

# Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

**Histocompatibilité**

**15HLA1**

**Juin 2015**

**Typage HLA**

**Anticorps anti-HLA : détection et identification, cross-match**

**Octobre 2017**

Anne GUYARD (Ansm)  
Chantal GAUTREAU (Hôpital Saint-Louis - Paris)  
Pascale LOISEAU (Hôpital Saint-Louis - Paris)

Expédition : 10 juin 2015

Clôture : 6 juillet 2015

Edition des compte-rendus individuels : 17 décembre 2015 (typage et cross-match) et 7 juillet 2016 (anticorps)

Paramètres contrôlés : **Typage HLA : TYP235, TYP236, BML025, BML026**

**Cross-match HLA : XMH028 et XMH029**

**Recherche et identification d'anticorps anti-HLA : 15S1, 15S2, 15S3 et 15S4**

Nombre de laboratoires concernés\* : 34

Nombre de laboratoires participants\*\* : 33

\* 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 de l'opération

L'opération 15HLA1 comportait pour le typage HLA en « sérologie » (lymphocytotoxicité) 2 échantillons de sang frais (TYP235 et TYP236) et pour le typage HLA en biologie moléculaire les 2 échantillons TYP235 et TYP236, ainsi que 2 échantillons d'ADN déjà extrait (BML025 et BML026). 33 laboratoires ont participé au typage HLA (sérologie et/ou biologie moléculaire). Le niveau de performance des laboratoires pour le typage par sérologie et biologie moléculaire reflète le maintien de la qualité des typages HLA.

Pour les analyses qui concernent les anticorps anti-HLA, les laboratoires ont reçu 4 sérums (15S1 à 15S4) pour détection et identification d'anticorps anti-HLA (25 participants) et 2 échantillons de sang frais (XMH028 et XMH029) pour cross-matches (21 participants). Les résultats des laboratoires pour ces deux analyses sont cohérents et globalement homogènes.

## Typage HLA

### Echantillons TYP235, TYP236, BML025, BML026

## 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.

## Définition des échantillons

Les échantillons TYP235 et TYP236 sont des échantillons de sang total, les échantillons BML025 et BML026 sont des échantillons d'ADN déjà extrait.

Chaque échantillon a été typé en biologie moléculaire, cependant, certaines ambiguïtés n'ont pas pu être levées au moment de la publication de ce document. Les résultats figurent dans le tableau I et sont exprimés en fonction de la nomenclature internationale au moment de l'opération (1).

**tableau I** – résultats des échantillons « typage HLA »

Echantillon	HLA-	Allèles (*)	
TYP235	A*	03:01	30:01
	B*	13:02	35:01 ou 35:42
	C*	04:01	06:02 ou 06:83
	DRB1*	04:08	11:01 ou 11:97
	DRB3*	02:02	-
	DRB4*	01:03	-
	DRB5*		
	DQA1*	03:02 ou 03:03	05:05 ou 05:09/11
	DQB1*	03:01	-
	DPB1*	04:01 ou 105:01	04:02 ou 126:01
TYP236	A*	01:01	68:01
	B*	35:03	57:01
	C*	04:01	06:02 ou 06:83
	DRB1*	13:01 ou 13:117	15:01
	DRB3*	01:01	-
	DRB4*		
	DRB5*	01:01	-
	DQA1*	01:02 ou 01:08/09/11	01:03 ou 01:10
	DQB1*	06:03 ou 06:28	05:02 ou 05 :05
	DPB1*	03:01 ou 14:01/104:01	09:01 ou 88:01
BML025	A*	03:01	31:01
	B*	35:03	44:04
	C*	04:01	16:01
	DRB1*	11:01 ou 11:97	-
	DRB3*	02:02	
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	05:05 ou 05:09/11	-
	DQB1*	03:01	-
	DPB1*	04:01	-
BML026	A*	02:01	68:01
	B*	39:01	56:01
	C*	01:02	12:03
	DRB1*	16:01	-
	DRB3*		
	DRB4*		
	DRB5*	02:02	-
	DQA1*	01:02 ou 01:08/09/11	-
	DQB1*	05:02	-
	DPB1*	04:01	-

## Résultats des participants

Les échantillons de sang frais (TYP235 et TYP236) ont été envoyés aux laboratoires pratiquant la « sérologie » et les échantillons d'ADN déjà extrait (BML025 et BML026) aux laboratoires pratiquant la biologie moléculaire, un certain nombre de laboratoire pratiquant les 2 techniques.

Ainsi, le typage en « sérologie » a été rendu par 19 laboratoires (TYP235-TYP236). Le typage en biologie moléculaire a été rendu par 22 laboratoires sur les échantillons TYP235-TYP236 et 31 laboratoires sur les échantillons BML025-BML026.

