

Évaluation des performances de l'automatisation partielle des tests de détection et identification d'anticorps anti-HLA par Luminex sur Biomek i7

Houssein Chalhoub*, German Pinon Santalla*, Véronique Deneys* et Thibaut Gervais*.

*Laboratoire HLA, CCBM, Service de Biologie Hématologique, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique.
Auteurs correspondants : Houssein.Chalhoub@saintluc.uclouvain.be; Thibaut.Gervais@saintluc.uclouvain.be

Introduction

La caractérisation des anticorps anti-HLA par technique Luminex occupe une place centrale dans le suivi de l'immunisation en transplantation d'organes solides et de cellules souches hématopoïétiques. Cette méthode, plus sensible que les approches classiques, permet une détection fine des anticorps dirigés contre les antigènes HLA, mais l'interprétation des valeurs de MFI reste complexe en raison d'une variabilité analytique et pré-analytique importante (1-4).

Dans ce contexte, l'automatisation des étapes pré-analytiques vise à réduire l'effet de cette variabilité et à améliorer la reproductibilité des résultats. L'objectif de ce travail est de valider les performances du Biomek i7 (Beckman Coulter) en comparant un flux pré-analytique automatisé, comprenant le traitement des sérums par EDTA et la distribution des sérums et des billes, à la méthode pré-analytique manuelle de référence, les deux approches étant évaluées avec les réactifs Werfen sur la plateforme Luminex (5,6).

Matériels et méthodes

La concordance du test de détection (LMX) a été évaluée sur 50 échantillons. Pour l'identification, la corrélation des MFI (R²) et la concordance diagnostique ont été analysées pour les anticorps de classes I et II. Le CV a été évalué par catégorie (n = 7, 9 et 10 pour les MFI élevées, intermédiaires et faibles). La contamination croisée a été testée sur 30 puits alternant sérum fort positif et un blanc. La dérive du signal a été évaluée par trois répétitions du même test (ID classe II), avec un temps de traitement variant de 10 à 16 min, afin de vérifier que le temps de distribution du Biomek n'introduisait pas de biais sur le signal mesuré.

Analyse	Échantillons / Puits	Critères d'évaluation
Test de Détection (LMX)	n=50 échantillons	Concordance diagnostique (%)
Identification (ID Classe I & II)	n=12 échantillons	Corrélation R² et concordance diagnostique
Fidélité / Reproductibilité	n=12 sérums (3 catégories de MFI)	CV (%) Automatique vs Manuel
Contamination croisée	n=30 puits (Damier Positif / Blanc)	Apparition de MFI négatives/positives
Dérive temporelle du signal	3 répétitions (Plaque 48 puits, 10 - 16 min)	Ratio MFI T0 / Tfin (ID Classe II)

Références

1. Friedlander R, Putheti P, Diaz E, et al. On the detection of anti-HLA antibodies using single antigen bead Luminex assay: lot-to-lot variations in MFI. Transplantation. 2013;96(4):e24-e26.

2. Tambur AR, et al. Comprehensive assessment and standardization of solid phase multiplex-bead arrays for the detection of antibodies to HLA. Hum Immunol. 2014.

3. Schacker T, Landgraf R, Doxiadis I, Loeffler-Wirth H, Lehmann C. Luminex MFI-Efforts from a Qualitative to a Quantitative Analysis. Biology (Basel). 2025.

4. Reed EF, Rao P, Zhang Z, et al. Validation of the Luminex platform to detect and quantify anti-HLA antibodies: consistency in median fluorescence intensity among 7 CTOT core laboratories.

5. Tait BD, Hudspeth M, et al. Luminex and its applications for solid organ transplantation, hematopoietic stem cell transplantation, and transfusion. Transfus Med Hemother. 2013;40(3):182-189.

6. WHO. Anti-HLA reference reagents for FCXM and Luminex-based bead assays. WHO/BS/2023.2445.

Remerciements

Ce travail est soutenu par le laboratoire HLA, CCBM, Service de Biologie Hématologique, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique.

Résultats

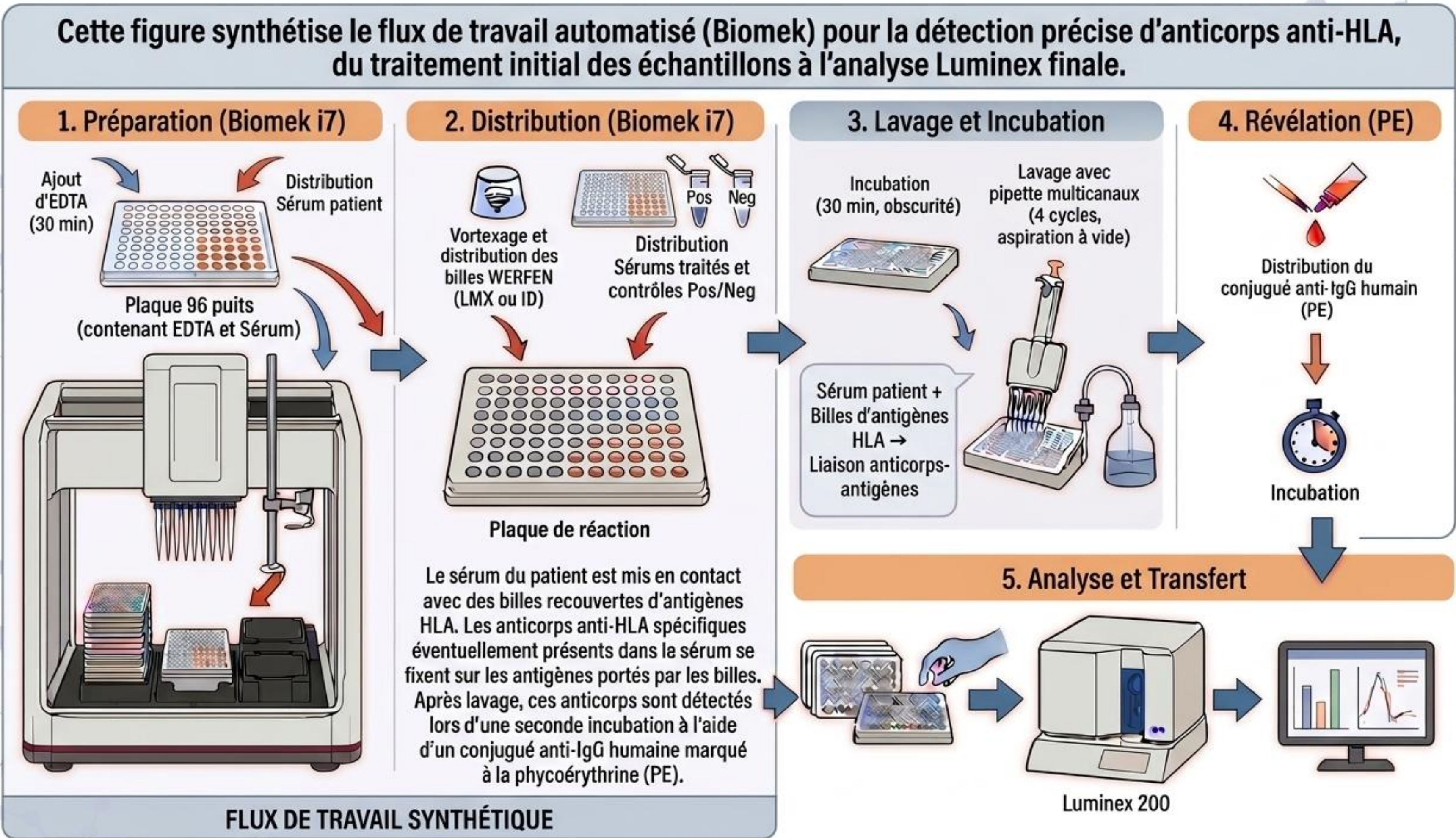
Table 1 : Performances analytiques du Biomek i7 (Automatisé) vs Méthode Manuelle

→ Amélioration significative de la précision pour les MFI faibles et élevées (p < 0,001), associée à une haute concordance diagnostic (95,3 % à 100 %).

Paramètre Évalué	Conditions / Catégories	Automatisation (Biomek i7)	Méthode Manuelle	Performance / P-value
Concordance Détection (LMX)	Diagnostique	100%	Méthode de référence	Conforme
Concordance Identification		95,30%	Méthode de référence	
Corrélation des MFI (R2)	Global (toutes catégories de MFI confondues)	R²=0,97	Méthode de référence	Forte corrélation
	MFI Élevées (> 3000)	R²=0,95		
	MFI Intermédiaires (1500 - 3000)	R²=0,93		
	MFI Faibles (≥ 750 - < 1500)	R²=0,95		
Répétabilité & Précision (CV %)	Global	17,50%	24,00%	Précision améliorée
	MFI Élevées (> 3000, n=7)	15%	21%	p<0,0001**
	MFI Intermédiaires (1500–3000, n=9)	27%	28%	p=0,097 (NS)
	MFI Faibles (≥ 750 - < 1500, n=10)	22%	38%	p=0,0009 (**)
Dérive du signal (Temps)	Plaque 48 puits (10 -16 min)	Ratio MFI médian T0/Fin=0,92	Non applicable	Baisse de 8 % (sans impact diagnostique)
Contamination croisée	30 puits alternés (Positif / Blanc)	0%	Non applicable	Aucune contamination

** Significatif (p <0,001) ; NS : Non Significatif (p > 0,05).

FIGURE 1 : FLUX DE TRAVAIL SYNTHÉTIQUE POUR LA DÉTECTION D'ANTICORPS ANTI-HLA (BIOMEK)



Conclusion

L'automatisation de la préparation et de la distribution des sérums et réactifs permet de standardiser le processus pré-analytique, de réduire les manipulations manuelles et la variabilité des volumes, tout en améliorant la traçabilité des analyses anti-HLA.

HLA-loss : un Echange Inter-Laboratoires (EIL) avant la disponibilité d'un programme d'EEQ ?

Auteurs : Pierre Fournier ¹, Florence Larnaud ¹, Laura Aubin ², Gérald Bertrand ², Sylvie-Ferrari-Lacraz ³, Virginie Renac ², Martin Carré ⁴, Julien Bessonnat ¹ et Céline Dard ¹

¹ Laboratoire d'Histocompatibilité- Centre Donneurs de Moelle Osseuse, EFS Rhône-Alpes Auvergne, Site de Grenoble.

² Laboratoire d'Histocompatibilité et Immunogénétique, EFS de Rennes.

³ Département diagnostique, Hôpitaux Universitaires de Genève.

⁴ Service d'Hématologie clinique, CHU de Grenoble Alpes.

CONTEXTE

Le mécanisme HLA-loss est un échappement cellulaire tumoral au phénomène de pression immunologique de Graft versus Leukemia (GvL) des LyT du donneur. (voir figure 1). Il est décrit dans les greffes de CSH depuis 2009. Il est responsable des rechutes dans 30% des cas en greffe haploidentique selon les publications.

Sa recherche est désormais préconisée en cas de rechute chez les patients allogreffés en CSH avec donneurs HLA-mismatchés afin d'adapter la thérapeutique.

Néanmoins, encore trop peu de laboratoires proposent ce paramètre biologique en routine, en raison de la complexité des différentes étapes de cette analyse et/ou des technologies associées, du nombre restreint de kits commerciaux disponibles et de l'absence de programme d'Evaluation Externe de la Qualité (EEQ).

Nous avons donc mis en place un Echange Inter-Laboratoires (EIL) en 2025.

MÉTHODE

En novembre 2025, un prélèvement HLA-loss positif « EIL HLAOH2025-ADN R » (confirmé par le fournisseur de réactifs), a été envoyé à 2 laboratoires (EFS de Rennes et Hôpitaux Universitaires de Genève) en plus du laboratoire initiateur (EFS de Grenoble).

Il s'agissait d'une patiente de 64 ans, allogreffée de CSH avec son fils haplo identique (« EIL HLAOH2025-ADN D »). Le chimérisme objectivait une fraction donneur à 16% à 14 mois post-greffe.

Les documents fournis aux laboratoires étaient : typages HLA du donneur et du receveur prégreffe (voir tableau 1), marqueurs d'informativité (en technique Jeta Molecular/Bionobis) et anamnèse clinique.

	A1	A2	B1	B2	C1	C2	DRB1	DRB2	DQB1	DQB2	DPB1	DPB2	Marqueurs HLA LOSS Qtrace
EIL HLAOH2025-ADN R	25:01	29:01	38:01	51:01	12:03	15:05	10:01	13:03	03:01	05:01	04:01	133:01	H106 : A*29:01
EIL HLAOH2025-ADN D	25:01	69:01	35:08	38:01	12:03	-	04:03	13:03	03:01	03:02	04:01	133:01	

Tableau 1: Extrait de la macro Excel de détermination des marqueurs HLA-loss, utilisée au laboratoire HLA de Grenoble (en rouge les allèles avec mismatches, et en vert le marqueur choisi)

RÉSULTATS

	Grenoble	Rennes	Genève
Méthode utilisée	RT-PCR kit HLA Trace (Jeta molecular/bionobis)	RT-PCR kit HLA Trace (Jeta molecular/bionobis) Puis confirmation par NGS (kit holotype (Omixon/Werfen).	RT-PCR kit HLA Trace (Jeta molecular/bionobis)
Réponse	Positive	Positive	Positive
Marqueurs receveurs utilisés (CHIM)	148 (17q) et 634 (11q)	148 (17q) et 615 (1q)	615 (1q), 635 (11q)
Résultats fraction receveur (CHIM)	16%	13.91%	16.29% avec 615 17.66% avec 634
Marqueurs receveurs utilisés (HLA)	H106 (A*29)	H106 (A*29)	H106 (A*29)
Résultats fraction receveur (HLA)	0%	<0,1%	0,02%

Tableau 2: Synthèse des résultats rendus par les 3 sites participants à l'EIL.

CONCLUSION

- En novembre 2025, tous les laboratoires ont utilisé une technique en q-PCR (kit HLA Trace, Jeta Molecular/Bionobis), 1 site a confirmé le résultat par NGS avec le kit holotype (Omixon/Werfen).
- En l'absence actuelle d'EEQ, ces échanges inter-laboratoires permettent de comparer les pratiques et de pousser vers l'implémentation de cette nouvelle analyse en routine au sein des laboratoires.
- L'arrivée de nouvelles technologies (PCR digitale, NGS) pourront pallier les limites des techniques initialement utilisées (qPCR), à savoir le nombre restreint de marqueurs informatifs discriminants, la quantité nécessaire d'ADN de la fraction donneur ; ou l'identification de mécanisme de perte d'hétérozygotie plus complexe (HLA-loss partiel).
- Nous allons renouveler cet EIL en 2026. Nous souhaitons le diffuser auprès d'autres laboratoires demandeurs. N'hésitez pas à vous faire connaître!

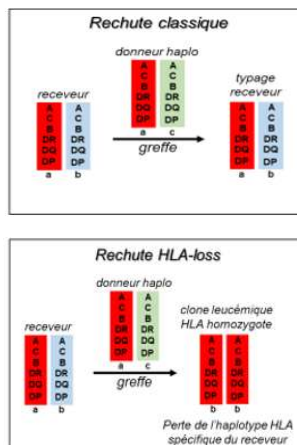


Figure 1 : Représentation schématique des haplotypes du clone leucémique en cas de rechute classique ou rechute HLA-loss (figure interne au laboratoire)

OBJECTIFS

- Se soumettre aux exigences Qualité
- Echanger sur les pratiques des laboratoires participants
- Partager sur l'interprétation des résultats
- Motiver l'implémentation de cette nouvelle analyse au sein des laboratoires

PARTAGE D'EXPERIENCE

Tous les laboratoires ont rendu un résultat HLA-loss positif (résultat attendu), mais la discussion s'ouvre sur:

- ✓ **Les interprétations médicales/conseils thérapeutiques:** contre-indication des DLI, avec nécessité d'une 2ème greffe avec un autre donneur compatible sur l'haplotype conservé chez le receveur.
- ✓ **Les difficultés de mettre en place cette technique** (création de codes informatique de ces analyses complexes, compte-rendu de résultats...) face à un nombre restreint de demandes.
- ✓ **La gestion et l'approvisionnement des commandes de marqueurs HLA-loss:** urgente, et à la demande.
- ✓ **L'offre du nombre de marqueurs disponibles en q-PCR:** à accroître afin de cibler plus d'allèles en mismatches.

Indications du chimérisme sur cellules triées après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : Recommandations de la SFGM-TC

Debora JORGE-CORDEIRO¹, Marine CARGOU², Roberto CROCCHIOLO³, Jean EL-CHEIKH⁴, Romain FERRU-CLEMENT⁵, Matthieu FILLOUX⁶, Claire GEURTEN⁷, Nicolas GUILLAUME⁸, Ambroise MARCAIS⁹, Philippe MOSKOVITCHENKO¹⁰, Thibault PAJOT¹¹, Flore SICRE DE FONTBRUNE¹², Megane TANGUAY¹³, Laurie TOULLEC¹, Juliette VILLEMONTAIX¹, Aliénor XHAARD¹², Pascal PEDINI¹⁴



- 1. Laboratoire HLA, Hôpital Saint Louis, APHP, Paris, France
- 2. Laboratoire d'immunologie et immunogénétique, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, France.
- 3. Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, ASST Grande Ospedale Metropolitano Milano
- 4. Division hematology oncology, Bone marrow transplant program, American university of Beirut medical center Beirut Lebanon
- 5. Laboratoire d'Histocompatibilité et Immunogénétique. Etablissement Français du Sang Nouvelle Aquitaine, site de Poitiers, Poitiers, France.
- 6. Département d'immunologie et d'immunogénétique, Centre hospitalier universitaire de Limoges, Limoges
- 7. Département de pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire de Liège, Liège

- 8. Laboratoire d'Histocompatibilité, Centre hospitalier universitaire Amiens, F-80054 Amiens,
- 9. Institut d'immunologie-HLA, CHU de Lille, boulevard du Professeur-Jules-Leclercq, 59000 Lille, France
- 10. Etablissement Français du Sang Auvergne-Rhône-Alpes, laboratoire HLA site de Lyon, 69150 Décines
- 11. CHU de Lille, Institut d'Immunologie-HLA, Lille, France
- 12. Service d'Hématologie Greffe de Moelle, Hôpital Saint Louis, APHP, Paris, France
- 13. Institut universitaire d'hémato-oncologie et de thérapie cellulaire, Hôpital Maisonneuve-Rosemont, Montréal, Canada
- 14. Laboratoire immunogénétique , histocompatibilité, LBMR « étude du chimérisme », EFS PACA Corse, Marseille

INTRODUCTION

- Les dernières recommandations de la SFGM-TC (Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie cellulaire) établies en 2017 par Dubois et al. indiquent un intérêt controversé de la quantification du chimérisme sur cellules triées CD3+ dans la prise de greffe et un potentiel apport prédictif sur cellules triées CD34+ de la rechute.
- À la vue de l'insuffisance des données de la littérature, il avait été recommandé une évaluation du chimérisme sur sang total.
- Dans ce contexte, et au regard des données plus récentes, **la question de la pertinence du tri cellulaire dans le suivi du chimérisme post-greffe de CSH se pose à nouveau.**

OBJECTIFS

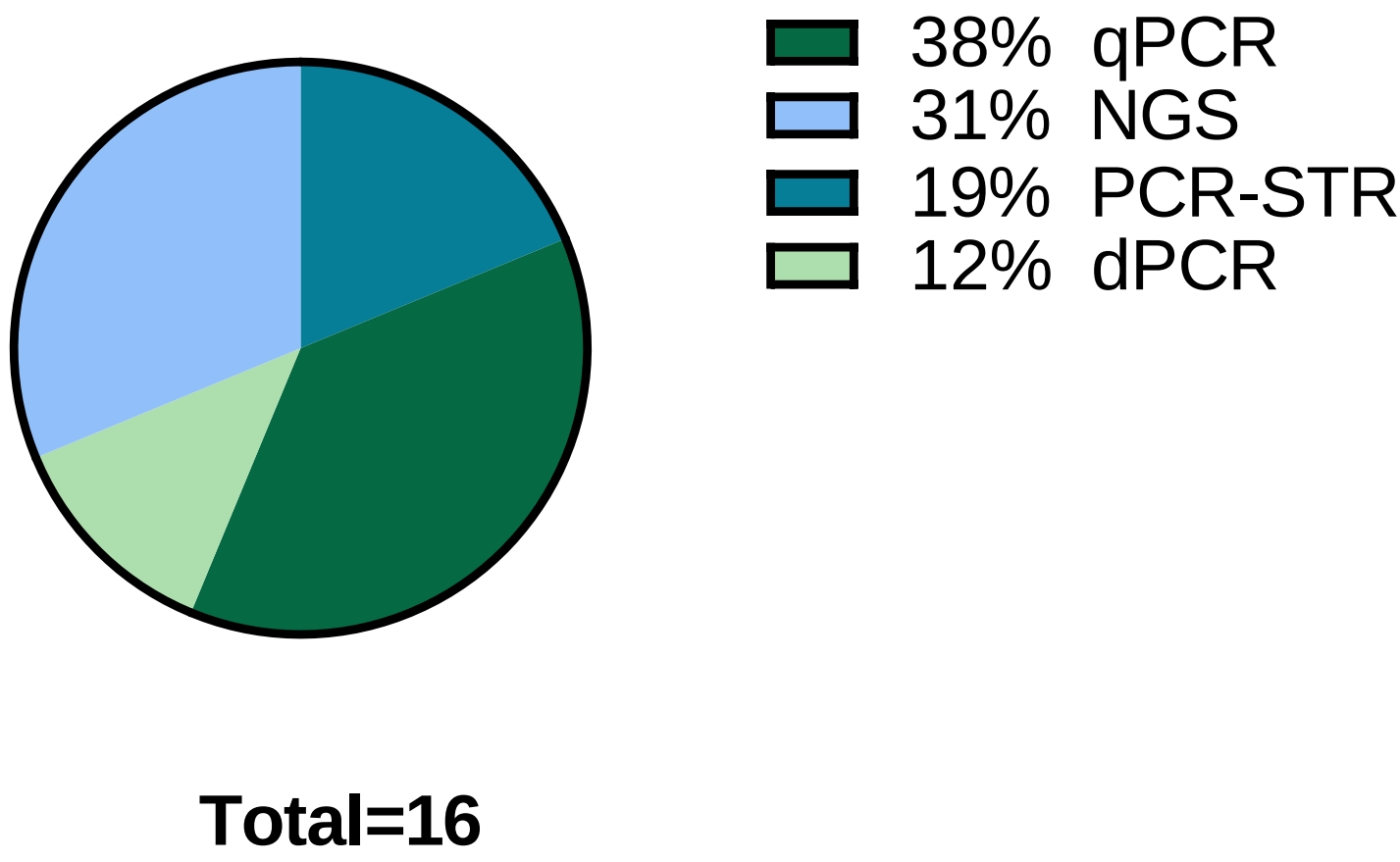
- Le but de cet atelier est ainsi d'établir des **recommandations actualisées sur la nécessité ou non du tri cellulaire selon les indications de pathologies**:
 - Pathologies malignes
 - Aplasie
 - Hémoglobinopathies
 - Déficits immunitaires

MÉTHODES

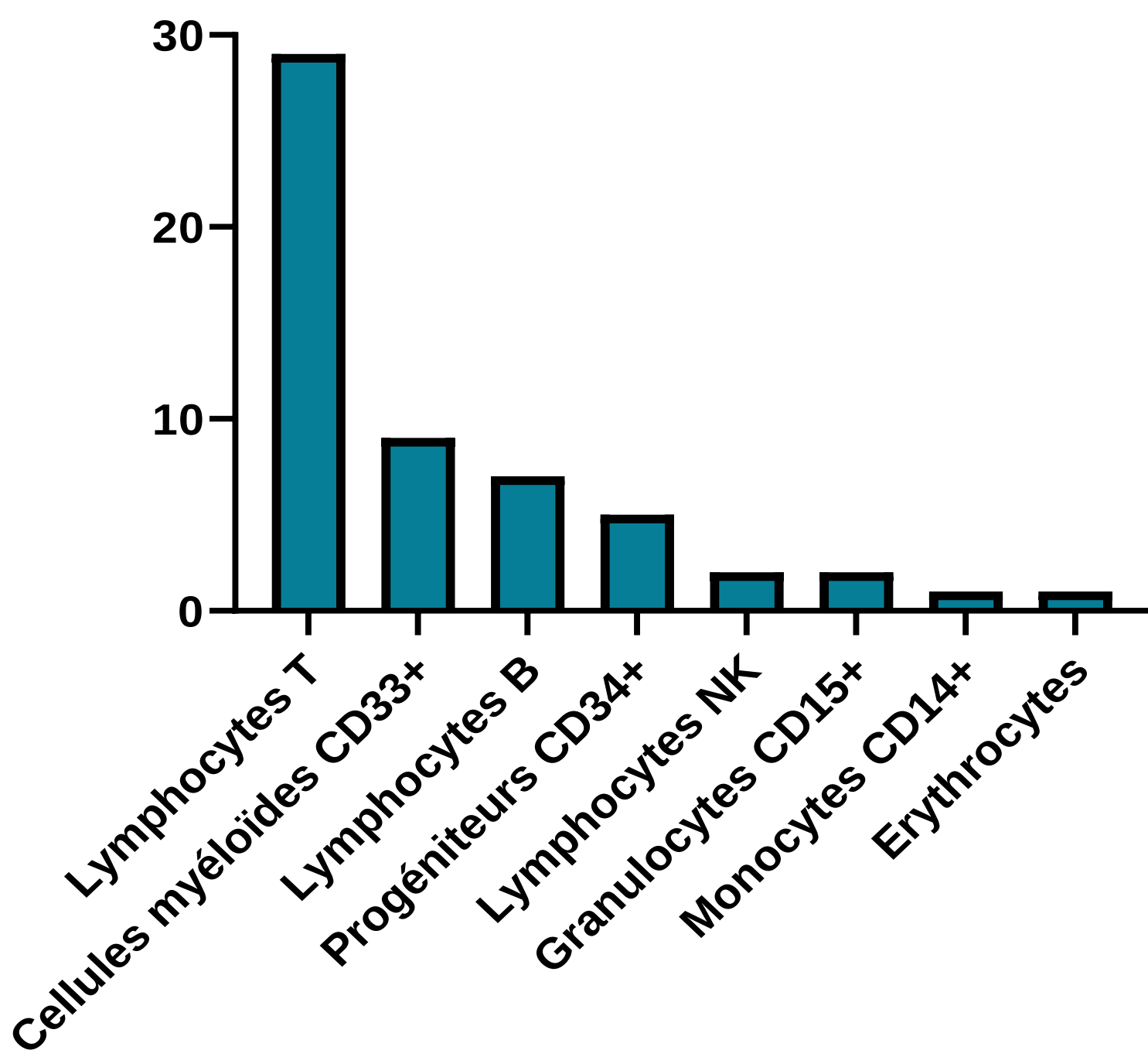
- Cet atelier a été préparé et géré selon les recommandations établies par la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC).
- Un état des lieux a été réalisé à partir des réponses à un **questionnaire** provenant de **65 centres membres de la société (36 centres de greffe)**.

