

# TRALI / Ac anti-HLA / Sélection des donneurs

TUNEZ Virginie

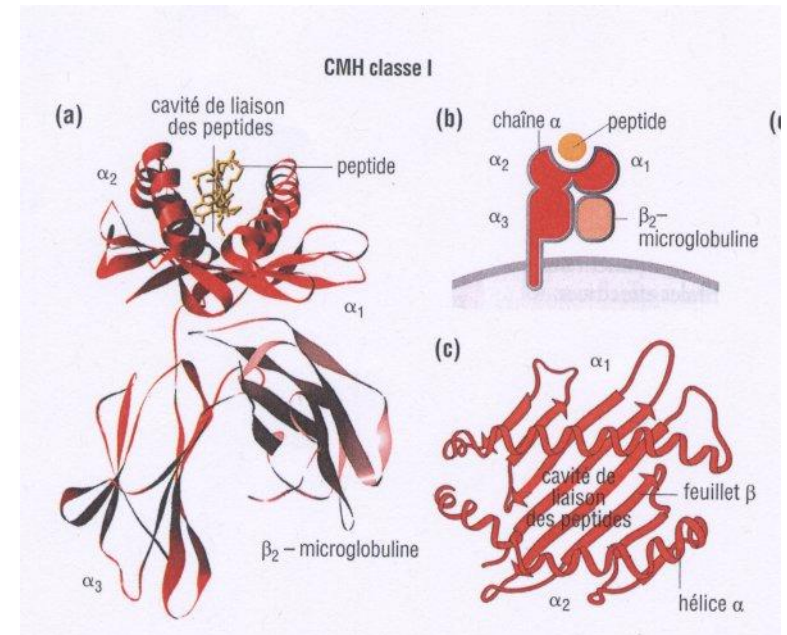
## LE SYSTEME HLA (1)

- HLA = Human Leucocyte Antigen
- CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) : ensemble des gènes codant les molécules CMH
- Molécules CMH dites de classe I et de classe II : protéines membranaires qui lient et présentent des fragments peptidiques antigéniques, captés dans la cellule
- Rôle physiologique : présentation d'Ag aux LcT
- Polymorphisme : → système multigénique, multiallélique et codominant  
→ processus d'adaptation à l'environnement

## LE SYSTEME HLA (2)

### Structure de la classe I

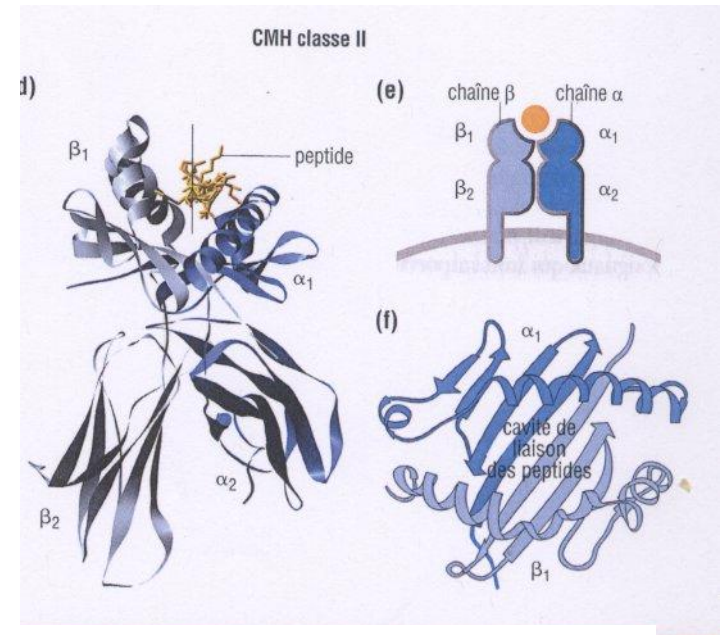
- exprimées à la surface de toutes les cellules nucléées du corps
- 1 chaîne  $\alpha$  (3 domaines) + 1 chaîne  $\beta$  ( $\beta_2$  microglobuline)
- Fonction : présentation d'Ag provenant de pathogènes qui se sont répliqués dans le cytoplasme
- reconnues par les LcT cytotoxiques (CD8)



