

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)

	08HLA1	08HLA2	08HLA3	08HLA4
Expédition	02/04/2008	18/06/2008	10/09/2008	08/10/2008
Clôture	28/04/2008	15/07/2008	06/10/2008	03/11/2008
Edition des comptes-rendus individuels	11/06/2008	15/09/2008	08/12/2008	20/02/2009
Echantillons - paramètres contrôlés	- TYP121 à TYP129 – typage HLA	- TYP130 à TYP135 – typage HLA - BML011 et BML012 – typage HLA	- TYP136 à TYP144 – typage HLA	- XMH014 à XMH015 – cross-match phénotypage - 08S1 à 08S10 recherche et identification d’Ac anti-HLA
Nombre de laboratoires concernés*	42	42	42	33
Nombre de laboratoires participants**	41	41	41	33

* 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 2008

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 2008, 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 TYP121 à TYP129 lors de l’opération 08HLA1 ; 2 échantillons de la série TYP130 à TYP135 lors de l’opération 08HLA2 et 3 échantillons de la série TYP136 à TYP144 lors de l’opération 08HLA3. Les 2 échantillons, BML011 et BML012, ont été expédiés lors de l’opération 08HLA2.

Certains échantillons des opérations 08HLA1 et 08HLA3 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 08HLA4, 10 sérums (08S1 à 08S10) pour recherche et identification d’anticorps anti-HLA et 2 échantillons de sang frais (XMH014 et XMH015) pour cross-matches et phénotypage HLA.

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

Afin de permettre à chaque laboratoire d'évaluer sa performance pour les différentes analyses des opérations « histocompatibilité » du Contrôle national de qualité, un indice de performance a été mis en place, à titre expérimental, sur les résultats de 2007 et 2008. Cette évaluation de la performance tient compte de l'état de l'art ; elle est fondée sur les résultats trouvés par les laboratoires et pour les échantillons pour lesquels un consensus 75% a pu être dégagé.

Typage HLA

TYP121 à TYP144 ; BML011 ; BML012 ; XMH014 ; XMH015

Méthode statistique et expression des résultats

Consensus 75%

Un échantillon de contrôle est défini par son identification (TYP... ou BML... ou XMH...). 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.

Scores typage 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 TYP... et XMH... 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	
BML011 (08HLA2)	A*	0201 ou 0231	2601 ou 2627 ou 2632
	B*	1302 ou 1316	4701
	C*	0602 ou 0614	-
	DRB1*	0405	1454 ou 1470
	DRB3*	0202	
	DRB4*	0103	-
	DRB5*		
	DQA1*	0104	0303
	DQB1*	0302	0503
	DPB1*	0401	1301
	BML012 (08HLA2)	A*	1101
B*		0702 ou 0746 ou 0747 ou 0749N	5101 ou 5141 ou 5143
C*		0303	0702
DRB1*		1111	1454 ou 1470
DRB3*		0202	-
DRB4*			
DRB5*			
DQA1*		0104	0505
DQB1*		0301	0503
DPB1*		0101	0201 ou 1802

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP121 (08HLA1) et XMH015 (08HLA4)	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
TYP122 (08HLA1) et TYP143 (08HLA3)	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
TYP123 (08HLA1) et TYP138 (08HLA3)	A*	2902	3201
	B*	4402	4403
	C*	0501	1601
	DRB1*	0701	0402
	DRB3*		
	DRB4*	0101	0103
	DRB5*		
	DQA1*	0201	0301
	DQB1*	0202	0302
	DPB1*	0101	1701
TYP124 (08HLA1)	A*	0201	-
	B*	4402	5101
	C*	0501	1402
	DRB1*	1101	-
	DRB3*	0202	-
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0505	-
	DQB1*	0301	0301
	DPB1*	0201 ou 1802	0401
TYP125 (08HLA1)	A*	0201	2902
	B*	1801	3501
	C*	0401	1203
	DRB1*	1101	0101
	DRB3*	0202	
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0505
	DQB1*	0501	0301
	DPB1*	0401	-

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP126 (08HLA1) et TYP141 (08HLA3)	A*	0201	0301
	B*	1402	2705
	C*	0704 ou 0712	0802 ou 0807
	C*	0704 ou 0712	0802 ou 0807
	DRB1*	1301	1302
	DRB3*	0202	0301
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0102	0103
	DQB1*	0603	0609
TYP127 (08HLA1) et TYP136 (08HLA3)	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	-
TYP128 (08HLA1) et TYP139 (08HLA3)	A*	0301	6801
	B*	3501	4402
	C*	0401	0501
	DRB1*	0101	0301
	DRB3*		0101
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0501
	DQB1*	0501	0201
	DPB1*	0401	0402
TYP129 (08HLA1) et TYP144 (08HLA3)	A*	0101	0301
	B*	3801	5501
	C*	0303	1203
	DRB1*	1301	1454 ou 1470
	DRB3*	0101	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0103	0104
	DQB1*	0503	0603
	DPB1*	0201	0401 ou 9901
TYP130 (08HLA2)	A*	1101 ou 1129 ou 1130 ou 1132	3101 ou 3114N ou 3115 ou 3116
	B*	3501	4001
	C*	0304	0401
	DRB1*	0101 ou 0117 ou 0118 ou 0119	1302
	DRB3*	-	0301
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0102
	DQB1*	0501	0604
	DPB1*	0301	0401