Les réactifs de « sérologie » (échantillons TYP235 et TYP236) utilisés par les laboratoires figurent dans le tableau II. Les réactifs de biologie moléculaire (échantillons TYP235, TYP236 et/ou BML025, BML026) figurent dans le tableau III. Les effectifs tiennent compte de 1 à 4 échantillons testés avec 1, voire 2, réactifs.

tableau II : réactifs de « sérologie » - lymphocytotoxicité - Plaques (typage) (2 échantillons avec 1 ou 2 réactifs)

Distributeur	Réactif	Effectif
<b>HLA-A</b>		
INGEN	PLAQUES MONOCLONALES DE TYPAGE CLASSE I	36
—	Réactif de typage non précisé ou mal codé (lymphocytotoxicité)	2
<b>HLA-B</b>		
INGEN	PLAQUES MONOCLONALES DE TYPAGE CLASSE I	36
—	Réactif de typage non précisé ou mal codé (lymphocytotoxicité)	2
<b>HLA-DQ</b>		
INGEN	PLAQUES MONOCLONALES DE TYPAGE HLA CLASSE II	21
MEDIANE DIAGNOSTICS	BAG Healthcare HISTO Tray DR 72 (10)	2
—	Réactif de typage non précisé ou mal codé (lymphocytotoxicité)	2
<b>HLA-DR</b>		
INGEN	PLAQUES MONOCLONALES DE TYPAGE HLA CLASSE II	21
MEDIANE DIAGNOSTICS	BAG Healthcare HISTO Tray DR 72 (10)	2
—	Réactif de typage non précisé ou mal codé (lymphocytotoxicité)	2

tableau III : réactifs - biologie moléculaire (1 à 4 échantillons avec 1 ou 2 réactifs)

Distributeur	Réactif	Effectif
<b>HLA-A*</b>		
ABBOTT DIAGNOSTIC	ATRIA GENETICS HLA-A SBT PACK	6
BIONOBIS	HLA COMBI ABDR	5
BIONOBIS	HLA COMBI ABC	8
BIONOBIS	HLA-A* high resolution....allèles spécifiques	8
BIONOBIS	HLA-A low resolution	12
INGEN	LABTYPE SSO A LOCUS TYPING	24
INGEN	MICRO SSP TYPAGE GÉNÉRIQUE HLA CLASSE I - LOCI A, B, C	2
INGEN	MICRO SSP TYPAGE GÉNÉRIQUE HLA CLASSE I - LOCUS A	2
INGEN	LABTYPE HD CLASS I A TYPING TEST	38
INNOGENETICS	INNO-LIPA HLA-A Update	2
MEDIANE DIAGNOSTICS	PROTRANS S4 - HLA-A Cyclerstrips	4
—	PCR-SEQ (protocole "local")	2
<b>HLA-B*</b>		
ABBOTT DIAGNOSTIC	ATRIA GENETICS HLA-B SBT PACK	5
ABBOTT DIAGNOSTIC	ATRIA GENETICS HLA-C SBT PACK	1
BIONOBIS	HLA COMBI ABC	8
BIONOBIS	HLA COMBI ABDR	5
BIONOBIS	HLA-B low resolution	16
BIONOBIS	HLA-B* high resolution .... allèles spécifiques	8
INGEN	MICRO SSP TYPAGE GÉNÉRIQUE HLA CLASSE I - LOCI A, B, C	3
INGEN	LABTYPE SSO B LOCUS TYPING	21
INGEN	MICRO SSP TYPAGE GÉNÉRIQUE HLA CLASSE I - LOCUS B	2
INGEN	LABTYPE HD CLASS I B TYPING TEST	38
INNOGENETICS	INNO-LIPA HLA-B Update plus	2
MEDIANE DIAGNOSTICS	PROTRANS S4 - HLA-B Cyclerstrips	4
—	PCR-SEQ (protocole "local")	2
<b>HLA-C*</b>		
ABBOTT DIAGNOSTIC	ATRIA GENETICS HLA-C SBT PACK	6
BIONOBIS	HLA COMBI ABC	8
BIONOBIS	HLA-C low resolution	12
BIONOBIS	HLA-C high resolution.... allèles spécifiques	8
INGEN	MICRO SSP TYPAGE GÉNÉRIQUE HLA CLASSE I - LOCUS C	2
INGEN	MICRO SSP TYPAGE GÉNÉRIQUE HLA CLASSE I - LOCI A, B, C	3
INGEN	LABTYPE HD CLASS I C TYPING TEST	32
INGEN	LABTYPE SSO C LOCUS TYPING	19