## LE SYSTEME HLA (3)

### Structure de la classe II

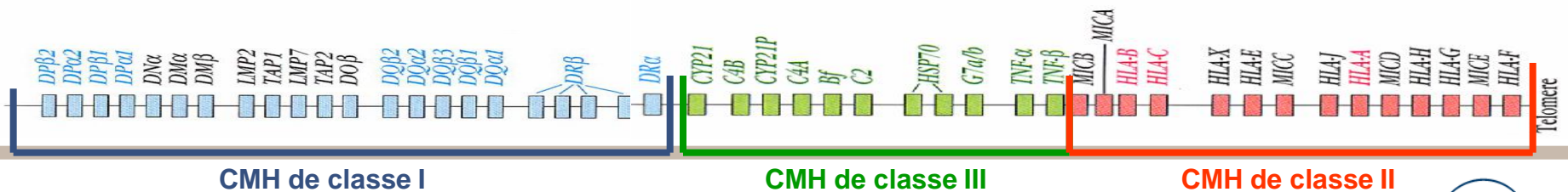
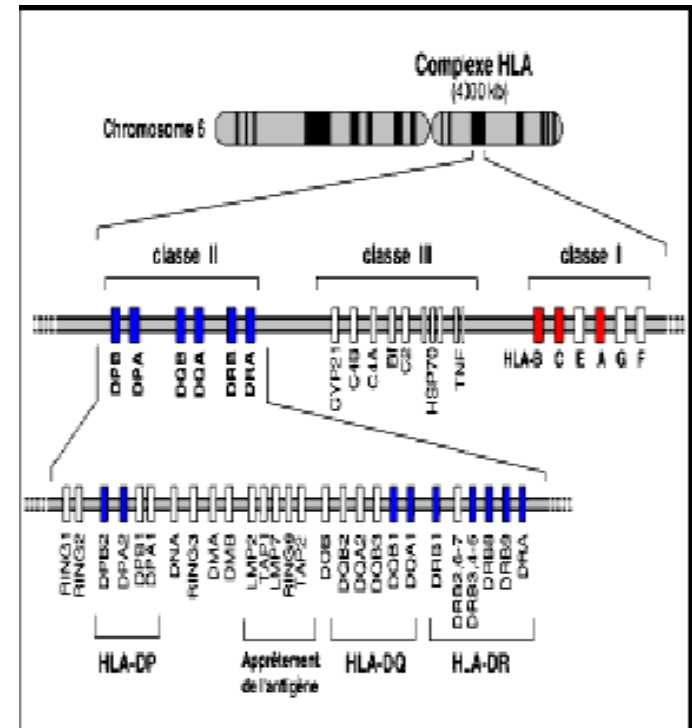
- exprimées à la surface des cellules du système immunitaire (LcB, macrophages et cellules dendritiques)
- 1 chaîne  $\alpha$  (2 domaines) + 1 chaîne  $\beta$  (2 domaines)
- Fonction : liaison de peptides dérivés d'Ag ayant été internalisés dans les compartiments endosomiques des cellules
- reconnues par les LcT auxiliaires (CD4)



## LE SYSTEME HLA (4)

### Génétique

- CHS 6
- Gène de la 2 microglobuline sur le CHS 15
- CMH = 128 gènes fonctionnels
- polymorphisme (> 500 variants des molécules CMH classiques)



## LE SYSTEME HLA (5)

- **Fonctions**

1/ présentation de l'Ag

2/ régulation de la réponse immune

3/ grossesse

4/ transfusion sanguine

5/ transplantations et greffes

6/ associations HLA et maladies :

*B27 SPA*

*DR4 PR*

*DR3 LED, myasthénie*

*DR3/DR4 DID*

*DR2 narcolepsie*

7/ marqueurs ethniques

## LE SYSTEME HLA (6)

- Présentation de l'Ag

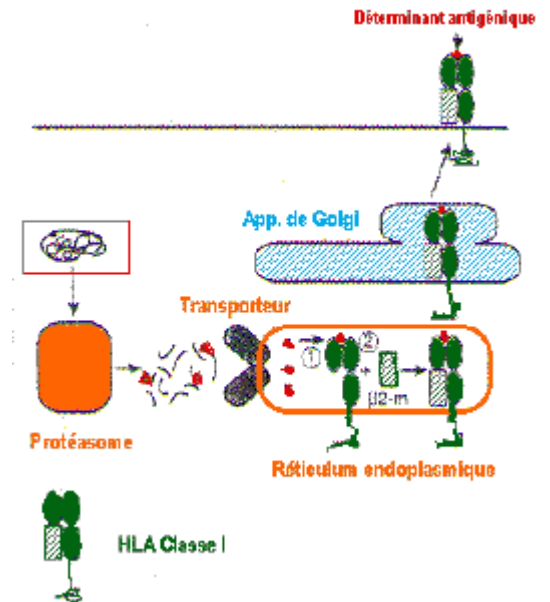
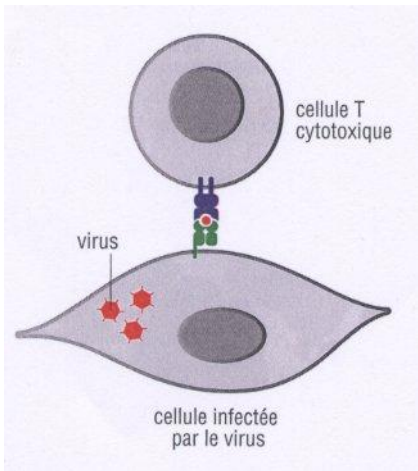
par les molécules de classe I = voie endogène (cytosolique)

- Dégradation des protéines virales par des protéases dans le cytoplasme de la cellule infectée par le virus

- Liaison des peptides produits avec les molécules CMH de classe I

- Présentation de ces Ag en surface par les molécules de classe I aux LcT cytotoxiques

