

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)

	06HLA1	06HLA2	06HLA3	06HLA4
Expédition	12/09/2006	04/10/2006	22/11/2006	13/12/2006
Clôture	09/10/2006	30/10/2006	18/12/2006	08/01/2007
Edition des compte-rendus individuels	01/12/2006	11/12/2006	07/03/2007	09/03/2007
Echantillons - paramètres contrôlés	- XMH 010 à XHM 011 – cross-match - 06S1 à 06S12 – recherche et identification d'Ac anti-HLA	- TYP 073 à TYP 081 – typage HLA	- TYP 082 à TYP 087 – typage HLA - BML 007 et BML 008 – typage HLA	- TYP 088 à TYP 096 – typage HLA
Nombre de laboratoires concernés*	33	47	46	46
Nombre de laboratoires participants**	33	45	45	45

* 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 2006

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 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 073 à TYP 081 lors de l'opération 06HLA2 ; 2 échantillons de la série TYP 082 à TYP 087 lors de l'opération 06HLA3 et 3 échantillons de la série TYP 088 à TYP 096 lors de l'opération 06HLA4. Les 2 échantillons, BML 007 et BML 008, ont été expédiés lors de l'opération 06HLA3.

Certains échantillons des opérations 06HLA2 et 06HLA4 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 réalisés par les laboratoires lors des opérations « histocompatibilité » sont satisfaisants ; le niveau de qualité des typages HLA (« sérologie » et biologie moléculaire) est maintenu par rapport à 2005.

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 06HLA1, 12 sérums (06S1 à 06S12) pour recherche et identification d'anticorps anti-HLA et 2 échantillons de sang frais (XMH010 et XMH011) pour cross-matches.

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

Typage HLA

TYP 073 à TYP 096 ; BML 007 ; BML 008

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 à des 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	
BML008 (06HLA3)	A*	2402	2901
	B*	1501	5001
	C*	0303	0602
	DRB1*	0701	1501
	DRB3*		
	DRB4*	0103	
	DRB5*		0101
	DQA1*	0102	0201
	DQB1*	0202	0602
	DPB1*	0401	-
TYP073 (06HLA2) et TYP091 (06HLA4)	A*	0201	-
	B*	4402	5101
	C*	0501	1402
	DRB1*	1101	-
	DRB3*	0202	-
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0505	-
	DQB1*	0301	0301 ou 0316
	DPB1*	0201 ou 1802	0401
TYP074 (06HLA2) et TYP090 (06HLA4)	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	
TYP075 (06HLA2) et TYP092 (06HLA4)	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 ou 0602
	TYP076 (06HLA2) et TYP094 (06HLA4)	A*	0101
B*		0702	0801
C*		0701	0702
DRB1*		0408	0301
DRB3*			0101
DRB4*		0103	
DRB5*			
DQA1*		0303	0501
DQB1*		0201	0301
DPB1*		0301	0401
TYP077 (06HLA2) et TYP093 (06HLA4)		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
	TYP078 (06HLA2) et TYP095 (06HLA4)	A*	2902
B*		4402	4403
C*		0501	1601
DRB1*		0701	0402
DRB3*			
DRB4*		0101	0103
DRB5*			
DQA1*		0201	0301
DQB1*		0202	0302
DPB1*		0101	1701
TYP079 (06HLA2) et TYP089 (06HLA4)		A*	0201
	B*	4002	4403
	C*	0202	1601
	DRB1*	0701	1101
	DRB3*		0202
	DRB4*	0101	
	DRB5*		
	DQA1*	0201	0505
	DQB1*	0202	0301
	DPB1*	0401	-

