

PROTCOLE DES ANALYSES HLA REALISEES POUR LES PATIENTS EN ATTENTE DE GREFFE ET POUR LES PATIENTS GREFFES RENAUX

Référentiels

Guide de suivi de l'immunisation des patients en attente de greffe et des patients greffés établi par l'agence de la biomédecine.

Standards European Federation for Immunogenic (EFI)

Bilan en vue d'inscription sur la liste d'attente de greffe

Typage HLA du receveur

- Typage HLA-A, B, C, DRB, DQB1 générique
- Chez les patients immunisés, en fonction des spécificités d'anticorps un typage HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 spécifique complémentaire pourra être réalisé.
- Le typage sera complété par la constitution d'une DNAtèque par patient

Le typage est répété sur deux prélèvements distincts réalisés à plusieurs jours d'intervalle.

Recherches d'anticorps anti-HLA pour bilan d'immunisation

Le bilan initial comprend un minimum de deux recherches d'anticorps anti-HLA prélevés à des temps différents (au minimum à trois semaines d'intervalle). Le prélèvement doit être réalisé avant la séance d'hémodialyse. Le dernier sérum testé aura été prélevé dans les six mois avant l'inscription sur liste d'attente pour les patients non immunisés et trois mois pour les patients immunisés.

Le dépistage d'anticorps anti-HLA de classe 1 et 2 est systématique. Si le dépistage d'anticorps est positif, une identification de la nature et de la spécificité des anticorps est effectuée, en particulier pour tous les sérums informatifs qui seront testés lors du crossmatch prégreffe. Des contrôles seront réalisés pour confirmer les spécificités d'anticorps mis évidence.

Les recherches d'anticorps s'accompagnent de la constitution d'une sérothèque (congélation).

Le dépistage et l'identification des anticorps sont effectués par une technique sensible Luminex. Cette technique permet de détecter un taux faible d'anticorps anti-HLA circulants IgG.

L'identification concerne les sérums informatifs c'est-à-dire tous les sérums prélevés après un évènement immunisant (idéalement 14/21j).

Les sérums informatifs de la sérothèque qui ont été préalablement étudiés dans une autre technique moins sensible (lymphocytotoxicité ou Elisa) sont réétudiés par technique sensible Luminex.

Une recherche d'anticorps anti-HLA par technique de micro-lymphocytotoxicité est effectuée une fois par an pour les patients inscrits sur liste pour recherche d'anticorps IgM, pour mise en évidence d'anticorps lymphocytotoxiques non HLA, pour détermination du pourcentage de réactivité des anticorps IgG (à renseigner dans le dossier Cristal). En cas de présence d'une réactivité en faveur d'auto anticorps, un autocrossmatch est réalisé en parallèle de l'allocrossmatch pré greffe, il est systématique pour les patients immunisés.

Chez les patients immunisés, une analyse des épitopes avec le programme Matchmaker est réalisée.

Au terme de ce bilan, l'accessibilité à la greffe peut être évaluée. Elle dépend du groupe HLA et ABO, des spécificités des anticorps anti-HLA, de la définition des antigènes acceptables et des antigènes interdits autres que les anticorps.

Les services cliniques informent le laboratoire des événements immunisants. Le laboratoire peut avoir accès aux transfusions réalisées dans la région.

Bilan complémentaire

En cas d'immunisation après grossesse, un typage du conjoint est réalisé si possible.

Tous les renseignements concernant une précédente greffe doivent être obtenus. En cas de greffe par un autre centre greffeur, la sérothèque du patient est demandée.

Inscription sur la liste d'attente (CRISTAL)

Une lettre résumant l'histoire clinique du patient accompagne la demande d'inscription sur liste d'attente (formulaire type SB-HLA-84), elle mentionne les antécédents transfusionnels, de grossesse chez les femmes, de transplantation.

A réception du formulaire de demande d'inscription complété par le service clinique. Un biologiste du laboratoire HLA revoit le dossier et induit si besoin des analyses complémentaires (identification d'anticorps sur des sérums informatifs de la sérothèque, typages complémentaires en cas d'immunisation) et complète les données HLA.

Les spécificités d'anticorps correspondent aux anticorps ayant une réactivité de fluorescence (MFI) supérieure à 2000, retrouvées à deux reprises.

Les antigènes permis correspondent aux réactivités de fluorescence MFI, inférieure à 500.

Les réactivités d'anticorps comprises entre 1000 et 2000 sont considérées en zone grise.

Une « boîte crossmatch » contenant un aliquote des sérums qui seront testés lors du crossmatch est constituée.