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP131 (08HLA2)	A*	0201	2402
	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	-
TYP132 (08HLA2)	A*	2608	2402
	B*	3906	5601
	C*	0102	0702
	DRB1*	0101 ou 0117 ou 0118 ou 0119	0801
	DRB3*		
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0401
	DQB1*	0501	0402
	DPB1*	0301	0401
TYP133 (08HLA2)	A*	0201	2601
	B*	0702 ou 0752 ou 0754	3801
	C*	0702	1203
	DRB1*	1301	1501
	DRB3*	0101	-
	DRB4*		
	DRB5*	-	0101
	DQA1*	0102	0103
	DQB1*	0602	0603
	DPB1*	0202 ou 0203 ou 0102	0501 ou 0501 ou 2201
TYP134 (08HLA2)	A*	0201	2402
	B*	3906	4001
	C*	0304	0702
	DRB1*	0407	0801
	DRB3*		
	DRB4*	0103	-
	DRB5*		
	DQA1*	0303	0404
	DQB1*	0301	0402
	DPB1*	0301	1001
TYP135 (08HLA2)	A*	0201 ou 0290	-
	B*	5101	-
	C*	0102	1402
	DRB1*	0301	1501
	DRB3*	0101	-
	DRB4*		
	DRB5*	0101	-
	DQA1*	0102	0501
	DQB1*	0201	0602
	DPB1*	0401	-

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP137 (08HLA3)	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
TYP140 (08HLA3)	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
TYP142 (08HLA3)	A*	2301	2501
	B*	1801	4501
	C*	0602	1203
	DRB1*	0401	0701
	DRB3*		
	DRB4*	0101	0103
	DRB5*		
	DQA1*	0201	0301
	DQB1*	0202	0302
	DPB1*	0402 ou 6001	1701
XMH014 (08HLA4)	A*	0101	1101
	B*	4701	5101 ou 5141 ou 5143
	C*	0602	1502
	DRB1*	0101 ou 0117 ou 0118 ou 0119	0801
	DRB3*		
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0402
	DQB1*	0501	0402
	DPB1*	0301	0401

Résultats des participants

Certains échantillons des opérations 08HLA1 et 08HLA3 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 TYP123, TYP126 et TYP129 lors de l'opération 08HLA1 ont reçu, respectivement, les échantillons TYP138, TYP141 et TYP144 lors de l'opération 08HLA3.

tableau II - nombre de laboratoires par échantillon « typage HLA » 2008

Opération Echantillons	08HLA1	08HLA2	08HLA3	08HLA4	TOTAL
BML011 ;		39			39
BML012 ;		39			39
TYP121 ; XMH015 ;	14			23	37
TYP122 ; TYP143 ;	15		13		28
TYP123 ; TYP138 (*)	15		16		31
TYP124 ;	12				12
TYP125 ;	12				12
TYP126 ; TYP141 (*)	12		12		24
TYP127 ; TYP136 ;	14		16		30
TYP128 ; TYP139 ;	14		12		26
TYP129 ; TYP144 (*)	14		13		27
TYP130 ;		14			14
TYP131 ;		14			14
TYP132 ;		15			15
TYP133 ;		15			15
TYP134 ;		12			12
TYP135 ;		12			12
TYP137 ;			16		16
TYP140 ;			12		12
TYP142 ;			13		13
XMH014 ;				24	24

(*) ces échantillons ont été adressés aux mêmes laboratoires lors de l'opération 08HLA3

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, comme en 2006 et 2007 (tableau IV).

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 52,5% des cas (53% en 2007), HLA-B 30% (50% en 2007), HLA-C 67,5% (78% en 2007), -DRB1 50% (83% en 2007), -DQB1 42,5% (86% en 2007). Le taux de consensus allélique atteint pour 2008 est donc en diminution par rapport à 2007.

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	
TYP121 (08HLA1) et XMH015 (08HLA4)	A	11	33
	B	45	60
	DR	11	4
TYP122 (08HLA1) et TYP143 (08HLA3)	A	-	2
	B	35	7
	DR	11	15
TYP123 (08HLA1) et TYP138 (08HLA3)	A	29	32
	B	-	44
	DR	4	7
TYP124 (08HLA1)	A	-	2
	B	44	51
	DR	-	11
TYP125 (08HLA1)	A	2	29
	B	18	35
	DR	1	11
TYP126 (08HLA1) et TYP141 (08HLA3)	A	2	3
	B	14	27
	DR	-	13
TYP127 (08HLA1) et TYP136 (08HLA3)	A	2	29
	B	44	61
	DR	11	7
TYP128 (08HLA1) et TYP139 (08HLA3)	A	28	3
	B	35	44
	DR	1	3
TYP129 (08HLA1) et TYP144 (08HLA3)	A	1	3
	B	38	55
	DR	13	14
TYP130 (08HLA2)	A	11	31
	B	35	60
	DR	1	13
TYP131 (08HLA2)	A	2	24
	B	27	51
	DR	4	8
TYP132 (08HLA2)	A	24	26
	B	39	56
	DR	1	8
TYP133 (08HLA2)	A	2	26
	B	38	7
	DR	13	2
TYP134 (08HLA2)	A	2	24
	B	39	40
	DR	4	8
TYP135 (08HLA2)	A	-	2
	B	-	51
	DR	15	17
TYP137 (08HLA3)	A	11	68
	B	35	44
	DR	1	17

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP140 (08HLA3)	A	2	31
	B	56	60
	DR	4	7
TYP142 (08HLA3)	A	23	25
	B	18	45
	DR	4	7
XMH014 (08HLA4)	A	1	11
	B	47	51
	DR	1	8
TYP140 (08HLA3)	A	2	31
	B	56	60
	DR	4	7
TYP142 (08HLA3)	A	23	25
	B	18	45
	DR	4	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	
BML011 (08HLA2)	A*	02	26
	B*	13	47
	C*	-	06 (0602)
	DRB1*	04	14
	DRB3*	-	02
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*	0104	0303
	DQB1*	03 (0302)	0503
	DPB1*	0401	1301
	BML012 (08HLA2)	A*	11
B*		07	51
C*		03 (0303)	07 (0702)
DRB1*		11	14
DRB3*		-	02
DRB4*			
DRB5*			
DQA1*		0104	0505
DQB1*		03	05
DPB1*		0101	0201
TYP121 (08HLA1) et XMH015 (08HLA4)		A*	11
	B*	40	4501
	C*	03	1601
	DRB1*	0404	11
	DRB3*	-	0202
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*	03	05
	DQB1*	03	0302
	DPB1*	1001	1501