RÉSULTATS DU QUESTIONNAIRE

Quelle(s) technique(s) de chimérisme utilisez-vous ?

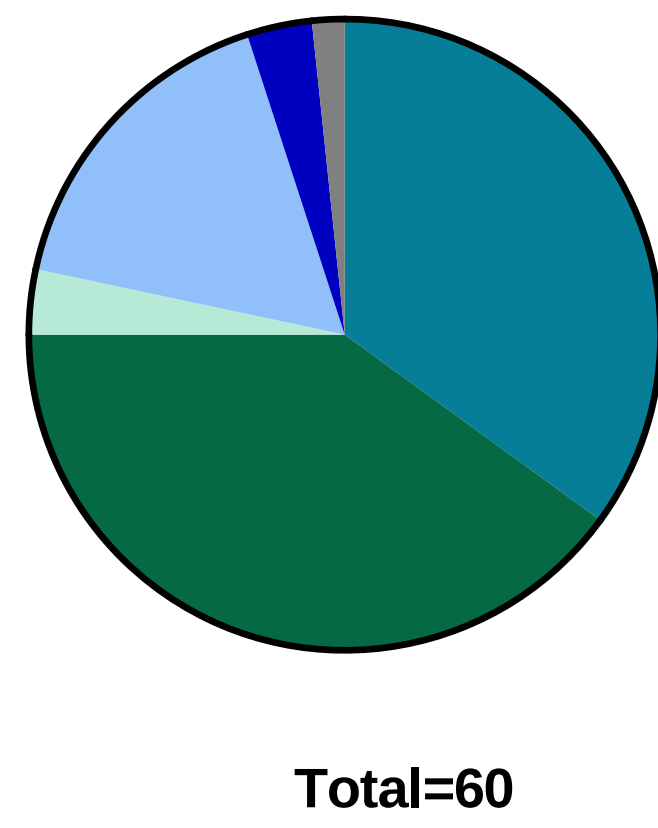


Quelles sous-populations cellulaires triez-vous ?



Qu'apporte le chimérisme sur cellules triées par rapport au chimérisme sur sang total ?

- Indicateur de prise de greffe dans certains compartiments cellulaires
- Indicateur plus précoce de rechute
- Pour expliquer un chimérisme sang total positif sans rechute
- Indicateur d'infection
- Indicateur de rejet
- Si doute sur signe de GVH



RECOMMANDATIONS SELON LES INDICATIONS

Indication clinique	Lignée(s) d'intérêt	Intérêt du tri cellulaire par rapport au sang total	Niveau de recommandation	Commentaires pratiques
Hémopathies malignes myéloïdes (LAM, SMD)	CD34+	Intérêt démontré	Recommandé	Plus sensible et plus précoce pour la détection de la rechute que sur sang total ou sur CD3+. Utile pour guider des stratégies préemptives (DLI, hypométhylants). Contraintes techniques (volume sanguin, disponibilité CD34+ dans le sang périphérique).
	CD3+	Intérêt non démontré	Optionnel	Résultats contradictoires dans la littérature. Peut être utile en cas de discordance avec le sang total ou dans des contextes particuliers (post-RIC, suivi DLI).
	Myéloïde (CD33+/CD15+)	Données comparatives insuffisantes	Pas de recommandation possible	Peu d'études comparatives avec le sang total. Intérêt potentiel en myélofibrose mais sans preuve de supériorité.
Hémopathies malignes lymphoïdes (LAL, LNH)	CD3+	Intérêt non démontré	Optionnel	Pas de supériorité claire par rapport au sang total pour la prédiction de la rechute.
	CD19+	Données limitées et discordantes	Pas de recommandation possible	Résultats contradictoires, absence de données adultes comparatives robustes.
Suivi post-DLI	Lignée cible du DLI (CD3+ ou CD34+ selon l'indication)	Intérêt démontré	Recommandé	DLI préemptives ou curatives : suivi du chimérisme post-DLI sur une fraction cellulaire sélectionnée jusqu'à obtention d'un chimérisme complet. DLI prophylactiques : suivi du chimérisme donneur sur sang total.
Aplasies médullaires	CD3+ et myéloïde	Intérêt démontré en cas de chimérisme mixte sur sang total	Recommandé	Dans les cas de chimérisme mixte sur sang total, le chimérisme sur population CD3+ et myéloïde peut être indiqué pour en documenter l'origine.
Hémoglobinopathies (drépanocytose, thalassémie)	CD3+, myéloïde, CD71+	Pas de bénéfice démontré par rapport au sang total	Optionnel	Le chimérisme sur sang total reste le marqueur de référence. L'électrophorèse de l'Hb reste plus pertinente pour le reflet fonctionnel. Le tri peut être discuté dans des situations de recherche ou discordances biologiques.
Déficits immunitaires primitifs (DICS, HLH, WAS)	Lignée impliquée dans la physiopathologie (CD3+, myéloïde selon le déficit)	Intérêt ciblé selon la pathologie	Optionnel	Intérêt pour documenter la correction de la lignée déficitaire en complément du phénotypage. Utile pour documenter un chimérisme mixte sur sang total.

QUESTIONS RÉSIDUELLES

- Suite à ces recommandations des questions résiduelles subsistent :
- La notion de seuil pour la définition d'un chimérisme mixte
 - Le seuil décisionnel clinique d'intervention
 - La place du chimérisme par rapport aux marqueurs de maladie résiduelles.

RÉFÉRENCES/ BIBLIOGRAPHIE

- Dubois al. Étude du chimérisme après allogreffe de cellules hématopoïétiques : recommandations de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC). Bull Cancer (Paris). 2017
- Tipton R et al. Ateliers d'harmonisation des pratiques de la SFGM-TC. Bull Cancer (Paris). 2016

Etat des lieux des pratiques sur la compatibilité HLA/HPA des concentrés plaquettaires. (Une étude de la SFHI junior)

Maude Avias¹, Laura Aubin², Jean Baptiste Baudey¹, Xavier Chamillard³, Justine Coombs⁴, Liesbeth Daniëls⁵, Véronique Deneys⁶, Marion Duclaut², Matthieu Filloux⁷, Nicolas Guillaume⁸, Sarah Hamada⁹, Vanda Holovska¹⁰, Margot Lepage⁹, Jean Milhes¹¹, Thibault Pajot¹², Baptiste Panaget¹³, Gautier Petit¹⁴, Diana Ratiarison¹⁵, Justine Schmitt¹⁶, Elodie Wojciechowski¹⁷, Pascal Pedini^{1,18}.

Contact : maude.AVIAS@efs.sante.fr

¹ Etablissement Français du Sang PACC Marseille France, ² Etablissement Français du Sang BRET Rennes France, ³ Etablissement Français du Sang IDF Paris Créteil France, ⁴ Etablissement Français du Sang HFNO Caen France, ⁵ CHU UCL Namur sites Godinne/Dinant Belgique, ⁶ CHU Saint Luc UCL Louvain Bruxelles Belgique, ⁷ CHU Limoges France, ⁸ CHU Amiens France, ⁹ Etablissement Français du Sang AURA Décines France, ¹⁰ LHUB ULB Bruxelles Belgique, ¹¹ CHU Toulouse France, ¹² CHU Lille France, ¹³ Etablissement Français du Sang GEST Strasbourg France, ¹⁴ CHU Caen France, ¹⁵ Etablissement Français du Sang NVAQ Poitiers France, ¹⁶ CHU Liège Belgique, ¹⁷ CHU Bordeaux France, ¹⁸ Université Aix-Marseille CNRS EFS ADES UMR7268 Marseille France.

INTRODUCTION

Selon les recommandations HAS, l'état réfractaire plaquettaire (ERP) lié à une allo-immunisation HLA/HPA nécessite la transfusion de concentrés plaquettaires (CP) de phénotype HLA/HPA identique ou proche du receveur. Difficilement réalisable en pratique, la sélection des CP dits HLA/HPA compatibles repose principalement sur la prise en compte de **l'immunisation anti-HLA de classe I et anti-HPA**, sans critère de compatibilité défini.

RÉSULTATS

Anticorps anti-HLA

Figure 1. Le seuil de MFI considéré pour les anticorps anti-HLA en contexte d'ERP varie selon la technique et les laboratoires (moyenne 1500, médiane 1000, min 750, max 3000).

En cas d'hyper-immunisation HLA ou en l'absence de CP disponible, 90% des villes (n=18) élargissent leur seuil initial (moyenne 6200, médiane 5000, min 2000, max 10000) et 3 laboratoires utilisent un test d'activation du complément (C1q/C3d).

Après élargissement du seuil de MFI, 5 centres limitent le nombre (1 à 3) ou la MFI cumulée (5000 à 10000) des anticorps dirigés contre les CP.

35% des centres (n=6) raisonnent en antigènes HLA permis.

2 laboratoires prennent en compte la présence d'anticorps anti-HLA Cw de MFI élevée et interdisent les antigènes HLA-B en fonction des déséquilibres de liaison les plus fréquents.

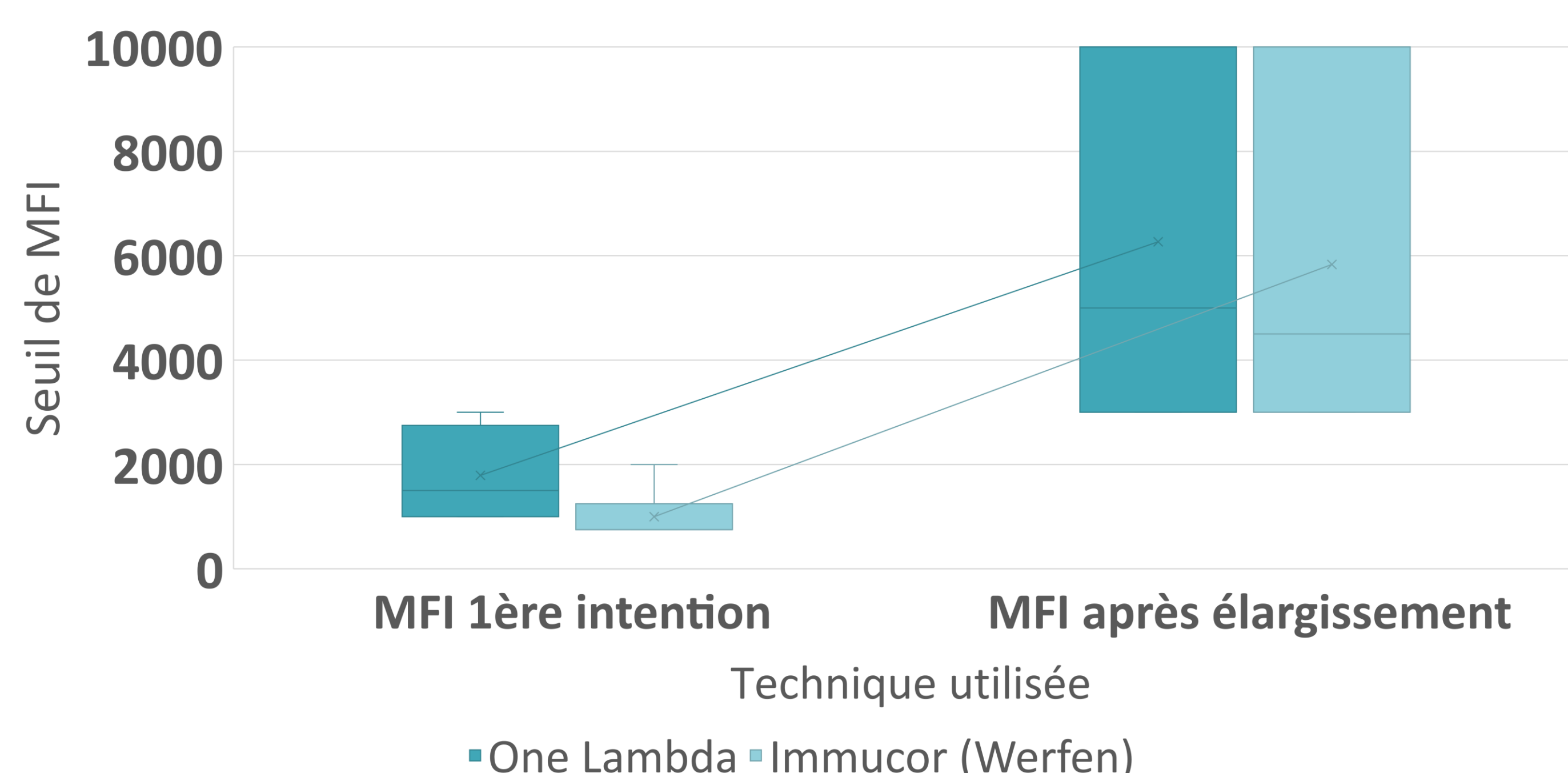
OBJECTIF

Cette étude dresse un **état des lieux des pratiques de sélection des concentrés plaquettaires HLA/HPA compatibles** dans les pays francophones membres de la SFHI.

MATERIELS & METHODES

En **2026**, un questionnaire d'évaluation des pratiques a été diffusé par la **SFHI Junior** auprès des laboratoires HLA de France, Suisse et Belgique. **17 laboratoires** (représentant 20 villes) ont répondu au questionnaire (77% de réponses).

Figure 1 : Seuil de MFI des anticorps anti-HLA en contexte transfusionnel

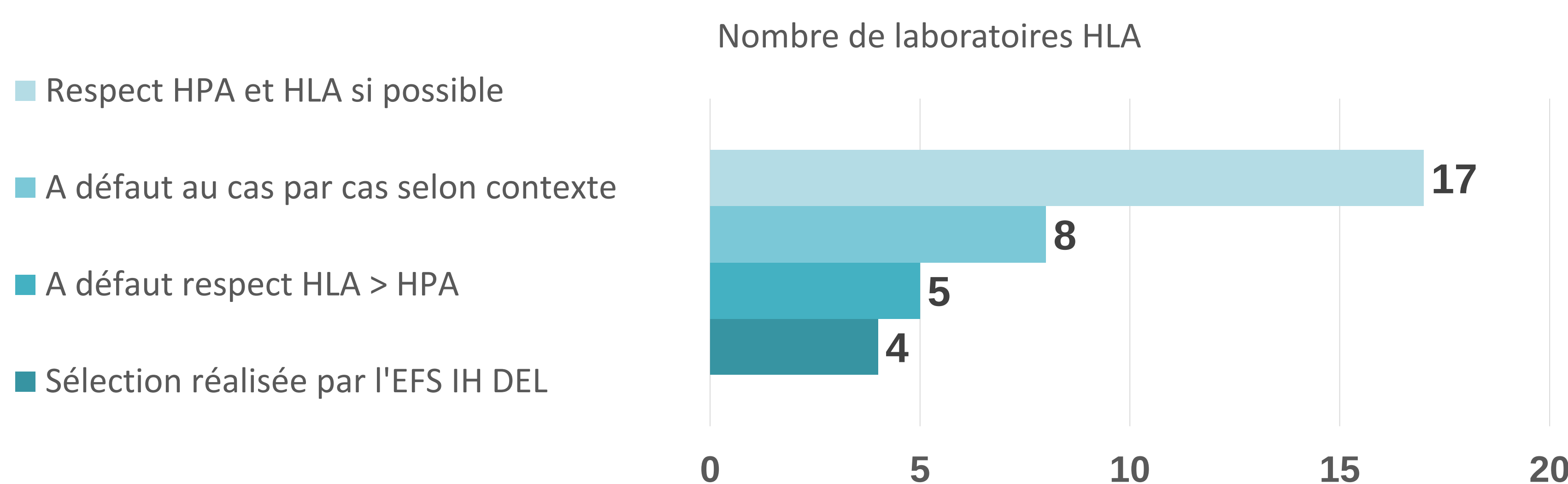


Anticorps anti-HPA

Parmi les 14 laboratoires réalisant la recherche, 54% (n=7) ajoutent systématiquement l'analyse chez les hyperimmunisés HLA ou en cas de mauvais rendement transfusionnel des CP HLA compatibles.

Figure 2. En présence d'immunisation HLA et HPA, tous les centres sélectionnent en priorité des CP HLA et HPA compatibles. En l'absence de produit disponible, les critères de sélection sont généralement revus au cas par cas.

Figure 2: Immunisation combinée HLA/HPA et sélection des CP compatibles



Relations clinico-biologiques

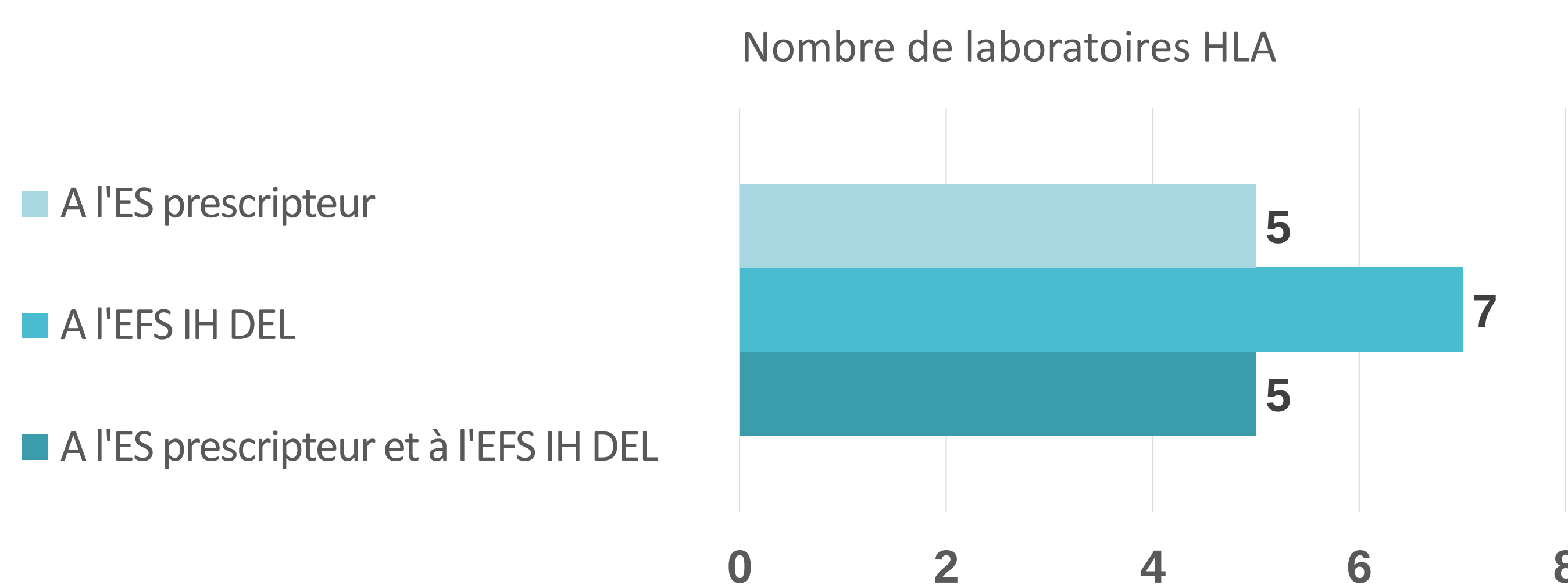
Figure 3. Suite au dépistage d'un profil d'immunisation complexe chez un patient, l'ensemble des laboratoires interrogés déclarent en informer le prescripteur et/ou le site de délivrance dans l'objectif de prévenir la survenue de l'ERP et éviter l'impasse transfusionnelle.

50% des laboratoires HLA n'ont pas de retour de la part des services prescripteurs ou des sites de délivrance concernant l'efficacité des CP HLA/HPA compatibles transfusés.

Prévention de l'apparition de DSA contre le greffon de CSH

82% des centres français incluent la prévention de l'apparition de DSA contre les antigènes HLA mismatches du donneur de CSH. Les situations cliniques et les stratégies immunologiques diffèrent d'un centre à l'autre.

Figure 3 : Signalement des profils à haut risque immunogènes HLA/HPA



Questions résiduelles

- Formalisation des comptes rendus d'analyses ?
- Droit à l'oubli des anticorps anti-HLA/HPA non détectés sur les derniers sérums ?

DISCUSSION / CONCLUSION

Les pratiques de sélection des concentrés plaquettaires HLA/HPA compatibles apparaissent **hétérogènes** parmi les laboratoires interrogés. Elles s'appuient principalement sur la littérature internationale, l'expérience des centres et se réfèrent aux recommandations établies en greffes d'organes ou de CSH.

Les consignes transfusionnelles sont le plus souvent établies au cas par cas, en fonction du profil d'immunisation du patient, de ses besoins transfusionnels, de la disponibilité des produits et de l'efficacité des rendements transfusionnels obtenus. L'analyse de ces derniers apparaît d'ailleurs primordiale pour évaluer l'efficacité des stratégies d'élargissement des critères de compatibilité en contexte d'immunisation complexe.

Cette étude souligne l'intérêt d'élaborer des **recommandations francophones communes de sélection des CP HLA/HPA compatibles** sur lesquelles s'appuyer, tout en conservant une **approche personnalisée adaptée à chaque patient**.

BIBLIOGRAPHIE

HAS. Transfusion de plaquettes : produits, indications. 2014

CS Cohn. Platelet transfusion refractoriness: how do I diagnose and manage? Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2020

T Linjama et al. Platelet donor selection for HLA-immunised patients ; the impact of donor-specific HLA antibody levels. Transfus Med 2017

R Crocchiolo et al. Sélection de produits transfusionnels pour limiter l'immunisation HLA avant allogreffe de CSH avec donneur mismatch (SFGM-TC Bull Cancer 2025)

Le système HLA, témoin de l'évolution humaine : étude paléogénomique des Néandertaliens, Denisoviens et premiers Homo sapiens

Pascal Pedini^{1,2}, Stéphane Mazières², Théo Marchal^{1,2}, Coralie Frassati^{1,2}, Lucas Hubert^{1,2}, Silvana Condemi², Jacques Chiaroni^{1,2}

¹ Laboratoire d'immunogénétique, Établissement Français du Sang Provence Alpes Côte d'Azur-Corse, Marseille.

² Aix-Marseille Université, CNRS, EFS, ADES UMR 7268

INTRODUCTION

Les groupes sanguins ont été les premiers marqueurs biologiques utilisés pour retracer l'histoire des populations humaines. Dans une étude récente (1–2), **notre équipe a montré que plusieurs allèles archaïques** identifiés chez les Néandertaliens et les Denisoviens sont aujourd'hui retrouvés à des fréquences élevées en **Afrique subsaharienne**, soulignant la persistance d'une signature génétique africaine ancestrale au sein de ces populations eurasiennes.