MEDIANE DIAGNOSTICS	PROTRANS S4 - HLA-C Cylerstrips	4
_	PCR-SEQ (protocole "local")	2
<b>HLA-DQA1*</b>		
BIONOBIS	HLA-DQA1	6
BIONOBIS	HLA-DQ high resolution.... allèles spécifiques	4
INGEN	LABTYPE SSO DQA1/DQB1 LOCUS TYPING	34
INGEN	LABTYPE SSO DQA1 LOCUS TYPING	4
<b>HLA-DQB1*</b>		
ABBOTT DIAGNOSTIC	ATRIA GENETICS HLA-DQB1 SBT PACK	2
BIONOBIS	HLA-DQ low resolution	15
BIONOBIS	HLA-DQ high resolution.... allèles spécifiques	12
BIONOBIS	HLA COMBI DQ-DR	12
INGEN	MICRO SSP TYPAGE GENERIQUE HLA CLASSE II (DRB/DQB)	2
INGEN	LABTYPE SSO DQA1/DQB1 LOCUS TYPING	55
INGEN	LABTYPE SSO DQB1 LOCUS TYPING	4
INNOGENETICS	INNO-LIPA HLA-DQB1 Update	2
MEDIANE DIAGNOSTICS	PROTRANS S3 - HLA-DQB1 Cylerstrips	4
<b>HLA-DRB1*</b>		
ABBOTT DIAGNOSTIC	ATRIA GENETICS HLA-DRB1 SBT PACK	6
BIONOBIS	HLA COMBI DQ-DR	10
BIONOBIS	HLA COMBI ABDR	5
BIONOBIS	HLA-DR low resolution	10
BIONOBIS	HLA-DR high resolution.... allèles spécifiques	9
INGEN	MICRO SSP TYPAGE GENERIQUE HLA CLASSE II (DRB/DQB)	4
INGEN	LABTYPE HD DRB1	44
INGEN	LABTYPE SSO DRB1 LOCUS TYPING	14
INNOGENETICS	INNO-LIPA HLA-DRB1 plus	2
MEDIANE DIAGNOSTICS	PROTRANS S4 - HLA-DRB1 Cylerstrips	4
_	PCR-SEQ (protocole "local")	2
<b>HLA-DRB3*</b>		
BIONOBIS	HLA-DRB3	20
BIONOBIS	HLA COMBI DQ-DR	1
INGEN	LABTYPE SSO DRB3,4,5 LOCUS TYPING	8
_	PCR-SEQ (protocole "local")	3
<b>HLA-DRB4*</b>		
BIONOBIS	HLA-DRB4	9
INGEN	LABTYPE SSO DRB3,4,5 LOCUS TYPING	5
<b>HLA-DRB5*</b>		
BIONOBIS	HLA-DRB5	18
BIONOBIS	HLA COMBI DQ-DR	1
INGEN	LABTYPE SSO DRB3,4,5 LOCUS TYPING	6
<b>HLA-DPB1*</b>		
ABBOTT DIAGNOSTIC	ATRIA GENETICS HLA-DPB1 SBT PACK	2
BIONOBIS	HLA-DPB1	28
INGEN	LABTYPE SSO DPB1 LOCUS TYPING	8
INGEN	LABTYPE SSO DPA1/DPB1	12
INVITROGEN	ALLSET GOLD HLA-DPB1 "HIGH RESOLUTION" - SSP	5

Les résultats obtenus par les laboratoires, résumés par les consensus 75 % (tableaux IV et V), 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 IV).

Pour la biologie moléculaire (tableau V), le consensus 75 % a été obtenu au niveau minimum de définition générique pour tous les échantillons pour les loci HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3, -DRB4, -DQA1, -DQB1 et DPB1.

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

**tableau IV** - consensus 75% typage HLA par lymphocytotoxicité

Echantillon	HLA-	Allèles	
TYP235	A	3	30
	B	13	35
	DR	11	4
	DQ	-	7
TYP236	A	1	68
	B	35	57
	DR	13	15
	DQ	-	1

**tableau V** - consensus 75% typage HLA par biologie moléculaire

Echantillon	Consensus 75% tous typages confondus		
	HLA-	Allèles	
TYP235	A*	03	30
	B*	13	35
	C*	04	06
	DRB1*	04	11
	DRB3*		02
	DRB4*		01
	DRB5*		
	DQA1*	03	05
	DQB1*		03
	DPB1*	04	04
TYP236	A*	01	68
	B*	35	57
	C*	04	06
	DRB1*	13	15
	DRB3*		01
	DRB4*		
	DRB5*		01:01
	DQA1*	01	01
	DQB1*	05	06
	DPB1*	03	09:01
BML025	A*	03	31
	B*	35	44
	C*	04	16
	DRB1*		11
	DRB3*		02
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*		05
	DQB1*		03
	DPB1*		04:01
BML026	A*	02	68
	B*	39	56
	C*	01	12
	DRB1*		16
	DRB3*		
	DRB4*		
	DRB5*		02:02

	DQA1*		01
	DQB1*		05
	DPB1*		04:01

NC : non consensus

na : non applicable (effectif <3)

## Commentaires

### Etude des discordances :

- « sérologie »

Les résultats figurent dans le tableau VI. En tout, 10 discordances ont été relevées par rapport au consensus 75% sur les antigènes HLA-A, -B, -DR, -DQ. Ainsi, on constate :