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	
TYP122 (08HLA1) et TYP143 (08HLA3)	A*	-	02 (0201)
	B*	07	35
	C*	04	07
	DRB1*	11	15
	DRB3*	-	02
	DRB4*		
	DRB5*	-	0101
	DQA1*	0102	05
	DQB1*	03	06
	DPB1*	0402	1301
TYP123 (08HLA1) et TYP138 (08HLA3)	A*	2902	32
	B*	4403	44
	C*	05 (0501)	16 (1601)
	DRB1*	04 (0402)	07 (0701)
	DRB3*		
	DRB4*	01	NC
	DRB5*		
	DQA1*	0201	03
	DQB1*	0202	0302
	DPB1*	0101	1701
TYP124 (08HLA1)	A*	-	02 (0201)
	B*	44 (4402)	51 (5101)
	C*	05 (0501)	14 (1402)
	DRB1*	-	11 (1101)
	DRB3*	-	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	na	na
	DQB1*	-	03
	DPB1*	na	na
TYP125 (08HLA1)	A*	02 (0201)	29 (2902)
	B*	18 (1801)	35 (3501)
	C*	04 (0401)	12 (1203)
	DRB1*	01 (0101)	11 (1101)
	DRB3*	-	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	na	na
	DQB1*	03	05
	DPB1*	na	na
TYP126 (08HLA1) et TYP141 (08HLA3)	A*	02 (0201)	03 (0301)
	B*	14	27
	C*	07	08
	DRB1*	13	13
	DRB3*	02	0301
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	na	na
	DQB1*	06	06
	DPB1*	0501	1101

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	
TYP127 (08HLA1) et TYP136 (08HLA3)	A*	02 (0201)	29 (2902)
	B*	40	44
	C*	02 (0202)	16 (1601)
	DRB1*	07 (0701)	11 (1101)
	DRB3*	-	02
	DRB4*	-	0101
	DRB5*		
	DQA1*	0201	05
	DQB1*	02	03
	DPB1*	-	0401
TYP128 (08HLA1) et TYP139 (08HLA3)	A*	03 (0301)	68 (6801)
	B*	35	44
	C*	04 (0401)	05 (0501)
	DRB1*	01	03
	DRB3*	-	0101
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	na	na
	DQB1*	02 (0201)	05 (0501)
	DPB1*	0401	0402
TYP129 (08HLA1) et TYP144 (08HLA3)	A*	01	03
	B*	38	55
	C*	03 (0303)	12 (1203)
	DRB1*	13	14
	DRB3*	0101	02
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	na	na
	DQB1*	05	06
	DPB1*	0201	0401
TYP130 (08HLA2)	A*	11 (1101)	31 (3101)
	B*	35	40
	C*	03	04
	DRB1*	01 (0101)	13 (1302)
	DRB3*	-	0301
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*		
	DQB1*	0501	06
	DPB1*	0401	NC
TYP131 (08HLA2)	A*	02 (0201)	24 (2402)
	B*	27	51
	C*	01 (0102)	05 (0501)
	DRB1*	04 (0404)	08 (0801)
	DRB3*		
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*		
	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	
TYP132 (08HLA2)	A*	24	26
	B*	39	56
	C*	01	07
	DRB1*	01 (0101)	08 (0801)
	DRB3*		
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	na	na
	DQB1*	04 (0402)	05 (0501)
	DPB1*	0401	NC
TYP133 (08HLA2)	A*	02	26
	B*	07	38
	C*	07 (0702)	12 (1203)
	DRB1*	13 (1301)	15 (1501)
	DRB3*	-	0101
	DRB4*		
	DRB5*	-	0101
	DQA1*	na	na
	DQB1*	06	06
	DPB1*	02	0501
TYP134 (08HLA2)	A*	02	24
	B*	3906	40
	C*	03 (0304)	07 (0702)
	DRB1*	04 (0407)	08 (0801)
	DRB3*		
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*	0303	04
	DQB1*	03	0402
	DPB1*	0301	1001
TYP135 (08HLA2)	A*	-	02 (0201)
	B*	-	51
	C*	01	14
	DRB1*	03	15
	DRB3*	-	0101
	DRB4*		
	DRB5*	-	0101
	DQA1*	0102	0501
	DQB1*	02	06
	DPB1*	-	0401
TYP137 (08HLA3)	A*	11	68
	B*	35 (3501)	44 (4402)
	C*	04	0704
	DRB1*	01	03
	DRB3*	-	02
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	01	0501
	DQB1*	0201	0501
	DPB1*	0401	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	
TYP140 (08HLA3)	A*	02 (0201)	31 (3101)
	B*	40 (4001)	56 (5601)
	C*	01 (0102)	03 (0304)
	DRB1*	04 (0404)	07 (0701)
	DRB3*		
	DRB4*	0103	01
	DRB5*		
	DQA1*	na	na
	DQB1*	02 (0202)	03 (0302)
	DPB1*	na	na
	TYP142 (08HLA3)	A*	23
B*		18	45
C*		06 (0602)	12 (1203)
DRB1*		04	07
DRB3*			
DRB4*		01	NC
DRB5*			
DQA1*		na	na
DQB1*		02	0302
DPB1*		1701	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 08HLA1 et 08HLA3 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 40 laboratoires :

