

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

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

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

	07HLA1	07HLA2	07HLA3	07HLA4
Expédition	03/04/2007	13/06/2007	11/09/2007	27/11/2007
Clôture	30/04/2007	09/07/2007	08/10/2007	24/12/2007
Edition des compte-rendus individuels	22/06/2007	26/09/2007	13/12/2007	14/03/2008
Echantillons - paramètres contrôlés	- TYP 097 à TYP 105 – typage HLA	- TYP 106 à TYP 111 – typage HLA - BML 009 et BML 010 – typage HLA	- XMH 012 à XHM 013 – cross-match - 07S1 à 07S12 – recherche et identification d'Ac anti-HLA	- TYP 112 à TYP 120 – typage HLA
Nombre de laboratoires concernés*	44	43	34	43
Nombre de laboratoires participants**	42	42	34	41

* 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 2007

Les opérations « histocompatibilité » comportent plusieurs analyses différentes : les typages HLA (par lymphocytotoxicité ou par biologie moléculaire), la recherche 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 et -DR 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 2007, en fonction des techniques qu'ils ont déclaré utiliser : 8 échantillons de sang frais (TYP...) pour typage HLA par lymphocytotoxicité (ou « sérologie ») et/ou par biologie moléculaire et 2 échantillons d'ADN déjà extrait (BML...) pour typage HLA par biologie moléculaire. Les 8 échantillons TYP... (sang) ont été répartis, dans l'année, de la façon suivante : chaque laboratoire a reçu 3 échantillons de la série TYP 097 à TYP 105 lors de l'opération 07HLA1 ; 2 échantillons de la série TYP 106 à TYP 111 lors de l'opération 07HLA2 et 3 échantillons de la série TYP 112 à TYP 120 lors de l'opération 07HLA4. Les 2 échantillons, BML 009 et BML 010, ont été expédiés lors de l'opération 07HLA2.

Certains échantillons des opérations 07HLA1 et 07HLA4 sont issus d'un même donneur afin, d'une part d'accroître le nombre de laboratoires analysant un même donneur et d'autre part, de permettre une étude de la reproductibilité intra-laboratoire quand ils sont adressés deux fois au même laboratoire.

Les résultats des typages HLA (« sérologie » et biologie moléculaire) réalisés par les laboratoires lors des opérations « histocompatibilité » sont satisfaisants ; les typages en biologie moléculaire au niveau de résolution générique sont très satisfaisants et parfaitement concordants avec les typages « sérologiques ».

Pour les analyses qui concernent les anticorps anti-HLA, en fonction de leur pratique habituelle, les laboratoires inscrits pour ces analyses, ont reçu lors de l'opération 07HLA3, 12 sérums (07S1 à 07S12) pour recherche et identification d'anticorps anti-HLA et 2 échantillons de sang frais (XMH012 et XMH013) pour cross-matches.

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

Typage HLA

TYP 097 à TYP 120 ; BML 009 ; BML 010

Méthode statistique et expression des résultats

Un échantillon de contrôle est défini par son identification (TYP... ou BML...). Plusieurs échantillons peuvent provenir d'un même donneur ; ces échantillons sont distribués lors d'opérations différentes.

Pour un donneur, le consensus 75% correspond au typage HLA déterminé par au moins 75% des laboratoires, quelle que soit l'identification de l'échantillon. Dans les tableaux suivants, les statistiques sont présentées par donneur.

Définition des échantillons

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

Bien que certains échantillons soient issus d'un même donneur, chaque échantillon a été typé par les experts, à chaque opération, au meilleur niveau de résolution possible en biologie moléculaire. Les résultats sont exprimés en fonction de la nomenclature officielle (1, 2) (tableau I).

tableau I - définition des échantillons « typage HLA »

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
BML009 (07HLA2)	A*	0101	2902
	B*	4002	4403
	C*	0202 ou 0213 ou 0215	1601
	DRB1*	0701	0403
	DRB3*		
	DRB4*	0101	0103
	DRB5*		
	DQA1*	0201	0301
	DQB1*	0202	0304
	DPB1*	0101	0401
BML010 (07HLA2)	A*	0101	1101
	B*	3503	5201
	C*	1202	1203
	DRB1*	0701	1502
	DRB3*		
	DRB4*	0103	
	DRB5*		0102
	DQA1*	0103	0201
	DQB1*	0303	0601
	DPB1*	0201	1701
TYP097 (07HLA1) et TYP117 (07HLA4)	A*	1101	3303
	B*	4001	4501
	C*	0304	1601
	DRB1*	0404	1101
	DRB3*		0202
	DRB4*	0103	
	DRB5*		
	DQA1*	0301	0505
	DQB1*	0301	0302
	DPB1*	1001	1501

