

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

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

Jocelyne OTZ (Afssaps)
 Dominique CHARRON (Hôpital Saint-Louis - Paris)
 Chantal GAUTREAU (Hôpital Saint-Louis - Paris)
 Pascale LOISEAU (Hôpital Saint-Louis - Paris)

	10HLA1	10HLA2	10HLA3	10HLA4
Expédition	31/03/2010	09/06/2010	29/09/2010	17/11/2010
Clôture	26/04/2010	05/07/2010	25/10/2010	13/12/2010
Edition des comptes-rendus individuels	24/06/2010	17/09/2010	14/12/2010	25/02/2011
Echantillons - paramètres contrôlés	- TYP169 à TYP174 – typage HLA	- TYP175 à TYP178 – typage HLA - BML015 et BML016 – typage HLA	- TYP179 à TYP184 – typage HLA	- XMH018 à XMHM019 – cross-match phénotypage - 10S1 à 10S10 détection et identification d'Ac anti-HLA - PHE003 et PHE004 – phénotypage
Nombre de laboratoires concernés*	43	42	43	37
Nombre de laboratoires participants**	41	42	43	37

* 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 2010

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, -DQA, -DQB et -DPB par biologie moléculaire. Les laboratoires inscrits pour cette analyse ont reçu, en 2010, 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 TYP169 à TYP174 lors de l'opération 10HLA1 ; 2 échantillons de la série TYP175 à TYP178 lors de l'opération 10HLA2, 3 échantillons de la série TYP179 à TYP184 lors de l'opération 10HLA3 et les échantillons PHE003 et PHE004 lors de l'opération 10HLA4. Les 2 échantillons, BML015 et BML016, ont été expédiés lors de l'opération 10HLA2.

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 10HLA4, les laboratoires inscrits pour ces analyses ont reçu, en fonction de leur pratique habituelle, 10 sérums (10S1 à 10S10) pour détection et identification d'anticorps anti-HLA et 2 échantillons de sang frais (XMH018 et XMH019) 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 2010, un bilan lui permettant d'évaluer sa performance pour les différentes analyses des opérations « histocompatibilité » du Contrôle national de qualité.

Typage HLA

TYP169 à TYP184 ; BML015 ; BML016 ; PHE003 ; PHE004

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 » : $100 \times \frac{\text{somme « scores observés »}}{\text{somme « scores maximum »}}$.

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. Les résultats sont exprimés en fonction de la nomenclature internationale en vigueur au moment des opérations (1, 2) (tableau I).

tableau I - définition des échantillons « typage HLA »

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
BML015 (10HLA2)	A*	02:01 ou 02:09	68:01 ou 68:01/11N
	B*	35:03	55:01
	C*	03:03 ou 03:04/20N/55/69	04:01 ou 04:08/10/52
	DRB1*	01:01 ou 01:07	13:01
	DQB1*	05:01	06:03
	DPB1*	03:01 ou 05:02, 124:01	04:01
BML016 (10HLA2)	A*	03:01 ou 030:1/63	11:01 ou 11:01/12
	B*	14:02	35:01 ou 35:01/42
	C*	04:01	08:02
	DRB1*	04:01	13:01
	DQB1*	03:01	06:03
	DPB1*	04:01	11:01
PHE003 (10HLA4)	A*	24:02	68:01
	B*	35:02	37:01
	C*	04:01 ou 04:54	06:02 ou 06:09
	DRB1*	01:01	13:01
	DQB1*	05:01	06:03
	DPB1*	04:01	17:01
PHE004 (10HLA4)	A*	01:01	11:01
	B*	38:02	44:02 ou 44:19N
	C*	06:02 ou 06:11	07:02 ou 07:58/78
	DRB1*	11:01	15:02
	DQB1*	03:01	05:01
	DPB1*	04:02 ou 105:01/107:01	13:01 ou 105:01/107:01

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP169 (10HLA1)	A*	29:02	-
	B*	07:02 ou 07:61	45:01
	C*	06:02 ou 06:11	07:02 ou 07:50/74/76
	DRB1*	01:03	07:01
	DQB1*	02:02	03:01
	DPB1*	04:01	13:01 ou 107:01
	TYP170 (10HLA1)	A*	02:01
B*		14:01	44:03
C*		07:04 ou 07:11	16:01
DRB1*		07:01	-
DQB1*		02:02	-
DPB1*		10:01 ou 09:01	14:01 ou 45:01
TYP171 (10HLA1)		A*	01:01
	B*	08:01	49:01
	C*	07:01	-
	DRB1*	01:01 ou 01:07/22	13:01
	DQB1*	05:01	06:03
	DPB1*	01:01	04:01
	TYP172 (10HLA1)	A*	02:01
B*		08:01	37:01
C*		06:02 ou 06:11	07:01 ou 07:09
DRB1*		03:01 ou 03:07/50	13:01 ou 13:27
DQB1*		02:01	06:03
DPB1*		01:01	04:02 ou 105:01
TYP173 (10HLA1)		A*	01:01
	B*	08:01 ou 08:01/23/50	15:01 ou 15:01/70/95:42
	C*	03:03 ou 03:03/20N/67	07:01 ou 07:01/26
	DRB1*	03:01 ou 03:01/50	11:01
	DQB1*	02:01	03:01
	DPB1*	02:01	03:01 ou 05:02, 124:01
	TYP174 (10HLA1)	A*	02:01
B*		15:03 ou 15:103	52:01
C*		02:10 ou 02:05	16:01 ou 16:07
DRB1*		07:01	10:01
DQB1*		02:02	05:01
DPB1*		01:01 ou 09:01	17:01 ou 89:01
TYP175 (10HLA2)		A*	25:01
	B*	18:01 ou 18:01/03/11/17N/33	39:01 ou 39:01/05/39/48
	C*	-	12:03
	DRB1*	15:01	16:01
	DQB1*	06:02	05:02
	DPB1*	02:01	10:01
	TYP176 (10HLA2)	A*	11:01
B*		35:01 ou 35:01/42/71	44:03 ou 44:03/37
C*		04:01 ou 04:01/10/29	16:01 ou 16:01/02/15
DRB1*		07:01	14:54 ou 14:54/01
DQB1*		02:02	05:03
DPB1*		-	11:01
TYP177 (10HLA2)		A*	01:01
	B*	14:01	14:02
	C*	-	08:02
	DRB1*	13:01	14:01 ou 14:54/01/39
	DQB1*	06:03	05:03
	DPB1*	02:01	17:01