- TYP123 (08HLA1) et TYP138 (08HLA3) : 15 laboratoires
- TYP126 (08HLA1) et TYP141 (08HLA3) : 12 laboratoires
- TYP129 (08HLA1) et TYP144 (08HLA3) : 13 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 cinq différences entre le premier et le second typage pour les 28 typages étudiés (tableau V). Dans trois cas, il s'agit de différences dans le niveau de précision des typages ; dans les deux autres cas, il s'agit de réelles différences entre les deux 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
TYP123	TYP138	A	29/32	29/X	1
TYP123	TYP138	DR	-/7	4/7	1
TYP126	TYP141	B	14/27	27/65	3

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. Sur les 37 typages étudiés, on relève une seule différence, au locus DPB1, entre le premier et le second typage (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
TYP123	TYP138	DPB1*	0402/1301	0101 (ou 2101)/1701	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).

Les résultats sont, comme en 2006 et 2007, très satisfaisants pour les 19 donneurs testés. En tout, 24 erreurs ont été relevées (29 en 2007, 19 en 2006) par rapport au consensus 75% (tableau VII) :

- au locus HLA-A (283 typages en tout) : 4 discordances sur 4 typages (6 discordances en 2007) dont 3 défauts de caractérisation (manques) et 1 défaut de subdivision.
- au locus HLA-B (280 typages en tout) : 17 discordances pour 15 typages (18 discordances en 2007) dont 7 défauts de caractérisation et 10 défauts de subdivision
- au locus HLA-DR (199 typages en tout) : 7 discordances pour 6 typages (6 discordances en 2007), incluant 5 erreurs de subdivision (DR2 au lieu du consensus DR15 par exemple) et 2 erreurs de caractérisation.

Rapporté au nombre total de typages effectués, on constate donc une stabilité des résultats de typage depuis 2007 pour les typages HLA-A, -B et HLA-DR dont le taux de discordance ne dépasse pas 7%.

tableau VII - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par « sérologie » de 2005 à 2008

HLA-	Taux de discordance (*)			
	2008	2007	2006	2005
A	1,4% (4/283)	2,4% (6/255)	2,6% (7/267)	4,5% (14/312)
B	6,1% (13/280)	7,1% (18/255)	3,4% (9/267)	7,4% (23/312)
DR	3,0% (6/199)	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% en considérant la totalité des typages au niveau générique et/ou allélique par rapport au consensus :

- au locus HLA-A (351 typages) : pas de discordance (3 discordances en 2007).
- au locus HLA-B (351 typages) : 2 discordances (1 discordance en 2007) correspondant à 2 erreurs de typage.
- au locus HLA-C (306 typages) : 1 discordance (6 en 2007) correspondant à 1 erreur de typage.
- au locus HLA-DRB1 (382 typages) : 1 seule erreur de typage (aucune erreur en 2007).
- au locus HLA-DQB1 (378 typages) : 3 anomalies (2 en 2007) correspondant à des erreurs de typage.

Rapporté au nombre total de typages effectués, on constate par rapport à 2007 une stabilité des résultats de typage par biologie moléculaire pour les locus HLA-A, -B, -C, -DRB1 et DQB1, le taux de discordance n'excédant pas 1% 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 2008

HLA-	Taux de discordance (*)			
	2008	2007	2006	2005
A*	0,0% (0/351)	0,8% (3/358)	1,1% (4/374)	1,6% (6/373)
B*	0,6% (2/351)	0,3% (1/360)	1,1% (4/375)	1,6% (6/371)
C*	0,3% (1/306)	2,0% (6/296)	2,6% (8/303)	0,7% (2/291)
DRB1*	0,3% (1/382)	0,0% (0/385)	0,0% (0/404)	1,2% (5/427)
DQB1*	0,8% (3/378)	0,5% (2/384)	0,7% (3/403)	0,7% (3/422)

(*) : 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 : 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, elle est 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 sur les résultats de l'année 2007 et sur ceux de l'année 2008 ; les scores attribués en fonction des écarts constatés sont présentés dans le tableau IX.

