



UNIVERSITE LILLE 2 DROIT ET SANTE
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2015

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Conduite à tenir devant l'apparition d'un DSA *de novo* isolé en
transplantation rénale. Expérience locale à partir de 28 cas.**

Présentée et soutenue publiquement le 10 avril 2015 à 18h
au Pôle Formation

Par Olivia MAY

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Christian NOËL

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Marc HAZZAN

Madame le Professeur Myriam LABALETTE

Directeur de Thèse :

Monsieur le Docteur François PROVÔT

Liste des abréviations

ATG	Globuline Anti Thymocytes
CTC	Corticoïdes
DSA	Donor Specific Antibody
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
HLA	Human Leucocytes Antibody
LCT	Microlymphotoxicité
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
MFI	Median Fluorescence Intensity
MMF	Mycophenolate mofetil
mTOR	Mammalian target of rapamycin
PRA	Panel Reactive Antibodies
PBR	Ponction biopsie rénale
RCHA	Rejet chronique humoral actif
RH	Rejet humoral
TGI	Taux de greffon incompatible

Table des matières

Résumé.....	12
Introduction.....	13
Matériels et méthodes.....	16
Sélection des patients.....	16
Détection et identification des DSA.....	17
Ponctions biopsies rénales.....	18
Analyses statistiques.....	19
Résultats.....	21
Diagramme de flux.....	21
Résultats de la PBR.....	23
Comparaison entre les groupes RH+ et RH-.....	26
Caractéristiques démographiques.....	26
Caractéristiques des DSA.....	26
Caractéristiques immunologiques.....	29
Traitements immunosuppresseurs.....	31
Données néphrologiques.....	35
Données histologiques.....	36
Prise en charge.....	38
Discussion.....	40
Conclusion.....	45
Références bibliographiques.....	46
Annexes.....	48

Résumé

Contexte : Depuis 5 ans, des techniques sensibles sont utilisées en pratique courante pour dépister annuellement les anticorps anti-HLA dirigés contre le donneur (Donor Specific Antibody, DSA) chez les transplantés rénaux. La conduite à tenir devant l'apparition d'un DSA *de novo* chez un patient à fonction rénale stable n'est à ce jour pas consensuelle.

Méthodes : Notre étude, monocentrique, prospective, concernait tous les transplantés rénaux suivis à Lille entre 2009 et 2014 présentant un DSA *de novo* au bilan annuel et ayant pu bénéficier d'une PBR.

Résultats : Nous avons inclus initialement 38 patients présentant des DSA *de novo*. Dix ont été secondairement exclus (DSA présent avant greffe, refus de réalisation de PBR). Sur les 28 patients restant, 11 (39%) présentaient un rejet humoral aigu ou chronique à la PBR (groupe RH+), 17 (61%) ne présentaient pas de rejet (groupe RH-). La majorité des DSA *de novo* étaient des anticorps anti-HLA de classe II dirigés contre le DQ, et survenaient en moyenne 6 ans après la transplantation rénale. Une MFI (Median Fluorescence Intensity) inférieure à 3000 étaient prédictive d'une absence de rejet dans 90% des cas.

Conclusion : Devant l'apparition d'un DSA *de novo* chez des patients à fonction rénale stable, le clinicien peut s'aider de la MFI du DSA. Une valeur supérieure à 3000 doit encourager à la réalisation d'une PBR pour ne pas méconnaître un rejet humoral infraclinique. Pour une valeur inférieure à 3000, une surveillance biologique annuelle peut être proposée.

Introduction

La transplantation rénale est le traitement de choix pour la majorité des patients en insuffisance rénale terminale. Elle améliore leur survie et leur qualité de vie (1) (2). Au cours de ces 40 dernières années, d'importants progrès ont été réalisés en terme de survie du greffon. Les protocoles modernes d'immunosuppression ont permis de diminuer l'incidence des rejets aigus au cours de la première année de greffe à environ 10% (3) (4). La problématique actuelle est la survie du greffon à long terme, qui ne progresse plus. Le rejet chronique humoral actif (RCHA), médié par les anticorps anti-HLA (Human Leucocyte Antigen) dirigés spécifiquement contre le donneur (Donor Specific Antibody, DSA) est l'une des premières causes de dysfonction chronique et de perte tardive du greffon (5) (6) (7). Le dépistage, la physiopathologie et la prise en charge thérapeutique du RCHA sont autant de sujets de recherche à l'heure actuelle, en transplantation d'organes solides.

Le développement de la technique du Luminex permet désormais d'identifier et monitorer précisément les DSA au cours de la greffe. Le dépistage systématique des DSA peut nous aider à mieux repérer les phénomènes de rejet chronique humoral actif. En effet, l'apparition d'un DSA *de novo* a pu être identifié comme un facteur prédictif d'une évolution péjorative de la greffe et d'un risque de rejet humoral plus important chez les patients porteurs (8) (9). De plus, il a été démontré que la capacité des DSA à activer le complément est également liée à un risque plus important de rejet humoral et de perte du greffon (10).

Du fait de leur rôle majeur dans la survie de la greffe, les anticorps anti-HLA sont dépistés systématiquement de façon annuelle chez tous les transplantés rénaux (11). Historiquement, ces anticorps étaient recherchés en technique cellulaire par

microlymphocytotoxicité (LCT). Depuis une quinzaine d'années, des techniques à la fois plus sensibles et plus spécifiques sont disponibles : technique de type enzymatique (ELISA) ou plus récemment en fluorescence (cytométrie en flux et surtout la technologie Luminex). Dans notre centre, depuis 2006, la technique sensible du Luminex est utilisée pour le dépistage systématique des anticorps anti-HLA, avec des panels d'anticorps de classe I et II (Panel Reactive Antibodies, PRA) (12). Cette technique a été implémentée en 2009 de la technologie Single Antigen (13), menant alors à une identification très précise de chaque anticorps anti-HLA. Cette technologie de très haute sensibilité permet dorénavant d'identifier la présence d'anticorps anti-HLA dirigés spécifiquement contre le donneur (DSA). Ces anticorps pouvaient ne pas être dépistés antérieurement par technique LCT ou ELISA, par manque de sensibilité.

Le caractère pathogène des DSA d'apparition *de novo* de manière isolée, c'est à dire chez des patients dont la fonction rénale reste stable, est à ce jour très peu décrit dans la littérature. Il n'y a pas de consensus quant à la conduite à tenir devant l'apparition d'un DSA isolé, notamment sur la réalisation d'une ponction biopsie rénale (PBR) systématique afin de dépister précocement un rejet humoral infraclinique, et sur l'adaptation de l'immunosuppression selon les résultats de la PBR. L'intérêt de cette biopsie rénale reste à démontrer.

Le premier objectif de notre travail était de décrire les caractéristiques cliniques et épidémiologiques des patients transplantés rénaux suivi au CHRU de Lille qui présentaient un DSA d'apparition *de novo* découvert lors du bilan annuel, alors que leur fonction rénale restait stable. Notre second objectif était d'évaluer l'intérêt d'une PBR systématique chez ces patients. Dans ce but, tous les patients

inclus se sont vus proposer une PBR à la recherche de lésions de rejet humoral infraclinique. Enfin, le troisième objectif était d'identifier des facteurs prédictifs d'un RCHA ou d'un rejet aigu humoral infra clinique à la PBR, selon les caractéristiques des anticorps dépistés et notamment l'activation immunologique de la voie classique du complément par l'étude de la fixation du DSA au sous composant C1q.

Matériel et méthodes

Sélection des patients

Il s'agit d'une étude prospective, monocentrique, observationnelle. Nous avons étudié les patients transplantés rénaux dans notre centre, suivis entre 2009 et 2014, chez qui nous avons mis en évidence, lors du dépistage annuel des anticorps anti-HLA, l'apparition d'un DSA en dehors de toute altération significative de la fonction rénale.

Les critères d'inclusion étaient :

- Découverte d'un DSA au bilan annuel,
- Fonction rénale stable (pas d'augmentation de la créatininémie de plus de 20% en un an),
- PBR réalisable et acceptée par le patient

Les critères d'exclusion étaient :

- DSA présent avant la greffe,
- Dégradation de la fonction rénale (augmentation de la créatininémie de plus de 20% en un an),
- Apparition d'une protéinurie de plus de 0,5g/24h ou augmentation de la protéinurie en un an de plus de 0,5g/24h.

