



| LIVRE DES ABSTRACTS |

COMMUNICATIONS ORALES

SESSION GREFFE DE CSH N°2

C1 - Etude de la faisabilité du suivi de chimérisme post-greffe de CSH en duplicata versus triplicata

Juliette Villemonteix, Debora Jorge Cordeiro*, Laurie Toullec*, William Dartois, Catherine Asselot, Sophie Caillat-Zucman

Laboratoire d'Immunologie et Histocompatibilité, Hôpital Saint-Louis, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Université Paris Cité, Paris, France

Introduction

Le suivi des patients ayant bénéficié d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques (GCSH) nécessite l'étude du chimérisme pour vérifier la prise du greffon et/ou l'absence de rechute. Le principe du chimérisme est de quantifier la proportion de cellules d'origine receveuse (R) ou donneuse (D) au sein d'un échantillon post-GCSH grâce aux différences génétiques entre R et D. La PCR quantitative (qPCR) en temps réel est une méthode permettant d'obtenir un nombre de cycle seuil (Ct) inversement proportionnel à la quantité initiale d'ADN cible. Le suivi du chimérisme consiste en la quantification du nombre de copie d'ADN spécifiques au receveur dans l'échantillon. Actuellement, chaque quantification des Ct au laboratoire est réalisée en triplicata. Pour une optimisation du temps de manipulation, une économie en réactifs et une limitation des gestes techniques pouvant engendrer des troubles musculo-squelettiques, nous avons souhaité étudier la faisabilité de diminuer le nombre de puits testés en passant de triplicata à duplicata.

Matériels et méthode

Sur 366 échantillons (282 sanguins, 62 médullaires et 22 issus de cellules triées CD3+, nous avons recalculé le pourcentage de chimérisme en considérant les moyennes de Ct des 2 premiers puits versus la moyenne des 3 puits réalisés. Un test de Mann-Whitney ainsi qu'une comparaison de Bland-Altman ont été réalisés pour l'analyse statistique.

Résultats

Les pourcentages obtenus sont équivalents pour 357 résultats (97.5%). Les résultats non concordants (n=9) sont expliqués par des Ct aberrants ayant été éliminés lors du rendu. Sept valeurs sont en dehors des limites à 95% d'agrément lorsque le résultat rendu est >20%, soit au-delà de la limite de linéarité connue de la technique, sans impact sur l'interprétation clinique. Les résultats obtenus sont par ailleurs satisfaisants au regard des 30 EEQ SFHI 2023 et 2024.

Conclusion

L'utilisation de duplicata à la place de triplicata dans le suivi du chimérisme post-GCSH est possible avec notre technique.

C2 - Comment réaliser un chimérisme post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques sans l'ADN du donneur ?

Debora Jorge Cordeiro, Laurie Toullec*, Juliette Villemonteix*, Isabelle Guillemot, David Michonneau, Sophie Caillat-Zucman

Laboratoire d'Immunologie et Histocompatibilité, Hôpital Saint-Louis, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Université Paris Cité, Paris, France

Le suivi des patients ayant bénéficié d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques nécessite l'étude du chimérisme pour évaluer la prise de greffe ou rechercher des signes indirects de rechute. Le principe du chimérisme est de quantifier la proportion de cellules d'origine receveuse (R) ou donneuse (D) au sein d'un échantillon grâce aux différences génétiques entre D et R. La PCR quantitative en temps réel avec détection Taqman® est une méthode quantitative permettant d'obtenir un nombre de cycle seuil (Ct) inversement proportionnel à la quantité initiale d'ADN cible.

Nous rapportons le cas d'un patient de 60 ans, greffé en Turquie pour une leucémie myéломocyttaire chronique et arrivant dans notre centre pour une prise en charge post-allogreffe. Nous n'arrivons à obtenir ni l'ADN pré-greffe du R ni celui du D. Nous demandons un prélèvement jugal pour l'ADN extra-hématopoïétique du R. Notre objectif est alors de vérifier la possibilité de s'affranchir de l'ADN du D en remplaçant ce dernier par l'ADN post-allogreffe du patient, afin de déterminer des marqueurs spécifiques R/D.

Cette hypothèse a été validée chez 3 patients dont les marqueurs spécifiques et le chimérisme post-greffe étaient connus : un suivi post-greffe 100% D utilisé comme ADN D au génotypage (1), un 95% D (2) et un mixte (3). Les cas 1 et 2 permettent de déterminer les marqueurs spécifiques R/D, s'ils existent, en étudiant les Ct obtenus. La principale limite de la qPCR étant sa faible précision de quantification du chimérisme mixte, il est plus difficile de statuer pour le cas 3. Le test réalisé chez notre patient montre un profil 100% D.

Ce résultat a été confirmé a posteriori par un chimérisme réalisé en Turquie avec les ADN pré-greffes R et D. Nous avons ainsi validé une méthode permettant le suivi post-greffe de patients sans ADN du D à disposition.

C3 - Chimérisme post-greffe : le séquençage de 3e génération au service de la réactivité

Emma RATEAU¹, Nisem CHEROUAT¹, Sandrine MAIOLI¹, Coralie FRASSATI^{1,2}, Christophe PICARD², Agnès BASIRE¹, Vincent BARLOGIS³, Pascal PEDINI^{1,2}

1. Laboratoire d'Immunogénétique, laboratoire de référence « Etude du chimérisme », Établissement Français du Sang, Marseille, France.
2. ADES UMR 7268, Aix-Marseille Université, Marseille, France.
3. Département d'hématologie, d'immunologie et d'oncologie pédiatriques, APHM, Hôpital de la Timone Enfants, Marseille, France.

Introduction :

La quantification du chimérisme est essentielle après greffe allogénique de CSH et pour le suivi de la maladie résiduelle. Actuellement basée sur l'analyse des STR ou la qPCR, elle évolue grâce à l'émergence de technologies comme la digital PCR (dPCR) et le séquençage nouvelle génération (NGS). La dPCR offre une réponse rapide, mais reste peu adaptée aux séries, tandis que le NGS, compatible avec une organisation automatisée, ne convient pas aux situations urgentes.

Cette étude évalue la première solution commerciale de quantification du chimérisme par séquençage de troisième génération (TGS, Nanopore) : la technologie ONtrack (EurobioGendx®), qui ambitionne d'unifier l'approche en série et en urgence avec un même panel de marqueurs.

Matériels et méthodes

Quinze échantillons de contrôle qualité externe (EEQ) et 12 échantillons cliniques (sang total, moelle osseuse, tri cellulaire) de 4 patients greffés ont été analysés. Les quantifications de référence avaient été réalisées par qPCR, dPCR et NGS (*LBMR « étude du chimérisme »*, EFS Marseille). La technologie ONtrack a été utilisée selon les recommandations du fabricant.

Résultats

Les résultats montrent une excellente corrélation avec les méthodes de référence. Un résultat unitaire est obtenu après 2 heures de séquençage, via un logiciel sécurisé permettant un import automatisé des données. La sensibilité retrouvée est conforme à celle annoncée par le fabricant, soit 0,5 %

Conclusion

En conclusion, ONtrack offre des performances analytiques comparables aux méthodes actuelles, avec un atout majeur : la possibilité de couvrir à la fois les situations d'urgence et les analyses en série avec un seul outil, adaptable aux laboratoires à forte ou faible activité.



C4 - Génotypage HPA fœtal non invasif par UMI-NGS : une méthode robuste pour le diagnostic prénatal incluant 48 marqueurs d'ADN fœtal

TOUCHARD Lucy, LEVALLOIS Orlane, BERTRAND Gérald, RENAC Virginie

Laboratoire HLA/HPA, EFS BRET, Rennes

Introduction :

Le génotypage HPA fœtal non invasif est un outil précieux pour identifier les grossesses à risque de thrombopénie allo-immune fœtale et néonatale. Différentes approches ont été développées, basées sur la PCR en temps réel et la droplet PCR. Ces méthodes présentent une capacité de multiplexage limitée. De plus, la présence d'ADN fœtal est évaluée à l'aide d'un seul marqueur (RASSF1A), alors que de larges panels de polymorphismes génétiques (SNP) sont désormais disponibles pour mesurer avec précision la fraction fœtale de l'échantillon. Nous avons développé une méthode de génotypage simultané des systèmes HPA-1, -2, -3, -4, -5, -6, -9 et -15 en combinaison avec un panel de 48 marqueurs SNP, basée sur la technologie UMI-NGS.

Matériel et Méthodes :

81 plasmas de femmes enceintes ont été recueillis en France et en Espagne, entre 10 et 40 semaines d'aménorrhée (SA ; 4 échantillons < 12 semaines ; 38 échantillons 13-24 semaines ; 39 échantillons > 24 semaines). Après extraction d'ADN, la librairie NGS est construite avec l'aide de barcodes UMI (courtes séquences utilisées pour marquer de manière unique chaque molécule d'ADN), puis séquencée à l'aide du Miseq.