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP178 (10HLA2)	A*	01:01	68:01 ou 68:01/11N
	B*	-	07:02 ou 07:02/61
	C*	-	07:02
	DRB1*	-	15:01
	DQB1*	-	06:02
	DPB1*	01:01	04:01
	TYP179 (10HLA3)	A*	03:01
B*		38:01	-
C*		12:03	-
DRB1*		04:01	14:54 ou 14:01
DQB1*		03:01	05:03
DPB1*		04:01	11:01
TYP180 (10HLA3)		A*	03:01
	B*	14:02	40:02
	C*	02:02 ou 02:32	08:02 ou 08:29
	DRB1*	11:01	15:01
	DQB1*	03:01	06:02
	DPB1*	04:01	-
	TYP181 (10HLA3)	A*	01:01
B*		08:01	13:02
C*		06:02 ou 06:11	07:01 ou 07:09
DRB1*		03:01	07:01
DQB1*		02:01	02:02
DPB1*		04:01	17:01
TYP182 (10HLA3)		A*	01:01
	B*	08:01 ou 08:50	44:02 ou 44:19N/49
	C*	05:01	07:01
	DRB1*	03:01	04:01
	DQB1*	02:01	03:01
	DPB1*	01:01	04:01
	TYP183 (10HLA3)	A*	11:01 ou 11:21N
B*		35:01 ou 35:42/71	44:03 ou 44:37
C*		04:01 ou 04:10/29	16:01 ou 16:15/02
DRB1*		07:01	14:54 ou 14:01
DQB1*		02:02	05:03
DPB1*		11:01	-
TYP184 (10HLA3)		A*	02:01
	B*	49:01	55:01
	C*	03:03 ou 03:20N/55	05:01 ou 05:39
	DRB1*	13:03	14:54 ou 14:01
	DQB1*	03:01	05:03
	DPB1*	02:01	14:01

Résultats des participants

La distribution annuelle des échantillons est présentée dans le tableau II. La diminution du volume distribué par échantillon a permis d'augmenter le nombre de laboratoires pouvant analyser un même donneur par opération (20 laboratoires au minimum en 2010 au lieu de 13 en 2009 par opération) ; le volume distribué restait, néanmoins, suffisant pour effectuer les analyses demandées.

tableau II - nombre de laboratoires par échantillon « typage HLA » 2010

Echantillons \ Opération	10HLA1	10HLA2	10HLA3	10HLA4
BML015		39		
BML016		40		
PHE003				33
PHE004				33
TYP169	20			
TYP170	20			
TYP171	20			
TYP172	21			
TYP173	21			
TYP174	21			
TYP175		20		
TYP176		20		
TYP177		22		
TYP178		22		
TYP179			21	
TYP180			21	
TYP181			21	
TYP182			22	
TYP183			21	
TYP184			22	

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 61,1% des cas (55,5% en 2009), HLA-B 44,4% (27,7% en 2009), HLA-C 41,7% (66,7% en 2009), -DRB1 61,1% (72,2% en 2009), -DQB1 91,7% (44,4% en 2009). 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	
PHE003 (10HLA4)	A	24	68
	B	35	37
	DR	1	13
	DQ	-	1
PHE004 (10HLA4)	A	1	11
	B	38	44
	DR	11	15
	DQ	1	7
TYP169 (10HLA1)	A	-	29
	B	45	7
	DR	103	7
	DQ	2	7
TYP170 (10HLA1)	A	2	29
	B	14	44
	DR	-	7
	DQ	-	2
TYP171 (10HLA1)	A	1	24
	B	49	8
	DR	1	13
	DQ	-	1
TYP172 (10HLA1)	A	2	26
	B	37	8
	DR	13	17
	DQ	1	2
TYP173 (10HLA1)	A	1	3
	B	62	8
	DR	11	3
	DQ	2	7
TYP174 (10HLA1)	A	2	3
	B	52	72
	DR	10	7
	DQ	1	2
TYP175 (10HLA2)	A	25	31
	B	18	39
	DR	-	2
	DQ	-	1
TYP176 (10HLA2)	A	11	29
	B	35	44
	DR	14	7
	DQ	1	2
TYP177 (10HLA2)	A	1	2
	B	-	14
	DR	13	14
	DQ	-	1
TYP178 (10HLA2)	A	1	28
	B	-	7
	DR	-	15
	DQ	-	1

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP179 (10HLA3)	A	29	3
	B	-	38
	DR	14	4
	DQ	1	7
TYP180 (10HLA3)	A	3	32
	B	14	40
	DR	11	15
	DQ	1	7
TYP181 (10HLA3)	A	1	32
	B	13	8
	DR	3	7
	DQ	-	2
TYP182 (10HLA3)	A	1	2
	B	44	8
	DR	3	4
	DQ	2	7
TYP183 (10HLA3)	A	11	29
	B	35	44
	DR	14	7
	DQ	1	2
TYP184 (10HLA3)	A	2	25
	B	49	55
	DR	13	14
	DQ	1	7