Le **système HLA** constitue un modèle particulièrement pertinent pour étudier **l'évolution de l'immunité humaine**. Il conserve l'empreinte d'adaptations anciennes aux agents infectieux. Les premières études de typage HLA réalisées à partir de génomes archaïques (3) **suggéraient une contribution importante de variants néandertaliens et d'énéisoviens au répertoire immunitaire des populations humaines modernes**, en particulier hors d'Afrique. Cependant, ces travaux pionniers reposaient sur des approches limitées et leurs conclusions ont parfois été remises en question.

Aujourd'hui, les **avancées récentes en paléogénomique et le développement de nouveaux outils bioinformatiques** de typage HLA permettent une analyse plus robuste des génomes anciens. À partir de séquences génomiques anciennes de haute qualité, nous avons étudié plusieurs individus — **Néandertaliens, Denisoviens et Homo sapiens anciens** — couvrant une vaste étendue chronologique et géographique, de la Sibérie à l'Europe.

MATERIELS & METHODES

1

Validation et sélection d'un outil bioinformatique pour le génotypage HLA

2

Génotypage HLA des individus archaïques

3

Interprétation

Quatre outils de typage HLA ont été comparés selon le format des fichiers d'entrée, leur compatibilité avec des données de séquençage WGS, ainsi que la couverture des loci (classes I et II). La validation a été réalisée à partir de 12 échantillons contrôles de référence UCLA et de 5 patients porteurs de nouveaux allèles.

Parmi les 42 génomes anciens disponibles à l'Institut Max Planck, 8 répondaient aux critères de qualité pour l'outil sélectionné :

- **3 Néandertaliens** (« Altai », Vindija33.19 et Chagyrskaya 8),
- **2 Denisoviens** (Denisova 3 et Denisova 25) et
- **3 Homo sapiens** du Paléolithique supérieur (Ust'-Ishim, Yana1 et Sungir III).

L'interprétation des résultats s'est concentrée sur la **distribution géographique actuelle des allèles HLA** et la **reconstruction des haplotypes**, à l'aide de l'Allele Frequency Net Database et de HaploStats.

RÉSULTATS

1/ Sélection des outils de génotypage HLA

Tools	Class I	Class II
OptiType	✓	✗
T1K	✓	✓

Parmi les quatre outils évalués, **une concordance de 100 % a été obtenue avec OptiType, limité aux HLA de classe I, et T1K, permettant le typage des HLA de classes I et II**. L'utilisation combinée de ces deux outils constitue ainsi une stratégie efficace pour croiser les résultats et renforcer la fiabilité du typage HLA de classe I.

Notre confiance dans les performances d'OptiType est également confortée par une validation indépendante réalisée par Plascencia et al. (4), qui rapporte une **précision de 80 % pour des profondeurs de séquençage supérieures à 2–5x, pour un typage HLA à une résolution d'un champ**. Dans la présente étude, les génomes sélectionnés présentaient une **profondeur moyenne de séquençage de 10x au niveau des exons 2 et 3**.

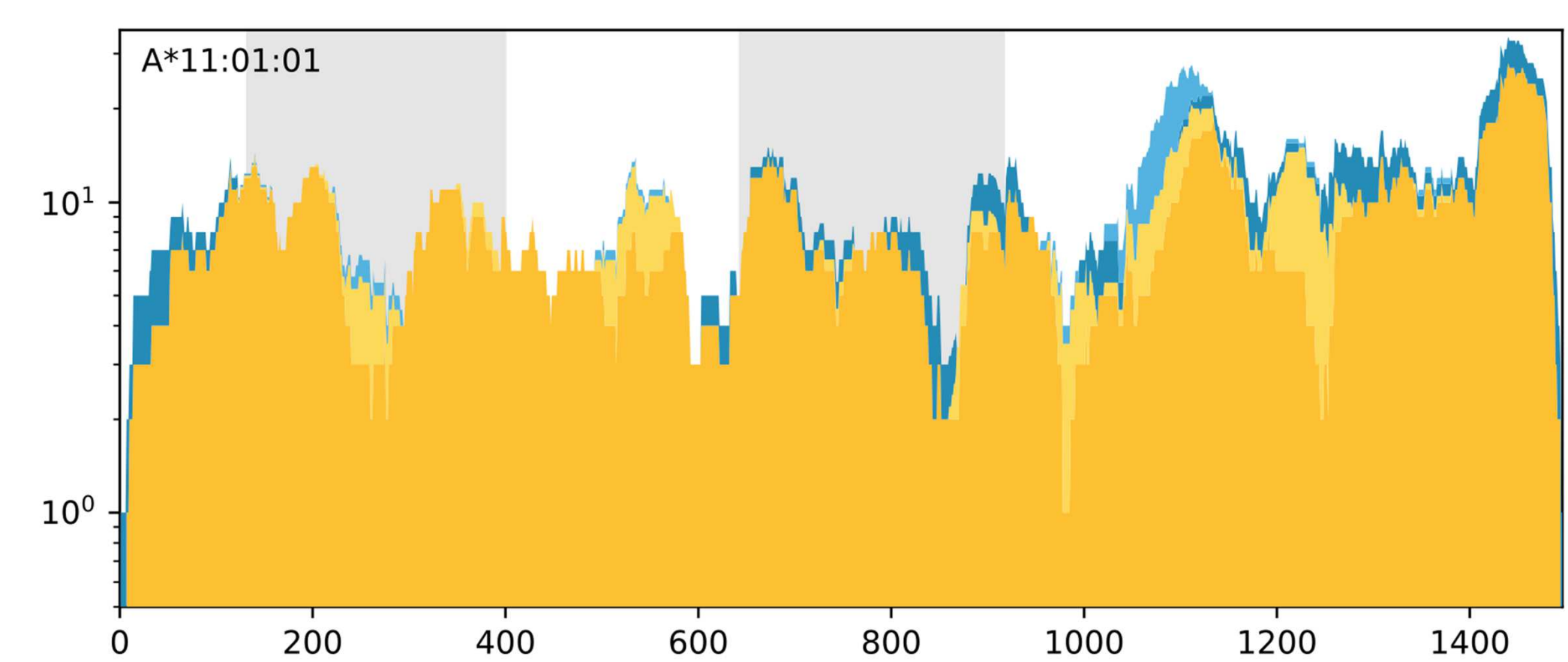
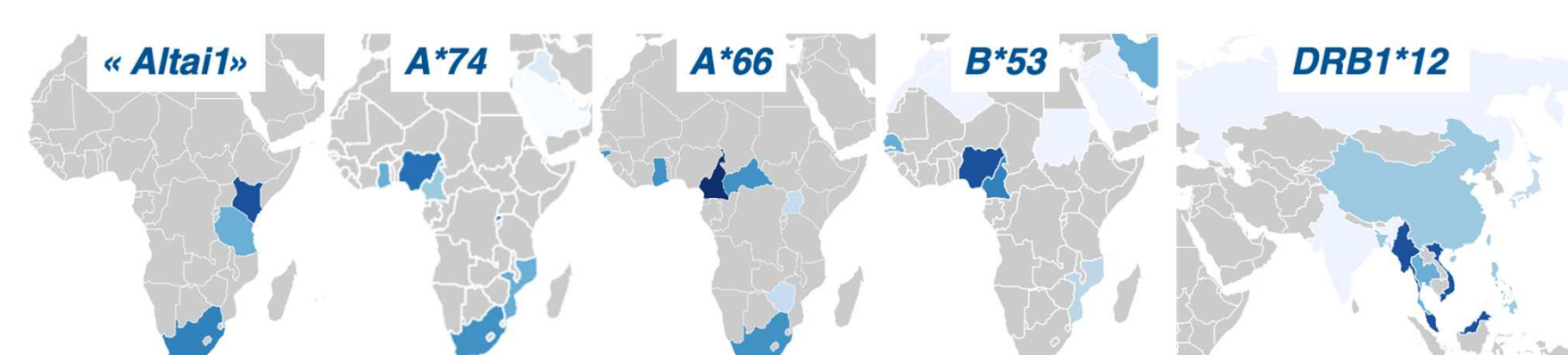


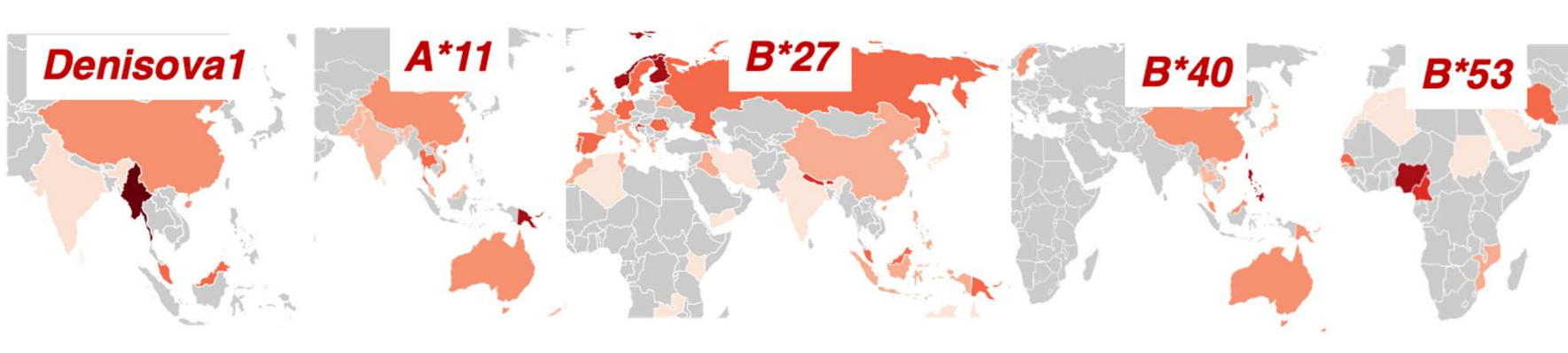
Figure 1. Exemple de résultats obtenus avec OptiType : profondeur de séquençage comprise entre 2x et 10x au niveau des exons 2 et 3 (en gris). Denisova 3.

2/ Génotypage HLA des individus archaïques

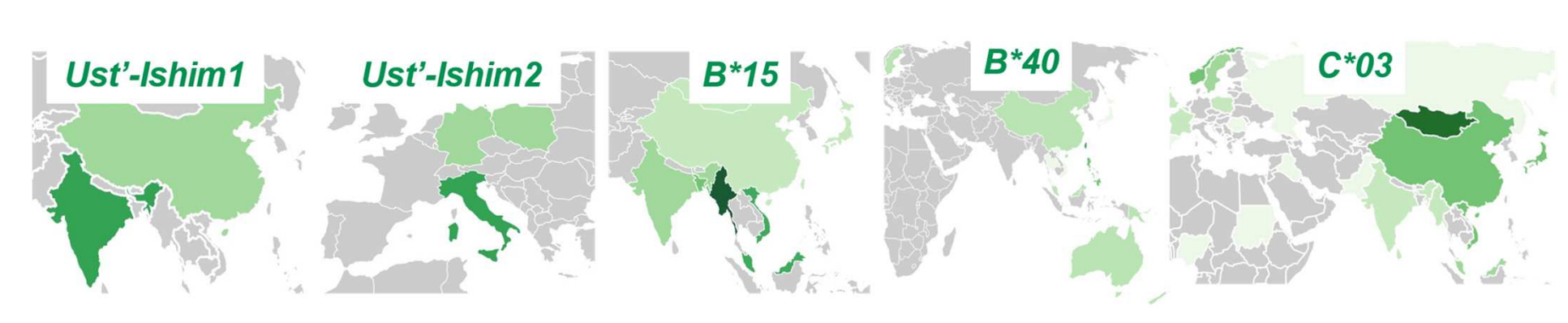
Néandertaliens	Typage HLA le plus probable	Ambiguïté
« Altai »	A*74 - B*35 - C*04 - DRB1*15 - DQB1*06 A*66 - B*13 - C*12 - DRB1*04 - DQB1*04	
Chagyrskaya8	A*02 B*08 C*12 DRB1*04 DQB1*03 A*66 B*53 C*15 DRB1*12 DQB1*03	B*07 B*08
Vindija33.19	A*31? B*53 C*16 DRB1*12 DQB1*03 A*66 B*53 C*02 DRB1*12 DQB1*04	B*35



Denisovans	Typage HLA le plus probable	Ambiguïté
Denisova3	A*11 - B*15 - C*12 A*02 - B*53 - C*15	n/a n/a
Denisova25	A*33 B*15 C*14 A*02 B*27 C*07	n/a n/a



Homo sapiens	Typage HLA le plus probable	Ambiguïté
Ust'-Ishim	A*11 - B*40 - C*03 - DRB1*14 - DQB1*05 A*26 - B*39 - C*12 - DRB1*04 - DQB1*05	
Yana1	A*24 B*15 C*03 A*31 B*39 C*12	n/a n/a
SungirIII	A*31 B*15? C*03 A*68 B*40 C*07	n/a n/a



La présence de l'allèle HLA-A*66 chez les trois néandertaliens **pourrait refléter leur faible diversité génétique**, une caractéristique attendue des populations néandertaliennes.

Les **trois Néandertaliens présentent des allèles fréquents en Afrique**, tels que HLA-A*66, A*74 et HLA-B*53.

Le Néandertalien de l'Altai porte notamment l'haplotype HLA-A*74-B*35-C*04-DRB1*15-DQB1*06, caractéristique des populations actuelles d'**Afrique subsaharienne**.

Ust'-Ishim présente les haplotypes HLA-A*11-B*40-C*03-DRB1*14-DQB1*05 et HLA-A*26-B*39-C*12-DRB1*04, fréquents respectivement en Asie et en Europe occidentale.

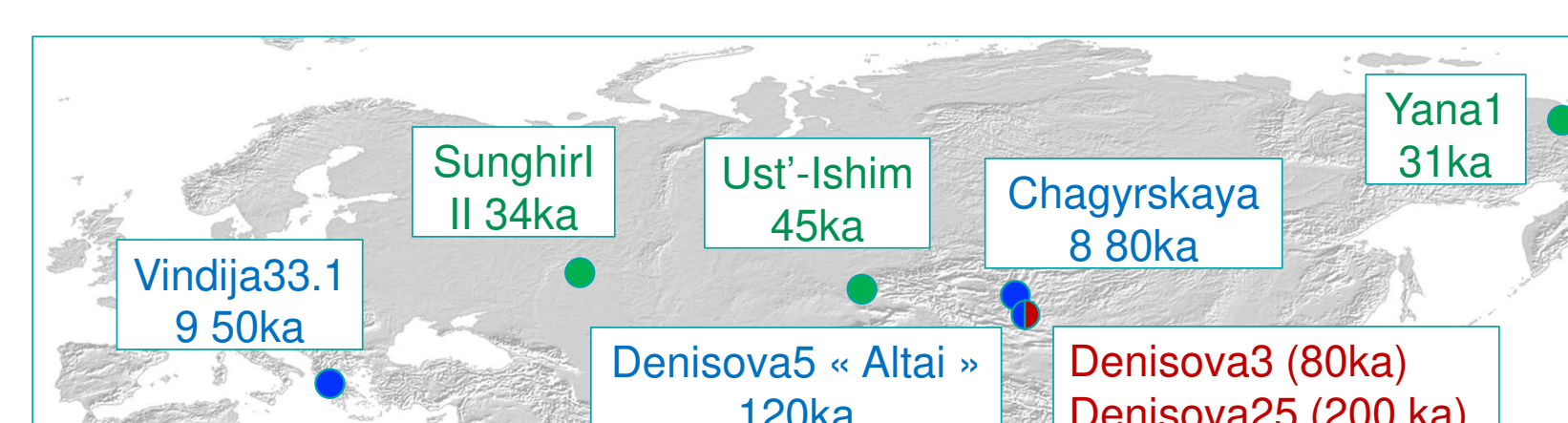
Denisova 3 partage avec les Néandertaliens des allèles associés aux populations africaines, ainsi qu'avec Ust'-Ishim des allèles eurasiatiques. Certains allèles, comme HLA-A*11, présent chez Ust'-Ishim et Denisova 3, atteignent des fréquences **supérieures à 60 % dans certaines populations océaniques actuelles**.

Nos résultats sont concordants avec ceux précédemment rapportés dans la littérature pour les génomes déjà étudiés (3) et avec les groupes sanguins érythrocytaires de notre équipe (1-2)

CONCLUSION

Dans l'ensemble, **nos résultats confortent les observations** issues de l'étude des **systèmes de groupes sanguins**, établissant un lien entre les lignées néandertaliennes et l'Afrique et suggérant l'existence d'un pool génétique d'Homo sapiens contemporain, voire postérieur, à la dispersion hors d'Afrique. Ils soutiennent également **l'existence d'événements d'introgression au locus HLA antérieurs au peuplement de l'Océanie**.

INSTITUT
Pasteur



La poursuite de ce travail, menée en collaboration avec **l'Institut Pasteur, visera à caractériser plus précisément ces événements d'introgression et à confronter les données HLA obtenues aux hypothèses actuelles de génétique évolutive, notamment celles relatives aux interactions entre populations humaines archaïques et modernes**.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Condemi S. et al 2021 PLoS One (2) Mazières S et al. 2025 . Sci Rep. (3) Abi-Rached L et al. 2011. Science (4) Plascencia, A.G., et al.. 2025 Sci Rep

Performances analytiques de la méthode HistoSpot pour la détection des DSA dans une cohorte de transplantés pulmonaires

Jean-Baptiste Baudey^{1,2}, Lucas Hubert^{1,2}, Lucas Buson¹, Agnès Basire¹, Pascal Pedini^{1,2}, Christophe Picard^{1,2}

1 Laboratoire d'immunogénétique, Établissement Français du Sang Provence Alpes Côte d'Azur-Corse, Marseille
2.Aix-Marseille Université, CNRS, EFS, ADES UMR 7268

Contact : jean-baptiste.baudey@efs.sante.fr

INTRODUCTION

Les patients transplantés pulmonaires développent fréquemment des anticorps anti HLA dirigés contre le greffon (DSA) au cours de la première année post greffe malgré une immunosuppression adaptée. La **toxicité** de ces DSA précoces, généralement de MFI intermédiaire et qui régressent souvent spontanément au cours du suivi sans mise en place d'une désimmunisation active, n'est pas réellement établie. Ceci pose la question d'un **excès de sensibilité** de la méthode Luminex Single Antigen OneLambda (LSA) (ThermoFisher). Des méthodes complémentaires, telle que la solution HistoSpot (BAG) qui détecte les anticorps anti HLA sur puce, doivent être évaluées pour connaître leur apport dans la détection des DSA **cliniquement pertinents** pour la survie du greffon pulmonaire.

MATERIELS & METHODES

Dans une cohorte de **54 transplantés pulmonaires**, la recherche d'anticorps anti HLA classe I et II a été réalisée à **J0, J15, M1, M3, M6 et M12** après greffe par les méthodes LSA OneLambda et HistoSpot.

Principe de la méthode HISTO SPOT®

- Phase solide : Antigènes HLA recombinants purifiés immobilisés sous forme de **spots** au fond des **micropuits** (puce multiplexe).
- Réaction immunologique : Incubation du sérum du patient et fixation des anticorps anti-HLA spécifiques.
- Révélation : Réaction colorimétrique enzymatique (HRP-TMB) entraînant l'apparition d'un spot coloré.
- Automatisation : Processus entièrement standardisé (incubations, lavages, capture d'images) sur l'automate **MR.SPOT®**.
- Analyse : Interprétation automatisée par le logiciel **HISTOMATCH**, validée après revue par l'opérateur.

RÉSULTATS

Performance d'HistoSpot pour les anticorps anti HLA totaux

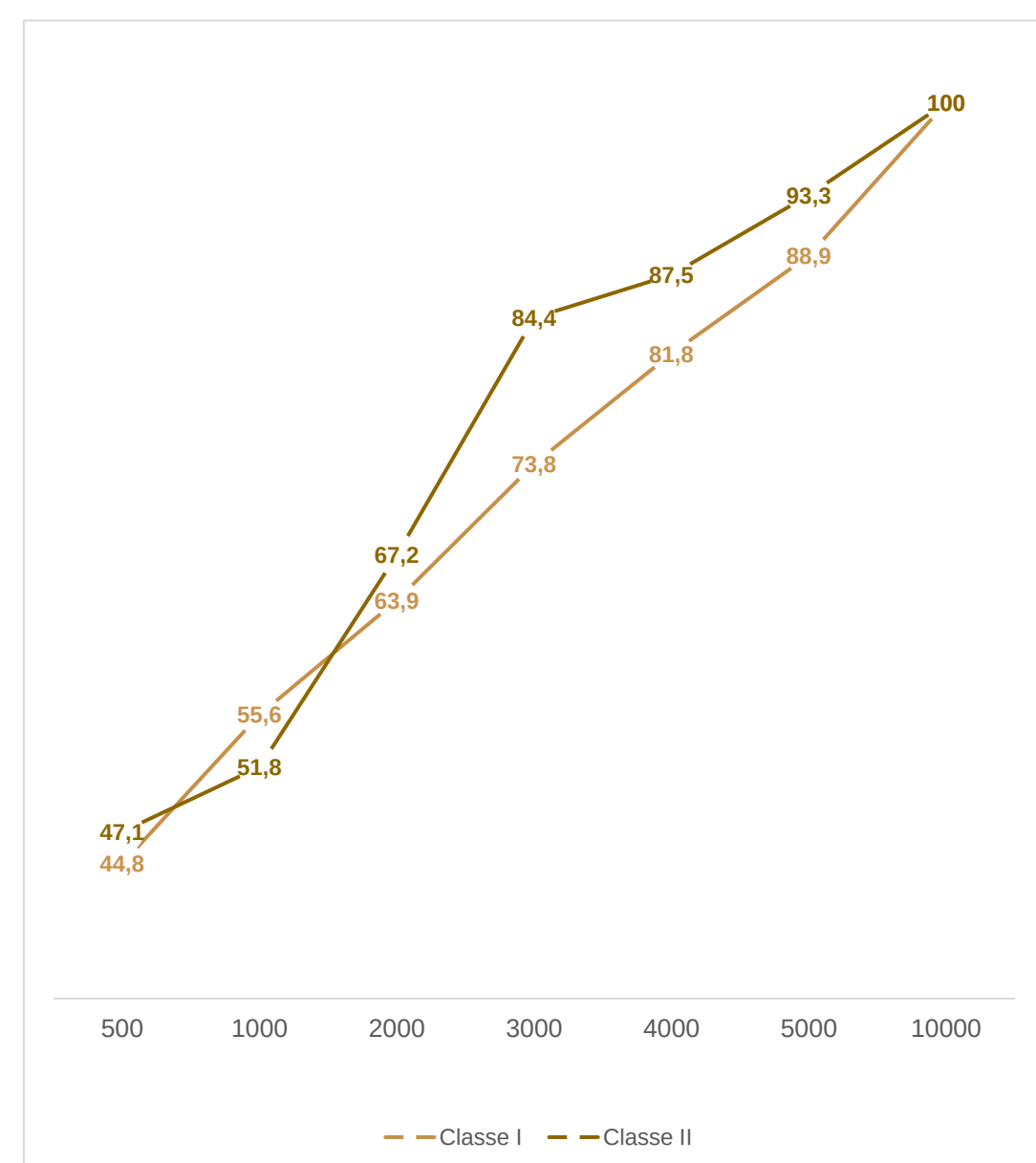
Seuls les antigènes testés en commun par les deux méthodes sont comptabilisés.

