



**HAL**  
open science

# Épuration des anticorps anti-HLA par échanges plasmatiques et immunoadsorptions

Frédéric Jambon

► **To cite this version:**

Frédéric Jambon. Épuration des anticorps anti-HLA par échanges plasmatiques et immunoadsorptions. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-02432313

**HAL Id: dumas-02432313**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02432313>**

Submitted on 8 Jan 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse pour l'obtention du  
**DIPLOME D'ETAT EN MEDECINE**

Par Frédéric JAMBON

*Né le 29 Décembre 1989 à Paris XIVème*

**EPURATION DES ANTICORPS ANTI-HLA PAR ECHANGES  
PLASMATIQUES ET IMMUNOADSORPTIONS**

Sous la codirection des Drs Karine MOREAU et Jonathan VISENTIN

Soutenue le 6 Septembre 2019

Membres du jury :

Mr le Pr Christian COMBE, PU-PH Université de Bordeaux ..... Président  
Mr le Pr Christophe LEGENDRE, PU-PH, Université de Paris Descartes ..... Rapporteur  
Mr le Pr Pierre MERVILLE, PU-PH, Université de Bordeaux ..... Examineur  
Mr le Pr Lionel COUZI, PU-PH, Université de Bordeaux ..... Examineur  
Mr le Dr Jonathan VISENTIN, MCU-PH, Université de Bordeaux ..... Directeur  
Mme le Dr Karine MOREAU, PH ..... Directrice

# Remerciements

Au Professeur Christian Combe,

Pour avoir accepté d'être le président du jury de ma thèse, pour votre passion de la néphrologie et votre expérience que vous aimez transmettre.

Au Professeur Pierre Merville,

Pour avoir accepté de participer au jury de ma thèse, pour m'avoir fait découvrir le monde de la transplantation rénale, pour la chance que vous me donnez de continuer dans ce chemin.

Au Professeur Lionel Couzi,

Pour avoir accepté de participer au jury de ma thèse, pour ton énergie et ta motivation communicatives, pour ta disponibilité et tes conseils avisés, pour l'opportunité que tu m'offres de travailler dans le service de transplantation rénale.

Au Professeur Christophe Legendre,

Pour avoir accepté d'être le rapporteur de ma thèse, pour avoir fait le déplacement depuis Paris pour assister à ma thèse, pour m'avoir si bien accueilli au sein de votre service à l'hôpital Necker, pour la confiance que vous m'avez accordée pendant ces 6 mois.

Au Docteur Karine Moreau,

Pour avoir accepté d'être co-directrice de ma thèse, pour ton encadrement et ton implication dans ce travail qui n'aurait pu exister sans toi, pour m'avoir formé dès le premier jour de mon internat, pour ton dynamisme et ta simplicité.

Au Docteur Jonathan Visentin,

Pour avoir accepté d'être co-directeur de ma thèse, pour ton expertise, ton efficacité et ton implication dans ce travail, pour ton encadrement incroyable au cours de mon master 2, pour m'avoir initié à l'immunologie et au domaine si particulier du HLA, pour tous les projets en cours ou à venir.

Aux différentes équipes médicales qui m'ont accueilli au cours de mon internat,

Pour m'avoir accompagné, formé et soutenu pendant ces 4 ans. Merci à toute l'équipe du service de Néphrologie – Transplantation – Dialyse de Pellegrin pour m'avoir guidé dès mes premiers pas dans ma spécialité. Merci à l'équipe du service de Transplantation rénale de l'hôpital Necker pour votre incroyable accueil et pour toutes les connaissances que vous m'avez transmises. Merci aux équipes des services de Maladies infectieuses et de Réanimation médicale de Pellegrin et de Cardiologie de Saint-André pour m'avoir fait découvrir, comprendre et apprécier vos spécialités. Je tiens à remercier en particulier Stan et Suzanne, pour leur disponibilité, leur pédagogie et pour la confiance qu'ils m'ont donnée. Merci à Romain qui a réussi l'incroyable défi de me faire aimer la cardiologie. Anne, c'était un réel plaisir de travailler avec toi au quotidien. Charlotte, merci pour tout ce que tu m'as apporté. Ton efficacité et ta justesse médicale sont un exemple pour moi.

A toutes les équipes infirmières et aides-soignantes mais aussi les cadres et les secrétaires,  
Pour votre aide et votre soutien au quotidien.

A toute l'équipe du laboratoire ImmunoConcEpT, du laboratoire HLA et de la plateforme SPR de l'IECB,  
Pour m'avoir permis de découvrir le monde de la recherche scientifique. Merci pour votre disponibilité et votre soutien durant cette année de master 2.

A tous mes co-internes et mes co-master 2,  
Pour tous ces bons moments partagés, pour toutes ces épreuves traversées ensemble. Je tiens à remercier particulièrement la team Necker, pour l'ambiance unique que vous avez su créer. Merci à Emilie, Eline, Louis et Coriolan, comme quoi, la réa, ça crée des liens ! Merci à Maylis pour cette complicité quotidienne dans le bureau de l'unité 3. Merci à Manon, co-interne des premiers jours et des premiers soirs, avec qui j'aurais le plaisir de continuer à travailler au cours des prochaines années. Merci à Ludo, d'avoir tenté de réveiller le diable qui est en moi. Merci à Stéphane et Bertrand, pour ce stage de haute volée. Merci à Sophie, mon endocrinologue préférée et « presque » marraine. Pierre, nos différences nous ont rapprochés, merci pour tout. Delphine, tu m'as connu à mes balbutiements et j'ai grandi à tes côtés, merci pour tout.

A mes amis,  
Pour tous ces moments de bonheur partagés. Merci à Aline, Clarisse, Damien et Lorène, témoins incroyables et amis irréprochables. Merci à Charlie pour ces nuits inoubliables. Romain, ne change rien, tu es au top ! Alain, tu sais tout le respect que j'ai pour toi.

A mes parents,  
Pour leur soutien depuis toujours, pour leur immense aide pendant ces 6 mois d'interlude parisien.

A mes beaux-parents,  
Pour m'avoir accueilli les bras ouverts dans leur famille.

A ma sœur, à mon frère, à ma nièce préférée Marie,  
Pour leur amour malgré l'éloignement.

A mes grands-parents Florence et Louis, à mon frère Michael,  
Je pense bien fort à vous.

A Eva,  
Pour tout l'amour que tu m'apportes au quotidien, pour ton soutien indéfectible depuis bientôt 10 ans, pour tout ce que nous avons construit et pour tout ce que nous construirons.  
Parce que je t'aime.

A Edouard,  
Tu es la plus belle chose qui me soit arrivée.

# Table des matières

I – Liste des figures .....	6
II – Liste des abréviations .....	7
III - Introduction.....	8
A/ Anticorps anti-HLA.....	8
1) Le système HLA.....	8
2) Immunisation anti-HLA.....	9
a - La grossesse .....	9
b - La transfusion .....	9
c - La transplantation d'organes .....	10
3) Anticorps anti-HLA en transplantation d'organe .....	10
a - Un acteur central du rejet humoral.....	10
b - Pathogénicité des anticorps anti-HLA .....	11
c - Détection et caractérisation des anticorps anti-HLA.....	13
d - Une cible thérapeutique de choix .....	15
1. Arsenal thérapeutique disponible .....	15
2. Rejet humoral aigu .....	16
3. Désimmunisation pré-transplantation .....	16
B/ Les apherèses.....	17
1) Introduction.....	17
2) Rationnel et indication .....	17
a - Echanges plasmatiques (EP) .....	17
b - Immunoabsorptions (IA) .....	19
3) Rappels techniques .....	20
a - Séparation du plasma.....	20
b - Anticoagulation du circuit .....	21
c - Soluté de substitution.....	21
d - Volume plasmatique cible.....	22
4) Efficacité .....	23
a - Epuración des immunoglobulines.....	23
b - Epuración des anticorps anti-HLA.....	25
5) Tolérance.....	26
6) Coût .....	26

IV - Présentation et objectifs du travail.....	28
V - Article original .....	29
VI - Annexes.....	52
Annexe 1 : Comparaison des coûts .....	52
Annexe 2 : Evaluation de la tolérance.....	53
VII - Discussion.....	55
VIII - Perspectives .....	57
IX - Bibliographie .....	58
Serment d'Hippocrate .....	67

# I – Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Structure des molécules HLA de classe I et II .....	8
<b>Figure 2</b> : Mécanismes de pathogénicité des anticorps anti-HLA en transplantation .....	12
<b>Figure 3</b> : Principes techniques du <i>Single Antigen Luminex</i> <sup>®</sup> .....	13
<b>Figure 4</b> : Anticorps anti-HLA : les différentes approches thérapeutiques .....	15
<b>Figure 5</b> : Principe d'une séance d'échange plasmatique .....	18
<b>Figure 6</b> : Principe d'une séance d'immunoabsorption .....	19
<b>Figure 7</b> : Caractéristiques des ligands disponibles en immunoabsorption .....	20
<b>Figure 8</b> : Pourcentage de plasma initial éliminé en fonction du volume plasmatique échangé au cours d'un échange plasmatique .....	21
<b>Figure 9</b> : Modification de la concentration plasmatique en IgG en fonction du volume plasmatique échangé au cours d'une immunoabsorption .....	22
<b>Figure 10</b> : Diminution de la concentration intravasculaire des IgG, IgM et IgA après une séance d'IA .....	23
<b>Figure 11</b> : Evolution de la concentration en IgG avant et après plusieurs séances d'EP quotidiennes .....	23
<b>Figure 12</b> : Réduction du titre des anticorps anti-HLA en fonction du nombre de séances d'EP .....	24
<b>Figure 13</b> : Comparaison du coût des EP/IA en fonction du nombre de séances réalisées .....	26

## II – Liste des abréviations

ADCC : cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps

Anti-dHLA : anticorps anti-HLA dénaturé

CHU : centre hospitalo-universitaire

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

DSA : anticorps anti-HLA dirigés contre le donneur

EDTA : acide éthylène diamine tétra-acétique

EP : échange plasmatique

FcγR : récepteur du fragment Fc des IgG

HLA : *human leucocyte antigens*

IA : immunoadsorption

IdeS : *IgG-degrading enzyme derived from Streptococcus pyogenes*

Ig : immunoglobuline

IgIV : immunoglobulines intra-veineuses

LyB : lymphocyte B

LyT : lymphocyte T

MFI : *mean fluorescence intensity*

NK : *natural killer*

PA : pression artérielle

PAM : pression artérielle moyenne

PFC : plasma frais congelé

PTT : purpura thrombotique thrombocytopénique

SAG : *single antigen luminex*®

VPT : volume plasmatique total

XM-CMF : crossmatch par cytométrie en flux

XM-LCT : crossmatch par micro-lymphocytotoxicité



# III - Introduction

## A/ Anticorps anti-HLA

### 1) Le système HLA

Découvert dans les années 1950 par Jean Dausset, le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) humain est constitué d'un ensemble de gènes situés sur le chromosome 6 codant, entres autres, pour le système HLA (*Human Leucocyte Antigens*) (1). En raison de son rôle majeur dans la présentation antigénique aux lymphocytes T (LyT), le système HLA occupe une place centrale dans l'initiation de la réponse immunitaire adaptative, qu'elle soit effectrice ou régulatrice.

Le système HLA est composé de deux types de molécules HLA dites classiques : les molécules HLA de classe I et les molécules HLA de classe II. Les molécules HLA de classe I, HLA-A, HLA-B et HLA-C, ont une expression ubiquitaire puisqu'elles sont présentes à la surface de la quasi-totalité des cellules nucléées de l'organisme, ainsi que des plaquettes. Ce sont des glycoprotéines transmembranaires formées d'une chaîne lourde  $\alpha$  (composée de trois domaines  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  et  $\alpha 3$ ) et d'une chaîne légère, la  $\beta 2$ -microglobuline. Les domaines  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$  forment un sillon extracellulaire permettant l'ancrage d'un peptide provenant principalement de la dégradation de protéines intracellulaires (Figure 1) (2). Ce complexe peptide-HLA classe I est reconnu par les LyT CD8+ et permet le déclenchement de la réponse cytotoxique adaptative.

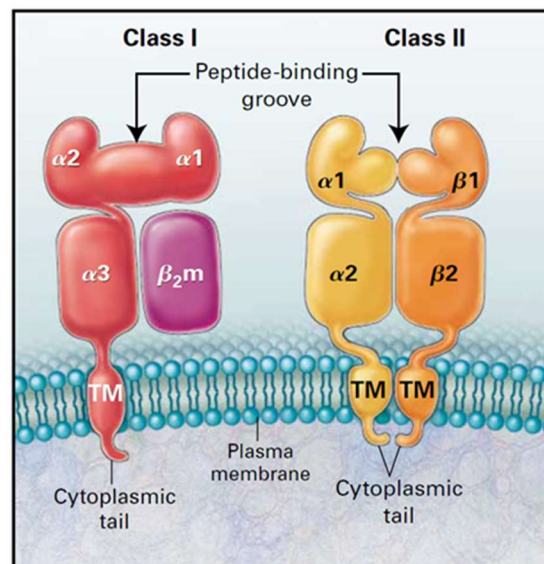


Figure 1 : Structure des molécules HLA de classe I et II  
d'après Klein *et al.* ref [2]

Les molécules HLA de classe II, HLA-DP, HLA-DQ et HLA-DR, ont quant à elles une expression privilégiée par les cellules présentatrices d'antigènes [cellules dendritiques, lymphocytes B (LyB) et macrophages]. Elles sont également présentes à l'état basal sur les cellules endothéliales et épithéliales, avec une expression majorée en contexte inflammatoire. Comme les molécules de

classe I, ce sont des glycoprotéines transmembranaires mais elles sont formées d'une chaîne  $\alpha$  (avec deux domaines  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$ ) et d'une chaîne  $\beta$  (avec deux domaines  $\beta 1$  et  $\beta 2$ ) (Figure 1). La poche à peptide, délimitée par les chaînes  $\alpha 1$  et  $\beta 1$ , permet la fixation de peptides principalement d'origine extracellulaire qui sont reconnus par les LyT CD4+. Selon le contexte cytokinique de cette interaction, les LyT CD4+ peuvent se différencier ensuite en différents sous-types (Th1, Th2, Th17, etc.) qui orienteront la réponse immunitaire à venir.

Les gènes codant pour les molécules HLA de classe I et II sont connus pour être les plus polymorphes du génome humain, rendant chaque individu quasiment unique. En décembre 2018, plus de 21000 allèles différents, codant pour environ 16000 protéines HLA distinctes, avaient en effet déjà été décrits. A l'échelle d'une population, cette diversité démesurée offre une capacité exceptionnelle de reconnaissance des pathogènes potentiels et minimise le risque d'une extinction d'espèce suite à l'émergence d'un nouveau pathogène.

Chaque individu exprime à la fois les allèles HLA de l'haplotype maternel et ceux de l'haplotype paternel. En effet, les gènes codant pour le système HLA sont hérités en bloc et leur expression est codominante. Cela implique qu'une cellule d'un individu donné peut exposer de 6 à 18 molécules HLA différentes à sa surface. Il est important de préciser que chaque molécule HLA possède son propre répertoire de peptides présentables. L'ancrage du peptide dépend en effet d'interactions physico-chimiques avec certains des acides aminés formant la poche et ceux-ci varient fréquemment d'une molécule à l'autre. A l'échelle individuelle, ces caractéristiques permettent d'augmenter la capacité à présenter un peptide antigénique aux LyT et donc de maximiser les chances de déclencher une réponse immunitaire efficace contre le pathogène dont il est issu.

## 2) Immunisation anti-HLA

### a - La grossesse

Au cours de la grossesse, on observe un passage d'antigènes fœtaux dans la circulation sanguine maternelle (3). Cela induit une immunisation progressive contre les antigènes HLA paternels hérités par le fœtus. Au moment de la délivrance, entre 50 et 75% des femmes ont développé des anticorps anti-HLA (4,5). Bien qu'ils aient tendance à disparaître avec le temps chez la majorité des femmes, ils peuvent parfois rester détectables pendant plusieurs années (6). Le nombre de grossesses semble également directement corrélé au risque d'immunisation et à sa persistance à long terme. En effet, dans une étude portant sur des femmes donneuses de sang, la prévalence de l'immunisation anti-HLA était de 1,7% en l'absence d'antécédent de grossesse, 11,2% après une grossesse et plus de 30% après 4 grossesses ou plus (7).

### b - La transfusion

La transfusion de culots globulaires et de concentrés plaquettaires est reconnue depuis longtemps comme un évènement potentiellement immunisant vis-à-vis des antigènes HLA (8,9). En effet, les plaquettes, mais également les globules rouges dans une moindre mesure, exposent à leur surface des molécules HLA de classe I (10,11). De plus, même après déleucocytation, il persiste dans les produits sanguins labiles des globules blancs, exprimant des molécules HLA de classe I et II (12). L'incidence de l'immunisation anti-HLA post-transfusion est d'environ 10% chez des patients en

attente de transplantation rénale (9,13,14). Cependant, ces anticorps anti-HLA ne semblent pas persister au-delà de quelques mois dans la circulation sanguine. Une étude publiée en 2010 montrait en effet que, dans une population sélectionnée de patients donneurs de sang, la prévalence de l'immunisation anti-HLA était identique chez les donneurs anciennement transfusés ou non (15). Deux situations particulières sont néanmoins à considérer : les patients multi-transfusés et la population pédiatrique qui semblent plus à risque de développer une allo-immunisation (13,16).

### c - La transplantation d'organes

D'après le dernier rapport annuel de l'agence de biomédecine, en 2017, plus de 98% des transplantations rénales avec donneur décédé ont été réalisées en présence d'une incompatibilité HLA entre le donneur et le receveur. Bien que l'utilisation de greffons provenant de donneurs vivants issus de la même fratrie augmente la probabilité d'une transplantation HLA identique, leur proportion reste relativement faible par rapport au volume total des transplantations (< 5%). De ce fait, la transplantation rénale, et plus généralement d'organes solides, est depuis longtemps reconnue comme une cause majeure d'apparition d'anticorps anti-HLA. Malgré l'avènement des inhibiteurs de la calcineurine (tacrolimus, ciclosporine) et la généralisation des traitements d'induction (sérum anti-lymphocytaire, anti-IL2 récepteur), la fréquence d'apparition des anticorps anti-HLA dirigés contre le donneur (DSA) reste importante. En effet, les études les plus récentes, en transplantation rénale, cardiaque, pulmonaire ou hépatique, retrouvaient une incidence de DSA *de novo* variant entre 8 et 26% au cours des premières années post-transplantation (17–23). Particulièrement étudiés en transplantation rénale, les principaux facteurs de risque retrouvés pour l'émergence de DSA *de novo* sont l'existence d'incompatibilités HLA (en particulier en classe II), une diminution de l'immunosuppression par décision médicale (en contexte infectieux ou néoplasique) ou par mauvaise observance thérapeutique ainsi que l'existence de facteurs inflammatoires locaux (ischémie-reperfusion, rejet cellulaire, néphrite infectieuse) (17,18,24). L'arrêt de l'immunosuppression après perte de fonction du greffon et la transplantectomie sont également des facteurs de risques reconnus (25,26).

## 3) Anticorps anti-HLA en transplantation d'organe

### a - Un acteur central du rejet humoral

La présence de DSA, qu'ils soient préformés (existant avant la transplantation) ou *de novo* (apparaissant en post-transplantation), est aujourd'hui clairement associée à une survie inférieure des greffons. En transplantation rénale, Lefaucheur *et al.* observait par exemple 61% de greffons fonctionnels à 8 ans en présence de DSA préformés contre 84% chez des patients non immunisés (27). Dans l'étude de Wiebe *et al.*, la survie des greffons rénaux à 10 ans était de 57% en présence de DSA *de novo* contre 96% en leur absence (17). En transplantation pulmonaire et cardiaque, en l'absence de techniques de suppléance performantes à long terme, l'impact des DSA est visible non seulement sur la fonction des greffons mais également sur la survie des patients. Smith *et al.* a montré en 2007 que la survie à 1 an des patients greffés cardiaques diminuait à 42% en présence de DSA préformés contre 77% en l'absence de DSA (28). Dans l'étude de Morrel *et al.*, la mortalité de patients greffés pulmonaires doublait suite à l'apparition de DSA *de novo* sur un suivi médian de 3,6

ans (55% versus 27%) (21). Enfin, même la transplantation hépatique, longtemps considérée à l'abri des complications d'ordre immunologique, ne semble finalement pas échapper à la règle (23).

