

VARIABILITE INTRA-LABORATOIRE DU TEST CROSSMATCH PAR CYTOMETRIE EN FLUX

A. Boughanmi (1), W. Khemiri (1), G. Baccar (1), R. Dorboz (1), K. Ghniya (1), C. Kallala (1), I. Sassi (1), T. Ben Romdhane (1), S. Ben Boujemaa (1), R. Nabli (1), R. Bardi (1), T. Ben Abdallah (1), Y. Gorgi (1), I.Sfar (1)

(1) Laboratoire de recherche en Immunologie de la Transplantation Rénale et en Immunopathologie (LR03SP01). Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

INTRODUCTION

La réalisation du test crossmatch en pré transplantation rénale est cruciale pour prévenir le risque de rejet hyper aigu du greffon (**figure1**)

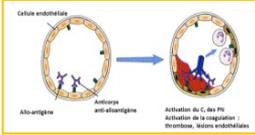


Figure 1. Rejet hyper-aigu

La technique de référence : La microlymphocytotoxicité (LCTCM)

Avantages	Inconvénients
Anticorps cytotoxiques pathogènes	Ne permet que la détection des anticorps complètement-dépendant
Peu coûteuse	Peu spécifique
N'implique pas la présence d'équipement lourd	Peu sensible
	Parfaite maîtrise technique
	Technique longue

Test de haute performance pour la mise en évidence des anticorps anti-HLA spécifiques du donneur (DSA): Cytométrie en flux (FXCM)

Avantages	Inconvénients
Mise en évidence de tous les anticorps cytotoxiques et non cytotoxiques	Variabilité des résultats inter-laboratoires
↑ Spécificité	Absence de standardisation
	Paramètres techniques (concentration lymphocytes, dilution sérum...)
	Préparation des contrôles (+) et (-) (absence de contrôles de qualité)
	Hétérogénéité des seuils de positivité (calcul du cutoff ??)
	Interférence médicamenteuse (anti-CD20)

OBJECTIFS

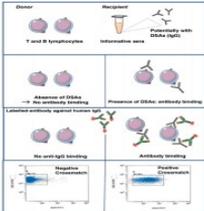
Relever les performances de la technique FXCM avec un nouveau réactif (**changement de la référence de l'IgG anti-Fab'(2)**) comparativement à celles de la microlymphocytotoxicité (LCTCM).

METHODES

14 couples (receveurs hémodialysés / Donneurs vivants apparentés) ont été colligés

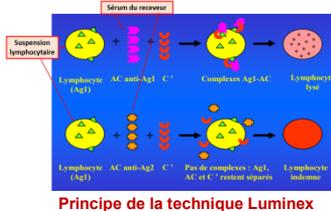
Test FXCM

Seuil de positivité RMF > 1
 RMF= Médiane MFI du sérum malade / Médiane MFI du contrôle négatif



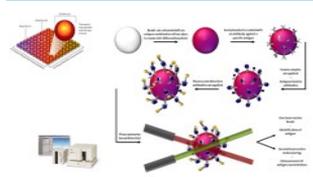
Principe de la technique FXCM

LCTCM



Principe de la technique Lumindex

Identification des DSA (Lumindex®)

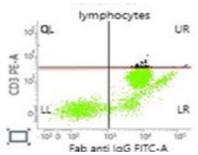


Principe de la technique Lumindex

Changement de la référence IgG anti-Fab'(2): Biorad (30242) → Abcam (Ab 5854)

RESULTATS ET COMMENTAIRES

Etude des performances



Test vrai positif

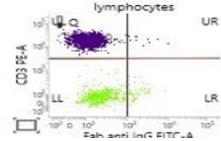
Revue de la littérature → Données controversées

2 Fausses réactions négatives par FXCM (LCTCM+) avec lymphocytes T et B

Une « re-optimisation » technique

- Dilution IgG anti-Fab'(2) (au 1/2 au lieu au 1/20ème, utilisée avec l'ancien conjugué)
- Recours systématique: sérum positif avec des DSA mono ou bi spécifiques

Sérums de receveurs présentant des anticorps anti-HLA classe I spécifiques de donneur (DSA) à des titres MFI > 17000



Test faux négatif

Hétérogénéité des paramètres techniques+
 Hétérogénéité des patients étudiés

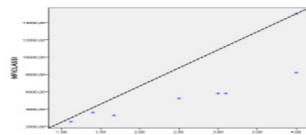
Obligation de réévaluation technique à chaque changement de réactif: même changement de lot d'un même réactif

Après « re-optimisation » technique

- Une corrélation parfaite entre le test FXCM et la recherche des anticorps anti-HLA par Lumindex™ (rho de Spearman : 0,970 (p = 0,0001)) aussi bien avec les lymphocytes T que B

CONCLUSIONS

- L'optimisation du test FXCM à chaque changement de paramètres techniques (lot, référence...) doit être obligatoire et systématique.
- L'analyse conjointe des 3 tests (FXCM, LCTCM et recherche/identification des anticorps anti-HLA par Lumindex™) pour le rendu final du bilan pré-greffon rénal doit être réalisée en confrontation avec les données clinico-biologiques du patient.



REFERENCES

1. Guillaume N. Improved flow cytometry crossmatching in kidney transplantation. HLA 2018; 92:375-383.
 2. Higgins R et al. Human leukocyte antigen-incompatible renal transplantation: Excellent medium-term outcomes with negative cytotoxic crossmatch. Transplantation 2011; 92: 900-906
 3. Jaramillo A, Ramon S and Stoll S. Technical aspects of Crossmatching in transplantation. Clin Lab Med 2018; 38: 579-593