tableau IV - consensus 75% typage HLA par biologie moléculaire

Echantillon (opération)	Consensus 75% tous typages confondus (consensus 75% typages définition allélique) (1)		
	HLA-	allèles	
BML015 (10HLA2)	A*	02	68
	B*	35	55
	C*	03	04
	DRB1*	01	13 (13:01)
	DRB3*	.	02:02
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	01	01:03
	DQB1*	05:01	06
	DPB1*	03	04
BML016 (10HLA2)	A*	03 (03:01)	11 (11:01)
	B*	14	35
	C*	04	08 (08:02)
	DRB1*	04 (04:01)	13 (13:01)
	DRB3*	.	01
	DRB4*	.	01:03
	DRB5*		
	DQA1*	01:03	03
	DQB1*	03 (03:01)	06 (06:03)
	DPB1*	04	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	
TYP169 (10HLA1)	A*	-	29 (29:02)
	B*	07	45 (45:01)
	C*	06	07
	DRB1*	01:03	07
	DRB3*		
	DRB4*	.	01:03
	DRB5*		
	DQA1*	02:01	05
	DQB1*	02:02	03 (03:01)
	DPB1*	NC	13:01
	TYP170 (10HLA1)	A*	02 (02:01)
B*		14 (14:01)	44
C*		07	16 (16:01)
DRB1*		-	07 (07:01)
DRB3*			
DRB4*		01:01	NC
DRB5*			
DQA1*		-	02:01
DQB1*		-	02:02
DPB1*		10:01	NC
TYP171 (10HLA1)		A*	01 (01:01)
	B*	08	49 (49:01)
	C*	-	07
	DRB1*	01 (01:01)	13 (13:01)
	DRB3*	.	02
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	01	01:03
	DQB1*	05 (05:01)	06 (06:03)
	DPB1*	01:01	NC
	TYP172 (10HLA1)	A*	02 (02:01)
B*		08 (08:01)	37 (37:01)
C*		06 (06:02)	07 (07:01)
DRB1*		03 (03:01)	13 (13:01)
DRB3*		01 (01:01)	02 (02:02)
DRB4*			
DRB5*			
DQA1*		01:03	05:01
DQB1*		02:01	06 (06:03)
DPB1*		01:01	04:02
TYP173 (10HLA1)		A*	01
	B*	08 (08:01)	15 (15:01)
	C*	03 (03:03)	07
	DRB1*	03 (03:01)	11 (11:01)
	DRB3*		
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	05	05
	DQB1*	02 (02:01)	03 (03:01)
	DPB1*	02:01	03 (03:01)

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	
TYP174 (10HLA1)	A*	02 (02:01)	03 (03:01)
	B*	15	52 (52:01)
	C*	02 (02:10)	16 (16:01)
	DRB1*	07 (07:01)	10 (10:01)
	DRB3*	na	na
	DRB4*	.	01
	DRB5*		
	DQA1*	01	02:01
	DQB1*	02 (02:02)	05:01
	DPB1*	01:01	17:01
	TYP175 (10HLA2)	A*	25
B*		18	39
C*		-	12
DRB1*		15	16:01
DRB3*			
DRB4*			
DRB5*		01:01	02:02
DQA1*		-	01:02
DQB1*		05:02	06:02
DPB1*		02	10:01
TYP176 (10HLA2)		A*	11
	B*	35	44
	C*	04	16 (16:01)
	DRB1*	07 (07:01)	14
	DRB3*	.	02
	DRB4*	.	01:01
	DRB5*		
	DQA1*	01	02:01
	DQB1*	02:02	05:03
	DPB1*	-	11:01
	TYP177 (10HLA2)	A*	01 (01:01)
B*		14 (14:01)	14 (14:02)
C*		-	08 (08:02)
DRB1*		13 (13:01)	14
DRB3*		01 (01:01)	02
DRB4*			
DRB5*			
DQA1*		01:03	01
DQB1*		05 (05:03)	06 (06:03)
DPB1*		02:01	17:01
TYP178 (10HLA2)		A*	01 (01:01)
	B*	-	07
	C*	-	07
	DRB1*	-	15 (15:01)
	DRB3*		
	DRB4*		
	DRB5*	.	01:01
	DQA1*	01	01:02
	DQB1*	-	06:02
	DPB1*	01:01	04 (04:01)

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

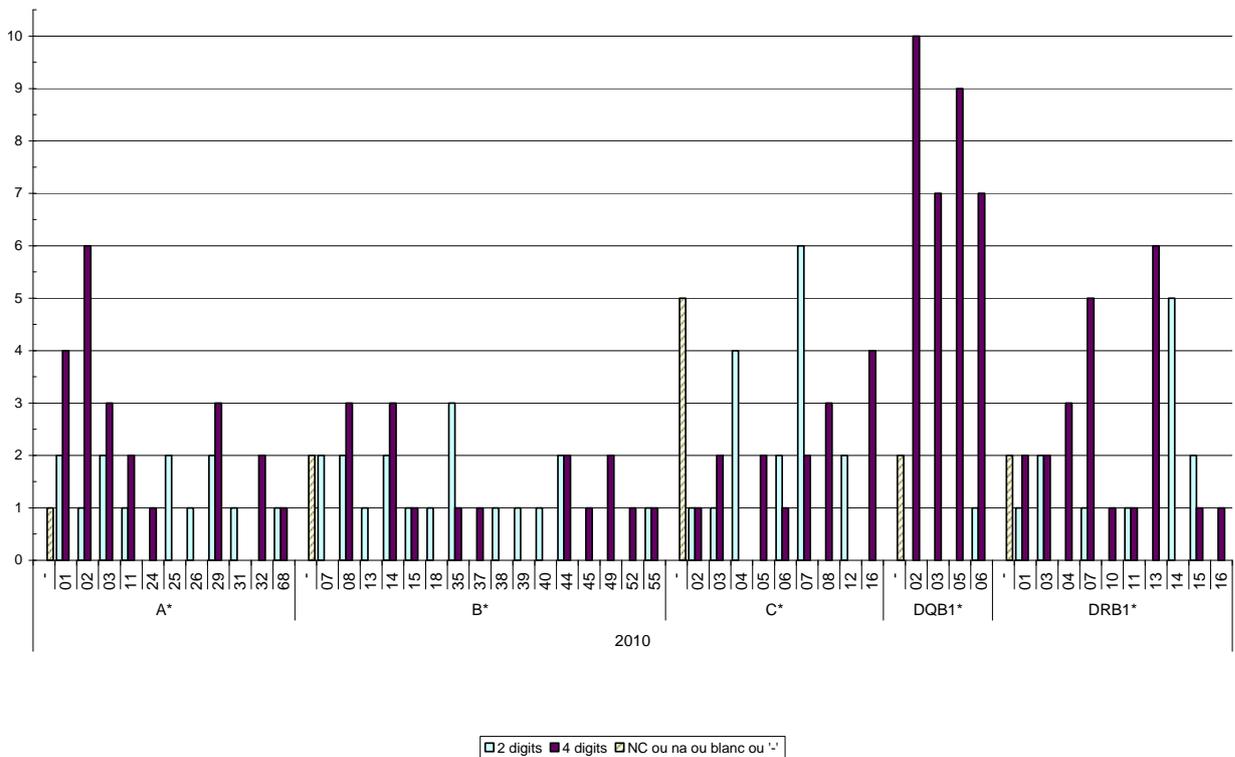
Echantillon (opération)	Consensus 75% tous typages confondus (consensus 75% typages définition allélique) (1)		
	HLA-	allèles	
TYP179 (10HLA3)	A*	03	29
	B*	-	38
	C*	-	12
	DRB1*	04:01	14
	DRB3*	.	02
	DRB4*	.	01
	DRB5*		
	DQA1*	01 (01:04)	03
	DQB1*	03:01	05:03
	DPB1*	04	11:01
	TYP180 (10HLA3)	A*	03
B*		14	40
C*		02	08 (08:02)
DRB1*		11	15
DRB3*		.	02 (02:02)
DRB4*			
DRB5*		.	01:01
DQA1*		01:02	05
DQB1*		03:01	06:02
DPB1*		NC	NC
TYP181 (10HLA3)		A*	01
	B*	08	13
	C*	06	07
	DRB1*	03	07 (07:01)
	DRB3*	.	01
	DRB4*	.	01:03
	DRB5*	.	.
	DQA1*	02:01	05:01
	DQB1*	02:01	02:02
	DPB1*	NC	17:01
	TYP182 (10HLA3)	A*	01 (01:01)
B*		08 (08:01)	44 (44:02)
C*		05 (05:01)	07 (07:01)
DRB1*		03	04 (04:01)
DRB3*		.	01
DRB4*		.	01
DRB5*			
DQA1*		03	05:01
DQB1*		02 (02:01)	03 (03:01)
DPB1*		01:01	NC
TYP183 (10HLA3)		A*	11 (11:01)
	B*	35 (35:01)	44 (44:03)
	C*	04	16 (16:01)
	DRB1*	07 (07:01)	14
	DRB3*	.	02
	DRB4*	.	01
	DRB5*		
	DQA1*	01	02:01
	DQB1*	02:02	05:03
	DPB1*	-	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
TYP184 (10HLA3)	A*	02 (02:01) 25
	B*	49 (49:01) 55 (55:01)
	C*	03 (03:03) 05 (05:01)
	DRB1*	13 (13:03) 14
	DRB3*	02 03
	DRB4*	
	DRB5*	
	DQA1*	01 05
	DQB1*	03 (03:01) 05 (05:03)
	DPB1*	NC 14:01