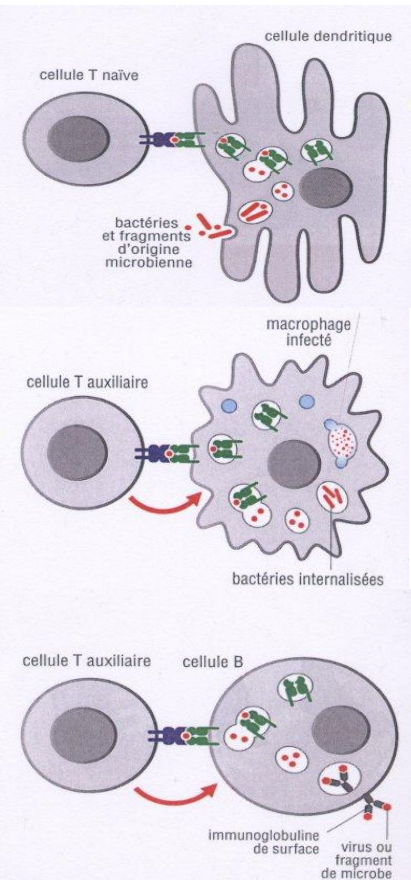
- Destruction de la cellule infectée par le Lc T CD8





## LE SYSTEME HLA (7)

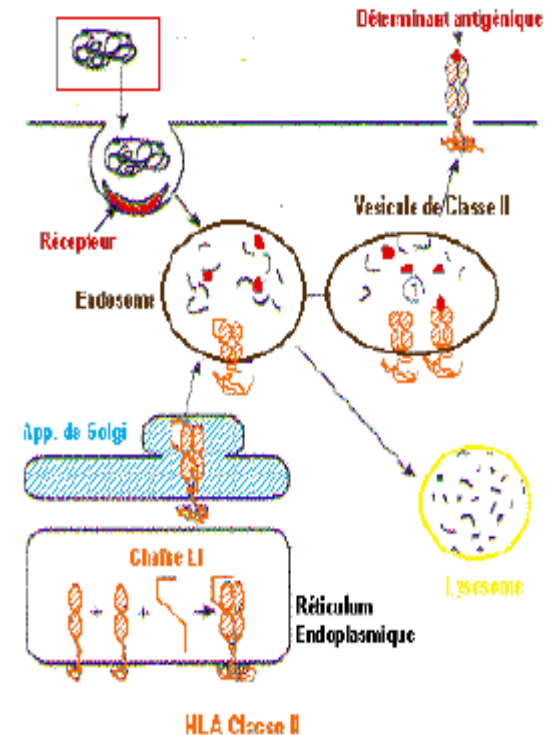
- **Présentation de l'Ag**  
par les molécules de classe II = voie exogène (endocytaire)



- Action de protéases lysosomiques sur des micro-organismes internalisés (bactérie, virus)

- Liaison de ces peptides Ag aux molécules du CMH de classe II

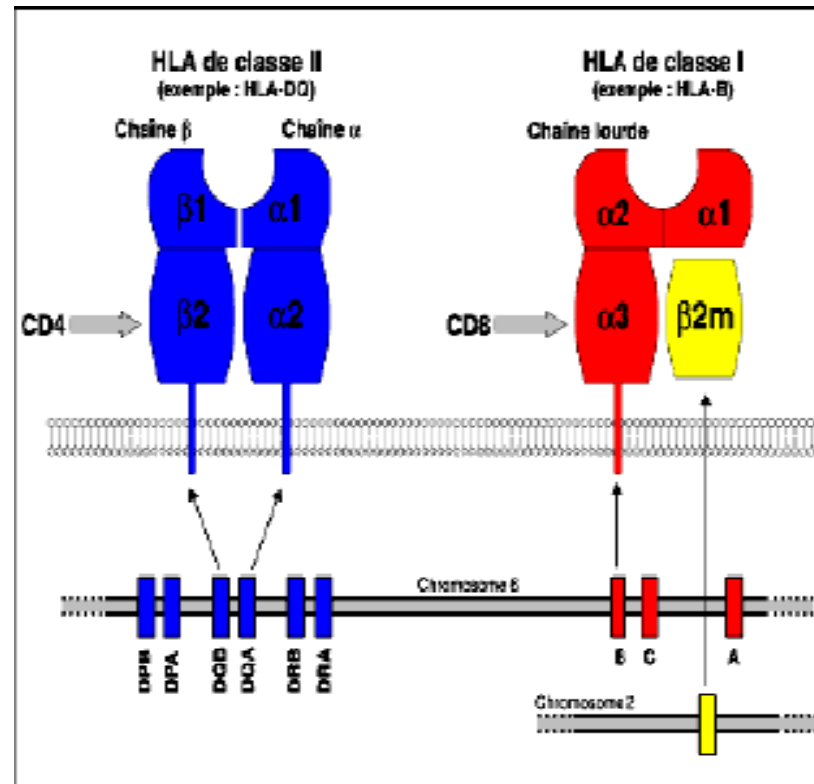
- Phase initiale de la RI : présentation des peptides à la surface des cellules dendritiques