- au locus HLA-A (38 typages en tout) : 4 discordances par défaut de sous-typage
- au locus HLA-B (38 typages en tout) : 2 discordances par défaut de définition
- au locus HLA-DR (25 typages en tout) : 3 discordances par défaut de sous-typage
- au locus HLA-DQ (25 typages en tout) : 1 discordance par défaut de sous-typage

Rapporté au nombre total de typages effectués, le taux de discordance est de 7,9% (5,2 % en 2014 et 2011). Par rapport aux années antérieures, le taux de discordance est variable selon les antigènes. La variation du taux de discordance peut être fonction de la difficulté de caractérisation de certains antigènes présents sur les cellules à typer. On n'observe pas d'amélioration des réactifs pour la définition des sous-types par sérologie. Il est à noter que le nombre de typages dans le cadre du CNQ a nettement diminué depuis 2014.

**tableau VI** - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par « sérologie » de 2008 à 2015

HLA-	Taux de discordance (*)					
	2015	2014	2011	2010	2009	2008
A	10,5 % (4/38)	0% (0/50)	4,2% (13/311)	3,5% (11/314)	1,6% (5/313)	1,4% (4/283)
B	5,3 % (2/38)	4,0% (2/50)	8,4% (26/311)	4,5% (14/312)	6,1% (19/313)	6,1% (17/280)
DR	12 % (3/25)	11,1% (4/36)	3,3% (8/242)	6,6% (16/241)	1,6% (4/253)	3,5% (7/199)
DQ	4 % (1/25)	8,3% (3/36)	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 VII), on relève sur les loci HLA-A, -B, -C, -DRB1 et -DQB1 :

- au locus HLA-A (102 typages) : 1 discordance par défaut de définition du typage
- au locus HLA-B (102 typages) : aucune discordance
- au locus HLA-C (86 typages) : 1 discordance correspondant à une ambiguïté hors nomenclature HLA
- au locus HLA-DRB1 (100 typages) : 2 discordances correspondant à des ambiguïtés hors nomenclature HLA
- au locus HLA-DQB1 (100 typages) : 4 discordances correspondant à des ambiguïtés hors nomenclature HLA
- au locus DPB1 (48 typages) : 1 discordance par défaut de sous-typage

Rapporté au nombre total de typages effectués par biologie moléculaire, le taux de discordance est de 1,7 % (comparé à 0,8 % en 2014). Ce taux de discordance est lié dans 7 cas sur 9 à des ambiguïtés ne correspondant pas à la nomenclature HLA et rapportées par un même laboratoire.

**tableau VII** - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par biologie moléculaire de 2008 à 2015

HLA-	Taux de discordance (*)					
	2015	2014	2011	2010	2009	2008
A*	1% (1/102)	0% (0/106)	0,6% (2/355)	1% (3/369)	0% (0/351)	0,0% (0/351)
B*	0% (0/102)	0% (0/106)	1,1% (4/355)	1% (4/369)	0% (0/349)	0,6% (2/351)
C*	1,2% (1/86)	1,1% (1/88)	1,5% (5/329)	0% (1/352)	0,3% (1/329)	0,3% (1/306)
DRB1*	2% (2/100)	0% (0/108)	1,1% (4/377)	1% (2/396)	1,3% (5/383)	0,3% (1/382)
DQB1*	4% (4/100)	2,8% (3/107)	3,0% (11/367)	2% (8/393)	4,5% (17/381)	3,2% (12/378)
DPB1*	2,1% (1/48)	-	-	-	-	-

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

## Conclusion

Le niveau de performance des laboratoires pour le typage par sérologie et biologie moléculaire reflète le maintien de la qualité des typages HLA.

## Bibliographie

(1) Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. Marsh et al. Tissue Antigens 2010; 75:291 (<http://hla.alleles.org/>)



# Recherche et identification d'anticorps anti-HLA

## Echantillons 15S1, 15S2, 15S3 et 15S4

### Méthode statistique et expression des résultats

Consensus 75 % : Pour un échantillon donné, le consensus 75% correspond à au moins 75 % des réponses identiques.

### Définition des échantillons

Les caractéristiques des échantillons (sérum) pour la détection (recherche) et l'identification des anticorps anti-HLA de l'opération 15HLA1 correspondent à différents 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 25 laboratoires participants pour la détection des anticorps anti-HLA sont la fluorimétrie sur billes (technologie Luminex) et la lymphocytotoxicité (LCT). Pour l'identification des anticorps anti-HLA, seule la fluorimétrie sur billes est utilisée.

Les tableaux VIII et IX présentent respectivement les différentes méthodes et les réactifs utilisés par les laboratoires.