(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 (314 typages en tout) : 11 discordances dont 4 défauts de caractérisation concentrés sur un seul laboratoire, 6 défauts de subdivision (essentiellement A28 pour A68) et 1 erreur de caractérisation.

- au locus HLA-B (312 typages en tout) : 14 discordances incluant 8 défauts de caractérisation concentrés sur un seul laboratoire, 1 erreur de caractérisation (B39 pour B38) et 5 défauts de subdivision (B15 pour B62, B70 pour B72, B21 pour B49 et B22 pour 55).

- au locus HLA-DR (241 typages en tout) : 16 discordances incluant 14 défauts de subdivision (DR2 au lieu du consensus DR15), 1 erreur de caractérisation et 1 erreur de nomenclature (DR0103 pour DR103).

- au locus HLA-DQ (240 typages en tout) : 8 discordances dont 1 par erreur de caractérisation et 7 par défaut de subdivision (essentiellement DQ3 ou lieu de DQ7).

Rapporté au nombre total de typages effectués, le taux de discordance est de 4,4% ; l'augmentation du taux de discordances constaté en 2010 par rapport à celui de 2009 (2,7%) est due en grande partie aux défauts de subdivision.

tableau V - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par « sérologie » de 2007 à 2010

HLA-	Taux de discordance (*)			
	2010	2009	2008	2007
A	3,5% (11/314)	1,6% (5/313)	1,4% (4/283)	2,4% (6/255)
B	4,5% (14/312)	6,1% (19/313)	6,1% (17/280)	7,1% (18/255)
DR	3,3% (16/241)	1,6% (4/253)	3,5% (7/199)	3,9% (6/154)
DQ	6,7% (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 (369 typages) : 3 discordances dont 1 erreur de nomenclature (A*201 au lieu de A*02 :01) et 2 erreurs de caractérisation (1 portant sur le générique l'autre sur la définition de l'allèle).

- au locus HLA-B (369 typages) : 6 discordances dont 4 erreurs de nomenclature (ex B64 ou B65 pour B*14) et 2 erreurs de caractérisation.

- au locus HLA-C (352 typages) : 1 discordance correspondant à 1 erreur de caractérisation (HLA-C*02 :02 pour C*02 :10).

- au locus HLA-DRB1 (396 typages) : 2 discordances par rapport au consensus dont 1 erreur de caractérisation et 1 erreur de nomenclature (DR17 pour DRB1*03).

- au locus HLA-DQB1 (393 typages) : 9 discordances avec 2 erreurs de nomenclature (DQB1*07 pour DQB1*03 :01), 7 erreurs de caractérisation d'allèle (essentiellement comme les années précédentes dans la caractérisation allélique de DQB1*02).

Rapporté au nombre total de typages effectués par biologie moléculaire, le taux de discordance est de 1,0% ; ce taux est comparable à celui constaté en 2009 (1,3%).

tableau VI - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par biologie moléculaire de 2007 à 2010

HLA-	Taux de discordance (*)			
	2010	2009	2008	2007
A*	1% (3/369)	0% (0/351)	0,0% (0/351)	0,8% (3/358)
B*	1% (4/369)	0% (0/349)	0,6% (2/351)	0,3% (1/360)
C*	0% (1/352)	0,3% (1/329)	0,3% (1/306)	2,0% (6/296)
DRB1*	1% (2/396)	1,3% (5/383)	0,3% (1/382)	0,0% (0/385)
DQB1*	2% (8/393)	4,5% (17/381)	3,2% (12/378)	0,5% (2/384)