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP080 (06HLA2) ; BML007 (06HLA3) et TYP0696 (06HLA4)	A*	1101	2601
	B*	3801	4402
	C*	0501	1203
	DRB1*	0803	1101
	DRB3*		0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0505	0601
	DQB1*	0301	-
	DPB1*	1001	2001
TYP081 (06HLA2) et TYP088 (06HLA4)	A*	0205	2402
	B*	0801	5101
	C*	0701	1402
	DRB1*	0301	1103
	DRB3*	0101	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0501	0505
	DQB1*	0201	0301
	DPB1*	0401	0402ou 0602
TYP082 (06HLA3)	A*	2501	2902
	B*	0801	4403
	C*	0701 ou 0718	1601
	DRB1*	0301	1302
	DRB3*	0101	0301
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0102	0501
	DQB1*	0201	0604
	DPB1*	0201	0301
TYP083 (06HLA3)	A*	0301	3001
	B*	0801	4001
	C*	0304	0701
	DRB1*	0701	1302
	DRB3*		0301
	DRB4*	0103	
	DRB5*		
	DQA1*	0102	0201
	DQB1*	0202	0604
	DPB1*	0301	0401
TYP084 (06HLA3)	A*	0201	0301
	B*	1402	2705
	C*	0704 ou 0712	0802ou 0807
	DRB1*	1301	1302
	DRB3*	0202	0301
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0102	0103
	DQB1*	0603	0609
	DPB1*	0501	1101

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

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP085 (06HLA3)	A*	0201	2402
	B*	1401	1801
	C*	0701	0802
	DRB1*	1401	1501
	DRB3*	0202	
	DRB4*		
	DRB5*	0101	
	DQA1*	0102	0104
	DQB1*	0503	0602
	DPB1*	0201	0301
TYP086 (06HLA3)	A*	0101	0301
	B*	3801	5501
	C*	0303	1203
	DRB1*	1301	1401
	DRB3*	0101	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0103	0104
	DQB1*	0503	0603
	DPB1*	0201	0401
TYP087 (06HLA3)	A*	0201	2402
	B*	1501	1801
	C*	0303	0701
	DRB1*	1101	1103
	DRB3*	0202	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0505	-
	DQB1*	0301	0301 ou 0316
	DPB1*	0401	-

Résultats des participants

Certains échantillons des opérations 06HLA2 et 06HLA4 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 TYP074, TYP077 et TYP080 lors de l'opération 06HLA2 ont reçu, respectivement, les échantillons TYP090, TYP093 et TYP096 lors de l'opération 06HLA4.

tableau II - nombre de laboratoires par échantillon « typage HLA » 2006

Echantillons \ Opération	06HLA2	06HLA3	06HLA4	TOTAL
BML008 ;		41		41
TYP073 ; TYP091	15		16	31
TYP074 (*) ; TYP090 (*)	14		14	28
TYP075 ; TYP092	14		16	30
TYP076 ; TYP094	16		15	31
TYP077 (*) ; TYP093 (*)	16		16	32
TYP078 ; TYP095	16		14	30
TYP079 ; TYP089	13		14	27
TYP080 (*) ; BML007 ; TYP096 (*)	13	41	15	69
TYP081 ; TYP088	13		14	27
TYP082 ;		15		15
TYP083 ;		15		15
TYP084 ;		15		15
TYP085 ;		15		15
TYP086 ;		13		13
TYP087 ;		13		13

(*) ces échantillons ont été adressés aux mêmes laboratoires lors de l'opération 06HLA4

Les résultats obtenus par les laboratoires, résumés par les consensus 75% (tableaux III et IV), sont conformes à 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) ; 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 dans 75% des cas (69% en 2005), HLA-B 62% (47% en 2005), HLA-C 87% (83% en 2005), -DRB1 90% (78% en 2005), -DQA1 60% (81% en 2005), -DQB1 81% (97% en 2005), -DPB1 78% (86% en 2005). Les résultats pour 2006 sont à considérer comme en amélioration par rapport à 2005 pour les locus les plus représentatifs, locus HLA de classe I (HLA-A, -B, -C) et HLA-DRB1.