Historiquement, la connaissance de la pathogénicité des DSA s'est longtemps limitée au rejet humoral hyper-aigu, secondaire à la présence d'anticorps préformés détectables par la réalisation du crossmatch en micro-lymphocytotoxicité (XM-LCT) (29). En 1997, pour la première fois, la classification histologique de Banff pour les greffons rénaux a reconnu l'existence d'une seconde forme plus tardive de rejet humoral aigu (30). 20 ans plus tard, après de nombreuses réactualisations, elle décrit précisément les critères diagnostiques de deux formes de rejet humoral : le rejet humoral aigu et le rejet humoral chronique actif (31). La présence de DSA est la clé de voute commune à ces deux entités. Cependant, l'existence d'anticorps non-anti-HLA dirigés contre le donneur peut permettre, dans de rares cas où les anticorps anti-HLA sont absents, d'expliquer la survenue d'un rejet humoral (32,33). Le second critère en commun correspond à la preuve d'une interaction récente entre ces anticorps et l'endothélium : une inflammation de la microcirculation modérée ou des dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires. Enfin, le troisième critère indispensable, permettant la différenciation entre ces deux diagnostics, est l'existence d'une agression tissulaire aiguë (inflammation de la microcirculation ou artérite intimale) ou chronique (doubles contours de la membrane basale glomérulaire ou fibrose intimale artérielle). La reconnaissance et la description précise du rejet humoral en transplantation rénale a ouvert la voie aux autres spécialités amenant aujourd'hui à une généralisation progressive du concept à la transplantation cardiaque, pulmonaire, pancréatique et même hépatique (34–38).

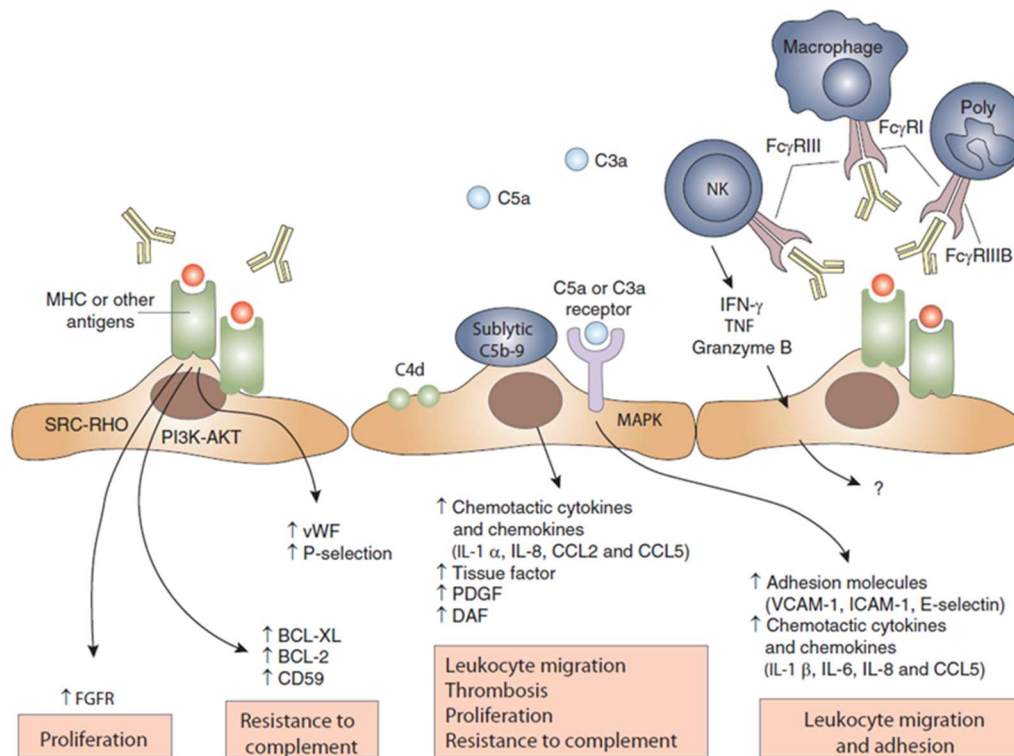
Bien que la classification de Banff permette une stratification des lésions et une aide à la décision thérapeutique, il est maintenant clairement établi qu'il n'existe pas vraiment de dichotomie entre rejet humoral aigu et chronique actif. Il s'agit en réalité d'une seule et même entité photographiée à différents moments de son évolution. Le *primum movens* du rejet humoral semble être l'apparition de DSA *de novo* ou la persistance de DSA préformés. Par la suite, leur interaction avec l'endothélium du greffon entraîne la survenue de lésions aiguës, très fréquemment infra-cliniques (39). L'évolution naturelle amène à une chronicisation des lésions progressivement responsable d'une dysfonction chronique du greffon (40). A l'heure actuelle, le rejet humoral chronique est même reconnu comme étant la première cause de perte de greffon rénal (24).

## b - Pathogénicité des anticorps anti-HLA

A l'interface entre le greffon et la circulation sanguine du receveur, l'endothélium vasculaire constitue la cible privilégiée des DSA. Il exprime en effet fortement les antigènes HLA de classe I et il est capable, en situation inflammatoire, de surexprimer les antigènes HLA de classe II.

Historiquement, la pathogénicité des DSA était exclusivement rattachée à l'activation de la voie classique du complément, initiée par la fixation du C1q au fragment Fc des DSA. Il en résulte, d'une part, la formation du complexe d'attaque membranaire pouvant être responsable d'une lyse de la cellule endothéliale, mais surtout la libération d'anaphylatoxines (C3a et C5a) entraînant la synthèse de nombreuses cytokines pro-inflammatoires et le recrutement de cellules immunitaires. En transplantation rénale, le rejet humoral hyper-aigu, caractérisé par une thrombose quasi-immédiate du greffon en représentait la forme typique avant sa disparition secondaire à la systématisation de l'utilisation du crossmatch pré-opératoire (29). En parallèle, le rejet humoral aigu a longtemps été défini par la mise en évidence de dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires, signant la preuve d'une activation du système du complément, associés à des lésions de la microcirculation (41).

Cependant, d'autres voies de pathogénicité des DSA ont été mis en évidence progressivement, aboutissant à la reconnaissance dans la classification de Banff de rejets humoraux C4d négatif (Figure 2) (31,42).



**Figure 2 : Mécanismes de pathogénicité des anticorps anti-HLA en transplantation**  
d'après Farkash *et al.* ref [42]

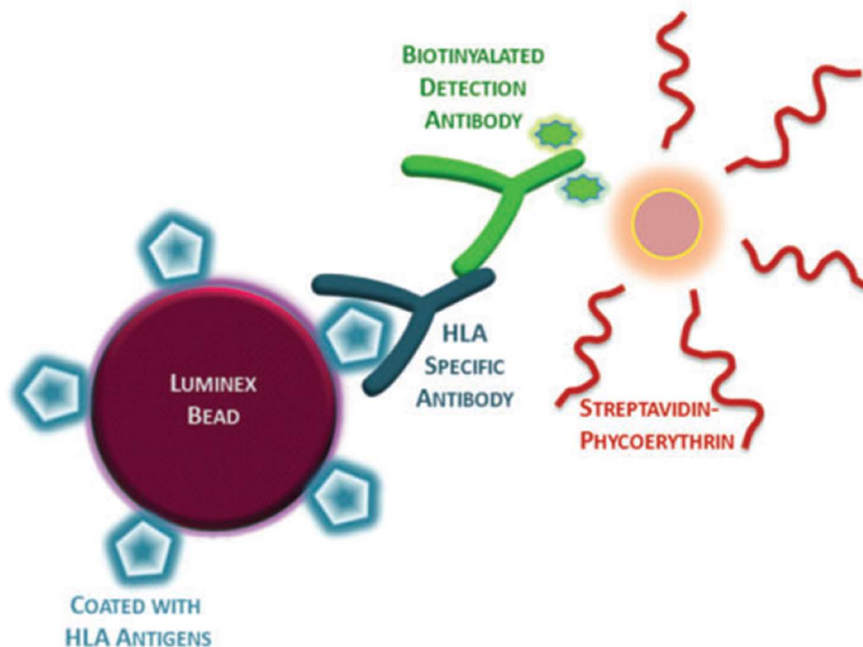
Le second mécanisme impliqué semble être l'activation de la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), secondaire à la reconnaissance du fragment Fc des DSA par le FcγR (récepteur du fragment Fc des immunoglobulines G (IgG)) situé sur les monocytes/macrophages et les cellules NK (Natural Killer). Dans un modèle de souris déficiente en complément, Hirohashi *et al.* a mis en évidence la survenue d'un rejet vasculaire médié par des anticorps anti-HLA avec apparition d'un infiltrat cellulaire riche en cellules NK et en macrophages (43). Les analyses transcriptomiques réalisées sur les biopsies de greffon rénaux ont confirmé ces données et placent même aujourd'hui les cellules NK comme un acteur central dans la survenue des rejets humoraux (44,45). Leur activation induit, d'une part, la sécrétion de chimiokines inflammatoires recrutant de nouvelles cellules immunitaires et, d'autre part, la libération de granules toxiques (perforine, granzyme) endommageant les cellules endothéliales (38).

Enfin, l'activation directe des cellules endothéliales par les DSA constitue le troisième mécanisme de pathogénicité. De nombreuses études réalisées *in vitro* ont démontré que la fixation des DSA sur leur surface entraînait le déclenchement de nombreuses voies de signalisations intra-cellulaires (Akt, mTOR, ERK, etc.) aboutissant à une prolifération endothéliale (46). L'implication active des cellules endothéliales a également été confirmé en transcriptomique (44). L'épaississement intimal est

d'ailleurs aujourd'hui intégré dans la classification de Banff comme un élément diagnostique du rejet humoral chronique (31).

### c - Détection et caractérisation des anticorps anti-HLA

Le Single Antigen Luminex (SAG) est actuellement la technique de référence pour la détection et l'identification des IgG anti-HLA, en raison de sa sensibilité et de son pouvoir résolutif (47). Ces réactifs sont constitués d'un mélange de différentes billes de polystyrène fluorescentes recouvertes de molécules HLA recombinantes. Chaque type de billes est identifiable par sa fluorescence propre et porte un antigène HLA donné. Après incubation avec le sérum à tester et marquage par un anticorps anti-IgG fluorescent, un cytomètre dédié permet de mettre en évidence avec précision les anticorps spécifiques d'un ou plusieurs antigènes HLA (Figure 3) (48).



**Figure 3 : Principes techniques du Single Antigen Luminex®**  
d'après Haarberg *et al.* ref [48]

L'intensité moyenne de fluorescence (MFI pour *Mean Fluorescence Intensity*) de chaque bille est utilisée en pratique clinique comme une valeur semi-quantitative de la « force » du DSA. Pour les DSA préformés, la MFI est partiellement corrélée au risque de survenue d'un rejet humoral. En transplantation rénale, différents seuils prédictifs d'une évolution défavorable ont été définis selon les équipes (49,50). Il semblerait en réalité que le risque de rejet soit augmenté dès que la MFI dépasse le seuil de positivité (500-1000) et devienne majeur au-delà de 3000, avec un impact sur la survie de greffon (27). Fortement prédictive de la négativité du XM-LCT ou du crossmatch par cytométrie de flux (XM-CMF), le SAG autorise même la réalisation d'un crossmatch virtuel, permettant de sélectionner les meilleurs couples donneurs/receveurs d'un point de vue immunologique avant même de réaliser le crossmatch réel (51). Concernant les DSA *de novo*,

plusieurs équipes de transplantation rénale, pulmonaire et même hépatique, ont observé une corrélation entre l'élévation de la MFI et le risque de rejet humoral, sans qu'un seuil consensuel n'ait été défini (20,52–54). Enfin, lors du traitement d'un rejet humoral en transplantation rénale, la présence de DSA avec une MFI élevée semble être un facteur de mauvais pronostic (55).

Cependant, la MFI des DSA n'est pas parfaitement prédictive de l'évolution immunologique d'une transplantation. En effet, certains patients avec des DSA de MFI très élevée sont indemnes de lésions, et inversement, d'autres ayant des DSA de faible MFI présentent d'authentiques rejets humoraux.

Les limites techniques du SAG peuvent probablement expliquer une partie de ces discordances. D'une part, l'interférence liée à l'activation du complément à la surface des billes SAG, initialement appelée « effet prozone », entraîne des réactions faussement négatives. La fixation des différents facteurs du complément au niveau du fragment Fc des DSA empêche leur reconnaissance par les anti-IgG fluorescents, simplement du fait d'un encombrement stérique (56). Ce phénomène est relativement fréquent puisqu'il affecte environ 30% des anticorps anti-classe I et 45% des anticorps anti-classe II (57). Une dilution du sérum ou un prétraitement à l'EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique) permet désormais de s'en affranchir (58). D'autre part, les billes de SAG de classe I présentent à leur surface une quantité non négligeable d'antigènes HLA dénaturés, secondaires aux différentes étapes de fabrication. Identifiés par un pré-traitement des billes à l'acide, les anticorps reconnaissant ces antigènes HLA cryptiques (anti-dHLA), non accessibles à la surface de la molécule HLA, sont aujourd'hui considérés comme non-pathogènes (59,60). Cependant, Visentin *et al.* ont mis en évidence que certains anti-dHLA identifiés par le traitement acide pouvaient également reconnaître des molécules HLA natives, rendant l'interprétation de ce test délicate (61).

Par ailleurs, il faut garder en mémoire que la MFI n'est qu'une évaluation semi-quantitative de la « force » des DSA, dépendante à la fois de leur concentration et de leur affinité. Ces paramètres sont désormais accessibles de manière indépendante grâce à l'adaptation de la résonance plasmonique de surface à l'étude du HLA (62–64). Des essais sont actuellement en cours afin d'évaluer leur pertinence en transplantation pulmonaire et rénale. D'autres caractéristiques intrinsèques aux anticorps ont été identifiées comme pouvant être potentiellement corrélées à leur pathogénicité. La capacité des DSA à fixer le complément *in vitro* (C1d, C3d, C4d) a, par exemple, été associée dans différentes cohortes à la survenue d'un rejet humoral (65–67). Son principal déterminant semble toutefois être la MFI et des études complémentaires sont nécessaires pour évaluer son intérêt réel (68,69). L'implication des sous-classes d'IgG a également été étudiée au cours de ces dernières années. En effet, sur un plan théorique, les IgG 1 et 3 permettent la fixation du complément ce qui n'est pas le cas des IgG 2 et 4. De plus, leur affinité pour les FcγR activateurs des cellules immunitaires est largement supérieure. Cependant, les anticorps anti-HLA étant très souvent un mélange de sous-classe d'IgG, seuls 1 à 5% d'entre eux n'ont aucune composante activant le complément (70). Deux études ont toutefois mis en évidence une association entre DSA de type IgG 3 et perte de greffon en transplantation rénale et hépatique (71,72).

Enfin, les IgG anti-HLA ne sont pas les seuls anticorps pourvoyeurs de rejets humoraux. Bien qu'historiquement les IgM anti-HLA étaient considérées comme non-pathogènes (73,74) voire protectrices (75), quelques auteurs ont remis récemment en doute ces données en montrant une association entre IgM anti-HLA et rejet humoral ou perte de greffon (76,77). Concernant les IgA, la littérature reste relativement pauvre et sans argument fort pour affirmer leur pathogénicité (78–80). Des anticorps non-anti-HLA, dirigés contre des antigènes présents sur les cellules endothéliales glomérulaires, semblent quant à eux directement impliqués dans la survenue de rejets humoraux en transplantation rénale (33).

## d - Une cible thérapeutique de choix

### 1. Arsenal thérapeutique disponible

Afin de lutter contre la pathogénicité des anticorps anti-HLA en transplantation d'organes, de nombreux traitements ont été développés. Trois axes thérapeutiques principaux sont utilisés : l'élimination directe des anticorps anti-HLA, la réduction de leur production et le blocage de leurs effets (figure 4) (38).

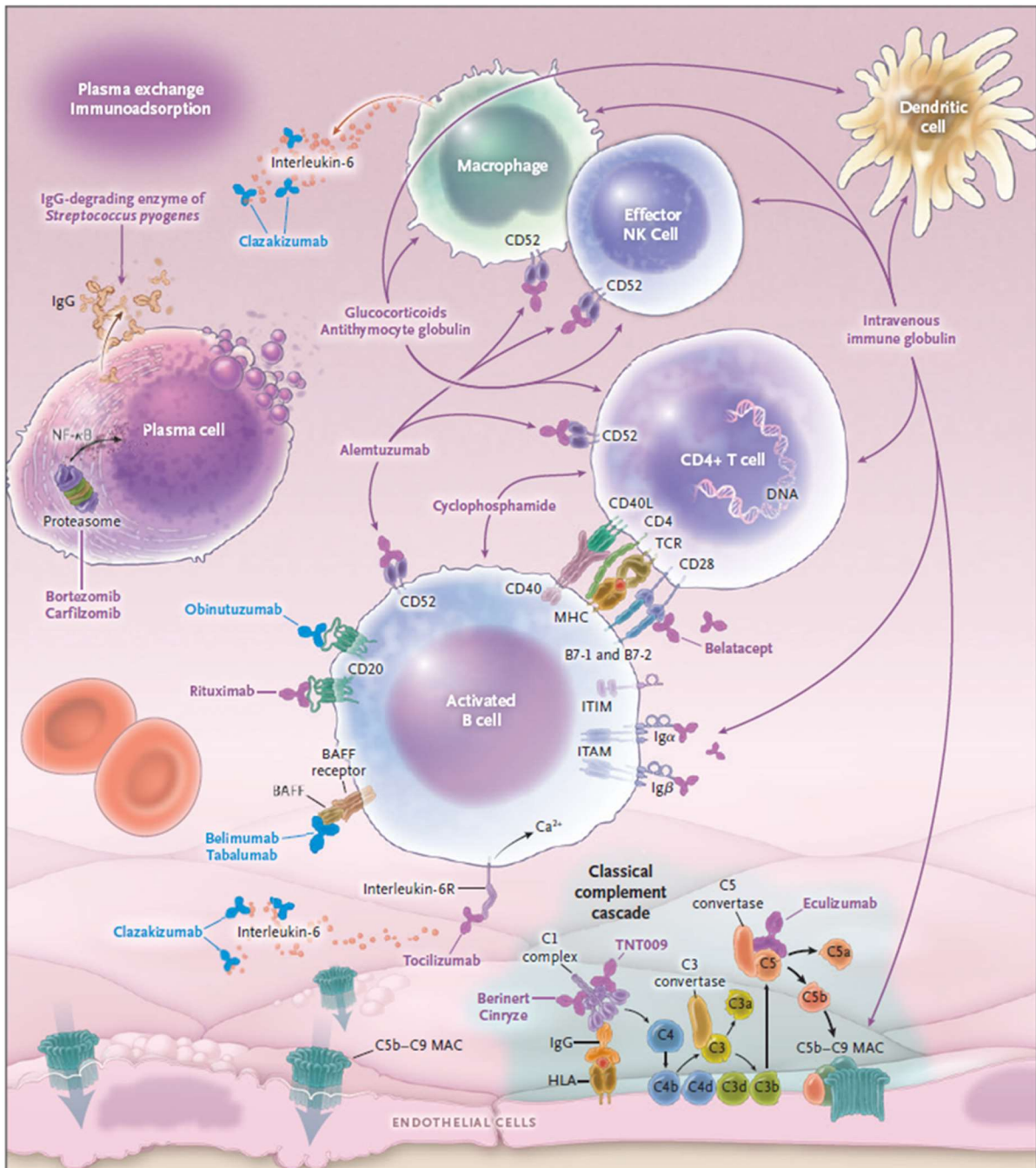


Figure 4 : Anticorps anti-HLA : les différentes approches thérapeutiques d'après Loupy *et al.* ref [38]



Les aphérèses, échanges plasmatiques et immunoabsorptions, qui permettent une épuration respectivement non sélective et sélective des IgG plasmatiques, sont aujourd'hui le seul traitement entraînant une élimination rapide des anticorps anti-HLA.

A l'inverse, plusieurs options thérapeutiques sont disponibles pour réduire leur production. Les IgIV (immunoglobulines intra-veineuses) en raison de leurs propriétés immunomodulatrices, les anti-CD20 (Rituximab par exemple) et les inhibiteurs du protéasome (Bortezomib par exemple) sont aujourd'hui les plus utilisés. De nouvelles molécules, comme les anticorps anti-BAFF (Belimumab, Tabalumab) et les anticorps anti-IL6 (Clazakizumab) ou anti-IL6 récepteur (Tocilizumab), sont en cours d'évaluation.

Enfin, pour limiter l'impact pathogène des anticorps anti-HLA, l'inhibition de la voie classique du complément est actuellement l'axe thérapeutique le plus étudié. L'Eculizumab (anti-C5) est déjà disponible sur le marché tandis que la place des anti-C1 (Berinert, Cinryze) reste à définir. L'endopeptidase IdeS (*IgG-degrading enzyme derived from Streptococcus pyogenes*) clive quant à elle les IgG en deux fragments (F(ab')<sub>2</sub> et Fc), bloquant à la fois leur capacité à activer le complément et à recruter les cellules immunitaires innées (NK, monocytes/macrophages) pour mettre en œuvre l'ADCC.