(*) : 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

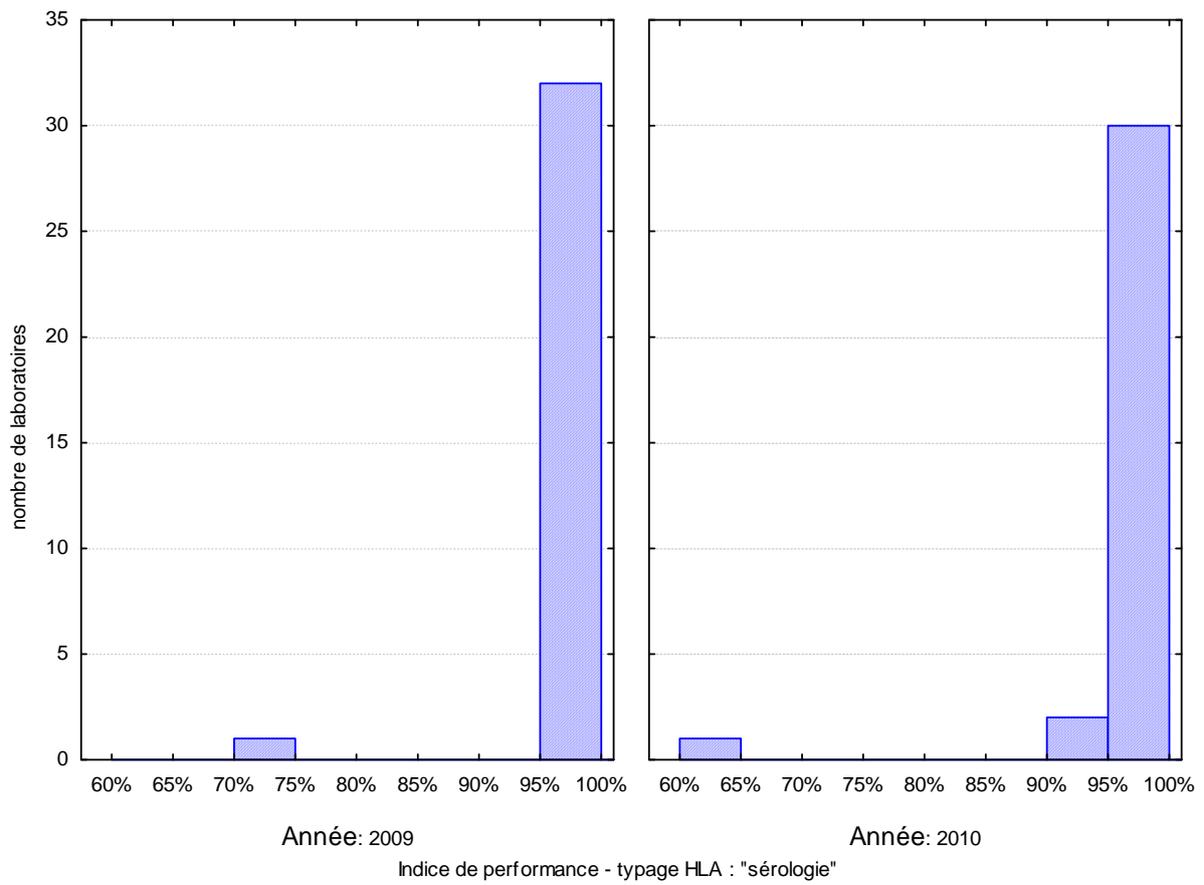
(*) : consensus 75% annuel calculé à partir des résultats obtenus lors des différentes opérations en particulier pour les échantillons qui proviennent d'un même donneur.

La description statistique des indices de performance calculés pour 2009 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 « sérologie », la figure 2 reflète l'augmentation en 2010 du nombre d'erreurs par défaut de subdivision qui ne concerne que quelques laboratoires.

tableau VIII – statistiques indice de performance - typage HLA 2009 et 2010

	2009		2010	
	« sérologie »	biologie moléculaire	« sérologie »	biologie moléculaire
n	33	41	33	44
minimum	72%	83%	65%	86%
maximum	100%	100%	100%	100%
centile 10	98%	98%	97%	98%
1er quartile	99%	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 « sérologie » 2009 et 2010



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, certaines caractérisations alléliques comme celle du DQB1*02.

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

10S1 à 10S10

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 10HLA4 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.

Pour les techniques sur support solide (ELISA, fluorimétrie sur billes), les antigènes HLA (cibles) proviennent soit des cellules d'individus appartenant à un panel de donneurs soit de molécules HLA isolées purifiées ; le tableau IX présente le nombre de laboratoires utilisant les différentes méthodes.

Les bordereaux-réponses ont été adaptés pour permettre de différencier les réactifs utilisés pour le dépistage de ceux utilisés pour les identifications avec les techniques ELISA et fluorimétrie sur billes ; ils permettent, également au laboratoire de distinguer les réactifs pour l'identification sur panel de ceux sur antigène isolé (tableau X).

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

méthodes	détection	identification	
		panel	antigènes isolés
lymphocytotoxicité	20	25	-
ELISA	3	4	2
fluorimétrie sur billes	28	15	27

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

méthode - analyse	réactif		code réactif	nombre utilisateurs
ELISA - dépistage	INGEN	LAT-M LAMBDA ANTIGEN TRAY MIXED - classe I et II	EIU10	3
ELISA - identification sur antigène isolé	–	Réactif autre, non précisé ou mal codé (ELISA)	999EU	1
	INGEN	LAT - Lambda Antigen Tray Single Antigen Class I	EIU15	1
ELISA - identification sur panel	–	Réactif non répertorié	XXXXX	1
	INGEN	LAT - Lambda antigen tray class I	EIU11	1
	INGEN	LAT - Lambda antigen tray class I & II (56CI/32CII)	EIU13	1
	INGEN	LAT - Lambda antigen tray class II	EIU12	2
fluorimétrie sur billes - dépistage	–	Réactif autre, non précisé ou mal codé (fluorimétrie sur billes)	999CY	5
	INGEN	LABScreen Mixed	CIU25	2
	INGEN	LABScreen Mixed Class I and II	CIU13	14
	INGEN	LambdaScan plus II	CFNI3	1
	TEPNEL	LIFECODES - Détection Ac anti-HLA - classe I et II	CTU12	1
	TEPNEL	LIFECODES - LifeScreen Deluxe (LMX)	CTU13	5
fluorimétrie sur billes - identification sur antigène isolé	–	Réactif autre, non précisé ou mal codé (fluorimétrie sur billes)	999CY	3
	INGEN	LABScreen "Singles" - classe I	CIU28	4
	INGEN	LABScreen "Singles" - classe II	CIU29	4
	INGEN	LABScreen Single Antigen HLA Class I - Combi	CIU30	12
	INGEN	LABScreen Single Antigen HLA Class I Antibody Detection Test - Combiné	CIU26	1
	INGEN	LABScreen Single Antigen HLA Class I Antibody Detection Test - Group 1	CIU17	1
	INGEN	LABScreen Single Antigen HLA Class I Antibody Detection Test - Group 2 et 3	CIU18	1
	INGEN	LABScreen Single Antigen HLA Class II Antibody Detection Test - Group 1	CIU27	14
	TEPNEL	LIFECODES LSA - Identification Ac anti-HLA - classe I (LSA1)	CTU14	5
	TEPNEL	LIFECODES LSA - Identification Ac anti-HLA - classe II (LSA2)	CTU15	6
	fluorimétrie sur billes - identification sur panel	–	Réactif autre, non précisé ou mal codé (fluorimétrie sur billes)	999CY
INGEN		LABScreen PRA Class I (55-Class I antigen panel)	CIU15	8
INGEN		LABScreen PRA Class I and Class II (55-Class I and 32-Class II antigen panel)	CIU14	1
INGEN		LABScreen PRA Class II (32-Class II antigen panel)	CIU16	8
TEPNEL		LIFECODES - Identification Ac anti-HLA - classe I	CTU10	5
TEPNEL		LIFECODES - Identification Ac anti-HLA - classe II	CTU11	5