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

tableau III - consensus 75% typage HLA par lymphocytotoxicité

Echantillon (opération)	HLA-	allèles	
TYP084 (06HLA3)	A	2	3
	B	14	27
	DR	-	13
TYP078 (06HLA2) et TYP095 (06HLA4)	A	29	32
	B	-	44
	DR	4	7
TYP083 (06HLA3)	A	3	30
	B	8	40
	DR	13	7
TYP087 (06HLA3)	A	2	24
	B	18	62
	DR	-	11
TYP082 (06HLA3)	A	25	29
	B	44	8
	DR	13	3
TYP080 (06HLA2) et TYP096 (06HLA4)	A	11	26
	B	38	44
	DR	11	8
TYP086 (06HLA3)	A	1	3
	B	38	55
	DR	13	14
TYP077 (06HLA2) et TYP093 (06HLA4)	A	2	29
	B	44	51
	DR	7	8
TYP074 (06HLA2) et TYP090 (06HLA4)	A	2	29
	B	18	35
	DR	1	11
TYP081 (06HLA2) et TYP088 (06HLA4)	A	2	24
	B	51	8
	DR	11	3
TYP075 (06HLA2) et TYP092 (06HLA4)	A	3	68
	B	35	44
	DR	1	3
TYP073 (06HLA2) et TYP091 (06HLA4)	A	-	2
	B	44	51
	DR	-	11
TYP085 (06HLA3)	A	2	24
	B	14	18
	DR	14	2
TYP079 (06HLA2) et TYP089 (06HLA4)	A	2	29
	B	40	44
	DR	11	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	
BML008 (06HLA3)	A*	24	29 (2901)
	B*	15 (1501)	50 (5001)
	C*	03 (0303)	06 (0602)
	DRB1*	07 (0701)	15 (1501)
	DRB3*		
	DRB4*	-	0103
	DRB5*	-	0101
	DQA1*	0102	0201
	DQB1*	02 (0202)	06 (0602)
	DPB1*	-	0401
	TYP073 (06HLA2) et TYP091 (06HLA4)	A*	-
B*		44 (4402)	51 (5101)
C*		05	14 (1402)
DRB1*		-	11 (1101)
DRB3*		-	0202
DRB4*			
DRB5*			
DQA1*		-	0505
DQB1*		-	03 (0301)
DPB1*		0401	NC
TYP074 (06HLA2) et TYP090 (06HLA4)		A*	02 (0201)
	B*	18 (1801)	35 (3501)
	C*	04	1203
	DRB1*	01	11 (1101)
	DRB3*	-	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0101	0505
	DQB1*	03	0501
	DPB1*	-	0401
	TYP075 (06HLA2) et TYP092 (06HLA4)	A*	03 (0301)
B*		35 (3501)	44 (4402)
C*		04 (0401)	05
DRB1*		01 (0101)	03 (0301)
DRB3*		-	0101
DRB4*			
DRB5*			
DQA1*		0101	0501
DQB1*		02	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	
TYP076 (06HLA2) et TYP094 (06HLA4)	A*	01 (0101)	24
	B*	07 (0702)	08 (0801)
	C*	- (0701)	07 (0702)
	DRB1*	03 (0301)	04 (0408)
	DRB3*	-	0101
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*	03	0501
	DQB1*	02	03 (0301)
	DPB1*	0401	NC
	TYP077 (06HLA2) et TYP093 (06HLA4)	A*	02 (0201)
B*		44 (4403)	51 (5101)
C*		14 (1402)	16 (1601)
DRB1*		07 (0701)	08 (0801)
DRB3*			
DRB4*		-	01 (0101)
DRB5*			
DQA1*			
DQB1*		02 (0202)	04 (0402)
DPB1*		0201	1101
TYP078 (06HLA2) et TYP095 (06HLA4)		A*	29 (2902)
	B*	-	44 (4403)
	C*	05 (0501)	16 (1601)
	DRB1*	04 (0402)	07 (0701)
	DRB3*		
	DRB4*	-	01 (0103)
	DRB5*		
	DQA1*	0201	03
	DQB1*	02 (0202)	03 (0302)
	DPB1*	0101	1701
	TYP079 (06HLA2) et TYP089 (06HLA4)	A*	02 (0201)
B*		40 (4002)	44
C*		02	16 (1601)
DRB1*		07 (0701)	11 (1101)
DRB3*		-	0202
DRB4*		-	0101
DRB5*			
DQA1*		0201	05
DQB1*		02 (0202)	03 (0301)
DPB1*		-	0401
TYP080 (06HLA2) ; BML007 (06HLA3) et TYP096 (06HLA4)		A*	11
	B*	38 (3801)	44 (4402)
	C*	05 (0501)	12 (1203)
	DRB1*	08 (0803)	11 (1101)
	DRB3*	-	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	05	0601
	DQB1*	-	03 (0301)
	DPB1*	1001	2001

