

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Histocompatibilité	11HLA1 – 11HLA2 11HLA3 – 11HLA4	2011
---------------------------	--	-------------

Typage HLA

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

Février 2013

Jocelyne OTZ (ANSM) ¹

Dominique CHARRON (Hôpital Saint-Louis - Paris)

Chantal GAUTREAU (Hôpital Saint-Louis - Paris)

Pascale LOISEAU (Hôpital Saint-Louis - Paris)

¹ : L'ANSM se substitue à l'Afssaps depuis le 1er mai 2012

	11HLA1	11HLA2	11HLA3	11HLA4
Expédition	30/03/2011	22/06/2011	21/09/2011	30/11/2011
Clôture	26/04/2011	18/07/2011	17/10/2011	26/12/2011
Edition des comptes-rendus individuels	27/06/2011	28/09/2011	19/12/2011	12/03/2012
Echantillons - paramètres contrôlés	- TYP185 à TYP190 – typage HLA	- TYP191 à TYP194 – typage HLA - BML017 et BML018 – typage HLA	- TYP195 à TYP200 – typage HLA	- XMH020 à XMH021 – cross-match - 11S1 à 11S10 détection et identification d'Ac anti-HLA - PHE005 et PHE006 – phénotypage
Nombre de laboratoires concernés*	44	41	41	38
Nombre de laboratoires participants**	42	40	41	37

* Laboratoires ayant déclaré à l'ANSM 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 2011

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

En fonction de leur pratique habituelle, les laboratoires réalisent les typages HLA-A, -B, -DR et -DQ par lymphocytotoxicité et/ou HLA-A, -B, -C, -DRB, -DQA1, -DQB1 et -DPB1 par biologie moléculaire. Les laboratoires inscrits pour cette analyse ont reçu, en 2011, 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, 2 autres échantillons de sang (PHE...) pour typage uniquement par « sérologie » et 2 échantillons d'ADN déjà extrait (BML...) pour typage HLA par biologie moléculaire. Les 10 échantillons de sang (TYP... et PHE...) ont été répartis, dans l'année, de la façon suivante : chaque laboratoire a reçu 3 échantillons de la série TYP185 à TYP190 lors de l'opération 11HLA1 ; 2 échantillons de la série TYP191 à TYP194 lors de l'opération 11HLA2, 3 échantillons de la série TYP195 à TYP200 lors de l'opération 11HLA3 et les échantillons PHE005 et PHE006 lors de l'opération 11HLA4. Les 2 échantillons, BML017 et BML018, ont été expédiés lors de l'opération 11HLA2.

Les résultats des typages HLA par « sérologie » et par biologie moléculaire réalisés par les laboratoires sont satisfaisants.

Pour les analyses qui concernent les anticorps anti-HLA, lors de l'opération 11HLA4, les laboratoires inscrits pour ces analyses ont reçu, en fonction de leur pratique habituelle, 11 sérums (11S1 à 11S10) pour détection et identification d'anticorps anti-HLA et 2 échantillons de sang frais (XMH020 et XMH021) pour cross-matches.

Les résultats des recherches des anticorps anti-HLA et des cross-matches des opérations « histocompatibilité » sont globalement homogènes.

Depuis 2008, un indice de performance est calculé ; chaque laboratoire participant a reçu, pour l'année 2011, un bilan lui permettant d'évaluer sa performance pour les différentes analyses des opérations « histocompatibilité » du Contrôle national de qualité.

Typage HLA

TYP185 à TYP200 ; BML017 ; BML018 ; PHE005 ; PHE006

Méthode statistique et expression des résultats

Consensus 75%

Pour un échantillon, le consensus 75% correspond au typage HLA déterminé par au moins 75% des laboratoires.

Scores typage HLA

Pour un laboratoire donné, pour chaque échantillon, deux scores sont calculés : un « score maximum » fonction des analyses réalisées sur l'échantillon et un « score observé » fonction des écarts constatés par rapport au consensus 75%. Cette démarche n'est appliquée que lorsqu'un consensus 75% a pu être dégagé.

Indice de performance

L'indice de performance (IP) est calculé et rendu en pourcentage (%). Il correspond au rapport entre la somme des « scores observés » du laboratoire et la somme des « scores maximum » : $100 \times \text{somme « scores observés »} / \text{somme « scores maximum »}$.

Définition des échantillons

Les échantillons TYP... et PHE... sont des échantillons de sang total, les échantillons BML... sont des échantillons d'ADN déjà extrait.

Chaque échantillon a été typé en biologie moléculaire ; cependant, en raison de contraintes matérielles, certaines ambiguïtés n'ont pas pu être levées au moment de la publication de ce document. Les résultats sont exprimés en fonction de la nomenclature internationale en vigueur au moment des opérations (1) (tableau I).

tableau I - définition des échantillons « typage HLA »

Echantillon (opération)	HLA-	allèles (*)	
BML017 (11HLA2)	A*	02:01 ou 02:243	31:01 ou 31:21
	B*	13:02	49:01
	C*	06:02 ou 06:11	07:01 ou 07:09
	DRB1*	04:05	07:01
	DRB3*		
	DRB4*	01:03	
	DRB5*		
	DQA1*	02:01	03:03
	DQB1*	02:02	03:02
	DPB1*	02:01	17:01
BML018 (11HLA2)	A*	02:01	02:07
	B*	27:05 ou 27:13	46:01
	C*	01:02	-
	DRB1*	01:03	12:01 ou 12:06/10/17
	DRB3*	01:01	
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	05:05	
	DQB1*	03:01	-
	DPB1*	04:02 ou 105:01	05:01

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles (*)	
PHE006 (11HLA4)	A*	03:01 ou 03:63/127	11:01 ou 11:12/20
	B*	14:02	39:01
	C*	08:02 ou 08:29	12:03 ou 12:24
	DRB1*	04:08	07:01
	DQB1*	02:02	03:01
	DPB1*	05:01	14:01
PHE005 (11HLA4)	A*	02:01	03:01
	B*	07:02 ou 07:26/61	40:01 ou 40:128
	C*	07:02 ou 07:10/27/50 ...	03:04 ou 03:35/41/90...
	DRB1*	01:01	04:01
	DQB1*	03:02	05:01
	DPB1*	01:01	04:01 ou 126:01:00
TYP185 (11HLA1)	A*	01:01	23:01 ou 23:17
	B*	15:01 ou 15:154	44:03
	C*	03:03 ou 03:04/20N/55/69	04:01 ou 04:08/10/52
	DRB1*	07:01	15:01
	DRB3*		
	DRB4*	01:01 ou 01:08	
	DRB5*	01:01	
	DQA1*	01:02	02:01
	DQB1*	02:02	06:02
	DPB1*	04:01	-
TYP186 (11HLA1)	A*	03:01	29:02
	B*	44:02	44:03
	C*	05:01	16:01
	DRB1*	07:01	13:01
	DRB3*	01:01	
	DRB4*	01:01 ou 01:08	
	DRB5*		
	DQA1*	01:03	02:01
	DQB1*	02:02	06:03
	DPB1*	04:01	11:01
TYP187 (11HLA1)	A*	24:02	31:01 ou 31:29
	B*	14:02 ou 14:03	35:08
	C*	04:01	08:02
	DRB1*	01:02	07:01
	DRB3*		
	DRB4*	01:03	
	DRB5*		
	DQA1*	01:01	02:01
	DQB1*	03:03	05:01
	DPB1*	04:01	15:01

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles (*)	
TYP188 (11HLA1)	A*	02:01	29:02
	B*	14:01	44:03
	C*	08:02	16:01
	DRB1*	01:01	07:01
	DRB3*		
	DRB4*	01:01 ou 01:08	
	DRB5*		
	DQA1*	01:01	02:01
	DQB1*	02:02	05:01
	DPB1*	02:01	04:02
TYP189 (11HLA1)	A*	02:01	68:01
	B*	07:02 ou 07:61	44:02
	C*	05:01	07:02 ou 07:17/37/50
	DRB1*	04:01	15:01
	DRB3*		
	DRB4*	01:03 ou 01:08	
	DRB5*	01:01	
	DQA1*	01:02	03:03
	DQB1*	03:01	06:02
	DPB1*	04:01	11:01
TYP190 (11HLA1)	A*	03:01	25:01
	B*	07:02 ou 07:61/91	18:01 ou 18:03/17N
	C*	07:02 ou 07:50	12:03
	DRB1*	14:01 ou 14:54	15:01
	DRB3*	02:02	
	DRB4*		
	DRB5*	01:01	
	DQA1*	01:02	01:04
	DQB1*	05:03	06:02
	DPB1*	03:01 ou 104:01/124:01	04:01
TYP191 (11HLA2)	A*	25:01	31:01
	B*	18:01 ou 18:17N	40:01
	C*	03:04	12:03
	DRB1*	04:01	13:01
	DRB3*	01:01	
	DRB4*	01:03	
	DRB5*		
	DQA1*	01:03	03:03
	DQB1*	03:01	06:03
	DPB1*	04:01 ou 126:01	14:01
TYP192 (11HLA2)	A*	02:01	23:01 ou 23:17
	B*	18:01 ou 18:17N	44:03
	C*	04:01	05:01
	DRB1*	03:01	07:01
	DRB3*	02:02	
	DRB4*	01:01	
	DRB5*		
	DQA1*	02:01	05:01
	DQB1*	02:01	02:02
	DPB1*	02:01	-