Le formulaire complété est renvoyé au service clinique.

La saisie des données dans le dossier Cristal immunologie est réalisé conjointement par le service clinique (typage HLA) et le service HLA (données anticorps, antigènes permis et antigènes interdits) qui

Une validation du dossier immunologique est réalisée par le biologiste HLA.

Le laboratoire met à jour la date de dernière recherche d'anticorps pour les patients hyperimmunisés.

Suivi des patients inscrits sur liste d'attente

Une recherche d'anticorps doit être réalisée.

Pour les patients non immunisés, au moins une fois tous les six mois

Pour les patients immunisés, au moins une fois tous les trois mois

Un rappel de la date de la dernière recherche d'anticorps est envoyé aux médecins référents des centres de la dialyse de la région tous les mois.

Les sérums seront systématiquement étudiés en dépistage (technique Luminex). En cas de dépistage positif une identification sera réalisée deux fois par an pour les patients immunisés.

En cas d'événement immunisant, les identifications seront répétées (transfusions, rejet, arrêt du traitement immunosuppresseur, transplantectomie). Le laboratoire sera informé des événements cliniques pertinents au moyen de de la fiche de liaison (annexe 1).

Chez les patients immunisés, une analyse des épitopes des anticorps anti-HLA est réalisée en cas d'évolution des spécificités d'anticorps.

Bilan au moment de l'appel de greffe

Réalisation du crossmatch

Le crossmatch est réalisé prospectivement. Dans de rares cas, la greffe peut être débutée sans attendre le résultat du crossmatch, un protocole spécifique a été établi pour ces cas.

A réception des prélèvements du donneur et du receveur, l'allocrossmatch est réalisé avec tous les sérums informatifs du receveur. Il sera complété par un autocrossmatch pour les patients immunisés et les patients ayant des anticorps lymphocytotoxiques non HLA.

Le crossmatch comprend un sérum récent. Il s'agit d'un sérum prélevé le jour de l'appel de greffe dans la mesure du possible et systématiquement pour les patients immunisés. Il peut s'agir d'un

sérum de moins de trois mois après vérification par le clinicien que le patient n'a pas eu d'évènement immunisant récent (transfusion en particulier).

Le crossmatch ne sera pas réalisé sur des lymphocytes issus du sang périphérique sauf dérogation en particulier en cas de temps d'ischémie allongé.

Analyse réalisée chez le donneur

Un contrôle du typage HLA-A, B, DRB1, DQB1 générique du donneur est systématique. Un typage HLA-C et HLA-DP sera demandé au laboratoire ayant réalisé le typage du donneur en cas de forte immunisation du patient. Le typage pourra être réalisé par le laboratoire en même temps que le crossmatch.

En cas de présence d'anticorps d'autre nature (HLA-DQA1, DRB3/4/5, anti-allélique) un typage HLA correspondant aux spécificités d'anticorps sera réalisé.

Constitution d'une cellulothèque et d'une DNAtèque.

Suivi des patients après greffe

Le suivi de l'immunisation en post greffe (dépistage et identification) consiste en la réalisation d'une recherche d'anticorps : le jour de la greffe, à J10, M3, M12, puis une fois par an. Une identification des anticorps est systématique sur le sérum prélevé le jour de la greffe et à J10.

En cas de positivité du dépistage, une identification est réalisée. La découverte d'un DSA sera contrôlée sur un deuxième prélèvement.

Le bilan est répété en cas de suspicion de rejet, ou si la réalisation d'une ponction biopsie de rein.

En cas d'apparition d'une immunisation anti-HLA, en fonction des spécificités d'anticorps, un typage HLA complémentaire sera réalisé chez le donneur et le receveur si le laboratoire dispose d'une DNAtèque.

Chez les patients immunisés, une analyse des épitopes des DSA avec le programme Matchmaker est réalisée.

Cas particulier du bilan en vue de greffe à donneur vivant

Le bilan de greffe à donneur vivant est décrit dans un document spécifique.

Cas particulier du suivi du traitement du rejet humoral

En cas de traitement d'un rejet humoral, le service clinique transmet le planning de réalisation des identifications. Un suivi de la fluorescence des billes correspondant au DSA est réalisé.

Cas particulier du suivi après transplantectomie ou de l'arrêt de l'immunosuppression après reprise de la dialyse

En cas de transplantectomie, un bilan (dépistage et identification d'anticorps) est réalisé au moment de la transplantectomie ou de l'arrêt du traitement puis tous les mois pendant six mois et à M12.

V3 revue et applicable à partir du 26 août

S. Caillard

A. Parissiadis