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

Méthodes	Détection	Identification	
		panel	antigènes isolés
Lymphocytotoxicité	9	-	-
Fluorimétrie sur billes	25	4	25

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

Réactifs		Nombre d'utilisateurs
<b>Lymphocytotoxicité - dépistage et/ou identification</b>		
INGEN	LAMBDA CELL TRAY 30 T Lymphocyte panel	1
SERVIBIO-FRANCE BIOCHEM	Plaques de cellules T congelées "SERASCREEN FCT30"	1
SERVIBIO-FRANCE BIOCHEM	Plaques de cellules T congelées "SERASCREEN FCT60"	2
_	Plaques de sérums tests "locales"	1
_	Réactif de détection d'anticorps "local"	2
_	Réactif non répertorié	2
<b>Fluorimétrie sur billes - dépistage</b>		
INGEN	LABScreen Mixed Class I and II	17
INGEN	LABScreen Mixed	1
TEPNEL	LIFECODES - LifeScreen Deluxe (LMX)	5
_	Réactif de détection d'anticorps non précisé ou mal codé	2

Fluorimétrie sur billes - identification sur antigène isolé		
INGEN	LABScreen Single Antigen HLA Class I Antibody Detection Test - Combiné Groupe 1 (01+02+03)	18
INGEN	LABScreen Single Antigen HLA Class I Antibody Detection Test - Groupe 1 (A/B locus)	2
INGEN	LABScreen Single Antigen HLA Class II Antibody Detection Test - Groupe 1 (DRB1/DRB3,4,5/DQB1/DPB1)	17
INGEN	LABScreen "Singles" - classe I	2
INGEN	LABScreen "Singles" - classe II	2
TEPNEL	LIFECODES LSA - Identification Ac anti-HLA - classe I (LSA1)	4
TEPNEL	LIFECODES LSA - Identification Ac anti-HLA - classe II (LSA2)	4
Fluorimétrie sur billes - identification sur panel		
INGEN	LABScreen PRA Class I ( 55-Class I antigen panel)	1
INGEN	LABScreen PRA Class II (32-Class II antigen panel)	1
TEPNEL	LIFECODES - Identification Ac anti-HLA - classe I	3
TEPNEL	LIFECODES - Identification Ac anti-HLA - classe II	3

## Détection des anticorps anti-HLA

Les résultats obtenus par les laboratoires pour la détection des anticorps anti-HLA figurent dans le tableau X. Le consensus 75% a été atteint en classes I et II pour les 4 échantillons ; le pourcentage de réponses consensuelles varie de 84 à 100% pour la classe I et de 76 à 100% pour la classe II.

**tableau X** – détection des anticorps anti-HLA toutes techniques confondues

Echantillon	Classe I			Classe II		
	positif	négatif	nombre de dépistages	positif	négatif	nombre de dépistages
15S1	25 (100 %)	0	25	25 (100 %)	0	25
15S2	25 (100 %)	0	25	6 (24 %)	19 (76 %)	25
15S3	21 (84 %)	4 (16 %)	25	25 (100 %)	0	25
15S4	2 (8 %)	23 (92 %)	25	0	25 (100 %)	25

Les cellules bleutées correspondent au consensus

## Identification des anticorps anti-HLA

Comme en 2014, le recueil des spécificités identifiées par les laboratoires s'est fait en 2015 sur la base d'une liste incluant 89 spécificités anticorps de classe I et 27 spécificités anticorps de classe II. La fluorimétrie sur billes sur antigène isolé est quasiment la seule technique employée. Quatre laboratoires ont déclaré utiliser la fluorimétrie sur billes sur panel, cependant seuls deux d'entre eux ont rendu des résultats obtenus avec cette technique pour quelques spécificités.

Les spécificités anti-HLA identifiées par au moins 75% des laboratoires sont présentées dans le tableau XI pour les anticorps anti-HLA classe I et dans le tableau XII pour les anticorps anti-HLA classe II.

Le consensus 75% est atteint pour tous les échantillons pour la classe I et la classe II.

Deux échantillons étaient positifs en classe I et classe II (15S1 et 15S3), l'échantillon 15S2 était positif en classe I et l'échantillon 15S4 était négatif.

En outre, il était demandé aux laboratoires pour chaque spécificité d'indiquer si elle aurait été saisie comme antigène permis ou antigène interdit dans le logiciel Cristal de l'agence de Biomédecine dans le cadre de la transplantation d'organe. Cette interprétation était demandée sans tenir compte du typage HLA du receveur non disponible. Les résultats des laboratoires figurent dans le tableau XIII. Chaque spécificité pour laquelle un consensus a pu être atteint par au moins 75 % des réponses figure sous forme d'une cellule grise (spécificité identifiée), verte (antigène permis) ou rouge (antigène interdit). Le tableau XIV présente les pourcentages de spécificités permises et interdites ayant obtenu un consensus 75 % (2).