## LE SYSTEME HLA (8)

### Synthèse

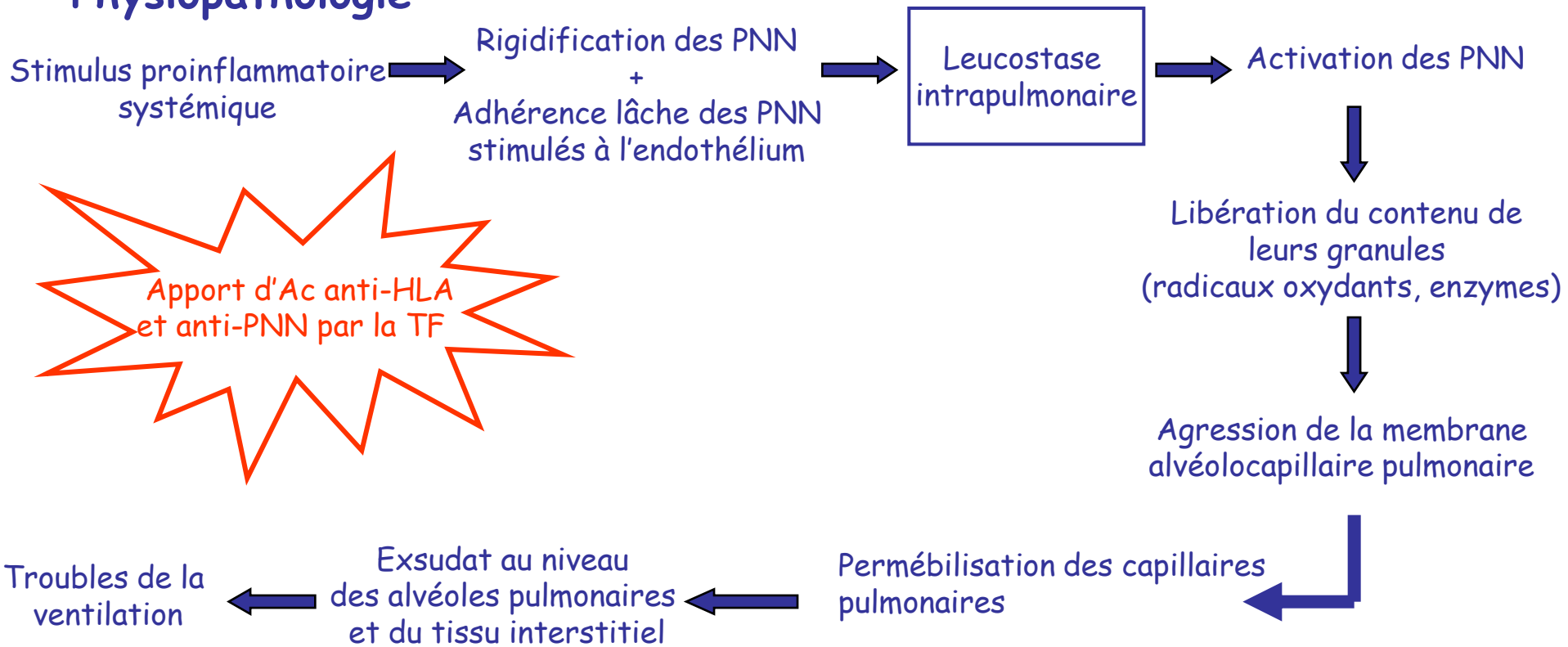


## TRALI (1)

- Acronyme pour « Transfusion-Related Acute Lung Injury »
- Œdème pulmonaire lésionnel aigu post-transfusionnel non cardiogénique
- Depuis 10 ans, cause majeure de morbidité et de mortalité post-transfusionnelle

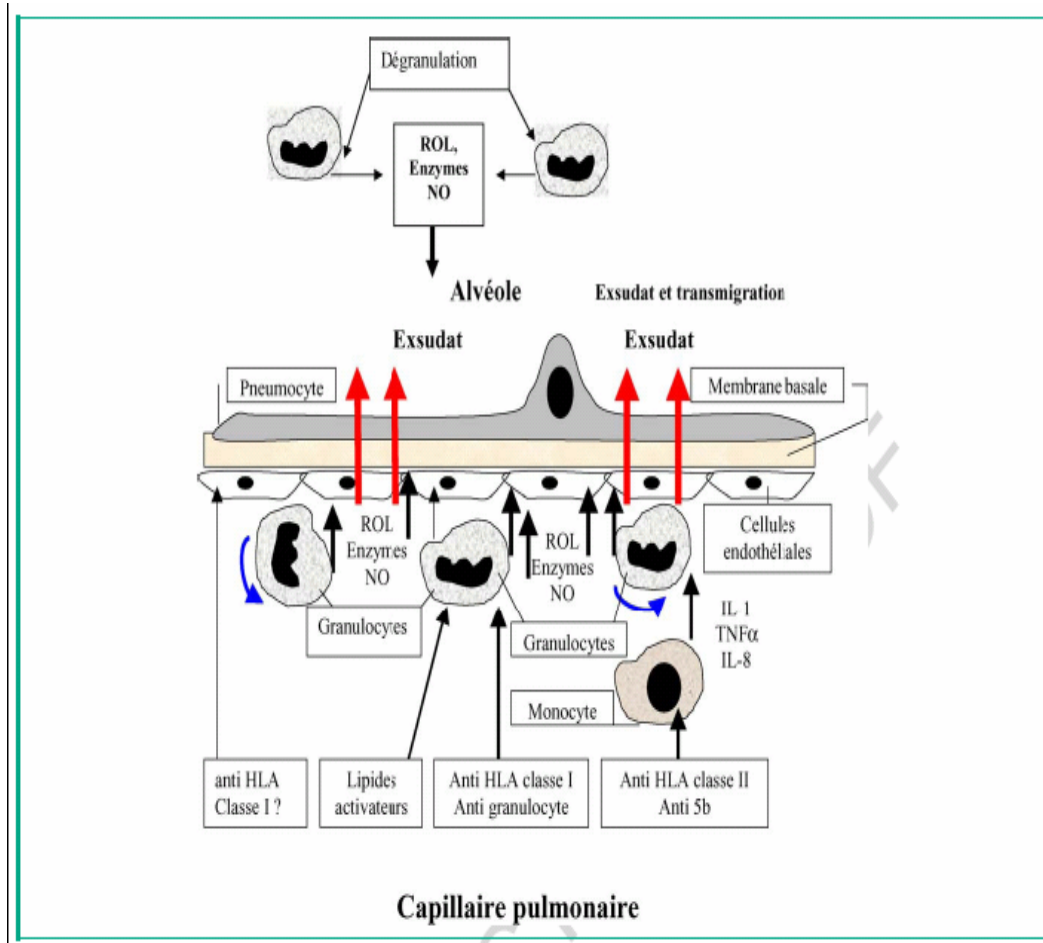
## TRALI (2)