tableau IX : scores IP_{HLA} –typage

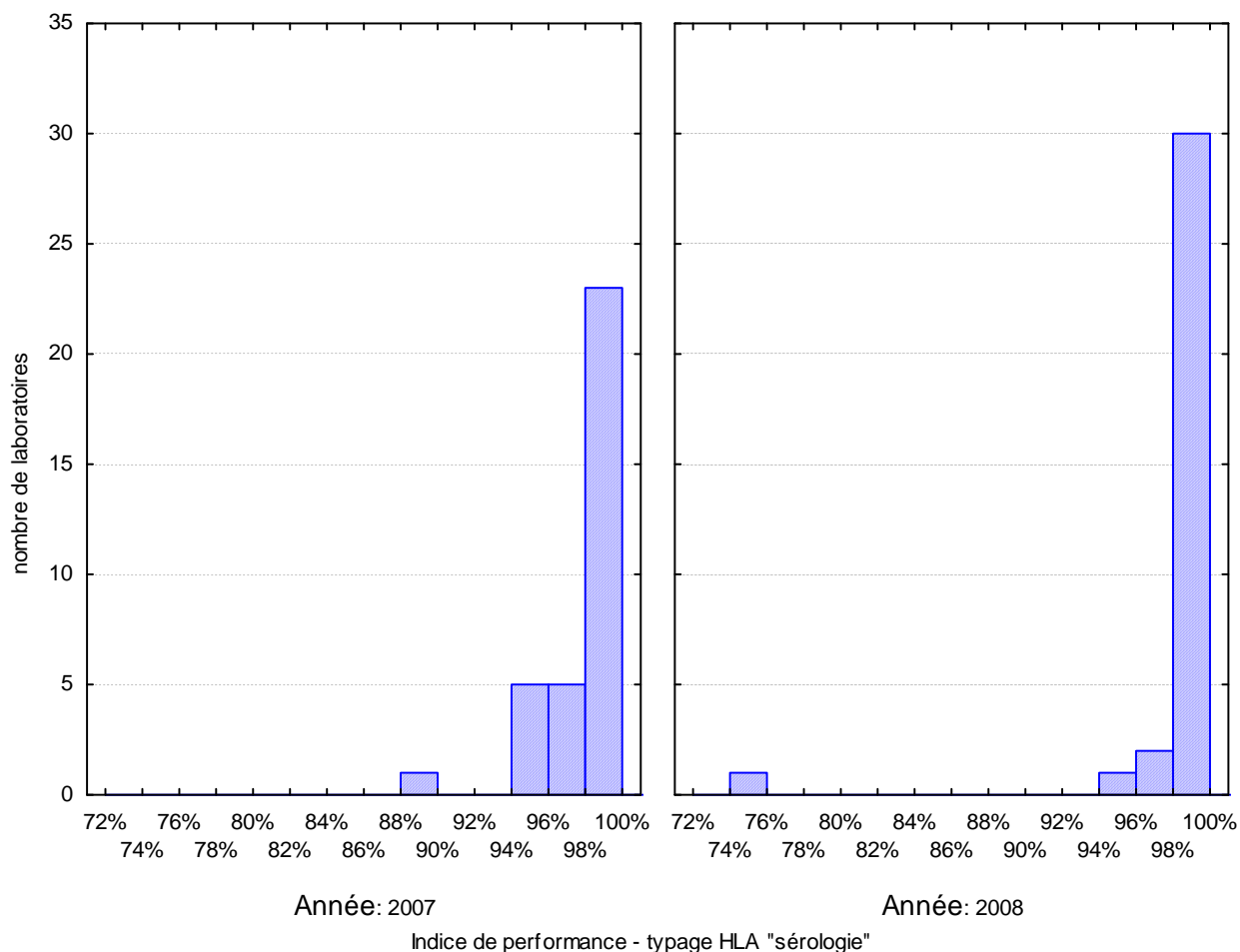
antigène ou allèle	score
Exactement conforme au consensus 75% (*)	4
Moins précis que le consensus 75% (*) et inclus dans la spécificité large (« broad » correct)	2
Erroné par rapport au consensus 75% (*)	0

La description statistique des indices de performance calculés pour 2007 et 2008 figure dans le tableau X et sur la figure 1 (pour le typage par « sérologie »).

tableau X – statistiques indice de performance - typage HLA 2007 et 2008

	2007		2008	
	« sérologie »	biologie moléculaire	« sérologie »	biologie moléculaire
n	34	43	34	40
minimum	89,6%	96,9%	75,0%	87,5%
maximum	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
centile 10	95,3%	98,6%	97,6%	99,5%
1er quartile	97,9%	100,0%	98,3%	100,0%
médiane	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
3ème quartile	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
centile 90	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

figure 1 - histogrammes indice de performance : typage HLA « sérologie » 2007 et 2008



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. Les typages HLA-DRB1 en biologie moléculaire, particulièrement importants en transplantation, gardent un niveau de fiabilité remarquable (une seule discordance au niveau individuel en 2008, de façon similaire à 2007 et 2006 où aucune discordance n'était signalée).

L'indice de performance – typage HLA (IP_{HLA} -typage), outil d'évaluation mis en place pour les résultats de 2007 et 2008, reflète bien le bon niveau de performance des laboratoires pour le typage HLA. Néanmoins, pour un laboratoire donné, il doit être interprété en fonction du contexte dans lequel le laboratoire réalise ces analyses.

Recherche et identification d'anticorps anti-HLA

08S1 à 08S10

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.

Scores recherche et identification anticorps anti-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 caractéristiques des échantillons (sérums) pour la recherche et l'identification des anticorps anti-HLA de l'opération 08HLA4 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 titres et spécificités variés ; ces anticorps sont essentiellement d'isotype IgG. Dans le tableau XI, sont indiquées la ou les classes d'anticorps détectables au minimum.

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

Echantillon	Définition
08S1	Présence d'anticorps anti-HLA classe II
08S2	Présence d'anticorps anti-HLA classe I
08S3	Présence d'anticorps anti-HLA classe I et II
08S4	Présence d'anticorps anti-HLA classe I
08S5	Présence d'anticorps anti-HLA classe I et II
08S6	Présence d'anticorps anti-HLA classe II
08S7	Présence d'anticorps anti-HLA classe I
08S8	Absence d'anticorps anti-HLA
08S9	Présence d'anticorps anti-HLA classe I et II
08S10	Présence d'anticorps anti-HLA classe I et II

Résultats des participants

Techniques utilisées

Les techniques utilisées par les laboratoires pour la détection des anticorps anti-HLA sont l'ELISA (10 laboratoires) et la fluorimétrie sur billes (25 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 ; 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 de plus en plus répandues ; on compte 20 utilisateurs en 2008 (au lieu de 7 en 2007) (tableau XII).

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

	Nombre d'utilisateurs	
	Panel	Antigènes isolés
lymphocytotoxicité	27	
ELISA - classe I	6	2
ELISA - classe II	8	
fluorimétrie sur billes - classe I	17	10
fluorimétrie sur billes - classe II	15	8

Recherche des anticorps anti-HLA

Les résultats obtenus par les laboratoires pour la recherche d'anticorps anti-HLA sont décrits dans le tableau XIII.