Résultats :

Le panel de 48 SNP a permis une quantification précise de l'ADN fœtal (1,1 %-16,1 %). Tous les échantillons, sauf un, ont donné des résultats concordants avec les génotypes HPA attendus. Un échantillon était discordant pour HPA-2 et HPA-3 (mêmes génotypes que la mère), probablement en raison du délai entre le prélèvement sanguin et l'isolement du plasma (> 48 heures ; 1,1 % d'ADN fœtal ; échantillon prélevé à 13 SA).

Conclusion :

Le séquençage UMI-NGS des marqueurs HPA et SNP constitue une méthode robuste et sensible pour le génotypage HPA fœtal non invasif, dès 10SA. Dans notre expérience, 16 échantillons peuvent être génotypés simultanément, en moins de 72 heures.

C5 - Caractérisation du polymorphisme HLA (Human Leukocyte Antigen) en Côte d'Ivoire : fréquence élevée d'allèles protecteurs contre le paludisme

Liliane Siransy¹, Stéphane Kouï Tossa², Aya Jeanne Armande Ake³, Oura Brou Doris¹, Isabelle Favre Victoire⁴, Mathieu Dewez⁵, José Manuel Nunes⁶, Alicia Sanchez-Mazas⁶, Valérie Dubois⁴

1-Felix Houphouët Boigny, University, National Blood Transfusion Center, Abidjan, Côte d'Ivoire, 2-National Blood Transfusion Center, San Pedro, Côte d'Ivoire, 3-National Blood Transfusion Center, Abidjan, Côte d'Ivoire, 4-Etablissement Français du Sang (EFS) Auvergne Rhône Alpes, Lyon, France, 5-Omixon, Werfen, Barcelona, Spain, 6-Department of Genetics and Evolution, University of Geneva, Switzerland

Introduction

Malgré son rôle central dans la reconnaissance immunitaire, le système HLA reste peu étudié dans de nombreuses populations africaines. La nécessité de mieux caractériser le polymorphisme HLA en Afrique est devenue urgente, notamment dans le contexte des transplantations d'organes, qui sont de plus en plus pratiquées. Notre étude vise à explorer la diversité moléculaire des antigènes HLA au sein de la population ivoirienne afin de contribuer à une meilleure connaissance du polymorphisme HLA en Afrique, tant pour la recherche en génétique que pour les applications en transplantation.

Matériels et méthodes :

Le typage HLA a été réalisé par NGS à l'aide des kits Nanotype (Omixon, Werfen) sur 11 loci, au laboratoire d'histocompatibilité de l'EFS de Lyon chez 200 donneurs recrutés au Centre National de Transfusion Sanguine d'Abidjan.



Résultats :

Les génotypes HLA ont été analysés à l'aide des outils bio-informatiques Gene[rate] (hla-net.eu). Des fréquences alléliques précises (conformes à l'équilibre de Hardy-Weinberg) ont été obtenues jusqu'au niveau de résolution du troisième champ. Les allèles les plus fréquents sont : A*23:01:01 (~11 %), B*53:01:01 (~20 %), C*04:01:01 (~27 %), DRB1*08:04:01 (~10 %), DQA1*05:05:01 (~22 %), DQB1*03:19:01 (~16 %), DPA1*02:02:02 (~23 %), DPB1*01:01:01 (~21 %) et DPB1*1484:01 (~21 %). Ce dernier allèle étant un sous-type de DPB1*01:01, la fréquence combinée atteint 42 %.

Conclusion

Il est intéressant de noter que, tout comme B*53:01 (en déséquilibre de liaison fort avec C*04:01), DPB1*01:01 a récemment été identifié comme protecteur contre le paludisme à Plasmodium falciparum, bien qu'aucun déséquilibre de liaison ne soit observé entre HLA-B et -DPB1. Des travaux récents sur la diversité HLA en Afrique fournissent des éléments précieux pour la reconstitution des migrations humaines en Afrique de l'Ouest.

C6 - Amélioration du suivi des anticorps anti-HLA avec les réactifs des fournisseurs Werfen® et Thermofisher One Lambda® par l'utilisation du Luminex FlexMap 3D.

Milhès J.¹, Duclercq L.¹, Blavy S.¹, Del Bello A.^{2,3}, Kamar N.^{2,4}, Bouthemy C.¹, **Congy-Jolivet N.^{1,3,5}**

1. CHU Toulouse, Laboratoire d'Immunologie HLA, Institut fédératif de biologie, Hôpital Purpan, Toulouse, France
2. CHU Toulouse, département de néphrologie et transplantation d'organe
3. Department of Vascular Biology of the Institute of Metabolic and Cardiovascular Diseases (I2MC), Toulouse, France
4. Inserm UMR1291 – CNRS UMR5051 – Université Toulouse III, Toulouse Institute for Infectious and Inflammatory Diseases (Infinity), Toulouse, France
5. CRCT, INSERM UMR 1037, University Toulouse III, Toulouse, France

Le Luminex FlexMap 3D remplace progressivement l'ancienne génération de Luminex dans les laboratoires pour la détection et l'identification des anticorps anti-HLA. Il promet une sensibilité plus élevée, ce qui peut conduire à des intensités de fluorescence moyenne (MFI) différentes, selon le fournisseur de kit utilisé.

Nous avons comparé les deux générations de Luminex en utilisant les kits LABScreen Mix (MIX), Panel Reactive Antibody (PRA) et LABScreen Single Antigen du fournisseur One Lambda® (SA OL), ainsi que les kits Single Antigen ID Lifecodes du fournisseur Werfen® (SA W). Les résultats de 232 dépistages, 24 PRA (classes I et II), 51 SA OL (classes I et II) et 112 SA W (classes I et II) ont été comparés, ainsi que des dilutions sériées d'Ac monoclonaux anti-HLA classe I et II, et des dilutions au 1/10e de sérums de patients hyperimmunisés. Les tests des kits MIX, PRA et SA OL ont donné des résultats comparables avec les deux systèmes Luminex (facteur correctif appliqué selon les recommandations fournisseur). Les résultats des test ID Lifecodes ont également montré une forte corrélation entre les deux Luminex (sans facteur correctif appliqué) avec des MFI plus élevés sur le Luminex FlexMap 3D. Des tests SA OL et SA W sur des dilutions en série de deux anticorps monoclonaux anti-HLA classe I et II, et des sérums de patients hyperimmunisés dilués au 1/10e ont également montré que les MFI obtenues avec les SA W sur le FlexMap 3D étaient plus proches de ceux obtenus avec les tests SA OL.

En conclusion, le Luminex FlexMap 3D augmente la sensibilité des tests et permet un rapprochement fort des MFI des deux fournisseurs testés, ce qui facilite les comparaisons de MFI entre eux, notamment pour les tests Single Antigen

C7 - Dynamique du microchimérisme et de l'alloimmunisation après microtransplantation de cellules souches hématopoïétiques

Jean-Baptiste BAUDEY¹, Pascal PEDINI^{1,2}, Michael LOSCHI^{3,4}, Jean-Baptiste BAUDEY¹, Caroline BOUCHET¹, Thomas THORRIGNAC¹, Agnès BASIRE¹, Faezeh LEGRAND⁵, Jacques CHIARONI^{1,2}, Christophe PICARD^{1,2}, Raynier DEVILLIER⁵, Thomas CLUZEAU^{3,4}

1. Laboratoire d'Immunogénétique, laboratoire de référence pour le « chimérisme », Établissement Français du Sang, Marseille, France.
2. ADES UMR 7268, Aix-Marseille Université, Marseille, France.
3. Service d'Hématologie, Université Côte d'Azur, Université Nice Sophia Antipolis, CHU de Nice, Nice, France.
4. Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire, Université Côte d'Azur, INSERM U1065, Nice, France
5. Service d'Hématologie, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France



Introduction

La greffe de cellules souches hématopoïétiques après rémission complète d'une leucémie aiguë myéloïde (LAM) améliore significativement la survie globale et sans rechute, avec une incidence très faible de maladie du greffon contre l'hôte (GvH), et ce malgré l'absence d'immunosuppression. Les mécanismes immunologiques expliquant cette efficacité associée à une faible toxicité restent toutefois mal compris. Outre le rôle partiel de l'immunité cellulaire, une réponse humorale pourrait compromettre la persistance du greffon et limiter l'efficacité du traitement.

Matériels et méthodes

Cette étude, adossée au PHRCI original (NCT03232268), vise à explorer ces mécanismes via l'analyse de la cinétique du microchimérisme et de l'immunisation anti-HLA. Des prélèvements ont été réalisés avant l'infusion, à H48, J10, J14, J21 et J30 après chaque injection, puis à 6 mois post-greffe. Le microchimérisme a été mesuré par ddPCR (Biorad®) et les anticorps anti-HLA par Luminex (ThermoFisher).

Résultats

Quatre patients (SMD, LAM M1, M4, et LAM dysmyélopoïétique) ont été inclus. Un chimérisme donneur positif à H48 a été observé chez 4/4 patients après la première injection (moyenne 1,79 %), 3/4 après la deuxième (0,48 %) et 2/4 après la troisième (0,33 %). Tous les chimérismes étaient négatifs à J10. Tous les patients ont développé des anticorps anti-HLA (100 % classe II, 75 % classe I), dont 2/3 persistaient à 6 mois. Aucun cas de GvH n'a été rapporté ; 2 patients sur 4 étaient vivants.