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles (*)	
TYP193 (11HLA2)	A*	03:01 ou 03:43	30:01 ou 30:26
	B*	13:02 ou 13:01	35:01 ou 35:37/42
	C*	04:01 ou 04:54	06:02 ou 06:09
	DRB1*	04:08	11:01
	DRB3*	02:02	
	DRB4*	01:03	
	DRB5*		
	DQA1*	03:03	05:05
	DQB1*	03:01	-
	DPB1*	04:01 ou 23:01/105:01	04:02 ou 51:01/105:01/126:01
TYP194 (11HLA2)	A*	03:01 ou 03:63/65/69N	11:01 ou 11:12/24
	B*	14:02	39:01
	C*	08:02 ou 08:29	12:03 ou 12:24
	DRB1*	04:08	07:01
	DRB3*		
	DRB4*	01:01	01:03
	DRB5*		
	DQA1*	02:01	03:03
	DQB1*	02:02	03:01
	DPB1*	05:01	14:01
TYP195 (11HLA3)	A*	11:01 ou 11:10	68:01 ou 68:11N/16
	B*	40:01	41:02
	C*	03:04	17:03 ou 17:01/02
	DRB1*	04:04	13:03
	DRB3*	01:01	
	DRB4*	01:03	
	DRB5*		
	DQA1*	03:01	05:05 ou 05:11
	DQB1*	03:01	03:02
	DPB1*	03:01 ou 104:01/124:01	04:01 ou 126:01
TYP196 (11HLA3)	A*	03:01 ou 03:24	68:01 ou 68:11N/66
	B*	08:01 ou 08:50	44:02 ou 44:19N/49
	C*	07:01	07:04 ou 07:11
	DRB1*	01:01	03:01
	DRB3*	01:01	
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	01:01	05:01
	DQB1*	02:01	05:01
	DPB1*	01:01	04:02 ou 105:01
TYP197 (11HLA3)	A*	02:01 ou 02:211	11:01
	B*	14:02	27:05 ou 27:13
	C*	02:02 ou 02:32	08:02 ou 08:29
	DRB1*	15:02 ou 15:11	16:01
	DRB3*		
	DRB4*		
	DRB5*	01:02	02:02
	DQA1*	01:02	01:03
	DQB1*	06:01	05:02
	DPB1*	04:02	-

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles (*)	
TYP198 (11HLA3)	A*	29:02	68:01 ou 68:11N
	B*	40:01	44:04
	C*	03:04	16:01
	DRB1*	11:01 ou 11:97/100	13:02
	DRB3*	02:02 ou 02:25	03:01
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	01:02	05:05 ou 05:10/11
	DQB1*	03:01	06:04
	DPB1*	03:01 ou 104:01/124:01	04:01 ou 126:01
	TYP199 (11HLA3)	A*	03:01 ou 03:63
B*		37:01	57:01
C*		06:02	-
DRB1*		07:01	11:04
DRB3*		02:02 ou 02:23	
DRB4*		01:03	
DRB5*			
DQA1*		02:01	05:05 ou 05:10/11
DQB1*		03:01	03:03
DPB1*		03:01 ou 104:01/124:01	04:01 ou 126:01
TYP200 (11HLA3)		A*	03:01
	B*	44:02	56:20
	C*	01:02	05:01
	DRB1*	04:01	11:01 ou 11:97/100
	DRB3*	02:02 ou 02:23	
	DRB4*	01:03	
	DRB5*		
	DQA1*	03:03	05:05 ou 05:10/11
	DQB1*	03:01	-
	DPB1*	04:02	10:01

(*) : En raison de contraintes matérielles, certaines ambiguïtés n'ont pas pu être levées au moment de la publication.

Résultats des participants

La distribution annuelle des échantillons est présentée dans le tableau II. Compte tenu des analyses à réaliser, le volume distribué pour les échantillons PHE... est plus petit que celui distribué pour les échantillons TYP... ; ce qui explique que les effectifs des séries PHE soient plus élevés que ceux des séries TYP ; le volume distribué restait, néanmoins, suffisant pour effectuer les analyses demandées.

tableau II - nombre de laboratoires par échantillon « typage HLA » 2011

Opération Echantillons	11HLA1	11HLA2	11HLA3	11HLA4
BML017		38		
BML018		38		
PHE005				31
PHE006				31
TYP185	19			
TYP186	19			
TYP187	19			
TYP188	21			
TYP189	21			
TYP190	21			
TYP191		19		
TYP192		19		
TYP193		21		
TYP194		20		
TYP195			20	
TYP196			20	
TYP197			20	
TYP198			21	
TYP199			21	
TYP200			21	

Les résultats obtenus par les laboratoires, résumés par les consensus 75% (tableaux III et IV), sont conformes à la définition des échantillons ; même lorsque le niveau de résolution atteint n'est pas le même, aucune discordance (erreur, défaut de définition ou définition supplémentaire) n'a été observée entre le consensus 75% et la définition des échantillons.

Le consensus 75% a été atteint pour tous les échantillons et pour tous les typages (A, B, DR et DQ) par « sérologie » (tableau III).

Pour la biologie moléculaire (tableau IV), le consensus 75% a été obtenu au niveau minimum de définition générique pour tous les échantillons pour les loci HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 et -DQA1, comme en 2008 et 2009.

Pour ce qui concerne le niveau de définition allélique, on constate qu'un consensus allélique de haute résolution a pu être atteint pour : HLA-A dans 22,2% des cas (61,1% en 2010), HLA-B 22,2% (44,4% en 2010), HLA-C 13,9% (41,7% en 2010), -DRB1 58,3% (61,1% en 2010), -DQB1 44,4% (91,7% en 2010). On constate donc une diminution généralisée du nombre de consensus allélique. Les ambiguïtés n'ont pas été levées dans 23% des typages (15% de typages avec ambiguïtés en 2010). Cette augmentation des ambiguïtés est liée à l'introduction de nombreux nouveaux allèles dans la nomenclature. La figure 1 détaille, par allèle, le nombre de consensus 75% atteints (« 2 digits » : niveau de définition générique ou « 4 digits » : niveau de définition allélique).

Il n'y a aucune discordance entre les typages par « sérologie » (tableau III) et ceux par biologie moléculaire au niveau générique (tableau IV).

tableau III - consensus 75% typage HLA par lymphocytotoxicité

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
PHE005 (11HLA4)	A	2	3
	B	40	7
	DR	1	4
	DQ	1	3
PHE006 (11HLA4)	A	11	3
	B	14	39
	DR	4	7
	DQ	2	7
TYP185 (11HLA1)	A	1	23
	B	44	62
	DR	15	7
	DQ	1	2
TYP186 (11HLA1)	A	29	3
	B	-	44
	DR	13	7
	DQ	1	2
TYP187 (11HLA1)	A	24	31
	B	14	35
	DR	1	7
	DQ	1	3
TYP188 (11HLA1)	A	2	29
	B	14	44
	DR	1	7
	DQ	1	2
TYP189 (11HLA1)	A	2	28
	B	44	7
	DR	15	4
	DQ	1	7
TYP190 (11HLA1)	A	25	3
	B	18	7
	DR	14	15
	DQ	-	1
TYP191 (11HLA2)	A	25	31
	B	18	60
	DR	13	4
	DQ	1	7
TYP192 (11HLA2)	A	2	23
	B	18	44
	DR	3	7
	DQ	-	2
TYP193 (11HLA2)	A	3	30
	B	13	35
	DR	11	4
	DQ	-	7
TYP194 (11HLA2)	A	11	3
	B	14	39
	DR	4	7
	DQ	2	7

tableau III (suite) - consensus 75% typage HLA par lymphocytotoxicité

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP195 (11HLA3)	A	11	68
	B	41	60
	DR	13	4
	DQ	-	3
TYP196 (11HLA3)	A	3	68
	B	44	8
	DR	1	3
	DQ	1	2
TYP197 (11HLA3)	A	11	2
	B	14	27
	DR	-	2
	DQ	-	1
TYP198 (11HLA3)	A	28	29
	B	44	60
	DR	11	13
	DQ	1	3
TYP199 (11HLA3)	A	11	3
	B	37	57
	DR	11	7
	DQ	-	3
TYP200 (11HLA3)	A	26	3
	B	44	56
	DR	11	4
	DQ	-	3

tableau IV - consensus 75% typage HLA par biologie moléculaire

Echantillon (opération)	Consensus 75% tous typages confondus (consensus 75% typages définition allélique) (1)		
	HLA-	allèles	
BML017 (11HLA2)	A*	02	31
	B*	13	49
	C*	06	07
	DRB1*	04 (04:05)	07
	DRB3*		
	DRB4*	.	01
	DRB5*		
	DQA1*	02:01	03
	DQB1*	02	03
	DPB1*	02:01	NC
	BML018 (11HLA2)	A*	02
B*		27	46
C*		-	01
DRB1*		01:03	12
DRB3*		.	01
DRB4*			
DRB5*			
DQA1*		-	05
DQB1*		-	03
DPB1*		04:02	05:01

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

Echantillon (opération)	Consensus 75% tous typages confondus (consensus 75% typages définition allélique) (1)		
	HLA-	allèles	
TYP185 (11HLA1)	A*	01	23
	B*	15	44 (44:03)
	C*	03	04
	DRB1*	07 (07:01)	15 (15:01)
	DRB3*		
	DRB4*		01
	DRB5*	.	01:01
	DQA1*	01:02	02:01
	DQB1*	02 (02:02)	06 (06:02)
	DPB1*	NC	NC
	TYP186 (11HLA1)	A*	03
B*		44 (44:02)	44 (44:03)
C*		05	16
DRB1*		07 (07:01)	13 (13:01)
DRB3*		.	01
DRB4*		.	01
DRB5*			
DQA1*		01:03	02:01
DQB1*		02 (02:02)	06 (06:03)
DPB1*		NC	11:01
TYP187 (11HLA1)		A*	24 (24:02)
	B*	14	35 (35:08)
	C*	04	08 (08:02)
	DRB1*	01:02	07 (07:01)
	DRB3*		
	DRB4*	.	01:03
	DRB5*		
	DQA1*	01:01	02:01
	DQB1*	03 (03:03)	05 (05:01)
	DPB1*	NC	15:01
	TYP188 (11HLA1)	A*	02 (02:01)
B*		14	44
C*		08 (08:02)	16
DRB1*		01 (01:01)	07 (07:01)
DRB3*			
DRB4*		.	01
DRB5*			
DQA1*		01	02:01
DQB1*		02:02	05:01
DPB1*		NC	04:02
TYP189 (11HLA1)		A*	02 (02:01)
	B*	07	44 (44:02)
	C*	05 (05:01)	07
	DRB1*	04 (04:01)	15 (15:01)
	DRB3*		
	DRB4*	.	01
	DRB5*	.	01:01
	DQA1*	01:02	03
	DQB1*	03:01	06:02
	DPB1*	NC	11:01