## 2. Rejet humoral aigu

Bien que le niveau de preuve soit relativement faible, le traitement de référence du rejet humoral aigu en transplantation rénale associe aujourd'hui les échanges plasmatiques et les IgIV (38,81,82). Les immunoabsorptions semi-sélectives ont également démontré leur efficacité, mais leur coût élevé et le manque de comparaison directe avec les échanges plasmatiques limitent leur utilisation en pratique courante (83,84).

Comme l'évolution de la fonction rénale et de l'histologie, la variation de la MFI des DSA après traitement est aujourd'hui considérée comme un critère d'évaluation précoce de l'efficacité des traitements (81). En effet, la réduction de la MFI du DSA immunodominant (correspondant au DSA avec la MFI pré-traitement la plus élevée dans le cas de DSA multiples identifiés) est corrélée à une amélioration de la survie du greffon (55,85). Everly *et al.* a même montré qu'une réduction de plus de 50% de la MFI était associée à une diminution majeure du taux de perte de greffon à 5 ans (0% *versus* 70%) (86). A noter qu'une étude récente a mis en évidence que la persistance après traitement du rejet humoral de la capacité des DSA à fixer le C1q était indépendamment corrélée à la durée de vie du greffon rénal (87).

## 3. Désimmunisation pré-transplantation

Les protocoles de désimmunisation s'adressent aux patients hyperimmunisés chez qui une transplantation d'organe n'aurait pas pu être envisagée sans une réduction de leur taux d'anticorps anti-HLA. Parmi les nombreuses stratégies de désimmunisation pré-transplantation rénale publiées dans la littérature, deux protocoles semblent se détacher en termes d'efficacité : l'association échanges plasmatiques, IgIV faible dose +/- Rituximab et l'association IgIV forte dose et Rituximab (88,89). Des résultats satisfaisants ont également été observés avec des protocoles basés sur l'utilisation des immunoabsorptions semi-sélectives (90–92).

Le rationnel de ces différentes stratégies est de diminuer le degré d'immunisation anti-HLA des receveurs afin de limiter la survenue de rejets humoraux et d'allonger la durée de vie des greffons. Les différentes techniques permettant d'évaluer le risque immunologique d'une transplantation sont, de la moins sensible à la plus sensible, le XM-LCT, le XM-CMF et le SAG. En France, un XM-LCT positif sur le sérum du jour contre-indique la réalisation d'une transplantation rénale en raison du risque majeur de perte de greffon et de surmortalité à moyen terme. L'obtention d'un XM-CMF négatif après désimmunisation n'est pas indispensable, bien que les taux de rejets humoraux et de perte de greffon soient significativement diminués lors d'une transplantation avec XM-CMF négatif par rapport aux transplantations avec XM-CMF positif (93,94). La réalisation d'un SAG permet de suivre précisément l'évolution de l'immunisation anti-HLA du patient pendant et à la fin du protocole de désimmunisation, d'autant plus que la MFI est fortement prédictive du résultat des crossmatches (51). Plusieurs études ont même souligné le fait que la MFI des anticorps anti-HLA était plus performante que le XM-CMF pour déterminer les patients à risque de rejet humoral. Cependant, aucun seuil n'a pu être défini de façon consensuelle (95,96).

## B/ Les aphérèses

### 1) Introduction

Les aphérèses thérapeutiques regroupent différentes techniques basées sur un rationnel commun : l'élimination ou le remplacement d'un composant contenu dans le sang total par circulation extracorporelle. Pour rappel, le sang humain est constitué à 45% d'éléments figurés (globules blancs, globules rouges, plaquettes) et à 55% de plasma. Celui-ci est composé non seulement d'eau mais également de protéines (albumine, immunoglobulines, fibrinogène, etc.) et de nombreux autres solutés. Les cytophères s'intéressent au traitement des cellules sanguines tandis que les autres techniques d'aphérèses (échanges plasmatiques, double-filtration plasmatique en cascade, immunoabsorption, lipaphérèse, etc.) sont centrées sur les composants plasmatiques. Par souci de concision, nous traiterons par la suite uniquement des échanges plasmatiques et des immunoabsorptions, sujets de ce travail.

### 2) Rationnel et indication

#### a - Echanges plasmatiques (EP)

Le principe des EP est relativement simple et repose sur 3 étapes successives (Figure 5)(97) :

- Séparation du plasma et des éléments figurés du sang
- Elimination du plasma
- Réinjection d'un soluté de substitution et des éléments figurés du sang

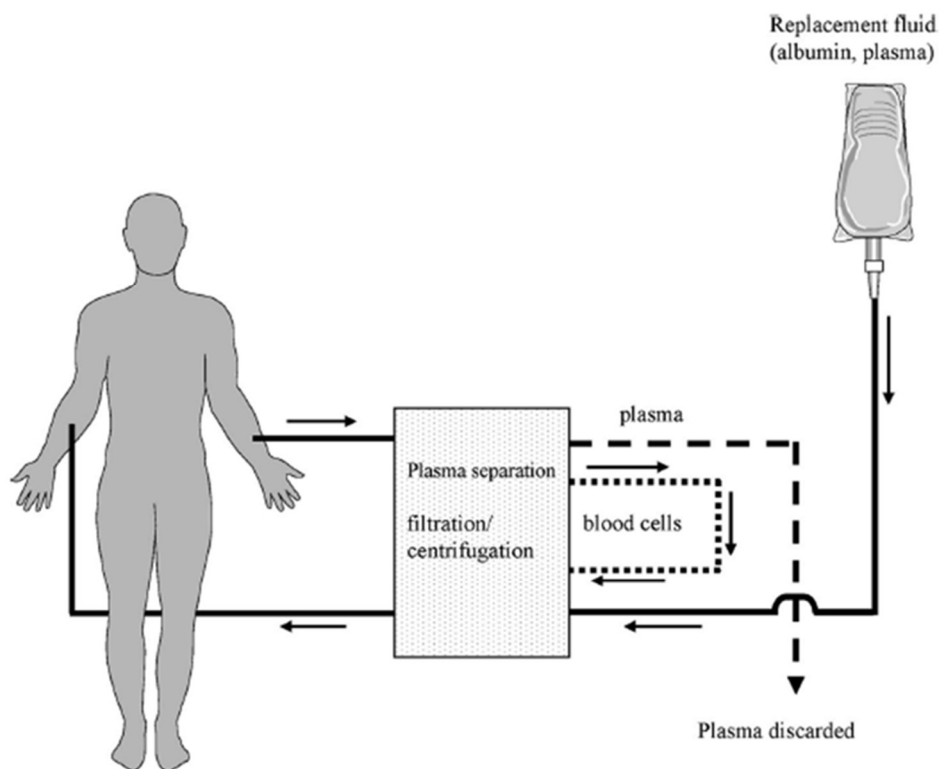
Les EP utilisent une technique d'épuration non spécifique basée sur l'élimination des substances plasmatiques de haut poids moléculaire (>15000 Da), non accessibles aux techniques moins onéreuses telles que l'hémodialyse ou l'hémofiltration. Ils permettent donc la clairance des auto- ou des allo-anticorps circulants mais aussi des complexes immuns, des cryoglobulines, des chaînes légères libres sériques ou des endotoxines (98,99). Au-delà de leur rôle épurateur admis, plusieurs auteurs décrivent un rôle immunomodulateur dont les mécanismes d'action restent à préciser (100). Enfin, dans le cas précis du purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) où la protéine

ADAMTS13 est déficiente ou inactive, l'utilisation du plasma frais congelé (PFC) comme liquide de substitution permet d'apporter de l'ADAMTS13 fonctionnelle sans risque de surcharge (101).

Bien qu'historiquement largement utilisées dans les pathologies à médiation auto-immune, le niveau de preuve de l'efficacité des EP reste aujourd'hui relativement faible dans la plupart des indications. D'après les dernières recommandations de la société américaine d'aphérese (102), les seules indications avec une recommandation forte sont :

- Pathologies néphrologiques : vascularites à ANCA et syndrome de Goodpasture
- Transplantation d'organes : désimmunisation, rejet humoral, récurrence de hyalinose segmentaire et focale après transplantation rénale
- Pathologies hématologiques : PTT, syndrome d'hyperviscosité sur gammopathie monoclonale
- Pathologies neurologiques : syndrome de Guillain-Barré et autres polyradiculonévrites auto-immunes, sclérose en plaque et myasthénie

Par la suite, nous aborderons uniquement les EP réalisées dans un contexte de transplantation d'organes, lors d'un rejet humoral ou d'une désimmunisation pré-transplantation, dont l'objectif est l'épuration des anticorps anti-HLA.

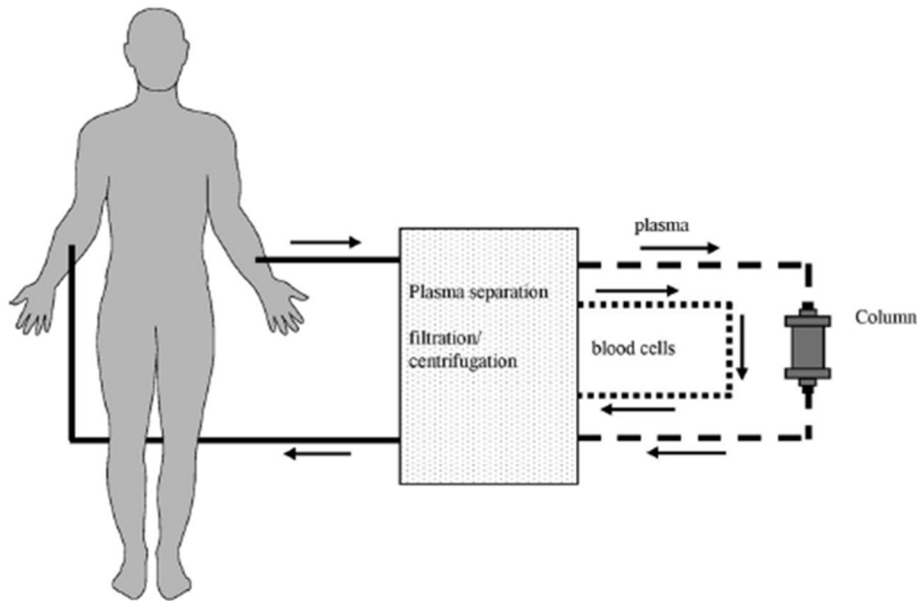


**Figure 5 : Principe d'une séance d'échange plasmatique**  
d'après Tyden *et al.* ref [97]

## b - Immunoabsorptions (IA)

Le déroulement d'une séance d'IA peut également être découpé en trois étapes (Figure 6) (97):

- Séparation du plasma et des éléments figurés du sang
- Purification du plasma par son passage dans une colonne adsorptive
- Réinjection du plasma purifié et des éléments figurés du sang



**Figure 6 : Principe d'une séance d'immunoabsorption**  
d'après Tyden *et al.* ref [97]

Les IA utilisent une technique d'épuration spécifique ou semi-spécifique qui repose sur le principe d'une chromatographie d'affinité : interaction réversible entre une protéine plasmatique et son ligand fixé de manière covalente sur une colonne (103). A l'heure actuelle, différents types de ligands sont disponibles : des ligands non sélectifs fonctionnant par interaction non spécifique, des ligands semi-sélectifs possédant une affinité élevée pour une classe spécifique de protéines et des ligands sélectifs se liant uniquement à une protéine d'intérêt. Certaines colonnes d'immunoabsorption possèdent une capacité de régénération et peuvent donc être réutilisées tandis que d'autres sont à usage unique (figure 7). Par la suite, nous nous intéresserons uniquement aux colonnes Immunosorba® et Globaffin®, développées spécifiquement pour épurer les IgG, et notamment les anticorps anti-HLA.

Les colonnes Immunosorba® utilisent comme ligand la protéine A staphylococcique, connue pour son affinité forte pour les IgG, en particulier pour les fragments Fc des IgG 1,2 et 4 et à minima pour le fragment Fab des IgG 3 (103). A noter que l'affinité de la protéine A est 300 fois supérieure pour les complexes immuns circulants que pour les IgG solubles. Enfin, une activité directe immunomodulatrice a été évoquée par certains auteurs (104). Les colonnes Globaffin® utilisent

quant à elles un peptide synthétique, le GAM 146, dont les sites de fixation sur les IgG recourent au moins partiellement ceux de la protéine A (105).

SELECTIVITE	USAGE UNIQUE	REUTILISABLE
<b>NON-SELECTIFS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Phénylalanine (PH-350<sup>®</sup>)</li> <li>• Tryptophane (TR-350<sup>®</sup>)</li> <li>• Sulfate de Dextran (Selesorb<sup>®</sup>)</li> </ul>	
<b>SEMI-SELECTIFS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Protéine A de staphylocoque (Prosorba<sup>®</sup>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Protéine A de staphylocoque (Immunosorba<sup>®</sup>)</li> <li>• Anti-Ig humaines de mouton (Therasorb<sup>®</sup>)</li> <li>• Peptide GAM 146 (Globaffin<sup>®</sup>)</li> </ul>
<b>SELECTIFS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• C1q (Miro<sup>®</sup>)</li> <li>• ABO (Glycosorb<sup>®</sup>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDCM075, PDCM349 (Coraffin<sup>®</sup>)</li> </ul>

**Figure 7 : Caractéristiques des ligands disponibles en immunoadsorption**

d'après Fundamentals and applications of immunoadsorption, N. Braun. 1st Edition – Bremen: UNI-MED, 2009

De la même manière pour ces deux dispositifs, une séance d'IA nécessite le montage en parallèle de deux colonnes. Après séparation du sang total, le plasma circule initialement dans la première colonne. Une fois celle-ci saturée en immunoglobulines, la deuxième colonne prend le relais pendant que la première est régénérée. Les colonnes sont ainsi utilisées en alternance jusqu'à traitement du volume plasmatique cible. Par ailleurs, ces colonnes sont réutilisables pendant plusieurs séances consécutives : une dizaine de séance pour les Immunosorba<sup>®</sup> et une vingtaine pour les Globaffin<sup>®</sup>.

Bien que l'utilisation des IA se généralise ces dernières années, la Société Américaine d'Aphérèse ne recommande aujourd'hui leur utilisation que pour le traitement des rejets humoraux et pour les protocoles de désimmunisation en transplantation d'organes solides, et plus particulièrement en transplantation rénale (102). Nous ne traiterons par la suite que de ces indications.

### 3) Rappels techniques

#### a - Séparation du plasma

Pour l'étape de séparation du plasma, deux méthodes distinctes sont disponibles, la centrifugation et la filtration, qui peuvent être utilisées indifféremment du type d'aphérèse (98,106).

La première technique est basée sur l'utilisation de la force centrifuge et sur la différence de densité des différents constituants sanguins. Le sang total est mis en rotation à haute vitesse (2000-2500 rotations par minute) dans un tube, projetant les éléments les plus denses vers la paroi

extérieure (cellules sanguines) pendant que le plasma est recueilli au niveau de l'axe de rotation. Le principal avantage de cette méthode est un taux d'extraction du plasma très élevé, d'environ 80%, ce qui permet de se contenter de débits sanguins faibles (maximum 80ml/min) et donc d'utiliser un abord veineux périphérique. Le principal inconvénient est la perte, faible mais existante, d'éléments cellulaires (plaquettes), pouvant potentiellement interférer lors de l'étape ultérieure d'adsorption.

La seconde technique, la filtration sanguine, utilise quant à elle la différence de taille entre les constituant sanguins. Le sang total est filtré à travers une membrane de haute perméabilité (pores > 0,5 µm) qui permet de retenir uniquement les éléments figurés du sang et d'extraire le plasma. Cette méthode est fréquemment employée par les équipes de dialyse formées à la filtration. De plus, elle offre la possibilité de coupler l'aphérèse à une séance d'hémodialyse. Le point négatif est sans nul doute le taux d'extraction plasmatique faible, d'environ 30-35%. Il faut donc traiter 3 à 4 fois le volume sanguin calculé pour obtenir la clairance plasmatique souhaitée. Par conséquent, l'utilisation d'un haut débit sanguin est indispensable et oblige donc à l'utilisation d'un abord veineux central (fistule artérioveineuse, anse ou cathéter veineux central).

## **b - Anticoagulation du circuit**

Une anticoagulation de la circulation extra-corporelle est indispensable pour limiter le risque de coagulation du circuit. L'héparine non fractionnée, du fait de sa facilité d'utilisation, est assez largement prescrite. Cependant, il faut souligner qu'il s'agit d'une anticoagulation systémique, interférant encore plusieurs heures après la séance sur les capacités d'hémostase du patient.

Dans les situations à risque hémorragique, une anticoagulation régionale au citrate est probablement préférable. Injecté immédiatement au début de la circulation extra-corporelle, le citrate permet la chélation du calcium ionisé, élément indispensable du fonctionnement de la cascade de la coagulation. Lors de la phase de réinjection au patient, le citrate est métabolisé en bicarbonate, libérant ainsi le calcium ionisé et restaurant une hémostase normale. Une supplémentation calcique est cependant souvent nécessaire pour maintenir une calcémie sanguine normale. A noter également que la charge en bicarbonate peut entraîner une alcalose métabolique et une surcharge hydrosodée, favorisées par des capacités d'élimination rénale altérées. En pratique, lors d'un EP par centrifugation, une anticoagulation au citrate est préférée car la majeure partie est éliminée avant la phase de réinjection ce qui limite le risque d'effets secondaires (98). Lors d'une IA, une double anticoagulation citrate et héparine est utilisée pour maintenir un fonctionnement optimal des colonnes, menacé par l'activation des plaquettes, du complément ou du fibrinogène (107).

## **c - Soluté de substitution**

Lors d'une séance d'EP, l'élimination d'un volume important de plasma nécessite d'être compensée par l'injection d'un soluté de substitution. L'albumine (4%, 5% ou diluée avec du sérum physiologique) est actuellement le soluté le plus utilisé. Elle présente comme principaux avantages d'être dénuée du risque de transmission virale, d'induire rarement des réactions allergiques et d'être relativement peu coûteuse. Cependant, elle n'a pas de propriétés substitutives spécifiques et son utilisation exclusive expose aux complications liées à une déplétion profonde en immunoglobulines, notamment en IgG, et en facteurs de la coagulation. Sur le plan infectieux, l'hypogammaglobulinémie

secondaire est associée à un risque infectieux pour lequel une perfusion substitutive d'IgG est fréquemment réalisée. Sur le plan hématologique, l'élimination des facteurs de la coagulation entraîne un risque de saignement non négligeable. En cas d'hypofibrinogémie profonde en début de séance ou dans les situations cliniques à risque hémorragique (gestes invasifs récents comme une biopsie rénale ou la pose d'un cathéter de dialyse par exemple), une partie de l'albumine est généralement substituée par du PFC (99).

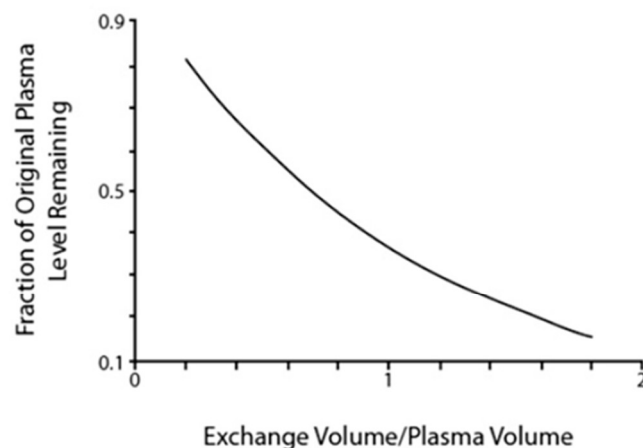
Le second soluté de perfusion utilisable est en l'occurrence le PFC. Il présente comme principal avantage d'éviter la perte en immunoglobulines et en facteurs de la coagulation. Cependant, du fait de ses nombreux effets indésirables (intoxication au citrate contenu dans les poches, réactions anaphylactiques et risque viral), de son coût élevé et de son caractère précieux, son indication exclusive reste aujourd'hui réservée aux patients à risque hémorragique élevé (99).

Lors d'une séance d'IA, aucun soluté de substitution n'est nécessaire puisque le plasma purifié est réinjecté au patient. A noter qu'il existe toutefois une fixation non spécifique du fibrinogène et de l'albumine sur les colonnes pouvant induire, en cas de séances quotidiennes rapprochées, une déplétion significative. La perfusion d'une poche de PFC, de fibrinogène ou d'albumine est parfois nécessaire dans ces cas bien précis (108).

#### d - Volume plasmatique cible

Le volume plasmatique total (VPT) peut facilement être estimé par la formule suivante :  $[0,065 \times \text{poids (Kg)}] \times (1 - \text{hématocrite})$  (109). Pour un patient dont l'hématocrite est dans les normes, cela représente environ 40ml/Kg. Dans l'idéal, une séance d'aphérèse devrait permettre de traiter en totalité ce volume. Cependant, cet objectif est en pratique inatteignable.