### Physiopathologie



## TRALI (3)

### Physiopathologie



## TRALI (4)

### Diagnostic

- ☑ Installation insidieuse et rapidement progressive  
(délai de survenue maximum de 6 heures après la TF)
  
- ☑ Signes cliniques
  - Respiratoires* : dyspnée, tachypnée, cyanose, toux, expectoration mousseuse
  - Cardiovasculaires* : hypoTA
  - Généraux* : fièvre

## TRALI (5)

- ☑ Signes radiologiques : infiltrats pulmonaires bilatéraux formés d'opacités alvéolaires cotonneuses +/- confluentes " → " poumon blanc " bilatéral



## TRALI (6)

### Facteurs de risque

⊗ inhérents aux donneurs : MULTIPARITE

- selon le nombre de grossesses, taux d'immunisation varie de 10 à 40%

- selon Powers et al. (2008) :

25% des donneuses de sang : positives

5,9% des donneuses nullipares

12% des donneurs avec antécédent transfusionnel

- selon Triulzi et al. (2009) :

24,4% des donneuses multipares

1,7% des donneuses nullipares

- délai écoulé depuis le dernier épisode alloimmun : entre 10 et 30 ans,  
taux d'alloimmunisation passe de 31,3% à 18,3%



## TRALI (7)

### Facteurs de risque

☒ inhérents aux PSL :

- tous les PSL peuvent être impliqués
- PSL les plus souvent mis en cause : concentrés plaquettaires, plasma thérapeutique
- répartition entre les PSL :

*EFS 2002 – 2009 (155 cas rapportés) :*

*Renaudier 2003 – 2006*

47% CGR

1/156 110 CGR

33% CP

1/128 550 MCP

18% plasmas thérapeutiques

1/20 040 CPA

1% concentré granulocytaire

1/80 110 PFC

1% CGR + CP

1% CGR + PFC

## TRALI (8)

### Facteurs de risque

☒ inhérents aux receveurs :

- pathologie ou chirurgie cardiaque avec CEC
- chirurgies majeures < 72 heures
- infections générales bactériennes, virales
- hémopathies malignes en phase d'induction thérapeutique
- traitement par cytokines (G-CSF, GM-CSF)
- transfusion massive
- néoplasie
- paludisme

## TRALI (9)

### Plan d'action EFS de prévention du TRALI

- Mise en place d'ATCD permettant d'enregistrer des informations sur la parité des donneuses
- Mise en place du dépistage des Ac anti-HLA chez les donneuses avec enfants

## TRALI (10)

### Plan d'action EFS de prévention du TRALI

Sélection des donneurs :

\* *plasma thérapeutique unitaire* : hommes, femmes nullipares et femmes multigeste avec dépistage des anti-HLA négatif

\* *CPA* : - donneuse habituelle : réalisation du dépistage des Ac anti-HLA à l'occasion du don

- nouvelle donneuse pour ce type de don : orientation de la donneuse vers le don de ST/plasma LFB

## TRALI (11)

### Plan d'action EFS de prévention du TRALI

Préparation :

× *MCPS* : interdiction de préparer des mélanges de plaquettes avec des prélèvements issus de donneuses dont le dépistage des Ac anti-HLA est connu positif

× *CGR* : réduction de la quantité de plasma résiduel

Distribution : interdiction de distribuer ou de délivrer des CPA issus de donneuses dont le dépistage des Ac anti-HLA est positif