Détection des anticorps anti-HLA

Les résultats obtenus par les laboratoires pour la détection des anticorps anti-HLA sont décrits dans le tableau XI. Le consensus 75% a été atteint pour tous les échantillons ; le pourcentage de réponses consensuelles varie de 77 à 100% pour la classe I et de 90 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
10S1	7(23%)	24(77%)	31	31(100%)	0	31
10S2	31(100%)	0	31	1(3%)	30(97%)	31
10S3	31(100%)	0	31	0	31(100%)	31
10S4	31(100%)	0	31	1(3%)	30(97%)	31
10S5	31(100%)	0	31	31(100%)	0	31
10S6	1(3%)	30(97%)	31	0	31(100%)	31
10S7	6(19%)	25(81%)	31	30(97%)	1(3%)	31
10S8	29(94%)	2(6%)	31	28(90%)	3(10%)	31
10S9	5(16%)	26(84%)	31	31(100%)	0	31
10S10	31(100%)	0	31	30(97%)	1(3%)	31

Identification des anticorps anti-HLA

Les spécificités anti-HLA identifiées par au moins 75% des laboratoires dans le tableau XII pour les anticorps anti-HLA classe I et dans le tableau XIII pour les anticorps anti-HLA classe II. Rappelons que le nombre de spécificités rendues par les laboratoires est limité aux 10 les plus probables par classe.

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)					
10S1	toutes techniques confondues	N																		
10S1	lymphocytotoxicité	N																		
10S1	ELISA sur antigène isolé	N																		
10S1	ELISA sur panel	N																		
10S1	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N																		
10S1	fluorimétrie sur billes sur panel	N																		
10S2	toutes techniques confondues		I	G	NC															31
10S2	lymphocytotoxicité		I	G	B55															12
10S2	ELISA sur panel		I	G	NC															3
10S2	ELISA sur antigène isolé		I	G	na															2
10S2	fluorimétrie sur billes sur panel		I	G	NC															3
10S2	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		I	G	NC															27
10S3	toutes techniques confondues		I	G	A32	A23	A24													31
10S3	lymphocytotoxicité		I	G	NC															16
10S3	ELISA sur panel		I	G	A23	A24														3
10S3	ELISA sur antigène isolé		I	G	na															2
10S3	fluorimétrie sur billes sur panel		I	G	NC															5
10S3	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		I	G	A25	A32	A23	A24												26
10S4	toutes techniques confondues		I	G	B27	B60	B7													31
10S4	lymphocytotoxicité		I	G	B7															19
10S4	ELISA sur antigène isolé		I	G	na															2
10S4	ELISA sur panel		I	G	NC															3
10S4	fluorimétrie sur billes sur panel		I	G	B55	B60	B61	B7												5
10S4	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		I	G	B27	B60	B42	B7												27
10S5	toutes techniques confondues		I	G	A2	A68	A69	A24	B44	B45	B57	B58								31
10S5	lymphocytotoxicité		I	G	A2															22
10S5	ELISA sur panel		I	G	A2															3
10S5	ELISA sur antigène isolé		I	G	na															1
10S5	fluorimétrie sur billes sur panel		I	G	A2	A68	A69	B44	B45	B57	B58									8

(1)	technique	détection Ac anti-HLA (*)			identification Ac anti-HLA (*)										(2)
			I	G	B82	A2	A68	A69	A23	A24	B44	B45	B57	B58	
10S5	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		I	G	B82	A2	A68	A69	A23	A24	B44	B45	B57	B58	26
10S6	toutes techniques confondues	N													
10S6	lymphocytotoxicité	N													
10S6	ELISA sur antigène isolé	N													
10S6	ELISA sur panel	N													
10S6	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N													
10S6	fluorimétrie sur billes sur panel	N													
10S7	toutes techniques confondues	N													
10S7	lymphocytotoxicité	N													
10S7	ELISA sur antigène isolé	N													
10S7	ELISA sur panel	N													
10S7	fluorimétrie sur billes sur panel	N													
10S7	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N													
10S8	toutes techniques confondues		I	G	A1	A26	A11	A36	A23	A24					29
10S8	lymphocytotoxicité		I	G											
10S8	ELISA sur antigène isolé	NC			na										1
10S8	ELISA sur panel	NC													
10S8	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		I	G	A1	A26	A11	A36	A23						26
10S8	fluorimétrie sur billes sur panel		I	G	A1	A11									9
10S9	toutes techniques confondues	N													
10S9	lymphocytotoxicité	N													
10S9	ELISA sur antigène isolé	N													
10S9	ELISA sur panel	N													
10S9	fluorimétrie sur billes sur panel	N													
10S9	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N													
10S10	toutes techniques confondues		I	G	A24										31
10S10	lymphocytotoxicité		I	G	A24										18
10S10	ELISA sur panel		I	G	A23	A24									3
10S10	ELISA sur antigène isolé		I	G	na										2
10S10	fluorimétrie sur billes sur panel		I	G	A23	A24									4
10S10	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		I	G	A24										27