Lors d'une séance d'EP, la réinjection du soluté de substitution dilue au fur et à mesure le plasma initial et entraîne donc une diminution progressive de son épuration (figure 8). Le premier volume plasmatique traité permet de retirer environ 63% du VPT, le second 23% et le troisième uniquement 9%. A l'heure actuelle, la balance bénéfice/risque limite le volume plasmatique à traiter à 1,2 – 1,5 VPT (99,106).



**Figure 8 : Pourcentage de plasma initial éliminé en fonction du volume plasmatique échangé au cours d'un échange plasmatique**  
d'après Williams *et al.* ref [106]

Lors d'une séance d'IA, la réinjection du plasma purifié diminue progressivement la concentration sanguine de la substance à épurer, ce qui, en parallèle, ralentit les capacités adsorptives des colonnes. Si on prend l'exemple des IgG totales, on observe une diminution d'environ 50% de leur concentration plasmatique après le premier volume plasmatique traité, de 25% après le deuxième et de 12,5% après le troisième (figure 9). Devant une tolérance excellente, il est possible à l'heure actuelle de prolonger les séances pour purifier jusqu'à 2,5 VPT ((108,110).

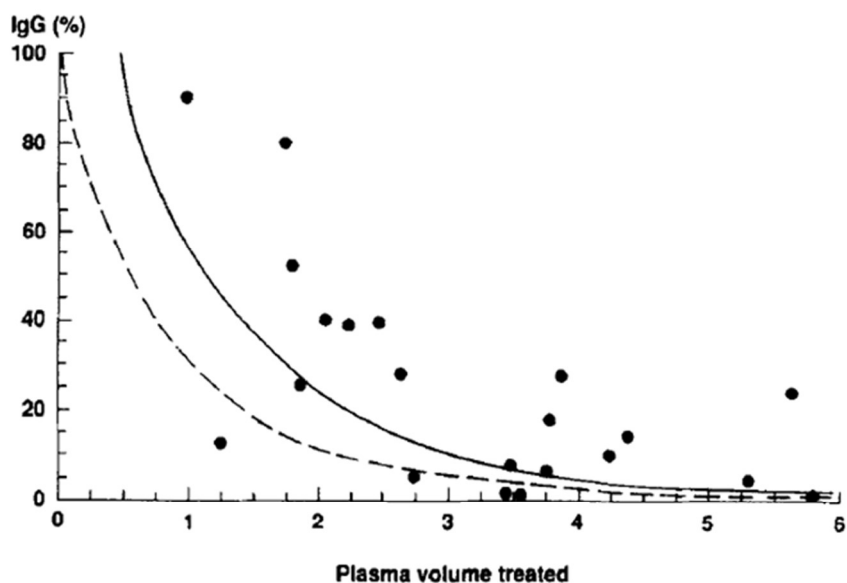


Figure 9 : Modification de la concentration plasmatique en IgG en fonction du volume plasmatique échangé au cours d'une immunoadsorption d'après Gjöstrup *et al.* ref [108]

#### 4) Efficacité

##### a - Epuration des immunoglobulines

Pour un volume plasmatique traité optimal, estimé à 2,5 VPT, les IA sur colonne de protéine A permettent une réduction de plus de 85% du taux d'IgG intravasculaire, et en particulier des IgG 1, 2 et 4. Pour les IgM, les IgA et les IgG 3, l'affinité de la protéine A est plus faible, ce qui explique que la réduction soit d'environ 40-50% (Figure 10) (108,110). Il ne semble pas exister de différence d'efficacité entre la protéine A et le peptide GAM 146 (105,111).

Lors d'un échange plasmatique, le plasma extrait étant entièrement éliminé, la diminution de la concentration intravasculaire en immunoglobuline est égale au pourcentage de plasma initial éliminé, soit environ 70-75% pour un volume plasmatique traité à 1,2-1,5 VPT. Logiquement, aucune différence d'épuration entre les classes ou sous-classes d'immunoglobulines n'est observée (99,112).

Cependant, la réduction observée à la fin de la première séance surestime assez largement l'impact d'une séance d'aphérèse sur le pool corporel total d'IgG. En effet, les IgG ont une répartition



à 60% extravasculaire et leur taux d'équilibration est assez lent (1-3% par heure). C'est pourquoi un phénomène de rebond est observé après chaque séance d'aphérèse. La réalisation de plusieurs séances consécutives, espacées de 24 à 48h, est donc indispensable pour obtenir une diminution substantielle du pool d'IgG. A titre d'exemples, trois séances quotidiennes d'IA permettent une réduction d'environ 85-90% du pool d'IgG totales tandis que trois séances d'EP en épurent environ 70% (Figure 11) (99,108,113). En règle générale, le taux de resynthèse des IgG est assez faible (turnover de 7% par jour) mais l'efficacité des aphérèses peut être diminuée dans une situation de production accélérée (106).

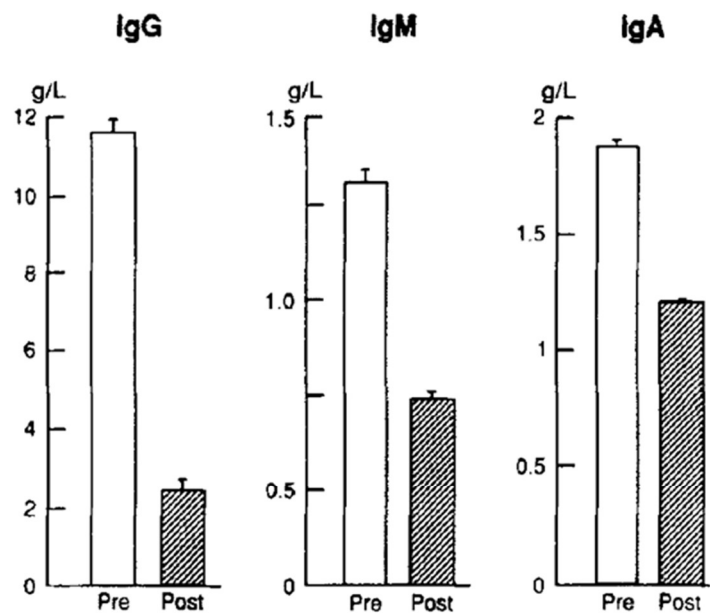


Figure 10 : Diminution de la concentration intravasculaire des IgG, IgM et IgA après une séance d'IA d'après Gjöstrup *et al.* ref [108]

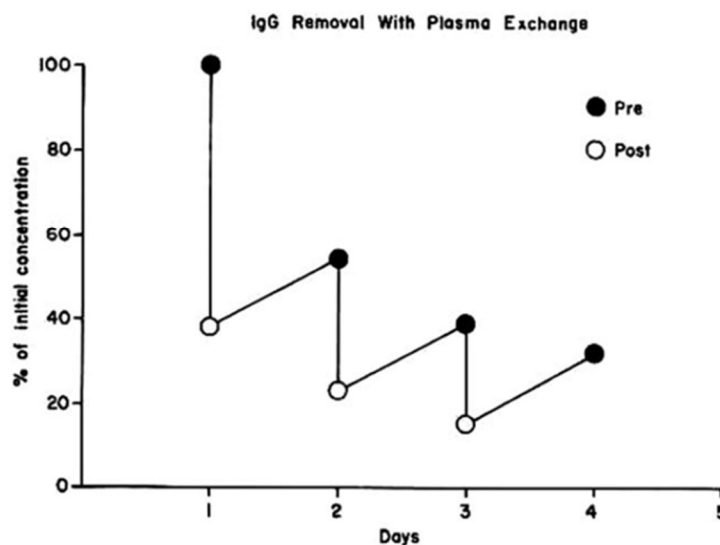


Figure 11 : Evolution de la concentration en IgG avant et après plusieurs séances d'EP quotidiennes D'après Kaplan *et al.* ref [99]

## b - Epuration des anticorps anti-HLA

Bien que la réduction de la MFI des anticorps anti-HLA semble être un facteur prédictif du succès d'un protocole de désensibilisation ou de traitement de rejet humoral, peu d'études s'y sont réellement intéressées. Une seule étude a comparé directement l'efficacité des EP et des IA en termes d'épuration des anticorps anti-HLA chez 15 patients en attente de transplantation rénale. Maillard *et al.* ont décrit qu'une seule séance d'IA permettait une meilleure réduction de la MFI que trois séances d'EP quotidiennes consécutives (68,8% versus 58,3%,  $p=0,003$ ). Cette différence existait uniquement pour les anticorps anti-classe I, sous-entendant un rôle de la spécificité sur la qualité de l'épuration (114). Plusieurs études antérieures avaient observé, lors du traitement de rejets humoraux, un taux d'échec plus important en présence de DSA anti-classe II et en particulier anti-DQ (115–117). Cependant, les auteurs ne prenaient pas en compte dans leur analyse le niveau de MFI initial, déjà cité dans la littérature comme un facteur de risque d'échec d'épuration, alors que les anticorps anti-DQ ont généralement une MFI supérieure aux autres spécificités (118). La dernière étude en date, de Pinelli *et al.*, ne retrouvait d'ailleurs aucune différence entre les différentes spécificités (119).

Celle-ci s'est intéressée à l'efficacité d'un protocole de désensibilisation associant EP et IgIV chez 29 patients. La réduction du titre des anticorps anti-HLA était directement reliée au nombre de séances d'aphérèses réalisées, avec un ralentissement drastique du taux de réduction au-delà des 4 premières séances (environ  $3\log_2$  après 4 séances contre  $4\log_2$  après plus de 10 séances) (Figure 12).

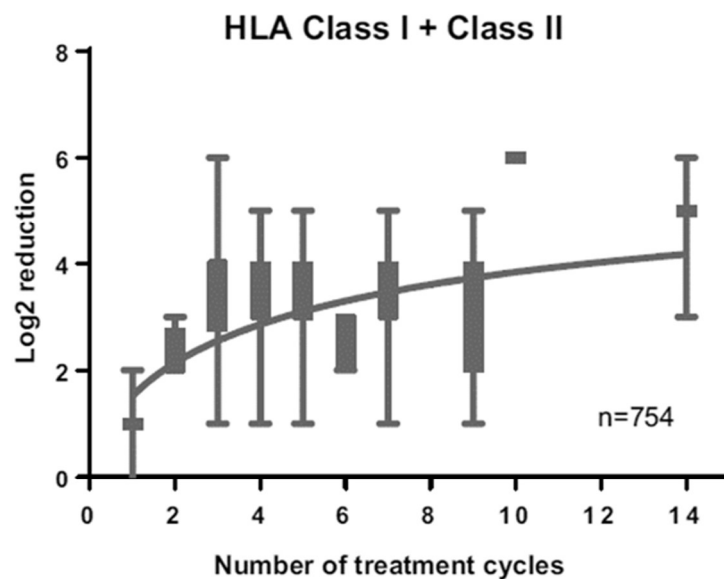


Figure 12 : Réduction du titre des anticorps anti-HLA en fonction du nombre de séances d'EP  
D'après Pinelli *et al.* ref [119]

De plus, le protocole de désensibilisation était systématiquement mis en échec pour les anticorps anti-HLA ayant un titre pré-traitement très élevé ( $> 1:512$ ) (119). Cette constatation soulève la question du nombre optimal de séances devant une probable diminution de l'efficacité au fur et à mesure des séances d'EP. Yamada *et al.* avait déjà montré que, lors de la réalisation de 6 EP, la

réduction de la MFI au cours des 3 premières séances était supérieure à celle obtenue au cours des 3 dernières (117). A l'inverse, dans l'étude de Morath *et al.* portant sur l'évaluation d'un protocole de désensibilisation basé sur des IA, le taux de négativation des XM-LCT était de 100%, même si un nombre important de séances d'IA (jusqu'à 23) avait été nécessaire pour certains patients (92).

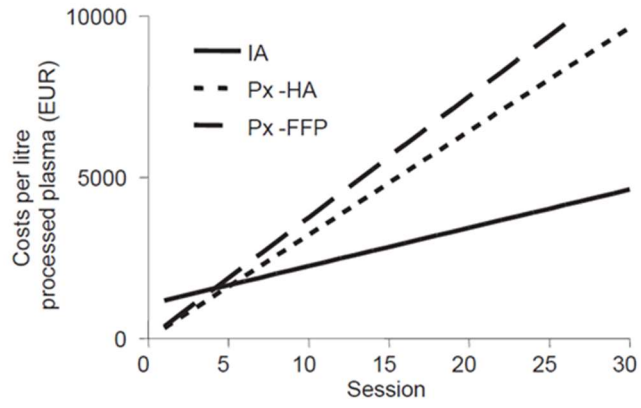
## 5) Tolérance

Dans la littérature, selon les définitions utilisées, le taux d'effets indésirables lors d'une séance d'EP varie entre 3% et 36% (120,121). Toutes les études s'accordent cependant sur le fait qu'une très large majorité de ces complications est mineure. Les effets indésirables les plus fréquents (jusqu'à 10%) sont les symptômes de l'hypocalcémie induite par le citrate (paresthésies, crampes musculaires, etc.) ainsi que les réactions allergiques non graves au PFC (prurit, urticaire simple). Le risque hémorragique secondaire à la coagulopathie de déplétion est faible (< 0,2%), probablement du fait d'un monitoring biologique rapproché. La supplémentation systématique en IgIV semble quant à elle très efficace pour limiter la survenue d'infections. Les complications majeures surviennent très rarement (<0,2%) et sont dominées par les réactions graves au PFC (dont le TRALI = syndrome respiratoire aigu post-transfusionnel). L'incidence des décès est d'environ 0,05% mais, dans la plupart des cas, ils surviennent chez des patients instables et l'imputabilité de l'aphérèse en elle-même est difficile (122).

Aucun effet indésirable spécifique des IA n'a été décrit. La non-utilisation des solutés de substitution permet de s'affranchir des réactions allergiques survenant fréquemment lors des EP. De plus, les PFC contenant une quantité non négligeable de citrate, les risques secondaires à son accumulation sont diminués avec les IA. Pour les autres complications, leur taux de survenue semble relativement similaire à celui observé lors des EP (103,108).

## 6) Coût

Le principal inconvénient des IA reste sans nul doute leur coût relativement élevé. Le prix unitaire des colonnes s'élève en effet à plusieurs milliers d'euros. Cependant, leur caractère réutilisable ainsi que l'absence de nécessité de soluté de substitution permettent de pondérer la différence de coût avec les EP au fur et à mesure des séances. Dans une ancienne étude publiée en 2000, Braun *et al.* montrait, en Allemagne, que l'équilibre financier était atteint à 5 séances, et qu'au-delà, les EP devenaient plus onéreuses que les IA (figure 13) (103).



**Figure 13 : Comparaison du coût des EP/IA en fonction du nombre de sessions réalisées**  
d'après Braun *et al.* ref [103]

## IV - Présentation et objectifs du travail

Comme développé précédemment, les EP sont fréquemment utilisées en transplantation d'organes solides pour épurer les anticorps anti-HLA, à la fois dans des contextes de désimmunisation pré-transplantation et de traitement des rejets humoraux. Les IA ont également montré leur efficacité dans ces situations cliniques et sont théoriquement moins source d'effets indésirables, du fait de leur épuration semi-sélective des immunoglobulines. Cependant, leur utilisation reste limitée en raison de leur coût important. Hormis une étude suggérant une supériorité des IA par rapport aux EP en terme d'épuration des anticorps anti-HLA, la littérature comparant les deux techniques d'aphérèses est très pauvre (114). De plus, il existe très peu de données sur le nombre de séances d'aphérèses nécessaire à une épuration satisfaisante (119). Enfin, plusieurs équipes ont observé un impact de la spécificité des anticorps anti-HLA et de leur force, estimée en SAG par la MFI, sur la qualité de leur épuration par les aphaérèses (115,117,118).

Actuellement, le choix du protocole d'aphérèse est donc très empirique. C'est pour répondre à cette problématique que nous avons décidé de mener ce travail. Les objectifs étaient multiples : évaluer l'impact réel des caractéristiques intrinsèques des anticorps anti-HLA sur la qualité de leur épuration, comparer l'efficacité, la tolérance et le coût des IA par rapport aux EP et déterminer le nombre optimal de séance d'aphérèses nécessaire à une épuration satisfaisante.

Notre cohorte rétrospective incluait les patients traités par EP ou IA entre 2010 et 2018 au sein de l'unité de dialyse/aphérèses du CHU de Bordeaux dans le cadre d'une désimmunisation pré-transplantation ou du traitement d'un rejet humoral. L'efficacité des différents protocoles était évaluée à la fois sur le pourcentage de réduction de la MFI de chaque anticorps après traitement mais également sur la capacité des aphaérèses à obtenir une MFI finale inférieure à 2000. Ce seuil a été déterminé sur les résultats d'une étude précédente montrant qu'une MFI inférieure à 2000 était fortement prédictive d'un XM-CMF négatif (51). Pour tous les patients, un test SAG était réalisé sur les sérums prélevés avant traitement et après 8 séances d'aphérèses (choix du nombre de séances guidé par les habitudes du service). Un test supplémentaire était également réalisé après 4 séances, en cas de disponibilité du sérum, afin d'évaluer la réponse précoce au traitement. La réalisation technique du SAG était assurée par les techniciennes du laboratoire HLA dans le cadre des sérums testés en routine et par moi-même, après formation auprès du Dr Visentin lors de mon année recherche, pour tous les autres sérums.

Pour l'étude de tolérance, les données clinico-biologiques de toutes les séances d'aphérèses ont été recueillies. Les critères d'évaluation principaux étaient l'interruption temporaire et l'arrêt prématuré de la séance d'aphérèse. La tolérance hémodynamique de chaque séance ainsi que la survenue de réactions allergiques et d'évènements hémorragiques au cours du protocole étaient également analysées.

Pour l'étude de coût, nous avons obtenu le prix unitaire des principaux consommables ainsi que des solutés de substitution. La quantification exacte de l'utilisation des petits consommables (tels que les compresses, les champs ou les gants stériles) n'a pas été évaluée, mais elle est probablement identique quelle que soit la technique utilisée. L'estimation du coût de revient d'une séance, de 4 séances et de 8 séances d'aphérèse a ainsi pu être déterminée.

## V - Article original

**Title: An algorithm to guide the selection of apheresis technique for removal of anti-HLA antibodies based on mean fluorescence intensity**

**Authors and affiliations:**

Jambon Frédéric<sup>1,2,3</sup>, Merville Pierre<sup>1,2,3</sup>, Guidicelli Gwendaline<sup>4</sup>, Taton Benjamin<sup>1</sup>, De Précigout Valérie<sup>1</sup>, Couzi Lionel<sup>1,2,3</sup>, Moreau Karine<sup>1\*</sup>, Visentin Jonathan<sup>2,3,4\*</sup>

<sup>1</sup>CHU de Bordeaux, Service de Néphrologie, Transplantation, Dialyse et Aphérèses, Bordeaux, France; <sup>2</sup>Université de Bordeaux, Bordeaux, France; <sup>3</sup>Immuno ConcEpT, UMR CNRS 5164, Bordeaux, France; <sup>4</sup>CHU de Bordeaux, Laboratoire d'Immunologie et Immunogénétique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France; \*equal contribution

**Running title:** Comparison of anti-HLA antibodies removal strategies

**Keywords:** anti-HLA antibodies, plasmapheresis, immunoabsorption, organ transplantation

**Corresponding author:**

Frédéric Jambon, CHU de Bordeaux, Hôpital Pellegrin, Service de Néphrologie, Transplantation, Dialyse et Aphérèses, Place Amélie Raba Léon, 33000 Bordeaux, France. (frederic.jambon@chu-bordeaux.fr).

Article soumis dans la revue *American Journal of Transplantation*

## **Abbreviations**

ABMR: antibody-mediated rejection

AUC: area under curve

DSA: donor-specific antibodies

EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid

IA: semi-selective immunoadsorption

IVIg: intravenous immunoglobulins

MFI: mean fluorescence intensity

MFI S0: mean fluorescence intensity before the first session of apheresis

NPV: negative predictive value

PP: plasmapheresis

ROC: receiver operating characteristic

SAFB: single antigen flow bead(s)

S4: after four apheresis sessions

S8: after eight apheresis sessions

%S4S8: MFI reduction as a percentage between S4 and S8

## **Abstract**

In organ transplantation, apheresis is frequently used for removal of anti-HLA antibodies. However, it is unclear whether plasmapheresis (PP) or semi-selective immunoadsorption (IA) should be employed, and the optimal number of apheresis sessions required to reach post-treatment objectives is also unknown. We enrolled 43 patients from Bordeaux University Hospital who were treated with PP (n = 29) or IA (n = 14) for antibody-mediated rejection or pre-transplant desensitization. Using Luminex single-antigen flow beads, we assessed the initial mean fluorescence intensity (MFI) of 1,416 positive beads with MFIs obtained after four or eight apheresis sessions. IA treatment and initial MFI were independently associated with successful removal (MFI post-treatment < 2,000), whereas anti-HLA antibody class and treatment indication were not. For antibodies with an MFI < 6,000, the efficacy was high after four sessions of either IA or PP. For antibodies with unsatisfactory removal after the first four sessions, the residual MFI predicted the effectiveness of four additional sessions, which was often low with PP and high with IA. These findings enabled the construction of a decisional algorithm that can inform the selection of apheresis technique and the number of sessions to be performed depending on the MFI of anti-HLA antibodies.