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

Echantillon	Classe I			Classe II		
	positif	négatif	nombre de dépistages	positif	négatif	nombre de dépistages
08S1	29 (88%)	4 (12%)	33	33 (100%)	0 (0%)	33
08S2	33 (100%)	0 (0%)	33	8 (24%)	25 (76%)	33
08S3	33 (100%)	0 (0%)	33	33 (100%)	0 (0%)	33
08S4	33 (100%)	0 (0%)	33	12 (36%)	21 (64%)	33
08S5	33 (100%)	0 (0%)	33	33 (100%)	0 (0%)	33
08S6	28 (85%)	5 (15%)	33	33 (100%)	0 (0%)	33
08S7	33 (100%)	0 (0%)	33	2 (6%)	31 (94%)	33
08S8	1 (3%)	32 (97%)	33	1 (3%)	32 (97%)	33
08S9	33 (100%)	0 (0%)	33	33 (100%)	0 (0%)	33
08S10	33 (100%)	0 (0%)	33	33 (100%)	0 (0%)	33

Identification des anticorps anti-HLA

Les spécificités anti-HLA identifiées par au moins 75% des laboratoires et par une technique au moins sont présentées en caractères gras dans le tableau XIV pour les anticorps anti-HLA classe I et dans le tableau XV pour les anticorps anti-HLA classe II.

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

		Spécificités anti-HLA classe I identifiées et consensus (%)					effectif
08S1	Toutes techniques	NC					28
	lymphocytotoxicité	na					2
	ELISA	NC					3
	fluorimétrie sur billes	A2(76%)					25
08S2	Toutes techniques	NC					33
	lymphocytotoxicité	B18(85%)	B35(82%)	B51(85%)			27
	ELISA	B18(71%)	B35(57%)	B51(71%)			7
	fluorimétrie sur billes	B18(52%)	B35(52%)	B51(52%)			25
08S3	Toutes techniques	A26	A66	A25	A34	A68	33
	lymphocytotoxicité	A26(87%)	A66(51%)	A25(30%)	A34(61%)	A68(4%)	23
	ELISA	A26(71%)	A66(86%)	A25(57%)	A34(71%)	A68(43%)	7
	fluorimétrie sur billes	A26(92%)	A66(89%)	A25(92%)	A34(77%)	A68(89%)	A33(89%)
08S4	Toutes techniques	NC					33
	lymphocytotoxicité	NC	<i>B57(65%)</i>	<i>B58(58%)</i>			26
	ELISA	NC	<i>B57(72%)</i>	<i>B58(72%)</i>			7
	fluorimétrie sur billes	NC	<i>B57(33%)</i>	<i>B58(33%)</i>			24
08S5	Toutes techniques	A2					33
	lymphocytotoxicité	A2(96%)	A68(77%)				26
	ELISA	A2(86%)	A68(86%)				7
	fluorimétrie sur billes	A2(58%)	A68(54%)				24
08S6	Toutes techniques	B18	B65	B64			28
	lymphocytotoxicité	B18(9%)	B65(82%)	B64 (36%)			11
	ELISA	na	na	na			2
	fluorimétrie sur billes	B18(92%)	B65(81%)	B64(81%)			26
08S7	Toutes techniques	A26	A25	A66			33
	lymphocytotoxicité	A26(96%)	A25(88%)	A66(52%)	A34(20%)		25
	ELISA	A26(86%)	A25(100%)	A66(86%)	A34(71%)		7
	fluorimétrie sur billes	A26(89%)	A25(89%)	A66(81%)	A34(81%)		26
08S9	Toutes techniques	NC					33
	lymphocytotoxicité	B27(88%)	A11(6%)				17
	ELISA	B27(71%)	A11(100%)	A25(43%)	A26(43%)		7
	fluorimétrie sur billes	B27(56%)	A11(76%)	A25(76%)	A26(76%)		25
08S10	Toutes techniques	NC					33
	lymphocytotoxicité	B44(88%)	B45(77%)	A29(15%)			26
	ELISA	B44(67%)	B45(100%)	A29(83%)			6
	fluorimétrie sur billes	B44(46%)	B45(46%)	A29(13%)			24

(*) : NC : non consensus

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

Remarque : l'échantillon 08S8 n'apparaît pas dans le tableau car il est considéré comme « négatif » pour la recherche d'anticorps anti-HLA classe I par au moins 75% des laboratoires

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

		Spécificités anti-HLA Classe II identifiées et consensus (%)					effectif
08S1	Toutes techniques	NC					31
	lymphocytotoxicité	na					2
	ELISA	DR4(100%)					8
	fluorimétrie sur billes	DR4(54%)					24
08S3	Toutes techniques	DR4					31
	lymphocytotoxicité	na					2
	ELISA	DR4(100%)					8
	fluorimétrie sur billes	DR4(92%)					25
08S4	Toutes techniques	na					11
	lymphocytotoxicité	na					0
	ELISA	na					1
	fluorimétrie sur billes	DR4(100%)					11
08S5	Toutes techniques	DR8	DR11				31
	lymphocytotoxicité	DR8(100%)					3
	ELISA	DR8(100%)	DR11(13%)				8
	fluorimétrie sur billes	DR8(96%)	DR11(92%)				25
08S6	Toutes techniques	DR1	DR10	DR4			31
	lymphocytotoxicité	DR1(100%)					3
	ELISA	DR1(75%)	DR10(50%)	DR4(50%)	DR9(25%)		8
	fluorimétrie sur billes	DR1(92%)	DR10(88%)	DR4(88%)	DR9(83%)		24
08S9	Toutes techniques	DR4					31
	lymphocytotoxicité	na					0
	ELISA	DR4(100%)					8
	fluorimétrie sur billes	DR4(83%)					24
08S10	Toutes techniques	DR7	DR9				31
	lymphocytotoxicité	na					2
	ELISA	DR7(88%)	DR9(50%)				8
	fluorimétrie sur billes	DR7(96%)	DR9(92%)				25

(*) : NC :non consensus

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

Remarque : les échantillons 08S2, 08S7 et 08S8 n'apparaissent pas dans le tableau car ils sont considérés comme « négatifs » pour la recherche d'anticorps anti-HLA classe II par au moins 75% des laboratoires.