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	
TYP081 (06HLA2) et TYP088 (06HLA4)	A*	02 (0205)	24
	B*	08	51
	C*	07 (0701)	14 (1402)
	DRB1*	03 (0301)	11 (1103)
	DRB3*	0101	02 (0202)
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	05	0501
	DQB1*	02	03 (0301)
	DPB1*	0401	NC
TYP082 (06HLA3)	A*	25	29 (2901)
	B*	08	44 (4403)
	C*	07 (0701)	16 (1601)
	DRB1*	03 (0301)	1302
	DRB3*	0101	0301
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	01	0501
	DQB1*	0201	06 (0604)
	DPB1*	0201	NC
TYP083 (06HLA3)	A*	03	30 (3001)
	B*	08	40
	C*	03 (0304)	07 (0701)
	DRB1*	07 (0701)	1302
	DRB3*	-	0301
	DRB4*	-	0103
	DRB5*		
	DQA1*	01	0201
	DQB1*	02 (0202)	06 (0604)
	DPB1*	0401	NC
TYP084 (06HLA3)	A*	02 (0201)	03 (0301)
	B*	14 (1402)	27
	C*	07 (0704)	08 (0802)
	DRB1*	-	13 (1301)
	DRB3*	0202	0301
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*		
	DQB1*	- (0603)	06 (0609)
	DPB1*	0501	1101
TYP085 (06HLA3)	A*	02 (0201)	24 (2402)
	B*	14 (1401)	18
	C*	07 (0701)	08 (0802)
	DRB1*	14	15 (1501)
	DRB3*	-	0202
	DRB4*		
	DRB5*	-	0101
	DQA1*		
	DQB1*	05 (0503)	06 (0602)
	DPB1*	0201	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	
TYP086 (06HLA3)	A*	01 (0101)	03 (0301)
	B*	38	55
	C*	03 (0303)	12 (1203)
	DRB1*	13 (1301)	14
	DRB3*	0101	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	0103	0104
	DQB1*	0503	06 (0603)
	DPB1*	0201	0401
TYP087 (06HLA3)	A*	02 (0201)	24 (2402)
	B*	15 (1501)	18
	C*	03 (0303)	07 (0701)
	DRB1*	- (1101)	11 (1103)
	DRB3*	-	0202
	DRB4*		
	DRB5*		
	DQA1*	-	0505
	DQB1*	-	03
	DPB1*	-	0401

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

Commentaires

L'étude de reproductibilité intra-laboratoire (tableau II) a pu être réalisée pour 41 laboratoires (« sérologie » et/ou biologie moléculaire). 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 », la reproductibilité intra-laboratoire est presque parfaite, on note une seule différence entre le premier et le second typage pour les 32 typages étudiés (tableau V).

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
TYP080	TYP096	A	10/11	11/26	1

Pour les 39 typages par biologie moléculaire étudiés, les différences de niveaux de définition (générique ou allélique) entre les deux typages ne sont pas prises en compte. La reproductibilité intra-laboratoire est également satisfaisante, les différences 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
TYP077	TYP093	A*	0201/2902	0201/2901	1
TYP080	TYP096	A*	-/11	11/26	1
TYP080	TYP096	A*	11/26	10/11	1
TYP080	TYP096	C*	05/12	-/12	1

Etude des discordances :

Pour les phénotypes, sont comptabilisées 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 2005, très satisfaisants ; en tout, 19 erreurs ont été relevées (40 en 2005) par rapport au consensus 75%. On a relevé (tableau VII) :

- au locus HLA-A : 7 discordances (14 discordances pour 312 typages réalisés en 2005) dont 5 défauts de caractérisation et 2 défauts de subdivision. Ces discordances ont concerné 7 typages différents.
- au locus HLA-B : 9 discordances (23 discordances pour 312 typages réalisés en 2005) dont 7 défauts de caractérisation et 2 défauts de subdivision. Ces discordances ont concerné 8 typages différents, un même typage ayant donné lieu à 2 erreurs de caractérisation.
- au locus HLA-DR : 3 discordances, sur 3 typages, uniquement liées au défaut de subdivision de la spécificité supertypique HLA-DR3 en HLA-DR17 (3 discordances pour 162 typages réalisés en 2005).