## **Introduction**

In organ transplantation, anti-human leukocyte antigen (HLA) antibodies are associated with poor graft survival when they are directed against mismatched donor HLA antigens, regardless of their presence before transplantation or *de novo* production (1–5). The availability of single-antigen flow beads (SAFBs; Luminex, Austin, TX, USA) has revolutionized our ability to identify donor-specific antibodies (DSAs) (6) in the pre- and post-transplantation settings. Indeed, SAFBs provide reliable semi-quantitative results in the form of a fluorescence read-out, namely mean fluorescence intensity (MFI). The MFI provides a measure of the “strength” of the antibodies when the well-described complement interference phenomenon is managed by an appropriate serum treatment (7–9).

In the post-transplantation setting, one of the main challenges at present is realizing efficient strategies for treatment of antibody-mediated rejection (ABMR). The need to rapidly remove DSAs supports a central role of apheresis in the current ABMR therapeutic arsenal (10,11). Thus far, the standard of care comprises the use of plasmapheresis (PP) and intravenous immunoglobulin (IVIg) (12–16). Semi-selective immunoadsorption (IA) has also shown effectiveness, but its high cost and the lack of any comparisons with PP limits its widespread use (17,18). These treatment strategies can also be applied in the pre-transplantation setting, for lowering pre-transplant levels of anti-HLA antibodies (19–21). This is especially true for highly sensitized recipients who cannot undergo transplantation without the involvement of an HLA-incompatible living kidney donor.

An interesting study by Maillard *et al.* compared the ability of PP and IA to reduce the MFI of anti-HLA antibodies in kidney recipients (22). They compared the performance of a single IA session with that of three consecutive daily PP sessions. The relative reduction of MFI was higher with IA, although a lower total volume of plasma was treated. Moreover, IA

showed marked superiority for anti-class I HLA antibodies relative to anti-class II HLA antibodies, which appeared more difficult to remove. A major limitation of that study, as raised by the authors, was that > 1 IA or > 3 PP sessions are routinely performed in current clinical practice.

A recent study by Pinelli *et al.* assessed whether titration studies could identify patients who were better candidates for desensitization therapies (23). In 29 patients who underwent a heterogeneous number of PP/low-dose IVIg sessions, the authors observed that antibody titer reduction was correlated with the number of apheresis sessions for both anti-class I and II antibodies. However, beginning in the fourth session, the rate of reduction slowed as the number of sessions increased. The authors also suggested that the rate of reduction was limited in patients with high initial titer (> 1:512), regardless of the number of sessions performed.

Therefore, it remains unclear whether IA or PP should be used for the removal of anti-HLA antibodies, depending on pre-treatment characteristics, *i.e.* MFI, HLA class, or HLA locus. Moreover, little is known regarding the number of sessions necessary to reach target objectives, such as overall removal of anti-HLA antibodies or reduction of MFI below a given threshold. In this study, we aimed to: 1) determine the impact of the intrinsic characteristics of anti-HLA antibodies on the efficacy of their removal, 2) compare the effectiveness of IA and PP, and 3) compare the effectiveness of four *versus* eight apheresis sessions.

## **Materials and methods**

### **Patients and treatment**

We retrospectively analyzed data from 43 organ transplant recipients who received PP (n = 29) or IA (n = 14), as treatment for ABMR or desensitization, between 2010 and 2018 at the Bordeaux University Hospital (Table 1). Inclusion criteria were the use of a standard apheresis protocol (at least 7–9 sessions), availability of a pre-treatment serum sample  $\geq 40$  days before the first apheresis session in the absence of confounding treatment during that period (*e.g.* rituximab, bortezomib, IVIg, or apheresis) and the availability of a serum sample taken 24–72 hours after the eighth (+/-1) session for assessment of anti-HLA antibodies. IA was performed using protein-A- or peptide GAM146-coated columns (Immunosorba or Globaffin; Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Germany) on an ADAorb© device (Fresenius Medical Care) coupled to a plasma filtration system. PP was performed by plasma filtration (Prismaflex©; Hospal, Meyzieux, France) using a TPE 2000 plasma filter. Replacement therapy was 4% albumin in the absence of coagulation disorders that justified the use of fresh frozen plasma. The PP and IA sessions were intended to treat 60 and 100 mL/kg of plasma, respectively. Apheresis techniques (IA, PP) were allocated to patients at the discretion of the treating physician. The first four sessions were on consecutive days, while the subsequent four sessions were performed at intervals of 48–72 hours. Concomitant triple immunosuppressive therapy, associating tacrolimus, mycophenolic acid, and corticosteroids, was administered in most patients (Supplemental data, Table S1). Infusion of IVIg and rituximab was usually performed after the last session of apheresis. This study was approved by the local institutional review board. The study followed the guidelines set forth in the Declaration of Helsinki and the Declaration of Istanbul. Informed consent was obtained from each patient prior to inclusion in this study.

**Table 1** : Demographics and immunological characteristics of patients

	<b>PP n=29</b>	<b>IA n=14</b>
<b>Sex ratio (F/M)</b>	0.81	2.5
<b>Age, years (median, quartiles)</b>	46 (40 - 57.8)	37 (29 - 55)
<b>Transplanted organ</b>		
<b>Kidney [n(%)]</b>	25 (86)	12 (86)
<b>Lung [n(%)]</b>	3 (10)	1 (7)
<b>Heart [n(%)]</b>	0	1 (7)
<b>Liver [n(%)]</b>	1 (4)	0
<b>ABMR treatment / Desensitization (%)</b>	96.6/3.4	78.6/21.4
<b>Number of apheresis sessions (mean, standard deviation)</b>	7.6 (0.57)	7.9 (0.48)
<b>Number of beads with a pre-treatment MFI <math>\geq</math> 1000</b>		
<b>Median MFI (quartiles)</b>	5059 (1925 - 11659)	5421 (2452 - 10683)
<b>Class I [n(%)]</b>	387 (48)	281 (46)
<b>Median MFI (quartiles)</b>	6207 (2435 - 11209)	3875 (2008 - 7475)
<b>HLA-A [n(%)]</b>	138 (17)	93 (15)
<b>HLA-B [n(%)]</b>	216 (27)	159 (26)
<b>HLA-C [n(%)]</b>	33 (4)	29 (5)
<b>Class II [n(%)]</b>	417 (52)	331 (54)
<b>Median MFI (quartiles)</b>	4239 (1714 - 12389)	7054 (3047 - 12627)
<b>HLA-DR [n(%)]</b>	47 (6)	75 (12)
<b>HLA-DQ [n(%)]</b>	241 (30)	168 (28)
<b>HLA-DP [n(%)]</b>	129 (16)	88 (14)

### Assessment of anti-HLA antibodies

Serum samples were treated with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) to avoid complement interference (7), then tested with class I and II SAFBs (One Lambda, Inc., Canoga Park, CA, USA), in accordance with the manufacturer's recommendations for routine assay use. SAFBs were acquired on a Luminex 100<sup>®</sup> analyzer. MFI values were normalized

using the baseline formula and Fusion<sup>®</sup> software (One Lambda, Inc.). The positivity threshold was set at MFI > 500. Because nearly all beads with an initial MFI of 500–1,000 were negative after apheresis, we included data only for those with a pre-treatment MFI > 1,000 (n = 1,416). The first endpoint was the SAFB MFI reduction for each bead, defined as the initial MFI (MFI S0) minus the post-apheresis MFI divided by MFI S0, expressed as a percentage. Maximal efficacy was defined as 100% reduction (post-treatment MFI < 500). The second endpoint was removal success, defined as a post-apheresis MFI < 2,000; in our center, this corresponds to a negative flow cytometry crossmatch (24).

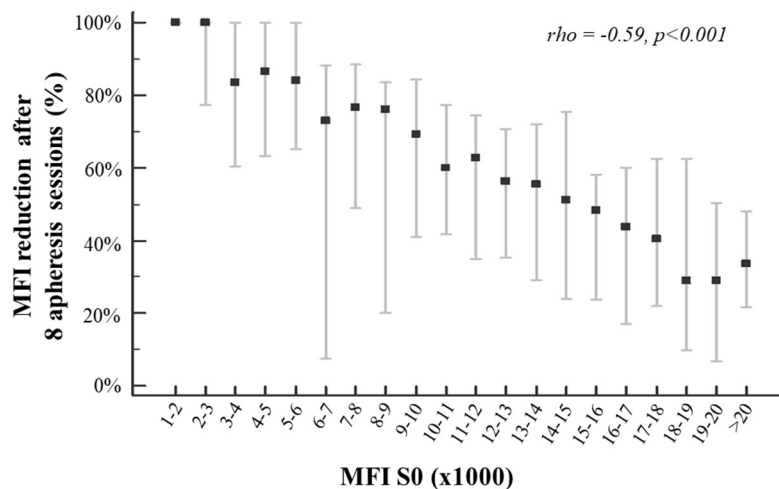
### Statistical analysis

Analyses were performed using conventional statistical methods and descriptive statistics [median (first/third quartiles) or mean (standard deviation) as appropriate] were generated. Comparisons of qualitative variables were performed using Fisher's exact test. Comparisons of quantitative variables were performed using the two-tailed Mann–Whitney U test. Relationships between variables were assessed using Spearman's coefficient of rank correlation (*rho*). Multivariate logistic regression modeling with a stepwise selection process was used to determine the independent roles of several variables in MFI reduction of anti-HLA antibodies. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was used to determine the optimal MFI threshold for indicating failure of epuration. Analyses were performed with MedCalc<sup>®</sup> software (MedCalc, Mariakerke, Belgium).

## Results

### Initial MFI influences the reduction of the MFI of anti-HLA antibodies

The immunological characteristics of the 1,416 beads analyzed are shown in Table 1. Note that MFI S0 was similar between the IA and PP groups. We initially estimated the efficacy of the removal of anti-HLA antibodies based on their MFI S0, regardless of the apheresis technique used. We observed an inverse linear relationship between the MFI reduction after eight apheresis sessions (S8) and the MFI S0 (Spearman's  $\rho = -0.59$ ,  $p < 0.001$ , Figure 1). The median MFI S0 was 4,395 (2,917–6,523) for beads that reached an MFI S8  $< 2,000$  versus 12,462 (7,984–17,126) for beads that were not successfully removed ( $p < 0.001$ ).



**Figure 1 : Relation between MFI S0 and MFI reduction after 8 sessions of apheresis.** The efficacy of HLA antibody removal was evaluated with the Luminex Single Antigen Flow Beads Mean Fluorescence Intensity (MFI) reduction, defined as the initial MFI (MFI S0) minus the MFI after 8 sessions of apheresis divided by MFI S0, expressed as a percentage. A reduction of 100% defined a maximal efficacy while a 0% reduction defined a lack of therapeutic effect. A total of 1416 beads with a MFI S0  $\geq 1000$  were studied. The median MFI reduction for a given MFI range is shown with the corresponding interquartile ranges. Degree of relationship between variables was calculated using Spearman's coefficient of rank correlation  $\rho$ .

We also noted that MFI reduction at S8 was similar between anti-class I [79% (47–100%)] and anti-class II [77% (35–100%)] antibodies ( $p = 0.43$ ). The lowest MFI reduction

was observed for anti-HLA-DQ and anti-HLA-B antibodies ( $p < 0.001$ , Table 2); these antibodies also had the highest MFI S0 ( $p < 0.001$ ).

**Table 2 :** Initial MFI and removal efficacy of both apheresis techniques based on HLA loci

Targeted loci	MFI S0*	MFI reduction at S8*
HLA-A (n=231)	4390 (2203-7685)	85% (62%-100%)
HLA-B (n=375)	6292 (2431-11631)	71% (29%-100%)
HLA-C (n=62)	2745 (1544-6405)	100% (61%-100%)
HLA-DR (n=217)	3615 (1551-8732)	100% (34%-100%)
HLA-DQ (n=409)	8334 (3248-16174)	61% (24%-100%)
HLA-DP (n=122)	3168 (1420-6680)	100% (74%-100%)
p-value	$p < 0.001$	$p < 0.001$

\*: median (1<sup>st</sup>-3<sup>rd</sup> quartiles)

### Removal of anti-HLA antibodies was greater after eight IA sessions than after eight PP sessions

We then compared the efficacy of the removal of anti-HLA antibodies after eight apheresis sessions based on the technique used. MFI reduction at S8 was higher with IA [87% (61–100%)] than with PP [73% (22–100%)] ( $p < 0.001$ ). Indeed, 59% of the beads had an MFI S8  $< 2,000$  with IA, whereas only 38% of the beads had an MFI S8  $< 2,000$  with PP ( $p < 0.001$ ). We constructed a multivariate logistic regression model that included HLA class and MFI S0 as potential confounding factors (Table 3). Two factors were independently associated with removal success: MFI S0 and IA ( $p < 0.001$ ). Notably, in the IA subgroup, the success rate was similar between patients treated for ABMR and those treated for desensitization (58% and 60%, respectively;  $p = 0.57$ ). This analysis was not performed in the PP subgroup because only one of those patients was treated for desensitization.

**Table 3 :** Multivariate logistic regression to identify variables associated with success of removal at S8 (defined as an MFI S8 < 2,000) (n=1,090 beads)

Independent variable	Coefficient (Standard Error)	p	OR (95% CI)
MFI S0*	-4.24 x 10 <sup>-4</sup> (2.62 x 10 <sup>5</sup> )	<0.001	0.996 (0.995-0.996)
Apheresis technique (IA vs. PP)	1.29 (0.18)	<0.001	3.63 (2.56-5.16)
Constant	2.67		
<b>Hosmer and Lemeshow Test</b>		p=0.58	
<b>AUC (95% CI)</b>		0.89 (0.88-0.91)	

\*expressed as a quantitative variable

The variable “anti-HLA antibody class” was not significantly associated with removal success.

### MFI reduction, but not removal success rate, is greater after four IA sessions than after four PP sessions

We performed an early assessment of the removal of anti-HLA antibodies after the first four PP or IA sessions (S4) in 25 patients (n = 12 with PP and n = 13 with IA); a total of 902 beads were studied. MFI reduction at S4 was greater with IA [66% (43–89%)] than with PP [45% (14–100%)] (p < 0.001). Notably, there was no significant difference between PP and IA in the rate of antibodies with an MFI S4 < 2,000 (35% and 40%, respectively; p = 0.22).

We also investigated the removal efficacy of the final four sessions for the 637 beads that remained positive (MFI ≥ 500) at S4. The MFI reduction between S4 and S8 (%S4S8) was 45% (15–81%) with IA and 19% (0–45%) with PP (p < 0.001). Among the 432 beads that continued to show an MFI > 2,000 at S4, a final MFI < 2,000 was demonstrated by 32% of the beads with IA *versus* 7% of the beads with PP (p < 0.001).

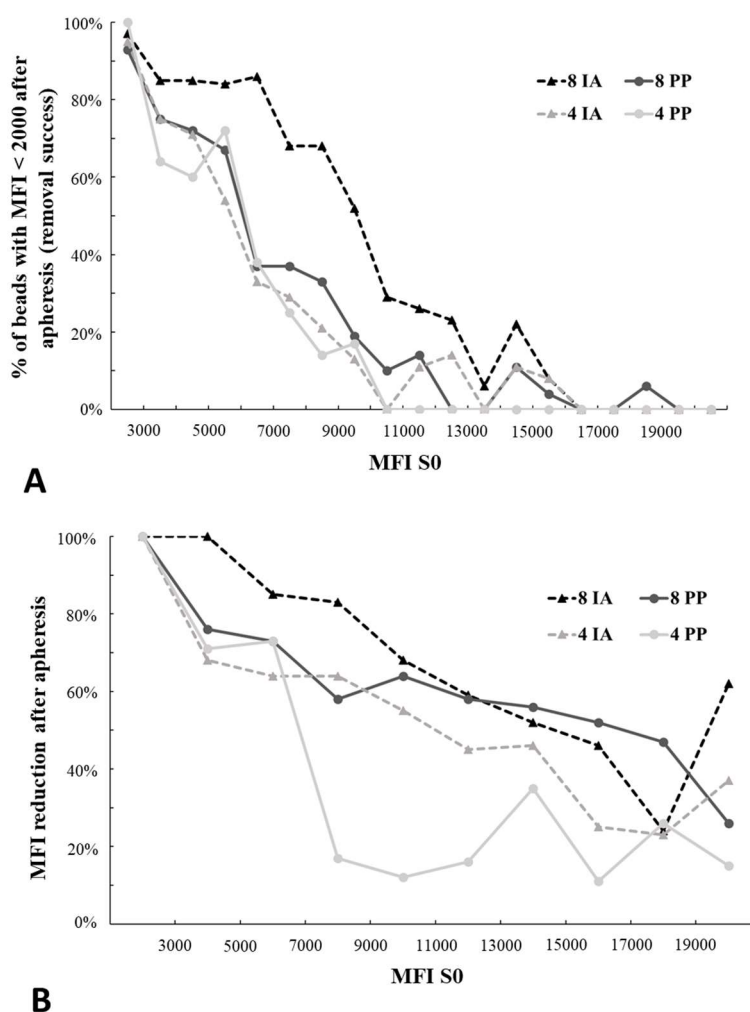
### Initial MFI can guide physicians in apheresis selection and number of sessions

We then analyzed the efficacy of anti-HLA antibody removal based on MFI S0, the type of apheresis (IA or PP), and the number of sessions (four vs. eight). The aim was to



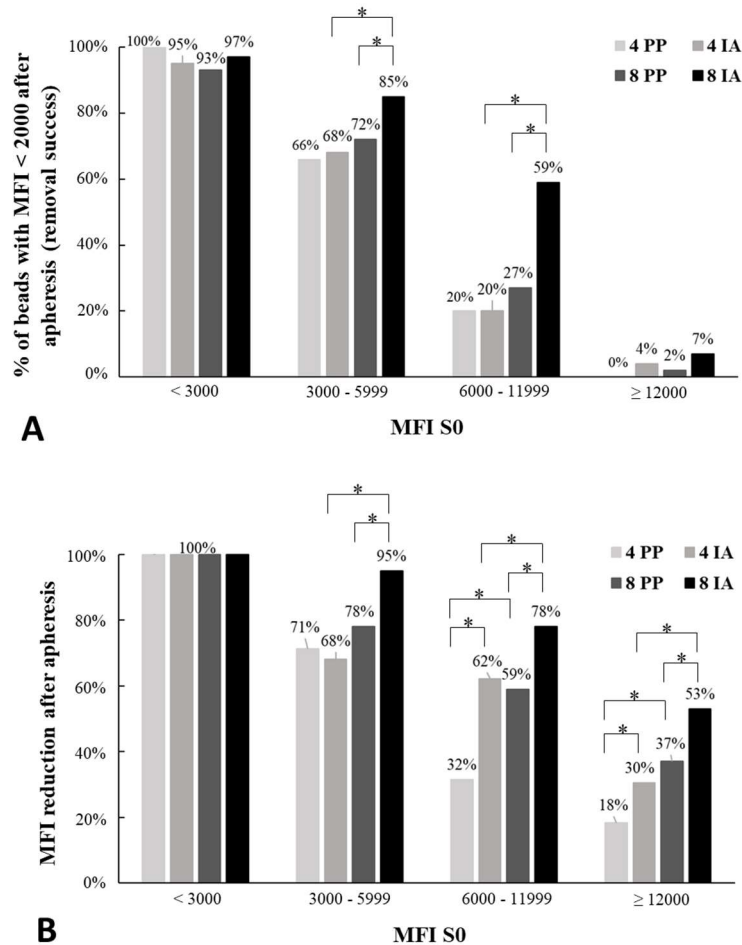
determine, for different categories of MFI S0, the most appropriate apheresis technique and number of sessions to be performed.

To achieve post-apheresis MFI < 2,000, eight IA sessions were superior to four IA, four PP, and eight PP sessions, but only for MFI S0 of 3,000–12,000 (Figure 2A). MFI reduction was superior with eight IA sessions, but only for MFI S0 of 3,000–9,000 (Figure 2B). MFI reduction was very poor with four PP sessions for MFI S0 > 6,000.