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

Echantillon	Technique	Anticorps anti-HLA											Effectif	
		Détection*	Identification*											
15S1	toutes techniques confondues ou fluorimétrie sur billes sur antigène isolé :	P	IgG	B44	B45	B13	B76	B18	B27	B37	B47	B82	Cw15	25
				Cw17	Cw18	Cw5	Cw6							
	lymphocytotoxicité	P	IgG	na										
15S2	toutes techniques confondues ou fluorimétrie sur billes sur antigène isolé :	P	IgG	A66	B45	B13	B64	B65	B75	B62	B76	B39	B18	25
				B50	B56	B54	B55	B27	B35	B60	B61	B41	B42	
				B47	B48	B67	B7	B72	B71	B73	B78	B8	B81	
	B82													
lymphocytotoxicité	P	IgG	na											
15S3	toutes techniques confondues ou fluorimétrie sur billes sur antigène isolé :	P	IgG	B45	B44	B76	B75						23	
				lymphocytotoxicité	P	IgG	na							
15S4	toutes techniques confondues ou fluorimétrie sur billes sur antigène isolé :	N												
				lymphocytotoxicité	N									

(\*) : N : négatif ; P : positif ; NC : non consensus ; na : non applicable (en particulier si effectif <3) ; la technique de fluorimétrie sur billes sur panel ne figure pas sur le tableau (effectif <3)

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

Echantillon	Technique	Anticorps anti-HLA											Effectif	
		Détection*	Identification*											
15S1	toutes techniques confondues ou fluorimétrie sur billes sur antigène isolé :	P	IgG	DQ5	DQ6	DQ8	DQ9							25
				lymphocytotoxicité	P	IgG	na							
15S2	toutes techniques confondues ou fluorimétrie sur billes sur antigène isolé :	N												
				lymphocytotoxicité	N									
15S3	toutes techniques confondues ou fluorimétrie sur billes sur antigène isolé :	P	IgG	DR17	DR18	DR12	DR11	DR52	DR14	DR13	DR8		25	
				lymphocytotoxicité	P	IgG	na							
15S4	toutes techniques confondues ou fluorimétrie sur billes sur antigène isolé :	N												
				lymphocytotoxicité	N									

(\*) : N : négatif ; P : positif ; NC : non consensus ; na : non applicable (en particulier si effectif <3) ; la technique de fluorimétrie sur billes sur panel ne figure pas sur le tableau (effectif <3)

tableau XIII - anticorps anti-HLA : spécificités identifiées, antigènes permis, antigènes interdits - consensus 75% (1)

		Sérum 15S1			Sérum 15S2			Sérum 15S3			Sérum 15S4		
Spécificité		Identifiée	Ag permis	Ag interdit	Identifiée	Ag permis	Ag interdit	Identifiée	Ag permis	Ag interdit	Identifiée	Ag permis	Ag interdit
classe I		dépistage positif			dépistage positif			dépistage positif			dépistage négatif		
		n = 25	n = 21	n = 23	n = 25	n = 22	n = 23	n = 23	n = 21	n = 22	n = 11	n = 17	n = 10
A1	A1												
A10	A34												
	A66												
	A25												
	A26												
A11	A11												
A19	A74												
	A33												
	A32												
	A31												
	A30												
	A29												
A2	A2												
A203	A203												
A210	A210												
A2403	A2403												
A28	A69												
	A68												
A3	A3												
A36	A36												
A43	A43												
A80	A80												
A9	A23												
	A24												
B12	B44												
	B45												
B13	B13												
B14	B64												
	B65												
B15	B76												
	B77												
	B75												
	B62												
	B63												
B16	B39												
	B38												
B17	B57												
	B58												
B18	B18												
B21	B50												

	B49								
B22	B54				Grey		Red		
	B56		Green		Grey		Red		
	B55		Green		Grey		Red		
B27	B27	Grey			Grey		Red		
B2708	B2708								
B35	B35				Grey		Red		
B37	B37	Grey				Green			
B3901	B3901								
B3902	B3902								
B40	B60		Green		Grey		Red		
	B61		Green		Grey		Red		
B4005	B4005								
B41	B41		Green		Grey		Red		
B42	B42		Green		Grey		Red		
B46	B46		Green			Green			
B47	B47	Grey			Grey		Red		
B48	B48		Green		Grey		Red		
B5	B52					Green			
	B51					Green			
B5102	B5102								
B5103	B5103								
B53	B53					Green			
B59	B59					Green			
B67	B67				Grey		Red		
B7	B7		Green		Grey		Red		
B70	B72								
	B71		Green		Grey		Red		
B703	B703								
B73	B73		Green		Grey		Red		
B78	B78				Grey		Red		
B8	B8		Green		Grey		Red		
B81	B81		Green		Grey		Red		
B82	B82	Grey			Grey		Red		
Cw1	Cw1		Green						
Cw12	Cw12		Green			Green			
Cw14	Cw14		Green						
Cw15	Cw15	Grey							
Cw16	Cw16		Green						
Cw17	Cw17	Grey				Green			
Cw18	Cw18	Grey				Green			
Cw2	Cw2								
Cw3	Cw10		Green						
	Cw9		Green						
Cw4	Cw4					Green			
Cw5	Cw5	Grey							
Cw6	Cw6	Grey							
Cw7	Cw7		Green						
Cw8	Cw8		Green						