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

Echantillon (opération)	Consensus 75% tous typages confondus (consensus 75% typages définition allélique) (1)		
	HLA-	allèles	
TYP190 (11HLA1)	A*	03 (03:01)	25 (25:01)
	B*	07	18
	C*	07	12 (12:03)
	DRB1*	14	15 (15:01)
	DRB3*	.	02
	DRB4*		
	DRB5*	.	01:01
	DQA1*	01:02	01
	DQB1*	05:03	06:02
	DPB1*	NC	NC
TYP191 (11HLA2)	A*	25	31
	B*	18	40
	C*	03	12
	DRB1*	04 (04:01)	13
	DRB3*	.	01
	DRB4*	.	01
	DRB5*		
	DQA1*	01:03	03
	DQB1*	03	06
	DPB1*	14:01	NC
TYP192 (11HLA2)	A*	02	23
	B*	18	44
	C*	04	05
	DRB1*	03	07
	DRB3*	.	02
	DRB4*	.	01:01
	DRB5*		
	DQA1*	02:01	05:01
	DQB1*	02 (02:01)	02
	DPB1*	-	02
TYP193 (11HLA2)	A*	03	30
	B*	13	35
	C*	04	06
	DRB1*	04 (04:08)	11
	DRB3*	.	02
	DRB4*	.	01:03
	DRB5*		
	DQA1*	03	05
	DQB1*	-	03
	DPB1*	04	04
TYP194 (11HLA2)	A*	03	11
	B*	14	39
	C*	08	12
	DRB1*	04 (04:08)	07
	DRB3*		
	DRB4*	01	01
	DRB5*		
	DQA1*	02:01	03
	DQB1*	02	03
	DPB1*	05:01	14:01

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

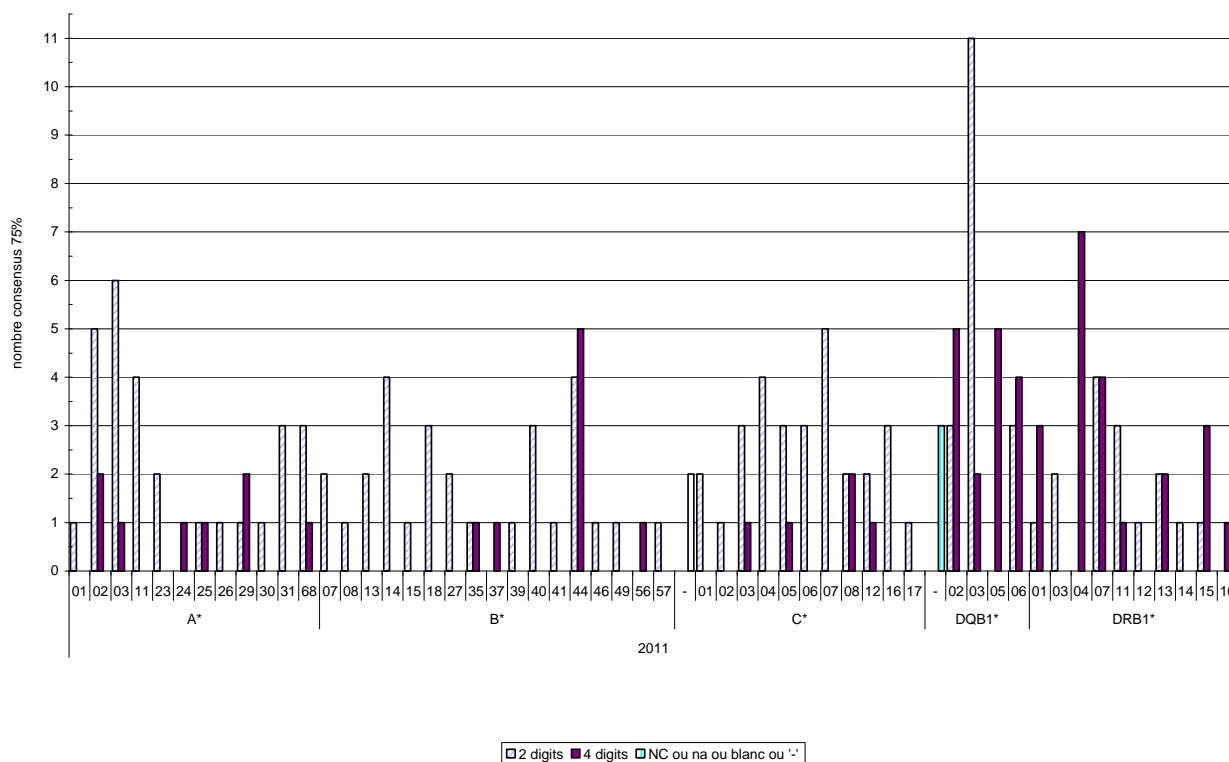
Echantillon (opération)	Consensus 75% tous typages confondus (consensus 75% typages définition allélique) (1)		
	HLA-	allèles	
TYP195 (11HLA3)	A*	11	68
	B*	40	41
	C*	03	17
	DRB1*	04 (04:04)	13 (13:03)
	DRB3*	.	01:01
	DRB4*	.	01:03
	DRB5*	.	.
	DQA1*	03:01	05
	DQB1*	03	03
	DPB1*	NC	NC
TYP196 (11HLA3)	A*	03	68
	B*	08	44
	C*	07	07
	DRB1*	01	03
	DRB3*	.	01 (01:01)
	DRB4*	.	.
	DRB5*	.	.
	DQA1*	01:01	05:01
	DQB1*	02 (02:01)	05 (05:01)
	DPB1*	01:01	04:02
TYP197 (11HLA3)	A*	02	11
	B*	14	27
	C*	02	08
	DRB1*	15	16:01
	DRB3*	.	.
	DRB4*	.	.
	DRB5*	01:02	02:02
	DQA1*	01:02	01:03
	DQB1*	05:02	06
	DPB1*	-	04:02
TYP198 (11HLA3)	A*	29	68
	B*	40	44 (44:04)
	C*	03 (03:04)	16
	DRB1*	11	13
	DRB3*	02	03:01
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	01:02	05
	DQB1*	03	06
	DPB1*	NC	NC
TYP199 (11HLA3)	A*	03	11
	B*	37 (37:01)	57
	C*	-	06
	DRB1*	07	11 (11:04)
	DRB3*	.	02
	DRB4*	.	01:03
	DRB5*		
	DQA1*	02:01	05
	DQB1*	03	03
	DPB1*	NC	NC

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

Echantillon (opération)	Consensus 75% tous typages confondus (consensus 75% typages définition allélique) (1)	
	HLA-	allèles
TYP200 (11HLA3)	A*	03
	B*	44
	C*	01
	DRB1*	04 (04:01)
	DRB3*	.
	DRB4*	.
	DRB5*	
	DQA1*	03
	DQB1*	-
	DPB1*	04:02
		56 (56:20)
		05
		11
		02
		01:03
		05
		03
		10:01

(1) : les consensus 75% des typages de définition allélique sont indiqués entre parenthèses quand ils ont été atteints
 NC : non consensus
 na : non applicable (effectif <3)

figure 1 - typage par biologie moléculaire : répartition des consensus 75% par allèle



Commentaires

Etude des discordances :

- « sérologie »

Les résultats sont satisfaisants pour les 18 donneurs testés. En tout, 49 erreurs (tableau V) ont été relevées par rapport au consensus 75%. Sont comptabilisées : les erreurs dans la définition d'un antigène (par exemple HLA-A1 au lieu de HLA-A3), les défauts ou les excès de caractérisation mais aussi les défauts de subdivision de spécificité large (par exemple HLA-B40 quand le consensus 75% est HLA-B61).

Ainsi, on constate :

- au locus HLA-A (311 typages en tout) : 13 discordances dont 7 par défaut de subdivision, 5 par erreur de nomenclature (A1101 pour A11) et 1 par défaut de caractérisation,
- au locus HLA-B (311 typages en tout) : 26 discordances incluant 13 défauts de subdivision, 11 défauts de caractérisation et 2 erreurs de typage,

- au locus HLA-DR (242 typages en tout) : 8 discordances incluant 6 défauts de subdivision et 2 erreurs de caractérisation,
- au locus HLA-DQ (242 typages en tout) : 11 discordances portant toutes sur des défauts de subdivision.

Rapporté au nombre total de typages effectués, le taux de discordance est de 5,2% ; comme en 2010, il est dû en grande partie aux défauts de subdivision.

tableau V - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par « sérologie » de 2008 à 2011

HLA-	Taux de discordance (*)			
	2011	2010	2009	2008
A	4,2% (13/311)	3,5% (11/314)	1,6% (5/313)	1,4% (4/283)
B	8,4% (26/311)	4,5% (14/312)	6,1% (19/313)	6,1% (17/280)
DR	3,3% (8/242)	6,6% (16/241)	1,6% (4/253)	3,5% (7/199)
DQ	4,5% (11/242)	3,3% (8/240)	0,8% (2/253)	

(*) : nombre de typages discordants observés / nombre de typages réalisés

• biologie moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire permettent d'atteindre un niveau de résolution générique similaire aux méthodes « sérologiques » mais aussi d'obtenir un niveau de résolution de typage « haute résolution », requis en cas de greffe de cellules hématopoïétiques. Les mêmes règles s'appliquent dans la définition des discordances par rapport au consensus 75% (erreurs dans la définition d'une spécificité ou d'un allèle, défauts ou excès de caractérisation). Ainsi, en considérant la totalité des typages au niveau générique et/ou allélique par rapport au consensus (tableau VI), on relève :

- au locus HLA-A (355 typages) : 2 discordances dont 2 erreurs de caractérisation,
- au locus HLA-B (355 typages) : 4 discordances dont 4 erreurs de caractérisation,
- au locus HLA-C (329 typages) : 5 discordances correspondant à 5 erreurs de caractérisation,
- au locus HLA-DRB1 (377 typages) : 4 discordances par rapport au consensus correspondant toutes à des erreurs de caractérisation,
- au locus HLA-DQB1 (367 typages) : 11 discordances avec 3 erreurs de caractérisation, 5 erreurs de nomenclature (DQ7 ou DQ9) et 3 erreurs de subdivision correspondant toutes au typage DQB1*02 :01 pour DQB1*02 :02.