Classe I : sur 19 467 spécificités testées, **95% de concordance** entre les deux méthodes

Classe II : sur 12 236 spécificités testées, **91% de concordance** entre les deux méthodes

Performance d'HistoSpot pour les DSA

La sensibilité de HistoSpot pour les DSA a été testée par rapport à OneLambda pour différents seuil de MFI



Pourcentage de concordance entre OneLambda et HistoSpot selon le cut off choisi de MFI OneLambda

Classe I :

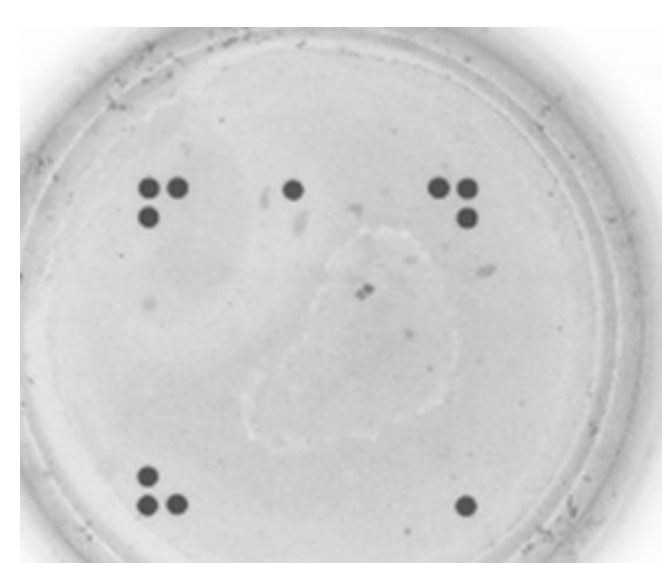
Seuil MFI OneLambda	500	1000	2000	3000	4000	5000	10000
Nombre de DSA OL	125	90	61	42	33	27	24
MFI médiane OL	1962	2319	2694	5853	7332	9097	15091
% concordance HistoSpot	44,8	55,6	63,9	73,8	81,8	88,9	100

Classe II

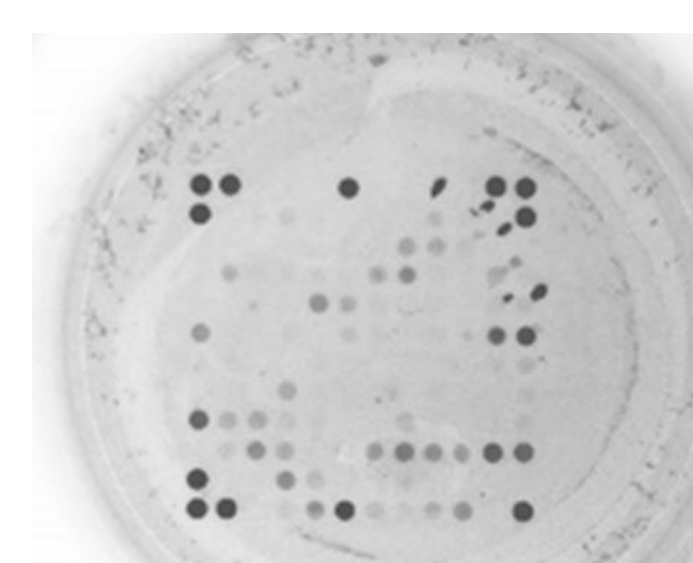
Seuil MFI OneLambda	500	1000	2000	3000	4000	5000	10000
Nombre de DSA OL	138	114	67	45	40	30	17
MFI médiane OL	1908	2377	4250	7124	8775	11111	15000
% concordance HistoSpot	47,1	51,8	67,2	84,4	87,5	93,3	100

OBJECTIF

- 1) Evaluer les **performances analytiques** de la méthode HistoSpot pour la détection des anticorps anti-HLA et des **DSA** dans une cohorte de transplantés pulmonaires
- 2) Confronter les résultats de HistoSpot aux données cliniques de **rejet**



Résultat négatif



Résultat positif : l'apparition de spots colorés témoigne de la présence d'anticorps anti HLA



Automate MR SPOT

Confrontation des résultats aux évènements cliniques

16 patients sur 54 (29,6%) ont présenté au moins un épisode de rejet entre J15 et M12.

- Dont 13 patients positifs en OneLambda (**sensibilité = 81%**)
- Dont 10 positifs en HistoSpot (**sensibilité = 61%**)
- Dont 10 positifs HistoSpot + OneLambda

38 patients étaient exempts de rejet entre J15 et M12

- Dont 19 sans DSA en OneLambda (**spécificité = 50%**)
- Dont 23 sans DSA en HistoSpot (**spécificité 61%**)
- Dont 17 sans DSA dans les deux méthodes simultanément

6 DSA classe I et 38 DSA classe II ont été détectés en méthode HistoSpot uniquement

- mais seuls 3 patients présentaient des DSA HistoSpot en l'absence totale de DSA OneLambda
- Ces 3 patients n'ont pas présenté de rejet.

DISCUSSION / CONCLUSION

La concordance globale des résultats des deux méthodes est élevée. Concernant les DSA spécifiquement, elle est élevée pour des MFI > 5 000 (> 85%) et des MFI > 10 000 (100%), quel que soit le locus, mais diminue pour des MFI plus faibles. 70% des patients ont développé des DSA la première année dans au moins une technique quand 29,6% seulement des patients développaient un rejet. **La sensibilité de HistoSpot pour la survenue du rejet est inférieure à celle de OneLambda** (63% vs 81%) mais **sa spécificité est meilleure** (61% vs 50%). Notre hypothèse était que les DSA concordants dans les deux techniques sont les DSA cliniquement pertinents. Cependant, la sensibilité et la spécificité de l'association des deux méthodes ne sont pas supérieure à celles de chaque méthode isolément.

La méthode HistoSpot permet de détecter efficacement les DSA avec une MFI > 5000. Malgré une sensibilité plus faible, elle pourrait permettre de déterminer plus spécifiquement les DSA cliniquement pertinents.

Identification d'un nouvel allèle HLA-B, B*14:150, issu d'une recombinaison inter-allélique entre B*14:02:01:01 et B*51:01:01:01

Ornella Senoussi ¹, Pierre Fournier ¹, Clara Manoukian ¹, Émilie Moreau ¹, Ingrid Guivarc'h ¹, Julien Bessonnat ¹, Céline Dard ¹
Laboratoire d'Histocompatibilité — Centre Donneurs de Moelle Osseuse, EFS Rhône-Alpes Auvergne, Site de Grenoble

CONTEXTE

Avec plus de 45 000 allèles HLA actuellement répertoriés chez l'Homme, le grand polymorphisme du système HLA joue un rôle dans l'évolution et la sélection naturelle des populations. Avec la généralisation du séquençage nouvelle génération (NGS) en typage de routine, les laboratoires mettent en évidence quotidiennement de nouveaux allèles. Si la majorité résulte de mutations ponctuelles, d'autres proviennent d'événements de recombinaison inter-allélique (« gene conversion »), plus rarement caractérisés.

Le locus B, présentant le plus fort polymorphisme, est deux fois plus susceptible de présenter ce type de mutation que le locus A (*Hughes AL, Hughes MK. Contrasting roles of interallelic recombination at the HLA-A and HLA-B loci*).

OBJECTIFS

L'identification de nouveaux allèles HLA contribue à l'enrichissement continu de la base de référence IPD-IMGT/HLA, essentielle à l'interprétation fiable des typages.

L'objectif de ce travail est de présenter la caractérisation d'un nouvel allèle HLA-B, résultant d'un événement de recombinaison entre les allèles B14:02:01:01 et B51:01:01:01, identifié et confirmé par des approches complémentaires de séquençage nouvelle génération et de typage haute résolution.

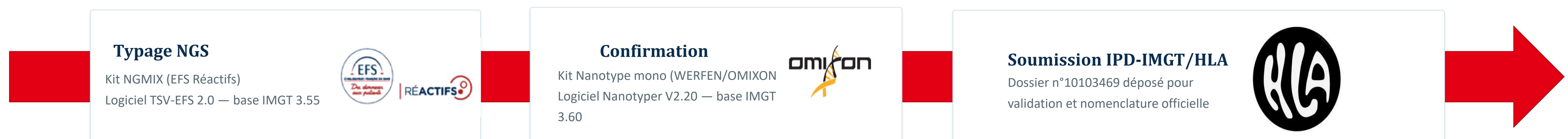
Cette découverte, officiellement nommée B*14:150 par le comité de nomenclature IMGT/HLA, illustre l'apport du typage HLA en haute résolution de routine dans la mise en évidence de nouveaux variants alléliques et souligne l'importance de leur déclaration pour la précision du typage HLA en pratique clinique.

MÉTHODE

Le nouvel allèle HLA-B a été mis en évidence grâce à la technique de séquençage haute résolution NGS NGMIX (EFS Réactifs), avec analyse bio-informatique via le logiciel TSV-EFS 2.0.

Ce résultat a ensuite été confirmé par une seconde technique de haute par séquençage nanopore, (kit Nanotype mono, Werfen Omixon), permettant de valider la séquence obtenue.

Cet allèle a ensuite été soumis à l'IMGT afin de confirmer sa validité et d'obtenir une appellation officielle.



RÉSULTATS

L'allèle présentait initialement une homologie avec B*14:02:25 avec 6 mismatches exoniques et 6 introniques, tous situés entre l'intron 3 et l'intron 5. En blastant un read situé dans cette zone, la séquence présentait des homologies avec différents allèles HLA-B, dont le B*51:01.

La comparaison en alignant le nouvel allèle avec du B*51:01:01:01 a révélé un événement de recombinaison : les exons 1, 2, 3, 6 et 7 proviennent de B*14:02:01:01, tandis que les exons 4 et 5 proviennent de B*51:01:01:01. L'allèle B*14:02:25 présente une mutation commune au B*51:01:01:01 et est donc proposé préférentiellement, cependant il s'agit bien d'une recombinaison entre les allèles B*14:02:01:01 et le B*51:01:01:01. (Figure 1)

Le point de recombinaison a été localisé entre le milieu de l'intron 3 et le milieu de l'intron 5, confirmé par l'équipe IPD-IMGT/HLA.

CONCLUSION

L'allèle a été déclaré officiellement à l'IMGT sous le numéro HWS 10103469 et nommé B*14:150 le 30/06/2026. Il apparaît dans la release IPD-IMGT/HLA DB 3.65.

Cette observation illustre un mécanisme de recombinaison inter-allélique entre deux lignées HLA-B majeures, avec un point de jonction intronique précis. Elle souligne l'intérêt du NGS haute résolution pour la détection fiable de ces événements rares, et conforte l'intérêt de déclaration des nouveaux allèles auprès de la base IPD-IMGT/HLA.

À l'avenir, il sera nécessaire de caractériser l'expression de cet allèle par typage sérologique.

**L'allèle a été officiellement nommé le 30/06/2026
HLA-B*14:150.
Il apparaît pour la première fois dans la release
IPD-IMGT/HLA DB 3.65**

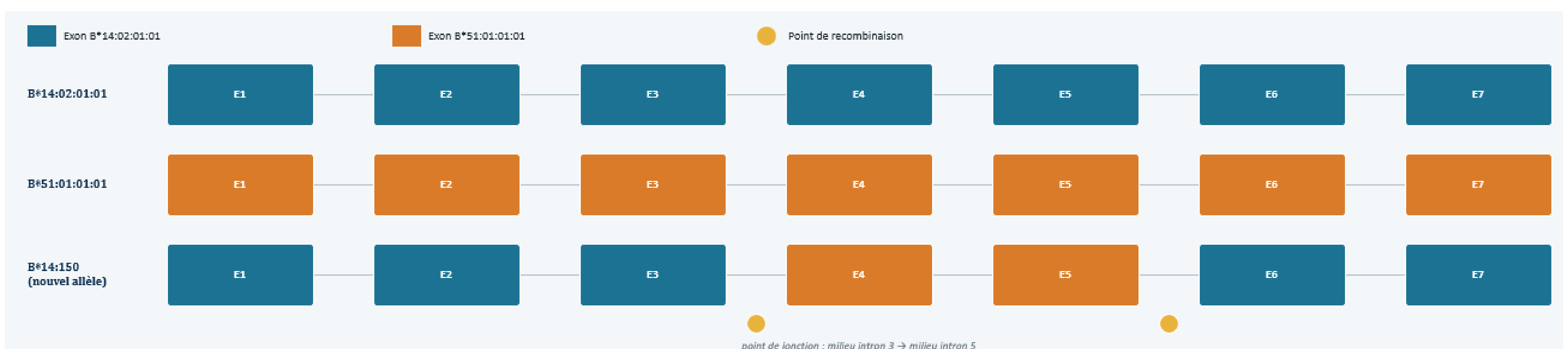


Figure 1: point de recombinaison du nouvel allèle, en comparaison avec les exons des 2 autres allèles B*14:02:01:01 et B*51:01:01:01

Optimisation de la solution NanoTYPE sur automate PromethION P2 solo : Perspectives pour les laboratoires HLA



Romain Ferru-Clément, Perrine Augustin, Marion Raguenaud, Yannick Branger, Laetitia Rivière, Pierre Brossard, Isabelle Jollet
Laboratoire d'Histocompatibilité et Immunogénétique, Etablissement Français du Sang Nouvelle Aquitaine, Poitiers, France

Introduction

Depuis une dizaine d'années, les plateformes haut débit (HD) de typage HLA haute résolution (HR) adoptent majoritairement une approche NGS (*Next-Generation Sequencing ; short-read*) de séquençage par synthèse (SBS, pour *sequencing-by-synthesis*) sur automate MiSEQ (Illumina). Récemment, la technique TGS (*Third-Generation Sequencing ; long-read*) de séquençage Nanopore, initialement développée sur automate moyen débit MinION (Oxford Nanopore Technologies (ONT)), a été déclinée sur automate haut débit PromethION P2 solo (P2S ; ONT).

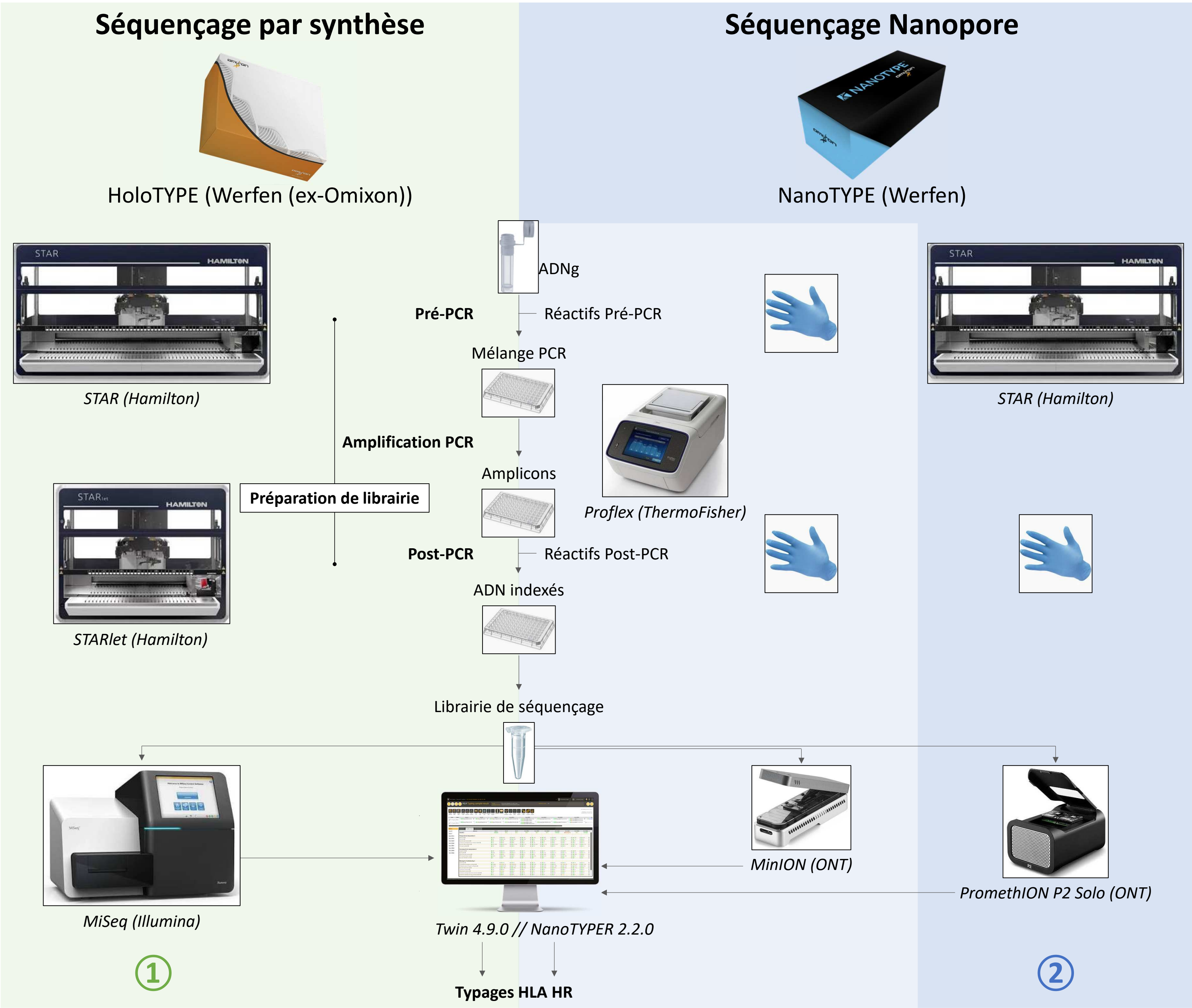
Objectif: Comparer les caractéristiques et les performances de flux de travail ① SBS sur MiSEQ avec réactifs HoloTYPE (Werfen (ex-Omixon)) et ② Nanopore sur P2S avec réactifs NanoTYPE (Werfen), implémentés et optimisés dans notre laboratoire, en conditions de routine, dans le cadre de marchés publics de l'Etablissement Français du Sang.

Contexte: Activité du laboratoire nécessitant des typages HLA HR

	Moy./an 2016-2023	2024	2025	2026...
Greffes rein	69	56	82	47...
Greffes CSH	47	44	43	38...
MAL (HLA-B)	301 (87%)	343 (88%)	254 (91%)	128 (88%)...
USP	93	119	133	41...
DVMO	558	907	1628	1661...

- > 2016-2023: réactifs HoloTYPE avec SBS sur MiSEQ en 1^{re} intention
- 7 Loci (HLA-A, -B, -C, -DRB1/3, -DQA1, -DQB1, -DPB1) pour qualification (i) patients (PAT) en attente de greffe de rein ou cellules souches hématopoïétiques, (ii) donneurs fléchés familiaux ou fichiers (DON), (iii) unités de sang placentaire (USP) et (iv) donneurs volontaires de moelle osseuse (DVMO) pour inscription sur registre France Greffe de Moelle [PCR-SSP complémentaire nécessaire pour réanalyses individuelles de gènes, analyses d'associations HLA et maladies (MAL) et typages HR HLA-DPA1, -DRB4 et/ou -DRB5]
 - 2 Loci (HLA-A, -B) pour qualification (i) donneurs de plaquettes (DPL) et (ii) mamans d'USP (MUSP)
- > Depuis 2024: implémentation réactifs NanoTYPE avec nanopore sur MinION puis P2S
- 11 Loci (HLA-A, -B, -C, -DRB1/3, -DRB4, -DRB5, -DQA1, -DQB1, -DPA1, -DPB1) temporairement pour MAL puis pour qualification PAT, DON, DVMO et USP
 - Monolocus (Mono) pour réanalyses individuelles de gènes puis pour MAL

Plateformes de typage HLA haute résolution en haut débit



Implémentations et optimisations des flux de travail SBS et nanopore

Comparaison des plateformes HD SBS et nanopore :

Similitudes :

- Amplification PCR des gènes HLA d'intérêt
- Modification des amplicons
 - Traçabilité individuelle
 - Compatibilité avec séquenceurs
- Limites de couverture des gènes HLA

Différences :

- PCR: 1 multiplex pour NanoTYPE 11 Loci (7 simplex pour HoloTYPE 7 Loci)
- Librairie: 1 étape pour NanoTYPE 11 Loci (3 pour HoloTYPE 7 Loci)

① HoloTYPE ② NanoTYPE

A A ex1 ex2 ex3 ex4 ex5 ex6 ex7 ex8

B B ex1 ex2 ex3 ex4 ex5 ex6 ex7

C C ex1 ex2 ex3 ex4 ex5 ex6 ex7 ex8

DQA1 DQA1 ex1 ex2 ex3 ex4

DQB1 DQB1 ex1 ex2 ex3 ex4 ex5 ex6

DPA1 DPA1 ex1 ex2 ex3 ex4

DPB1 DPB1 ex1 ex2 ex3 ex4 ex5

DRB1/3 DRB1/3 ex1 ex2 ex3 ex4 ex5 ex6

DRB4 DRB4 ex1 ex2 ex3 ex4 ex5 ex6

DRB5 DRB5 ex1 ex2 ex3 ex4 ex5 ex6

Amorces communes, HoloTYPE (7 PCR), NanoTYPE (1PCR). Exons non séquencés

Optimisations :

Sécurisation de processus et diminution du nombre d'étapes manuelles:

- Pré-PCR: Automatisation distribution réactifs (HoloTYPE: 2016 / NanoTYPE sur P2S: juin 2026)
- Post-PCR:
 - Automatisation nombreuses distributions réactifs (HoloTYPE: 2016)
 - Simplification (approche systématique) gestion amplicons (NanoTYPE: septembre 2025)

Consommation:

- Adaptation mélange Pré-PCR (NanoTYPE sur MinION et P2S: juin 2026)

Séquence des implémentations :

		2024	2025	2026
SBS ①	2 Loci-MiSEQ	MUSP/DPL		
	7 Loci-MiSEQ	USP		
		DVMO		
		PAT/DON		
Nanopore ②	Mono-MinION	Réanalyses	MAL/Réanalyses	
	11 Loci-MinION	MAL		
			PAT/DON	
	11 Loci-P2S			DVMO
				USP
				MUSP/DPL
	Arrêt SSP/MAL			
			Dilution syst. amplicons	Auto pré-PCR P2S

Extracteurs ADN	TM16/RSC/CSC	3	3	3	3	3	3	3	2
Thermo.	9700	8	7	6	3	3	3	2	2
	Proflex	1	1	1	3	3	3	5	5

Comparaison des plateformes de typage HR HD

Éléments de comparaison des utilisations optimisées de 2025 à ce jour :

- Fréquence et taille des séries, détaillées par types de réactifs et d'automates
- Temps nécessaire aux étapes techniques et analytiques
- Performances, exprimées en nombres et types d'anomalies de résultats
- Coût d'un typage (incluant extraction d'ADN, réactifs, consommables, personnel, maintenances automates et réanalyses)

	SBS – HoloTYPE		Nanopore – NanoTYPE		
	2 Loci-MiSEQ	7 Loci-MiSEQ ①	Mono-MinION	11 Loci-MinION	11 Loci-P2S ②
Typages	388	2474	705	1975	912
Séries	10	59	78	136	11
Ech./série	39	42	9	15	83
Série/sem	NA	0,9#	0,9	1,6	1,0
Echecs (n (%))	0	87 (3,5%)	4 (0,5%)	108 (5,5%)	30 (3,2%)
Top1 Locus	NA	A (24%)	NA	DRB5 (22%)	A (30%)
Top2 Locus	NA	DRB1 (20%)	NA	DQB1 (20%)	DRB1 (27%)
Top3 Locus	NA	C (16%)	NA	A (20%)	DQB1 (23%)
Top1 Motif	NA	Ambiguïté (36%)	NA	Profondeur (22%)	Echec ampli (30%)
Top2 Motif	NA	Cis Trans (34%)	NA	InDel (19%)	Déséq. (20%)
Top3 Motif	NA	Profondeur (14%)	NA	Déséq. (19%)	DL douteux (20%)
ADN→Seq (h)	NA	>100 (96 ech)	<24 (12 ech)	<6 (16 éch.)	<24 (96 éch.)
TL Manip (h)	NA	10	4	3,5	5
VT1 Logiciel (h)	NA	5	0,5	1,5	2,5
VT2 Logiciel (h)	NA	5	0,25	0,25	1
VB LMT (h)	NA	5	0,25	1	2,5
Cout (€/test)	NA	135,52	74,69	103,55	79,23
Réact. Conso. (€)	NA	81,94 (60%)	20,42 (27%)	67,87 (66%)	47,62 (60%)
		#Année 2025		R3,6% hors DVMO<20y	

	HoloTYPE 7 Loci-MiSEQ ①	NanoTYPE 11 Loci-P2S ②
Faiblesses relatives	Séries limitées à 48 éch. 4 thermocycleurs par série de 48 éch. Nombreuses étapes post-PCR 1 librairie de 48 éch.: >72h Risques TMS Flexibilité médiocre 1 run MiSeq de 192 éch.: 36h	Evolutions fréquentes Archivage: 540 Mo/éch.
Forces relatives	Technologie éprouvée Archivage: 60 Mo/éch.	Flexibilité: 24-96 éch. par série 1 librairie de 96 éch.: ~6h 1 thermocycleur par série de 96 éch. 2 runs P2S de 96 éch.: 24h Coût du typage

Principaux résultats :

- Performances similaires : <5% d'échecs
- Avantages ② Nanopore sur P2S
 - Flux de travail **plus rapide (x2-4)**
 - Coût réduit (-40%)**

Conclusions

L'implémentation et les optimisations de la solution ② NanoTYPE 11 Loci sur P2S nous ont permis d'augmenter notre débit d'analyses et nos capacités de typage HLA HR HD, en comparaison de la solution ① HoloTYPE 7 Loci sur MiSEQ. Parmi les effets collatéraux, (i) notre **parc de thermocycleurs a pu être réduit**, grâce au caractère multiplex de l'unique amplification PCR, (ii) notre **dépendance à l'automatisation dans les étapes post-PCR a diminué**, en raison de la simplification du flux de travail, et (iii) nous avons **fait évoluer notre stratégie d'extraction d'ADN vers une approche HD** afin d'accompagner l'augmentation de nos capacités de typage. La conformité de l'ensemble de nos résultats aux exercices d'évaluation externe de qualité et notre analyse approfondie des vulnérabilités techniques de nos flux de travail mettent en évidence que l'implémentation de la solution ② NanoTYPE 11 Loci sur P2S nous a permis de maintenir un niveau de performances élevé. Par ailleurs, en comparaison de la solution ① HoloTYPE 7 Loci, ② NanoTYPE 11 Loci nous a permis de nous **affranchir de techniques complémentaires pour le typage HR des loci HLA-DPA1, -DRB4 et -DRB5** tout en présentant l'avantage incontestable de **réduire notre cout de typage des 11 principaux loci HLA de plus de 50%**.