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP098 (07HLA1) et TYP113 (07HLA4)	A*	0201	2402 ou 2463 ou 2466
	B*	2705	5101 ou 5141 ou 5143
	C*	0102	0501 ou 0514
	DRB1*	0404	0801
	DRB3*		
	DRB4*	0103	
	DRB5*		
	DQA1*	0301	0401
	DQB1*	0302	0402
	DPB1*	0401	-
TYP099 (07HLA1)	A*	0201	3101
	B*	4001	5601
	C*	0102	0304
	DRB1*	0701	0404
	DRB3*		
	DRB4*	0101	0103
	DRB5*		
	DQA1*	0201	0301
	DQB1*	0202	0302
	DPB1*	0401	0601
TYP100 (07HLA1)	A*	0201 ou 0288	2601ou 2627
	B*	0702ou 0746 ou 0747 ou 0748	3701
	C*	0401 ou 0419 à 0424	0702ou0729ou 0732 ou
	DRB1*	1101	1501
	DRB3*	0202	
	DRB4*		
	DRB5*		0101
	DQA1*	0102	0505
	DQB1*	0301	0602
	DPB1*	0402	1001
TYP101 (07HLA1) et TYP116 (07HLA4)	A*	0201	2402
	B*	3801	4402
	C*	0501	1203
	DRB1*	1301	-
	DRB3*	0101	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0103	-
	DQB1*	0603	0603
	DPB1*	0201	1001
TYP102 (07HLA1) et TYP118 (07HLA4)	A*	0201	-ou 0207ou 0290
	A*	0201	0201ou 0207ou 0290
	B*	1501ou1570 ou 9520	5501
	C*	0303ou0330	0501 ou 0514
	DRB1*	0404	1201
	DRB3*	0202	
	DRB4*	0103	
	DRB5*		
	DQA1*	0301	0505
	DQB1*	0301	0302

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP103 (07HLA1) et TYP114 (07HLA4)	A*	0201	0301
	B*	3501	5101
	C*	0202	0401
	DRB1*	1101	0101
	DRB3*	0202	
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0505
	DQB1*	0301	0501
	DPB1*	0201	0402
	TYP104 (07HLA1) et TYP119 (07HLA4)	A*	0201
B*		3906	4001
C*		0304	0702
DRB1*		0407	0801
DRB3*			
DRB4*			0103
DRB5*			
DQA1*		0303	0404
DQB1*		0301	0402
DPB1*		0301	1001
TYP105 (07HLA1) et TYP112 (07HLA4)		A*	0201
	B*	0702	3501
	C*	0401	0702
	DRB1*	1101	1501
	DRB3*	0202	
	DRB4*		
	DRB5*		0101
	DQA1*	0102	0505
	DQB1*	0301	0602
	DPB1*	0402	1301
	TYP106 (07HLA2)	A*	0201
B*		4403	5101
C*		1402	1601
DRB1*		0701	0801
DRB3*			
DRB4*		0101	
DRB5*			
DQA1*		0201	0401
DQB1*		0202	0402
DPB1*		0201 ou 1802	1101
TYP107 (07HLA1) et TYP120 (07HLA4)		A*	0201
	B*	1401	1801
	C*	0701	0802
	DRB1*	1401ou1454	1501
	DRB3*	0202	
	DRB4*		
	DRB5*	0101	
	DQA1*	0102	0104
	DQB1*	0503	0602
	DPB1*	0201	0301

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP108 (07HLA2)	A*	1101	6801
	B*	3501	4402
	C*	0401	0704
	DRB1*	0101	0301
	DRB3*	0202	
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0501
	DQB1*	0201	0501
	DPB1*	0201	0401
TYP109 (07HLA2)	A*	0101	2402
	B*	0702	0801
	C*	0701	0702
	DRB1*	0408	0301
	DRB3*		0101
	DRB4*	0103	
	DRB5*		
	DQA1*	0303	0501
	DQB1*	0201	0301
	DPB1*	0301	0401
TYP110 (07HLA2)	A*	0101	1101
	B*	4701	5101 ou 5141 ou 5143
	C*	0602	1502
	DRB1*	0101 ou 0116	0801
	DRB3*		
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0402
	DQB1*	0501	0402
	DPB1*	0301	0401
TYP111 (07HLA2)	A*	0201	2902
	B*	4002	4403
	C*	0202	1601
	DRB1*	0701	1101
	DRB3*		0202
	DRB4*	0101	
	DRB5*		
	DQA1*	0201	0505
	DQB1*	0202	0301
	DPB1*	0401	-
TYP115 (07HLA4)	A*	0201	2601
	B*	0702 ou 0746 ou 0747 ou	3801
	C*	0702	1203
	DRB1*	1301	1501
	DRB3*	0101	
	DRB4*		
	DRB5*		0101
	DQA1*	0102	0103
	DQB1*	0602	0603
	DPB1*	0202 ou 0203	0501

Résultats des participants

Certains échantillons des opérations 07HLA1 et 07HLA4 proviennent des mêmes donneurs (tableau II) afin, d'une part, d'accroître le nombre de laboratoires analysant un même donneur et d'autre part, de permettre une évaluation de la reproductibilité intra-laboratoire. Pour évaluer la reproductibilité intra-laboratoire, les laboratoires qui ont reçu les échantillons TYP098, TYP101 et TYP104 lors de l'opération 07HLA1 ont reçu, respectivement, les échantillons TYP113, TYP116 et TYP119 lors de l'opération 07HLA4.

tableau II - nombre de laboratoires par échantillon « typage HLA » 2007

Echantillons \ Opération	07HLA1	07HLA2	07HLA4	TOTAL
BML009 ;		41		41
BML010 ;		41		41
TYP097 ; TYP117	15		13	28
TYP098 ; TYP113 (*)	15		16	31
TYP099 ;	15			15
TYP100 ;	14			14
TYP101 ; TYP116 (*)	13		13	26
TYP102 ; TYP118	13		12	25
TYP103 ; TYP114	13		16	29
TYP104 ; TYP119 (*)	13		12	25
TYP105 ; TYP112	13		16	29
TYP106 ;		14		14
TYP107 ; TYP120		14	12	26
TYP108 ;		14		14
TYP109 ;		14		14
TYP110 ;		14		14
TYP111 ;		14		14
TYP115 ;			13	13

(*) ces échantillons ont été adressés aux mêmes laboratoires lors de l'opération 07HLA4

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 donneurs pour tous les typages (A, B et DR) par « sérologie » (tableau III) ; par biologie moléculaire, il a été obtenu au niveau minimum de définition générique pour tous les donneurs pour les loci HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 et -DQA1 (tableau IV).