Rapporté au nombre total de typages effectués par biologie moléculaire, le taux de discordance est de 1,5% en légère augmentation par rapport à 2010 (1,0% en 2010). Cette augmentation est essentiellement due à l'inversion des résultats de typage de 2 échantillons par un laboratoire.

tableau VI - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par biologie moléculaire de 2008 à 2011

HLA-	Taux de discordance (*)			
	2011	2010	2009	2008
A*	0,6% (2/355)	1% (3/369)	0% (0/351)	0,0% (0/351)
B*	1,1% (4/355)	1% (4/369)	0% (0/349)	0,6% (2/351)
C*	1,5% (5/329)	0% (1/352)	0,3% (1/329)	0,3% (1/306)
DRB1*	1,1% (4/377)	1% (2/396)	1,3% (5/383)	0,3% (1/382)
DQB1*	3,0% (11/367)	2% (8/393)	4,5% (17/381)	3,2% (12/378)

(*) : nombre de typages discordants observés / nombre de typages réalisés

Bilan annuel

Pour permettre à chaque laboratoire de faire un bilan annuel de ses performances pour le typage HLA, un outil d'évaluation a été mis en place en 2008 : indice de performance (IP_{HLA}). Pour cet indice de performance, seuls les typages HLA-A, -B, -C, -DR (DRB1*) et -DQ (DQB1*) sont évalués. De plus, les typages réalisés par « sérologie » sont évalués séparément de ceux réalisés par biologie moléculaire. Cette évaluation tient compte de l'état de l'art ; aussi, est-elle fondée sur les résultats trouvés par les laboratoires et pour les échantillons pour lesquels un consensus 75% a pu être dégagé. Les indices de performance ont été calculés selon la même procédure que les années précédentes ; les scores attribués en fonction des écarts constatés sont présentés dans le tableau VII.

tableau VII : scores IP_{HLA} –typage

antigène ou allèle	score
Exactement conforme au consensus 75% (*)	4
Moins précis que le consensus 75% (*) et inclus dans la spécificité large (« broad » correct)	2
Erroné par rapport au consensus 75% (*)	0

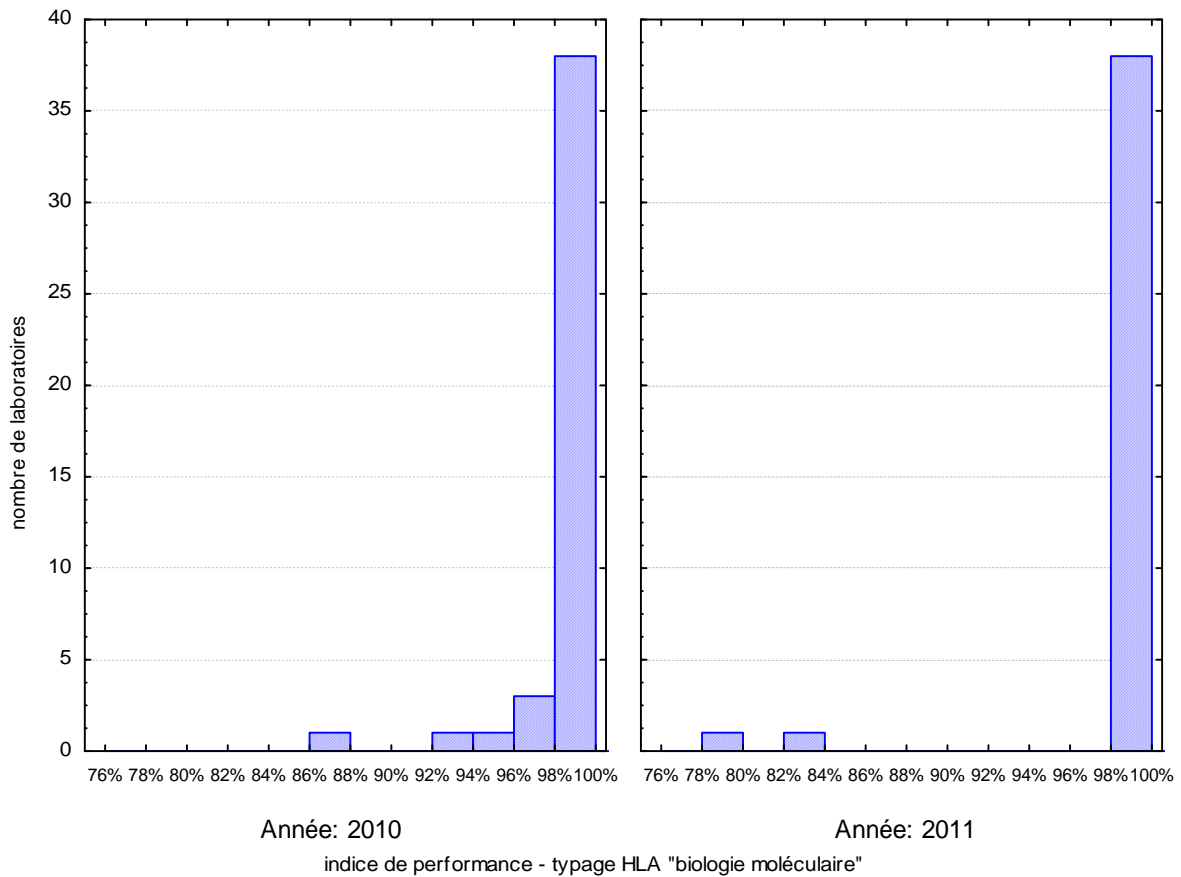
(*) : consensus 75% annuel calculé à partir des résultats obtenus lors des différentes opérations en particulier pour les échantillons qui proviennent d'un même donneur.

La description statistique des indices de performance calculés pour 2011 et 2010 figure dans le tableau VIII et sur la figure 2. Les niveaux de performance restent satisfaisants d'une année à l'autre (tableau VIII). Pour le typage par biologie moléculaire, la figure 2 montre bien que l'augmentation en 2011 du nombre d'erreurs ne concerne que quelques laboratoires.

tableau VIII – statistiques indice de performance - typage HLA 2011 et 2010

	2011		2010	
	« sérologie »	biologie moléculaire	« sérologie »	biologie moléculaire
n	35	40	33	44
minimum	80%	79%	65%	86%
maximum	100%	100%	100%	100%
centile 10	97%	99%	97%	98%
1er quartile	98%	100%	98%	100%
médiane	100%	100%	99%	100%
3ème quartile	100%	100%	100%	100%
centile 90	100%	100%	100%	100%

figure 2 - histogrammes indice de performance : typage HLA par biologie moléculaire 2010 et 2011



Conclusion

Ces résultats mettent en évidence le bon niveau et le maintien de la qualité des typages HLA aussi bien par « sérologie » que par biologie moléculaire. Les typages en biologie moléculaire au niveau de résolution générique sont satisfaisants et concordants avec les typages sérologiques

Les points de faiblesse restent, pour la sérologie, la difficulté à subdiviser certains antigènes comme A28, DR2 et DQ3 et pour les typages en biologie moléculaire, des rendus de résultats non conformes à la nomenclature.

L'indice de performance – typage HLA (IP_{HLA} -typage) reflète bien le bon niveau de performance des laboratoires pour le typage HLA.

Recherche et identification d'anticorps anti-HLA

11S1 à 11S10

Méthode statistique et expression des résultats

Pour un échantillon donné, le consensus 75% correspond à au moins 75 % des réponses identiques ou équivalentes. Pour les spécificités faisant l'objet de subdivisions sérologiques telles que A9 (A23, A24), la réponse « A23+A24 » est équivalente à « A9 ». En revanche, les réponses « A23 » (isolées) ou « A24 » (isolées) sont différentes entre elles et différentes de la réponse « A9 ».

Il faut préciser que les données des laboratoires sont traitées une deuxième fois après l'édition des comptes-rendus individuels ; ainsi, les consensus 75% obtenus dans un premier temps peuvent être affinés. Les consensus 75% qui figurent dans ce document peuvent être différents de ceux déjà publiés.

Scores pour la détection et l'identification des anticorps anti-HLA

Pour un laboratoire donné et pour chaque échantillon, deux scores sont calculés : un « score maximum » fonction des analyses réalisées sur l'échantillon et un « score observé » fonction des écarts constatés par rapport au consensus 75%. Cette démarche n'est appliquée que lorsqu'un consensus 75% a pu être dégagé.

Indice de performance

L'indice de performance (IP) est calculé et rendu en pourcentage (%). Il correspond au rapport entre la somme des « scores observés » du laboratoire et la somme des « scores maximum » : $100 \times \frac{\text{somme « scores observés »}}{\text{somme « scores maximum »}}$.

Définition des échantillons

Les caractéristiques des échantillons (sérums) pour la détection et l'identification des anticorps anti-HLA de l'opération 11HLA4 correspondent à l'éventail des cas observés lors du suivi clinique. Ces sérums polyclonaux contiennent le plus souvent un mélange d'anticorps anti-HLA de classe I et de classe II, de réactivités et spécificités variées ; ces anticorps sont essentiellement d'isotype IgG.

Résultats des participants

Techniques utilisées

Les techniques utilisées par les laboratoires pour la détection et l'identification des anticorps anti-HLA sont l'ELISA, la fluorimétrie sur billes (technologie Luminex®) et la lymphocytotoxicité. La lymphocytotoxicité est quasiment toujours associée à l'ELISA et/ou à la fluorimétrie sur billes.