Détection et identification des DSA

Les DSA étaient en premier lieu détectés par la technique Luminex utilisée en dépistage systématique de façon annuelle. Lorsque le dépistage était positif, l'identification de la spécificité de l'anticorps anti-HLA était faite par la technique Luminex "Single Antigen". Dans un deuxième temps, tous les sérums congelés antérieurs à la transplantation, jusqu'à la veille de la greffe, étaient testés en Luminex afin de s'assurer de l'absence de DSA pré-greffe. Ce test était complété par un Luminex Single Antigen si le dépistage était positif. Les patients pour qui cette recherche s'avérait positive étaient exclus. Les sérums post-greffe qui n'avaient été testés qu'en LCT ou ELISA étaient testés en Luminex afin de déterminer l'année d'apparition du DSA

Nous avons recueilli l'intensité de fluorescence (Median Fluorescence Intensity, MFI) du DSA en cytométrie de flux au moment où il est dépisté pour la première fois. Lorsqu'un patient présentait plusieurs DSA, nous avons retenu pour le calcul des MFI moyennes le DSA à la MFI la plus haute. Nous avons étudié la capacité du DSA à activer la voie classique du complément via la fixation du C1q. Il s'agissait d'une technique Luminex Single Antigen avec l'ajout de l'agent C1q et d'un anticorps anti C1q marqué.

La technologie du Luminex utilise la cytométrie en flux, couplée à l'utilisation de microbilles de fluorescence différente (2 fluorochromes en proportion calibrée sur chaque bille). Chaque microbille est coatée d'antigènes HLA différents. Le sérum du patient est incubé avec les microbilles, puis la réaction est révélée en Luminex par un anticorps secondaire anti IgG humaine (donc dirigé contre les anticorps anti-HLA

du patient). L'acquisition se fait sur un lecteur possédant 2 lasers, le premier identifiant la microbille et le second détectant la fixation d'un anticorps dirigé contre l'antigène qu'elle porte. Cette technique peut être réalisée en configuration de dépistage (présence ou non d'anticorps anti HLA de classe I ou II), de panel de réactivité (exprimé en pourcentage de positivité dans le panel) ou d'identification haute définition.

La stratégie classique consiste à effectuer un dépistage, puis en cas de positivité à identifier les spécificités anticorps du sérum ; il s'agit alors de la technique Luminex Single Antigen. Un seul antigène HLA est fixé sur chaque microbille. Cette technique permet une identification fine des anticorps anti-HLA portés par le receveur.

Ponctions Biopsies Rénales

Nous avons recueilli les données histopathologiques de la PBR réalisée au moment de la découverte du DSA ainsi que la PBR protocolaire réalisée à 3 mois. Les biopsies étaient analysées selon la classification de Banff du jour de la PBR (cf annexe 1). Les patients ont été classés en 2 groupes, selon la PBR réalisée au moment de la découverte du DSA : présence de lésions de rejet humoral, aigu infraclinique ou chronique actif (**groupe RH+**) versus absence de lésion de rejet humoral (**groupe RH-**), selon le diagnostic retenu par l'anatomopathologiste. Les compte-rendus des biopsies ont été relus a posteriori par un anatomopathologiste pour confirmer l'appartenance à l'un des 2 groupes.

Recueil des données cliniques

Concernant les patients inclus, nous avons recueilli leurs données démographiques (âge, sexe, rang de greffe, greffe à donneur cadavérique ou décédé). Nous avons déterminé leur statut immunologique pré-greffe (présence ou non d'anticorps anti-HLA non spécifiques du donneur) ; un patient était considéré comme hyperimmunisé si son taux de greffon incompatible (TGI) était supérieur à 85%. Nous avons déterminé le nombre de mismatch HLA de classe I et II entre donneur et receveur, et calculé également le nombre mismatch épitopiques de classe II via le logiciel HLAmatchmaker®, après détermination de leur HLA épitopique le plus probable par le logiciel Haplostat®. Nous avons recueilli pour chaque patient les événements allo-immunisants post greffe (grossesse, transfusion) les traitements immunosuppresseurs à l'induction et au cours de la greffe. Les critères biologiques recueillis étaient la fonction rénale (créatininémie) et la protéinurie à 0, 1, 3, 6 et 12 mois, puis à chaque bilan annuel. Nous avons recherché une éventuelle modification du traitement immunosuppresseur dans les années précédant l'apparition du DSA. Enfin, nous avons regardé la survie du greffon ainsi que la fonction rénale suite à la découverte des DSA, de façon annuelle.

Nous avons également recueilli les modifications des traitements immunosuppresseurs suite aux résultats de la PBR, ainsi que les complications de la PBR réalisée pour l'apparition du DSA.

Analyses statistiques

Les statistiques descriptives sont présentées en pourcentage, moyennes et écart type. Le test de Shapiro Wilk a été utilisé pour déterminer les variables paramétriques et non paramétriques. Les variables suivant une loi normale ont été comparées par le test t de Student. Les valeurs ne suivant pas une loi normale ont été comparées par le test U de Mann et Whitney. Les tests de Fisher exact ou Khi^2 de Pearson ont été utilisés pour les valeurs numériques ou catégorielles selon la taille des effectifs. Le taux de survie des greffons a été estimé par la méthode de Kaplan Meier et les courbes de survie ont été comparées par un test de log rank. Une valeur de p inférieure ou égale à 0,05 était considérée comme significative. Les calculs statistiques ont été réalisés via le logiciel SPSS 22.0.

Résultats

Sur l'ensemble des transplantés rénaux suivis dans notre centre entre 2009 et 2014, nous avons identifié 38 patients présentant un DSA considéré initialement comme d'apparition *de novo*. Ce DSA était considéré comme isolé s'il était découvert au bilan annuel chez des patients dont la fonction rénale était stable. Dix patients sur les 38 ont secondairement été exclus (cf. Figure 1).

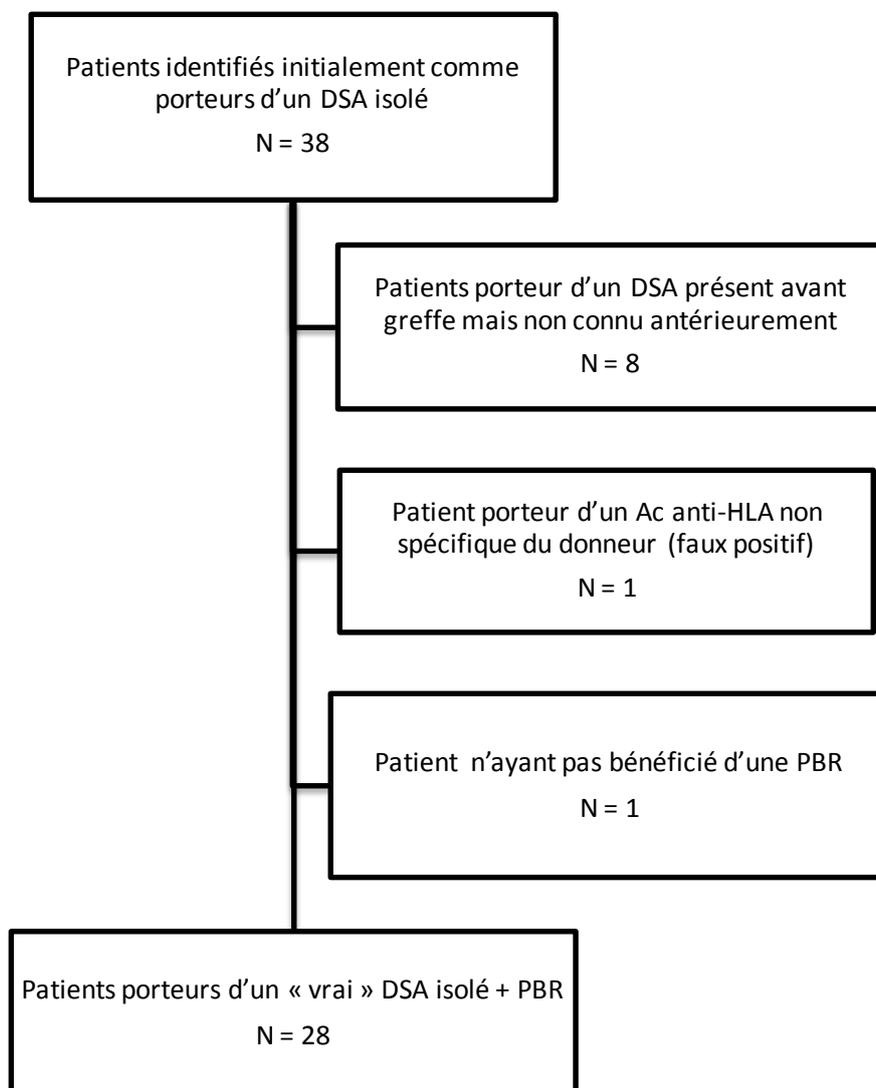


Figure 1 : Diagramme de flux des patients

Parmi les sujets exclus, un patient présentait un anticorps anti-HLA d'apparition *de novo* mais non spécifique du donneur (faux positif). Un patient avait refusé la réalisation de la PBR suite au dépistage du DSA isolé. Pour 8 patients, le DSA dépisté s'est avéré être déjà présent avant la transplantation, sur les sérums pré-greffes étudiés pour la première fois en Luminex, alors que le cross match du jour de greffe en LCT était négatif. Il s'agissait de 4 patients porteurs de DSA de classe I (1 anti-A, 2 anti-B et un porteur d'1 anti-A et 1 anti-B à la fois) et 4 patients porteurs de DSA de classe II (3 anti-DQ et 1 anti-DR). Quatre patients sur les 8 (50%) en étaient à leur seconde greffe, dont deux étaient hyperimmunisés. La MFI moyenne de ces DSA au moment de leur découverte était à 2700 (+/- 2500), avec une valeur minimale à 600 et maximale à 7000. Sur l'étude des sérums antérieurs à la greffe, la MFI moyenne de ces DSA était de 4990 (+/- 4550). A la biopsie rénale, 2 patients sur les 8 présentaient des lésions de rejet humoral chronique.