Pour ce qui concerne le niveau de définition allélique, le consensus 75% a été atteint pour HLA-A pour 53% des échantillons (75% en 2006), HLA-B 50% (62% en 2006), HLA-C 78% (87% en 2006), -DRB1 83% (90% en 2006), -DQB1 86% (81% en 2006). Les résultats de 2007 sont comparables à ceux de 2006 avec néanmoins une légère diminution du taux de consensus allélique atteint pour HLA-A et HLA-B, similaires à ceux de 2005.

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	
TYP097 (07HLA1) et TYP117 (07HLA4)	A	11	33
	B	45	60
	DR	11	4
TYP098 (07HLA1) et TYP113 (07HLA4)	A	2	24
	B	27	51
	DR	4	8
TYP099 (07HLA1)	A	2	31
	B	56	60
	DR	4	7
TYP100 (07HLA1)	A	2	26
	B	37	7
	DR	11	15
TYP101 (07HLA1) et TYP116 (07HLA4)	A	2	24
	B	38	44
	DR	-	13
TYP102 (07HLA1) et TYP118 (07HLA4)	A	-	2
	B	55	62
	DR	12	4
TYP103 (07HLA1) et TYP114 (07HLA4)	A	2	3
	B	35	51
	DR	1	11
TYP104 (07HLA1) et TYP119 (07HLA4)	A	2	24
	B	39	60
	DR	4	8
TYP105 (07HLA1) et TYP112 (07HLA4)	A	-	2
	B	35	7
	DR	11	15
TYP106 (07HLA2)	A	2	29
	B	44	51
	DR	7	8
TYP107 (07HLA1) et TYP120 (07HLA4)	A	2	24
	B	14	18
	DR	14	15
TYP108 (07HLA2)	A	11	68
	B	35	44
	DR	1	3
TYP109 (07HLA2)	A	1	24
	B	7	8
	DR	3	4
TYP110 (07HLA2)	A	1	11
	B	47	51
	DR	1	8
TYP111 (07HLA2)	A	2	29
	B	40	44
	DR	11	7
TYP115 (07HLA4)	A	2	26
	B	38	7
	DR	13	15

tableau IV - consensus 75% typage HLA par biologie moléculaire

Echantillon (opération)	Consensus 75% tous typages confondus (consensus 75% typages définition allélique) (1)		
	HLA-	allèles	
BML009 (07HLA2)	A*	01	29 (2902)
	B*	40 (4002)	44
	C*	02 (0202)	16 (1601)
	DRB1*	04 (0403)	07 (0701)
	DRB3*		
	DRB4*	01	0103
	DRB5*		
	DQA1*	0201	0301
	DQB1*	02 (0202)	03 (0304)
	DPB1*	0101	0401
BML010 (07HLA2)	A*	01	11
	B*	35 (3503)	52 (5201)
	C*	12 (1202)	12 (1203)
	DRB1*	07 (0701)	15 (1502)
	DRB3*		
	DRB4*	-	0103
	DRB5*	-	0102
	DQA1*	0103	0201
	DQB1*	03 (0303)	06 (0601)
	DPB1*	NC	1701
TYP097 (07HLA1) et TYP117 (07HLA4)	A*	11	33 (3303)
	B*	40 (4001)	45 (4501)
	C*	03 (0304)	16 (1601)
	DRB1*	04 (0404)	11 (1101)
	DRB3*	-	0202
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*	03	05
	DQB1*	03 (0301)	0302
	DPB1*	1001	1501
TYP098 (07HLA1) et TYP113 (07HLA4)	A*	02 (0201)	24
	B*	27 (2705)	51
	C*	0102	05 (0501)
	DRB1*	04 (0404)	08 (0801)
	DRB3*		
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*	03	0401
DQB1*	0302	0402	
DPB1*	-	0401	