# METHODES DE DETECTION DES Ac ANTI-HLA (1)

## \* test de microlymphocytotoxicité :

- principe : utilisation de panels de Lc T et B  
incubation des Lc avec le sérum à tester et du compt  
lyse cellulaire # présence d'Ac anti-HLA
- avantages : robuste, technique de référence
- inconvénients : peu standardisée, interprétation délicate,  
difficilement automatisable, peu sensible

## METHODES DE DETECTION DES Ac ANTI-HLA (2)

### \* ELISA :

- principe : microplaque ;  
molécules HLA purifiées + Ac antiIgG couplé à une enzyme  
révélation colorimétrique
- avantages : "screening" rapide, automatisable, relativement  
standardisée, interprétation facile
- inconvénients : coût du réactif



# METHODES DE DETECTION DES Ac ANTI-HLA (3)

\* Cytométrie = technique LUMINEX®

*Principe :*

technique en microplaque, fondée sur le principe de la cytométrie en flux et alliant l'utilisation de microbilles fluorescentes en polystyrène et une double lecture après excitation par 2 lasers

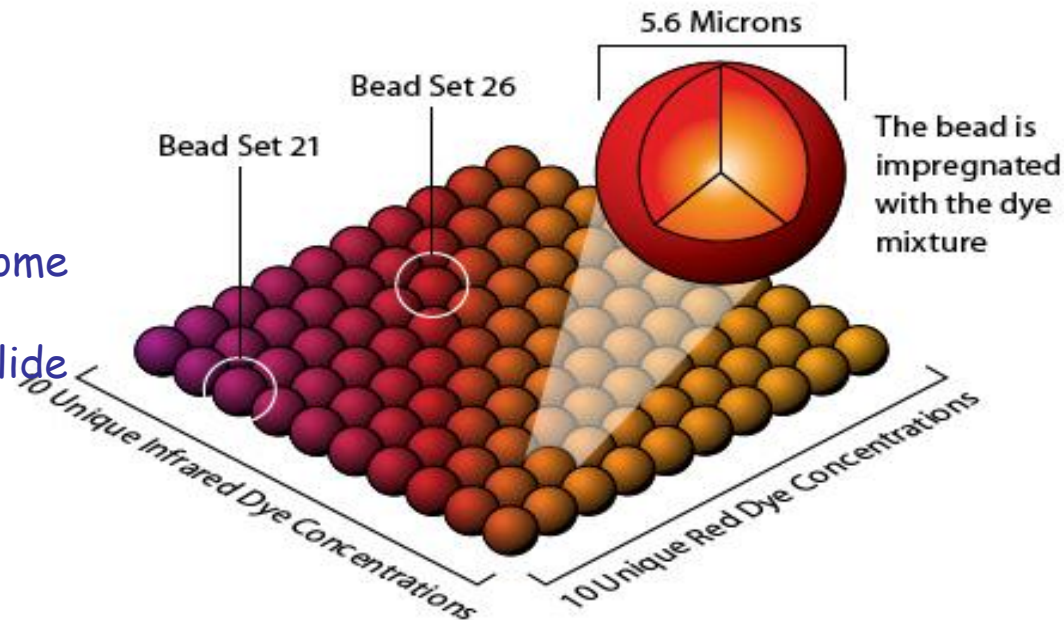


# METHODES DE DETECTION DES Ac ANTI-HLA (4)

\* Cytométrie = technique LUMINEX®

## Microsphères

- Diamètre = 5,6 µm
- 2 fluorochromes à l'intérieur des billes
- ratio de la quantité de chaque fluorochrome
- propre code couleur d'identification
- groupements carboxylates → support solide Aux Ag (liaison covalente)