Notre retour d'expérience met en évidence que des solutions de typage Nanopore sur PromethION P2 solo offrent l'opportunité de déployer de nouvelles plateformes de typage HLA flexibles et compétitives, dont le débit peut dépasser celui des plateformes SBS sur MiSEQ.

Appel au don de CSH 2026 : retour d'expérience du centre donneur EFS-AURA

Bessonnat J.¹, Marsella M.¹, Manfredini S.¹, Fournier P.¹, Caprera M.¹, Bechard L.¹, Cayon-Glayere M.¹, Fournel X.¹, Fabien F.¹, Dubois V.¹, Dard C.¹

Établissement Français du Sang – Centre DVMO EFS AURA

CONTEXTE

À la mi-mars 2026, les centres Donneurs Volontaires de Moelle Osseuse (DVMO) de France ont été fortement mobilisés par un appel au don d'une ampleur inédite. Sa situation, relayée par les médias nationaux, a surtout bénéficié d'une diffusion sans précédent sur les réseaux sociaux grâce à sa famille et à des personnalités influentes, mettant ainsi le DVMO en pleine lumière. Cinq mois plus tard, voici quelques chiffres permettant de mesurer l'impact de cet élan de solidarité sur le recrutement de nouveaux donneurs dans notre région AURA

CONSTATS

Dès la parution des premiers posts sur les réseaux sociaux à la mi-mars, l'Agence de la Biomédecine a enregistré une activité record sur le site *dondemoelleosseuse.fr*. Si les collectes de sang ont été impactées, la grande majorité des inscriptions s'est traduite par l'envoi de kits salivaires. Cet appel aux dons a entraîné dans notre région une multiplication par 13 des envois de kits salivaires par notre centre donneur EFS-AURA (Auvergne Rhône-Alpes). Sur les 7381 demandes d'inscriptions de la période mars-avril, 43,2% des kits salivaires sont revenus, un pourcentage faible mais hélas attendu lors d'un tel appel aux dons. La maîtrise de la gestion des envois a été permise grâce à l'entraide entre les services EFS et les différents sites du centre DVMO.

Cet afflux a nécessité d'accroître considérablement les capacités de typage HLA des deux laboratoires en charge du séquençage des nouveaux inscrits (Grenoble et Saint-Étienne). Le nombre de typages a ainsi été multiplié par 2,3 sur le semestre avec des pics à x4,7 et x3,8 sur les mois de Juillet et Août respectivement. Cette augmentation d'activité a été notamment possible grâce à l'acquisition et validation de nouvelles méthodes d'extraction d'ADN et de typage HLA et la complémentarité des techniques à présent disponibles au laboratoire (extraction par QIAAsymphony® SP, typage par séquençage nouvelle génération par méthode Illumina NG-MIX multiloci EFS REACTIFS ou Nanotype 96/11™ WERFEN).

Si les objectifs quantitatifs annuels d'inscription de nouveaux donneurs sont déjà largement dépassés (objectif annuel rempli à 333% à fin août, cf Figure 1), la vigilance reste de mise concernant le profil de la population recrutée.

En effet, cet appel a mobilisé une grande majorité de femmes (74,9% des inscriptions EFS-AURA de la période mars-avril) avec un âge médian plus important (28,3 ans pour les inscriptions EFS-AURA de mars-avril versus 26 ans pour les inscriptions nationales 2025). Or, la littérature scientifique rappelle le besoin prioritaire de jeunes donneurs, en particulier des hommes, actuellement sous-représentés dans le fichier (alors qu'ils représentent les deux tiers des donneurs reconvoqués pour un prélèvement de moelle osseuse). Des actions de recrutement actif ont donc été poursuivies durant cette période pour rectifier cet équilibre.

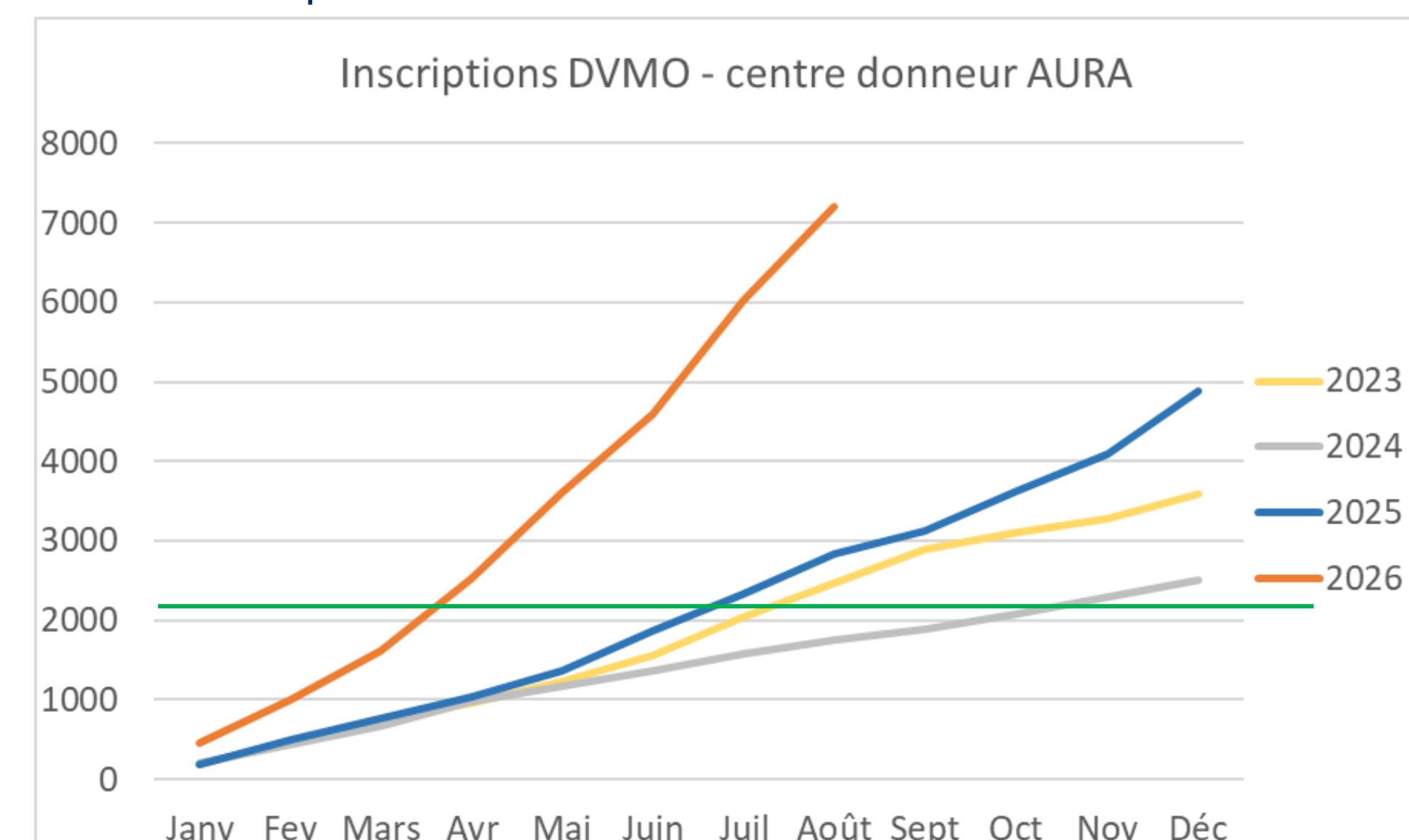


Figure 1 : évolution cumulée des inscriptions pour le centre DVMO EFS AURA. La ligne verte représente l'objectif 2026 (2160 inscriptions)

L'équipe a pris l'initiative de résumer cet appel au don au moyen d'une bande dessinée.



CONCLUSION

La gestion de cet épisode souligne la capacité d'adaptation des centres DVMO, tout en mettant en évidence la nécessité d'un retour d'expérience afin d'ajuster les capacités d'absorption de ces inscriptions (ressources humaines, communication, outils informatiques et logistiques, méthodes d'analyse adaptées, etc.).

Nous remercions les 4 sites du centre donneur EFS-AURA (Grenoble, Lyon, St-Etienne et Valence) pour leur travail considérable ainsi que les services venus prêter main forte.

Évaluation d'un algorithme automatisé (SAgA) pour l'interprétation des anticorps anti-HLA : une étude de concordance en conditions réelles comparée à l'analyse d'experts

C. Levée¹, P. Brossard¹, D. Ratiarison¹, P. Jamain¹, R. Ferru-Clément¹, N. Pignon¹, E. Sorin¹, T. Bourseau¹, C. Merigeault¹, R. Lhotte², J. Siemowski², J.-L. Taupin², I. Jollet¹

¹ Laboratoire HLA, EFS Nouvelle-Aquitaine — Poitiers | ² Laboratoire d'Immunologie et d'Histocompatibilité, Hôpital Saint-Louis, AP-HP — Paris



867

sérums consécutifs adressés pour SAB (sept.–nov. 2025)

408 / 459

SAB classe I / classe II analysés en routine

κ 0,88 – 0,98

concordance quasi parfaite avec l'expert (cl. I et II)

6 / 298 (2 %)

discordances DSA cliniquement pertinentes

jusqu'à 99 %

de gain de temps sur la validation experte

01 CONTEXTE & OBJECTIF

Le test SAB (*Single Antigen Bead*, **Luminex**) est la **méthode de référence pour la détection des anticorps anti-HLA**, mais son interprétation reste **complexe** : polymorphisme HLA, seuils de positivité non standardisés, **artéfacts (bruit de fond, effet prozone, antigènes dénaturés) et variabilité inter-observateurs** — particulièrement en classe II (locus DQ ou DP).

SAgA (Single Antigen Algorithm), développé au laboratoire HLA de l'hôpital Saint-Louis (Paris)^[1], applique des règles mathématiques prédéfinies aux valeurs de MFI pour attribuer automatiquement les spécificités, au niveau antigénique et du groupe sérologique.

Objectif : évaluer la concordance entre l'interprétation automatisée par SAgA et l'interprétation experte en condition de routine, ainsi qu'analyser les discordances (causes et impact clinique) et quantifier le gain de temps.

02 MATÉRIELS & MÉTHODES

- Étude **monocentrique (EFS Poitiers)** — tous les sérums consécutifs adressés pour SAB entre septembre et novembre 2025 (2 mois rétrospectifs + 1 mois prospectif).
- 867 sérums** : **408 SAB classe I** et **459 SAB classe II**. L'interprétation experte de routine validée par les biologistes HLA sert de référence.
- Kits LABScreen Single Antigen (One Lambda, Thermo Fisher)** : classe I (LS1A04) et classe II (LS2A01), analysés sur Luminex LABScan 200 ; données brutes interprétées avec le logiciel Fusion.
- Analyse indépendante des mêmes données brutes par SAgA**, paramètres non modifiés, seuil de positivité MFI ≥ 500 (anticorps et DSA).
- Seuils locaux : MFI < 500 négatif ; 500–1500 réactivité faible ; > 1500 positif. **Les DSA sont rapportés dès MFI ≥ 500.**^[5]
- Discordance** = toute différence dans la liste des spécificités attribuées (une seule spécificité manquante ou ajoutée suffit).
- Toutes les discordances revues par un panel de 3 biologistes HLA experts**, puis classées selon leur impact clinique (majeur / modéré / nul).
- Concordance quantifiée par le coefficient κ de Cohen.

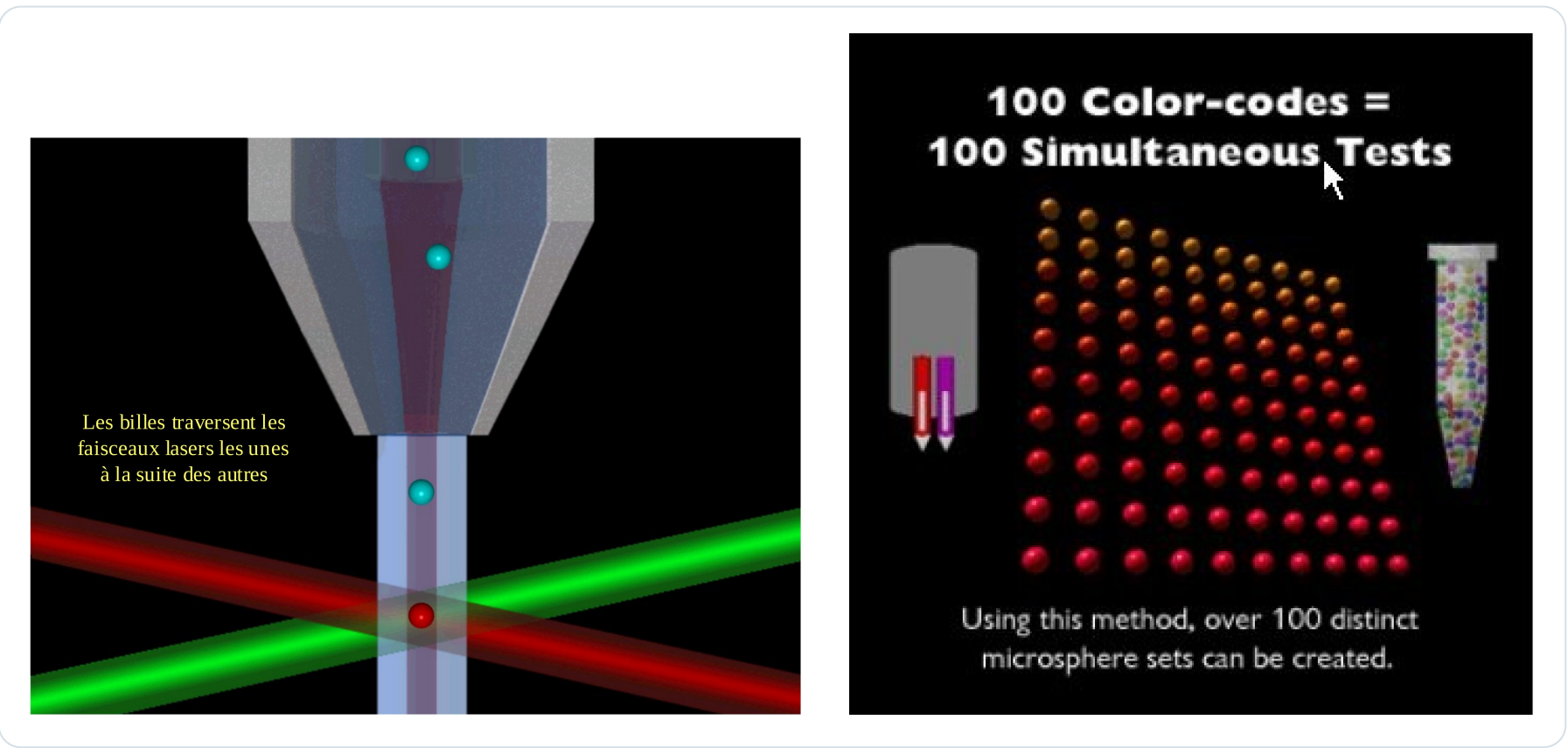


Figure 1. Principe de la technique Luminex : microsphères traversant les faisceaux lasers (gauche) et codage couleur permettant plus de 100 tests simultanés (droite).

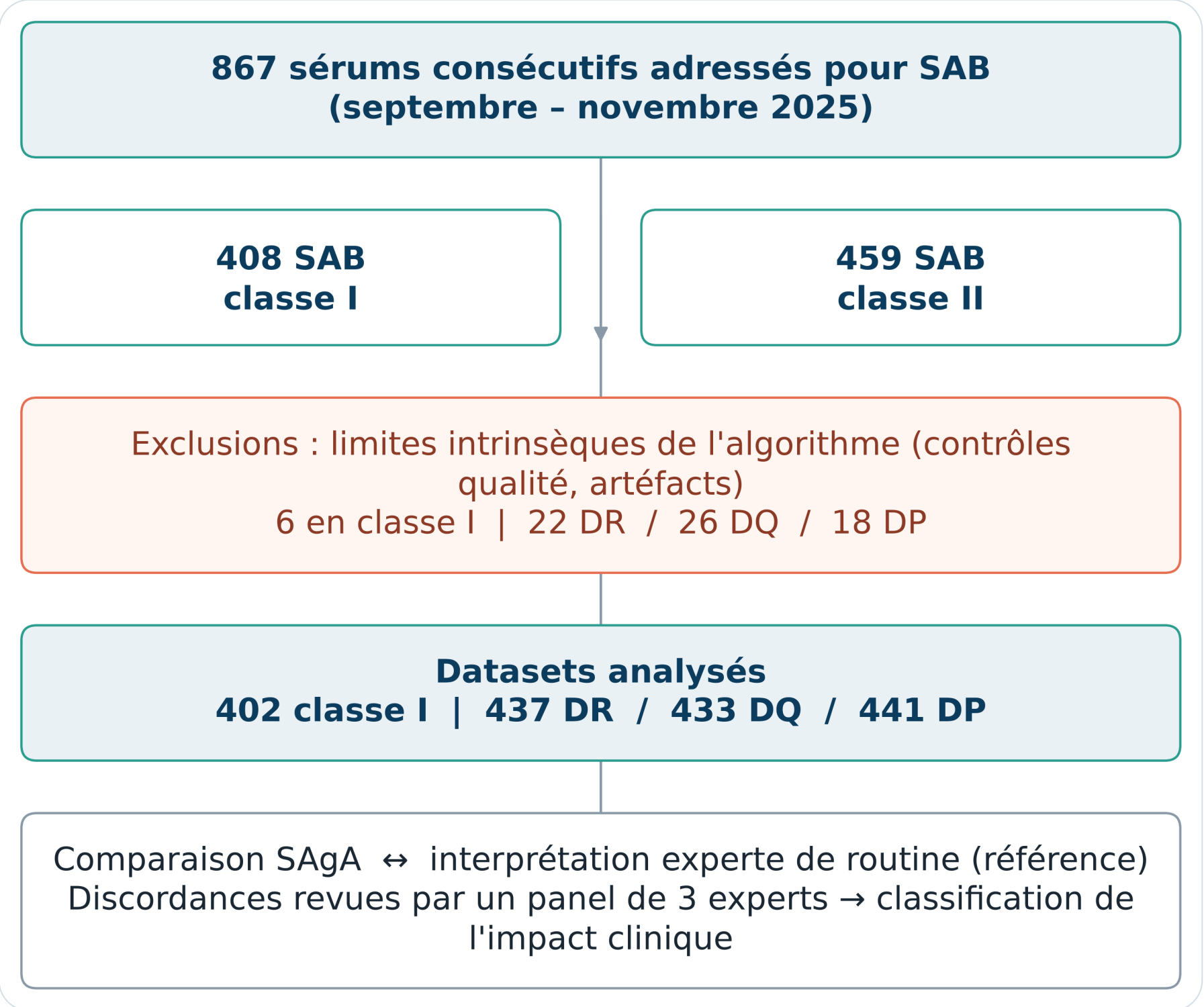


Figure 2. Design de l'étude et constitution des datasets analysés.

03 CLASSIFICATION DES DISCORDANCES

- Impact majeur** — erreur ou omission (SAgA ou expert) : spécificité manquée, attribution non étayée. Peut modifier la prise en charge (ex. DSA).
- Impact modéré** — différence de stratégie d'interprétation sans erreur (ex. bruit de fond) : impact limité sur la conclusion clinique.
- Impact nul** — approches analytiques différentes, conclusion identique : seuils de MFI, groupe sérologique + spécificité allélique, chaînes α/β DQ-DP, paramètres logiciels (ex. mode eplets).

04 CONCORDANCE GLOBALE

Concordance élevée après harmonisation des seuils et exclusion des limites intrinsèques de l'algorithme (contrôles qualité, artéfacts).

En classe II, l'analyse est locus-spécifique.

Locus	n	Accord observé	Accord attendu	κ de Cohen
Classe I — tous	402	94 %	50 %	0,88
Classe II — DR	437	99 %	66 %	0,98
Classe II — DQ	433	98 %	60 %	0,95
Classe II — DP	441	99 %	69 %	0,96

Tableau 1. Accord observé, accord attendu et κ de Cohen par locus.

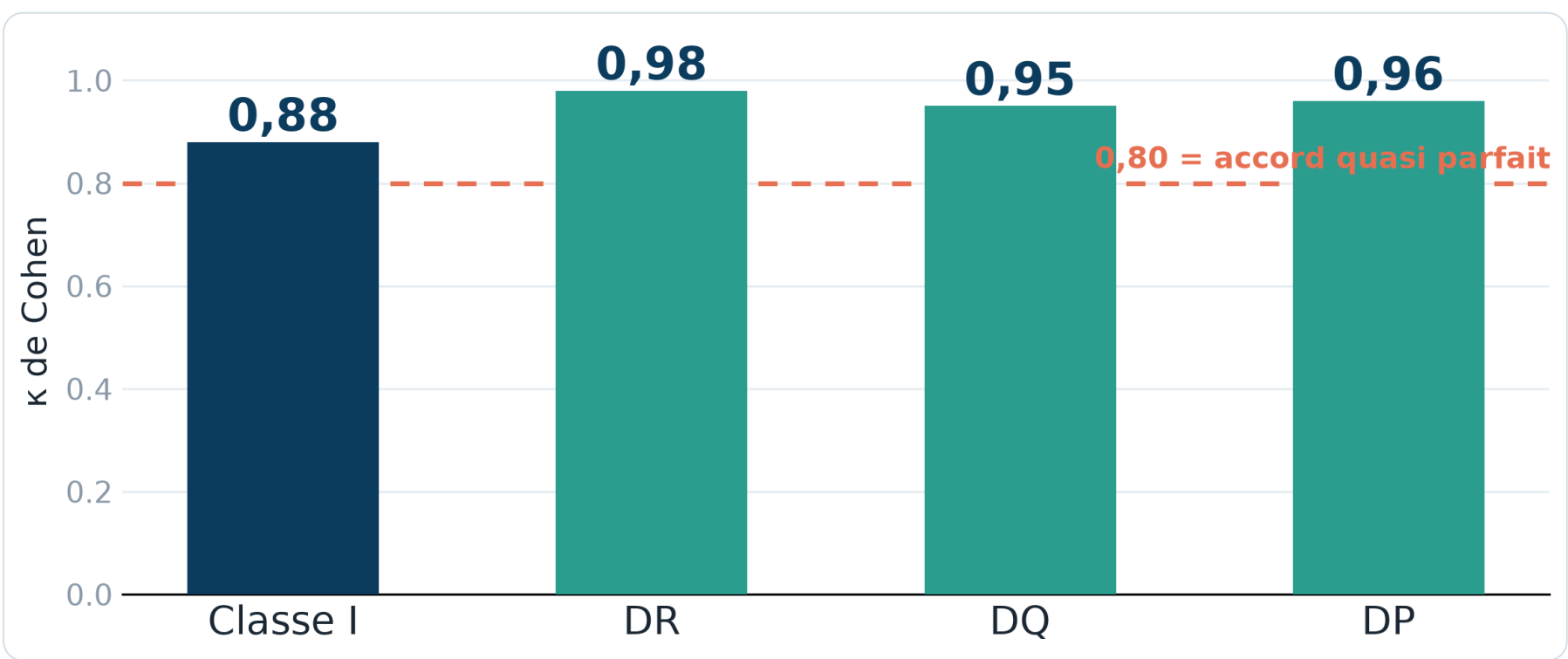


Figure 3. κ de Cohen par locus (classe I et classe II).