**Figure 2 : Schematic representation of removal efficacy according to the MFI S0 after 4 and 8 plasmapheresis (PP) and semi-selective immunoadsorption (IA). A: % of beads with an MFI < 2000 after apheresis (defining removal success). All the beads displaying a MFI S0 ≥ 2000 were evaluated after 4 sessions (PP, n = 231 and IA, n = 479) and 8 sessions (PP, n = 595 and IA, n = 496) of apheresis. The proportion of beads displaying a final MFI < 2000 is shown for a given MFI S0 range. B: MFI reduction (expressed as percentage) after apheresis. All the beads displaying a MFI S0 ≥ 1000 were evaluated after 4 sessions (PP, n = 308 and IA, n = 594) and 8 sessions (PP, n = 804 and IA, n = 612) of apheresis. The percentage of MFI reduction is shown for a given MFI S0 range.**

To facilitate clinical decision-making, we defined four categories of MFI S0: low MFI (< 3,000), intermediate MFI (3,000–5,999), high MFI (6,000–11,999), and very high MFI ( $\geq$  12,000). For low MFI antibodies, the rate of removal success (defined as a final MFI < 2,000) was > 90% regardless of the type of apheresis and number of sessions (Figure 3A).



**Figure 3 : Comparison of removal efficacy according to 4 categories of MFI S0 between 4 and 8 plasmapheresis (PP) and semi-selective immunoadsorption (IA). A: % of beads with an MFI < 2000 after apheresis (defining removal success).** The number of beads analyzed was identical to Figure 2A. Comparison of both methods used the Fisher's exact test (\*:  $p < 0.05$ ). **B: MFI reduction (expressed as percentage) after apheresis.** The number of beads analyzed was identical to Figure 2B. Comparison of both methods used the Mann-Whitney U-test (\*:  $p < 0.05$ ).

For intermediate MFI antibodies, the removal success rate was 66% and 68% with four and eight PP sessions, respectively, *versus* 72% and 85% with four and eight IA sessions. For high MFI antibodies, the removal success rate was < 30% after four or eight PP sessions,

as well as after four IA sessions; however, the removal success rate was 59% with eight IA sessions. For very high MFI antibodies, the removal success rate was < 7% after eight sessions of PP or IA. However, greater MFI reduction (approximately 50%) was achieved after eight IA sessions (Figure 3A, B).

The MFI achieved after four sessions can predict the efficacy of subsequent sessions

With both apheresis methods, %S4S8 was inversely correlated with the MFI achieved at S4 (MFI S4) (Spearman’s rho = -0.57 for IA and -0.27 for PP, p < 0.001). MFI S4 was highly predictive of the inability of the techniques to achieve an MFI S8 < 2,000 (areas under the ROC curve [AUC] = 0.92 for IA and 0.95 for PP). The sensitivity threshold for MFI S4, which reliably predicted the failure of four additional IA sessions and four additional PP sessions, was 4,835 with a 97% negative predictive value (NPV) and 3,654 with a 99% NPV, respectively. The positive predictive value was relatively low for both techniques: 67% for IA and 45% for PP (Table 4).

**Table 4 :** ROC analyses of removal success (defined as an MFI S8 < 2,000) based on MFI S4

<b>Apheresis</b>	<b>ROC AUC (95% CI)</b>	<b>P</b>	<b>Sensitivity threshold</b>	<b>Sensitivity</b>	<b>Specificity</b>	<b>NPV</b>	<b>PPV</b>
PP	0.95 (0.91-0.99)	<0.001	3654	90%	92%	99%	45%
IA	0.92 (0.89-0.95)	<0.001	4835	96%	78%	97%	67%

The MFI S4 threshold is a minimum sensitivity of 90% for predicting removal success.

NPV: Negative Predictive Value

PPV: Positive Predictive Value

## **Discussion**

Our study results showed that both PP and IA efficiently remove anti-HLA antibodies, with an efficacy dependent on the initial MFI. These findings reinforce the premise that IA is more effective than PP, especially when extended protocols are used (*i.e.* eight sessions). Short protocols of apheresis (*i.e.* four sessions) showed satisfactory results without superiority of IA over PP for an MFI S0 < 6,000. If poor results are seen after four sessions, our data suggest that MFI at S4 could predict the efficacy of four additional apheresis sessions to obtain MFI S8 < 2,000.

We found that the efficacy of anti-HLA antibody removal after eight apheresis sessions exhibited a linear relationship with initial MFI. Unlike the findings of Maillard *et al.* (22), but consistent with those of Pinelli *et al.* (23), other characteristics of anti-HLA antibodies, such as targeted class or locus, were not independently associated with the efficacy of antibody removal in our study. Several studies have reported that class II antibodies, particularly those directed against HLA-DQ molecules, were more resistant to ABMR treatments (25–28). Among histocompatibility laboratories worldwide, antibodies directed against HLA-DQ molecules have frequently demonstrated high MFI levels. In our study, the lowest reduction observed for anti-HLA-DQ was explained by their higher median MFI.

We definitively proved that IA is more efficient than PP for removal of anti-HLA antibodies with an eight-session protocol. One limitation of our study was that, within the same number of sessions, IA treats a higher volume of plasma than PP. However, this bias is countered by 1) the previously published data of Maillard *et al.*, which showed that one IA session (total volume of treated plasma: 100 mL/kg) achieved results superior to those of three PP sessions (total volume of treated plasma: 180 mL/kg) (22), and 2) the results in the present study, which showed that increasing the total volume of treated plasma by using eight

rather than four PP sessions was relatively inefficient. Interestingly, the reverse phenomenon was not observed for IA. It is impossible to increase the plasma volume treated in a single PP session because of poor tolerance, in turn due to the loss of important coagulation factors (29).

Nevertheless, for low MFI antibodies, four PP sessions were as effective as four IA sessions. In addition, it is important to consider the high cost of IA (30). Thus, we think that four PP sessions is still a useful approach for removal of anti-HLA antibodies, especially when  $MFI S_0 < 3,000$ , because the removal success rate is  $> 90\%$ . We also think that four PP sessions provides satisfactory results for antibodies with an MFI  $S_0$  of 3,000–6,000, because the rate of removal success is approximately 65-70% without any significant difference between four sessions of PP and IA (Figure 4). Several previous studies noted that the rate of MFI reduction slowed as the number of PP sessions increased, especially beyond 3–4 sessions (23,28). Our results are consistent with this; indeed, we identified a threshold of MFI  $S_4$  at 3,654, beyond which the addition of four PP sessions was ineffective. Thus, we propose performing four additional PP sessions only for anti-HLA antibodies with an MFI  $S_4$  below this threshold (Figure 4).

For antibodies with an MFI  $> 6,000$ , we presume that eight IA sessions is appropriate in most cases. Indeed, for antibodies with an MFI of 6,000–12,000, eight IA sessions achieved a removal success rate twofold higher than that of eight PP or four IA sessions. For antibodies with an MFI  $> 12,000$ , although the removal success rate was low in all cases, MFI reduction was higher with eight IA sessions. We propose measuring the MFI after four sessions (Figure 4); if MFI  $S_4$  is  $< 2,000$ , the IA protocol could be terminated earlier than originally planned. We also identified a threshold of MFI  $S_4$  at 4,835, beyond which the addition of four IA sessions was ineffective. Morath *et al.* reported that the extension of an IA protocol (up to 22 sessions) always resulted in satisfactory MFI reduction (31). However, our study did not assess the benefit of a protocol with  $> 8$  sessions.

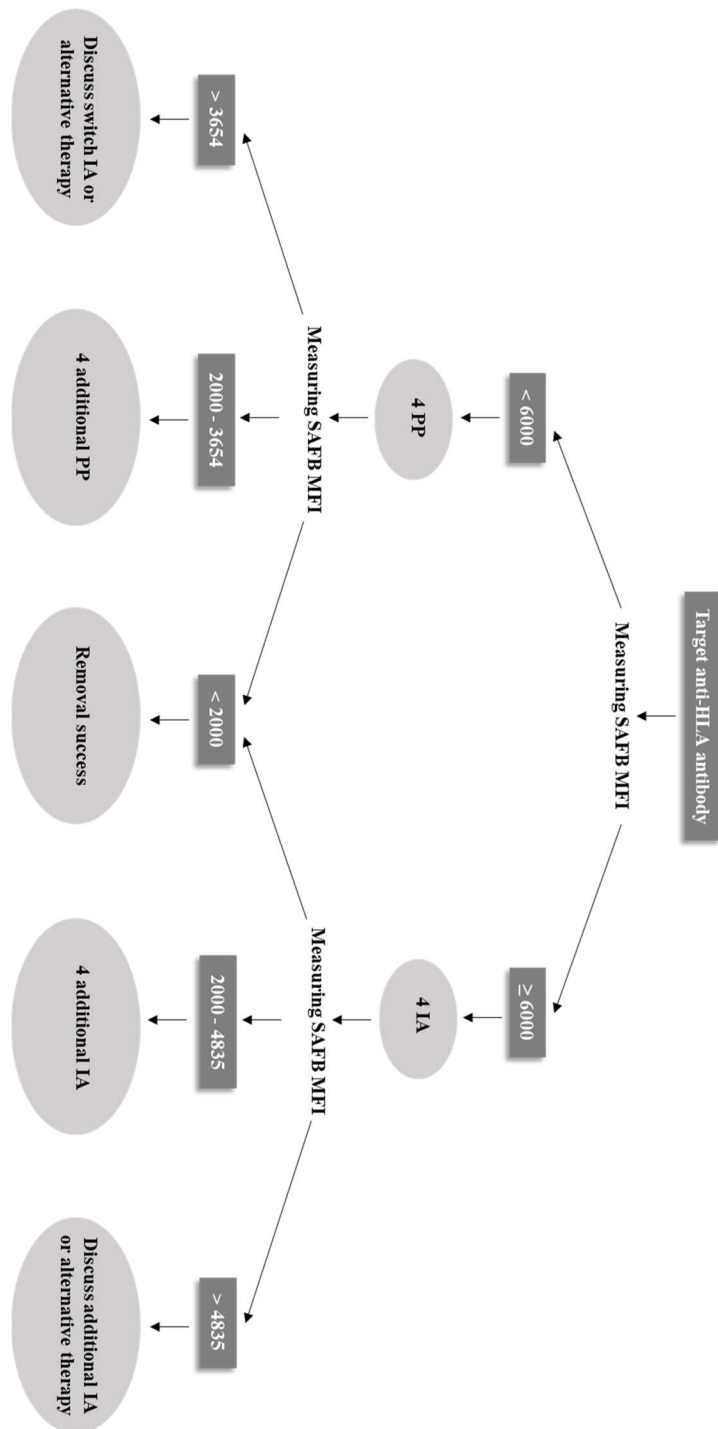


Figure 4 : **How to determine the optimal apheresis protocol for the removal of a target anti-HLA antibody? Proposition of a decision algorithm.** The final objective was to reduce the target anti-HLA antibody MFI below 2000  
*SAFB: single antigen flow bead(s)*

Another potential limitation of our study was that patients treated for pre-transplant desensitization may have been overrepresented in the IA group. The efficacy of anti-HLA

antibody removal might differ during treatment of post-transplant ABMR relative to pre-transplant desensitization. Indeed, in the post-transplantation setting, stimulation of the recipient's immune system by transplant antigens could enhance the production of HLA antibodies, thereby reducing the efficacy of apheresis. However, in the IA group, ABMR-treated recipients and desensitized patients showed similar results, suggesting that the efficacy was not affected.

The use of MFI to evaluate the efficacy of apheresis is also controversial. Indeed, Pinelli *et al.* showed that approximately 30% of antibodies with titers of at least 1:128 displayed an MFI increase, occasionally to  $> 10,000$ , which contrasted with a rather small titer reduction (23). In our opinion, the beads displaying these aberrant behaviors likely exhibited complement interference (7). After EDTA pre-treatment of our serum samples, approximately 8% of the beads showed an MFI increase, without any correlation with initial MFI (data not shown). Nevertheless, we agree with Pinelli *et al.* that the MFI saturation observed using SAFBs does not allow for precise determination of the true “strength” of HLA antibodies with very high MFI. However, MFI saturation might result in stability of MFI after PP, but not an increase in MFI.

In conclusion, the results of our single-center retrospective study showed that monitoring the MFI of anti-HLA antibodies before and during ABMR treatment/desensitization protocols can guide physicians in the selection of apheresis technique and the number of sessions, through use of a decisional algorithm (Figure 4). Future prospective studies should aim to confirm these results and explore the long-term effects of these strategies.

## **References**

1. 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. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2012 May;12(5):1157–67.
2. Lefaucheur C, Loupy A, Hill GS, Andrade J, Nochy D, Antoine C, et al. Preexisting donor-specific HLA antibodies predict outcome in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2010 Aug;21(8):1398–406.
3. Morrell MR, Pilewski JM, Gries CJ, Pipeling MR, Crespo MM, Ensor CR, et al. De novo donor-specific HLA antibodies are associated with early and high-grade bronchiolitis obliterans syndrome and death after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant*. 2014 Dec;33(12):1288–94.
4. Kaneku H, O’Leary JG, Banuelos N, Jennings LW, Susskind BM, Klintmalm GB, et al. De novo donor-specific HLA antibodies decrease patient and graft survival in liver transplant recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2013 Jun;13(6):1541–8.
5. Smith JD, Banner NR, Hamour IM, Ozawa M, Goh A, Robinson D, et al. De novo donor HLA-specific antibodies after heart transplantation are an independent predictor of poor patient survival. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2011 Feb;11(2):312–9.
6. Pei R, Lee J-H, Shih N-J, Chen M, Terasaki PI. Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities. *Transplantation*. 2003 Jan 15;75(1):43–9.
7. Schnaidt M, Weinstock C, Jurisic M, Schmid-Horch B, Ender A, Wernet D. HLA antibody specification using single-antigen beads--a technical solution for the prozone effect. *Transplantation*. 2011 Sep 15;92(5):510–5.
8. Visentin J, Vigata M, Daburon S, Contin-Bordes C, Fremeaux-Bacchi V, Dromer C, et al. Deciphering complement interference in anti-human leukocyte antigen antibody detection with flow beads assays. *Transplantation*. 2014 Sep 27;98(6):625–31.
9. Guidicelli G, Visentin J, Franchini N, Borg C, Merville P, Couzi L, et al. Prevalence, distribution and amplitude of the complement interference phenomenon in single antigen flow beads assays. *HLA*. 2018 Jun;91(6):507–13.
10. Everly MJ, Everly JJ, Arend LJ, Brailey P, Susskind B, Govil A, et al. Reducing de novo donor-specific antibody levels during acute rejection diminishes renal allograft loss. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2009 May;9(5):1063–71.
11. Viglietti D, Loupy A, Aubert O, Bestard O, Van Huyen J-PD, Taupin J-L, et al. Dynamic Prognostic Score to Predict Kidney Allograft Survival in Patients with Antibody-Mediated Rejection. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2018 Feb;29(2):606–19.



12. Archdeacon P, Chan M, Neuland C, Velidedeoglu E, Meyer J, Tracy L, et al. Summary of FDA antibody-mediated rejection workshop. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2011 May;11(5):896–906.
13. Wan SS, Ying TD, Wyburn K, Roberts DM, Wyld M, Chadban SJ. The Treatment of Antibody-Mediated Rejection in Kidney Transplantation: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Transplantation.* 2018;102(4):557–68.
14. Lefaucheur C, Nochy D, Andrade J, Verine J, Gautreau C, Charron D, et al. Comparison of combination Plasmapheresis/IVIg/anti-CD20 versus high-dose IVIg in the treatment of antibody-mediated rejection. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2009 May;9(5):1099–107.
15. Rocha PN, Butterly DW, Greenberg A, Reddan DN, Tuttle-Newhall J, Collins BH, et al. Beneficial effect of plasmapheresis and intravenous immunoglobulin on renal allograft survival of patients with acute humoral rejection. *Transplantation.* 2003 May 15;75(9):1490–5.
16. Lehrich RW, Rocha PN, Reinsmoen N, Greenberg A, Butterly DW, Howell DN, et al. Intravenous immunoglobulin and plasmapheresis in acute humoral rejection: experience in renal allograft transplantation. *Hum Immunol.* 2005 Apr;66(4):350–8.
17. Böhmig GA, Wahrmann M, Regele H, Exner M, Robl B, Derfler K, et al. Immunoabsorption in severe C4d-positive acute kidney allograft rejection: a randomized controlled trial. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2007 Jan;7(1):117–21.
18. Böhmig GA, Regele H, Exner M, Derhartunian V, Kletzmayer J, Säemann MD, et al. C4d-positive acute humoral renal allograft rejection: effective treatment by immunoabsorption. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2001 Nov;12(11):2482–9.
19. Bartel G, Wahrmann M, Regele H, Kikić Z, Fischer G, Druml W, et al. Peritransplant immunoabsorption for positive crossmatch deceased donor kidney transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2010 Sep;10(9):2033–42.
20. Stegall MD, Gloor J, Winters JL, Moore SB, Degoey S. A comparison of plasmapheresis versus high-dose IVIG desensitization in renal allograft recipients with high levels of donor specific alloantibody. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2006 Feb;6(2):346–51.
21. Abu Jawdeh BG, Cuffy MC, Alloway RR, Shields AR, Woodle ES. Desensitization in kidney transplantation: review and future perspectives. *Clin Transplant.* 2014 Apr;28(4):494–507.
22. Maillard N, Absi L, Claisse G, Masson I, Alamartine E, Mariat C. Protein A-Based Immunoabsorption Is More Efficient Than Conventional Plasma Exchange to Remove Circulating Anti-HLA Antibodies. *Blood Purif.* 2015;40(2):167–72.
23. Pinelli DF, Zachary AA, Friedewald JJ, Gjertson DW, Evans MA, Chatroop EN, et al. Prognostic tools to assess candidacy for and efficacy of antibody-removal therapy. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2018 Jul 7;

24. Visentin J, Bachelet T, Borg C, Franchini N, Nong T, Lee J-H, et al. Reassessment of T Lymphocytes Crossmatches Results Prediction With Luminex Class I Single Antigen Flow Beads Assay. *Transplantation*. 2017;101(3):624–30.
25. Velidedeoglu E, Cavallé-Coll MW, Bala S, Belen OA, Wang Y, Albrecht R. Summary of 2017 FDA Public Workshop: Antibody-mediated Rejection in Kidney Transplantation. *Transplantation*. 2018;102(6):e257–64.
26. Zachary AA, Montgomery RA, Leffell MS. Factors associated with and predictive of persistence of donor-specific antibody after treatment with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin. *Hum Immunol*. 2005 Apr;66(4):364–70.
27. Khuu T, Cadeiras M, Wisniewski N, Reed EF, Deng MC. Reduced HLA Class II antibody response to proteasome inhibition in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant*. 2015 Jun;34(6):863–5.
28. Yamada C, Ramon DS, Cascalho M, Sung RS, Leichtman AB, Samaniego M, et al. Efficacy of plasmapheresis on donor-specific antibody reduction by HLA specificity in post-kidney transplant recipients. *Transfusion (Paris)*. 2015 Apr;55(4):727–35; quiz 726.
29. Cid J, Carbassé G, Andreu B, Baltanás A, Garcia-Carulla A, Lozano M. Efficacy and safety of plasma exchange: an 11-year single-center experience of 2730 procedures in 317 patients. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis*. 2014 Oct;51(2):209–14.
30. Braun N, Bosch T. Immunoabsorption, current status and future developments. *Expert Opin Investig Drugs*. 2000 Sep;9(9):2017–38.
31. Morath C, Beimler J, Opelz G, Scherer S, Schmidt J, Macher-Goeppinger S, et al. Living donor kidney transplantation in crossmatch-positive patients enabled by peritransplant immunoabsorption and anti-CD20 therapy. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2012 May;25(5):506–17.

## **Disclosure**

This work has benefited from a grant given by Fresenius Medical Care France. The funders had no role in work design and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

The authors of the manuscript have no conflict of interest to disclose.

## **Description of Supporting Information**

**Table S1: Concomitant immunosuppressive therapy**

<b>Immunosuppressive therapy associated with apheresis</b>	<b>PP [n(%)]</b>	<b>IA [n(%)]</b>	<b>p value</b>
Tacrolimus	26 (90)	10 (71)	ns
Cyclosporine	2 (7)	2 (14)	ns
MMF / MPA	26 (90)	10 (71)	ns
Sirolimus / Everolimus	0	1 (7)	ns
Azathioprine	1 (3)	0	ns
Intravenous corticosteroid	18 (62)	4 (29)	0.05
Oral corticosteroid	28 (97)	9 (64)	0.01
Polyvalent immunoglobulins	1 (3)	0	ns
Bortezomib	0	2 (14)	ns
Eculizumab	1 (3)	0	ns

MMF = mycophenolate mofetil; MPA = mycophenolic acid; ns: non-significant

## VI - Annexes

### Annexe 1 : Comparaison des coûts

Le coût de revient des EP a été calculé pour un patient de 74 Kg (moyenne de notre cohorte). Afin de correspondre à la pratique courante de notre unité, le volume plasmatique traité était de 60ml/Kg par séance d'EP en utilisant l'albumine 4% comme soluté de substitution. Nous avons observé dans notre cohorte une consommation d'environ une poche de plasma frais congelé (PFC) pour deux séances d'EP, ce que nous avons intégré dans notre calcul de coût. Pour mémoire, le kit d'aphérèse est utilisé pour la séparation plasmatique par filtration.