Commentaires

Recherche des anticorps anti-HLA

Pour tous les échantillons analysés pour le dépistage des anti-HLA, le consensus 75% obtenu conforme est conforme à la définition des échantillons.

Presque tous les laboratoires (27/33) utilisent deux techniques, la lymphocytotoxicité associée à une technique réputée plus sensible soit l'ELISA soit la fluorimétrie sur billes (technologie Luminex®).

Identification des anticorps anti-HLA classe I

Dans le mélange d'anticorps anti-HLA de « faible réactivité » que contenait l'échantillon 08S1, seul l'anticorps « anti-A2 » a été identifié par 75% des laboratoires qui ont utilisé la fluorimétrie sur billes. En revanche, pour l'échantillon 08S2 qui contenait un mélange d'anticorps anti-HLA de « forte réactivité », seule la méthode par lymphocytotoxicité a permis d'identifier les spécificités avec un consensus 75%.

Bien que l'échantillon 08S4 ait été dépisté positif pour les anticorps anti-HLA classe I, aucune spécificité n'a été identifiée avec un consensus 75%. On remarque tout de même que les anticorps « anti-B57 » et « anti-B58 » ont été identifiés majoritairement par les techniques de lymphocytotoxicité et ELISA.

Les autres échantillons contiennent un mélange de spécificités HLA classe I identifiées par la combinaison de plusieurs techniques.

Identification des anticorps anti-HLA classe II

Dans l'échantillon 08S1 dépisté positif pour les anticorps anti-classe II, l'anticorps « anti-DR4 » n'est détecté en consensus 75% que par la technique ELISA, à l'inverse des autres échantillons pour lesquels 5 spécificités autres sont identifiées en consensus 75% par la technique de fluorimétrie sur billes et pas par ELISA.

L'échantillon 08S4 est dépisté négatif pour les anticorps anti-classe II par la majorité des laboratoires (64%), cependant 11 laboratoires ont identifié un « anti-DR4 » avec la technique de fluorimétrie sur billes. Il s'agit, peut-être, de laboratoires utilisant une technique d'identification sur antigènes isolés, technique parfois plus sensible que la technique de dépistage. Il serait utile l'année prochaine de faire la distinction entre les techniques sur panel et les techniques sur antigènes isolés.

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, elle est 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). Les indices de performance ont été calculés selon la même procédure sur les résultats de l'année 2007 et sur ceux de l'année 2008 ; les scores attribués en fonction des écarts constatés sont présentés dans le tableau XVI pour les recherches des anticorps anti-HLA et dans le tableau XVII pour les identifications.

tableau XVI : 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 XVII : 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 2007 et 2008 figure dans le tableau XVIII pour les recherches d'anticorps anti-HLA et dans le tableau XIX pour les identifications.

tableau XVIII – statistiques indice de performance – recherche anticorps anti-HLA 2007 et 2008

	2007		2008	
	anti-classe I	anti-classe II	anti-classe I	anti-classe II
n	34	34	33	33
minimum	63,6%	72,7%	80,0%	66,7%
maximum	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
centile 10	90,9%	81,8%	90,0%	88,9%
1er quartile	100,0%	90,9%	100,0%	100,0%
médiane	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
3ème quartile	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
centile 90	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

tableau XIX – statistiques indice de performance – identification anticorps anti-HLA 2007 et 2008

	2007		2008	
	anti-classe I	anti-classe II	anti-classe I	anti-classe II
n	33	30	33	31
minimum	-1,1%	-6,3%	-24,7%	22,2%
maximum	100,0%	100,0%	100,0%	98,8%
centile 10	39,1%	20,6%	38,3%	32,1%
1er quartile	53,3%	37,5%	59,3%	63,0%
médiane	83,7%	71,3%	91,4%	81,5%
3ème quartile	94,6%	96,3%	96,3%	92,6%
centile 90	100,0%	99,4%	97,5%	96,3%

Conclusion

La lymphocytotoxicité reste la technique la plus utilisée pour l'identification de ces anticorps. Cependant, pour détecter et identifier le maximum d'anticorps anti-HLA, la majorité des laboratoires utilise la lymphocytotoxicité associée à une deuxième technique plus sensible telle que l'ELISA ou la fluorimétrie sur billes. La récente mise sur le marché de techniques d'identification sur antigènes isolés, réputées plus sensibles que celles sur panels de donneurs, font apparaître des contradictions entre les consensus de dépistage et ceux obtenus sur les résultats d'identification d'anticorps anti-HLA ; il conviendrait, lors des prochaines opérations, de distinguer les techniques d'identification sur panels de donneurs de celles sur antigènes isolés.

L'indice de performance mis en place sur les résultats de 2007 et de ceux de 2008 permet à chaque laboratoire de se situer par rapport aux autres ; il doit néanmoins être interprété en fonction du contexte dans lequel chaque laboratoire réalise ces analyses.

Cross-matches HLA

XMH014, XMH015 vis à vis de 08S1 à 08S10 (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.

