorise » la greffe. Il faut souligner que la « réponse au clinicien » représente l'avis du biologiste, la décision de greffe revenant au clinicien.

Bibliographie

- 1 Marsh S ; Nomenclature for factors of the HLA system, update August 2003. Hum Immunol 2003 ; 64 : 1197.
- 2 Web site : <http://www.anthonynolan.com/HIG>