Conclusion

Ces résultats préliminaires soulignent l'intérêt d'évaluer à la fois le chimérisme et l'immunisation pour mieux comprendre les mécanismes de la greffe. Ils remettent en question le rythme d'injection et justifient la poursuite de ces analyses chez de nouveaux patients.



C8 - La concentration active des DSA anti-HLA-DQ de novo est associée avec la dysfonction chronique du greffon

Frédéric JAMBON^{a,b}, Carmelo DI PRIMO^{c,d}, Claire DROMER^e, Xavier DEMANTE^e, Antoine ROUX^f, Jerome LE PAVEC^{g,h,i}, Olivier BRUGIERE^j, Vincent BUNEL^{j,k}, Romain GUILLEMAIN^{l,m}, Julien GORETⁿ, Marion DUCLAUT^{a,n}, Marine CARGOUⁿ, Mamy RALAZAMAHLEOⁿ, Elodie WOJCIECHOWSKIⁿ, Gwendaline GUIDICELLIⁿ, Virginie HULOT^o, Magali DEVRIESE^{p,q}, Jean-Luc TAUPIN^{p,q,r} et **Jonathan VISENTIN^{a,n,r}**

^aUniv. Bordeaux, CNRS, ImmunoConcEpT, UMR 5164, INSERM ERL 1303, Bordeaux, France

^bCHU de Bordeaux, Service de néphrologie, transplantation, dialyse et aphérèses, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France

^cUniv. Bordeaux, Laboratoire ARNA, INSERM U1212, CNRS UMR 5320, Bordeaux, France

^dIECB, Pessac, France

^eService des Maladies Respiratoires, Hôpital Haut-Lévêque, CHU de Bordeaux, Pessac, France

^fService de Transplantation Pulmonaire, Hôpital Foch, AP-HP, Suresnes, France

^gService de Pneumologie et Transplantation Pulmonaire, Hôpital Marie-Lannelongue, Le Plessis-Robinson, France

^hUMR_S 999, Université Paris-Sud, INSERM, Hôpital Marie Lannelongue, Le Plessis Robinson, France

ⁱUniversité Paris-Sud, Faculté de Médecine, Université Paris-Saclay, Le Kremlin Bicêtre, France

^jService de Pneumologie, Allergologie et Transplantation, AP-HP, Hôpital Bichat, Paris

^kUniversité Paris Cité, Inserm, UMR 1149, Centre de Recherche de l'Inflammation, Paris

^lUnité de transplantation thoracique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

^mService de chirurgie cardiaque et transplantation, AP-HP, Hôpital Bichat, Paris

ⁿCHU de Bordeaux, Laboratoire d'Immunologie et Immunogénétique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France

^oCHU de Bordeaux, CIC-plurithématique, Bordeaux, France

^pLaboratoire d'Immunologie et Histocompatibilité, Hôpital Saint Louis, AP-HP, Paris

^qINSERM UMR1342, Institut de Recherche Saint-Louis, Université de Paris, Paris, France

^rContribution équivalente



Introduction :

En transplantation pulmonaire, la plupart des anticorps anti-HLA *de novo* dirigés contre le donneur et immunodominants reconnaissent HLA-DQ (dn-iDSA-DQ). Les dn-iDSA-DQ peuvent causer une dysfonction du greffon (CLAD) et sa perte. Nous utilisons la résonance plasmonique de surface (SPR) pour mesurer la concentration des DSA anti-DQ et nous voulons déterminer l'association de ce nouveau biomarqueur à l'évolution clinique post-transplantation.

Matériels et méthodes :

Etude rétrospective incluant 90 patients développant des dn-iDSA-DQ identifiés en « Single Antigen » [seuil d'intensité de fluorescence moyenne (MFI) ≥ 500], provenant de 5 centres. Nous avons mesuré la concentration lors de la détection du DSA (T0) et dans 1 ou 2 sérums supplémentaires dans les deux ans suivants. Les caractéristiques du dn-iDSA-DQ et les données cliniques sont issues des dossiers médicaux jusqu'à cinq ans après la détection du DSA.

Résultats :

A T0, la MFI médiane était 4469 (IQ 2224-9693). Le dn-iDSA-DQ était associé à d'autres DSA pour 53 (58,9%) patients. Nous avons testé 184 sérums en SPR, parmi lesquels 63 (34,4%) présentaient une concentration quantifiable des dn-iDSA-DQ ($\geq 0,3$ nM). La MFI médiane des dn-iDSA-DQ avec une concentration $\geq 0,3$ nM était supérieure ($p < 0,0001$), mais la corrélation entre la MFI et la concentration était faible ($r = 0,40$, $p < 0,0001$). En analyse multivariée, une concentration $\geq 0,3$ nM des dn-iDSA-DQ à T0 était associée à une survie sans CLAD inférieure à 2 ans (HR 1,88, IC à 95% 1,02 – 3,44, $p = 0,04$), de même que la présence de plusieurs DSA et d'autres événements cliniques. Une concentration $\geq 0,3$ nM des dn-iDSA-DQ à T0 et/ou dans les 2 ans suivant la détection du DSA était associée à une survie du greffon inférieure en analyse univariée, avec une tendance en multivariée.

Conclusion :

La concentration des dn-iDSA-DQ est un biomarqueur prometteur pour identifier les receveurs de poumons à risque de CLAD.

C9 - Pertinence clinique de la quantification d'ADNcf-dd et de l'étude du fragmentome 3 mois après transplantation pulmonaire

Alizée Sebastian^{1,2}, Benjamin Coiffard³, Audrey Boutonnet⁴, Coralie Frassati^{1,5}, Agnes Basire⁵, Jacques Chiaroni^{1,5}, Martine Reynaud Gaubert³, Christophe Picard¹, Pascal Pedini^{1,5}

1. ADES UMR 7268, Aix Marseille Univ, Marseille, France
2. BeDia Genomics, Saint-Germain-en-Laye, France
3. Département de transplantation pulmonaire, APHM, Marseille, France
4. ADELIS Tech, Labège, France
5. Laboratoire d'immunogénétique et d'histocompatibilité, Etablissement Français du Sang PACA Corse, Marseille, France

Introduction :

L'ADNcf dérivé du donneur (dd-cfDNA) est un biomarqueur prometteur pour la surveillance post-transplantation, mais son potentiel diagnostique reste à préciser. Nous avons montré, un mois après transplantation pulmonaire (TP), que l'algorithme combinant dd-cfDNA et fragmentome fonctionnait de manière séquentielle : le pourcentage de dd-cfDNA identifiait les patients non stables puis la proportion de fragments courts permettait de distinguer rejet aigu (RA) et infection (INF). Cette étude évalue la pertinence clinique de ces deux paramètres à trois mois post-TP

Méthodes :

Il s'agit d'une étude prospective incluant 73 receveurs de TP (LARA). Des échantillons ont été collectés à M1 et M3. Le dd-cfDNA est quantifié par NGS (AlloSeq cfDNA, CareDx) et le fragmentome caractérisé avec BIABooster (Adelis®). Les patients sont classés comme stables ou non stables (AR ou INF) selon les données cliniques.

Résultats :

À M3, les patients non stables présentent des taux de dd-cfDNA plus élevés que les stables (1,2 % vs 0,7 %, $p = 0,024$). Les RA sont associés à une élévation significative du dd-cfDNA (2,0 %) comparativement aux stables (0,7 %, $p = 0,026$) et aux infections (0,9 %, $p = 0,033$). L'analyse ROC montre une bonne performance du dd-cfDNA pour identifier le RA (AUC=0,889), avec un seuil $\leq 0,9$ % permettant d'exclure un rejet. En parallèle, la proportion de fragments courts (80–120 pb) est augmentée en cas d'INF, ce qui permet de distinguer ces événements des RA (AUC=0,776).

Conclusions :

Ces résultats confirment la valeur du dd-cfDNA comme outil de surveillance à M3 et montrent que dd-cfDNA et fragmentome peuvent être utilisés en parallèle selon la question clinique (exclure un RA ou identifier une INF), sans nécessairement suivre l'approche séquentielle appliquée à M1. Cette complémentarité ouvre la voie à une stratégie diagnostique plus flexible et adaptée au suivi post-transplantation, à confirmer dans des cohortes plus larges.