# METHODES DE DETECTION DES Ac ANTI-HLA (5)

## \* Cytométrie =

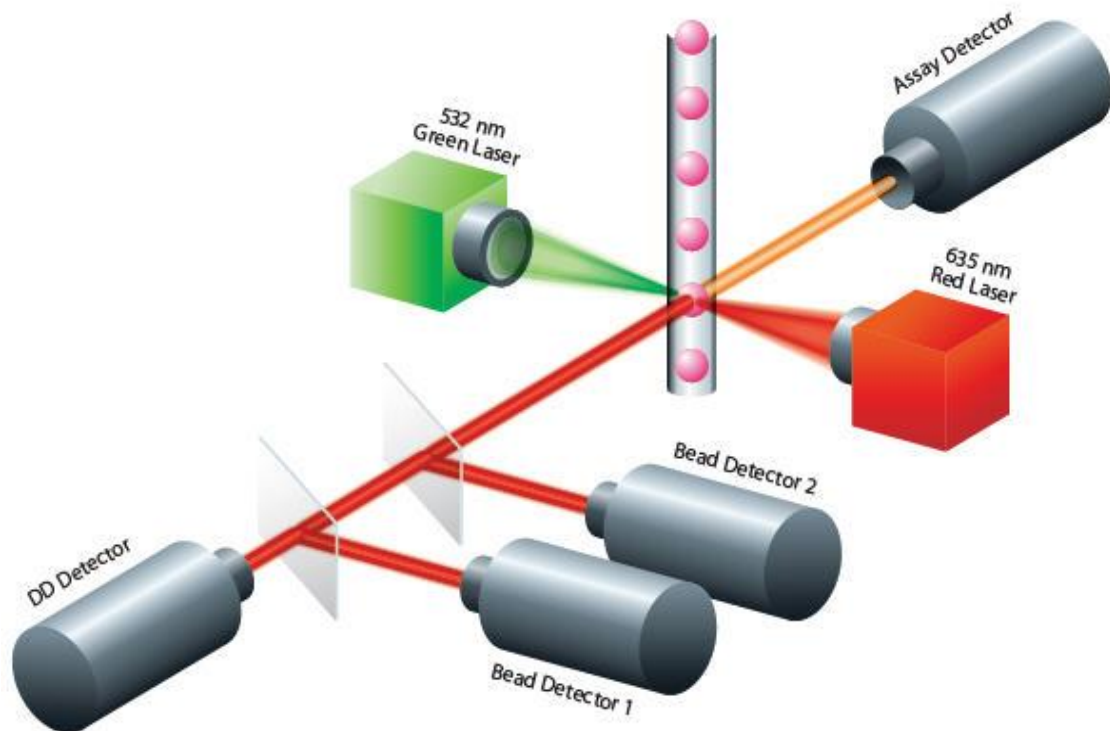
### *Le cytomètre*

❖ Laser rouge à diode (633 nm) excite les fluorochromes incorporés dans les billes  $\Rightarrow$  émission de fluorescence rouge (675 nm) et infrarouge (712 nm)

$\curvearrowright$  identification

❖ Laser vert excite le fluorochrome de L'anti-Ig et détecte la réaction Ag - Ac

$\curvearrowright$  positivité de la réaction



## METHODES DE DETECTION DES Ac ANTI-HLA (6)

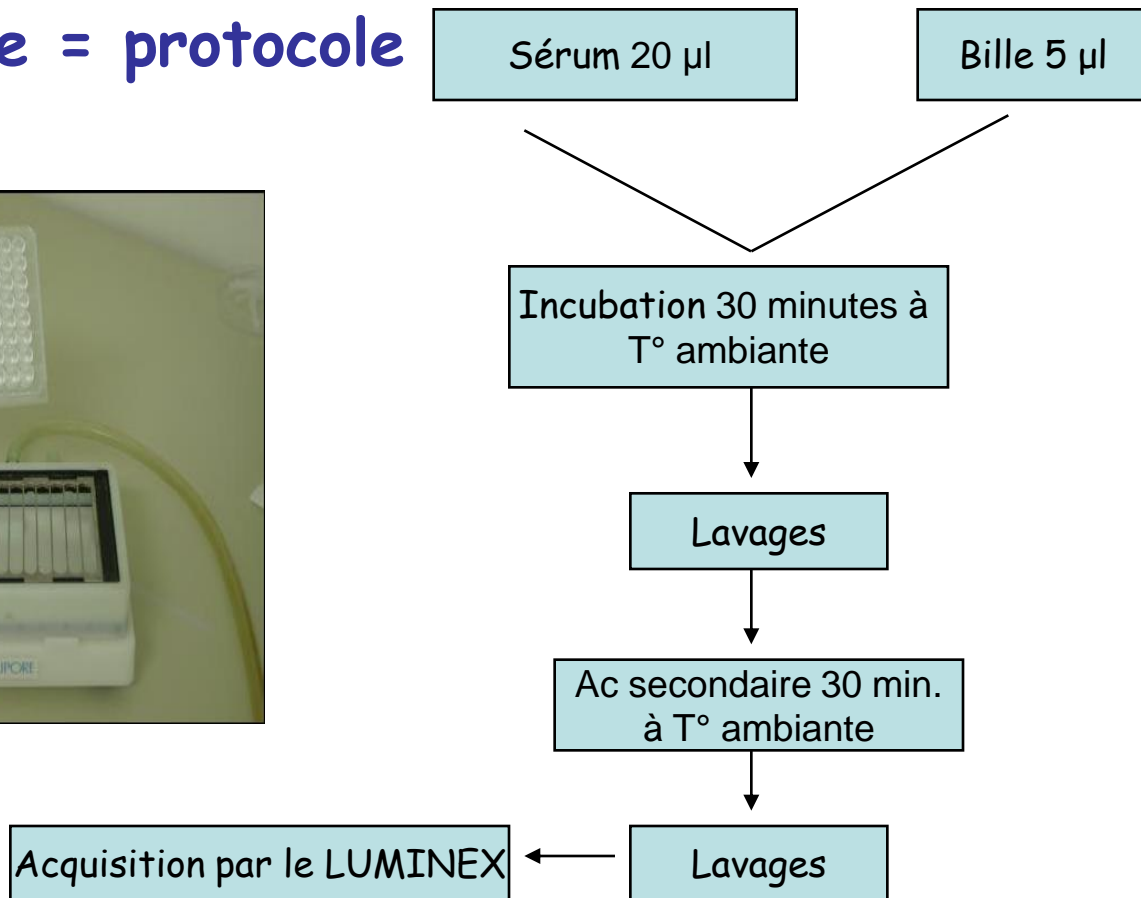
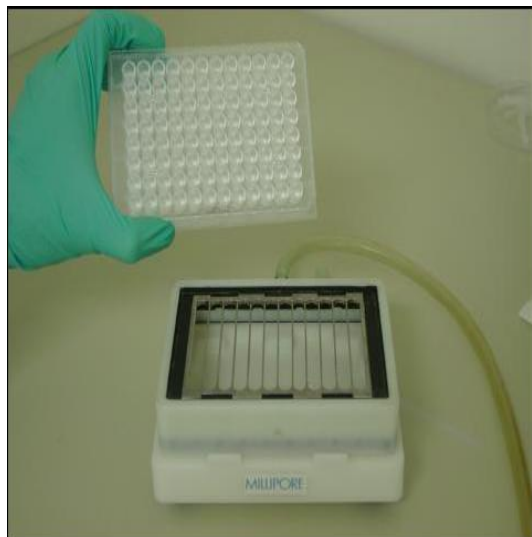
### ✧ Cytométrie =