Pour les IA, seul le prix des colonnes Globaffin est renseigné. En effet, les colonnes Immunosorba ne sont désormais plus commercialisées. Le Kit Art-Universal est utilisé pour la séparation plasmatique par filtration. Le Kit Adasorb correspond au système de montage et aux connectiques nécessaires à l'étape d'adsorption.

		Prix (€)	
		IA	EP
<b>Matériel</b>	Kit d'aphérèse (TPE 2000)	-	198
	Kit Art-Universal	210	-
	Kit Adasorb	414	-
	Colonnes Globaffin (x2)	3240	-
<b>Solutés</b>	Albumine 4% (500ml)	-	45
	PFC (200-300ml)	-	85
<b>Coût total</b>	1 séance	3864	634
	4 séances	5736	2537
	8 séances	8232	5074

Le coût d'une séance d'IA était supérieur à celui d'une séance d'EP (3864€ *versus* 643€), en raison du prix élevé des colonnes d'adsorption. Cette nette différence se maintenait quel que soit le nombre de séances réalisées. Ceci est dû au fait que le coût matériel d'une séance d'IA hors colonne est de 624€ (3864 - 3240) contre 634€ pour une séance d'EP.

## Annexe 2 : Evaluation de la tolérance

Les données clinico-biologiques des 447 séances d'aphérèses (161 séances d'IA et 286 séances d'EP) ont été analysées. La survenue d'un épisode d'hypotension était définie par la baisse de la pression artérielle moyenne (PAM) en dessous de 65mmHg. Les dysfonctionnements techniques comprenaient les problèmes de coagulation du circuit, de fonctionnement de la machine et de l'abord vasculaire. La variation de la pression artérielle (PA) était évaluée par la formule suivante : PA au branchement – PA moyenne pendant la séance. Le fibrinogène était mesuré au branchement et au débranchement de chaque séance, en l'absence de perfusion de PFC.

	IA n=161	EP n=286	p
<b>Durée d'une séance en minutes*</b>	210 (175 ; 240)	160 (130 ; 190)	<0,001
<b>Anticoagulation</b>			<0,001
Héparine seule [n(%)]	16 (10)	242 (85)	
Citrate seul [n(%)]	8 (5)	35 (12)	
Héparine + citrate [n(%)]	137 (85)	9 (3)	
<b>Arrêt prématuré de séance [n(%)]</b>	10 (6)	20 (7)	ns
Mauvaise tolérance clinique (n)	0	3	
<i>Hypotension (n)</i>	0	1	
<i>Douleurs lombaires (n)</i>	0	2	
Dysfonctionnement technique (n)	10	17	
<b>Interruption temporaire de séance [n(%)]</b>	9(6)	33 (12)	0,06
Mauvaise tolérance clinique (n)	0	15	
<i>Hypotension (n)</i>	0	11	
<i>Douleurs lombaires (n)</i>	0	4	
Dysfonctionnement technique (n)	9	18	
<b>Tolérance hémodynamique</b>			
Variation PAM en mmHg*	0,5 (-4 ; 5)	-4 (-10 ; 1)	<0,001
Variation PAS en mmHg*	-2 (-8 ; 5)	-7 (-16 ; 0)	<0,001
Survenue d'un épisode d'hypotension (PAM < 65mmHg) [n(%)]	10 (6)	29 (10)	ns
Prise de poids en Kg*	0,8 (0,3 ; 1,3)	0,3 (0 ; 0,6)	<0,001
<b>Tolérance hématologique</b>			
Variation fibrinogène (%)*	-21 (-29 ; -15)	-76 (-79 ; -74)	<0,001
Transfusion PFC [n(%)]	2 (1)	61 (22)	<0,001
Nombre de patients ayant présenté une complication hémorragique [n(%)]	0 (0)	3 (8)	ns
Nombre de patients ayant nécessité une transfusion [n(%)]	0 (0)	3 (8)	ns
<b>Réactions d'hypersensibilité [n(%)]</b>	0 (0)	5 (2)	ns
Urticaire simple (n)	0	5	
Œdème de Quincke (n)	0	0	

PAM = pression artérielle moyenne ; PAS : pression artérielle systolique ; PFC : plasma frais congelé

\* : médiane (quartiles)

Le taux d'effets indésirables entraînant l'arrêt prématuré de la séance ou son interruption temporaire n'était pas statistiquement différent entre les IA et les EP. Cependant, la survenue d'hypotension était plus fréquente avec les EP, probablement du fait de la perte des macromolécules plasmatiques. De plus, nous avons observé, dans quelques cas, l'apparition de douleurs lombaires intenses lors de la première séance d'EP, obligeant parfois à restituer le patient, sans qu'aucune explication ne soit retrouvée et sans récurrence lors des séances suivantes.

Sur le plan hématologique, la baisse du fibrinogène était d'environ 20% avec les IA contre 75% avec les EP. La compensation de cette perte par perfusion de PFC permettait de limiter le risque de complications hémorragiques. Enfin, les réactions allergiques aux solutés de substitution étaient relativement rares (environ 2%).

## VII - Discussion

Dans notre travail, nous avons d'abord observé que la qualité de l'épuration des anticorps anti-HLA par les aphérèses dépendait directement de leur MFI initiale, mais qu'à l'inverse, l'impact de leur spécificité était nul. Plusieurs études antérieures avaient pourtant décrit une difficulté à l'élimination des anticorps anti-classe II, et en particulier des anti-DQ (22, 25-28). Notre étude a mis en évidence que cette différence était en réalité seulement imputable à la MFI initiale, les anti-DQ étant connus pour présenter fréquemment des MFI plus élevées.

Nous avons également démontré la supériorité des IA par rapport aux EP en termes d'épuration des anticorps anti-HLA après 8 séances d'aphérèses. Avant notre travail, la seule étude publiée comparant les deux techniques d'aphérèse avait mis en évidence que la réduction de la MFI était supérieure après 1 séance d'IA par rapport à 3 séances d'EP (22). Notre étude, réalisée sur un échantillon de taille supérieure, confirme donc ces données préliminaires sur un protocole long, directement applicable en pratique clinique.

Cependant, l'étude du coût de revient a montré que, malgré la multiplication des séances, l'IA restait globalement une technique plus chère à mettre en place que l'EP. En effet, le budget alloué aux solutés de substitution en EP est contrebalancé par celui du kit Adasorb en IA, indispensable au fonctionnement des colonnes d'adsorptions. Cette constatation est en contradiction avec les données publiées par une équipe allemande au début des années 2000 (103). L'évolution des coûts et les différences entre les pays sont probablement à l'origine de cette discordance. Attention toutefois à bien mettre en balance ce surcoût des IA avec leur supériorité en termes d'épuration des anticorps anti-HLA. En effet, l'utilisation des IA pourrait entraîner une diminution du nombre de séances à réaliser, et donc mathématiquement, du coût de revient. Une prescription raisonnée et réfléchie des IA semble donc nécessaire.

Nous avons ensuite analysé les performances des EP et des IA en fonction de la MFI initiale, après 4 et 8 séances. Il n'y avait pas de différence significative entre les deux techniques pour l'épuration des anticorps anti-HLA avec une MFI < 3000. Pour les anticorps avec une MFI intermédiaire (entre 3000 et 6000), un protocole court d'aphérèse (4 séances) permettait d'obtenir un taux de succès d'épuration important sans différence entre les EP et les IA. En cas d'échec, la mesure de la MFI obtenue après 4 séances prédisait l'efficacité de la réalisation de 4 séances supplémentaires. Enfin, pour les anticorps avec une MFI élevée (> 6000), un protocole long (8 séances) était la plupart du temps nécessaire avec une nette supériorité des IA. C'est sur la base de ces observations que nous proposons l'algorithme de traitement exposé en Figure 4. Il permet de guider le clinicien dans le choix de la technique d'aphérèse, avec une prise en charge doublement personnalisée, à la fois sur la MFI initiale mais également sur la réponse précoce au traitement.

Néanmoins, notre travail ne permet pas de statuer sur l'intérêt d'une prolongation du protocole au-delà de 8 séances d'aphérèses. Pour les EP, nous pouvons déjà observer un net ralentissement de l'épuration après les 4 premières séances (diminution de 45% de la MFI après les 4 premières séances contre 19% au cours des 4 suivantes). Cette constatation, en accord avec plusieurs études antérieures, suggère une possible saturation des capacités d'épuration des EP et l'installation d'un état d'équilibre entre élimination et resynthèse des anticorps anti-HLA (117,119). Le gain d'une prolongation du protocole serait probablement très faible. A l'inverse, pour les IA, l'efficacité est



satisfaisante, aussi bien au cours des 4 premières séances qu'au cours des 4 suivantes (diminution de la MFI respectivement de 66% et de 45%). Morath *et al.* ont montré le succès d'une extension de protocole jusqu'à 22 séances pour des patients fortement immunisés (92). Ces arguments sous-tendent une probable efficacité d'une prolongation du protocole au-delà de 8 séances.

En cas d'inefficacité des EP pour épurer des anticorps de MFI faible ou intermédiaire, un switch vers les IA peut légitimement être proposé, devant leur capacité d'élimination supérieure. Cependant, aucune publication ne permet, à l'heure actuelle, d'appuyer cette hypothèse. Il est possible, dans la situation d'une vitesse de resynthèse accélérée des anticorps anti-HLA, que les IA soient également mises en échec. Des traitements additionnels déplaçant les IgG (IdeS) ou interférant au niveau de leur production (Velcade, Rituximab) pourraient alors être envisagés. De plus, l'utilisation, non pas d'une valeur unique de MFI pré-traitement comme dans notre travail, mais de la cinétique de la MFI de l'anticorps au cours des mois précédant le début du traitement, pourrait peut-être permettre de prédire ces situations d'échec d'épuration.

Par ailleurs, il est important de souligner que notre évaluation de la MFI post-traitement était relativement précoce (24-72h après la 8<sup>ème</sup> séance d'aphérèse). Nous assumons ce choix car il correspond au délai de prélèvement dans les études sur le rejet humoral soulignant l'impact pronostique de la MFI post-traitement sur la survie du greffon rénal (86). Il aurait cependant été intéressant de pouvoir étudier la cinétique de la MFI à moyen et long terme en fonction de la technique d'aphérèse utilisée. Cependant, notre cohorte n'était pas désignée pour cet objectif, du fait d'une grande hétérogénéité dans le nombre total de séance d'aphéreses réalisées (8 pour le traitement des rejets humoraux alors qu'il pouvait dépasser 20 pour les désimmunisations) et dans les traitements associés reçus par nos patients (Rituximab, Velcade, IgIV).

Le choix d'utiliser uniquement la MFI comme critère d'évaluation immunologique de l'efficacité des aphéreses peut également être discuté. En effet, bien que le SAG reste à l'heure actuelle le gold standard dans l'évaluation de la « force » d'un anticorps, d'autres paramètres semblent intéressants à étudier. Une étude récente a par exemple mis en évidence que la disparition de la capacité des anticorps anti-HLA à fixer le complément après traitement du rejet humoral était indépendamment associée à une augmentation de la survie du greffon rénal (87).

Enfin, notre étude ne permettait pas de comparer l'impact clinique de ces différents protocoles d'aphérèse. Dans la situation de désimmunisation pré-transplantation, la MFI est un marqueur fortement prédictif de la survenue des complications immunologiques à court terme (27). Mais dans la situation du rejet humoral, l'évolution immunologique n'est qu'un reflet partiel de l'efficacité du traitement. Il est maintenant admis que d'autres paramètres, comme la fonction rénale ou l'histologie, sont également des marqueurs pronostiques majeurs (87). Il est encore difficile à l'heure actuelle de s'affranchir d'une évaluation directe de la survie du greffon à moyen et long terme pour juger de l'efficacité réelle d'un traitement de rejet humoral. Ces données n'étaient malheureusement pas exploitables dans notre cohorte, du fait d'une grande hétérogénéité en termes d'indication de traitement, de longueur du protocole d'aphérèse et de traitements associés.

## VIII - Perspectives

L'algorithme élaboré à partir de ce travail va entraîner une modification du schéma de traitement du rejet humoral aigu dans l'unité de transplantation rénale du CHU de Bordeaux, en personnalisant la prescription des protocoles d'aphérèse en fonction de la MFI initiale du DSA immunodominant. Un suivi prospectif de son efficacité immunologique mais aussi histologique et clinique à court, moyen et long terme permettra de confirmer les résultats préliminaires observés et d'ajuster le protocole de soin en fonction des résultats observés à distance du traitement.

Pour les patients en échec d'épuration après 4 EP, un switch vers les IA pourrait être proposé. Le monitoring rapproché de la MFI confirmerait alors l'intérêt ou non d'une modification de la technique d'aphérèse et permettrait d'identifier les caractéristiques des anticorps anti-HLA de MFI intermédiaire résistant aux aphéreses.

Par ailleurs, notre cohorte pourrait être utilisée pour étudier l'évolution de la capacité des anticorps anti-HLA à se lier au complément après traitement par apherese. En effet, la persistance de DSA fixant le C1q après traitement du rejet humoral est, indépendamment de la MFI, fortement associée à la perte de greffon (87). L'efficacité des EP et des IA n'a jamais été comparée sur ce critère immunologique, qui apparaît de plus en plus pertinent à l'heure actuelle.

De plus, notre équipe a récemment adapté la résonance plasmonique de surface à l'étude des anticorps anti-DQ, rendant accessible la mesure de leur concentration active et de leur affinité (62,63). Il serait intéressant d'observer l'évolution de ces différentes caractéristiques après traitement par apherese, en comparant l'efficacité des EP et des IA. Nous pouvons formuler l'hypothèse d'une diminution de la concentration active plus importante en IA qu'en EP, sans modification de l'affinité. Cependant, actuellement, il n'y a pas encore de preuve de l'intérêt de ces mesures dans la prédiction de la pathogénicité des anticorps anti-HLA.

Enfin, nous pourrions également envisager d'étudier l'efficacité des IA au-delà de 8 séances pour les anticorps anti-HLA de forte MFI (> 12000). Pour se faire, il serait nécessaire d'homogénéiser les traitements associés et de s'affranchir au maximum d'une variation du taux de resynthèse des DSA. Les situations de désimmunisation pré-transplantation sont plus propices à cette évaluation que les rejets humoraux, où la stimulation antigénique pourrait modifier à moyen terme la cinétique d'élimination des DSA. Dans notre travail, l'end-point après 8 séances (environ 12 jours) permettait de s'en affranchir (demi-vie des IgG de 21 jours) ce qui ne serait probablement pas le cas sur un protocole étendu. Ce projet permettrait de mettre en évidence, s'il existe, le seuil de MFI au-delà duquel un échec d'épuration serait inéluctable, mais également de prédire le nombre de séances d'IA nécessaire pour atteindre l'objectif de MFI fixé en fonction de la MFI initiale.

# IX - Bibliographie

1. Dausset J. [Iso-leuko-antibodies]. *Acta Haematol.* 1958 Oct;20(1–4):156–66.
2. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med.* 2000 Sep 7;343(10):702–9.
3. Porrett PM. Biologic mechanisms and clinical consequences of pregnancy alloimmunization. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2018 May;18(5):1059–67.
4. Masson E, Vidal C, Deschamps M, Bongain S, Thevenin C, Dupont I, et al. Incidence and risk factors of anti-HLA immunization after pregnancy. *Hum Immunol.* 2013 Aug;74(8):946–51.
5. Hönger G, Fornaro I, Granado C, Tiercy J-M, Hösli I, Schaub S. Frequency and determinants of pregnancy-induced child-specific sensitization. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2013 Mar;13(3):746–53.
6. van Kampen CA, Versteeg-vd Voort Maarschalk MFJ, Langerak-Langerak J, Roelen DL, Claas FHJ. Kinetics of the pregnancy-induced humoral and cellular immune response against the paternal HLA class I antigens of the child. *Hum Immunol.* 2002 Jun;63(6):452–8.
7. Triulzi DJ, Kleinman S, Kakaiya RM, Busch MP, Norris PJ, Steele WR, et al. The effect of previous pregnancy and transfusion on HLA alloimmunization in blood donors: implications for a transfusion-related acute lung injury risk reduction strategy. *Transfusion (Paris).* 2009 Sep;49(9):1825–35.
8. Dutcher JP, Schiffer CA, Aisner J, Wiernik PH. Long-term follow-up patients with leukemia receiving platelet transfusions: identification of a large group of patients who do not become alloimmunized. *Blood.* 1981 Nov;58(5):1007–11.
9. Opelz G, Graver B, Mickey MR, Terasaki PI. Lymphocytotoxic antibody responses to transfusions in potential kidney transplant recipients. *Transplantation.* 1981 Sep;32(3):177–83.
10. Everett ET, Kao KJ, Scornik JC. Class I HLA molecules on human erythrocytes. Quantitation and transfusion effects. *Transplantation.* 1987 Jul;44(1):123–9.
11. Kao KJ, Cook DJ, Scornik JC. Quantitative analysis of platelet surface HLA by W6/32 anti-HLA monoclonal antibody. *Blood.* 1986 Sep;68(3):627–32.
12. Dzik S, Aubuchon J, Jeffries L, Kleinman S, Manno C, Murphy MF, et al. Leukocyte reduction of blood components: public policy and new technology. *Transfus Med Rev.* 2000 Jan;14(1):34–52.
13. Scornik JC, Pfaff WW, Howard RJ, Fennell RS, Ramos E, Peterson JC, et al. Increased antibody responsiveness to blood transfusions in pediatric patients. *Transplantation.* 1994 Dec 27;58(12):1361–5.
14. Karpinski M, Pochinco D, Dembinski I, Laidlaw W, Zacharias J, Nickerson P. Leukocyte reduction of red blood cell transfusions does not decrease allosensitization rates in potential kidney transplant candidates. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2004 Mar;15(3):818–24.

15. Kakaiya RM, Triulzi DJ, Wright DJ, Steele WR, Kleinman SH, Busch MP, et al. Prevalence of HLA antibodies in remotely transfused or alloexposed volunteer blood donors. *Transfusion (Paris)*. 2010 Jun;50(6):1328–34.
16. Reisner EG, Kostyu DD, Phillips G, Walker C, Dawson DV. Alloantibody responses in multiply transfused sickle cell patients. *Tissue Antigens*. 1987 Oct;30(4):161–6.
17. 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. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2012 May;12(5):1157–67.
18. Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, Ozawa M, Parker K, Briley KP, et al. Incidence and impact of de novo donor-specific alloantibody in primary renal allografts. *Transplantation*. 2013 Feb 15;95(3):410–7.
19. Smith JD, Banner NR, Hamour IM, Ozawa M, Goh A, Robinson D, et al. De novo donor HLA-specific antibodies after heart transplantation are an independent predictor of poor patient survival. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2011 Feb;11(2):312–9.
20. Safavi S, Robinson DR, Soresi S, Carby M, Smith JD. De novo donor HLA-specific antibodies predict development of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant*. 2014 Dec;33(12):1273–81.
21. Morrell MR, Pilewski JM, Gries CJ, Pipeling MR, Crespo MM, Ensor CR, et al. De novo donor-specific HLA antibodies are associated with early and high-grade bronchiolitis obliterans syndrome and death after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant*. 2014 Dec;33(12):1288–94.
22. Del Bello A, Congy-Jolivet N, Muscari F, Lavayssière L, Esposito L, Cardeau-Desangles I, et al. Prevalence, incidence and risk factors for donor-specific anti-HLA antibodies in maintenance liver transplant patients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2014 Apr;14(4):867–75.
23. Kaneku H, O’Leary JG, Banuelos N, Jennings LW, Susskind BM, Klintmalm GB, et al. De novo donor-specific HLA antibodies decrease patient and graft survival in liver transplant recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2013 Jun;13(6):1541–8.
24. Sellarés J, de Freitas DG, Mengel M, Reeve J, Einecke G, Sis B, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2012 Feb;12(2):388–99.
25. Del Bello A, Congy-Jolivet N, Sallusto F, Guilbeau-Frugier C, Cardeau-Desangles I, Fort M, et al. Donor-specific antibodies after ceasing immunosuppressive therapy, with or without an allograft nephrectomy. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2012 Aug;7(8):1310–9.
26. Augustine JJ, Woodside KJ, Padiyar A, Sanchez EQ, Hricik DE, Schulak JA. Independent of nephrectomy, weaning immunosuppression leads to late sensitization after kidney transplant failure. *Transplantation*. 2012 Oct 15;94(7):738–43.
27. Lefaucheur C, Loupy A, Hill GS, Andrade J, Nochy D, Antoine C, et al. Preexisting donor-specific HLA antibodies predict outcome in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2010 Aug;21(8):1398–406.