C10 - Approche qualitative de l'étude de l'ADNcf : apport du fragmentome et de l'ADN mitochondrial pour une meilleure compréhension du biomarqueur

Pascal Pedini^{1,2}, Alizée Sebastian^{2,3}, Benjamin Coiffard⁴, Vito Cinquepalmi⁵, Coralie Frassati^{1,2}, Emma Rateau¹, Agnes Basire¹, Jacques Chiaroni^{1,2}, Martine Reynaud Gaubert⁴, Christophe Picard^{1,2}

1. Laboratoire d'immunogénétique et d'histocompatibilité, Etablissement Français du Sang PACA Corse, Marseille, France
2. ADES UMR 7268, Aix Marseille Univ, Marseille, France
3. BeDia Genomics, Saint-Germain-en-Laye, France
4. Département de transplantation pulmonaire, APHM, Marseille, France
5. Yourgene Health, Manchester, United Kingdom

Introduction :

L'ADN circulant libre (ADNcf), et en particulier dérivé du donneur (dd-cfDNA), reflète le chimérisme donneur/receveur et constitue un biomarqueur prometteur en transplantation. Jusqu'ici étudié quantitativement, l'ADNcf peut aussi être exploré qualitativement, par l'analyse du fragmentome (courts fragments définis comme exogènes) et de l'origine nucléaire ou mitochondriale des fragments (ADNcf-mt impliqué dans les réponses immunitaires). Cette approche qualitative apparaît désormais indispensable pour mieux comprendre la nature même de ce nouveau biomarqueur et pour affiner les modalités de son utilisation.

Méthodes :

70 receveurs de transplantation pulmonaire (cohorte LARA) ont été étudiés. L'ADNcf est extrait par QIASymphony (Qiagen). L'ADNcf total et l'ADNcf-mt sont quantifiés par ddPCR (BioRad) à J0, J15 et J30. Une sélection de fragments courts (< 200 pb et < 180 pb) est réalisée avec LightBench (Yourgene Health), puis la proportion de dd-cfDNA est mesurée par NGS AlloSeqcfDNA (CareDx) avant et après sélection. Les patients sont classés comme stables ou non-stables (rejet aigu et/ou infection).

Résultats :

La sélection des fragments courts augmente significativement le dd-cfDNA : 0,88% (0,29–3,16%) avant sélection, 2,29% (0,22–8,47%) pour <200pb, et 7,88% (1,01–19,58%) pour <180pb ($p<0,0001$). Les taux d'ADNcf-mt ne diffèrent pas entre patients stables et non-stables (1302 vs 1183copies/ μ L), mais sont plus élevés en présence de DSA (1544 vs 1162, $p=0,048$). Des taux d'ADNcf-mt plus élevés à J0 sont associés à la mortalité à un an (2537 vs 1115copies/ μ L, $p=0,079$). Un seuil de 1285copies/ μ L (sensibilité et spécificité 80%) permettait d'exclure le risque décès avec une VPN de 97,1%.

Conclusion :

Ces résultats préliminaires suggèrent que l'ADNcf-mt reflète l'activité immunologique, est influencé par la présence de DSA et associé à la mortalité, soutenant son intérêt pronostique. L'enrichissement en fragments courts confirme leur origine donneur et valide la pertinence de l'approche de sélection de taille pour améliorer la détection du dd-cfDNA.



C11 - Delisting des antigènes interdits en Ile-de-France : optimiser la balance bénéfice–risque chez les patients

Cédric Usureau^{1,2,3}, Jérémy Siemowski¹, Véronique Letort³, Jean-Luc Taupin^{12*}

¹ Laboratoire d'Immunologie et Histocompatibilité, Hôpital Saint-Louis, AP-HP, Paris, France

² INSERM UMR976, Institut de Recherche Saint-Louis, Université Paris-Cité, Paris, France

³ MICS — Laboratoire de Mathématiques et Informatique, CentraleSupélec, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France

Introduction. Le retrait d'antigènes interdits, ou « Delisting », s'impose progressivement comme une stratégie pour augmenter l'accès à des propositions de greffons rénaux et, le cas échéant, à la transplantation rénale des patients hyper-immunisés. Son impact clinique reste toutefois à préciser. Depuis octobre 2019, les huit centres de transplantation d'Ile-de-France utilisent un système automatisé de delisting, permettant une mise à jour dynamique des listes d'antigènes interdits.

Matériels et méthodes. Nous avons analysé rétrospectivement 2418 candidats ayant bénéficié d'un delisting automatique entre octobre 2019 et mars 2025. Deux approches étaient appliquées : (i) une stratégie temporelle, limitant les antigènes interdits à ceux détectés dans les sérums les plus récents, et (ii) une stratégie dépendant du seuil de MFI, réintroduisant certains antigènes plus faiblement positifs. L'effet du delisting sur la probabilité d'accès à la greffe a été évalué par le ratio de variation du cPRA (cPRA Fold-Change ou cPRA-FC). Les impacts immunologiques (DSA) et clinique ont été étudiés chez les 804 patients transplantés après delisting.



Résultats. Le delisting améliorait significativement les chances de transplantation uniquement chez les patients avec un cPRA $\geq$ 97 %. À cPRA $\geq$ 99 %, un cPRA-FC >2 suffisait à accroître l'accès à la greffe, alors qu'un cPRA-FC >3 était nécessaire pour les patients à cPRA $\geq$ 98 %. Les pertes de greffon ou le décès du patient survenaient plus souvent en présence de DSA persistants MFI >2000 au moment de la greffe. À l'inverse, les DSA historiques passés avant la greffe à MFI <2000 réapparaissaient fréquemment après transplantation, sans impact significatif sur la survie.

Conclusion. Le delisting automatisé des antigènes interdits apparaît comme une stratégie prometteuse pour les patients hyper-immunisés, en particulier pour un cPRA $\geq$ 97%. Un delisting basé sur les seuls sérums des 3 dernières années, avec maintien du seuil classique MFI=2000, représente un bon compromis entre élargissement du pool de donneurs et risque immunologique.

C12 - Impact des anticorps anti-HLA-DP sur la survie du greffon rénal : gagne-t-on réellement à faire un typage DP systématique ?

S. Savari¹, N. Ben Nejma¹, Hajer Lamari¹, I. Sassi¹, S. Ben Boujemaa¹, Nebli R¹, MM. Bacha², H. Hedri², E. Abderrahim², T. Dhaoudi¹, Y. Gorgi¹, Imen Sfar¹

1 Laboratoire de recherche en Immunologie de la transplantation rénale et immunopathologie (LR03SP01), Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

2 Service de médecine interne A, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Introduction

Les incompatibilités HLA-DP constitueraient un facteur de risque de développement d'anticorps spécifiques du donneur (DSA) de novo et de rejet humoral. Néanmoins, l'impact clinique de ces alloanticorps demeure moins bien établi comparativement aux autres loci HLA classiques. L'objectif de cette étude était d'analyser la prévalence des anti-HLA-DP dans notre population de transplantés rénaux et d'évaluer l'impact des DSA anti-DP sur la fonction du greffon.

Matériels et méthodes

L'étude a porté sur les 179 patients chez lesquels des anti-DP ont été identifiés par technique Luminex (One Lambda®) entre 2015 et 2025 à l'hôpital Charles Nicolle. Les transplantés rénaux ont été identifiés parmi les patients présentant des anti-DP positifs (MFI ≥ 1000). Un typage HLA-DP a été effectué rétrospectivement par technique de PCR-SSO (Immucor®) afin de confirmer la nature DSA des anticorps détectés.

Résultats

La médiane des MFI des anti-DP était de 2523 chez les 36 transplantés rénaux de la cohorte. Le typage HLA-DP de 18 couples a été effectué. Les greffons provenaient de donneurs décédés dans 27,8% des cas et neuf patients avaient présenté un retour en hémodialyse secondaire à une dysfonction chronique du greffon. Six des patients étudiés présentaient des DSA anti-DP. La médiane des MFI des anti-DP dans ce groupe était de 5692. Tous avaient également des DSA dirigés contre d'autres loci HLA à l'exception d'un patient présentant des anti-DPB1 isolés. Des anti-DPA1*02:01 ont été identifiés chez 5 patients. L'origine du greffon n'était pas statistiquement associée au développement de DSA anti-HLA-DP ($p=0,6$). L'analyse statistique n'a pas révélé d'association significative entre la présence de DSA antiDPA1 ($p=0,294$), anti-DPB1 ($p=0,29$) ou anti-DP globalement ($p=0,62$) et le retour en hémodialyse.

Conclusion

Cette série souligne la fréquence des DSA anti-HLA-DP chez les transplantés rénaux tunisiens. Une étude prospective à plus large échelle est nécessaire pour déterminer la valeur pronostique de ces anticorps.



P1 - Perte d'hétérozygotie HLA post allogreffe haplo-identique

Laura AUBIN¹, Jean-Marc GROSSET¹, Orlane LEVALLOIS¹, Jean-Baptiste MEAR²

¹Laboratoire d'Immunogénétique leucocytaire et d'Immunologie plaquettaire, EFS L'Etablissement Français du Sang, Rennes, France

²Service d'Hématologie Clinique, CHU de Rennes, Rennes

Introduction : La perte génomique des molécules HLA de classe I, mécanisme d'échappement du système immunitaire est bien connue dans les cancers solides. Dans les pathologies hématologiques malignes, ce phénomène est très rare au diagnostic ; la perte d'hétérozygotie HLA (HLA-LOH) survient le plus fréquemment à la rechute post allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Cette perte d'une partie des molécules HLA du receveur est estimée à 10-30% des allogreffes avec mismatch (majoritairement des greffes haplo-identiques) et conduit à la résistance des cellules malignes à l'allo-réactivité des lymphocytes T. Il est important de dépister cette perte d'hétérozygotie pour adapter la prise en charge thérapeutique. A ce jour la technique de référence est la qPCR avec des marqueurs discriminants déterminés en fonction des haplotypes receveur/donneur. Le génotypage HLA par méthode NGS peut également permettre de diagnostiquer ce HLA-LOH.