Les informations cliniques et démographiques des 28 patients inclus sont présentées dans le tableau 3. Ces patients ont été greffés entre 1995 et 2012. Nous avons un recul moyen par rapport à la greffe de 8,7 ans (+/- 4,8 ans). La moyenne d'âge au moment de la greffe était de 38 ans (+/- 15 ans). Vingt-quatre patients sur 28 étaient des hommes (86%). Il s'agissait pour 26 patients d'une première greffe (93%) parmi lesquelles 6 (21%) avaient reçu une greffe de donneur vivant. Vingt-un patients (75%) étaient non immunisés avant greffe et 7 patients (25%) présentaient des anticorps anti-HLA non spécifiques du donneur avant greffe. Il n'y avait aucun patient hyperimmunisé. Sur le plan de l'immunosuppression, 17 patients ont

bénéficié d'une induction par Thymoglobuline (Globulines anti thymocytes, ATG) au moment de la greffe, 9 ont reçu une induction par anti-CD25 (Basiliximab pour 8 patients, Daclizumab pour 1 patient). Deux patients n'ont pas reçu de traitement d'induction ; il s'agissait d'une greffe adulte à donneur vivant et d'une greffe pédiatrique. Sept patients ont été sevrés précocement des corticoïdes, à J7 de la transplantation, du fait de l'absence de retard de fonctionnement du greffe.

Le DSA était dépisté en moyenne 6 ans (+/- 4 années) après la transplantation. Le suivi moyen depuis l'apparition du DSA était de 2,2 ans (+/- 1,7 an). La perte du greffon avec retour en épuration extra rénale est survenue chez 1 patient.

Au total, 34 DSA étaient retrouvés parmi les 28 patients. Six patients (20%) présentaient un ou plusieurs DSA de classe I : 4 étaient porteurs d'un DSA unique (1 anti A, 2 anti B et 1 anti Cw), et 2 étaient porteurs de plusieurs DSA (1 anti A et 2 anti B pour le premier patient, 2 anti A pour le second patient). Vingt-deux patients (79%) étaient porteurs d'un ou plusieurs DSA de classe II, dont 21 présentaient un DSA unique. Parmi eux, 17 présentaient un DSA anti DQ, 3 un anti DR et 1 un anti DP. Un patient présentait 4 anticorps anti HLA de classe II (2 DR et 2 DQ).

Résultats de la PBR

Sur les 28 patients, 11 (40%) présentaient des lésions de rejet humoral infraclinique aigu ou chronique, à la ponction biopsie rénale. Dix-sept ne présentaient pas de lésion de rejet. Nous les avons alors séparés en deux groupes,

respectivement RH+ (présence de lésions de rejet à la PBR) et RH- (absence de lésion de rejet à la PBR).

Parmi les 11 patients du groupe RH+, quatre présentaient une inflammation microvasculaire (g + ptc > ou = 2) (cf. tableau 1). Cinq présentaient une inflammation tubulointerstitielle (score i et t). Aucun ne présentait d'artérite intinale (score v). Concernant les lésions chroniques, 4 patients présentaient des lésions d'hypertrophie mésangiale et/ou de glomérulopathie d'allogreffe (scores mm et cg), 8 avaient des lésions de fibrose interstitielle et atrophie tubulaire (scores ci et ct). Huit patients présentaient des lésions vasculaires chroniques (endartérite fibreuse cv et hyalinose artériolaire ah). Sept patients présentaient des dépôts de C4d péri tubulaire en immunofluorescence (score moyen à 1,55 +/- 1,4).

	g	i	t	v	ptc	mm	cg	ci	ct	cv	ah	c4d	Diagnostic
Patient 1	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	RA
Patient 2	1	1	0	0	2	0	0	0	0	1	0	3	RA
Patient 3	1	0	0	0	1	0	3	1	1	1	3	3	RCHA
Patient 4	1	0	0	0	1	0	0	1	1	2	3	3	RCHA
Patient 5	0	0	0	NA	1	0	0	1	1	NA	0	1	RCHA
Patient 6	0	0	2	0	0	0	0	1	1	0	0	3	RCHA
Patient 7	0	0	1	0	1	0	0	3	3	2	1	0	RCHA
Patient 8	1	0	1	0	0	2	3	2	2	3	3	0	RCHA
Patient 9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	Suspicion de RA
Patient 10	1	0	0	0	0	1	2	1	1	2	3	0	RCHA
Patient 11	1	0	0	0	0	2	0	3	3	2	3	3	RCHA

Tableau 1 : PBR réalisées au moment de l'apparition du DSA isolé, selon la classification Banff. Groupe RH+
 NA = non analysable;
 g = glomérulite; i = inflammation interstitielle; t = tubulite; v = artérite intinale; ptc = capillarite péri tubulaire; mm= épaissement mésangial; cg = glomérulopathie d'allogreffe; ci = fibrose interstitielle; ct = atrophie tubulaire; cv = fibrose intinale; ah = hyalinose artériolaire
 Diagnostic : RA = rejet aigu à médiation humorale; RCHA = rejet chronique humoral actif

Parmi les 17 patients sans lésion de rejet (groupe RH-), 2 patients présentaient une glomérulite (g > ou = 1) et 2 patients présentaient une capillarite

péritubulaire (ptc > ou = 1) (cf. tableau 2). Aucun ne présentait d'inflammation tubulo-interstitielle (score i et t à 0) ni d'artérite intinale (score v=0). Concernant les lésions chroniques, 5 patients présentaient des lésions d'hypertrophie mésangiale mais sans glomérulopathie d'allogreffe. Quatorze avaient des lésions de fibrose interstitielle et atrophie tubulaire (scores ci et ct). Dix-sept patients présentaient des lésions vasculaires chroniques (endartérite fibreuse cv et hyalinose artériolaire ah). Trois patients présentaient des dépôts de C4d péri-tubulaire en immunofluorescence. Neuf patients présentaient une toxicité aux anticalcineurines.

	g	i	t	v	ptc	mm	cg	ci	ct	cv	ah	c4d
Patient 1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	0
Patient 2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	0
Patient 3	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	0
Patient 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Patient 5	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	0
Patient 6	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	1	0
Patient 7	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0
Patient 8	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	0
Patient 9	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
Patient 10	0	0	0	0	0	2	0	1	1	2	3	0
Patient 11	0	0	0	0	1	1	0	2	2	1	3	0
Patient 12	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Patient 13	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	3	3
Patient 14	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	2	1
Patient 15	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0
Patient 16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1
Patient 17	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	3	0

Tableau 2 : PBR réalisées au moment de l'apparition du DSA isolé, selon la classification Banff. Groupe RH-
g = glomérulite; i = inflammation interstitielle; t = tubulite; v = artérite intinale; ptc = capilarite péri-tubulaire; mm= épaissement mésangial; cg = glomérulopathie d'allogreffe; ci = fibrose interstitielle; ct = atrophie tubulaire; cv = fibrose intinale; ah = hyalinose artériolaire

Comparaison des groupes RH+ / RH-

Caractéristiques démographiques (cf. tableau 3)

Sur les 11 patients du groupe RH+, tous étaient des hommes. Leur moyenne d'âge était de 42 ans (+/- 15) au moment de la greffe. Parmi les 17 patients du groupe RH-, il y avait 4 femmes pour 13 hommes, avec une moyenne d'âge de 34 ans (+/- 15) le jour de la greffe. Trois patients RH+ (27%) et 3 patients RH- (17%) avaient bénéficié d'une greffe à donneur vivant. Deux patients RH+ avaient reçu une transplantation combinée foie + rein.