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		
TYP099 (07HLA1)	A*	02 (0201)	31	
	B*	40 (4001)	56 (5601)	
	C*	01 (0102)	03	
	DRB1*	04 (0404)	07 (0701)	
	DRB3*			
	DRB4*	0103	NC	
	DRB5*			
	DQA1*			
	DQB1*	02 (0202)	0302	
	DPB1*	0401	0601	
TYP100 (07HLA1)	A*	02	26 (2601)	
	B*	07	37 (3701)	
	C*	04 (0401)	07 (0702)	
	DRB1*	11 (1101)	15 (1501)	
	DRB3*	-	0202	
	DRB4*			
	DRB5*	-	0101	
	DQA1*	na	na	
	DQB1*	03 (0301)	06 (0602)	
	DPB1*	0402	1001	
	TYP101 (07HLA1) et TYP116 (07HLA4)	A*	02	24
		B*	38 (3801)	44
C*		05 (0501)	12 (1203)	
DRB1*		-	13 (1301)	
DRB3*		0101	0202	
DRB4*				
DRB5*				
DQA1*		na	na	
DQB1*		-	06 (0603)	
DPB1*		0201	1001	
TYP102 (07HLA1) et TYP118 (07HLA4)		A*	-	02 (0201)
		B*	15	55
	C*	03	05	
	DRB1*	04 (0404)	12	
	DRB3*	-	0202	
	DRB4*	-	0103	
	DRB5*			
	DQA1*	na	na	
	DQB1*	03	03	
	DPB1*	0401	0402	
	TYP103 (07HLA1) et TYP114 (07HLA4)	A*	02 (0201)	03
		B*	35 (3501)	51 (5101)
C*		02 (0202)	04 (0401)	
DRB1*		01 (0101)	11 (1101)	
DRB3*		-	0202	
DRB4*				
DRB5*				
DQA1*				
DQB1*		03	0501	
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	
TYP104 (07HLA1) et TYP119 (07HLA4)	A*	02 (0201)	24
	B*	39	40
	C*	03	07
	DRB1*	04 (0407)	08 (0801)
	DRB3*		
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*	na	na
	DQB1*	03	04 (0402)
	DPB1*	NC	NC
TYP105 (07HLA1) et TYP112 (07HLA4)	A*	-	02 (0201)
	B*	07 (0702)	35
	C*	04 (0401)	07 (0702)
	DRB1*	11 (1101)	15
	DRB3*	-	0202
	DRB4*		
	DRB5*	-	0101
	DQA1*	01	05
	DQB1*	03	06 (0602)
	DPB1*	0402	1301
TYP106 (07HLA2)	A*	02 (0201)	29 (2902)
	B*	44 (4403)	51
	C*	14 (1402)	16 (1601)
	DRB1*	07 (0701)	08 (0801)
	DRB3*		
	DRB4*	-	0101
	DRB5*		
	DQA1*	na	na
	DQB1*	0202	0402
	DPB1*	NC	1101
TYP107 (07HLA1) et TYP120 (07HLA4)	A*	02	24
	B*	14 (1401)	18
	C*	07	08 (0802)
	DRB1*	14	15
	DRB3*	-	0202
	DRB4*		
	DRB5*	-	0101
	DQA1*	na	na
	DQB1*	0503	06 (0602)
	DPB1*	NC	NC
TYP108 (07HLA2)	A*	11 (1101)	68
	B*	35	44 (4402)
	C*	04 (0401)	07 (0704)
	DRB1*	01 (0101)	03
	DRB3*	-	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	01	0501
	DQB1*	02 (0201)	05 (0501)
	DPB1*	0201	0401

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	
TYP109 (07HLA2)	A*	01 (0101)	24 (2402)
	B*	07	08 (0801)
	C*	-	07 (0702)
	DRB1*	03	04 (0408)
	DRB3*	-	0101
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*	na	na
	DQB1*	02 (0201)	03 (0301)
	DPB1*	0401	NC
TYP110 (07HLA2)	A*	01 (0101)	11
	B*	47 (4701)	51
	C*	06 (0602)	15 (1502)
	DRB1*	01 (0101)	08 (0801)
	DRB3*		
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*		
	DQB1*	04 (0402)	05 (0501)
	DPB1*	na	na
TYP111 (07HLA2)	A*	02 (0201)	29 (2902)
	B*	40	44
	C*	02 (0202)	16 (1601)
	DRB1*	07 (0701)	11 (1101)
	DRB3*	-	0202
	DRB4*	-	0101
	DRB5*		
	DQA1*		
	DQB1*	02 (0202)	03
	DPB1*	na	na
TYP115 (07HLA4)	A*	02	26
	B*	07	38
	C*	0702	1203
	DRB1*	13 (1301)	15 (1501)
	DRB3*	-	0101
	DRB4*		
	DRB5*	-	0101
	DQA1*	na	na
	DQB1*	06 (0602)	06 (0603)
	DPB1*	NC	NC

(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)

Commentaires

Etude de reproductibilité intra-laboratoire :

Certains échantillons issus des mêmes donneurs ont été adressés aux mêmes laboratoires lors des opérations 07HLA1 et 07HLA4 pour évaluer la reproductibilité des résultats dans un même laboratoire. L'étude de la reproductibilité (« sérologie » et/ou biologie moléculaire) a pu être réalisée pour 35 laboratoires :

- TYP098 (07HLA1) et TYP113 (07HLA4) : 14 laboratoires
- TYP101 (07HLA1) et TYP116 (07HLA4) : 11 laboratoires
- TYP104 (07HLA1) et TYP119 (07HLA4) : 10 laboratoires.

On ne tient compte, pour étudier la reproductibilité intra-laboratoire, que des différences entre les deux typages sans préjuger de leur exactitude par rapport au consensus 75%.