Matériel et méthodes : Le chimérisme a été réalisé sur sang total et sur moelle par technique qPCR (QTRACE®) ou par NGS (AlloSeq HCT®). Pour l'étude HLA-LOH, deux marqueurs ont été testés en qPCR : H020 et H041 spécifiques de l'haplotype Receveur non partagé avec le Donneur ; et une technique NGS de confirmation a été utilisée (Holotype HLA™).

Résultats : Nous rapportons le cas d'un patient avec rechute HLA-LOH. Un homme de 38 ans atteint d'une LAM ELN défavorable a bénéficié d'une allogreffe haplo-identique avec les CSH recueillies par aphérèse chez sa fille. La rechute a été objectivée un an plus tard avec un chimérisme à 55.6% fraction receveur, rapidement évolutif. Les marqueurs HLA LOH testés ont été retrouvés à hauteur de 0.13% en qPCR. Le génotypage HLA par NGS a conforté ce résultat malgré une certaine vigilance à adopter.

Conclusion : Les 2 méthodes sont adaptées pour la recherche d'une rechute HLA-LOH avec toutefois des précautions à prendre concernant le NGS.

P2 - Déséquilibre de liaison rare : DRB1*01 avec DRB5 (DR51) chez un enfant atteint d'aplasie médullaire

Youssef Diraneh^{1,2*}, Kaoutar El Morabit^{1,2}, Sanae Ouadghiri^{1,2}, Youssef Aomari^{1,2}, Anass Aomari^{1,2}, Ouafa Atouf^{1,2}

¹ Service d'immunologie et de thérapie cellulaire, Hôpital d'Enfants, CHU Ibn Sina, Rabat, Maroc

² UPR d'immunologie, Université de Médecine et de Pharmacie, Rabat, Maroc

Introduction :

Le système HLA est l'un des plus polymorphes du génome humain et joue un rôle majeur dans la compatibilité en transplantation. Les associations alléliques de la région HLA-DR suivent généralement des schémas conservés, en lien avec le déséquilibre de liaison. L'allèle DRB5 est habituellement associé aux haplotypes DRB1*15 et DRB1*16. Cependant, son association avec DRB1*01, bien que décrite, demeure exceptionnelle. L'objectif de notre travail est d'évaluer la fréquence de cette association DRB1*01/ DRB5.

Matériel et méthodes :

Nous avons exploité les données de typage HLA des donneurs et des patients testés entre 2020 et 2025. Le typage HLA a été réalisé par la technique LinkSeq®, et l'interprétation des résultats par le logiciel SureTyper® (version 6.1.8). Un seul cas a été identifié et fait l'objet du présent rapport. Il s'agit d'un enfant âgé de six ans, atteint d'aplasie médullaire sévère, adressé à notre laboratoire pour un typage HLA dans le cadre d'une allogreffe de moelle osseuse. Le typage HLA a été confirmé sur un second prélèvement.

Résultats :

Le typage HLA a été sans ambiguïté pour les loci A, B, C, DR et DQ. Toutefois, le patient présentait le profil suivant : DRB1*01/DRB5 (DR51) et DRB1*07/DRB4*01 (DR53). Cette combinaison allélique n'a pas été répertoriée dans la base de données IPD-IMGT/HLA, sur laquelle s'appuie le logiciel SureTyper® (version 6.1.8).



Conclusion :

Ce cas met en évidence un déséquilibre de liaison rare entre **DRB1*01 et DRB5**, exceptionnel dans notre population. Il souligne l'importance du typage HLA de haute résolution en transplantation, non seulement pour optimiser la sélection des donneurs, mais aussi pour enrichir les bases de données internationales et approfondir la compréhension de la variabilité des haplotypes HLA.

P3 - Evaluation d'écouvillons de cellules jugales pour le typage HLA des patients en attente de greffe de Cellules Souches hématopoïétiques

L. GREGORIO, J. BESSONNAT*, **C. PUGET**, T. KOSTIC, M. GERARD, F. LARNAUD, C. DARD.

Laboratoire HLA, EFS Grenoble

La recherche d'un donneur de Cellules Souches Hématopoïétiques repose sur le typage HLA des patients en attente de greffe. Chez les patients atteints d'hémopathies malignes, en particulier ceux fortement blastiques, des anomalies chromosomiques affectant les leucocytes peuvent compromettre la fiabilité du typage HLA réalisé sur sang périphérique. Les prélèvements salivaires, riches en leucocytes, peuvent également présenter ce risque. Cette étude a évalué l'utilisation de cellules jugales, prélevées par écouvillons buccaux, comme source d'ADN pour le typage HLA. Trois dispositifs ont été comparés : OCR-100 (DNA Genotek®), Floqswab (Copan®) et PureFlock Ultra (Puritan®). Les critères d'évaluation incluaient la quantité et qualité d'ADN extrait avec l'automate Chemagic, la conformité du typage HLA obtenu par séquençage de nouvelle génération (NGS) et la stabilité de l'ADN en cours du temps. Huit prélèvements de cellules jugales ont été effectués pour chaque type d'écouvillon. L'écouvillon OCR-100 a permis d'obtenir des concentrations d'ADN significativement plus élevées ($m = 127,7 \text{ ng}/\mu\text{l}$) comparé aux Floqswab ($61,5 \text{ ng}/\mu\text{l}$) et PureFlock ($53,3 \text{ ng}/\mu\text{l}$) ($p < 0.05$), avec des rapports A260/A280 attestant d'une bonne pureté ($1,79 - 1,89$ pour OCR-100, versus $1,79 - 1,93$ pour Floqswab et $1,73 - 1,84$ pour PureFlock). Les typages HLA réalisés à J5 ont montré une concordance parfaite avec les typages de référence sur les 11 loci. Aucune différence significative de quantité et pureté d'ADN n'a été observée entre les ADN extraits à J0 et J5 après le prélèvement. Les écouvillons OCR-100, associés à une extraction automatisée, semblent offrir une alternative fiable au sang périphérique pour le typage HLA chez les patients atteints d'hémopathies. Une analyse cytologique des cellules buccales prélevées par OCR-100 a confirmé une prédominance de cellules épithéliales dans ces échantillons, ce qui a confirmé les données bibliographiques. Cette référence d'écouvillon a donc été sélectionnée pour une utilisation en routine et sa validation se poursuit sur un plus grand effectif

P4 - Un nouvel allèle issu de recombinaison intergénique DRB1 / DRB3 mis en évidence par le nouveau kit NanoTYPE HLA-11 Plus

Romulo VIANA¹, **Gregory WERNER**², Anne LAFFONT³, Ophélie FERRARY³, Pascale LAFONT⁴

1 Werfen Brazil, 2 Werfen Technology Center Budapest, 3 Centre Hospitalier Universitaire La Réunion 4 Werfen France

Introduction L'île de La Réunion abrite une population hautement métissée, offrant une diversité génétique. Dans le cas présent, quatre échantillons non apparentés présentaient des résultats contradictoires selon la technologie utilisée. Nous présentons dans ce poster un nouvel allèle issu d'une recombinaison entre DRB1 et DRB3, identifié grâce au nouveau kit NanoTYPE HLA-11 Plus (« NanoTYPE+ »).

Méthodes et Résultats À l'aide du test NanoTYPE HLA-11 Plus (RUO) qui utilise la technologie Nanopore, nous avons identifié un nouvel allèle HLA de classe II chez quatre individus non apparentés de La Réunion. Cet allèle résulte d'une recombinaison intergénique entre HLA-DRB1*13:02:01 et DRB3*03:01:01. L'analyse de séquence a montré une correspondance avec DRB1*13:02:01 du 5' UTR jusqu'à l'Intron 1 (position IMGT 7586), après quoi la séquence correspond à DRB3*03:01:01 jusqu'au 3'UTR. Le point de recombinaison est localisé en fin d'intron 1. Grâce au phasage complet, l'essai NanoTYPE a permis de résoudre cet événement, en particulier entre les Exons 1 et 2. Le cadre de lecture est conservé et les données sérologiques suggèrent une expression potentielle. L'Exon 2, codant pour le site de liaison de l'antigène, provient de DRB3*03:01:01 (spécificité DR52), tandis que l'Exon 1 dérive de DRB1*13:02:01. Aucun read de l'Exon 1 de DRB3 n'a été détecté, soutenant l'hypothèse que cet allèle est localisé au locus DRB1 et l'absence de DRB3.