Rapporté au nombre total de typages effectués (267 pour les loci HLA-A et -B et 161 pour HLA-DR), les résultats des typages HLA-DR sont stables (taux de discordance de 2% en 2005) et en amélioration sensible pour les loci HLA-A et HLA-B (respectivement 4% et 7% en 2005).

tableau VII - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par « sérologie » en 2006 et 2005

HLA-	Nombre de discordances	Taux de discordance (*)	
		2006	2005
A	7	3% (7/267)	4% (14/312)
B	9	3% (9/267)	7% (23/312)
DR	3	2% (3/161)	2% (3/162)

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

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 (374 typages) : 4 discordances (6 discordances pour 373 typages réalisés en 2005) sur 4 typages, correspondant à une erreur de caractérisation, un défaut et 2 erreurs de subdivision
- au locus HLA-B (375 typages) : 4 discordances (6 discordances pour 371 typages réalisés en 2005) sur 4 typages, correspondant à une erreur, un défaut de subdivision et 2 manques de caractérisation
- au locus HLA-C (303 typages) : 8 discordances (2 discordances pour 291 typages réalisés en 2005) sur 8 typages (4 erreurs et 4 manques)
- au locus HLA-DRB1 (404 typages) : aucune erreur alors que 5 discordances étaient signalées en 2005 pour 427 typages réalisés
- au locus HLA-DQB1 (403 typages) : 3 erreurs de caractérisation, sur 2 typages, incluant 2 erreurs et un manque (comme en 2005 pour 422 typages réalisés).

Rapporté au nombre total de typages effectués, on constate, par rapport à 2005, que les résultats de typage par biologie moléculaire aux locus HLA-A, -B, -DRB1 et -DQB1 sont stables. Le taux de discordance n'excède pas 2% des typages si l'on considère globalement les résultats au niveau générique et allélique. Il y a une légère augmentation des discordances au locus HLA-C (8 discordances au lieu de 2 en 2005), vraisemblablement à rattacher au développement des techniques de biologie moléculaire pour un locus dont la caractérisation reste difficile.

tableau VIII - discordances par rapport au consensus 75% - typage HLA par biologie moléculaire en 2006

HLA-	Nombre de discordances	Taux de discordance (*)	
		2006	2005
A*	4	1% (4/374)	2% (6/373)
B*	4	1% (4/375)	2% (6/371)
C*	8	3% (8/303)	1% (2/291)
DRB1*	0	0% (0/404)	1% (5/427)
DQB1*	3	1% (3/403)	1% (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 en effet très satisfaisants et parfaitement concordants avec les typages par « sérologie ». Le niveau des résultats de typage allélique (« haute résolution » ou « 4-digit ») est en amélioration constante pour la définition allélique des locus HLA de classe I (HLA-A, -B, -C) comme l'illustrent les taux de consensus alléliques atteints dans 75% des cas pour HLA-A, 62% pour HLA-B et 87% pour HLA-C (respectivement 69%, 47% et 83% en 2005). Les typages HLA-DRB1 en biologie moléculaire, particulièrement importants en transplantation ont un niveau de fiabilité remarquable (90% de consensus allélique atteint, aucune discordance signalée en 2006 au niveau individuel). Ceci s'explique sans doute par une fiabilité accrue des kits de typage commerciaux.

Recherche et identification d'anticorps anti-HLA

06S1 à 06S12

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 ».

Définition des échantillons

Les caractéristiques des échantillons (sérums) pour recherche et identification des anticorps anti-HLA de l'opération 06HLA1 (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 de titres et spécificités variés et pouvant reconnaître des épitopes communs (groupes de réaction croisée). 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
06S1	Présence d'anticorps anti-HLA classe I
06S2	Présence d'anticorps anti-HLA classe II
06S3	Présence d'anticorps anti-HLA classe I et classe II
06S4	Présence d'anticorps anti-HLA classe I
06S5	Présence d'anticorps anti-HLA classe I et classe II
06S6	Présence d'anticorps anti-HLA classe II
06S7	Absence d'anticorps anti-HLA
06S8	Présence d'anticorps anti-HLA classe II
06S9	Absence d'anticorps anti-HLA
06S10	Présence d'anticorps anti-HLA classe I et classe II
06S11	Présence d'anticorps anti-HLA classe I
06S12	Présence d'anticorps anti-HLA classe I et classe II