Le tableau IX présente le nombre de laboratoires utilisant a priori, les différentes méthodes, le tableau X celui des utilisateurs a priori des réactifs. En effet, il faut préciser que certains laboratoires reportent, sur le bordereau-réponse dédié aux méthodes et réactifs, toutes les méthodes (tous les réactifs) dont ils disposent sans pour autant les mettre en œuvre pour analyser les échantillons de l'opération.

tableau IX – méthodes de détection et d'identification des anticorps anti-HLA : nombre d'utilisateurs (*)

méthodes	détection	identification	
		panel	antigènes isolés
lymphocytotoxicité	20	26	-
ELISA	1	1	-
fluorimétrie sur billes	32	15	28

(*) a priori, selon le bordereau-réponse « méthodes »

tableau X – réactifs de détection et d'identification des anticorps anti-HLA : nombre d'utilisateurs (*)

méthode - analyse	réactif		code réactif	nombre utilisateurs
lymphocytotoxicité – dépistage et/ou identification	–	Plaques de sérums tests "locales"	L0000	12
	BIOTEST	LYMPHOSCREEN ABC 60	LCU10	1
	BIOTEST	LYMPHOSCREEN DR 30 X 2	LCU11	1
	INGEN	LAMBDA CELL TRAY 30 T Lymphocyte panel	LIU10	3
	SERVIBIO-FRANCE BIOCHEM	PLAQUES DE CELLULES T CONGELES "SERASCREEN FCT30"	LGU10	2
	SERVIBIO-FRANCE BIOCHEM	PLAQUES DE CELLULES T CONGELES "SERASCREEN FCT60"	LGU11	1
	–	Réactif de détection d'anticorps non précisé ou mal codé (lymphocytotoxicité)	-	5
	–	Réactif non répertorié	XXXXX	1
ELISA - dépistage	–	Réactif de détection d'anticorps non précisé ou mal codé (ELISA)	-	1
ELISA - identification sur panel	INGEN	LAT - Lambda antigen tray class I	EIU11	1
	INGEN	LAT - Lambda antigen tray class II	EIU12	1
fluorimétrie sur billes - dépistage	INGEN	LABScreen Mixed Class I and II	CIU13	23
	TEPNEL	LIFECODES - LifeScreen Deluxe (LMX)	CTU13	5
	TEPNEL	LIFECODES - Détection Ac anti-HLA - classe I et II	CTU12	3
	–	Réactif de détection d'anticorps non précisé ou mal codé (fluorimétrie sur billes)	-	1
fluorimétrie sur billes - identification sur antigène isolé	INGEN	LABScreen Single Antigen HLA Class II Antibody Detection Test - Groupe 1	CIU27	16
	INGEN	LABScreen Single Antigen HLA Class I Antibody Detection Test - Combiné Groupe 1 (01+02+03)	CIU30	15
	INGEN	LABScreen "Singles" - classe II	CIU29	5
	INGEN	LABScreen "Singles" - classe I	CIU28	4
	INGEN	LABScreen Single Antigen HLA Class I Antibody Detection Test - Groupe 1 (A/B locus)	CIU17	2
	TEPNEL	LIFECODES LSA - Identification Ac anti-HLA - classe I (LSA1)	CTU14	6
	TEPNEL	LIFECODES LSA - Identification Ac anti-HLA - classe II (LSA2)	CTU15	6
	–	Réactif de détection d'anticorps non précisé ou mal codé (fluorimétrie sur billes)	-	1
fluorimétrie sur billes - identification sur panel	INGEN	LABScreen PRA Class I (55-Class I antigen panel)	CIU15	9
	INGEN	LABScreen PRA Class II (32-Class II antigen panel)	CIU16	9
	INGEN	LABScreen Single Antigen HLA Class I Antibody Detection Test - Combiné Groupe 1 (01+02+03)	CIU30	1
	TEPNEL	LIFECODES - Identification Ac anti-HLA - classe I	CTU10	5
	TEPNEL	LIFECODES - Identification Ac anti-HLA - classe II	CTU11	5

(*) *a priori*, selon le bordereau-réponse « méthodes »

Détection des anticorps anti-HLA

Les résultats obtenus par les laboratoires pour la détection des anticorps anti-HLA sont décrits dans le tableau XI. A l'exception de l'échantillon 11S5, le consensus 75% a été atteint en classes I et II pour tous les échantillons ; le pourcentage de réponses consensuelles varie de 75 à 100% pour la classe I et de 91 à 100% pour la classe II.

tableau XI – détection des anticorps anti-HLA toutes techniques confondues

Echantillon	Classe I			Classe II		
	positif	négatif	nombre de dépistages	positif	négatif	nombre de dépistages
11S1	32(100%)	0	32	32(100%)	0	32
11S2	24(75%)	8(25%)	32	32(100%)	0	32
11S3	32(100%)	0	32	0	32(100%)	32
11S4	32(100%)	0	32	32(100%)	0	32
11S5	11(34%)	21(66%)	32	32(100%)	0	32
11S6	32(100%)	0	32	32(100%)	0	32
11S7	32(100%)	0	32	1(3%)	31(97%)	32
11S8	32(100%)	0	32	3(9%)	29(91%)	32
11S9	1(3%)	31(97%)	32	0	32(100%)	32
11S10	8(25%)	24(75%)	32	30(94%)	2(6%)	32

Identification des anticorps anti-HLA

Les spécificités anti-HLA identifiées par au moins 75% des laboratoires sont présentées dans le tableau XII pour les anticorps anti-HLA classe I et dans le tableau XIII pour les anticorps anti-HLA classe II. Les bordereaux-réponses ont été remaniés pour permettre d'augmenter le nombre de spécificités rendues par les laboratoires. Toutefois, le nombre des spécificités les plus probables rendues par les laboratoires a été limité à 20 par classe (au lieu de 10 les années précédentes).

Le consensus 75% est atteint pour quasiment tous les échantillons pour la classe I et la classe II. Il n'est atteint pour les anticorps « anti-classe I », de l'échantillon 11S5, ni pour la détection ni pour l'identification ; on ne tiendra pas compte des quatre laboratoires qui ont identifié des anticorps « anti-classe I » sur l'échantillon 11S10 puisque la réponse attendue consensuelle (à 75%) pour cet échantillon est « absence d'anticorps anti-HLA classe I ».

Les échantillons 11S2, 11S3 et 11S6 pour la classe I et 11S4 pour la classe II, attirent l'attention. Les échantillons 11S3 et 11S6 contiennent de nombreux anticorps anti-HLA ; les techniques utilisées permettent de détecter probablement plus que les 20 anticorps « autorisés » avec des niveaux de signal qui sont interprétés différemment d'un laboratoire à l'autre (cf. Annales histocompatibilité 2009) et en tenant plus ou moins compte des résultats des autres techniques éventuellement utilisées. En conséquence, le classement des 20 anticorps les plus probables a pu être différent d'un laboratoire à l'autre.

Par contre, le cas de l'échantillon 11S2 est différent. Le détail des résultats des laboratoires donné dans le tableau XIV montre que 70% des laboratoires (14 sur 20) détectent un « anti-A2 » et 65% (13 sur 20) détectent un « anti-A68 » par fluorimétrie sur billes sur antigène isolé, sans atteindre le consensus 75% qui est obtenu par fluorimétrie sur billes sur panel. Cette petite différence de consensus entre les 2 techniques est probablement en partie liée à la faible réactivité des anticorps et à la différence d'effectifs. Concernant l' « anti-A80 », la discordance paraît liée à la technique.

tableau XII - identification d'anticorps anti-HLA – consensus 75% : anticorps anti-HLA classe I

(1)	technique	détection Ac anti-HLA (*)		identification Ac anti-HLA (*)										(2)
		I	G	A2	B57	B55	B56	B27	B42	B7	B81	B82		
11S1	toutes techniques confondues		G	A2	B57	B55	B56	B27	B42	B7	B81	B82	29	
11S1	Lymphocytotoxicité		G	na										
11S1	ELISA sur panel	na		na										
11S1	ELISA sur antigène isolé	na												
11S1	fluorimétrie sur billes sur panel		G	A2	B27								8	
11S1	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		G	A2	B57	B55	B56	B27	B42	B7	B81	B82	29	
11S2	toutes techniques confondues			A80									22	
11S2	Lymphocytotoxicité		G	na										
11S2	ELISA sur panel	na												
11S2	ELISA sur antigène isolé	na												
11S2	fluorimétrie sur billes sur panel			A2	A68								5	
11S2	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé			A80									20	
11S3	toutes techniques confondues		G	B13	B77	B49	B27	B61	B47				30	
11S3	Lymphocytotoxicité		G	B13									17	
11S3	ELISA sur panel	na		na									1	
11S3	ELISA sur antigène isolé	na												
11S3	fluorimétrie sur billes sur panel		G	B44	B13	B27	B61	B47					6	
11S3	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		G	B13	B77	B49	B27	B61	B60	B47			29	