	RH+ (n=11)	RH- (n=17)
Age du receveur - ans*	42 +/-15	34 +/-15
Receveur de sexe masculin – nombre (%)	11 (100%)	13 (76%)
Première greffe – nombre (%)	10 (91%)	16 (94%)
Age du donneur – ans*	46 +/-12	35 +/-17
Donneur de sexe masculin – nombre (%)	4 (36%)	8 (47%)
Donneur cadavérique – nombre (%)	8 (73%)	14 (82%)
Cause cardiovasculaire de décès du donneur	2 (18%)	2 (12%)
Greffe foie + rein – nombre (%)	2 (18%)	0 (0%)
Tableau 3 : caractéristiques épidémiologiques des receveurs au moment de la greffe		
* Valeurs moyennes +/- écart type		

Caractéristiques des DSA (cf. tableau 4)

Dans le groupe RH+, 2 patients présentaient un ou plusieurs DSA de classe I et 9 patients présentaient un ou plusieurs DSA de classe II. Plus en détail, un patient présentait un seul DSA de classe I (anti-A), un patient présentait plusieurs DSA de classe I (1 anti-A, 2 anti-B), 8 patients (73%) présentaient un seul DSA de classe II (8

anti-DQ) et un patient présentait 4 DSA de classe II (2 anti-DR, 2 anti-DQ). Dans le groupe RH-, 3 patients (17%) présentaient un DSA de classe I (1 anti-Cw et 2 anti-B) et un patient présentait 2 DSA de classe I (2 anti-A). Treize patients (76%) présentaient un DSA de classe II (9 anti-DQ, 3 anti-DR et 1 anti-DP).

En considérant uniquement l'anticorps à la MFI la plus élevée lorsque les patients présentaient plusieurs DSA, la MFI moyenne était à 7500 (+/- 4700) pour le groupe RH+ contre 4500 (+/- 3600). La différence de ces moyennes n'était pas significative ($p=0,07$). Dans le groupe RH+, la valeur minimale des MFI était à 2000 et la maximale à 18000. Dans le groupe RH-, la valeur minimale était 550 et la maximale à 14000.

L'étude de la distribution des MFI au sein de toute la population retrouvait une médiane à 5500, un 25ème percentile à 3000 et un 75ème percentile à 7000. Un patient du groupe RH+ avait un DSA inférieur à 3000 de MFI, contre 8 dans le groupe RH-. Ainsi, la valeur seuil de 3000 de MFI dans la prédiction de l'absence de rejet avait une sensibilité de 91% et une spécificité de 47%. La valeur prédictive négative était de 89% et la valeur prédictive positive de 53%.

Le délai d'apparition moyen des DSA depuis la greffe parmi les 11 patients RH+ était de 5,6 ans (+/- 3,9), contre 7,1 ans (+/- 4,9) dans le groupe RH-. La différence n'était pas significative ($p=0,39$).

L'utilisation du Luminex a permis de mettre un DSA en évidence déjà présent sur des sérums antérieurs pour 3 patients du groupe RH+ (en moyenne 1,6 an plus tôt) et 7 patients du groupe RH- (en moyenne 1,9 an plus tôt).

Etude de l'activation du complément (cf. tableau 4)

Dans le groupe RH+, 4 patients sur 11 (36%) présentaient un DSA qui fixait le C1q en Luminex (patients 1, 2, 3 et 4 du tableau 1). La MFI moyenne de C1q était de 22600 (+/- 5400). Ces 4 patients étaient ceux qui présentaient un rejet aigu humoral infraclinique. Ces 4 DSA étaient tous de classe II, dirigés contre le DQ du donneur (2 DQ6 et 2 DQ7), avec une MFI moyenne de 13500 +/- 4800 et étaient apparus 6,5 années (+/- 2,5) après la greffe.

Au sein du groupe RH-, un patient présentait un DSA fixant le C1q avec une MFI à 18000. Il s'agissait d'un patient porteur d'un DSA anti-DQ8, avec une MFI à 14000 apparu 8 ans après la transplantation (patient 7 du tableau 2).

	RH+ (n=11)	RH- (n=17)	p
Patients porteurs de DSA de classe I – nombre (%)	2 (18%)	4 (24%)	0,67
DSA de classe I identifiés - nombre			
- A	2	2	
- B	2	2	
- Cw	0	1	
Patients porteurs de DSA de classe II – nombre (%)	9 (82%)	13 (76%)	0,56
DSA de classe II identifiés - nombre			
- DR	2	3	
- DQ	10	9	
- DP	0	1	
Moyenne MFI +/- écart type	7500 +/- 4700	4500 +/- 3600	0,07
MFI < 3000 (= 25 ^e percentile) – nombre (%)	1 (9%)	8 (47%)	0,049
Délai d'apparition DSA – ans*	5,6 +/- 3,9	7,1 +/- 4,9	0,39
Fixation du C1q – nombre (%)	4 (36%)	1 (6%)	0,06
MFI C1q*	22600 (5400)	18000	
Tableau 4 : caractéristiques des DSA			
* Valeurs moyennes +/- écart type			

Sur le plan anatomopathologique, les 4 patients ayant un DSA fixant le C1q dans le groupe RH+ avaient un score C4d à la PBR à 3 pour 3 d'entre eux et 1 pour

le 4ème. Le patient du groupe RH- présentant un DSA liant le C1q n'avait pas de dépôt de C4d à la PBR.

Caractéristiques immunologiques (cf. tableau 5)

Statut immunologique

Un patient du groupe RH+ et un patient du groupe RH- en étaient à leur seconde greffe. Tous les autres patients étaient greffés pour la première fois. Parmi les 11 RH+, 3 patients (27%) présentaient des anticorps anti-HLA non spécifiques du donneur avant la greffe (2 patients présentant des anti-HLA de classe I, et un patient présentant des anti-HLA de classe I et II) (cf. tableau 5). Dans le groupe RH-, 4 patients (23%) présentaient des anti-HLA non spécifiques du donneur (2 patients avec des anticorps-HLA de classe I, 2 patients avec des anticorps-HLA de classe I et II). Dans les 2 groupes, aucun patient n'était hyperimmunisé avant greffe.

Deux patients avaient présenté dans les 3 premiers mois de la greffe un rejet aigu cellulaire ayant motivé un traitement par corticothérapie. Ces 2 patients présentaient respectivement un DSA de classe I (anti-Cw15) et un DSA de classe II (anti-DP11), et aucun ne montraient de signe de rejet infraclinique à la PBR.

Mismatches

Il y avait en moyenne 2,9 (+/- 0,8) mismatches de classe I dans le groupe RH+, contre 2,7 (+/- 0,8) dans le groupe RH- (cf. tableau 5). La moyenne des mismatches de classe II dans le groupe RH+ était à 2,6 (+/- 0,8), pour une moyenne à 2,3 (+/- 1) dans le groupe RH-. Les mismatches totaux (classe I et II additionnés) étaient en

moyenne de 5,6 (+/- 1,2) chez les patients RH+, et de 5 (+/- 1) chez les patients RH-. La différence des moyennes de mismatches n'était pas significative ($p=0,22$).

Parmi les 20 patients présentant des DSA de classe II, la moyenne de mismatches épitopiques en DR était de 10,1 (+/- 4,4) dans le groupe RH+ versus 12,4 (+/- 6,5) dans le groupe RH-. Le moyenne des mismatches en DQ était de 12,1 (+/- 4,5) dans le groupe RH+ versus 10,8 (+/- 4,6) dans le groupe RH-. La somme moyenne des mismatches totaux était de 22,2 (+/- 6,9) dans le groupe RH+ et 23,2 (+/- 9,2) dans le groupe RH-. La différence n'était pas significative ($p=0,96$).

Événements immunisants post-greffe

Dans le groupe RH+, 3 patients (27%) ont reçu une transfusion après greffe. Parmi les patients RH-, 2 (12%) ont présenté des événements immunisants après la greffe : un patient a reçu une transfusion et une patiente a mené une grossesse et a été transfusée (cf. tableau 5). Tous ces événements immunisants sont survenus avant l'apparition des DSA. La survenue d'un événement immunisant post-greffe n'était pas différente entre les deux groupes ($p=0,3$).

	RH + (n=11)	RH – (n=17)	p
Anticorps HLA non DSA pré greffe – nombre (%)	3 (27%)	4 (24%)	0,58
- Classe I seuls	2	2	
- Classe II seuls	0	0	
- Classe I et II	1	2	
Hyperimmunisé - nombre	0	0	
Missmatch HLA *			
-Classe I	2,9 (0,8)	2,7 (0,8)	
- Classe II	2,6 (0,8)	2,3 (1)	
- Totaux	5,6 (1,2)	5 (1)	0,22
Missmatch classe II épitopique *			
-DR	10,1 (4,4)	12,4 (6,5)	0,56
- DQ	12,1 (4,5)	10,8 (4,6)	0,51
- Totaux	22,2 (6,9)	23,2 (9,2)	0,96
Rejet cellulaire antérieur – nombre (%)	0	2 (12%)	
Événement immunisant post greffe – nombre (%)	3 (27%)	3 (18%)	0,3
-Transfusion	3	2	0,6
- Grossesse	0	1	0,5
Tableau 5 : Comparaison des caractéristiques immunologiques des receveurs RH+ et RH-			
* = valeurs moyennes +/- écart type			

Traitement immunosuppresseur (cf. tableau 6)

Traitement d'induction

Parmi les RH+, 5 patients (45%) ont bénéficié au moment de la greffe d'une induction à l'ATG et 5 (45%) avec un anti-CD25 (Basiliximab), dont 3 à donneur vivant. Un patient n'avait pas reçu de traitement d'induction (greffe à donneur vivant). Les patients à donneur cadavérique induits au Simulect au moment de la greffe étaient âgés de plus de 55 ans (59, 60 et 64 ans). Au sein du groupe RH-, 12 patients (70%) ont eu une induction à l'ATG et 4 (24%) à l'anti-CD25 (3 au Basiliximab et 1 au Daclizumab). Un patient n'a pas reçu d'induction (greffe pédiatrique). Les trois patients ayant reçu une greffe donneur vivant ont été induits à l'ATG : un présentait des anticorps préformés et était âgé de 26 ans. Les 2 autres

étaient âgés de 26 et 27 ans le jour de la greffe, sans anticorps préformés. Il n'y avait pas de différence significative dans la répartition des traitements d'induction entre les 2 groupes ($p=0,23$).