Pour les typages par « sérologie », on note quatre différences entre le premier et le second typage pour les 28 typages étudiés (tableau V). Dans les quatre cas, il s'agit de différence dans le niveau de précision des typages.

tableau V - reproductibilité intra-laboratoire : différences de typages HLA par « sérologie »

échantillon typage n°1	échantillon typage n°2	HLA-	typage n°1	typage n°2	nombre de laboratoires
TYP098	TYP113	A	2/24	2/9	1
TYP098	TYP113	B	27/5	27/51	2
TYP104	TYP119	B	39/40	39/60	1

Pour les typages par biologie moléculaire étudiés, les différences de niveaux de définition (générique ou allélique) entre les deux typages ne sont pas prises en compte. Les cinq différences relevées entre le premier et le second typage pour les 33 typages étudiés sont récapitulées dans le tableau VI.

tableau VI – étude de reproductibilité intra-laboratoire : différences de typages HLA par biologie moléculaire

échantillon typage n°1	échantillon typage n°2	HLA-	typage n°1	typage n°2	nombre de laboratoires
TYP098	TYP113	A*	0201/2401	0201/2402	1
TYP098	TYP113	B*	27/51	27/52	1
TYP098	TYP113	DRB4*	-/0101	-/0103	1
TYP098	TYP113	DPB1*	-/0401	0402/1301	1
TYP101	TYP116	C*	0501/1203	1203/1205	1

Etude des discordances :

Pour les phénotypes, sont comptabilisés comme discordances, les erreurs dans la caractérisation 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-B10 quand le consensus 75% est HLA-B26).

En tout, 30 discordances ont été relevées (19 en 2006, 40 en 2005) par rapport au consensus 75% (tableau VII) :

- au locus HLA-A (255 typages en tout) : 6 discordances (7 discordances en 2006 et 14 en 2005) dont 1 seul défaut de caractérisation et 6 défauts de subdivision. Ces discordances ont concerné 6 typages différents.
- au locus HLA-B (255 typages en tout) : 18 discordances (9 discordances en 2006 et 23 en 2005) dont 3 défauts de caractérisation et 15 défauts de subdivision. Ces discordances ont concerné 16 typages différents.
- au locus HLA-DR (154 typages en tout) : 6 discordances (3 discordances en 2005 et 2006), pour 5 typages, incluant 4 erreurs de subdivision (DR2 au lieu du consensus DR15) et 2 erreurs de typage sur un même échantillon.

Rapporté au nombre total de typages effectués, on constate donc une stabilité des résultats de typage pour les typages HLA-A et HLA-DR (taux de discordance de 2% à 4% en 2007, 2006 et 2005) et une augmentation des discordances pour HLA-B (7% en 2007 contre 3% en 2006). Ceci s'explique par des

erreurs de subdivision (résultat rendu B40 au lieu du consensus B60) entre l'antigène HLA-B40, subdivisé en B60 et B61. Cette erreur a touché 9 typages sur 5 échantillons (TYP097, TYP099, TYP104, TYP117, TYP119) issus de 3 donneurs, les échantillons TYP097 et TYP117, d'une part et TYP104 et TYP119, d'autre part, provenant d'un même donneur. Il faut noter qu'en biologie moléculaire, pour l'échantillon TYP119, le consensus 75% n'a été atteint qu'au niveau de résolution générique B*40 ; pour les autres échantillons, le consensus 75% a été atteint au niveau de résolution allélique B*4001, conforme au consensus B60 sérologique.

tableau VII - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par « sérologie » de 2005 à 2007

HLA-	Nombre de discordances	Taux de discordance (*)		
		2007	2006	2005
A	6	2,4% (6/255)	2,6% (7/267)	4,5% (14/312)
B	18	7,1% (18/255)	3,4% (9/267)	7,4% (23/312)
DR	6	3,9% (6/154)	1,9% (3/161)	1,9% (3/162)

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

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 allélique ou « haute résolution », requis en cas de greffe de cellules hématopoïétiques.

Pour les typages par biologie moléculaire, la définition des discordances par rapport au consensus 75% est la même que pour les typages par « sérologie », à savoir : erreurs dans la caractérisation d'un antigène, défauts ou excès de caractérisation, défauts de subdivision de spécificité large.

Ainsi, on a relevé (tableau VIII) par rapport au consensus 75% :

- au locus HLA-A (358 typages) : 3 discordances (4 discordances en 2006), sur 3 typages, correspondant à 1 erreur et 2 défauts de caractérisation
- au locus HLA-B (360 typages) : 1 discordance (4 discordances en 2006) correspondant à une erreur de typage
- au locus HLA-C (296 typages) : 6 discordances (8 en 2006) pour 5 typages correspondant à 6 erreurs de caractérisation
- au locus HLA-DRB1 (385 typages) : aucune erreur en 2007, comme en 2006, alors que 5 discordances étaient signalées en 2005
- au locus HLA-DQB1 (384 typages) : 2 discordances (1 erreur de subdivision, 1 erreur de définition), comparable aux résultats de 2006 (3 erreurs de caractérisation).

Rapporté au nombre total de typages effectués, on constate par rapport à 2006 une stabilité des résultats de typage par biologie moléculaire à tous les locus HLA-A, -B, -C, -DRB1 et DQB1, le taux de discordance n'excédant pas 2% des typages en considérant globalement les résultats au niveau générique et allélique.

tableau VIII - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par biologie moléculaire de 2005 à 2007

HLA-	Nombre de discordances	Taux de discordance (*)		
		2007	2006	2005
A*	3	0,8% (3/358)	1,1% (4/374)	1,6% (6/373)
B*	1	0,3% (1/360)	1,1% (4/375)	1,6% (6/371)
C*	6	2,0% (6/296)	2,6% (8/303)	0,7% (2/291)
DRB1*	0	0,0% (0/385)	0,0% (0/404)	1,2% (5/427)
DQB1*	2	0,5% (2/384)	0,7% (3/403)	0,7% (3/422)

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

Conclusion

Ces résultats mettent en évidence l'excellent niveau et le maintien d'une grande qualité des typages HLA aussi bien par « sérologie » que par biologie moléculaire.