(1)	technique	détection Ac anti-HLA (*)			identification Ac anti-HLA (*)										(2)
			I	G	A1	A25	B75	B49	B56	B35	B51	B53	B78		
11S4	toutes techniques confondues		I	G	A1	A25	B75	B49	B56	B35	B51	B53	B78	29	
11S4	Lymphocytotoxicité		I	G	na									1	
11S4	ELISA sur antigène isolé	na													
11S4	ELISA sur panel	na			na										
11S4	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		I	G	A1	A25	B75	B49	B56	B35	B51	B53	B78	29	
11S4	fluorimétrie sur billes sur panel		I	G	B35	B53								7	
11S5	toutes techniques confondues	NC			NC									5	
11S5	Lymphocytotoxicité	NC			na										
11S5	ELISA sur antigène isolé	na													
11S5	ELISA sur panel	na													
11S5	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	NC			NC									5	
11S5	fluorimétrie sur billes sur panel	NC			na									1	
11S6	toutes techniques confondues		I	G	B13	B27	B60	B61	B41	B42	B47	B48	B7	30	
11S6	Lymphocytotoxicité		I	G	B60									5	
11S6	ELISA sur panel	na			na									1	
11S6	ELISA sur antigène isolé	na													
11S6	fluorimétrie sur billes sur panel		I	G	B61	B60	B48	B7	B81					8	
11S6	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		I	G	B13	B27	B60	B61	B41	B42	B47	B48	B7	29	
11S7	toutes techniques confondues		I	G	A29	B62	B75	B63	B77	B57	B58	B49	B50	30	
					B54	B35	B51	B52	B53	B72	B71	B78			
11S7	Lymphocytotoxicité		I	G	na									1	
11S7	ELISA sur antigène isolé	na													
11S7	ELISA sur panel	na			na									1	
11S7	fluorimétrie sur billes sur panel		I	G	B75	B35	B53	B78						5	
11S7	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		I	G	A29	B62	B75	B63	B77	B57	B58	B49	B50	29	
					B54	B35	B51	B52	B53	B71	B72	B78			
11S8	toutes techniques confondues		I	G	A25	A32	A23	A24	B13	B63	B77	B58	B57	30	
					B27	B37	B47	B51	B52	B53					
11S8	Lymphocytotoxicité		I	G	na									2	
11S8	ELISA sur panel	na			na									1	
11S8	ELISA sur antigène isolé	na													
11S8	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		I	G	A25	A32	A23	A24	B13	B63	B77	B57	B58	29	

(1)	technique	détection Ac anti-HLA (*)			identification Ac anti-HLA (*)										(2)	
					B27	B37	B47	B51	B52	B53						
11S8	fluorimétrie sur billes sur panel		I	G	A32											7
11S9	toutes techniques confondues	N														
11S9	Lymphocytotoxicité	N														
11S9	ELISA sur panel	na														
11S9	ELISA sur antigène isolé	na														
11S9	fluorimétrie sur billes sur panel	N														
11S9	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N														
11S10	toutes techniques confondues	N														4
11S10	Lymphocytotoxicité	N														
11S10	ELISA sur antigène isolé	na														
11S10	ELISA sur panel	na														
11S10	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	NC			NC											4
11S10	fluorimétrie sur billes sur panel	NC														

(*) : NC : non consensus
na : non applicable (en particulier si effectif <3)
(1) : échantillons ; (2) : effectifs

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

(1)	technique	détection Ac anti-HLA (*)			identification Ac anti-HLA (*)										(2)
			II	G		DR1	DR10	DR103	DR4	DR9					
11S1	toutes techniques confondues		II	G		DR1	DR10	DR103	DR4	DR9					30
11S1	Lymphocytotoxicité		II	G		na									
11S1	ELISA sur panel	na				na									1
11S1	ELISA sur antigène isolé	na													
11S1	fluorimétrie sur billes sur panel		II	G		DR1	DR10	DR103	DR4	DR9					10
11S1	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		II	G		DR1	DR10	DR103	DR4	DR9					27
11S2	toutes techniques confondues		II	G		DQ8	DQ7	DQ9	DR4	DR7	DR9				30
11S2	Lymphocytotoxicité		II	G		na									
11S2	ELISA sur panel	na				na									1
11S2	ELISA sur antigène isolé	na													
11S2	fluorimétrie sur billes sur panel		II	G		DQ7	DR4								9
11S2	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		II	G		DQ8	DQ9	DQ7	DR4	DR7	DR9				29
11S3	toutes techniques confondues	N													
11S3	Lymphocytotoxicité	N													
11S3	ELISA sur panel	na													
11S3	ELISA sur antigène isolé	na													
11S3	fluorimétrie sur billes sur panel	N													
11S3	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N													
11S4	toutes techniques confondues		II	G		DQ7	DQ9	DQ8	DR16	DR17	DR11	DR12	DR13	DR8	30
11S4	Lymphocytotoxicité		II	G		na									
11S4	ELISA sur antigène isolé	na													
11S4	ELISA sur panel	na				na									1
11S4	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		II	G		DQ7	DQ9	DQ8	DR16	DR17	DR11	DR12	DR13	DR8	29
11S4	fluorimétrie sur billes sur panel		II	G		DR16	DR17	DR18	DR11	DR12	DR13	DR8			5
11S5	toutes techniques confondues		II	G		DR7									29
11S5	Lymphocytotoxicité		II	G		na									1
11S5	ELISA sur antigène isolé	na													
11S5	ELISA sur panel	na				na									
11S5	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		II			DR7									27
11S5	fluorimétrie sur billes sur panel		II	G		DR7									10

(1)	technique	détection Ac anti-HLA (*)			identification Ac anti-HLA (*)										(2)
			II	G		DQ2	DQ7	DQ9	DQ8	DQ4	DR4	DR11	DR7	DR8	
11S6	toutes techniques confondues		II	G		DQ2	DQ7	DQ9	DQ8	DQ4	DR4	DR11	DR7	DR8	30
11S6	Lymphocytotoxicité		II	G		na									
11S6	ELISA sur panel	na				na									1
11S6	ELISA sur antigène isolé	na													
11S6	fluorimétrie sur billes sur panel		II	G		DQ7	DR11	DR7	DR8						9
11S6	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		II	G		DQ2	DQ9	DQ7	DQ8	DQ4	DR4	DR11	DR7	DR8	29
11S7	toutes techniques confondues	N													1
11S7	Lymphocytotoxicité	N													
11S7	ELISA sur antigène isolé	na													
11S7	ELISA sur panel	na													
11S7	fluorimétrie sur billes sur panel	N													
11S7	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N													1
11S8	toutes techniques confondues	N													4
11S8	Lymphocytotoxicité	N													
11S8	ELISA sur panel	na													
11S8	ELISA sur antigène isolé	na													
11S8	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N													4
11S8	fluorimétrie sur billes sur panel	N													
11S9	toutes techniques confondues	N													5
11S9	Lymphocytotoxicité	N													
11S9	ELISA sur panel	na													
11S9	ELISA sur antigène isolé	na													
11S9	fluorimétrie sur billes sur panel	N													
11S9	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N													5
11S10	toutes techniques confondues		II	G		DR17	DR13	DR14							25
11S10	Lymphocytotoxicité		II	G		na									
11S10	ELISA sur antigène isolé	na													
11S10	ELISA sur panel	na													
11S10	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		II	G		DR17	DR18	DR13	DR14						23
11S10	fluorimétrie sur billes sur panel		II	G		DR17	DR13								5

(*) : NC : non consensus

na : non applicable (en particulier si effectif <3)

(1) : échantillons ; (2) : effectifs

tableau XIV : 11S2 – détail des identifications anticorps anti-HLA classe I

échantillon	spécificité	méthodes d'identification (*)		nb identifications
		fluorimétrie sur billes sur panel (5 utilisateurs)	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé (20 utilisateurs)	
11S2	A2		X	11
11S2	A2	X		2
11S2	A2	X	X	3
11S2	A23		X	1
11S2	A23	X	X	1
11S2	A24		X	1
11S2	A24	X	X	2
11S2	A68		X	11
11S2	A68	X		2
11S2	A68	X	X	2
11S2	A69		X	11
11S2	A69	X	X	2
11S2	A80		X	18
11S2	B18		X	1
11S2	B49		X	1

(*) : aucune autre méthode d'identification citée par les laboratoires pour cet échantillon

Bilan annuel

Pour permettre à chaque laboratoire de faire un bilan annuel de ses performances pour la recherche et l'identification des anticorps anti-HLA, un outil d'évaluation a été mis en place : indice de performance (IP_{HLA}). Pour cet indice de performance, les recherches et identifications des anticorps anti-HLA classe I sont évaluées séparément de celles des anti-HLA classe II. Cette évaluation tient compte de l'état de l'art ; aussi, est-elle fondée sur les résultats trouvés par les laboratoires et pour les échantillons pour lesquels un consensus 75% a pu être dégagé. Le consensus 75% retenu pour l'évaluation de la performance est celui obtenu toutes techniques confondues (lymphocytotoxicité, fluorimétrie sur billes et ELISA). Depuis 2008, les indices de performance ont été calculés selon la même procédure ; les scores attribués en fonction des écarts constatés sont présentés dans le tableau XIV pour les recherches des anticorps anti-HLA et dans le tableau XV pour les identifications.

tableau XIV : scores IP_{HLA} –recherche

Dépistage anticorps anti-HLA classe I (*)	Score
Conforme au consensus 75%	1
Erroné par rapport au consensus 75%	0

(*) : idem pour le dépistage des anti-HLA classe II

tableau XV : scores IP_{HLA} –identification

Pourcentage d'identification d'une spécificité (*)	Score
[75 – 100]	5
[50 – 75[3
]50 – 5]	0
[0 – 5[-1

(*) : les spécificités larges sont scorées en tenant compte des différents sous types (ex. B12 = B44 + B45)

La description statistique des indices de performance calculés pour 2011 figure dans le tableau XVI pour les recherches d'anticorps anti-HLA et dans le tableau XVII pour les identifications. Les scores attribués sont détaillés par spécificité dans l'annexe 1.

tableau XVI – statistiques indice de performance – détection anticorps anti-HLA 2010 et 2011

	2010		2011	
	anti-classe I	anti-classe II	anti-classe I	anti-classe II
n	31	31	33	33
minimum	60%	80%	80,00%	90,00%
maximum	100%	100%	100,00%	100,00%
centile 10	80%	90%	90,00%	90,00%
1er quartile	90%	100%	90,00%	100,00%
médiane	100%	100%	100,00%	100,00%
3ème quartile	100%	100%	100,00%	100,00%
centile 90	100%	100%	100,00%	100,00%

tableau XVII – statistiques indice de performance – identification anticorps anti-HLA 2010 et 2011

	2010		2011	
	anti-classe I	anti-classe II	anti-classe I	anti-classe II
n	31	31	30	30
minimum	14,7%	11,2%	14,3%	12,0%
maximum	96,2%	100,0%	98,6%	100,0%
centile 10	59,0%	72,2%	63,9%	79,4%
1er quartile	76,3%	81,7%	75,3%	87,5%
médiane	82,7%	92,9%	88,5%	93,5%
3ème quartile	90,4%	98,2%	93,1%	96,9%
centile 90	92,3%	100,0%	96,7%	100,0%

Commentaires

Détection des anticorps anti-HLA

Pour cette opération, tous les laboratoires ont déclaré utiliser la fluorimétrie sur billes. La fluorimétrie sur billes, technique dite « sensible », est déclarée être utilisée en association avec la lymphocytotoxicité dans 60% des cas (20/32) sans doute pour la détection des IgM. Les résultats sont satisfaisants avec un indice de performance médian à 100%.