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 XMH014 et XMH015 (sang) correspondent aux cellules provenant des donneurs d'organes à tester avec les sérums 08S1 à 08S10. Les typages HLA (tableau XX) ont été communiqués aux laboratoires qui le souhaitent.

tableau XX - définition des échantillons : typage HLA

Echantillon	Typage HLA Classe I					
	HLA-A		HLA-B		HLA-C	
XMH014	0101	1101	4701	5101 ou 5141 ou 5143	0602	1502
XMH015	1101	3303	4001	4501	0304	1601

Echantillon	Typage HLA Classe II													
	HLA-DRB1		HLA-DRB3		HLA-DRB4		HLA-DRB5		HLA-DQA1		HLA-DQB1		HLA-DPB1	
XMH014	0101 ou 0117 ou 0118	0801							0101	0402	0501	0402	0301	0401
XMH015	0404	1101		0202	0103				0301	0505	0301	0302	1001	1501

Résultats des participants

Les techniques utilisées sont : la lymphocytotoxicité [LCT] par 27 laboratoires, la lymphocytotoxicité sensibilisée à l'antiglobuline [LAG] par 7 laboratoires et la cytofluorimétrie [CYT] par 3 laboratoires. Les laboratoires utilisent une ou plusieurs techniques.

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

tableau XXI - cross-match – consensus 75%

				typage HLA		
				XMH014	XMH015	
				A1 A11 B47 B51 Cw6 Cw15 DR1 DR8 DQ5 DQ4	A11 A33 B60 B45 Cw3 Cw16 DR4 DR11 DQ7 DQ8 DRw52 DRw53	
				Sang		
Code technique (1)	Consensus 75% - identification anticorps (2)	Sérum	Code technique (1)	XMH014 (3)	XMH015 (3)	effectif
LCT	na	08S1	LCT	N	NC	27
ELI	na DR4	08S1	LAG	N	NC	7
CYT	A2 NC	08S1	CYT	PBG	PTBG	3
LCT	B18 B35 B51	08S2	LCT	PTBG	N	27
ELI	NC na	08S2	LAG	PTG	N	7
CYT	NC NC	08S2	CYT	PTBG	PTBG	3
LCT	A26 na	08S3	LCT	N	PBG	27
ELI	A66 DR4	08S3	LAG	N	P	7
CYT	A26 A25 A66 A34 A33 A68 DR4	08S3	CYT	N	PTBG	3
LCT	NC	08S4	LCT	PTBM	N	27
ELI	NC na	08S4	LAG	P	N	7
CYT	NC DR4	08S4	CYT	PTBGM	NC	3
LCT	A2 A68 na	08S5	LCT	PB	NC	27
ELI	A68 A2 A69 DR8	08S5	LAG	NC	NC	7
CYT	NC DR8 DR11	08S5	CYT	PBG	PTBG	3
LCT	B65 na	08S6	LCT	PBG	NC	27
ELI	na DR1	08S6	LAG	N	N	7
CYT	B64 B65 B18 DR1 DR10 DR15 DR4 DR9	08S6	CYT	PBG	NC	3
LCT	A25 A26	08S7	LCT	N	N	27
ELI	A66 A25 A26	08S7	LAG	NC	NC	7
CYT	A26 A25 A66 A34 na	08S7	CYT	PTBG	PTBG	3
LCT		08S8	LCT	N	N	27
ELI		08S8	LAG	N	N	7
CYT		08S8	CYT	N	N	3
LCT	B27	08S9	LCT	N	NC	27
ELI	A11 DR4	08S9	LAG	NC	NC	7
CYT	A26 A25 A11 DR4	08S9	CYT	PTBG	PTBG	3
LCT	B44 B45 na	08S10	LCT	PTB	PTBG	27
ELI	B45 A29 DR7	08S10	LAG	NC	PTBG	7
CYT	NC DR7 DR9	08S10	CYT	PTBG	PTBG	3

(1) : LCT : lymphocytotoxicité ; LAG : lymphocytotoxicité sensibilisée à l'antiglobuline ; CYT : fluorimétrie sur billes ; ELI : ELISA

(2) : NC : non consensus ; na : non applicable

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

Commentaires

Sur 20 cross-matches réalisés, 80% obtiennent un résultat en consensus en lymphocytotoxicité [LCT]. On observe une bonne concordance entre le cross-match théorique (concordance entre les anticorps anti-HLA identifié dans les sérums O8S... et les antigènes HLA identifiés sur les cellules des échantillons XMH...) et le cross-match observé pour des techniques de sensibilité « équivalentes ».

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 : 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 sur les résultats de l'année 2007 et sur ceux de l'année 2008. Les scores attribués en fonction des écarts constatés sont présentés dans le tableau XXII.

tableau XXII : 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

(**) : quelques soient les isotypes détectés

La description statistique des indices de performance calculés pour 2007 et 2008 figure dans le tableau XXIII.

tableau XXIII – statistiques indice de performance – cross-match HLA 2007 et 2008

	2007		2008	
	lymphocytes T	lymphocytes B	lymphocytes T	lymphocytes B
n	31	31	27	25
minimum	81,8%	50,0%	73,7%	62,5%
maximum	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
centile 10	90,9%	72,7%	79,0%	87,5%
1er quartile	90,9%	81,8%	89,5%	93,8%
médiane	100,0%	90,0%	100,0%	100,0%
3ème quartile	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
centile 90	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

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.

L'indice de performance – cross-match (IP_{HLA} -cross-match), outil d'évaluation mis en place pour les résultats de 2007 et 2008, reflète bien l'homogénéité des résultats des laboratoires pour le typage HLA. Néanmoins, pour un laboratoire donné, il doit être interprété en fonction du contexte dans lequel le laboratoire réalise ces analyses.

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>