Résultats des participants

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

tableau X - recherche des anticorps anti-HLA

Echantillon	Classe I			Classe II		
	positif	négatif	nombre de dépistages	positif	négatif	nombre de dépistages
06S1	33 (100%)	0 (0%)	33	0 (0%)	33 (100%)	33
06S2	25 (76%)	8 (24%)	33	33 (100%)	0 (0%)	33
06S3	33 (100%)	0 (0%)	33	33 (100%)	0 (0%)	33
06S4	33 (100%)	0 (0%)	33	15 (45%)	18 (55%)	33
06S5	33 (100%)	0 (0%)	33	33 (100%)	0 (0%)	33
06S6	18 (56%)	14 (44%)	32	32 (97%)	1 (3%)	32
06S7	0 (0%)	33 (100%)	33	0 (0%)	33 (100%)	33
06S8	31 (94%)	2 (6%)	33	33 (100%)	0 (0%)	33
06S9	0 (0%)	33 (100%)	33	0 (0%)	33 (100%)	33
06S10	33 (100%)	0 (0%)	33	33 (100%)	0 (0%)	33
06S11	28 (85%)	5 (15%)	33	26 (79%)	7 (21%)	33
06S12	33 (100%)	0 (0%)	33	33 (100%)	0 (0%)	33

Les techniques utilisées par les laboratoires pour la détection des anticorps anti-HLA sont l'ELISA et la fluorométrie sur billes (cytométrie de flux). Pour l'identification, la technique la plus fréquemment citée est la lymphocytotoxicité (tableau XI).

tableau XI - techniques utilisées pour l'identification et/ou la recherche des anticorps anti-HLA

Technique	Nombre de laboratoires	
	Recherche	Identification
lymphocytotoxicité	0	29
ELISA	18	13
fluorométrie sur billes	13	13
lymphocytotoxicité sensibilisée à l'antiglobuline	0	2
technique non précisée ou non répertoriée	2	1

Parmi les 26 laboratoires qui ont détaillé leur technique de lymphocytotoxicité (tableau XII), 17 composent eux-mêmes leurs panels et 9 utilisent des plaques de cellules du commerce, l'étendue des panels étant variable d'un laboratoire à l'autre.

tableau XII - lymphocytotoxicité : nombre de cellules par panel d'identification

	panel de lymphocytes T	panel de lymphocytes B	panel de lymphocytes B pour sérum absorbé
nombre de laboratoires	25	7	9
nombre de cellules par panel : min - max	28-71	28-40	28-36

Les spécificités anti-HLA identifiées par les 33 laboratoires participants avec un consensus 75% figurent dans le tableau XIII.

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

Echantillon	Classe et/ou type d'Ig			Spécificités		
	I	G				
06S1				B51		
06S2	I			A23	A24	
	II	G		NC		
06S3	I	G		A23	B12	
	II	G		DR7		
06S4	I	G		A2	A24	
	Non consensus			Non consensus		
06S5	I	G		A1	B8	
	II	G		Non consensus		
06S6	Non consensus			Non consensus		
	II	G		DR1		
06S7	Négatif (classe I et II)			Négatif		
06S8	I	G		Non consensus		
	II	G		Non consensus		
06S9	Négatif (classe I et II)			NEG		
06S10	I	G		A25	A26	
	II	G		DR15		
06S11	I			A25	A26	A66
	II	G		Non consensus		
06S12	I	G		Non consensus		
	II	G		DR7		

Commentaires

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

Dix huit spécificités ont été trouvées avec un consensus 75%.

Une analyse partielle (tous les laboratoires ne mentionnant pas leur technique) des identifications d'anti-HLA technique par technique a été réalisée en calculant, pour chaque technique prise séparément, le pourcentage de réponses identiques aux spécificités du consensus 75% toutes techniques confondues (tableau XIV). Les 12 spécificités anti-HLA classe I identifiées toutes techniques confondues avec un consensus 75% se répartissent en 4 groupes selon les échantillons testés :

- 1 spécificité (B51) n'atteint le consensus 75% avec aucune technique prise séparément ;
- 4 spécificités (A23, B12, A25, A26) ont un consensus en lymphocytotoxicité et en ELISA mais non en cytofluorométrie ;
- 5 spécificités (A1, B8, A25, A26, A2) ont un consensus dans les 3 techniques ;
- 2 spécificités (A66, A24) ont un consensus en ELISA et cytofluorométrie mais non en lymphocytotoxicité.