Deux patients des 11 patients RH+ (18%) ont été sevrés à J7 des corticoïdes, devant l'absence de retard de fonctionnement du greffon ; il s'agissait de 2 greffes à donneur décédé. Cinq patients (29%) ont été sevrés de la corticothérapie à J7 de la transplantation dans le groupe RH- : il s'agissait de 3 patients à donneur vivant et de 2 patients à donneur décédé. La survenue du sevrage des corticoïdes à J7 n'était pas différente entre les 2 groupes ($p=0,42$).

Traitement d'entretien

Dans le groupe RH+, le traitement au moment de la découverte du DSA isolé, 10 patients sur 11 (91%) étaient sous anticalcineurine (6 sous tacrolimus et 4 sous ciclosporine) et 1 sous inhibiteur de mTOR (évérolimus). Dix patients étaient traités par MMF (mycophenolate mofetil), et 1 par azathioprine. Six patients (50%) recevaient une corticothérapie.

Au sein du groupe RH-, 15 patients sur 17 (88%) étaient sous anticalcineurine (10 sous tacrolimus, 5 sous ciclosporine) et aucun sous inhibiteur de mTOR. Douze patients recevaient du MMF et 2 de l'azathioprine. Huit patients (47%) recevaient une corticothérapie.

Dans le groupe RH+, l'immunosuppression avait été diminuée l'année précédant l'apparition du DSA chez 6 patients (50%) : 2 cas pour sepsis, 4 cas pour des taux d'immunosuppresseurs supérieurs aux objectifs fixés. Parmi les patients RH-, l'immunosuppression avait été baissée dans l'année précédent l'apparition du

DSA chez 7 patients (41%) : 1 pour troubles digestifs, 1 pour néoplasie et 5 pour des taux d'immunosuppresseurs supérieurs aux objectifs. Le taux de survenue d'une modification d'immunosuppression dans l'année précédant l'apparition du DSA n'était pas différente entre les 2 groupes ($p=0,38$).

	RH + (n=11)	RH – (n=17)	p
Traitement d'induction – nombre (%)			0,23
- ATG	5 (45%)	12 (71%)	
- Anti CD25	5 (45%)	4 (24%)	
Pas de traitement d'induction	1 (9%)	1 (6%)	
Sevrage CTC à J7 – nombre (%)	2 (18%)	5 (29%)	0,42
Traitement d'entretien – nombre (%)			
- Tacrolimus	6 (55%)	10 (59%)	
- Ciclosporine	4 (36%)	5 (29%)	
- MMF	10 (91%)	12 (71%)	
- CTC	6 (55%)	8 (47%)	
- Inhibiteur mTOR	1 (9%)	-	
- Azathioprine	-	2 (12%)	
Association des immunosuppresseurs			
- Tacrolimus + MMF	4	3	
- Tacrolimus + MMF + CTC	4	3	
- Tacrolimus + CTC	-	1	
- Tacrolimus + Azathioprine + CTC	-	1	
- Tacrolimus + Azathioprine	-	1	
- Tacrolimus	-	1	
- Ciclosporine + MMF + CTC	3	-	
- Ciclosporine + azathioprine + CTC	1	-	
- Ciclosporine + MMF	-	4	
- Ciclosporine + CTC	-	1	
- MMF + CTC	-	2	
- Everolimus + MMF	1	-	
Modification immunosuppression un an avant apparition DSA – nombre (%)	6 (55%)	7 (41%)	0,38
Causes :			
- Sepsis	2	-	
- Taux résiduels > objectifs	4	5	
- Troubles digestifs	-	1	
- Néoplasie	-	1	
Tableau 6 : Comparaison des traitements immunosuppresseurs à l'induction et en entretien			
ATG = antithymoglobuline; CTC = corticothérapie; MMF = mycophénolate mofétil;			

Données néphrologiques (cf. tableau 7)

La créatininémie moyenne au moment du dépistage du DSA dans le groupe RH+ était de 16mg/l (+/- 4) et le débit de filtration glomérulaire estimé par la méthode du MDRD était en moyenne de 54ml/min/1,73 m² (+/-22). Dans le groupe RH-, la créatininémie au moment du dépistage du DSA était en moyenne à 13,5mg/l (+/- 3,4), avec un DFG estimé à 65 ml/min/1,73 m² (+/-19). Les moyennes de créatininémie et de MDRD n'étaient pas significativement différentes entre les 2 groupes (p respectivement à 0,41 et 0,84).

La protéinurie des 24h était en moyenne à 0,3 (+/- 0,3) dans le groupe RH+ versus 0,25 (+/- 0,3) dans le groupe RH-. Il n'y avait pas de différence significative entre les 2 groupes (p=0,58).

La survie du greffon censurée, mesurée par la baisse du MDRD de plus de 20%, n'était pas différente significativement entre les 2 groupes (log rank=0,31) (cf. figure 2).

	RH + (n=11)	RH – (n=17)	p
Créatininémie – mg/l*	16 (4)	13,5 (3,4)	0,41
MDRD - ml/min/1,73 m ² *	54 (22)	65 (19)	0,84
Protéinurie – g/24h *	0,3 (0,3)	0,25 (0,3)	0,58

Tableau 7 : Comparaison des caractéristiques biologiques des receveurs RH+ et RH- au dépistage du DSA
* = valeurs moyennes +/- écart type

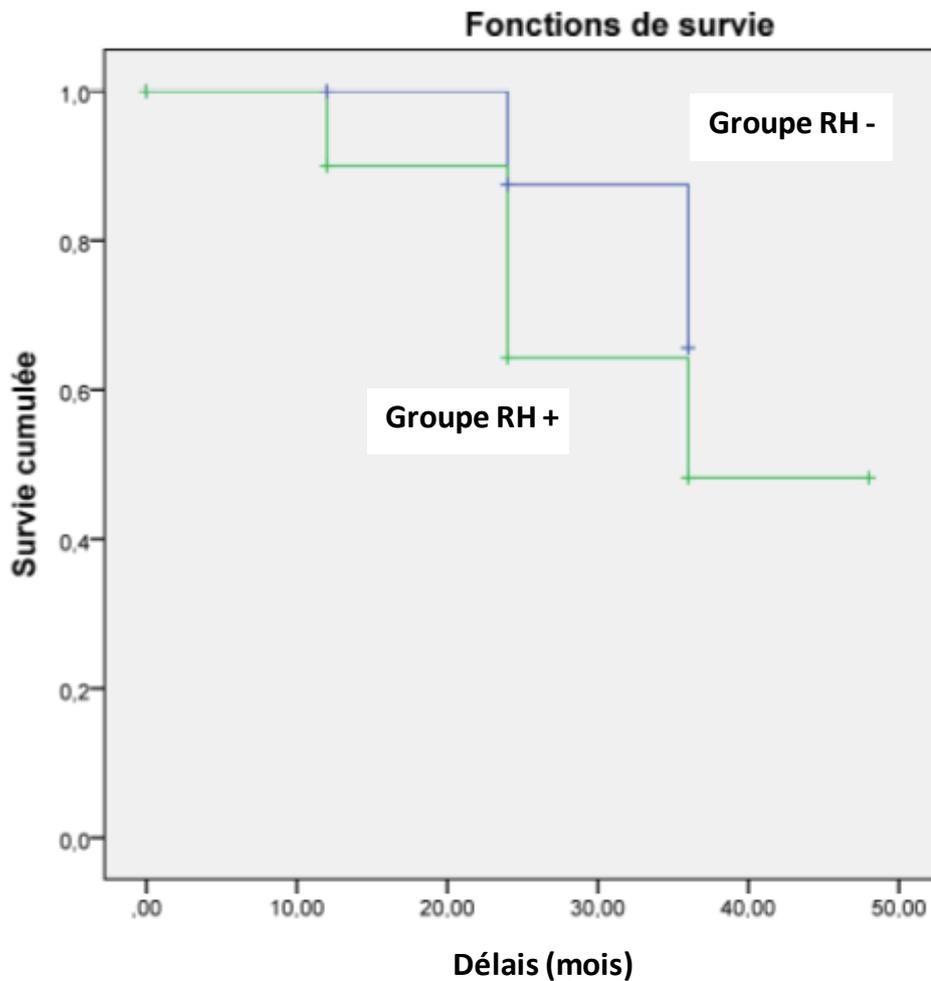


Figure 2 : comparaison des courbes de survie groupe RH+ vs RH -.
Log rank = 0,31

Données histologiques

PBR à 3 mois

En raison de l'ancienneté de certaines greffes, 14 patients n'ont pas bénéficié de la PBR protocolaire à 3 mois de greffe, désormais réalisée systématiquement chez tous les patients de notre centre.