*Le lecteur de microplaques : microplaques à 96 puits à filtre*

*L'ordinateur pilotant le logiciel d'acquisition des données :  
chaque bille comptée au moins 100 fois*

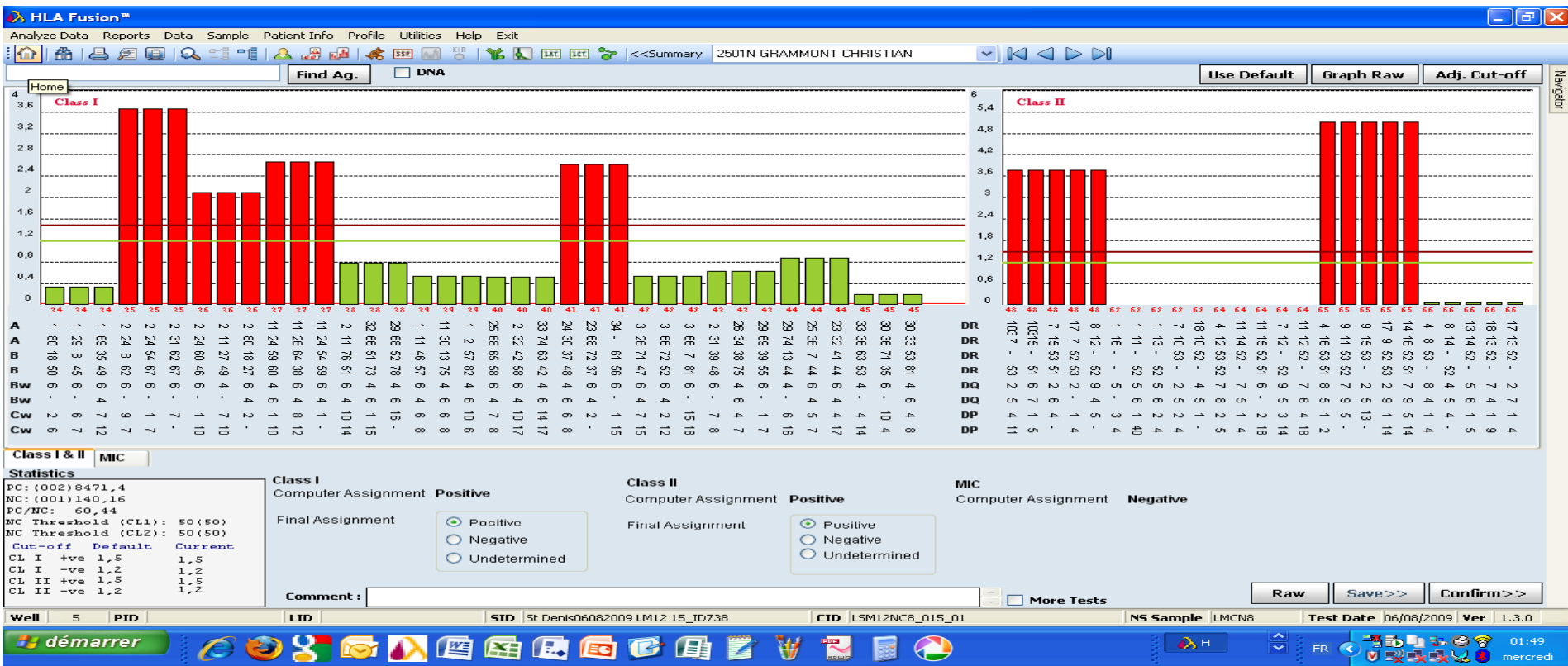
# METHODES DE DETECTION DES Ac ANTI-HLA (7)

\* Cytométrie = protocole



## METHODES DE DETECTION DES Ac ANTI-HLA (8)

### ✳ Cytométrie = résultats



# METHODES DE DETECTION DES Ac ANTI-HLA (9)

## AVANTAGES

## INCONVENIENTS

- sensibilité +++
  - technique simple :
    - pipetage des réactifs et des sérums
    - incubations
    - lecture rapide (30 sec./puits)
    - acquisition par un logiciel
  - interprétation des résultats aisée
  -
- distribution manuelle des échantillons et des réactifs
  - coût du test (9,20 € ≈)
  - absence de connexion au LMT (saisie manuelle des résultats)