Discussion et Conclusion D'autres plateformes de typage (RT-PCR, SSO, NGS) n'ont pas permis de résoudre cet allèle, signalant soit une absence de DRB1, soit une fausse détection de DRB3. En revanche, NanoTYPE+ a identifié la séquence comme nouvelle, permettant sa caractérisation. Des études familiales sont en cours pour confirmer la zygoté et le contexte

génomique, les données actuelles ne permettant pas de distinguer avec certitude entre une absence de DRB3 ou une duplication de l'allèle nouveau au locus DRB1

P5 - NGS Turbo® : une approche optimisée pour le typage HLA en haute résolution dans un contexte d'urgence

Agnès Prulhière¹, Sandra Clément², Emilie Leroy¹, Mathilde Seniquette¹, Muriel Trotot², Charlotte Schueller², Lucie Thène², Michaël Pérès², Richard Lemal¹, Paul Rouzaire¹, Alice Aarnink² et **Lucie Blandin**¹

¹Service d'Histocompatibilité & d'Immunogénétique, CHU de Clermont-Ferrand, France

²Laboratoire d'Histocompatibilité, CHRU de Nancy, France

Introduction : L'activité de prélèvement d'organes nécessite la réalisation de génotypages HLA en urgence. La plupart des techniques utilisées aujourd'hui en France (PCR SSP), du fait de leur rapidité, présente toutefois une résolution intermédiaire, et nécessite un typage de confirmation en NGS. Nous évaluons ici une nouvelle approche, la trousse *NGS Turbo*® (réactifs GenDx, technologie de séquençage *Oxford Nanopore*), visant à concilier haute résolution et rapidité, en comparaison avec les techniques *Linkseq* et des séquençage NGS conventionnels *Illumina : Alltype Fastplex (One Lambda)* et *NGSgo MX11-3 (GenDx)*.

Matériel et méthodes : 84 donneurs a été inclus : 46 donneurs ont été analysés au CHU de Clermont-Ferrand et 38 au CHU de Nancy.

Pour Clermont-Ferrand, le *NGS Turbo*® a été comparé aux résultats de 46 typages *Linkseq* réalisés de façon consécutive, et confirmé secondairement par *NGSgo MX11-3 Illumina* pour les 27 donneurs ayant donné lieu à une greffe sur Clermont-Ferrand. L'ADN provenait exclusivement de sang périphérique.

A Nancy, les analyses ont été effectuées dans le cadre d'une validation de méthode, à partir d'ADN extrait d'échantillons de sang, de rate ou de ganglions. Ils ont été comparés à des typages *Linkseq +/- NGS Alltype Fastplex (OL) +/- PCR-SSO*.

Résultats : Aucune discordance significative n'a été observée entre le typage effectué par *NGS Turbo*® et les techniques de typage usuelles. Deux drop-outs observés avec les techniques NGS *short-read* (un chez *GenDx* et un chez *OL*) ont été éliminés par l'approche *NGS Turbo*®. Le temps moyen de réalisation du *NGS Turbo*® dans les deux centres était < à 4 heures (extraction incluse), compatible avec un contexte d'urgence.

Conclusion : Le *NGS Turbo*® apparaît comme une méthode fiable, robuste et de haute résolution et suffisamment rapide pour permettre sa réalisation dans des délais compatibles avec un contexte d'urgence.

POSTERS ORGANE ET ANTICORPS ANTI-HLA

P6 - Evaluation de l'impact du décochage sur l'accès à la greffe des hyperimmunisés en attente de transplantation rénale grâce à un nouvel outil bio-informatique

Thomas Thorignac¹, Jean-Baptiste Baudey, Théo Marchal, Agnès Basire, Pascal Pedini, Lucas Hubert.

¹Établissement Français du Sang Provence Alpes Côte d'Azur-Corse, Laboratoire d'immunogénétique, F-13005 Marseille, France

Introduction : L'accès à la transplantation rénale des patients hyperimmunisés peut être amélioré chez certains patients inscrits sur liste depuis longtemps et présentant une désensibilisation naturelle. L'objectif de cette étude est de tester l'impact de différentes stratégies de décochage chez ces patients à l'aide d'un nouvel outil bio-informatique.

Matériels et méthodes : Les patients hyperimmunisés (TGI_h>85%) inscrits sur la liste d'attente du centre de greffe de l'Hôpital de la Conception de Marseille depuis plus de 3 ans ont été inclus (n = 63). Un outils bio-informatique a été développé afin de déterminer automatiquement et de manière sécurisé les antigènes à décocher à partir d'extractions de l'ensemble des données disponibles de HLA Fusion®. Trois stratégies de décochage ont été testées : MFI < 500 ou 1000 ou 2000 depuis au moins 3 ans (hors anticorps > 10000 et DSA d'un greffon antérieur). Le TGI (A, B, DR, DQ) a été calculé par EuroTransplant vPRA avant et après décochage.

Résultats : Le TGI moyen avant décochage était de 98.8%. Le gain moyen de TGI est de 0.65% au seuil de 500, 1.02% au seuil de 1 000 et 1.66% au seuil de 2 000. Le gain moyen de TGI n'est pas statistiquement différent selon la stratégie. Seuls 5 patients sur 63 ont eu une diminution de TGI > 5%, le gain le plus important étant de 28.4%.



Conclusion : Ces résultats montrent l'intérêt d'utiliser ce nouvel outil périodiquement pour faire bénéficier tous les hyperimmunisés de cette stratégie de décochage habituellement réalisée au cas par cas. Bien que l'on observe une faible diminution du TGI après décochage dans les trois stratégies testées, l'accès à la greffe peut être nettement amélioré pour certains patients. En l'absence de recommandations, l'évaluation du risque immunologique associé au décochage doit toujours faire l'objet d'une discussion clinico-biologique.

P7 - Le remplacement du Luminex 200 par le Flexmap 3D modifie-t-il significativement les TGI/PRA des patients et impacte-t-il l'accès à la greffe des patients ?

Ingrid Guivarc'h¹, Marie Gérard¹, Sandrine Paul², Laura Boinon², Céline Dard^{1,3}, Valérie Dubois²

1. Laboratoire HLA de Grenoble, EFS AURA, France

2. Laboratoire HLA de Décines, EFS AURA, France

3. Univ. Grenoble Alpes, CNRS UMR 5309, Inserm U1209, Institute for Advanced Biosciences, 38000 Grenoble, France

Introduction : Le remplacement des automates Luminex200 par des Flexmap3D dans les laboratoires HLA de Grenoble et Lyon est actuellement à l'étude. Ces automates sont utilisés pour l'identification des anticorps antiHLA avec les kits LSA1 et LSA2 de Werfen. En pré-greffe, ces résultats permettent de définir les antigènes interdits dans CRISTAL, en fonction des spécificités positives et de leurs valeurs de MFI. Bien que reposant tous deux sur le principe de cytométrie en flux et l'utilisation de billes fluorescentes, ces deux automates diffèrent par leur configuration technique. Ainsi, le Flexmap 3D génère des MFIs plus élevées, pouvant augmenter les TGI/PRA des patients et ainsi diminuer leur accès à la greffe. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'impact potentiel de ce changement d'automate sur l'accès à la greffe et d'identifier les éventuels ajustements nécessaires pour préserver ce niveau d'accès.

Matériel et méthodes : Trois types d'échantillons ont été analysés : les EEQ de la SFHI, les CIQ et témoins positifs, ainsi que des sérums de patients présentant différents degrés d'immunisation anti-HLA. Chaque échantillon a été testé en parallèle sur les deux automates. Les PRA ont ensuite été calculés avec le module cPRAdictor de la SFHI, en utilisant différents seuils d'interdiction des antigènes : MFI=500, 1000, 2000 et 3000. Une comparaison des PRA obtenus entre le Luminex 200 et le Flexmap3D et a ensuite été réalisée.

Résultats : L'analyse des données est actuellement en cours et les résultats détaillés seront présentés dans le poster, incluant des analyses statistiques mesurant la corrélation entre les PRA obtenus sur Luminex200 et Flexmap3D, ainsi qu'une estimation de l'impact potentiel sur l'accès à la greffe.

Conclusion : Cette étude nous permettra de conclure si le Flexmap3D peut remplacer le Luminex200 tout en garantissant une continuité dans l'accès à la greffe dans les CHU de Grenoble et Lyon.

P8 - Etude anthropobiologique de la diversité génétique du polymorphisme HLA de la population Calédonienne et impact sur l'accès à la greffe des patients en attente de greffe de rein

Maxime RAZ¹, Patrice DUNOYER¹, Justine DEMORTIER¹, Axelle LASCAUX¹, Jean-Luc TAUPIN², Cédric USUREAU², Nisem CHEROUAT³, **Coralie FRASSATI**^{3,4}, Christophe PICARD⁴, Pascal PEDINI^{3,4}

1. Service de Transfusion Sanguine, Centre Hospitalier Gaston-Bourret, Nouméa, Nouvelle-Calédonie, France.

2. Laboratoire d'Immunologie et Histocompatibilité, Hôpital Saint Louis, Paris, France

3. Laboratoire d'Immunogénétique, , Établissement Français du Sang, Marseille, France.

4. ADES UMR 7268, Aix-Marseille Université, Marseille, France.

Introduction : L'insuffisance rénale chronique constitue un problème majeur en Nouvelle-Calédonie. La population Calédonienne est répartie en différentes communautés dont la principale est Océanienne (Kanak, Wallisienne ou Futunienne). Les typages HLA montrent des fréquences des haplotypes différente de celles observées en Métropole. Une proportion importante de ces patients est immunisée anti-HLA.