Dans le groupe RH+, sur les 5 biopsies disponibles, un patient présentait des lésions de rejet bordeline associées à une toxicité des anticalcineurines et des lésions du donneur, un patient présentait une toxicité aux anticalcineurines et un

troisième patient présentait une nécrose tubulaire aiguë associée à des lésions du donneur.

Au sein du groupe RH-, 8 patients ont eu une PBR à 3 mois de greffe. Celle-ci mettait en évidence chez 4 patients des lésions vasculaires du donneur, associées dans 2 des 4 cas à une toxicité des anticalcineurines.

Deux patients sur les 27 inclus (7%) ont présenté une complication grave suite à la PBR pour DSA. Le premier patient a présenté un hématome sous capsulaire compliqué d'une insuffisance rénale aiguë obstructive, nécessitant une dérivation des urines par pyélostomie et une hospitalisation de 11 jours. Il a présenté une perte de 25% de son DFG suite à cet épisode. Le second patient a présenté une fistule artério-veineuse post biopsie compliquée d'une insuffisance rénale aiguë, nécessitant une intervention (embolisation de la fistule). Il a récupéré intégralement sa fonction rénale après cet épisode.

PBR intermédiaires pour autres causes

Trois patients du groupe RH- ont été biopsiés en dehors de la biopsie protocolaire des 3 mois, pour augmentation de la créatininémie : ces 3 PBR retrouvaient des lésions secondaires à la toxicité des anticalcineurines, associées dans un cas à des lésions vasculaires du donneur et dans un autre cas à une hyalinose segmentaire et focale sous inhibiteur de mTOR.

Une biopsie rénale en dehors de celle des 3 mois a été réalisée chez neuf patients sur les 17 du groupe RH- en raison d'une augmentation de la créatininémie ou de l'apparition d'une protéinurie dans 3 cas sur les 9. Deux biopsies précoces retrouvaient de la nécrose tubulaire aiguë post-greffe, une PBR retrouvait une

néphropathie chronique d'allogreffe. La PBR réalisée pour apparition d'une protéinurie retrouvait dans 2 cas des lésions secondaires à la toxicité des anticalcineurines et dans un autre cas une récurrence de glomérulonéphrite extramembraneuse associée à de la hyalinose segmentaire et focale et à une toxicité des anticalcineurines.

Prise en charge

Adaptation du traitement immunosuppresseur post PBR

Tous les patients RH+ ont eu une modification de leur traitement suite aux résultats de la biopsie. Concernant les 4 rejets humoraux aigus infracliniques : un patient a bénéficié d'un traitement par 3 bolus de corticoïdes associés à des échanges plasmatiques et immunoglobulines intraveineuses, un patient a reçu 3 bolus de corticoïdes associés à 10 séances d'immunoabsorption, et 2 patients ont été mis sous immunomodulateur (pentoxifylline). Concernant les 7 patients ayant un RCHA à la PBR, un patient a bénéficié d'un traitement par 6 séances d'échanges plasmatiques et 3 bolus d'immunoglobulines (présence d'une glomérulite g1 à la PBR), un patient a été mis sous immunomodulateur (pentoxifylline), 3 patients ont été switchés de la ciclosporine vers le tacrolimus, un patient a été switché du tacrolimus vers la ciclosporine (patient fonctionnel pour le cytochrome p450), et un patient a repris une corticothérapie per os.

Dans le groupe RH-, 5 modifications thérapeutiques ont eu lieu après la PBR. Deux patients ont eu une augmentation de leur dose de tacrolimus, un a été switché de la ciclosporine au tacrolimus, un a eu une baisse de la posologie de son traitement par tacrolimus avec introduction d'un traitement immunomodulateur

(pentoxifylline) et un a eu une majoration de son traitement par IEC (inhibiteur de l'enzyme de conversion).

Discussion

Le principal objectif de notre travail était d'évaluer l'intérêt de la PBR chez les patients transplantés rénaux avec apparition d'un DSA *de novo* identifié en technique Luminex sans dégradation de la fonction rénale associée. Vingt-huit patients suivis dans notre centre ont répondu aux critères d'inclusion, après expertise de nos confrères immunologistes. La plupart de ces patients étaient de sexe masculin et une majorité des DSA identifiés étaient des anticorps anti-HLA de classe II dirigés contre le DQ. Ces DSA survenaient en moyenne 6 ans après la transplantation rénale. La rentabilité de la PBR était importante car près de 40% des patients présentaient des lésions d'humoralité à la biopsie rénale.

Dans une étude de cohorte de 2012 portant sur 315 transplantations rénales (9), 15% des patients transplantés présentaient un DSA d'apparition *de novo*, en moyenne 4,6 ans après la greffe. Dans une seconde étude concernant 638 patients, 12% d'entre eux développaient un DSA *de novo*, dont le délai moyen de survenue était de 3,8 ans (14). Le délai d'apparition dans notre étude est proche. Dans ces deux études, la prédominance des DSA dirigés contre le HLA de classe II est également retrouvée.

Concernant l'inflammation microvasculaire (score g + ptc > 1), celle-ci était retrouvée chez 4 patients sur les 28 de notre étude. Cette proportion est semblable à celle retrouvée dans l'étude de Wiebe et al (9) où 4 patients sur les 33 présentant un DSA *de novo* avec une fonction rénale stable avaient une inflammation microvasculaire à la PBR. La valeur pronostique de ce score d'inflammation microvasculaire a été démontrée comme un facteur de risque péjoratif de l'évolution

de la greffe rénale chez les patients présentant un DSA *de novo*, quelque soit leur fonction rénale (8) (14) .

Dans un second temps, nous avons cherché à identifier certains facteurs prédictifs d'un rejet humoral infraclinique à la PBR, afin de guider le clinicien dans sa pratique et éviter aux patients une PBR peu rentable et menant parfois à des complications. La valeur seuil de 3000 de MFI du DSA nous semble être un cut-off pertinent : en effet, dans notre étude, un patient présentant un DSA avec une MFI inférieure à 3000 avait 90% de chance de ne pas avoir de rejet à la PBR. En revanche, une valeur de MFI supérieure à 3000 n'était pas prédictive d'un rejet humoral. Aussi, pour les patients présentant un DSA *de novo* dont la MFI serait inférieure à 3000, nous pourrions proposer de ne pas réaliser de PBR et de surveiller activement la fonction rénale, ainsi que de l'évolution du DSA et de sa MFI à un an.

D'autre part, l'activation de la voie classique du complément par le DSA semble être un témoin d'une inflammation microvasculaire. En effet, la fixation du DSA au C1q était positive chez tous les patients présentant des signes d'inflammation microvasculaire à la PBR (score g + ptc > 1) mais négative pour tous les rejets humoraux chroniques avec un score < ou égal à 1. Ces résultats sont concordants avec la littérature : dans une étude rétrospective de 2013 (10), 87% des patients ayant un DSA liant le C1q présentaient une inflammation microvasculaire à la biopsie rénale. Dans notre étude, il existait un patient faussement positif au C1q, ne présentant pas de signe de rejet infraclinique. Au vue de nos résultats, l'étude de la fixation du DSA au C1q ne semble pas être un outil de pratique courante, sa négativité n'étant pas prédictive d'une absence de rejet. Cependant, son utilisation pourrait être proposée dans des cas où la biopsie rénale serait de réalisation difficile.

D'autre part, la fixation du C1q était liée à un dépôt de C4d à la PBR pour 4 des 5 patients positifs, en faveur d'un rôle de la voie classique du complément. Cependant, une étude récente démontre également le rôle de la voie alterne du complément (15). Notre étude pourrait être complétée par la réalisation d'une étude de la fixation du C3d aux DSA dépistés.