classe II		dépistage positif			dépistage négatif			dépistage positif			dépistage négatif		
		n = 25	n = 21	n = 23	n = 7	n = 18	n = 1	n = 25	n = 21	n = 23	n = 6	n = 17	n = 0
DQ1	DQ5												
	DQ6												
DQ2	DQ2												
DQ3	DQ8												
	DQ9												
	DQ7												
DQ4	DQ4												
DR1	DR1												
DR10	DR10												
DR103	DR103												
DR1403	DR1403												
DR1404	DR1404												
DR2	DR15												
	DR16												
DR3	DR17												
	DR18												
DR4	DR4												
DR5	DR12												
	DR11												
DR51	DR51												
DR52	DR52												
DR53	DR53												
DR6	DR14												
	DR13												
DR7	DR7												
DR8	DR8												
DR9	DR9												

(1) Consensus 75%

	Spécificité identifiée
	Antigène permis
	Antigène interdit

tableau XIV – spécificités permises et interdites ayant obtenu un consensus 75 %

Pourcentage de spécificités permises et interdites ayant obtenu un consensus 75 % (P+I)/n		
	Classe I (n=64)	Classe II (n=25)
Sérum 1	71,9 %	96 %
Sérum 2	98,4 %	100 %
Sérum 3	89,0 %	84 %
Sérum 4	100 %	100 %

Les résultats sont sérum-dépendants suivant la réactivité des spécificités. L'homogénéité globale de l'identification des spécificités permises et interdites est en faveur d'une contribution à l'équité d'accès à la greffe. Ces résultats peuvent être améliorés par une définition plus adéquate des seuils et une standardisation de la méthode.

## Seuils de dépistage et d'identification

Le bordereau-réponse permettait aux laboratoires d'indiquer les seuils de positivité utilisés avec la technique de fluorimétrie sur billes. Les réponses (22 laboratoires) sont présentées dans le tableau XV.

tableau XV – seuils de dépistage et d'identification en fluorimétrie sur billes

Fluorimétrie sur billes - Dépistage		
Seuil		Nombre de laboratoires
Ratio*		15
autres		6
Fluorimétrie sur billes - Identification sur panel		
Seuil		Nombre de laboratoires
MFI**	1000	6
score		2
Fluorimétrie sur billes - Identification sur antigène isolé		
Seuil		Nombre de laboratoires
MFI**	500	7
	1000	16
	1500	5
	2000	4
score	5 ou 6	4
autre		6

\* médiane des ratios = 3

\*\* MFI : intensité moyenne de fluorescence

## Commentaires

Tous les laboratoires utilisent la technique de fluorimétrie sur billes sur antigène isolé et un tiers d'entre eux la technique LCT. Les anticorps anti-HLA sont essentiellement identifiés par la technique Luminex (fluorimétrie sur billes sur antigène isolé), une seule spécificité a été identifiée par lymphocytotoxicité, confirmant la grande différence de sensibilité entre ces deux méthodes. Les seuils de détection des anti-HLA par fluorimétrie utilisés par les laboratoires vont de 500 à 2000 d'intensité moyenne de fluorescence (MFI). Des spécificités ont été identifiées en consensus dans tous les sérums détectés positifs et aucune spécificité n'a été identifiée dans les sérums détectés négatifs.

L'homogénéité globale de l'identification des spécificités permises et interdites est en faveur d'une contribution à l'équité d'accès à la greffe. Ces résultats peuvent être améliorés par une définition plus adéquate des seuils et une standardisation de la méthode.

## Cross-matches HLA Echantillons XMH028 et XMH029

### Méthode statistique et expression des résultats

Les cross-matches sont réalisés contre des lymphocytes T et B avec et sans agent réducteur (DTT) 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.

## Définition des échantillons

Les échantillons XMH028 et XMH029 (sang) correspondent aux cellules des donneurs à tester avec les sérums 15S1 à 15S4, correspondant aux sérums des receveurs. Les typages HLA (tableau XVI) avaient été communiqués aux laboratoires sur le site internet de l'ANSM au cours de l'opération.

**tableau XVI** – définition des échantillons : typage HLA

	HLA-A*		HLA-B*		HLA-C*		HLA-DRB1*		HLA-DQB1*	
XMH028	02	-	44	51	02	16	07	13	02	06
XMH029	01	29	08	44	07	16	11	-	03:01	-

## Résultats des participants

Les techniques utilisées par les 21 laboratoires ayant rendu des résultats sont la lymphocytotoxicité [LCT] par 21 laboratoires, la lymphocytotoxicité sensibilisée à l'antiglobuline [LAG] par 4 laboratoires et la cytofluorimétrie [CYT] par 1 laboratoire. Les laboratoires utilisent une ou deux techniques.