Les 3 anticorps anti-HLA classe II précédemment identifiés toutes techniques confondues se répartissent en 2 groupes selon les échantillons testés :

- 2 spécificités (DR7, DR15) atteignent le consensus 75% dans les 3 techniques ;
- 1 spécificité (DR7) a un consensus en lymphocytotoxicité et cytofluorométrie mais pas de consensus en ELISA.

En conclusion, pour détecter le maximum de spécificités, l'utilisation de la lymphocytotoxicité doit être associée à celle de l'ELISA ou de la cytofluorométrie, techniques plus sensibles.

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

échantillon	consensus 75% toutes techniques	pourcentage d'identification par technique		
		lymphocytotoxicité	ELISA	cytofluorométrie
06S1	B51	13/19 68%	3/9 33%	4/10 40%
06S2 (*)	A23	-	3/4 75%	9/9 100%
	A24	-	4/4 100%	9/9 100%
06S3	A23	9/12 75%	8/8 100%	8/12 66%
	B12	12/12 100%	6/8 75%	6/12 50%
	DR7	4/4 100%	5/5 100%	11/11 100%
06S4	A2	5/5 100%	7/8 88%	11/11 100%
	A24	0/5 0%	8/8 100%	9/11 82%
06S5	A1	17/18 94%	9/9 100%	10/13 77%
	B8	14/18 78%	7/9 78%	13/13 100%
06S6 (*)	DR1	-	5/5 100%	11/11 100%
06S10	A25	17/17 100%	8/10 80%	7/12 58%
	A26	17/17 100%	8/10 80%	7/12 58%
	DR15	(1/1) (100%)	7/8 88%	9/10 90%
06S11	A25	14/16 88%	4/4 100%	9/11 82%
	A26	13/16 81%	3/4 75%	9/11 82%
	A66	8/16 50%	4/4 100%	10/11 91%
06S12	DR7	(2/2) (100%)	5/7 71%	8/9 89%

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

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 utilisent la lymphocytotoxicité associée à une deuxième technique plus sensible telle que l'ELISA ou la cytofluorométrie.

Cross-matches HLA

XMH010, XMH011 vis à vis de 06S1 à 06S12 (cf. chapitre précédent)

Méthode statistique et expression des résultats

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

Définition des échantillons

Les échantillons XMH010 et XMH011 correspondent aux cellules provenant des donneurs d'organes, les typages HLA (tableau XV) ont été transmis aux laboratoires avec les échantillons de l'opération « anticorps anti-HLA » - 06HLA1.

tableau XV - définition des échantillons : typage HLA

Echantillon	Typage HLA Classe I					
	HLA-A		HLA-B		HLA-C	
XMH010	0201	---	5101	---	0102	1402
XMH011	23	2501	18	4501	0602	1203

Echantillon	Typage HLA Classe II									
	HLA-DRB1		HLA-DRB3		HLA-DRB4		HLA-DRB5		HLA-DQB1	
XMH010	0301	1501	0101	---	---	---	0101	---	0201	0602
XMH011	0401	0701	---	---	0101	0103	---	---	0202	0302

Résultats des participants

Les résultats des laboratoires, résumés par le consensus 75%, sont présentés dans le tableau XVI. Dans ce tableau, ne sont présentés que les consensus 75% des cross-matches réalisés par lymphocytotoxicité. En effet, les deux autres techniques, la lymphocytotoxicité sensibilisée à l'antiglobuline et la cytofluorométrie, ont très peu d'utilisateurs, respectivement 6 et 3 utilisateurs parmi les 29 laboratoires participants.

tableau XVI - cross-match – consensus 75% (lymphocytotoxicité)

sérum	Echantillons	sang	
		XMH010	XMH011
06S1		PTBG	N
06S2		P	non consensus
06S3		N	PTBG
06S4		P	N
06S5		P	PBG
06S6		N	N
06S7		N	N
06S8		N	non consensus
06S9		N	N
06S10		N	PTBG
06S11		P	P
06S12		P	PBG

Commentaires

Le tableau XVI montre que 92% (22/24) des cross-matches ont été réalisés avec un consensus 75% par l'ensemble des laboratoires.

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 ; Nomenclature for factors of the HLA system, 2006. Tissue Antigens 2006 ; 67 : 438-9
- 2- Web site : <http://www.anthonynolan.com/HIG>