Huit patients, identifiés initialement comme porteurs de DSA de novo ont finalement été exclus car le DSA était présent avant greffe, après étude des sérums historiques par la technique sensible du Luminex non disponible en pratique courante antérieurement. Ces données soulignent deux points : d'une part, le rôle majeur joué désormais par les techniques sensibles de dépistage des anticorps anti-HLA, justifiant probablement le surcoût occasionné ; d'autre part, le caractère essentiel d'une étroite collaboration entre les équipes néphrologiques et immunologiques pour la prise en charge des patients. Alors que 8 patients ont été biopsiés avant qu'il ne soit établi la présence de DSA avant greffe, nous n'avons identifié un rejet chronique humoral actif à la PBR que chez 2 patients. A l'heure des nouvelles techniques immunosuppressives chez les patients hyperimmunisés et la désimmunisation, un travail complémentaire consisterait à étudier ces patients présentant des DSA antérieurs à la greffe diagnostiqués à posteriori, à crossmatch négatif le jour de la greffe.

La majorité des patients de notre étude étaient des hommes. Toutes les femmes initialement incluses dans l'étude ont été exclues secondairement en raison de la présence de DSA antérieurs à la greffe. L'antécédent le plus fréquent d'événement immunisant comme la transfusion et la grossesse chez ces patients pourraient expliquer une immunisation des femmes plus fréquentes, et donc la

présence de DSA antérieurs à la transplantation. La faible proportion de patient de sexe féminin n'était pas retrouvée dans les études sur des populations de transplantés rénaux présentant des DSA de novo. De plus, un patient sur cinq dans notre population avait reçu une greffe à donneur vivant, alors que la prévalence des greffes à donneurs vivants est de 10 à 12% dans notre centre. Une explication potentielle serait que l'induction par un anticorps anti-CD25, concernant 45% du groupe rejet contre 24% du groupe sans rejet, soit un facteur favorisant l'apparition de DSA de novo. Dans une étude de 114 patients, l'utilisation du basiliximab versus l'ATG a été associée avec un risque significativement plus élevé de DSA de novo (16).

Nous n'avons pas retrouvé de différence significative sur les caractéristiques cliniques et épidémiologiques des 2 groupes de patients. Les moyennes d'âge des receveurs, la durée d'évolution de la greffe avant l'apparition du DSA, la moyenne d'âge du donneur, le pourcentage de retransplantation, la fréquence des greffes à donneurs vivants et la survenue d'un décès cardiovasculaire chez le donneur n'étaient pas différentes entre les 2 groupes. D'un point de vue immunologique, les classes d'anticorps anti-HLA identifiées, l'existence d'événement immunisant ou sur les mismatches HLA antigéniques entre le donneur et le receveur n'étaient pas statistiquement différentes entre les 2 groupes. Nous nous étions intéressés aux mismatches épitopiques de classe II, via l'utilisation du logiciel HLA matchmaker® ; en effet, la diminution du nombre de mismatches épitopiques contre le DQ et le DR du donneur a été démontrée comme un facteur de risque d'apparition de DSA de novo et d'évolution péjorative du greffon (17). Nous n'avons pas retrouvé de différence significative entre les 2 groupes. De même, les traitements d'induction et d'entretien

ne différaient pas entre les 2 groupes. La fonction rénale, appréciée par la créatininémie et la protéinurie était également similaire entre les deux groupes.

Il est intéressant de noter que l'apparition d'un DSA *de novo* survient, dans près d'un cas sur deux, dans l'année suivant une modification de l'immunosuppression. Cela souligne l'intérêt d'une surveillance attentive des DSA après une modification thérapeutique. Cependant, nous ne nous sommes pas intéressés aux années où des modifications de traitements avaient eu lieu sans que ne survienne un DSA.

Alors que la présence d'un rejet humoral infraclinique à la PBR est identifiée comme facteur d'évolution péjoratif de survie du greffon (18), la survie rénale à 2 ans des patients de notre étude présentant un rejet humoral infraclinique à la PBR n'était pas différente des patients sans rejet. Cette absence de différence est probablement due à un manque de recul par rapport au délais depuis l'apparition du DSA, qui était en moyenne de 2 ans. Bien qu'aucune donnée de la littérature ne démontre actuellement l'intérêt de traiter les patients atteints de rejet chronique humoral actif (19) (20), 100% des patients ayant eu un diagnostic de rejet humoral infraclinique ont bénéficié d'un changement de traitement immunosuppresseur. Ces modifications ont également pu contribuer à une non dégradation de la fonction rénale.

Les limites de notre étude comportent le fait que nous avons étudié un effectif de petite taille et qu'elle soit monocentrique. Par ailleurs, les prises en charge des patients après diagnostic d'un rejet humoral infraclinique à la PBR n'étaient pas standardisées.

Conclusion

Le dépistage de DSA *de novo* chez des patients transplantés rénaux à fonction rénale stable est un événement de plus en plus fréquent, depuis la mise à disposition de techniques hautement sensibles en pratique courante dans l'identification des anticorps anti-HLA. Nous avons cherché à déterminer l'intérêt de la PBR chez ces patients. Celle-ci pourrait être proposée à tous les patients présentant un DSA dont la MFI est supérieure à 3000. Une simple surveillance biologique pourrait être proposée aux patients dont le DSA a une MFI inférieure à 3000, la probabilité d'identifier des lésions de rejet humoral à la PBR étant faible chez ces patients. Ces données nécessiteraient d'être confirmées sur une étude à plus grande échelle.

Références

1. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med*. 1999 Dec 2;341(23):1725–30.
2. Mendonça AEO de, Salvetti M de G, Maia EMC, Silva AC de OE, Torres G de V. Analysis of the physical aspects of quality of life of kidney recipients. *Rev Esc Enferm U S P*. 2015 Feb;49(1):76–81.
3. Crespo M, Pascual M, Tolkoff-Rubin N, Mauiyyedi S, Collins AB, Fitzpatrick D, et al. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: I. Incidence, serology and clinical characteristics. *Transplantation*. 2001 Mar 15;71(5):652–8.
4. Mauiyyedi S, Crespo M, Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, Saidman SL, et al. Acute humoral rejection in kidney transplantation: II. Morphology, immunopathology, and pathologic classification. *J Am Soc Nephrol*. 2002 Mar;13(3):779–87.
5. Lamb KE, Lodhi S, Meier-Kriesche H-U. Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal. *Am J Transplant*. 2011 Mar;11(3):450–62.
6. El-Zoghby ZM, Stegall MD, Lager DJ, Kremers WK, Amer H, Gloor JM, et al. Identifying specific causes of kidney allograft loss. *Am J Transplant*. 2009 Mar;9(3):527–35.
7. Einecke G, Sis B, Reeve J, Mengel M, Campbell PM, Hidalgo LG, et al. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant*. 2009 Nov;9(11):2520–31.
8. Hidalgo LG, Campbell PM, Sis B, Einecke G, Mengel M, Chang J, et al. De novo donor-specific antibody at the time of kidney transplant biopsy associates with microvascular pathology and late graft failure. *Am J Transplant*. 2009 Nov;9(11):2532–41.
9. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, Karpinski M, Ho J, Storsley LJ, et al. Evolution and Clinical Pathologic Correlations of De Novo Donor-Specific HLA Antibody Post Kidney Transplant: Clinical Pathologic Correlations of De Novo DSA. *Am J Transplant*. 2012 May;12(5):1157–67.
10. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, Prugger C, van Huyen J-PD, Mooney N, et al. Complement-Binding Anti-HLA Antibodies and Kidney-Allograft Survival. *N Engl J Med*. 2013;369(13):1215–26.
11. Tait BD, Süsal C, Gebel HM, Nickerson PW, Zachary AA, Claas FHJ, et al. Consensus Guidelines on the Testing and Clinical Management Issues Associated With HLA and Non-HLA Antibodies in Transplantation: *Transplant J*. 2013 Jan;95(1):19–47.

12. Pei R, Lee J, Chen T, Rojo S, Terasaki PI. Flow cytometric detection of HLA antibodies using a spectrum of microbeads. *Hum Immunol*. 1999 Dec;60(12):1293–302.
13. El-Awar N, Lee J, Terasaki PI. HLA Antibody Identification With Single Antigen Beads Compared To Conventional Methods. *Hum Immunol*. 2005 Sep;66(9):989–97.
14. De Kort H, Willicombe M, Brookes P, Dominy KM, Santos-Nunez E, Galliford JW, et al. Microcirculation Inflammation Associates With Outcome in Renal Transplant Patients With *De Novo* Donor-Specific Antibodies: Microcirculation and *De Novo* DSA. *Am J Transplant*. 2013 Feb;13(2):485–92.
15. Sicard A, Ducreux S, Rabeyrin M, Couzi L, McGregor B, Badet L, et al. Detection of C3d-Binding Donor-Specific Anti-HLA Antibodies at Diagnosis of Humoral Rejection Predicts Renal Graft Loss. *J Am Soc Nephrol*. 2015 Feb 1;26(2):457–67.
16. Brokhof MM, Sollinger HW, Hager DR, Muth BL, Pirsch JD, Fernandez LA, et al. Antithymocyte Globulin is Associated with a Lower Incidence of *De Novo* Donor-Specific Antibodies in Moderately Sensitized Renal Transplant Recipients. *Transplantation*. 2014 Mar 27;97(6):612–7.
17. Wiebe C, Pochinco D, Blydt-Hansen TD, Ho J, Birk PE, Karpinski M, et al. Class II HLA Epitope Matching-A Strategy to Minimize *De Novo* Donor-Specific Antibody Development and Improve Outcomes: Class II Epitope Matching to Minimize *De Novo* DSA. *Am J Transplant*. 2013 Dec;13(12):3114–22.
18. Legendre C, Loupy A, Rabant M, Aubert O, Rabaté C, Delville M, et al. Aspects actuels des rejets aigus humoraux. *Néphrologie Thérapeutique*. 2014 Nov;10(6):479–83.
19. Archdeacon P, Chan M, Neuland C, Velidedeoglu E, Meyer J, Tracy L, et al. Summary of FDA antibody-mediated rejection workshop. *Am J Transplant* 2011 May;11(5):896–906.
20. Konvalinka A, Tinckam K. Utility of HLA Antibody Testing in Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2015 Mar 24;