Une meilleure connaissance de la diversité génétique au sein de cette population permettrait de développer un outil pour calculer un PRA local océanien et d'orienter les patients en attente de greffe rénale.

Matériels et Méthodes : 200 donneurs de sang d'origine Océanienne sont recrutés par le Centre du Don de Nouvelle-Calédonie. L'origine est déterminée par un questionnaire conforme aux recommandations des études anthropologiques. Les génotypes HLA sont réalisés par le laboratoire d'immunogénétique du STS par une technique TGS Nanopore (NanoType), les génotypes HLA

sont confirmés par technique NGS (NG-Mix) par le laboratoire HLA EFS PACA-Corse . L'analyse descriptive et anthropologique des 200 génotypes HLA Océaniens seront réalisées par l'EFS PACA-Corse. Un outil de prédiction d'un PRA local sera créé sur le modèle de SFHI cPRA calculator . Cette étude bénéficie d'un financement de l'ABM.

Résultats : Les 100 premiers génotypes HLA confirment que la fréquence des allèles est singulière dans la population Océanienne (fréquence élevée de *HLA-A*11*, *A*24*, *B*56*, *C*04:82*). Les résultats partiels montrent une excellente corrélation entre la TGS Oxford Nanopore Technologies® et la NGS NG-Mix et ne relève pas de difficultés sur les génotypes homozygotes.

Discussion / conclusion : Ces premiers résultats sont conformes avec les données anthropologiques publiées (1). L'inclusion des donneurs se poursuit (150 donneurs inclus à ce jour). La technologie TGS ONT paraît adaptée aux petits laboratoires HLA et aux petites populations. À terme, l'implémentation au SFHI cPRA calculator permettra la comparaison du cPRA Océanien versus cPRA métropolitain. Enfin, l'étude se poursuivra par l'analyse du polymorphisme HLA non classique.

1. Loh L, Saunders PM, Faoro C, Font-Porterias N, Nemat-Gorgani N, Harrison GF, et al. An archaic HLA class I receptor allele diversifies natural killer cell-driven immunity in First Nations peoples of Oceania. *Cell*. 2024 Nov 27;187(24):7008-7024.e19.

P9 - Le statut HLA-B Leader comme marqueur prédictif de la réplication du polyomavirus BK en post transplantation rénale

Aurélien AUBRY¹, Baptiste DEMEY¹, François HELLE¹, **Judith DESOUTTER**², Julien LION², Etienne BROCHOT¹, Nicolas GUILLAUME*²

1. Laboratoire de Virologie, CHU Amiens – AGIR-UR UPJV 4294, Amiens
2. Laboratoire HLA, CHU Amiens –HEMATIM UR UPJV 4666, Amiens

Introduction : Le polyomavirus BK (BKPyV) est capable de se répliquer chez les patients transplantés rénaux en raison d'un équilibre délicat entre le système immunitaire et le BKPyV, virus persistant au niveau rénal. Les facteurs de risque de réplication sont encore mal compris. Le seul traitement anti-BKPyV reste la modulation des immunosuppresseurs et donc le risque de rejet du greffon. Parmi les facteurs génétiques qui pourraient moduler la réponse antivirale, la divergence évolutive des allèles HLA (HED), d'une part, reflète l'étendue de peptides que le système HLA est capable de présenter. D'autre part, le génotype B leader (MM, MT ou TT), codé par HLA-B, influence l'activation des cellules NK via HLA-E.

Matériel et Méthodes : 306 greffes rénales effectuées au CHU Amiens-Picardie entre 2019 et 2023 ont été étudiées. Le typage HLA haute résolution était disponible pour les receveurs (NGS). Pour les donneurs, typés en basse résolution (Q-PCR), les allèles HLA ont été imputés par HaploSFHI. Le calcul de l'HED a été réalisé pour les loci A, B, C, DRB1 et DQB1 (<https://txor.shinyapps.io/ched/>), le statut B leader par HLA-B leader Tool (<https://www.ebi.ac.uk/ipd/>). La réplication du BKPyV était définie par la présence d'une PCR >7 log₁₀ copies/mL dans les urines ou une ADNémie au cours de la première année post-transplantation.

Résultats : En analyse multivariée, un mismatch B leader entre le donneur et le receveur était significativement associé à une protection contre le BKPyV (OR = 0,49 ; p = 0,02). Il n'y a pas de significativité de l'HED pour les loci étudiés.

Conclusion : Le statut B leader pourrait donc être un biomarqueur prédictif du risque de réplication du BKPyV en post transplantation rénale. À noter qu'aucune association n'a été retrouvée pour cette cohorte entre ces données génétiques et l'infection à CMV.

P10 -Carcinome urothélial d'un patient transplanté rénal : identification de l'origine « donneur » de la tumeur par une technique de chimérisme

Marine UHL¹, Jean-René TESSON², Camille ROTTIER³, **Judith DESOUTTER**⁴, Philippe DE SOUSA¹, Nicolas GUILLAUME*⁴

1. Service d'Urologie Transplantation, CHU Amiens
2. Service d'Anatomopathologie, CHU Amiens
3. Laboratoire d'oncobiologie moléculaire, CHU Amiens
4. Laboratoire HLA, CHU Amiens

Introduction : Le carcinome urothélial est un cancer de la paroi urothéliale se situant dans la majorité des cas dans la vessie mais pouvant se développer dans toute la voie excrétrice supérieure. Son incidence chez le transplanté rénal est trois fois plus élevée



que dans la population générale, les principaux facteurs de risque spécifiques des transplantés sont la néphropathie à l'acide aristoloïque, l'infection à BK virus et le virus HPV. Après découverte chez un transplanté rénal, d'un carcinome urothélial papillaire, non infiltrant, classé pTa de haut grade, intéressant le greffon ; nous décrivons ici les investigations biologiques réalisées pour en définir l'origine donneur ou receveur.

Matériel et méthodes : Pour définir l'origine donneur ou receveur de la tumeur, nous avons réalisé une technique de chimérisme par PCR quantitative (QTRACE™, JETA Molecular®). Les marqueurs indel d'intérêt différenciant le donneur et le receveur ont été déterminés sur les deux ADN respectifs recueillis en pré-greffe. Après sélection d'un marqueur spécifique du donneur et un marqueur spécifique du receveur, l'analyse de quantification du chimérisme a été réalisée sur les ADN des deux lésions biopsiées incluses en bloc de paraffine (l'une vésicale et l'autre pyélique).

Résultat : La lésion pyélique (« organe donneur ») montre un chimérisme donneur supérieur à 99%. La lésion vésicale (« organe receveur ») montre un chimérisme mixte mais à majorité donneur (supérieure à 60%)

Conclusion : Par cette analyse de chimérisme, à partir de deux pièces opératoires paraffinées, nous avons pu définir l'origine « donneur » de la tumeur. Ce diagnostic permet d'organiser la surveillance des autres organes du même donneur prélevés et greffés.



POSTERS TRANSFUSION ET IMMUNOGÉNÉTIQUE

P11 - Alloimmunisation anti HLA après transfusion de granulocytes chez les patients atteints de granulomatose chronique

Pascal PEDINI^{1,2,3}, Cédric USUREAU⁴, Marie Joëlle APITHY⁵, Thibault PAJOT⁶, Virginie DE LA TAILLE², Syria LAPERCHÉ², Pierre TIBERGHEN⁷

- (1) Laboratoire d'immunogénétique et histocompatibilité, EFS PACA Corse - Marseille
- (2) Direction médicale, EFS
- (3) Aix Marseille Univ UMR ADES 7268, CNRS, EFS
- (4) Laboratoire d'immunologie et histocompatibilité, Hôpital Saint-Louis, APHP – Paris
- (5) Laboratoire d'immunogénétique et histocompatibilité, EFS GEST - Strasbourg
- (6) Institut d'immunologie-HLA, CHU de Lille
- (7) EFS, UMR RIGHT 1098 INSERM/UFC/EFES, EBA, ISBT

Introduction

La granulomatose septique chronique (GSC) est une maladie génétique rare et potentiellement mortelle, liée à une mutation du gène CYBB altérant l'activité de la NADPH oxydase, essentielle à la destruction des pathogènes par les cellules myéloïdes. Les patients présentent des infections récidivantes (peau, poumons, foie...) et des manifestations inflammatoires sans immunodéficience lymphoïde. En cas d'infections sévères, des transfusions de granulocytes peuvent être proposées, en complément d'un traitement anti-infectieux. Cependant, dès 1996 [1], elles ont été identifiées comme un facteur de risque d'immunisation anti-HLA susceptible de compromettre une greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH).

Matériel et Méthode

Nous avons évalué l'immunisation anti-HLA post-transfusionnelle chez 7 patients atteints de GSC ayant reçu des concentrés de granulocytes entre 2018 et 2022. Les anticorps anti-HLA ont été détectés par Luminex (OneLambda), avant et après transfusion, et l'ampleur de l'immunisation estimée via le PRA virtuel (outil cPRAdictor [2]).