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

Les pourcentages de résultats conformes au consensus 75% en lymphocytotoxicité figurent dans le tableau XVIII.

Le tableau XIX présente les résultats des cross-matches et les anticorps anti-HLA du donneur spécifiques du greffon (DSA : donor specific antibody).

**tableau XVII** - cross-match – consensus 75%

		<i><b>XMH028 :</b></i> A2 B44 B51 Cw2 Cw16 DR7 DR13 (DR52) DQ2 DQ6		<i><b>XMH029 :</b></i> A1 A29 B8 B44 Cw7 Cw16 DR11 (DR52) DQ3		
Sérum	Sang	XMH028		XMH029		Effectif
	Code Technique (1)	lymphocytes T	lymphocytes B	lymphocytes T	lymphocytes B	
15S1	LCT	<b>N</b>	<b>PG</b>	<b>N</b>	NC	21
	LAG	NC	na	<b>N</b>	na	4
15S2	LCT	<b>N</b>	<b>N</b>	<b>N</b>	<b>N</b>	21
	LAG	na	na	<b>N</b>	na	4
15S3	LCT	<b>N</b>	NC	<b>N</b>	<b>P</b>	21
	LAG	<b>N</b>	na	<b>N</b>	na	4
15S4	LCT	<b>N</b>	<b>N</b>	<b>N</b>	<b>N</b>	21
	LAG	<b>N</b>	na	<b>N</b>	na	4

(1) : LCT : lymphocytotoxicité ; LAG : lymphocytotoxicité sensibilisée à l'antiglobuline ; CYT : cytofluorimétrie

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



**tableau XVIII** - cross-match en LCT – pourcentages de résultats conformes au consensus 75%

Sérum	Echantillon XMH028				Echantillon XMH029			
	lymphocytes T		lymphocytes B		lymphocytes T		lymphocytes B	
	Consensus	%	Consensus	%	Consensus	%	Consensus	%
15S1	N	81%	PG	95%	N	100%	NC	-
15S2	N	100%	N	100%	N	100%	N	94%
15S3	N	100%	NC	-	N	100%	P	100%
15S4	N	100%	N	100%	N	100%	N	94%

**tableau XIX** – DSA (donor specific antibody) et résultats des cross-matches en LCT

	CROSS-MATCH XMH028		
	DSA	LYMPHOCYTES T	LYMPHOCYTES B
<b>15S1</b>	B44 DQ6	Négatif	<b>Positif G</b>
<b>15S2</b>	Pas de DSA	Négatif	Négatif
<b>15S3</b>	B44 DR13 DR52	Négatif	Non consensus : 62% Négatif 9% <b>Positif</b> IgG 29% <b>Positif</b> IgM
<b>15S4</b>	Pas de DSA	Négatif	Négatif

	CROSS-MATCH XMH029		
	DSA	LYMPHOCYTES T	LYMPHOCYTES B
<b>15S1</b>	B44	Négatif	Non consensus : 61% <b>Positif</b> IgG 11% <b>Positif</b> IgM 28% Négatif
<b>15S2</b>	B8	Négatif	Négatif
<b>15S3</b>	B44 DR11 DR52	Négatif	<b>Positif</b> 50% <b>Positif</b> IgG 50% <b>Positif</b> IgM
<b>15S4</b>	Pas de DSA	Négatif	Négatif

## Commentaires

L'ensemble des laboratoires utilise la lymphocytotoxicité complément-dépendante pour réaliser le cross-match. Sur 8 cross-matches réalisés, 100% obtiennent un résultat en consensus sur les lymphocytes T et 75 % sur les lymphocytes B. La concordance entre le cross-match théorique (correspondance entre les anticorps anti-HLA et les antigènes HLA présents sur les cellules des échantillons XMH028 et XMH029) et le cross-match LCT dépend de la réactivité des anticorps anti-HLA du donneur spécifiques du greffon (DSA) et de la sensibilité de la technique de cross-match (tableau XIX).

## Conclusion (Recherche et identification d'anticorps anti-HLA et cross-matches HLA)

La recherche des anticorps anti-HLA et/ou le cross-match sont des méthodes indispensables pour une évaluation du risque immunologique avant greffe et le suivi post-greffe. Les résultats des laboratoires pour ces deux méthodes sont cohérents et globalement homogènes.

## Bibliographie

(1) Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. Marsh et al. Tissue Antigens 2010; 75:291 (<http://hla.alleles.org/>)

(2) C. Gautreau, P. Loiseau, A. Guyard, M. Deschênes. « 2015 National external proficiency testing: evaluation of acceptable and unacceptable HLA specificities assignment by French laboratories in the national organ transplant allocation program ». Transplant international, volume 30 - supplément 1 – présentation orale 59, Janvier 2017.