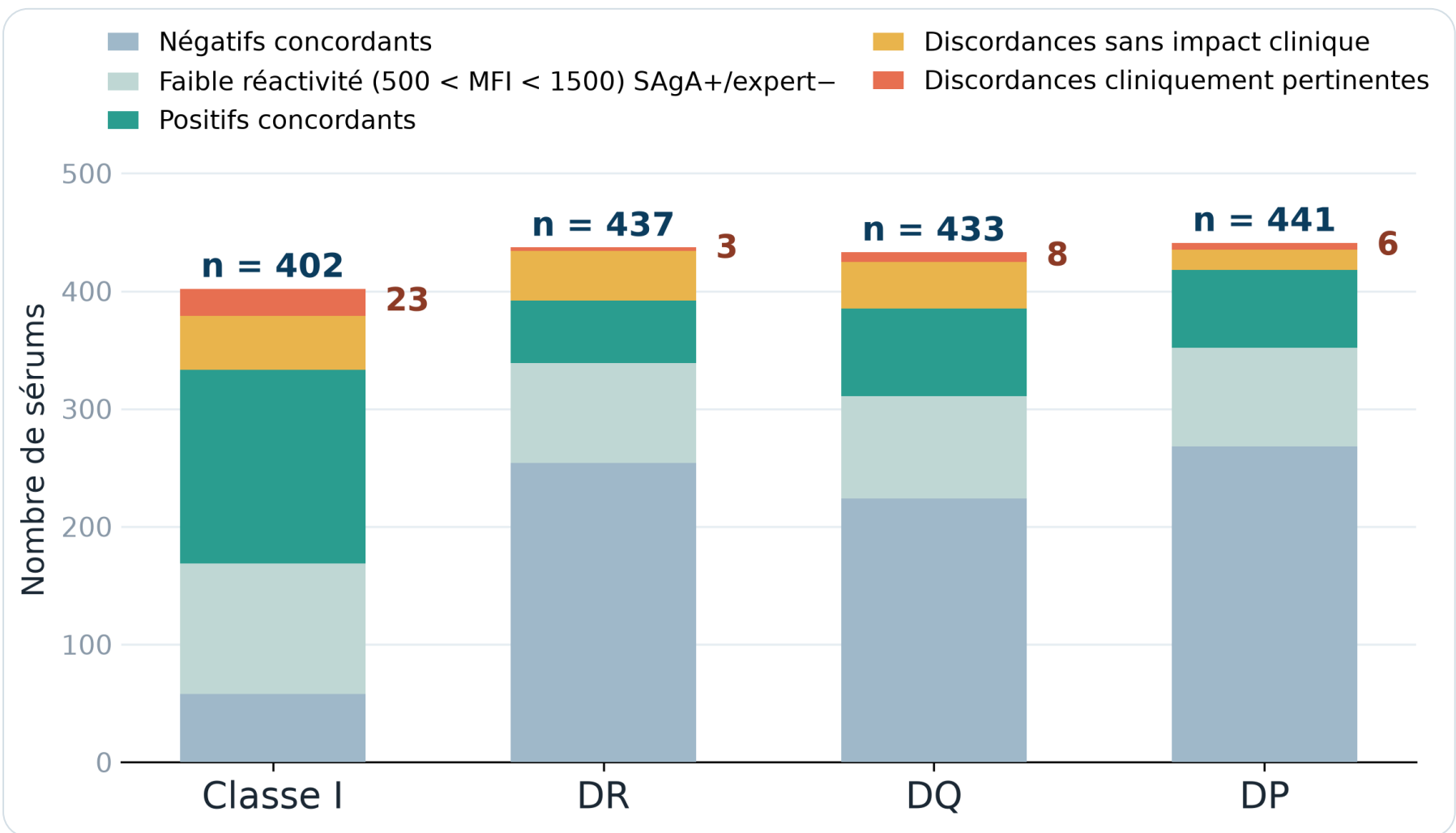


Figure 4. Distribution des sérums selon la concordance et l'impact clinique des discordances.

05 CAUSES DE DISCORDANCE

Classe I : 69 discordances sur 402 (17 %), dont 23 cliniquement pertinentes (5,7 %) ; 94,3 % des résultats sont concordants ou ne diffèrent que par le mode d'expression.

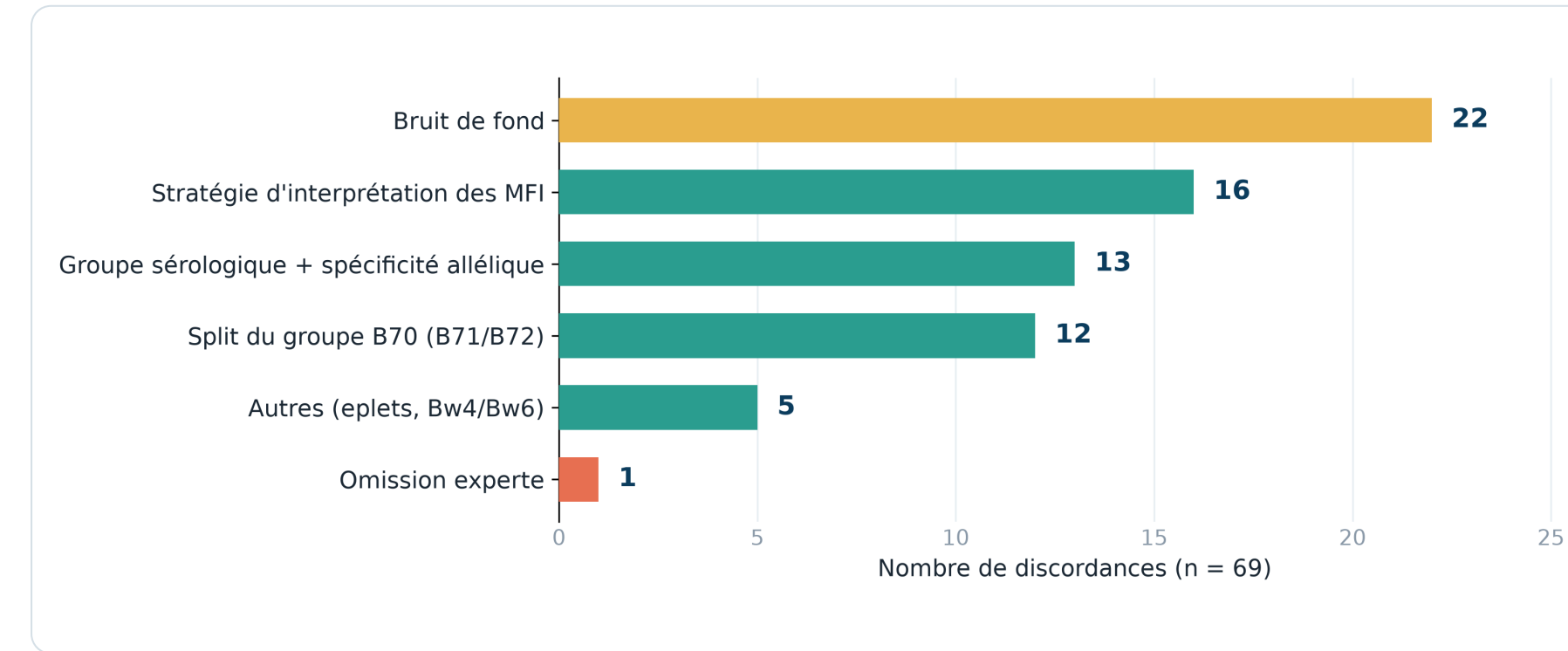


Figure 5. Causes de discordance en classe I (n = 69) et impact clinique.

Classe II : discordances principalement liées à la complexité biologique (chaînes α/β des molécules DQ et DP) et à des différences méthodologiques ; 17 discordances sur 407 sont cliniquement pertinentes.

Causes de discordance (sérums positifs)	DR (n = 98)	DQ (n = 122)	DP (n = 89)
Omission experte	2	4	1
Erreur d'attribution SAgA	0	4	3
Bruit de fond	1	0	2
Stratégie d'interprétation des MFI	13	11	5
Groupe sérologique + spécificité allélique	29	1	0
Interprétation des chaînes α/β	n/a	28	7
Profils de réactivité dissociés	0	0	5
Total discordances	45	48	23
Discordances cliniquement pertinentes	3 (3,1 %)	8 (6,6 %)	6 (6,7 %)

Tableau 2. Causes de discordance en classe II, par locus, et impact clinique. n/a : non applicable — la chaîne α du HLA-DR est monomorphe ou quasi-monomorphe, seule la chaîne β est polymorphe.

06 CONCORDANCE SUR LES DSA

Analyse restreinte aux DSA « certains » et « probables » chez les patients transplantés (298 paires donneur/receveur), représentant les situations cliniquement critiques.

- Classe I (n = 150)** : accord observé 99 %, κ = 0,97. Une seule discordance cliniquement pertinente : omission experte d'un anti-Cw8 de faible intensité (MFI 944).
- Classe II (n = 148)** : accord observé 97 %, κ = 0,92. Cinq discordances cliniquement pertinentes (2 omissions expertes, 3 erreurs SAgA), surtout en contexte de MFI saturantes ou d'interprétation des chaînes α/β.
- Au total** : **6 discordances cliniquement pertinentes sur 298 dossiers (soit 2 %)**, principalement en contexte de réactivité faible, d'autoréactivité ou d'artéfact lié aux billes.

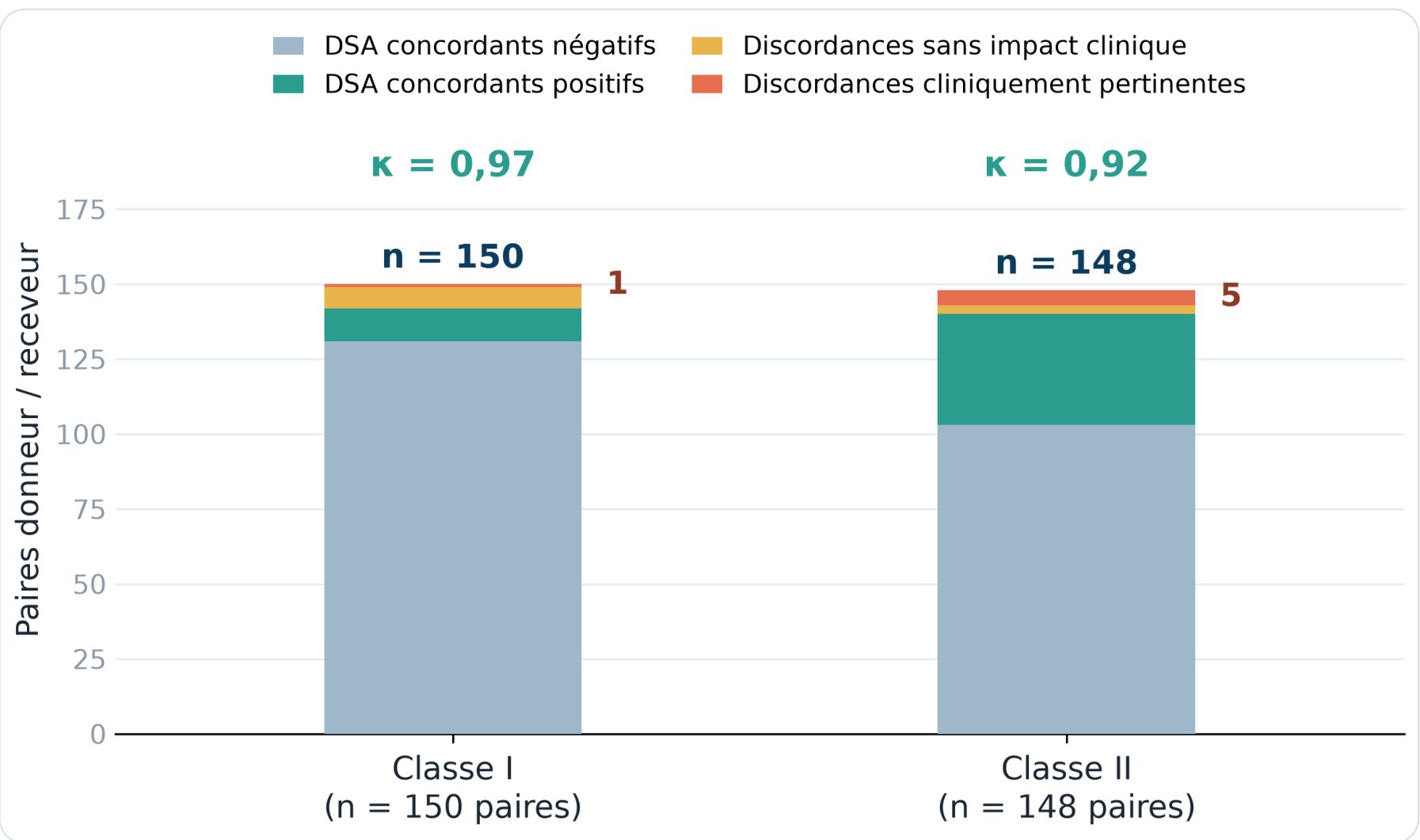


Figure 6. Concordance SAgA / expert pour la détection des DSA (classe I et classe II).

07 GAIN DE TEMPS

- Interprétation automatisée** : 102,8 s (1,7 min) pour 408 SAB classe I ; et 9 877,6 s (2 h 45) pour 459 SAB classe II.
- Validation experte** : 260 min en moyenne par série de 24 échantillons (96 min de validation technique + 164 min de validation biologique), soit ≈ 73 h 40 pour la classe I et ≈ 82 h 53 pour la classe II sur la période.
- Gain de temps : jusqu'à 99 % (classe I) et ≈ 97 % (classe II).**
- Comparaison indicative** : le temps SAgA ne couvre que l'étape d'interprétation automatisée, alors que la validation experte inclut la gestion des données (Fusion, Excel, INLOG), les contrôles qualité, l'intégration du contexte clinique et la validation du compte rendu.

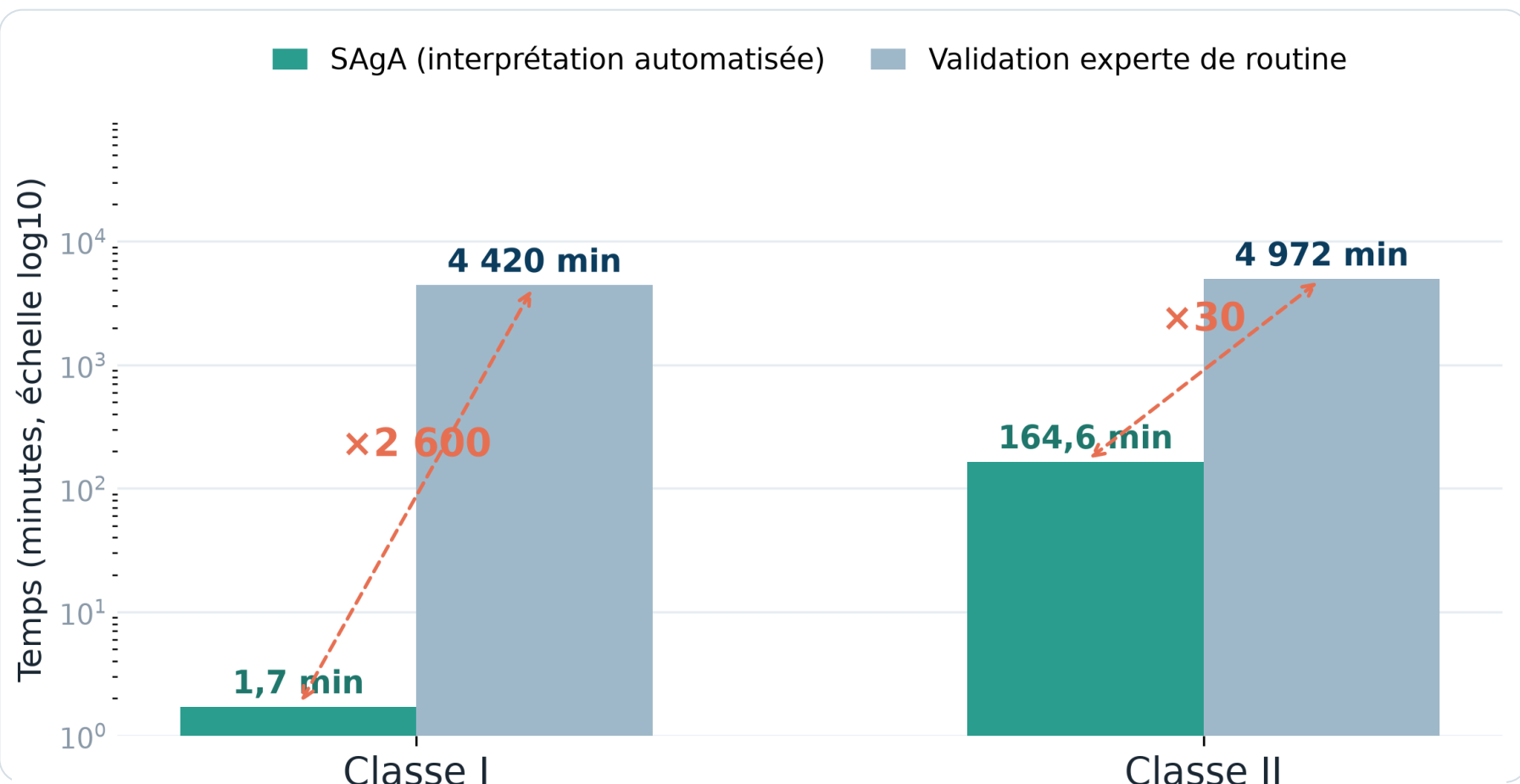


Figure 7. Temps d'interprétation SAgA vs validation experte (échelle logarithmique).

08 CONCLUSION & PERSPECTIVES

- SAgA** reproduit fidèlement l'interprétation experte de routine : concordance quasi parfaite (κ 0,88–0,98) et seulement 2 % de discordances cliniquement pertinentes pour les DSA.
- La majorité des discordances relève de différences méthodologiques et non d'une divergence de reconnaissance des anticorps ; lorsqu'elles sont caractérisées, l'avantage est souvent en faveur de SAgA (ex. spécificités omises lors de l'analyse manuelle).
- Le gain de temps majeur permet de recentrer l'expertise sur les cas complexes et cliniquement critiques.
- La validation biologique experte reste indispensable : profils complexes (spécificités HLA-DQ notamment)^[4], artéfacts et intégration du contexte clinique (suspicion de rejet, modifications des immunosuppresseurs, autres thérapeutiques — IVlg / rituximab / daratumumab).^[6]
- Perspectives** : étude multicentrique de plus grande envergure, exploitation des fonctionnalités eplets et du suivi longitudinal des MFI, intégration dans les chaînes logicielles existantes.

Références — 1. Lhotte R, et al. SAgA, a high throughput automated algorithm to optimize and standardize the interpretation of anti-HLA antibody single antigen profiles (soumis, HLA, 2026). 2. Wortley A, et al. J Clin Pathol. 2009;62(3):270-4. 3. Israeli M, et al. Transpl Immunol. 2015;32(1):1-8. 4. Tambur AR, et al. Kidney Int. 2021;100(5):1012-22. 5. Dubois V, et al. Recommandations SFHI / SFGM-TC. Bull. Cancer. 2021;108(12S):S45-S2. 6. BSHI / BTS UK guideline on the detection of alloantibodies in solid organ (and islet) transplantation, 2023.

Imlifidase en transplantation rénale : expérience rémoise

Chloé Reiter, Marianne Guirao, Julie Tirel, Héléne Thiery, Sandra Giusto, Priscilla Guiborat, Cynthia Arvois, Charlotte Colosio, Vincent Verdier, Grégory Salez, Marcelle Tonye Libyh, Thierry Tabary, Joana Vitte, Bach Nga Pham, Delphine Giusti, Grégory Gatouillat*

Laboratoire d'Immunologie et Histocompatibilité, Pôle de Biologie Médicale et Pathologie, CHU de Reims, Reims, France

*Auteur correspondant: ggatouillat@chu-reims.fr

Introduction : Les patients hyperimmunisés en attente de greffe rénale ayant un TGI très élevé (>98%) ont un mauvais accès à la greffe du fait de la persistance de leur immunisation anti-HLA. Depuis 2022, l'implifidase (IDEFIRIX®) est autorisée en France comme traitement de désimmunisation pré-greffe chez les patients répondant aux critères d'éligibilité.

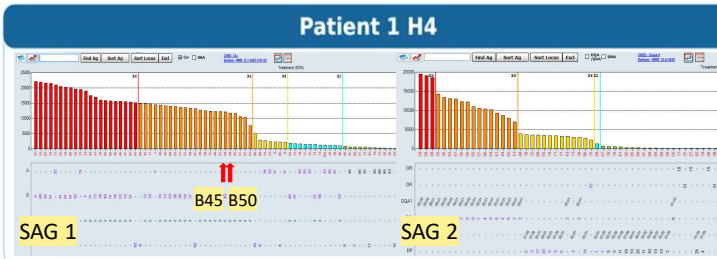
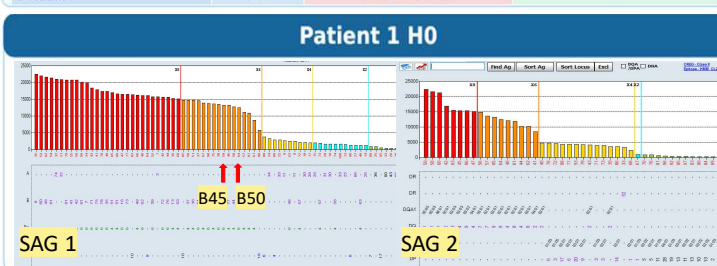
Nous rapportons les deux premiers cas de désimmunisation pré-transplantation rénale par implifidase au CHU de Reims.

Patients et Méthodes : Pour les 2 patients ont été réalisés le cross-match cellulaire (XM) en microlymphocytotoxicité (LCT) et en cytométrie en flux (CMF) et la recherche d'anticorps anti-HLA par single antigen (SAG) avant (H0) et après (H4) la perfusion d'implifidase.

Patient n°1 (Date 09/2024)

- Femme 32 ans
- Attente 2e greffe depuis septembre 2010
- DSA : B45, B50, Σ MFI = 27000 à H0.

		H0	H4
XM LCT	T	—	—
	B	—	—
XM CMF	T	+ R* = 73,5	—
	B	+ R = 22,6	—



Résultats patient n°1

Le XM LCT était négatif avant et après perfusion d'implifidase ainsi qu'avec celui prélevé 5h après. Cependant, le XM CMF et les SAG étaient fortement positifs, sans variation d'intensité observée entre les deux sérums. Le risque immunologique étant jugé trop élevé, la greffe n'a pas été réalisée. Des recherches ont démontré la présence d'anticorps neutralisant l'implifidase dans le sérum prélevé en amont de la greffe, démontrant ainsi la cause de l'inefficacité du traitement.

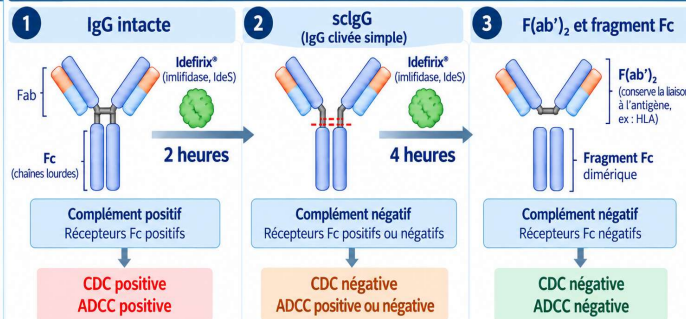
Conclusion

Ces 2 cas illustrent l'absence d'intérêt du XM par LCT dans la prise de décision de greffer par manque de sensibilité. A l'inverse, le XM CMF et le suivi des DSA par single antigen réalisés en urgence pré-greffe sont informatifs dans le cadre des protocoles de désimmunisation par implifidase. Le cas du patient 1 soulève la question de la recherche des anticorps anti-implifidase comme critère d'éligibilité à la désimmunisation par implifidase afin d'identifier précocement une probable non-réponse au traitement.

Critères d'éligibilité

- ≤ 65 ans
- TGI ≥ 98%
- Délai d'attente de 3 ans minimum
- Nombre de greffes antérieures ≤ 2
- Biopsie possible → faible risque de complication
- Immunoadsorption par le centre greffeur possible
- Greffe ABO compatible
- Patient informé
- Au moins 1 DSA A/B/DR/DQ avec MFI > 6000 qui devient < 5000 après dilution 1/10e

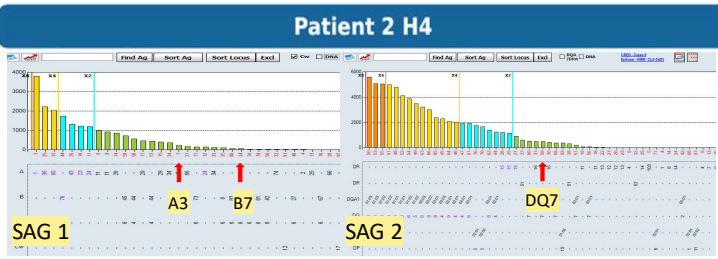
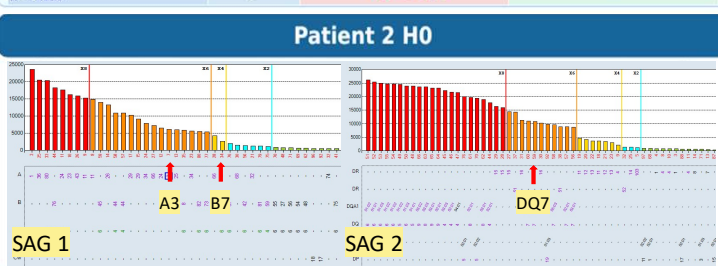
Idefirix® (implifidase) - Mécanisme d'action



Patient n°2 (Date 05/2026)

- Homme 48 ans
- Attente 2e greffe depuis septembre 2021
- DSA : A3, DQ7, Σ MFI = 19000 à H0.