Annexe 1 : classification de Banff, actualisation 2013

Banff 2013 Meeting Report

Table 2: Revised (Banff 2013) classification of antibody-mediated rejection (ABMR) in renal allografts

Acute/active ABMR; all three features must be present for diagnosis^{1,2}

1. Histologic evidence of acute tissue injury, including one or more of the following:
 - Microvascular inflammation ($g > 0^3$ and/or $ptc > 0$)
 - Intimal or transmural arteritis ($v > 0$)⁴
 - Acute thrombotic microangiopathy, in the absence of any other cause
 - Acute tubular injury, in the absence of any other apparent cause
2. Evidence of current/recent antibody interaction with vascular endothelium, including at least one of the following:
 - Linear C4d staining in peritubular capillaries (C4d2 or C4d3 by IF on frozen sections, or C4d > 0 by IHC on paraffin sections)
 - At least moderate microvascular inflammation ($[g + ptc] \geq 2$)⁵
 - Increased expression of gene transcripts in the biopsy tissue indicative of endothelial injury, if thoroughly validated⁶
3. Serologic evidence of donor-specific antibodies (DSAs) (HLA or other antigens)

Chronic, active ABMR; all three features must be present for diagnosis^{1,7}

1. Morphologic evidence of chronic tissue injury, including one or more of the following:
 - Transplant glomerulopathy (TG) ($cg > 0$)⁸, if no evidence of chronic thrombotic microangiopathy
 - Severe peritubular capillary basement membrane multilayering (requires EM)⁹
 - Arterial intimal fibrosis of new onset, excluding other causes¹⁰
2. Evidence of current/recent antibody interaction with vascular endothelium, including at least one of the following:
 - Linear C4d staining in peritubular capillaries (C4d2 or C4d3 by IF on frozen sections, or C4d > 0 by IHC on paraffin sections)
 - At least moderate microvascular inflammation ($[g + ptc] \geq 2$)⁵
 - Increased expression of gene transcripts in the biopsy tissue indicative of endothelial injury, if thoroughly validated⁶
3. Serologic evidence of DSAs (HLA or other antigens)

C4d staining without evidence of rejection; all three features must be present for diagnosis¹¹

1. Linear C4d staining in peritubular capillaries (C4d2 or C4d3 by IF on frozen sections, or C4d > 0 by IHC on paraffin sections)
2. $g = 0$, $ptc = 0$, $cg = 0$ (by light microscopy and by EM if available), $v = 0$; no TMA, no peritubular capillary basement membrane multilayering, no acute tubular injury (in the absence of another apparent cause for this)
3. No acute cell-mediated rejection (Banff 97 type 1A or greater) or borderline changes

cg, Banff chronic glomerulopathy score; EM, electron microscopy; ENDAT, endothelial activation and injury transcript; g, Banff glomerulitis score; GBM, glomerular basement membrane; IF, immunofluorescence; IHC, immunohistochemistry; ptc, peritubular capillary; TCMR, T cell-mediated rejection; v, Banff arteritis score.

¹For all ABMR diagnoses, it should be specified in the report whether the lesion is C4d-positive (C4d2 or C4d3 by IF on frozen sections; C4d > 0 by IHC on paraffin sections) or without evident C4d deposition (C4d0 or C4d1 by IF on frozen sections; C4d0 by IHC on paraffin sections).

²These lesions may be clinically acute, smoldering or subclinical. Biopsies showing two of the three features, except those with DSA and C4d without histologic abnormalities potentially related to ABMR or TCMR (C4d staining without evidence of rejection; see footnote 11, below) may be designated as "suspicious" for acute/active ABMR.

³Recurrent/*de novo* glomerulonephritis should be excluded.

⁴It should be noted that these arterial lesions may be indicative of ABMR, TCMR or mixed ABMR/TCMR. "v" lesions are only scored in arteries having a continuous media with two or more smooth muscle layers.

⁵In the presence of acute TCMR, borderline infiltrates or evidence of infection, $ptc \geq 2$ alone is not sufficient to define moderate microvascular inflammation and g must be ≥ 1 .

⁶At present the only validated molecular marker meeting this criterion is ENDAT expression (4), and this has only been validated in a single center (University of Alberta). The use of ENDAT expression at other centers or other test(s) of gene expression within the biopsy as evidence of ABMR must first undergo independent validation as was done for ENDAT expression by Sis et al (4).

⁷Lesions of chronic, active ABMR can range from primarily active lesions with early TG evident only by EM (cg1a) to those with advanced TG and other chronic changes in addition to active microvascular inflammation. In the absence of evidence of current/recent antibody interaction with the endothelium (those features in the Second Section), the term active should be omitted; in such cases DSA may be present at the time of biopsy or at any previous time posttransplantation.

⁸Includes GBM duplication by EM only (cg1a) or GBM double contours by light microscopy.

⁹ ≥ 7 layers in one cortical peritubular capillary and ≥ 5 in two additional capillaries (17), avoiding portions cut tangentially.

¹⁰While leukocytes within the fibrotic intima favor chronic rejection, these are seen with chronic TCMR as well as chronic ABMR, and are therefore helpful only if there is no history of TCMR. An elastic stain may be helpful as absence of elastic lamellae is more typical of chronic rejection and multiple elastic lamellae are most typical of arteriosclerosis, although these findings are not definitive.

¹¹The clinical significance of these findings may be quite different in grafts exposed to anti-blood-group antibodies (ABO-incompatible allografts), where they do not appear to be injurious to the graft (18,19) and may represent accommodation. However, with anti-HLA antibodies such lesions may progress to chronic ABMR (20) and more outcome data are needed.

AUTEUR : Nom : May

Prénom : Olivia

Date de Soutenance : 10 avril 2015

Titre de la Thèse : Conduite à tenir devant l'apparition d'un DSA de novo isolé en transplantation rénale. Expérience locale à partir de 28 cas.

Thèse - Médecine - Lille 2015

DES + spécialité : Néphrologie

Mots-clés : Transplantation rénale, DSA de novo, anticorps anti-HLA, ponction biopsie rénale

Résumé

Contexte : : Depuis 5 ans, des techniques sensibles sont utilisées en pratique courante pour dépister annuellement les anticorps anti-HLA dirigés contre le donneur (Donor Specific Antibody, DSA) chez les transplantés rénaux. La conduite à tenir devant l'apparition d'un DSA *de novo* chez un patient à fonction rénale stable n'est à ce jour pas consensuelle.

Méthodes : Notre étude, monocentrique, prospective, concernait tous les transplantés rénaux suivi à Lille entre 2009 et 2014 présentant un DSA *de novo* au bilan annuel et ayant pu bénéficier d'une PBR.

Résultats : Nous avons inclus initialement 38 patients présentant des DSA *de novo*. Dix ont été secondairement exclus (DSA présent avant greffe, refus de réalisation de PBR). Sur les 28 patients restant, 11 (39%) présentaient un rejet humoral aigu ou chronique à la PBR (groupe RH+), 17 (61%) ne présentaient pas de rejet (groupe RH-). La majorité des DSA de novo étaient des anticorps anti-HLA de classe II dirigés contre le DQ, et survenaient en moyenne 6 ans après la transplantation rénale. Une MFI (Median Fluorescence Intensity) inférieure à 3000 étaient prédictive d'une absence de rejet dans 90% des cas.

Conclusion : Devant l'apparition d'un DSA de novo chez des patients à fonction rénale stable, le clinicien peut s'aider de la MFI du DSA. Une valeur supérieure à 3000 doit encourager à la réalisation d'une PBR pour ne pas méconnaître un rejet humoral infraclinique. Pour une valeur inférieure à 3000, une surveillance biologique annuelle peut être proposée.

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Christian NOËL

Asseseurs : Monsieur le Professeur Marc HAZZAN

Madame le Professeur Myriam LABALETTE

Directeur de Thèse : Monsieur le Docteur François PROVÔT