(*) : 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)
10S1	toutes techniques confondues		II	G	DQ8	DQ9	DQ7	DR1	DR10	DR4	DR14	DR7	DR9		31
10S1	Lymphocytotoxicité		II	G	DR4										5
10S1	ELISA sur antigène isolé		II	G	na										
10S1	ELISA sur panel		II	G	DR4										4
10S1	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		II	G	DQ7	DQ8	DQ9	DR1	DR10	DR15	DR4	DR14	DR7	DR9	27
10S1	fluorimétrie sur billes sur panel		II	G	DQ7	DQ8	DQ9	DR1	DR10	DR4	DR14	DR7	DR9		5
10S2	toutes techniques confondues	N													
10S2	Lymphocytotoxicité	N													
10S2	ELISA sur panel	N													
10S2	ELISA sur antigène isolé	N													
10S2	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N													
10S2	fluorimétrie sur billes sur panel	N													
10S3	toutes techniques confondues	N													
10S3	Lymphocytotoxicité	N													
10S3	ELISA sur panel	N													
10S3	ELISA sur antigène isolé	N													
10S3	fluorimétrie sur billes sur panel	N													
10S3	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N													
10S4	toutes techniques confondues	N													
10S4	Lymphocytotoxicité	N													
10S4	ELISA sur antigène isolé	N													
10S4	ELISA sur panel	N													
10S4	fluorimétrie sur billes sur panel	N													
10S4	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N													
10S5	toutes techniques confondues		II	G	DQ2	DR12	DR7	DR9							31
10S5	Lymphocytotoxicité		II	G	na										1
10S5	ELISA sur panel		II	G	DR7										4
10S5	ELISA sur antigène isolé		II	G	na										1
10S5	fluorimétrie sur billes sur panel		II	G	DQ2	DR12	DR7	DR9							6
10S5	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		II	G	DQ2	DR12	DR7	DR9							27

(1)	technique	détection Ac anti-HLA (*)	identification Ac anti-HLA (*)											(2)		
10S6	toutes techniques confondues	N														
10S6	Lymphocytotoxicité	N														
10S6	ELISA sur antigène isolé	N														
10S6	ELISA sur panel	N														
10S6	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé	N														
10S6	fluorimétrie sur billes sur panel	N														
10S7	toutes techniques confondues		II	G	DR1	DR103	DR15	DR12	DR7							31
10S7	Lymphocytotoxicité		II	G	na											2
10S7	ELISA sur antigène isolé		II	G												
10S7	ELISA sur panel		II	G	DR7											4
10S7	fluorimétrie sur billes sur panel		II	G	DR12	DR7										5
10S7	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		II	G	DR1	DR103	DR15	DR16	DR12	DR7						27
10S8	toutes techniques confondues		II	G	DQ6	DQ9										28
10S8	Lymphocytotoxicité		II	G	na											1
10S8	ELISA sur antigène isolé	N														
10S8	ELISA sur panel	N														
10S8	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		II	G	DQ6	DQ9	DQ8									23
10S8	fluorimétrie sur billes sur panel		II	G	DQ6											11
10S9	toutes techniques confondues		II	G	DQ6	DQ5	DR1	DR15	DR16	DR7						31
10S9	Lymphocytotoxicité		II	G	DR7	DR15	DR16									4
10S9	ELISA sur antigène isolé		II	G	na											
10S9	ELISA sur panel		II	G	DR1	DR15										4
10S9	fluorimétrie sur billes sur panel		II	G	DQ5	DR16	DR15	DR7								6
10S9	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		II	G	DQ5	DQ6	DR1	DR103	DR15	DR16	DR7	DR9				27
10S10	toutes techniques confondues		II	G	DR7	DR9										29
10S10	Lymphocytotoxicité		II	G												
10S10	ELISA sur panel	NC			na											2
10S10	ELISA sur antigène isolé		II	G												
10S10	fluorimétrie sur billes sur panel		II	G	DR7	DR9										10
10S10	fluorimétrie sur billes sur antigène isolé		II	G	DR12	DR7	DR9									26

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

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 2010 figure dans le tableau XVI pour les recherches d'anticorps anti-HLA et dans le tableau XVII pour les identifications.

tableau XVI – statistiques indice de performance – détection anticorps anti-HLA 2009 et 2010

	2009		2010	
	anti-classe I	anti-classe II	anti-classe I	anti-classe II
n	32	32	31	31
minimum	80%	78%	60%	80%
maximum	100%	100%	100%	100%
centile 10	100%	89%	80%	90%
1er quartile	100%	94%	90%	100%
médiane	100%	100%	100%	100%
3ème quartile	100%	100%	100%	100%
centile 90	100%	100%	100%	100%

tableau XVII – statistiques indice de performance – identification anticorps anti-HLA 2009 et 2010

	2009		2010	
	anti-classe I	anti-classe II	anti-classe I	anti-classe II
n	33	33	31	31
minimum	-6%	-2%	14,7%	11,2%
maximum	97%	100%	96,2%	100,0%
centile 10	50,6%	12,1%	59,0%	72,2%
1er quartile	70,3%	69,4%	76,3%	81,7%
médiane	88,2%	87,9%	82,7%	92,9%
3ème quartile	92,4%	93,5%	90,4%	98,2%
centile 90	95,1%	97,6%	92,3%	100,0%

Commentaires

Détection des anticorps anti-HLA

L'augmentation de l'utilisation de la fluorimétrie sur billes (90% en 2010 contre 84% en 2009) se poursuit au détriment de la technique ELISA. Pour la détection des anti-HLA, ces techniques dites « sensibles » sont utilisées en association avec la lymphocytotoxicité dans 65% des cas (20/31). Les résultats sont satisfaisants avec un indice de performance médian à 100%.

Identification des anticorps anti-HLA classe I

La diminution de l'indice de performance médian pour la classe I de 88,2 à 82,7% (bien que non statistiquement significative) peut être expliquée, en partie, par l'inadéquation entre le nombre de spécificités présentes dans certains échantillons et le nombre limité de spécificités que les laboratoires peuvent rendre sur le bordereau réponse. On rappelle que le bordereau-réponse limite aux dix plus probables le nombre d'anticorps rendus par classe et par échantillon. Certains échantillons positifs contenaient de nombreux anticorps de classe I ; le détail des spécificités anticorps anti-HLA rendus par les laboratoires pour l'échantillon 10S10 est donné dans le tableau XVIII à titre d'exemple.