		H0	H4
XM LCT	T	—	—
	B	—	—
XM CMF	T	+ R = 3,7	—
	B	+ R = 12,6	—



Résultats patient n°2

Le XM LCT était négatif avec le sérum prélevé avant désimmunisation ainsi qu'avec celui prélevé 4h après. Le XM CMF était positif avec le sérum prélevé avant la perfusion d'implifidase et négatif 4h après. Les SAG ont permis d'objectiver la négativation des DSA. Malgré un fort rebond des DSA à J40 à l'origine d'un rejet aigu humoral, le greffon reste fonctionnel à 4 mois.

Intérêt de la compatibilité C3d dans la sélection des concentrés plaquettaires d'aphérèse chez les patients ayant un état réfractaire lié à une allo-immunisation anti-HLA de classe I : impact sur le rendement transfusionnel et le choix du produit

Anna VISCOGLIOSI (1), Valérie DUBOIS (1), Sarah HAMADA (1), Caroline BAUD (2), Marion FRANCOIS (2), Margot LEPAGE (2)

(1) Laboratoire HLA, Etablissement Français du Sang, Décines, France.
(2) Laboratoire Immunohématologie, Etablissement Français du Sang, Lyon, France.

CONTEXTE

L'allo-immunisation anti-HLA de classe I constitue la **principale cause immunologique** des états réfractaires plaquettaires (ERP), limitant grandement l'efficacité des transfusions de concentrés plaquettaires (CP)¹.

La caractérisation conventionnelle des anticorps anti-HLA repose sur la technologie **IgG Single Antigen Bead (SAB)** évaluée par la Median Fluorescence Intensity (MFI). Néanmoins, la MFI ne reflète pas directement les propriétés fonctionnelles et cytotoxiques des anticorps.

L'évaluation de la capacité à fixer le complément via le test **SAB-C3d** pourrait constituer un critère fonctionnel complémentaire novateur pour optimiser le choix des CP HLA compatibles.

OBJECTIFS

- Évaluer l'impact de la compatibilité estimée par le test **SAB-C3d** sur le rendement transfusionnel plaquettaire (CCI)
- Comparer l'intérêt du **statut C3d** par rapport à différents seuils de MFI (2000, 5000, 10000 et >10000) en **SAB-IgG** pour la sélection des CPA HLA compatibles

MATERIEL & METHODE

Design : étude rétrospective monocentrique menée aux Hospices Civils de Lyon (07/08/2024 au 26/06/2026)

Population : 8 patients en ERP avec allo-immunisation anti-HLA de classe I

Analyse des CPA HLA : 106 CPA HLA transfusés classés selon le statut C3d du sérum du patient vis-à-vis des antigènes HLA du donneur :

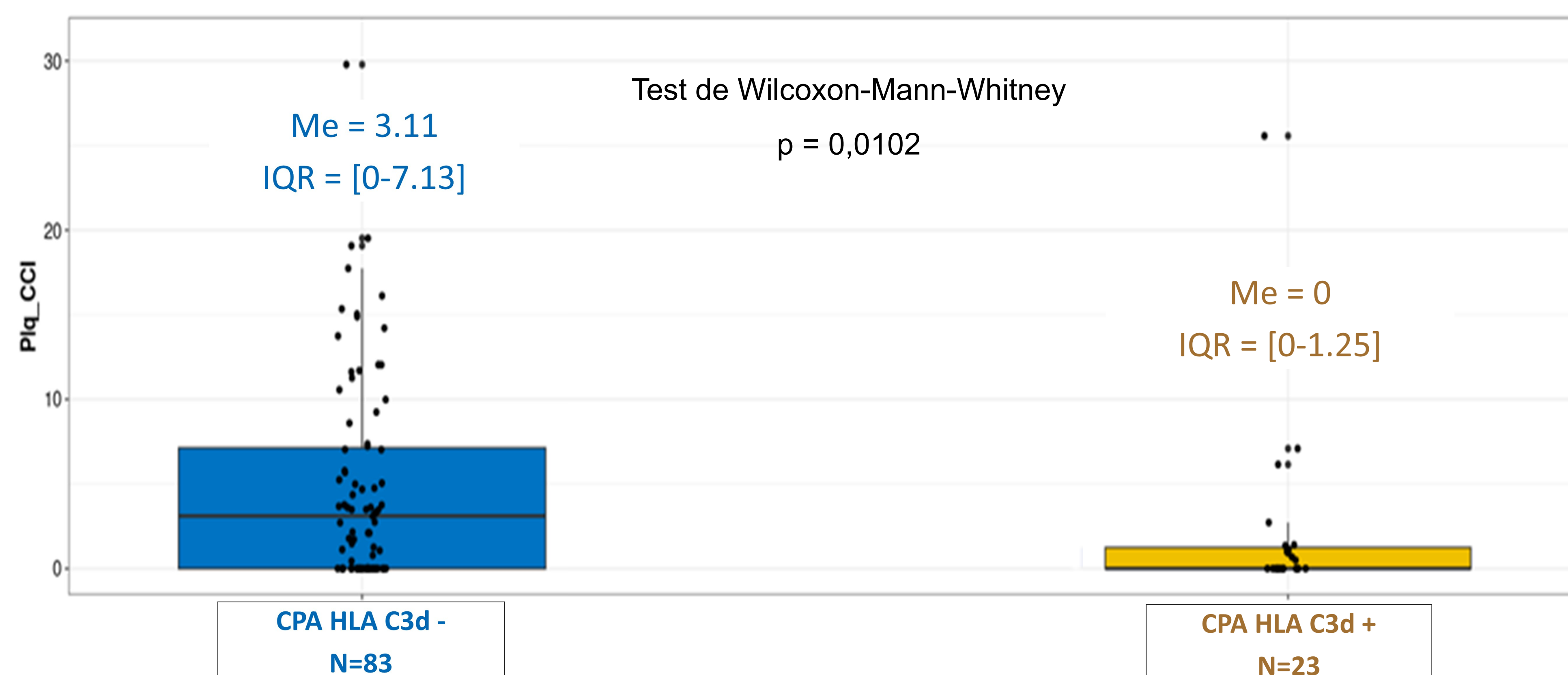
- CPA HLA C3d- : négatifs pour la fixation du complément
- CPA HLA C3d+ : positifs pour la fixation du complément

Critères d'évaluation :

- Délai de contrôle numéraire post-transfusionnel
- Rendement transfusionnel évalué par le Corrected Count Increment (CCI)

Statistiques : tests non paramétriques appliqués (distributions non normales)

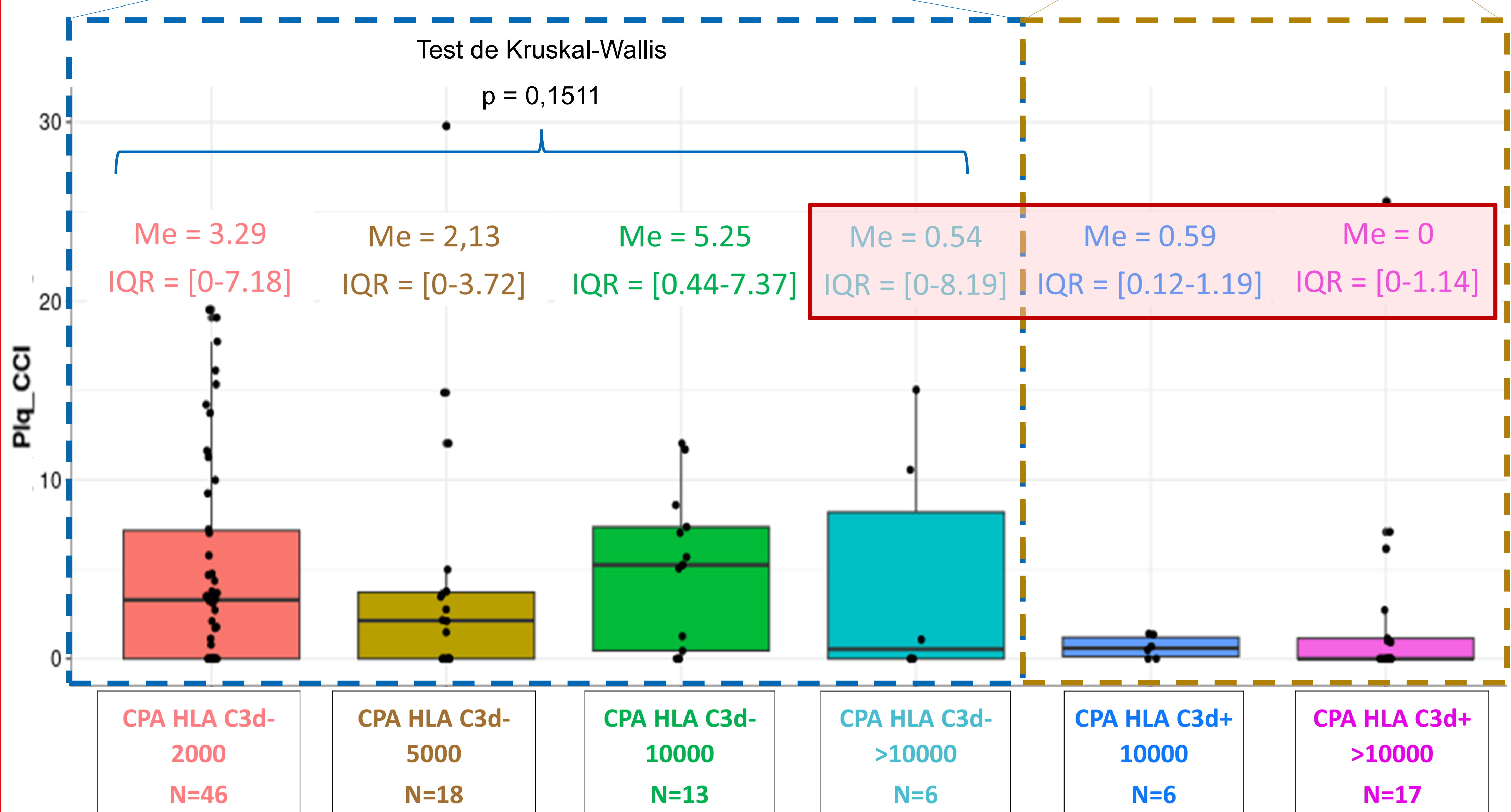
RESULTS



Différence significative de la CCI en faveur du groupe CPA HLA C3d- (p=0,0102)

Dans le bras CPA HLA C3d-, absence de différence significative de la CCI entre les 4 sous-groupes de MFI (p=0,1511)

MAIS



• **Chute du CCI** : dans le bras CPA HLA C3d- effondrement de la médiane observée uniquement au-delà de 10000 MFI (médiane similaire au bras C3d+)

• **Proposition** : rehaussement du seuil d'éviction des anticorps anti-HLA de 5000 à 10000 MFI en IgG-SAB

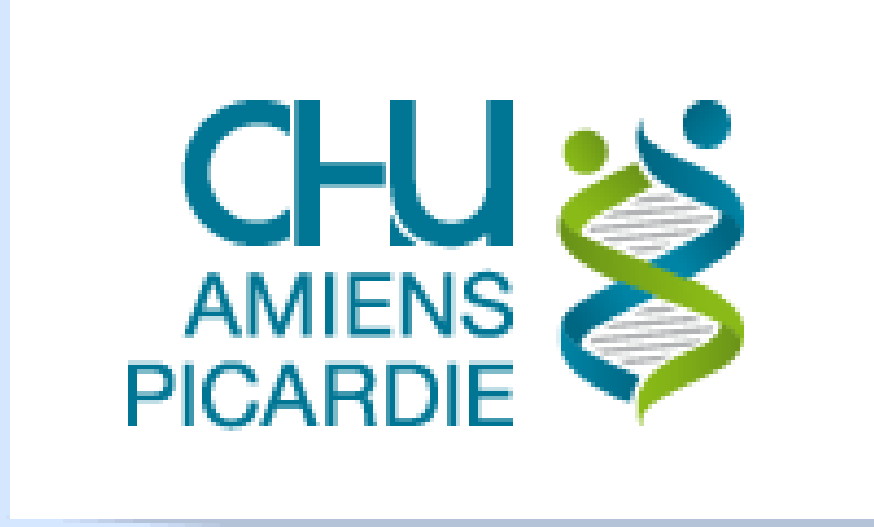
• **Condition** : test C3d-SAB négatif pour ces spécificités

DISCUSSION & CONCLUSION

- La transfusion de CPA HLA C3d- améliore significativement le rendement transfusionnel (CCI) par rapport aux CPA HLA C3d+
- Un seuil d'éviction des anticorps anti-HLA fixé à 10000 MFI en SAB-IgG pourrait être retenu, sous réserve d'un statut C3d- objectivé
- L'intégration du SAB-C3d dans la stratégie de sélection des CPA HLA constitue une approche prometteuse pour dépasser l'impasse transfusionnelle chez les patients en ERP

HLA/Maladies: Etude des gènes HLA-B et HLA-C dans une cohorte de Rhumatisme psoriasique

Antoine DENORME¹, Sylvie DESMONS², Vincent GOEB¹, Nicolas GUILLAUME².



¹Rhumatologie, ²Immunogénétique/HLA
Centre Hospitalier Universitaire, AMIENS
UPJV, AMIENS



INTRODUCTION

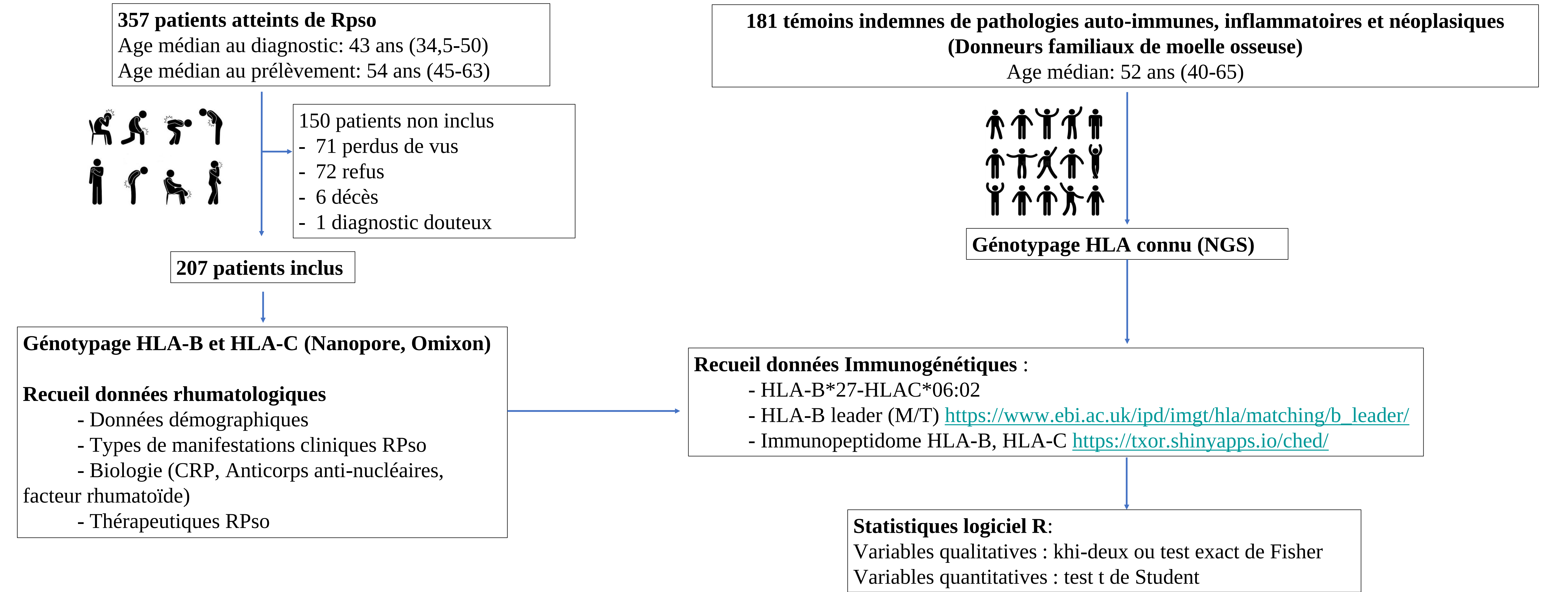
Associant des atteintes articulaires et cutanées, le **rhumatisme psoriasique (RPso)** est un rhumatisme inflammatoire chronique qui fait partie du groupe des spondyloarthrites. Il touche 0,11% de la population générale. Les zones les plus touchées par le psoriasis sont la peau, les ongles, le cuir chevelu et parfois les muqueuses. Les atteintes articulaires peuvent être axiales chez 50% des patients (rachis et articulations sacro-iliaques) et/ou périphériques chez 95% des patients (arthrite, dactylite, enthésite,..).

La physiopathologie du RPso repose sur l’interaction de facteurs environnementaux, immunologiques et génétiques. Parmi ces derniers, le système HLA joue un rôle important, notamment avec les gènes **HLA-B*27** (gène de susceptibilité aux spondyloarthrites) et **HLA-C*06:02** (gène de susceptibilité au psoriasis).

Les objectifs de cette étude sont d’étudier les associations entre :

- Les gènes HLA-B*27, HLA-C*06:02 et par extension le statut HLA-B leader, divergence HLA (HED) HLA-B et HLA-C
- Les caractéristiques cliniques, biologiques, radiographiques et thérapeutique du RPso.

METHODES



RESULTATS

Chez les patients RPso:
Les allèles HLA-B*27 et HLA-C*06:02 sont significativement plus présentes
L’HED HLA-B est plus élevée

Variables	Catégories	207 Patients n (%)	181 Témoins n (%)	p
HLA-B*27	Présent	47 (22,7%)	9 (5%)	1,5.10 ⁻⁶
HLA-C*06:02	Présent	60 (30,1%)	31 (17,1%)	0,0042
HLA-B leader	MM	11 (5,3%)	17 (9,4%)	ns
	MT	82 (39,6%)	61 (33,7%)	
	TT	114 (55,1%)	103 (56,9%)	
HED HLA-B	Moyenne +/- ET	8,90 +/- 2,52	8+/- 2,60	0,00072
HED HLA-C	Moyenne +/- ET	4,99 +/- 1,60	5,11 +/- 1,66	ns

Les allèles HLA-B*27 et HLA-C*06:02 sont reliées à des sous-groupes cliniques de RPso

Sous groupes cliniques d’intérêt	Variables	p
Sacro-iliite IRM	HLA-B*27 présent	8,4.10 ⁻⁵
Sacro-iliite radiographique	HLA-B*27 présent	0,04
Arthrite	HLA-C*06:02 présent	0,001
Atteinte cuir chevelu	HLA-B leader MT	0,03

Mais l’analyse immunogénétique HLA-B et HLA-C n’apporte aucun élément discriminant dans de nombreuses catégories cliniques RPso

Sous groupes cliniques décevants	
Formes cliniques articulaires: ténosynovite, enthésopathie, dactylite, syndesmophytes	Absence de liens HLA / maladies
Formes cliniques psoriasis : unguéal, interfessier	
Co-occurrence HLA-B*27 et HLA-C*06:02	
Syndrome inflammatoire (CRP)	
Réponse thérapeutique (anti-TNF/Anti-IL17/Méthotrexate)	

CONCLUSION

Nos résultats confirment l’association HLA-B*27 ou HLA-C*06:02 pour le RPso sans co-expression de ces 2 gènes.

Certaines présentations cliniques sont plus représentées selon le gène incriminé:

Sacro-iliite pour HLA-B*27, atteintes du cuir chevelu pour HLA-B leader MT et arthrite pour HLA-C*06:02.

Ces données ainsi que des valeurs d’HED HLA-B plus élevées pour les patients RPso ouvrent la voie à des études complémentaires explorant notamment la présentation peptidique par ces molécules HLA.

Une paire d'eplets Self-Self proposée par le package epletPairFinder pour expliquer une réactivité anti-HLA : à propos d'un cas

Mariam Maaloul (1), Nadia Mahfoudh (1), Imen Daoud (1), Aida Charfi (1), Sirine Louati (1), Lilia Gaddour (1), Faiza Hakim (1), Ines Kamoun (1), Fadia Oualha (1), Dhouha Ben Abdallah (1), Mondher Masmoudi (2), Soumaya Yaich (2), Khawla Kamoun (2), Arwa Kamoun (1)

(1): Laboratoire d'Immunologie et d'Histocompatibilité, CHU Hedi Chaker, Sfax, Tunisie

(2) : Service de Néphrologie, CHU Hedi Chaker, Sfax, Tunisie

Introduction :

- L'identification des épitopes HLA impliqués dans la réactivité des anticorps anti-HLA constitue un enjeu important en immunologie de transplantation.
- HLAMatchmaker: permet d'identifier les eplets susceptibles d'expliquer une réactivité anti-HLA par:
 - exclusion des eplets du soi
 - Recherche des eplets partagés par les antigènes HLA réactifs et absents des antigènes non réactifs.
- Toutefois, certaines réactivités restent inexpliquées.
- Pour explorer ces situations, notre laboratoire a développé epletPairFinder (<https://github.com/arwakamoun/epletPairFinder>), un package permettant d'identifier des paires d'eplets Self/Non-Self et Self/Self.
- Nous rapportons un cas de réactivité anti-HLA pour lequel une **paire Self/Self** a été identifiée.

Matériel et méthodes :

Chez une patiente polytransfusée candidate à une transplantation rénale:

- les anticorps anti-HLA de classe I ont été identifiés par LABScreen Single Antigen (LSA1, One Lambda).
 - L'analyse de la réactivité épitopique a été réalisée avec EpVix (EpVix.com.br)
 - Le calcul de la charge épitopique a été fait avec le Mismatch Calculator du HLA-Eplet Registry
 - La recherche de paires d'eplets a été réalisée avec epletPairFinder
 - La visualisation structurale avec pHLA3D.
- Seuls les eplets exposés à la surface moléculaire et distants de $\leq 15\text{\AA}$ ont été retenus.

Résultats :

- Le typage HLA: A*03:01, A*26:01, B*07:02, B*27:02
- Parmi les 36 billes positives (MFI ≥ 1000), A*34:02 (MFI = 6800) ne pouvait être expliqué par aucun eplet du non-soi.

Cutoff	1000	Ver
ALELO / SEROTYPE (BETA) *	MFI	ÉPI TOPOS
A*68:02 (A-6801)	8.027	12M [127K] [144TKH] [145KHA] 151AHV 245V
A*34:02 (A-3402)	6.841	
A*68:01 (A-6801)	5.871	97M [127K] [144TKH] [145KHA] 151AHV 245V
A*34:01 (A-3401)	5.813	65RK 66K 66KA
A*33:03 (A-3303)	5.553	9T [73ID] 97M
A*69:01 (A69)	4.346	95V [107W] [127K] [144TKH] [145KHA] 151AHV
A*33:01 (A-3301)	3.449	9T [73ID] 97M 170RH 186R

Figure 1: analyse de la réactivité épitopique pour l'allèle A*34:02 par Epvix

- Eplets noirs : eplets inacceptables, présents sur au moins un allèle HLA présentant une réactivité positive et absents des allèles dont la MFI est inférieure au cut-off.
- Eplets bleus : eplets présents sur au moins un allèle HLA présentant une réactivité positive et sur au moins un allèle HLA dont la MFI est inférieure au cut-off.
- Les eplets connus associés à A*34:02 étaient tous associés aux allèles **A*03:01** et/ou **A*26:01**, ce qui a été confirmé par le Mismatch Calculator.
- La réactivité anti-A34:02 ne pouvait pas être expliquée par un eplet du non-soi.