Identification des anticorps anti-HLA

L'augmentation de l'indice de performance médian pour la classe I de 82,7 à 88,5% (bien que non statistiquement significative) peut être expliquée, en partie, par la modification des bordereaux-réponses qui a porté à 20 (au lieu de 10) le nombre maximal de spécificités que les laboratoires peuvent rendre par classe et par échantillon.

Pour la classe II, le score médian 93,9% est comparable à celui calculé en 2010 (92,9%) ; la limitation du nombre d'anticorps aux dix les plus probables n'avait vraisemblablement pas d'impact pour les anticorps de classe II (cf. Annales Histocompatibilité 2010).

Désormais, le laboratoire dispose d'un bordereau-réponse « principal » sur lequel il reporte, pour chaque échantillon, au maximum 10 anticorps par classe et d'un bordereau-réponse « complémentaire » qu'il utilise uniquement pour les échantillons pour lesquels il a identifié plus de 10 anticorps par classe. On rappelle que le laboratoire doit reporter les anticorps les plus probables selon son interprétation des niveaux de signal obtenus par l'une et/ou l'autre technique. Ce bordereau-réponse « complémentaire » a été largement utilisé, seuls deux laboratoires sur les 30 n'ont pas eu besoin d'y recourir.

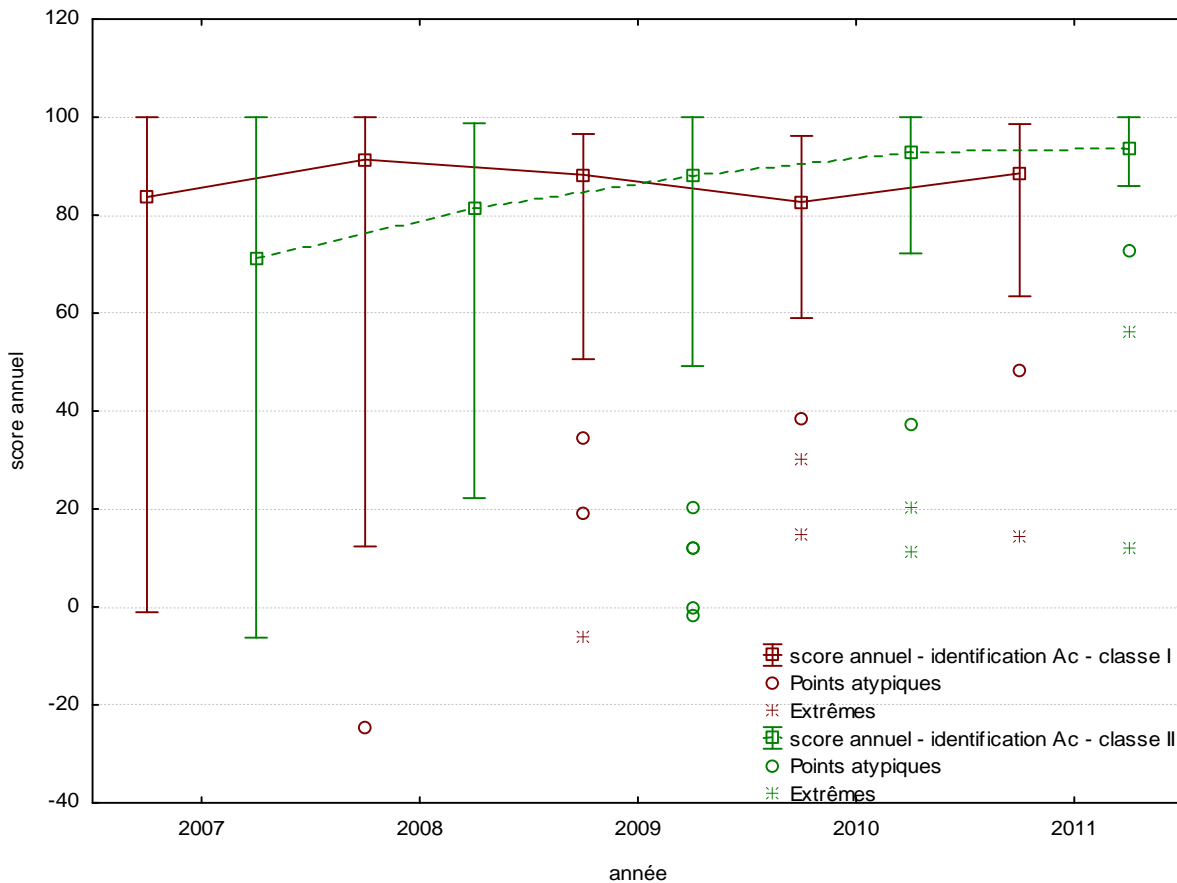
Les techniques utilisées permettent de détecter probablement plus de 20 anticorps dans certains échantillons avec des niveaux de signal qui sont interprétés différemment d'un laboratoire à l'autre (cf. Annales

histocompatibilité 2009) et en tenant plus ou moins compte des résultats des autres techniques éventuellement utilisées.

Pour cette opération, la fluorimétrie sur billes (panel ou antigènes isolés) est très largement utilisée pour identifier les anticorps anti-HLA de classe I et quasiment la seule utilisée pour les anticorps « anti-classe II » ; seul un laboratoire rapporte avoir identifié un anticorps anti-DR7 en utilisant la lymphocytotoxicité.

La figure II montre l'évolution des scores « identification des anticorps anti-HLA » depuis leur mise en place en 2007. L'interprétation de la figure doit prendre en compte l'évolution des techniques et la variabilité des échantillons testés d'une année à l'autre.

Figure 2 : Scores « identification anticorps anti-HLA » - 2007 à 2011



nota :

- valeurs atypiques : valeurs en dehors d'un intervalle égal à $1,5 \times (3^{\text{ème}} \text{ quartile} - 1^{\text{er}} \text{ quartile})$
- valeurs extrêmes : valeurs en dehors d'un intervalle égal à $3 \times (3^{\text{ème}} \text{ quartile} - 1^{\text{er}} \text{ quartile})$

Conclusion

Pour la détection et l'identification des anti-HLA, la technique ELISA est quasiment totalement abandonnée au profit de la fluorimétrie sur billes. Les résultats sont homogènes concernant la détection des anti-HLA tandis que des disparités sont observées pour l'identification. Les différentes techniques d'identification donnent des consensus 75% différents mais cohérents si l'on tient compte de la « sensibilité » et de la « spécificité » de chaque technique. Les performances sont globalement satisfaisantes dans l'état de l'art actuel.

Cross-matches HLA

XMH020, XMH021 vis à vis de 11S1 à 11S10 (cf. chapitre précédent)

Méthode statistique et expression des résultats

Les cross-matches sont réalisés contre des lymphocytes T et B avec et sans agent réducteur pour détecter les IgG et les IgM. Les résultats sont exprimés de la façon suivante : négatif (N) ou positif contre les lymphocytes T et/ou B avec des IgG (PG) et/ou IgM (PM ou PGM). Pour un cross-match, le consensus 75% correspond au résultat exprimé par au moins 75% des laboratoires.

Il faut préciser que les données des laboratoires sont traitées une deuxième fois après l'édition des comptes-rendus individuels ; ainsi, les consensus 75% obtenus dans un premier temps peuvent être affinés. Les consensus 75% qui figurent dans ce document peuvent être différents de ceux déjà publiés.

Scores cross-match HLA

Pour un laboratoire donné, pour chaque échantillon, deux scores sont calculés : un « score maximum » fonction des analyses réalisées sur l'échantillon et un « score observé » fonction des écarts constatés par rapport au consensus 75%. Cette démarche n'est appliquée que lorsqu'un consensus 75% a pu être dégagé.

Indice de performance

L'indice de performance (IP) est calculé et rendu en pourcentage (%). Il correspond au rapport entre la somme des « scores observés » du laboratoire et la somme des « scores maximum » : $100 \times \frac{\text{somme « scores observés »}}{\text{somme « scores maximum »}}$.

Définition des échantillons

Les échantillons XMH020 et XMH021 (sang) correspondent aux cellules des donneurs à tester avec les sérums 11S1 à 11S10, correspondant aux sérums des receveurs. Les typages HLA, par biologie moléculaire, (tableau XIX) ont été communiqués aux laboratoires sur le site internet de l' Afssaps.

tableau XIX - définition des échantillons : typage HLA

	HLA-A*		HLA-B*		HLA-C*		HLA-DRB1*		HLA-DQB1*	
XMH020	02	23	44	51	04	16	01	15	05	06
XMH021	11	29	35	44	04	16	07	14	02	05

Résultats des participants

Les techniques utilisées *a priori* sont : la lymphocytotoxicité [LCT] par 27 laboratoires, la lymphocytotoxicité sensibilisée à l'antiglobuline [LAG] par 7 laboratoires et la cytofluorimétrie [CYT] par 4 laboratoires. Les laboratoires utilisent une ou plusieurs techniques. Il faut préciser que certains laboratoires reportent, sur le bordereau-réponse dédié aux méthodes et réactifs, toutes les méthodes (tous les réactifs) dont ils disposent sans pour autant les mettre en œuvre pour analyser les échantillons de l'opération.