Les typages en biologie moléculaire au niveau de résolution générique sont très satisfaisants et parfaitement concordants avec les typages sérologiques. Néanmoins, on relève une légère diminution dans le taux des

consensus obtenus au niveau allélique par rapport à 2006 pour les locus HLA de classe I (HLA-A, -B, -C) qui se rapproche des taux de 2005. Les taux de consensus alléliques atteints en 2007 sont pour HLA-A de 53% (75% en 2006 et 69% en 2005), HLA-B 50% (62% en 2006 et 47% en 2005) et HLA-C 78% (87% en 2006 et 83% en 2005). Les typages HLA-DRB1 en biologie moléculaire, particulièrement importants en transplantation, gardent un niveau de fiabilité remarquable (83% de consensus allélique atteint contre 90% en 2006, aucune discordance signalée en 2007 comme en 2006 au niveau individuel).

Recherche et identification d'anticorps anti-HLA

07S1 à 07S12

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 telle 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.

Définition des échantillons

Les caractéristiques des échantillons (sérums) pour recherche et identification des anticorps anti-HLA de l'opération 07HLA3 (tableau IX) recouvrent la majorité des cas observés en clinique ; les anticorps anti-HLA présents sont des anticorps anti-HLA classe I et/ou des anti-HLA classe II d'isotypes G et/ou M.

Ces sérums polyclonaux contiennent le plus souvent un mélange d'anticorps anti-HLA de classe I et de classe II. Dans le tableau IX, sont indiquées la ou les classes d'anticorps détectables au minimum.

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

Echantillon	Définition
07S1	Présence d'anticorps anti-HLA classe I
07S2	Présence d'anticorps anti-HLA classe I et classe II
07S3	Présence d'anticorps anti-HLA classe II
07S4	Présence d'anticorps anti-HLA classe I et classe II
07S5	Présence d'anticorps anti-HLA classe II
07S6	Présence d'anticorps anti-HLA classe I et classe II
07S7	Présence d'anticorps anti-HLA classe II
07S8	Présence d'anticorps anti-HLA classe I
07S9	Présence d'anticorps anti-HLA classe I
07S10	Absence d'anticorps anti-HLA
07S11	Présence d'anticorps anti-HLA classe I et classe II
07S12	Absence d'anticorps anti-HLA

Résultats des participants

Techniques utilisées

Les techniques utilisées par les laboratoires pour la détection des anticorps anti-HLA sont l'ELISA (16 laboratoires) et la fluorimétrie sur billes (20 laboratoires). La lymphocytotoxicité est également citée par les laboratoires mais elle est toujours associée à l'ELISA et/ou à la fluorimétrie sur billes.

Pour l'identification, la technique la plus fréquemment citée est la lymphocytotoxicité sur panel de donneurs, seuls 4 laboratoires ne l'utilisent pas. L'ELISA et la fluorimétrie sur billes, également utilisées pour l'identification des anticorps, sont commercialisées pour une identification sur panel de donneurs ou sur antigènes isolés. Pour ces techniques, les identifications sur antigènes isolés sont encore peu répandues (tableau X).

tableau X – identification des anticorps anti-HLA : techniques ELISA et fluorimétrie sur billes

	Nombre d'utilisateurs	
	Panel	Antigènes isolés
ELISA - classe I	9	2
ELISA - classe II	10	
fluorimétrie sur billes - classe I	17	3
fluorimétrie sur billes - classe II	13	2

Recherche des anticorps anti-HLA

Les résultats obtenus par les laboratoires pour la recherche d'anticorps anti-HLA sont décrits dans les tableaux XI et XII.

tableau XI - recherche des anticorps anti-HLA toutes techniques confondues

Echantillon	Classe I			Classe II		
	positif	négatif	nombre de dépistages	positif	négatif	nombre de dépistages
07S1	34 (100%)		34	9 (26%)	25 (74%)	34
07S2	34 (100%)		34	34 (100%)		34
07S3		34 (100%)	34	27 (79%)	7 (21%)	34
07S4	33 (97%)	1 (3%)	34	34 (100%)		34
07S5	17 (50%)	17 (50%)	34	34 (100%)		34
07S6	34 (100%)		34	33 (97%)	1 (3%)	34
07S7	32 (94%)	2 (6%)	34	34 (100%)		34
07S8	32 (94%)	2 (6%)	34	1 (3%)	33 (97%)	34
07S9	32 (97%)	1 (3%)	33	27 (79%)	6 (18%)	33
07S10	1 (3%)	33 (97%)	34	1 (3%)	33 (97%)	34
07S11	31 (91%)	3 (9%)	34	33 (97%)	1 (3%)	34
07S12		34 (100%)	34		34 (100%)	34

tableau XII - recherche des anticorps anti-HLA par technique ELISA et fluorimétrie sur billes (*)