Résultats

Tous les patients étaient de sexe masculin (âge moyen : 16 ans). Trois ont reçu des CGA (Concentrés de Granulocytes d'Aphérèse), quatre des MCGST (Mélange de Concentrés de Granulocytes issus du sang total). Trois patients (2 CGA, 1 MCGST) ont développé des anticorps anti-HLA post-transfusion. Deux, peu immunisés initialement (PRA = 0–9 %), sont devenus hyperimmunisés (PRA = 98–99 %). Un patient en attente de greffe, déjà immunisé (PRA = 83 %), a développé des anticorps dirigés contre son donneur (MFI = 1000) ; la greffe a été réalisée et s'est déroulée sans échec de greffe.

Discussion / Conclusion

Ces résultats montrent que les patients GSC peuvent développer une allo-immunisation anti-HLA significative. Il est donc essentiel d'évaluer ce risque en amont, et d'étendre l'étude à d'autres patients et cibles (ex. HNA), notamment via l'étude multicentrique internationale BEST.

1. Stroncek DF, Leonard K, Eiber G, Malech HL, Gallin JI, Leitman SF. Alloimmunization after granulocyte transfusions. *Transfusion (Paris)* (1996) 36:1009–1015. doi: 10.1046/j.1537-2995.1996.3611297091747.x

2. Usureau C, Lhotte R, Clichet V, Foroutan A, Devriese M, Taupin J-L. Refining cPRA calculation to improve HLA compatibility assessment in organ transplantation: A detailed picture of the Paris waiting list. *HLA* (2024) 104:e15675. doi: 10.1111/tan.15675



P12 - HLA B27 : Exploration de 2 cas de discordances inter techniques, étude d'impact et action corrective.

Stéphanie Malard*, Franck Hermet, Nadine Litou, Ramdane Mallek, Angélique Neu, Michel Pinheiro-Fazenda, Sophie Zimmer, Aurélie Driss Corbin.

Pôle Biochimie, Immunologie, Pharmaco-toxicologie, LABORATOIRE CERBA, ZAC DES EPINEAUX, 10-12 Avenue ROLLAND MORENO, CS 51312 ; 95740 FREPILLON ;

La recherche de l'allèle HLA-B*27 constitue un outil majeur dans le diagnostic des spondylarthropathies, notamment en l'absence de signes radiologiques évocateurs. Depuis mai 2023, nous utilisons le kit BD™ HLA-B27 (CE-IVD) en cytométrie en flux (CMF), méthode accréditée Cofrac. Une zone "indéterminée" a été définie pour des valeurs d'intensité de fluorescence moyenne (MFI) comprises entre 134 et 154, le seuil de positivité étant fixé à 154. En cas de résultat douteux, positif ou sur demande spécifique, une recherche de l'allèle HLA-B*27 est réalisée par PCR en temps réel (lecture en point final), technique maison accréditée et en usage depuis mars 2011. Le seuil de positivité est fixé pour un Ct ≤ 30 . Nous avons récemment observé deux discordances entre CMF et PCR. Le premier cas concernait un patient avec une MFI à 133 (résultat négatif) mais un Ct à 23,67 (résultat positif). Le second, issu d'un contrôle de qualité externe (CQE), présentait une MFI à 122 (résultat négatif), et un Ct à 24,06 (résultat positif). Dans les deux situations, l'analyse par PCR-NGS (AllType Fastplex™, Thermo Fisher) a confirmé la présence de l'allèle HLAB*27:03. Une revue rétrospective des échantillons analysés par les deux méthodes (environ 1 % des dossiers) n'a révélé aucune autre discordance. Les CQE rendus depuis l'implémentation du kit BD sont conformes. L'allèle B*27:03 se distingue des autres allèles B*27 par la substitution d'une histidine en position 59, induisant des modifications conformationnelles réduisant l'accessibilité de la cystéine 67 (Lim Kam Sian, 2009), cible du clone GS145.2 utilisé dans le kit BD. Afin d'améliorer la détection de cet allèle, nous étudions le réajustement de notre seuil de positivité en CMF, acceptant une légère diminution de la spécificité au profit d'une meilleure sensibilité.

P13 - Sélection de produits transfusionnels pour limiter l'immunisation HLA avant allogreffe de cellules souches hématopoïétiques avec donneur mismatch

Roberto Crocchiolo, Maude Avias, Caroline Baud, Laure Croisille, Marion Francois, Nicolas Guillaume, Elham Harfouch, Thibault Pajot, Pascal Pedini, Elodie Wojciechowski, Leonardo Magro, **Valérie Dubois**

L'augmentation des allogreffes non HLA identiques, due à l'emploi de la prophylaxie avec cyclophosphamide post-greffe, a mis en évidence l'impact de la présence d'anticorps anti-HLA chez le receveur, en particulier ceux dirigés contre les antigènes du donneur (DSA) en tant que facteur de risque supplémentaire pour la réussite de la greffe. La transfusion de produits sanguins labiles, en particulier de concentrés plaquettaires, est une source d'immunisation anti-HLA et les patients en attente d'allogreffe sont exposés à un risque accru d'immunisation dû à leurs besoins transfusionnels importants. Cet atelier a rassemblé des experts en immunogénétique et en médecine transfusionnelle afin d'aborder la question de la prévention de l'immunisation anti-HLA chez les patients en attente d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques non HLA identique, à travers la sélection des concentrés plaquettaires adaptés et donc de préserver le donneur sélectionné et d'optimiser les chances de prise de greffe. Les nouvelles recommandations s'appuient sur une analyse bibliographique, sur des recommandations internationales, européennes et françaises, sur l'expérience des équipes constituant le groupe de travail ainsi que sur le résultat de questionnaires de pratiques envoyés aux laboratoires HLA associés à des centres de greffe adultes ou pédiatriques.

Malgré le manque de preuves scientifiques, de recommandations internationales et une pratique limitée, les études de cohorte montrent qu'il existe un potentiel intérêt à discuter d'une stratégie transfusionnelle préventive de l'alloimmunisation HLA chez certains patients en attente d'allogreffe de CSH avec mismatch classe I, notamment chez le receveur immunisé HLA présentant un état réfractaire immunologique avéré à la transfusion plaquettaire et bénéficiant déjà de transfusion avec des concentrés plaquettaires issus d'aphérèse HLA compatibles. Le choix de la stratégie transfusionnelle doit être établi par chaque centre ainsi que la définition des seuils transfusionnels qui sont déterminants pour limiter le risque d'immunisation et l'apparition de DSA contre le donneur sélectionné.



P15 - Campus EFS en HLA/HPA : Aperçu du programme et Bilan 2022-2025

Isabelle GAUBERT¹, Gérald BERTRAND², Pascal PEDINI²

1. EFS Campus, Etablissement Français du Sang, France
2. Responsable pédagogique adjoint, thématique *HLA et immunologie plaquettaire*, Campus EFS, Etablissement Français du Sang, France

Introduction :

Campus EFS, acteur de la formation en transfusion sanguine depuis plus de 20 ans est certifié QUALIOPI. Plusieurs modules sont proposés à un large public, en particulier les techniciens de laboratoire, biologistes médicaux, médecins ... Dans les domaines de l'immunogénétique-histocompatibilité, deux modules existent (HLA01: complexe majeur d'histocompatibilité et HLA02: donneurs de cellules souches hématopoïétiques et greffe), et un module d'immunologie plaquettaire (IP01: immunologie plaquettaire). Les formations sont dispensées par des experts EFS et des enseignants hospitalo-universitaires, historiquement sur deux sites, et un troisième depuis 2024.

Cette étude analyse la fréquentation et la satisfaction des apprenants sur la période 2022-2025.

Matériel et Méthodes :

Chaque module est évalué par les participants selon dix critères regroupés en quatre axes : organisation, pédagogie, utilité professionnelle et appréciation générale. Les données sont issues de la revue annuelle Campus EFS.

Résultats :

Le module HLA01 (2,5 jours) a réuni 70 participants (61 techniciens, 9 biologistes) avec une satisfaction moyenne de 3,62/4. Il est décliné en sous-modules (système HLA & méthodes de laboratoire, greffe d'organes et transfusion, greffe de CSH). Le module HLA02 (2 jours) a formé 51 apprenants (48 techniciens/secrétaires, 3 médecins), avec une satisfaction de 3,76/4. Enfin, le module IP01 (2,5 jours), suivi par 76 participants (62 techniciens, 14 biologistes), propose trois sous-modules (thrombopénies fœtales et néonatales d'origine immune, immunisations anti-HPA et glycoprotéines plaquettaires, HLA et transfusion). La satisfaction moyenne est de 3,74/4.

Conclusion :

Entre 2022 et 2025, 197 professionnels ont été formés par Campus EFS dans les domaines du HLA/HPA. Ces thématiques sont également intégrées à d'autres modules liés à la délivrance de PSL et l'hémovigilance. Campus EFS proposera en 2026 un module transversal HLA03 « HLA/HPA/HNA », ainsi qu'un module pilote « HLA complexe » (HLA04), destiné à approfondir les connaissances des participants ayant suivi les niveaux précédents.