Les techniques utilisées ont permis de détecter probablement plus de dix anticorps avec des niveaux de signal qui ont été 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 dix anticorps les plus probables a pu être différent d'un laboratoire à l'autre.

tableau XVIII – identification des anticorps anti-HLA échantillon 10S10 : liste des anticorps identifiés

spécificités anticorps anti-HLA	nombre de laboratoires
A24	19
B45	17
B44	16
A23	14
A32	14
B27	14
B53	13
B57	13
B13	12
BW4	12
B38	11
B49	11
A9	8
B40	8
B50	8
B51	8
B52	8
B37	7
B41	6
B63	6
B82	6
A1	5
B58	5
B59	5
B76	5
B17	4
A2	3
A25	3
B12	3
B47	3
B55	3
B60	3
B61	3
A80	2
B15	2
B5	2
B77	2
A28	1
B21	1
B39	1
B70	1

Identification des anticorps anti-HLA classe II

Deux laboratoires de plus qu'en 2009 utilisent la fluorimétrie sur billes pour la classe II portant à 87% le pourcentage des laboratoires qui utilisent cette technique « sensible ».

Contrairement à la classe I, le score médian pour la classe II est plus élevé en 2010 (93%) par rapport à 2009 (88%). Les échantillons contenant moins d'anticorps de classe II (HLA-DR, DQ) que d'anticorps de classe I (HLA-A, B), la limitation du nombre d'anticorps aux dix les plus probables n'a vraisemblablement pas eu d'impact.

Conclusion

Tous les laboratoires utilisent des techniques dites « sensibles » pour la détection des anti-HLA avec des résultats homogènes. Pour l'identification des anti-HLA, les différentes techniques donnent des consensus 75% différents mais cohérents si l'on tient compte de la sensibilité et de la spécificité de chaque technique. Les résultats sont globalement satisfaisants dans l'état de l'art actuel.

Cross-matches HLA

XMH018, XMH019 vis à vis de 10S1 à 10S10 (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 un 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 XMH018 et XMH019 (sang) correspondent aux cellules des donneurs à tester avec les sérums 10S1 à 10S10, 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*	
XMH018	25	31	18	39	12	-	15	16	05	06
XMH019	02	24	07	-	07	-	15	-	06	-

Résultats des participants

Les techniques utilisées sont : la lymphocytotoxicité [LCT] par 26 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.

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

tableau XX - cross-match – consensus 75%

Sérum	Sang	XMH018 (3)		XMH019 (3)		effectif (XMH018)
	Code technique (1)	lymphocytes T	lymphocytes B	lymphocytes T	lymphocytes B	
		<i>XMH018</i> <i>A25 A31</i> <i>B18 B39</i> <i>Cw12 Cw-</i> <i>DR15 DR16</i> <i>DQ5 DQ6</i>		<i>XMH019</i> <i>A2 A24</i> <i>B7 B-</i> <i>Cw7 Cw-</i> <i>DR15 DR-</i> <i>DQ6 DQ-</i>		
10S1	LCT	N	N	N	NC	25
10S1	LAG	NC	na	N	na	6
10S1	CYT	N	NC	NC	NC	3
10S2	LCT	NC	NC	NC	NC	24
10S2	LAG	PG	na	PG	na	6
10S2	CYT	PG	PG	PG	PG	3
10S3	LCT	NC	NC	N	N	25
10S3	LAG	NC	na	NC	na	6
10S3	CYT	PG	PG	PG	PG	3
10S4	LCT	N	N	PG	PG	25
10S4	LAG	NC	na	PG	na	6
10S4	CYT	PG	PG	PG	PG	3
10S5	LCT	N	N	PG	PG	25
10S5	LAG	N	na	PG	na	6
10S5	CYT	NC	NC	PG	PG	3
10S6	LCT	N	N	N	N	25
10S6	LAG	N	na	N	na	6
10S6	CYT	N	NC	N	N	3
10S7	LCT	N	N	N	N	25
10S7	LAG	N	na	N	na	6
10S7	CYT	N	PG	N	PG	3
10S8	LCT	N	NC	N	NC	25
10S8	LAG	N	na	N	na	6
10S8	CYT	NC	PG	NC	PG	3
10S9	LCT	N	PG	N	PG	25
10S9	LAG	N	na	N	na	6
10S9	CYT	NC	PG	NC	PG	3
10S10	LCT	N	N	PG	PG	25
10S10	LAG	N	na	PG	na	6
10S10	CYT	NC	NC	PG	PG	3

- (1) : LCT : lymphocytotoxicité ; LAG : lymphocytotoxicité sensibilisée à l'antiglobuline ; CYT : cytofluorimétrie
 (2) : NC : non consensus ; na : non applicable
 (3) : cf. paragraphe « méthode statistique et expression des résultats »

Commentaires

Sur 20 cross-matches réalisés, 85% obtiennent un résultat en consensus en lymphocytotoxicité [LCT]. 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 10S... et les antigènes HLA identifiés sur les cellules des échantillons XMH...) et le cross-match observé.

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 2010 figure dans le tableau XXII. Parallèlement à la diminution de l'indice de performance médian pour les cross-matches – lymphocytes T – entre 2009 et 2010, on a constaté que cinq laboratoires sur les 30 ont fait des remarques (8 remarques) sur la qualité des échantillons (nombre de cellules viables) ; ils étaient trois sur 31 en 2009 à faire le même type de remarques (5 remarques).

tableau XXII – statistiques indice de performance – cross-match HLA 2009 et 2010

	2009		2010	
	lymphocytes T	lymphocytes B	lymphocytes T	lymphocytes B
n	26	26	26	24
minimum	77,8%	85,7%	76,5%	71,4%
maximum	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
centile 10	88,2%	91,7%	82,4%	78,6%
1er quartile	94,1%	92,9%	88,2%	89,3%
médiane	100,0%	100,0%	94,1%	100,0%
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 résultats sont globalement homogènes. 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. Marsh et al. Tissue Antigens 2010; 75:291 (<http://hla.alleles.org/>)