	Classe I : dépistage positif		Classe II : dépistage positif	
	ELISA	fluorimétrie sur billes	ELISA	fluorimétrie sur billes
07S1	14/14 (100%)	20/20 (100%)	1/14 (7%)	7/20 (35%)
07S2	15/15 (100%)	20/20 (100%)	15/15 (100%)	20/20 (100%)
07S3	0/15 (0%)	0/20 (0%)	9/15 (60%)	19/20 (95%)
07S4	14/15 (93%)	20/20 (100%)	15/15 (100%)	20/20 (100%)
07S5	2/13 (15%)	16/20 (80%)	15/15 (100%)	20/20 (100%)
07S6	15/15 (100%)	20/20 (100%)	14/15 (100%)	19/20 (95%)
07S7	13/15 (87%)	20/20 (100%)	15/15 (100%)	20/20 (100%)
07S8	13/15 (87%)	20/20 (100%)	1/15 (7%)	0/20 (0%)
07S9	16/16 (100%)	17/18 (94%)	13/16 (81%)	15/18 (83%)
07S10	1/15 (7%)	0/20 (0%)	1/15 (7%)	0/20 (0%)
07S11	13/15 (87%)	19/20 (95%)	14/15 (93%)	20/20 (100%)
07S12	0/15 (0%)	0/20 (0%)	0/15 (0%)	0/20 (0%)

(*) : la lymphocytotoxicité est toujours associée à l'une et/ou à l'autre de ces 2 techniques plus sensibles pour la détection des anticorps anti-HLA.

Identification des anticorps anti-HLA

Les spécificités anti-HLA identifiées par les 32 laboratoires participants avec un consensus 75% figurent dans le tableau XIII.

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

	Techniques	Spécificités HLA identifiées (*)													
		Classe I					Classe II								
07S1	Toutes techniques	A11							NC						
	lymphocytotoxicité	A11													
	ELISA	A11	A66						na						
	fluorimétrie sur billes	NC							NC						
07S2	Toutes techniques	B12	A23						DR7						
	lymphocytotoxicité	B12							DR7						
	ELISA	B12							DR7						
	fluorimétrie sur billes	B45	A23						DR7						
07S3	Toutes techniques								DR15						
	lymphocytotoxicité								na						
	ELISA								NC						
	fluorimétrie sur billes								DR1	DR10	DR15				
07S4	Toutes techniques	NC							NC						
	lymphocytotoxicité	NC							DQ6	DQ5					
	ELISA	NC							NC						
	fluorimétrie sur billes	Plsp							NC						
07S5	Toutes techniques	A30	A31						DR17						
	lymphocytotoxicité	NC							DR3						
	ELISA								NC						
	fluorimétrie sur billes	A30	A31						DR13	DR17					
07S6	Toutes techniques	B12							DR8						
	lymphocytotoxicité	B44													
	ELISA	B12							DR8						
	fluorimétrie sur billes	B12							DR8	DR11					
07S7	Toutes techniques	NC							DR11						
	lymphocytotoxicité	NC							na						
	ELISA	NC							NC						
	fluorimétrie sur billes	NC							DR8	DR11	DR13	DR14	DR17	DR18	
07S8	Toutes techniques	A2	A68						na						
	lymphocytotoxicité	na													
	ELISA	A2							na						
	fluorimétrie sur billes	A2	A68												
07S9	Toutes techniques	B13	A11	B62					NC						
	lymphocytotoxicité	B13							DQ7						
	ELISA	B13	A11	B62					NC						
	fluorimétrie sur billes	B13	A11	B62					DQ7						
07S10	Toutes techniques														
	lymphocytotoxicité														
	ELISA														
	fluorimétrie sur billes														
07S11	Toutes techniques	A2	B17						DR7						
	lymphocytotoxicité	NC							DR7	DR9	DR11				
	ELISA	B57							DR7						
	fluorimétrie sur billes	A2	B17						DR7	DR9	DR5				
07S12	Toutes techniques														
	lymphocytotoxicité														
	ELISA														
	fluorimétrie sur billes														

(*) : NC : non consensus ; na : non applicable (effectif <3) ; Plsp : polyspécifique

Pour chacune des spécificités du consensus 75% les pourcentages d'identification par technique sont présentés dans le tableau XIV.

tableau XIV – spécificités du consensus 75% : pourcentage d'identification par technique

échantillon	spécificités du consensus 75% toutes techniques	pourcentage d'identification par technique (*)		
		lymphocytotoxicité	ELISA	fluorimétrie sur billes
07S1	A11	20/21 (95%)	11/11 (100%)	13/18 (72%)
	A66		10/11 (91%)	4/18 (22%)
07S2	B44	17/18 (94%)	10/12 (83%)	14/19 (74%)
	B45	14/18 (78%)	11/12 (92%)	16/19 (84%)
	A23	1/18 (6%)	7/12 (58%)	18/19 (95%)
	DR7	4/4 (100%)	10/10 (100%)	15/18 (83%)
07S3	DR15		2/3 (67%)	14/18 (78%)
07S5	A30	1/2 (50%)		16/16 (100%)
	A31			16/16 (100%)
	DR17	5/5 (100%)	8/11 (73%)	15/18 (83%)
07S6	B44	18/18 (100%)	9/11 (82%)	15/17 (88%)
	B45	11/18 (61%)	9/11 (82%)	14/17 (82%)
	DR8		10/10 (100%)	16/17 (94%)
07S7	DR11	1/1	7/11 (64%)	15/18 (83%)
07S8	A2	1/1	7/8 (88%)	19/19 (100%)
	A68		5/8 (63%)	19/19 (100%)
07S9	B13	24/24 (100%)	12/12 (100%)	19/19 (100%)
	A11	6/24 (25%)	9/12 (75%)	19/19 (100%)
	B62		9/12 (75%)	19/19 (100%)
07S11	A2	4/8 (50%)	7/11 (64%)	19/19 (100%)
	B57	3/8 (38%)	9/11 (82%)	19/19 (100%)
	B58	3/8 (38%)	7/11 (64%)	19/19 (100%)
	DR7	2/2 (100%)	9/10 (90%)	17/18 (94%)

(*) le pourcentage d'identification pour une technique donnée ne peut être calculé que pour des spécificités identifiées par les laboratoires avec cette technique

Commentaires

Les résultats du dépistage des anticorps anti-HLA sont conformes à la définition des échantillons (tableaux IX et X).