Les résultats des laboratoires, résumés par le consensus 75%, sont présentés dans le tableau XX.

Commentaires

Sur 20 cross-matches réalisés, 80% obtiennent un résultat en consensus en lymphocytotoxicité [LCT] (lymphocytes T et/ou B). Pour des techniques de sensibilité « équivalentes », on observe une bonne concordance entre le cross-match théorique (concordance entre les anticorps anti-HLA identifiés dans les échantillons 11S... et les antigènes HLA identifiés sur les cellules des échantillons XMH...) et le cross-match observé. On remarque que le consensus 75% n'a été atteint, en lymphocytotoxicité, que pour les cross-matches négatifs.

Bilan annuel

Pour permettre à chaque laboratoire de faire un bilan annuel de ses performances pour le dépistage et l'identification des anticorps anti-HLA, un outil d'évaluation a été mis en place en 2008 : indice de performance (IP_{HLA}). Pour cet indice de performance, les cross-matches des lymphocytes T sont évalués séparément de ceux des lymphocytes B. Cette évaluation tient compte de l'état de l'art ; aussi, est-elle fondée sur les résultats trouvés par les laboratoires et pour les échantillons pour lesquels un consensus 75% a pu être dégagé. Le consensus 75% retenu pour l'évaluation de la performance est celui obtenu avec la technique par lymphocytotoxicité « standard », non sensibilisée à l'antiglobuline ; par conséquent, seuls les cross-matches obtenus par lymphocytotoxicité « standard » sont évalués. Les indices de performance ont été calculés selon la même procédure que les années précédentes ; les scores attribués en fonction des écarts constatés sont présentés dans le tableau XXI.

tableau XXI : scores IP_{HLA} –cross-match

Cross-match HLA – lymphocytes T (*)	Score
Conforme au consensus 75% (**)	1
Erroné par rapport au consensus 75%	0

(*) : idem pour les cross-match des lymphocytes B

(**) : quels que soient les isotypes détectés

La description statistique des indices de performance calculés pour 2011 figure dans le tableau XXII. Les variations de l'indice de performance médian pour les cross-matches entre 2010 et 2011, doivent être considérées avec quelques réserves. En effet, on a constaté d'une part que le pourcentage de consensus 75% atteints est en baisse par rapport à 2010 (85% en 2010 et 80% en 2011) et, d'autre part, que ces consensus n'ont été atteints que dans les cas de cross-matches négatifs. De plus, sept laboratoires sur les 30 ont fait des remarques sur la qualité des échantillons (nombre de cellules viables) ; ils étaient cinq sur 30 en 2010 et trois sur 31 en 2009 à faire le même type de remarques.

tableau XXII – statistiques indice de performance – cross-match HLA 2010 et 2011

	2010		2011	
	lymphocytes T	lymphocytes B	lymphocytes T	lymphocytes B
n	26	24	25	21
minimum	76,5%	71,4%	87,5%	69,2%
maximum	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
centile 10	82,4%	78,6%	87,5%	84,6%
1er quartile	88,2%	89,3%	93,8%	92,3%
médiane	94,1%	100,0%	100,0%	92,3%
3ème quartile	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
centile 90	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Conclusion

La majorité des laboratoires utilise la lymphocytotoxicité pour réaliser les cross-matches. Les indices de performance obtenus en 2011 sont satisfaisants ; toutefois, il faut noter qu'ils ont été calculés sur des échantillons ne présentant pas d'anticorps lymphocytotoxiques dirigés contre les cellules cibles. Pour chaque laboratoire, l'indice de performance doit être interprété en fonction du contexte dans lequel le laboratoire réalise ces analyses.

Bibliographie

- 1- Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. Marshet al. Tissue Antigens 2010; 75:291
[\(http://hla.alleles.org/\)](http://hla.alleles.org/)

Annexes

Annexe 1 : Identification des anticorps anti-HLA - détail des scores par spécificité

échantillon	classe	spécificité identifiée par les laboratoires	nb laboratoires ayant identifié la spécificité	pourcentage d'identification	score 'spécificité' (1)	score 'maximum'
11S1	Classe I	A2	29	100,0%	5	
		B57	20	69,0%	5	
		B58	18	62,1%	3	
		B55	27	93,1%	5	
		B56	25	86,2%	5	
		B27	29	100,0%	5	
		B42	27	93,1%	5	
		B67	21	72,4%	3	
		B7	29	100,0%	5	
		B81	27	93,1%	5	
		B82	25	86,2%	5	
51						
11S1	Classe II	DR1	30	100,0%	5	
		DR10	29	96,7%	5	
		DR103	26	86,7%	5	
		DR4	28	93,3%	5	
		DR51	19	63,3%	3	
		DR53	18	60,0%	3	
		DR9	29	96,7%	5	
31						
11S2	Classe I	A2	16	72,7%	3	
		A68	15	68,2%	3	
		A69	13	59,1%	3	
		A80	18	81,8%	5	
14						
11S2	Classe II	DQ7	26	86,7%	5	
		DQ8	26	86,7%	5	
		DQ9	26	86,7%	5	
		DR4	30	100,0%	5	
		DR7	25	83,3%	5	

échantillon	classe	spécificité identifiée par les laboratoires	nb laboratoires ayant identifié la spécificité	pourcentage d'identification	score 'spécificité' (1)	score 'maximum'
		DR9	23	76,7%	5	
						30

11S3	Classe I	A32	15	50,0%	3	
		B13	27	90,0%	5	
		B77	20	66,7%	5	
		B62	18	60,0%	3	
		B76	14	46,7%	3	
		B63	13	43,3%	3	
		B75	12	40,0%	3	
		B57	17	56,7%	3	
		B49	20	66,7%	5	
		B27	26	86,7%	5	
		B61	19	63,3%	5	
		B60	13	43,3%	3	
		B47	25	83,3%	5	
		B7	17	56,7%	3	
		B81	15	50,0%	3	
						57

11S4	Classe I	A1	22	75,9%	5	
		A25	22	75,9%	5	
		A11	21	72,4%	3	
		A36	17	58,6%	3	
		A80	18	62,1%	3	
		B75	24	82,8%	5	
		B63	20	69,0%	3	
		B77	19	65,5%	3	
		B49	17	58,6%	5	
		B50	16	55,2%	3	
		B56	25	86,2%	5	
		B35	29	100,0%	5	
		B51	20	69,0%	5	
		B52	12	41,4%	3	
		B53	29	100,0%	5	
		B71	19	65,5%	3	
		B78	26	89,7%	5	
						69

11S4	Classe II	DQ9	26	86,7%	5	
		DQ7	26	86,7%	5	
		DQ8	25	83,3%	5	
		DR16	29	96,7%	5	
		DR17	25	83,3%	5	
		DR18	17	56,7%	3	
		DR11	29	96,7%	5	
		DR12	28	93,3%	5	
		DR13	29	96,7%	5	
		DR7	20	66,7%	3	
		DR8	29	96,7%	5	

11S5	Classe II	DR7	29	100,0%	5	
------	-----------	-----	----	--------	---	--

échantillon	classe	spécificité identifiée par les laboratoires	nb laboratoires ayant identifié la spécificité	pourcentage d'identification	score 'spécificité' (1)	score 'maximum'
						5

11S6	Classe I	A32	18	60,0%	3	59
		B13	24	80,0%	5	
		B27	29	96,7%	5	
		B60	28	93,3%	5	
		B61	27	90,0%	5	
		B41	27	90,0%	5	
		B42	25	83,3%	5	
		B47	29	96,7%	5	
		B48	25	83,3%	5	
		B7	30	100,0%	5	
		B73	21	70,0%	3	
		B8	15	50,0%	3	
		B81	29	96,7%	5	

11S6	Classe II	DQ2	29	96,7%	5	48
		DQ7	27	90,0%	5	
		DQ9	27	90,0%	5	
		DQ8	26	86,7%	5	
		DQ4	25	83,3%	5	
		DR4	28	93,3%	5	
		DR11	30	100,0%	5	
		DR13	19	63,3%	3	
		DR7	29	96,7%	5	
		DR8	29	96,7%	5	

11S7	Classe I	A29	28	93,3%	5	96
		B62	28	93,3%	5	
		B75	27	90,0%	5	
		B63	27	90,0%	5	
		B77	24	80,0%	5	
		B39	15	50,0%	3	
		B57	21	70,0%	5	
		B58	20	66,7%	5	
		B49	23	76,7%	5	
		B50	21	70,0%	5	
		B56	24	80,0%	5	
		B54	22	73,3%	5	
		B35	30	100,0%	5	
		B51	23	76,7%	5	
		B52	18	60,0%	5	
		B53	30	100,0%	5	
		B67	17	56,7%	3	
		B72	23	76,7%	5	
		B71	22	73,3%	5	
		B78	27	90,0%	5	

11S8	Classe I	A25	29	96,7%	5	
		A32	29	96,7%	5	

échantillon	classe	spécificité identifiée par les laboratoires	nb laboratoires ayant identifié la spécificité	pourcentage d'identification	score 'spécificité' (1)	score 'maximum'
		A23	25	83,3%	5	
		A24	24	80,0%	5	
		B44	22	73,3%	3	
		B13	24	80,0%	5	
		B63	26	86,7%	5	
		B77	23	76,7%	5	
		B38	21	70,0%	3	
		B57	22	73,3%	5	
		B58	22	73,3%	5	
		B49	26	86,7%	5	
		B27	23	76,7%	5	
		B37	25	83,3%	5	
		B47	23	76,7%	5	
		B51	24	80,0%	5	
		B52	21	70,0%	5	
		B53	25	83,3%	5	
		B59	19	63,3%	3	
						89

11S10	Classe II	DR1	15	60,0%	3	
		DR17	23	92,0%	5	
		DR18	16	64,0%	3	
		DR4	14	56,0%	3	
		DR11	18	72,0%	3	
		DR13	23	92,0%	5	
		DR14	20	80,0%	5	

(1) : tient compte des sous-types et de leur spécificité "large" quand elle a été rendue par les laboratoires