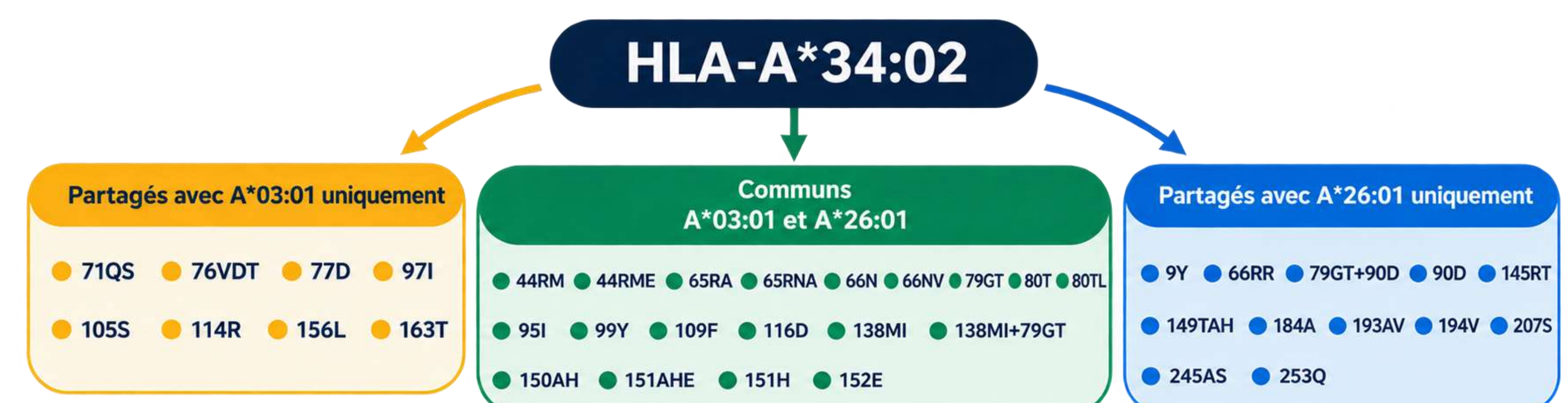


Figure2 : Eplets associés à HLA-A*34:02 partagés avec A*03:01 et/ou A*26:01

- EpletPairFinder a identifié la paire **62RR + 163T**, distante de $< 15\text{\AA}$. La paire 62RR+163T pourrait constituer un nouveau eplet susceptible d'expliquer la réactivité observée.

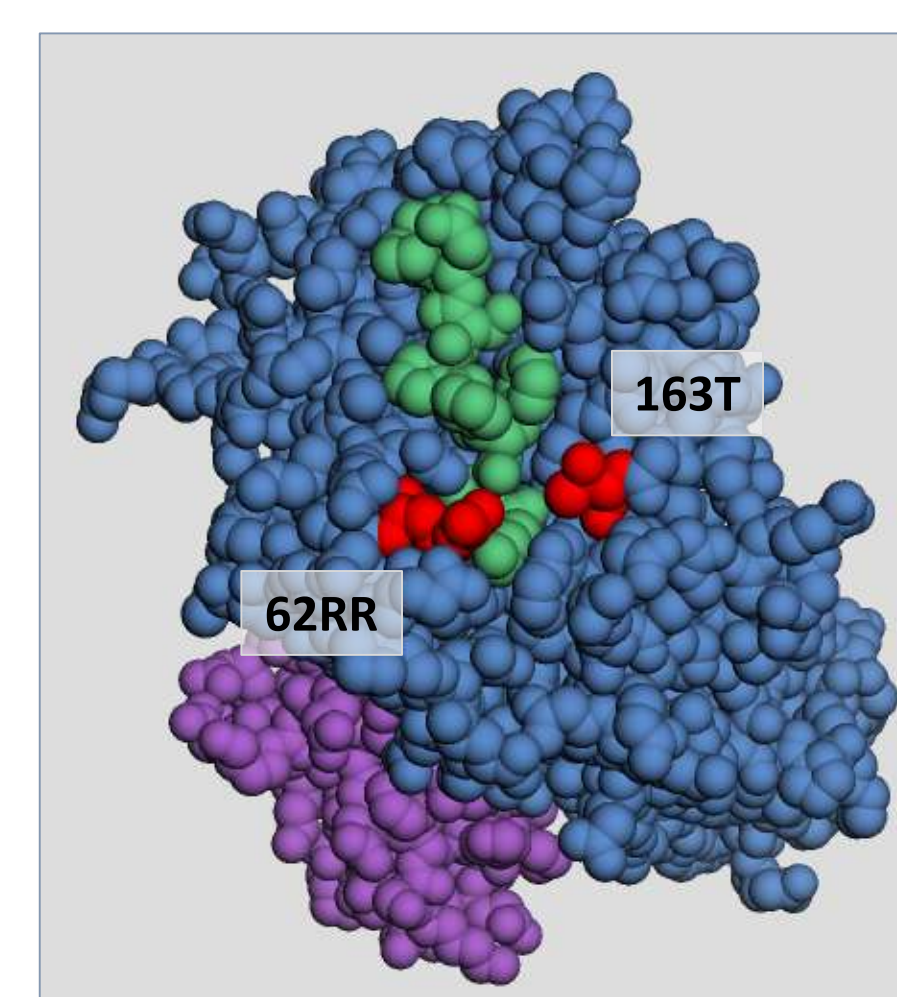


Figure 3 : Localisation des eplets 62 RR et 163T (en rouge) sur la molécule HLA de A*34:02 avec une distance de $13,8\text{\AA}$ (chaîne α en bleu, chaîne β 2-microglobuline en violet et le peptide lié à la molécule HLA en vert)

- Les allèles **HLA-A*33:01**, **A*33:03**, **A*34:01**, **A*68:01**, **A*68:02** et **A*69:01** présentaient une réactivité en Single Antigen (figure 1). Leurs antigènes partageaient la même paire d'eplets (62RR+163T), suggérant que cette paire pourrait contribuer à expliquer la réactivité observée.

Conclusion :

- La plupart des eplets HLA exposés sont déjà identifiés.
- Cependant, certains profils d'immunisation anti-HLA restent non résolus:
 - absence d'eplet identifié
 - eplets partagés entre des antigènes réactifs et non réactifs
 - présence de plusieurs eplets susceptibles de contribuer à une même immunisation.
- L'analyse des eplets en approche Self-non-self ou Self-Self constitue une approche complémentaire pour explorer et affiner l'interprétation de ces réactivités anti-HLA.
- L'identification de paires d'eplets et leurs enregistrement dans "HLA Eplet Registry" permettrait de :
 - mieux caractériser la cible épitopique des Ac anti-HLA
 - mieux apprécier la charge épitopique.
- Notre cas illustre l'intérêt de cette analyse complémentaire : HLA-A*34:02, un mismatch avec une charge épitopique nulle, était la cible d'une immunisation chez une patiente polytransfusée.
 - l'analyse Self-Self a identifié comme cible une paire de deux eplets du soi, présents séparément sur deux antigènes HLA du soi mais réunis sur HLA-A*34:02.
 - les antigènes HLA-A portant cette même paire d'eplets étaient réactifs en Single Antigen.
 - Ces résultats suggèrent que l'association de deux eplets, plutôt que leur présence individuelle, pourrait expliquer la réactivité anticorps observée.

Évolution du nombre des donneurs familiaux HLA-compatible dans le Sud tunisien: étude rétrospective 2009–2025

Imen Daoud¹, Aida Charfi¹, Mariam Maaloul¹, Sirine Louati¹, Feiza Hakim¹, Lilia Gaddour¹, Ines Kammoun¹, Dhouha Ben Abdallah¹, Fedia Walha¹, Bakhta Kammoun¹, Arwa Kamoun¹, Nadia Mahfoudh¹, Moez Elloumi²

1.Laboratoire d'immunologie, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

2.Service d'hématologie clinique, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Introduction :

- ❖ La greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques (allo-CSH) constitue un traitement potentiellement curatif de nombreuses hémopathies malignes et non malignes.
- ❖ Le donneur familial HLA-identique reste une source privilégiée de CSH.

Objectif :

➡ Évaluer l'évolution du nombre de donneurs apparentés potentiels au cours du temps et son association avec la probabilité d'identifier un donneur HLA-compatible.

Matériel et méthodes :

- ❖ Nous avons réalisé une étude rétrospective incluant les familles typées dans le cadre d'une recherche de donneur compatible pour une greffe allo-CSH entre 2009 et 2025.
- ❖ Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R.

Résultats :

- ❖ Au total, 1006 receveurs et 3775 donneurs apparentés potentiels ont été inclus, soit une moyenne de 3,75 donneurs par receveur (extrêmes : 1–12).
- ❖ Une diminution significative du nombre de donneurs apparentés potentiels a été observée au cours du temps, avec un coefficient de régression de $-0,104$ ($p < 0,001$), correspondant à une diminution moyenne de 0,1 donneur par année.

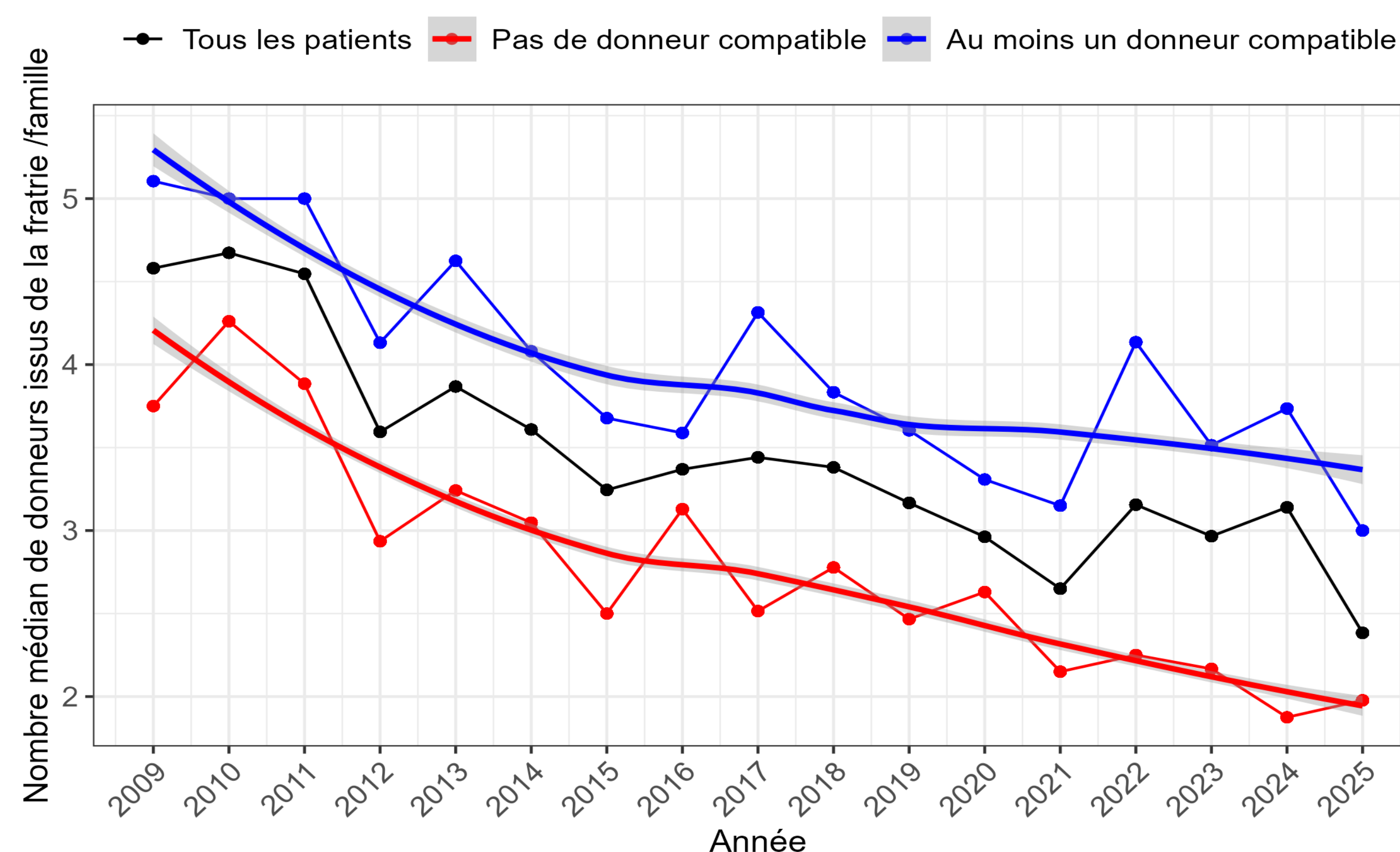


Figure 1: Evolution du nombre de donneurs apparentés potentiels dans le temps

- ❖ Parmi les 1006 receveurs, 558 (55%) disposaient d'au moins un donneur HLA-compatible.
- ❖ La probabilité d'identifier un donneur compatible était significativement associée au nombre de donneurs apparentés potentiels ($p < 0,001$):
 - ✓ Le nombre médian de donneurs était de 4,0 [IQR: 2,0–5,0] chez les receveurs disposant d'un donneur compatible, contre 3,0 [IQR: 2,0–4,0] chez ceux sans donneur compatible.

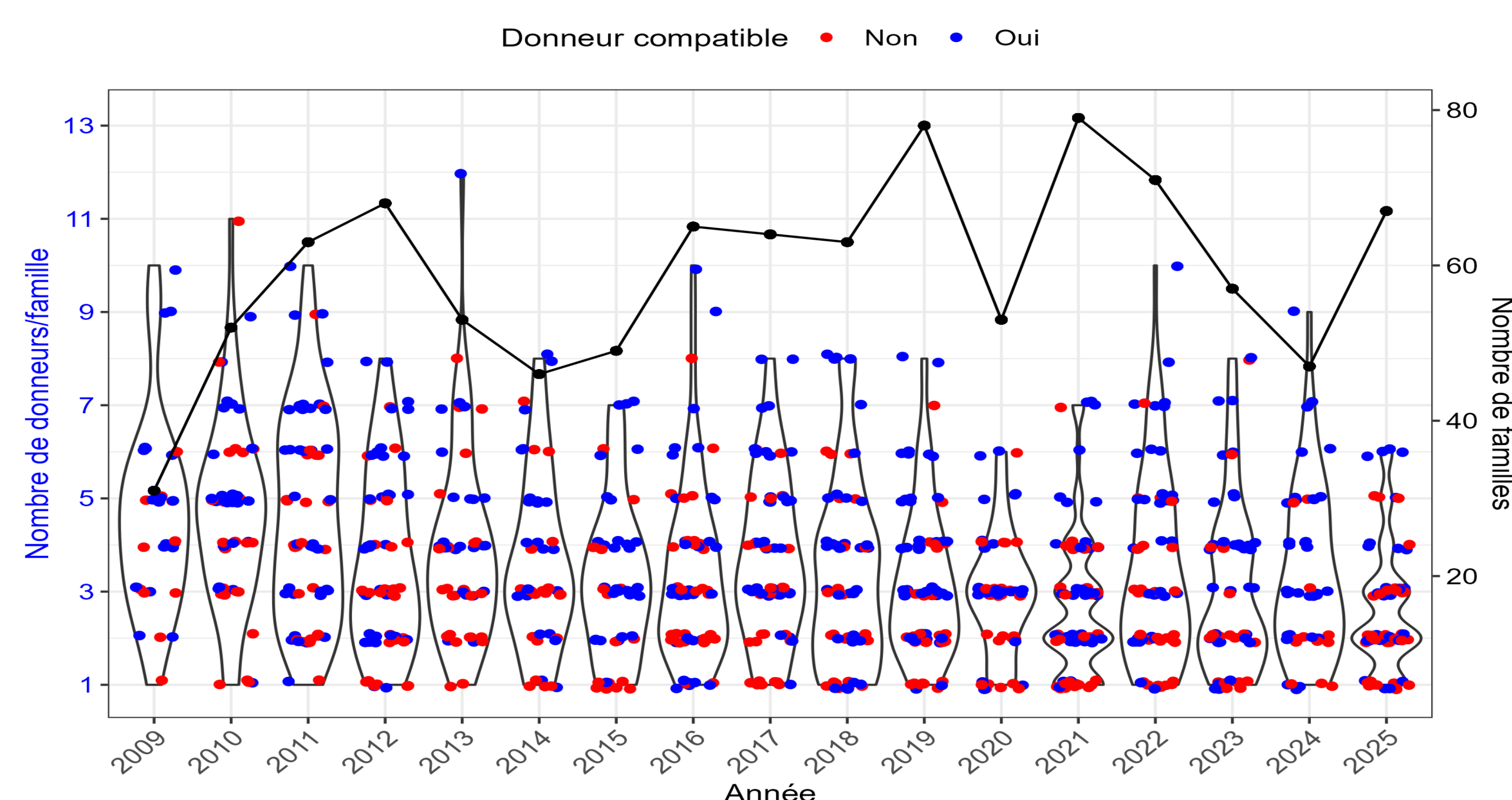


Figure 2 : Association entre La probabilité d'identifier un donneur compatible et le nombre de donneurs apparentés potentiels

Discussion

- ❖ Dans les populations européennes, les études estiment à environ 30 % la probabilité qu'un patient trouve un donneur frère ou sœur HLA-identique (Kelsey Besse et al ; 2016). Dans notre population, cette probabilité est plus élevée (55 %)
- ❖ La diminution progressive de la disponibilité des donneurs apparentés au cours du temps peut être expliquée par la réduction de la taille des familles dans notre pays.
- ❖ Dans notre population, 50 % de nos patients ne disposent pas d'un donneur apparenté HLA-compatible. Il devient donc nécessaire de développer des stratégies permettant d'identifier des donneurs alternatifs. En absence d'un registre de donneur volontaires, la transplantation haplo-identique représente une alternative très intéressante surtout dans les pays à ressources limitées. (Fati Hamzy et al ; 2025).

Conclusion :

Devant la diminution de la disponibilité des donneurs apparentés potentiels de CSH; Il est nécessaire d'élargir les options de donneurs par des stratégies complémentaires :

- ✓ La création et le développement d'un registre national de donneurs volontaires
- ✓ Le développement des greffes haplo-identiques.

Suivi différentiel des anticorps anti-HLA au cours des échanges plasmatiques dans le rejet médié par les anticorps après transplantation rénale : à propos d'un cas

Sirine Louati (1), Mariem Maaloul (1), Imen Daoud (1), Aida Charfi (1), Arwa Kamoun (1), Lilia Gaddour (1), Faiza Hakim (1), Ines Kamoun (1), Fadia Oualha (1), Dhouha Ben Abdallah (1), Bakhta Kamoun (1), Mondher Masmoudi (2), Soumaya Yaich (2), Khawla Kamoun (2), Nadia Mahfoudh (1)

(1) : Laboratoire d'Immunologie et d'Histocompatibilité, CHU Hedi Chaker, Sfax, Tunisie

(2) : Service de Néphrologie, CHU Hedi Chaker, Sfax, Tunisie

Introduction:

- L'apparition d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur (DSA) de novo est étroitement associée au rejet médié par les anticorps (ABMR) après transplantation rénale.
 - Les échanges plasmatiques (EP) constituent une approche thérapeutique visant à réduire la charge circulante en anticorps.
 - Le suivi des anticorps anti-HLA au cours des EP pourrait permettre d'évaluer la réponse au traitement.
- Nous rapportons un cas illustrant cette approche.

Matériel et méthodes:

Patient jeune, né en 2006, de sexe masculin et transplanté rénal en mars 2025.

De typage HLA: A68 A33 B50 B61 (Bw6) ; DR8 DR11 (DR52) DQ7

Le dépistage des anticorps anti-HLA a été réalisé par LCT et par Luminex avec le kit LSM12 (One Lambda), puis les spécificités ont été identifiées par LSA2 (One Lambda).

Résultats:

- Le dépistage des anticorps anti-HLA était négatif par LCT et LSM12 durant l'année suivant la transplantation.
- En juillet 2026, devant une élévation de la créatininémie (**150** $\mu\text{mol/L}$), une biopsie rénale a révélé un **rejet mixte**, cellulaire et humoral.

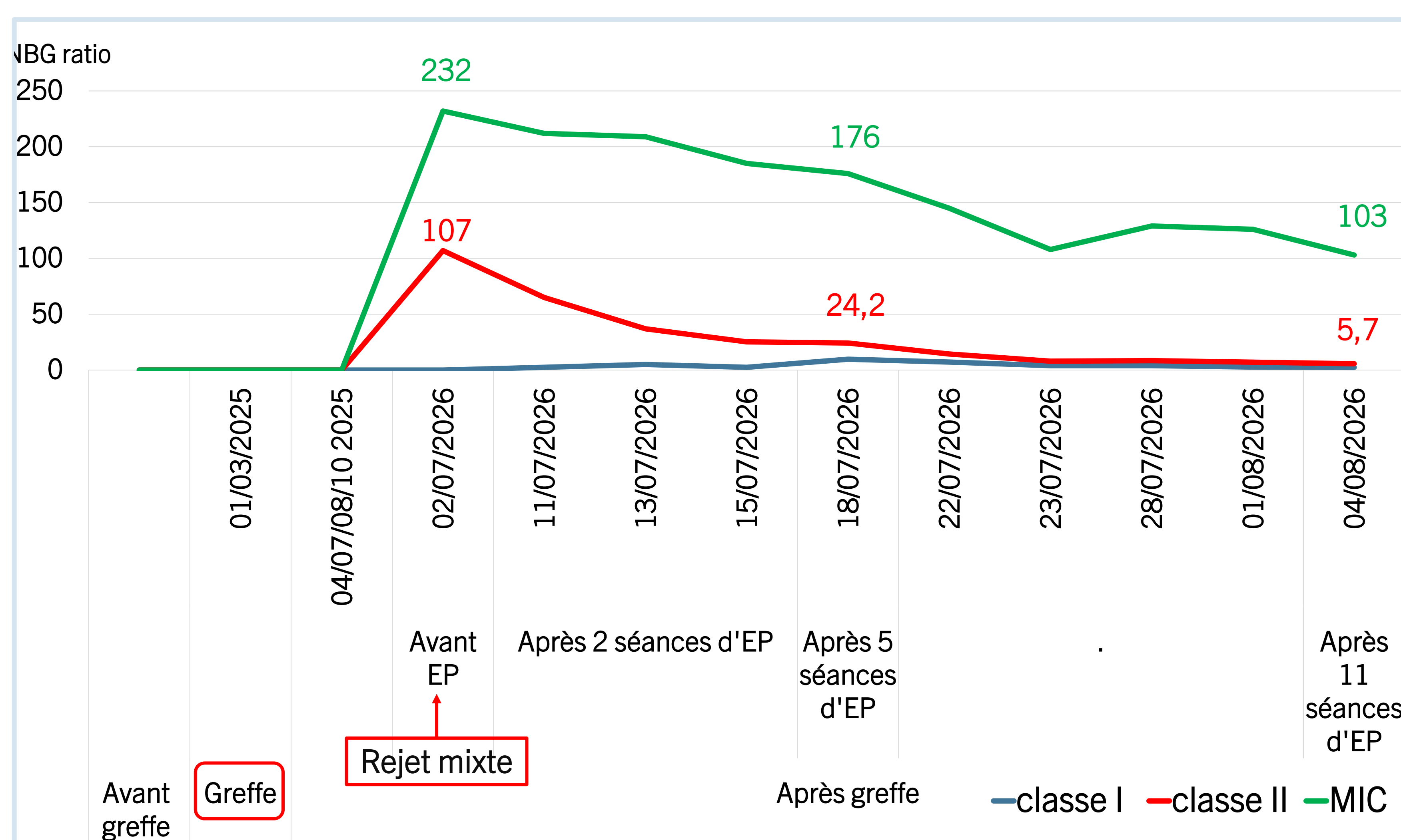


Figure 1: Evolution du NBG ratio par Luminex (LSM12) après les séances d'EP



Figure 2: Evolution des MFI des DSA avant et après EP.

- La LCT était négative, tandis que le LSM12 était positif en classe II et pour les anti-MIC.
- Le patient a bénéficié de 11 EP.
- Après la 5^{ème} séance, une diminution plus importante était observée pour la classe II, avec une réduction du NBG ratio de 76,4 % (107 à 25,3), contre 20,3 % pour les anti-MIC (232 à 185).
- Après la 11^{ème} séance, la réduction atteignait 94,7 % pour la classe II (NBG ratio = 5,7) et 55,6 % pour les anti-MIC (NBG ratio = 103) (figure 1).
- Le LSA2 identifiait des **DSA de novo anti-DQ6** et **anti-DR51**.
- La figure 2 illustre la diminution des MFI des DSA après les EP.

Conclusion:

- Le monitoring longitudinal des anticorps anti-HLA a objectivé une diminution progressive et différentielle de la réactivité humorale au cours des EP, plus marquée pour les anticorps de classe II que pour les anti-MIC.
- Ce suivi pourrait contribuer à évaluer la réponse biologique aux EP et à guider leur poursuite dans l'ABMR.