Il n'y a pas de différence significative entre les résultats de dépistage obtenus par la technique ELISA et ceux obtenus par la technique fluorimétrie sur billes pour les sérums étudiés (test de Wilcoxon au risque 5%).

Pour l'identification des anticorps anti-HLA, 88% des laboratoires utilisent la lymphocytotoxicité associée à une technique plus sensible : l'ELISA ou la fluorimétrie sur billes.

Dix huit spécificités ont été identifiées avec un consensus 75% toutes techniques confondues. L'analyse des résultats technique par technique montre que l'ELISA et la fluorimétrie sur billes, techniques plus sensibles, permettent de détecter, en consensus, des spécificités non identifiées par lymphocytotoxicité. Il n'y a globalement pas de différence entre l'ELISA et la fluorimétrie sur billes pour l'identification sur l'ensemble des sérums étudiés ; la fluorimétrie sur billes paraît, cependant, plus sensible.

Conclusion

Les résultats de la recherche et de l'identification des anticorps anti-HLA sont globalement homogènes. La lymphocytotoxicité reste la technique la plus utilisée pour l'identification de ces anticorps. Cependant, pour détecter le maximum de spécificités, la majorité des laboratoires utilise la lymphocytotoxicité associée à une deuxième technique plus sensible telle que l'ELISA ou la fluorimétrie sur billes.

Cross-matches HLA

XMH012, XMH013 vis à vis de 07S1 à 07S12 (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 IgM. Les résultats sont exprimés : négatif (N) ou positif (P) contre les lymphocytes T (T) et/ou B (B) avec des IgG (G) et/ou IgM (M). 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.

Définition des échantillons

Les échantillons XMH012 et XMH013 (sang) correspondent aux cellules provenant des donneurs d'organes à tester avec les sérums 07S1 à 07S12. Les typages HLA (tableau XV) ont été communiqués aux laboratoires.

tableau XV - définition des échantillons : typage HLA

Echantillon	Typage HLA Classe I					
	HLA-A		HLA-B		HLA-C	
XMH012	0201	0301	3501	5101	0202	0401
XMH013	0101	1101	4701	5101ou 5141 ou 5143	0602	1502

Echantillon	Typage HLA Classe II												
	HLA-DRB1		HLA-DRB3		HLA-DRB4		HLA-DRB5		HLA-DQA1		HLA-DQB1		HLA-DPB1
XMH012	1101	0101	0202					0101	0505	0301	0501	0201	0402
XMH013	0101 ou 0116	0801						0101	0402	0501	0402	0301	0401

Résultats des participants

Les techniques utilisées sont : la lymphocytotoxicité [LCT] par 25 laboratoires, la lymphocytotoxicité sensibilisée à l'antiglobuline [LAG] par 9 laboratoires et la cytofluorimétrie [CYT] par 5 laboratoires. Les laboratoires utilisent une ou plusieurs techniques.

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

tableau XVI - cross-match – consensus 75%

échantillons	technique (1)	XMH012 (2) (3)	XMH013 (2) (3)
07S1	LCT LAG CYT	N N PTBG	P PTG PTBG
07S2	LCT LAG CYT	N N NC	N N NC
07S3	LCT LAG CYT	N N PBG	N N PBG
07S4	LCT LAG CYT	PBG PTG PTBG	PBG PTG PTBG
07S5	LCT LAG CYT	N N PBG	N N NC
07S6	LCT LAG CYT	N NC PTBG	N N PTBG
07S7	LCT LAG CYT	N N PBG	N N PBG
07S8	LCT LAG CYT	N N PTBG	N N N
07S9	LCT LAG CYT	P NC PBG	NC PTG PTBG
07S10	LCT LAG CYT	N N N	N N N
07S11	LCT LAG CYT	NC N PTBG	N N NC
07S12	LCT LAG CYT	N N N	N N N

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

(2) : NC : non consensus

(3) : cf. paragraphe « méthode statistique et expression des résultats »

Commentaires

Le tableau XVI montre que 92% (22/24) des cross-matches par lymphocytotoxicité [LCT] ont été réalisés avec un consensus 75% par l'ensemble des laboratoires. On observe une bonne concordance entre l'identification des anticorps et le crossmatch pour des techniques de sensibilité « équivalente ».

Conclusion

Comme pour l'identification des anticorps anti-HLA, la majorité des laboratoires utilise la lymphocytotoxicité pour réaliser les cross-matches ; les résultats sont globalement homogènes.

Bibliographie

- 1- Marsh S ;WHO Nomenclature Committee for factors of the HLA system, update December 2007. Tissue Antigens 2008;71:262.
- 2- Web site : <http://www.anthonynolan.com/HIG>