28. Smith JD, Hamour IM, Banner NR, Rose ML. C4d fixing, luminex binding antibodies - a new tool for prediction of graft failure after heart transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2007 Dec;7(12):2809–15.
29. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med.* 1969 Apr 3;280(14):735–9.
30. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int.* 1999 Feb;55(2):713–23.
31. Haas M, Loupy A, Lefaucheur C, Roufosse C, Glotz D, Seron D, et al. The Banff 2017 Kidney Meeting Report: Revised diagnostic criteria for chronic active T cell-mediated rejection, antibody-mediated rejection, and prospects for integrative endpoints for next-generation clinical trials. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2018;18(2):293–307.
32. Zhang Q, Reed EF. The importance of non-HLA antibodies in transplantation. *Nat Rev Nephrol.* 2016;12(8):484–95.
33. Delville M, Lamarthée B, Pagie S, See SB, Rabant M, Burger C, et al. Early Acute Microvascular Kidney Transplant Rejection in the Absence of Anti-HLA Antibodies Is Associated with Preformed IgG Antibodies against Diverse Glomerular Endothelial Cell Antigens. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2019 08;
34. Berry GJ, Burke MM, Andersen C, Bruneval P, Fedrigo M, Fishbein MC, et al. The 2013 International Society for Heart and Lung Transplantation Working Formulation for the standardization of nomenclature in the pathologic diagnosis of antibody-mediated rejection in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant.* 2013 Dec;32(12):1147–62.
35. Levine DJ, Glanville AR, Aboyou C, Belperio J, Benden C, Berry GJ, et al. Antibody-mediated rejection of the lung: A consensus report of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant.* 2016 Apr;35(4):397–406.
36. Drachenberg CB, Torrealba JR, Nankivell BJ, Rangel EB, Bajema IM, Kim DU, et al. Guidelines for the diagnosis of antibody-mediated rejection in pancreas allografts—updated Banff grading schema. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2011 Sep;11(9):1792–802.
37. Demetris AJ, Bellamy C, Hübscher SG, O’Leary J, Randhawa PS, Feng S, et al. 2016 Comprehensive Update of the Banff Working Group on Liver Allograft Pathology: Introduction of Antibody-Mediated Rejection. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2016;16(10):2816–35.
38. Loupy A, Lefaucheur C. Antibody-Mediated Rejection of Solid-Organ Allografts. *N Engl J Med.* 2018 20;379(12):1150–60.
39. Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, Lefaucheur C, Anglicheau D, Zuber J, et al. Outcome of subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2009 Nov;9(11):2561–70.

40. Loupy A, Hill GS, Jordan SC. The impact of donor-specific anti-HLA antibodies on late kidney allograft failure. *Nat Rev Nephrol.* 2012 Apr 17;8(6):348–57.
41. Murata K, Baldwin WM. Mechanisms of complement activation, C4d deposition, and their contribution to the pathogenesis of antibody-mediated rejection. *Transplant Rev Orlando Fla.* 2009 Jul;23(3):139–50.
42. Farkash EA, Colvin RB. Diagnostic challenges in chronic antibody-mediated rejection. *Nat Rev Nephrol.* 2012 Mar 27;8(5):255–7.
43. Hirohashi T, Uehara S, Chase CM, DellaPelle P, Madsen JC, Russell PS, et al. Complement independent antibody-mediated endarteritis and transplant arteriopathy in mice. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2010 Mar;10(3):510–7.
44. Halloran PF, Venner JM, Madill-Thomsen KS, Einecke G, Parkes MD, Hidalgo LG, et al. Review: The transcripts associated with organ allograft rejection. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2018 Apr;18(4):785–95.
45. Yazdani S, Callemeyn J, Gazut S, Lerut E, de Loor H, Wevers M, et al. Natural killer cell infiltration is discriminative for antibody-mediated rejection and predicts outcome after kidney transplantation. *Kidney Int.* 2019;95(1):188–98.
46. Zhang X, Reed EF. Effect of antibodies on endothelium. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2009 Nov;9(11):2459–65.
47. 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.
48. M K Haarberg K, Tambur A. Detection of donor-specific antibodies in kidney transplantation. Vol. 110. 2014.
49. Gloor JM, Winters JL, Cornell LD, Fix LA, DeGoey SR, Knauer RM, et al. Baseline donor-specific antibody levels and outcomes in positive crossmatch kidney transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2010 Mar;10(3):582–9.
50. Kannabhiran D, Lee J, Schwartz JE, Friedlander R, Aull M, Muthukumar T, et al. Characteristics of Circulating Donor Human Leukocyte Antigen-specific Immunoglobulin G Antibodies Predictive of Acute Antibody-mediated Rejection and Kidney Allograft Failure. *Transplantation.* 2015 Jun;99(6):1156–64.
51. Visentin J, Bachelet T, Borg C, Franchini N, Nong T, Lee J-H, et al. Reassessment of T Lymphocytes Crossmatches Results Prediction With Luminex Class I Single Antigen Flow Beads Assay. *Transplantation.* 2017;101(3):624–30.
52. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, Pochinco D, Birk PE, Ho J, et al. Rates and determinants of progression to graft failure in kidney allograft recipients with de novo donor-specific antibody. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2015 Nov;15(11):2921–30.
53. O’Leary JG, Kaneku H, Susskind BM, Jennings LW, Neri MA, Davis GL, et al. High mean fluorescence intensity donor-specific anti-HLA antibodies associated with chronic rejection Postliver transplant. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2011 Sep;11(9):1868–76.

54. Mizutani K, Terasaki P, Hamdani E, Esquenazi V, Rosen A, Miller J, et al. The importance of anti-HLA-specific antibody strength in monitoring kidney transplant patients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2007 Apr;7(4):1027–31.
55. Lefaucheur C, Nochy D, Andrade J, Verine J, Gautreau C, Charron D, et al. Comparison of combination Plasmapheresis/IVIg/anti-CD20 versus high-dose IVIg in the treatment of antibody-mediated rejection. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2009 May;9(5):1099–107.
56. Visentin J, Vigata M, Daburon S, Contin-Bordes C, Fremeaux-Bacchi V, Dromer C, et al. Deciphering complement interference in anti-human leukocyte antigen antibody detection with flow beads assays. *Transplantation*. 2014 Sep 27;98(6):625–31.
57. Guidicelli G, Visentin J, Franchini N, Borg C, Merville P, Couzi L, et al. Prevalence, distribution and amplitude of the complement interference phenomenon in single antigen flow beads assays. *HLA*. 2018 Jun;91(6):507–13.
58. Schnaidt M, Weinstock C, Jurisic M, Schmid-Horch B, Ender A, Wernet D. HLA antibody specification using single-antigen beads--a technical solution for the prozone effect. *Transplantation*. 2011 Sep 15;92(5):510–5.
59. Jacob EK, De Goey SR, Gandhi MJ. Positive virtual crossmatch with negative flow crossmatch results in two cases. *Transpl Immunol*. 2011 Jul;25(1):77–81.
60. Visentin J, Marroc M, Guidicelli G, Bachelet T, Nong T, Moreau J-F, et al. Clinical impact of preformed donor-specific denatured class I HLA antibodies after kidney transplantation. *Clin Transplant*. 2015 May;29(5):393–402.
61. Visentin J, Guidicelli G, Moreau J-F, Lee J-H, Taupin J-L. Deciphering allogeneic antibody response against native and denatured HLA epitopes in organ transplantation. *Eur J Immunol*. 2015 Jul;45(7):2111–21.
62. Visentin J, Minder L, Lee J-H, Taupin J-L, Di Primo C. Calibration free concentration analysis by surface plasmon resonance in a capture mode. *Talanta*. 2016 Feb 1;148:478–85.
63. Visentin J, Couzi L, Dromer C, Neau-Cransac M, Guidicelli G, Veniard V, et al. Overcoming non-specific binding to measure the active concentration and kinetics of serum anti-HLA antibodies by surface plasmon resonance. *Biosens Bioelectron*. 2018 Oct 15;117:191–200.
64. Visentin J, Leu DL, Mulder A, Jambon F, Badier L, Lee J-H, et al. Measuring anti-HLA antibody active concentration and affinity by surface plasmon resonance: Comparison with the luminex single antigen flow beads and T-cell flow cytometry crossmatch results. *Mol Immunol*. 2019;108:34–44.
65. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, Prugger C, Duong van Huyen J-P, Mooney N, et al. Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival. *N Engl J Med*. 2013 Sep 26;369(13):1215–26.
66. Wahrmann M, Bartel G, Exner M, Regele H, Körmöczi GF, Fischer GF, et al. Clinical relevance of preformed C4d-fixing and non-C4d-fixing HLA single antigen reactivity in renal allograft recipients. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2009 Oct;22(10):982–9.

67. 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 JASN*. 2015 Feb;26(2):457–67.
68. Yell M, Muth BL, Kaufman DB, Djamali A, Ellis TM. C1q Binding Activity of De Novo Donor-specific HLA Antibodies in Renal Transplant Recipients With and Without Antibody-mediated Rejection. *Transplantation*. 2015 Jun;99(6):1151–5.
69. Lan JH, Tinckam K. Clinical Utility of Complement Dependent Assays in Kidney Transplantation. *Transplantation*. 2018;102(15 Suppl 1):S14–22.
70. Sullivan HC, Gebel HM, Bray RA. Understanding solid-phase HLA antibody assays and the value of MFI. *Hum Immunol*. 2017 Aug;78(7–8):471–80.
71. O’Leary JG, Kaneku H, Banuelos N, Jennings LW, Klintmalm GB, Terasaki PI. Impact of IgG3 subclass and C1q-fixing donor-specific HLA alloantibodies on rejection and survival in liver transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2015 Apr;15(4):1003–13.
72. Lefaucheur C, Viglietti D, Bentlejewski C, Duong van Huyen J-P, Vernerey D, Aubert O, et al. IgG Donor-Specific Anti-Human HLA Antibody Subclasses and Kidney Allograft Antibody-Mediated Injury. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2016 Jan;27(1):293–304.
73. McCalmon R, Tardif G, Sheehan M, Fitting K, Kortz W, Kam I. IgM antibodies in renal transplantation. *Clin Transplant*. 1997 Dec 1;11(6):558–64.
74. Bryan CF, Martinez J, Muruve N, Nelson PW, Pierce GE, Ross G, et al. IgM antibodies identified by a DTT-ameliorated positive crossmatch do not influence renal graft outcome but the strength of the IgM lymphocytotoxicity is associated with DR phenotype. *Clin Transplant*. 2001;15 Suppl 6:28–35.
75. Kerman RH, Susskind B, Buyse I, Pryzbylowski P, Ruth J, Warnell S, et al. Flow cytometry-detected IgG is not a contraindication to renal transplantation: IgM may be beneficial to outcome. *Transplantation*. 1999 Dec 27;68(12):1855–8.
76. Stastny P, Ring S, Lu C, Arenas J, Han M, Lavingia B. Role of immunoglobulin (Ig)-G and IgM antibodies against donor human leukocyte antigens in organ transplant recipients. *Hum Immunol*. 2009 Aug;70(8):600–4.
77. Babu A, Andreou A, Briggs D, Krishnan N, Higgins R, Mitchell D, et al. Clinical Relevance of Donor-Specific IgM Antibodies in HLA Incompatible Renal Transplantation: A Retrospective Single-Center Study. *Clin Transpl*. 2016;32:173–9.
78. Koka P, Chia D, Terasaki PI, Chan H, Chia J, Ozawa M, et al. The role of IgA anti-HLA class I antibodies in kidney transplant survival. *Transplantation*. 1993 Jul;56(1):207–11.
79. Kerman RH, Susskind B, Buelow R, Regan J, Pouletty P, Williams J, et al. Correlation of ELISA-detected IgG and IgA anti-HLA antibodies in pretransplant sera with renal allograft rejection. *Transplantation*. 1996 Jul 27;62(2):201–5.
80. Arnold M-L, Bach C, Heinemann FM, Horn PA, Ziemann M, Lachmann N, et al. Anti-HLA alloantibodies of the IgA isotype in re-transplant candidates part II: Correlation with graft survival. *Int J Immunogenet*. 2018 Jun;45(3):95–101.



81. Archdeacon P, Chan M, Neuland C, Velidedeoglu E, Meyer J, Tracy L, et al. Summary of FDA antibody-mediated rejection workshop. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2011 May;11(5):896–906.
82. Wan SS, Ying TD, Wyburn K, Roberts DM, Wyld M, Chadban SJ. The Treatment of Antibody-Mediated Rejection in Kidney Transplantation: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Transplantation*. 2018;102(4):557–68.
83. Böhmig GA, Wahrmann M, Regele H, Exner M, Robl B, Derfler K, et al. Immunoabsorption in severe C4d-positive acute kidney allograft rejection: a randomized controlled trial. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2007 Jan;7(1):117–21.
84. Böhmig GA, Regele H, Exner M, Derhartunian V, Kletzmayer J, Säemann MD, et al. C4d-positive acute humoral renal allograft rejection: effective treatment by immunoabsorption. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2001 Nov;12(11):2482–9.
85. Viglietti D, Loupy A, Aubert O, Bestard O, Van Huyen J-PD, Taupin J-L, et al. Dynamic Prognostic Score to Predict Kidney Allograft Survival in Patients with Antibody-Mediated Rejection. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2018 Feb;29(2):606–19.
86. Everly MJ, Everly JJ, Arend LJ, Brailey P, Susskind B, Govil A, et al. Reducing de novo donor-specific antibody levels during acute rejection diminishes renal allograft loss. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2009 May;9(5):1063–71.
87. Viglietti D, Bouatou Y, Kheav VD, Aubert O, Suberbielle-Boissel C, Glotz D, et al. Complement-binding anti-HLA antibodies are independent predictors of response to treatment in kidney recipients with antibody-mediated rejection. *Kidney Int*. 2018;94(4):773–87.
88. Sethi S, Choi J, Toyoda M, Vo A, Peng A, Jordan SC. Desensitization: Overcoming the Immunologic Barriers to Transplantation. *J Immunol Res*. 2017;2017:6804678.
89. Abu Jawdeh BG, Cuffy MC, Alloway RR, Shields AR, Woodle ES. Desensitization in kidney transplantation: review and future perspectives. *Clin Transplant*. 2014 Apr;28(4):494–507.
90. Bartel G, Wahrmann M, Regele H, Kikić Z, Fischer G, Druml W, et al. Peritransplant immunoabsorption for positive crossmatch deceased donor kidney transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2010 Sep;10(9):2033–42.
91. Rostaing L, Congy N, Aarnink A, Maggioni S, Allal A, Sallusto F, et al. Efficacy of immunoabsorption to reduce donor-specific alloantibodies in kidney-transplant candidates. *Exp Clin Transplant Off J Middle East Soc Organ Transplant*. 2015 Apr;13 Suppl 1:201–6.
92. Morath C, Beimler J, Opelz G, Scherer S, Schmidt J, Macher-Goeppinger S, et al. Living donor kidney transplantation in crossmatch-positive patients enabled by peritransplant immunoabsorption and anti-CD20 therapy. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2012 May;25(5):506–17.
93. Orandi BJ, Garonzik-Wang JM, Massie AB, Zachary AA, Montgomery JR, Van Arendonk KJ, et al. Quantifying the risk of incompatible kidney transplantation: a multicenter study. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2014 Jul;14(7):1573–80.

94. Higgins R, Lowe D, Hathaway M, Williams C, Lam FT, Kashi H, et al. Human leukocyte antigen antibody-incompatible renal transplantation: excellent medium-term outcomes with negative cytotoxic crossmatch. *Transplantation*. 2011 Oct 27;92(8):900–6.
95. Mujtaba MA, Goggins W, Lobashevsky A, Sharfuddin AA, Yaqub MS, Mishler DP, et al. The strength of donor-specific antibody is a more reliable predictor of antibody-mediated rejection than flow cytometry crossmatch analysis in desensitized kidney recipients. *Clin Transplant*. 2011 Feb;25(1):E96-102.
96. Vo AA, Sinha A, Haas M, Choi J, Mirocha J, Kahwaji J, et al. Factors Predicting Risk for Antibody-mediated Rejection and Graft Loss in Highly Human Leukocyte Antigen Sensitized Patients Transplanted After Desensitization. *Transplantation*. 2015 Jul;99(7):1423–30.
97. Tydén G, Kumlien G, Efvergren M. Present techniques for antibody removal. *Transplantation*. 2007 Dec 27;84(12 Suppl):S27-29.
98. Ward DM. Conventional apheresis therapies: a review. *J Clin Apheresis*. 2011;26(5):230–8.
99. Kaplan AA. Therapeutic plasma exchange: a technical and operational review. *J Clin Apheresis*. 2013 Feb;28(1):3–10.
100. Reeves HM, Winters JL. The mechanisms of action of plasma exchange. *Br J Haematol*. 2014 Feb;164(3):342–51.
101. Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, Blanchette VS, Kelton JG, Nair RC, et al. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med*. 1991 Aug 8;325(6):393–7.
102. Schwartz J, Padmanabhan A, Aqui N, Balogun RA, Connelly-Smith L, Delaney M, et al. Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice-Evidence-Based Approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: The Seventh Special Issue. *J Clin Apheresis*. 2016 Jun;31(3):149–62.
103. Braun N, Bosch T. Immunoabsorption, current status and future developments. *Expert Opin Investig Drugs*. 2000 Sep;9(9):2017–38.
104. Braun N, Risler T. Immunoabsorption as a tool for the immunomodulation of the humoral and cellular immune system in autoimmune disease. *Ther Apher Off J Int Soc Apher Jpn Soc Apher*. 1999 Aug;3(3):240–5.
105. Rönspäck W, Brinckmann R, Egner R, Gebauer F, Winkler D, Jekow P, et al. Peptide based adsorbers for therapeutic immunoabsorption. *Ther Apher Dial Off Peer-Rev J Int Soc Apher Jpn Soc Apher Jpn Soc Dial Ther*. 2003 Feb;7(1):91–7.
106. Williams ME, Balogun RA. Principles of separation: indications and therapeutic targets for plasma exchange. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2014 Jan;9(1):181–90.
107. Nicuolo A di, Braun N, Risler T. Technical basis for immunoabsorption. *EDTNA-ERCA J*. 2000;26(3):20–6.
108. Gjørstrup P, Watt RM. Therapeutic protein A immunoabsorption. A review. *Transfus Sci*. 1990 Jan 1;11(3):281–302.

109. Kaplan AA, Halley SE. Plasma exchange with a rotating filter. *Kidney Int.* 1990 Jul;38(1):160–6.
110. Belàk M, Borberg H, Jimenez C, Oette K. Technical and clinical experience with protein A immunoabsorption columns. *Transfus Sci.* 1994 Dec;15(4):419–22.
111. Biesenbach P, Schmaldienst S, Smolen JS, Hörl WH, Derfler K, Stummvoll GH. Immunoabsorption in SLE: three different high affinity columns are adequately effective in removing autoantibodies and controlling disease activity. *Atheroscler Suppl.* 2009 Dec 29;10(5):114–21.
112. Kaplan AA. A simple and accurate method for prescribing plasma exchange. *ASAIO Trans.* 1990 Sep;36(3):M597-599.
113. Hakim RM, Milford E, Himmelfarb J, Wingard R, Lazarus JM, Watt RM. Extracorporeal removal of anti-HLA antibodies in transplant candidates. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1990 Nov;16(5):423–31.
114. Maillard N, Absi L, Claisse G, Masson I, Alamartine E, Mariat C. Protein A-Based Immunoabsorption Is More Efficient Than Conventional Plasma Exchange to Remove Circulating Anti-HLA Antibodies. *Blood Purif.* 2015;40(2):167–72.
115. Velidedeoglu E, Cavallé-Coll MW, Bala S, Belen OA, Wang Y, Albrecht R. Summary of 2017 FDA Public Workshop: Antibody-mediated Rejection in Kidney Transplantation. *Transplantation.* 2018;102(6):e257–64.
116. Khuu T, Cadeiras M, Wisniewski N, Reed EF, Deng MC. Reduced HLA Class II antibody response to proteasome inhibition in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant Off Publ Int Soc Heart Transplant.* 2015 Jun;34(6):863–5.
117. Yamada C, Ramon DS, Cascalho M, Sung RS, Leichtman AB, Samaniego M, et al. Efficacy of plasmapheresis on donor-specific antibody reduction by HLA specificity in post-kidney transplant recipients. *Transfusion (Paris).* 2015 Apr;55(4):727–35; quiz 726.
118. Zachary AA, Montgomery RA, Leffell MS. Factors associated with and predictive of persistence of donor-specific antibody after treatment with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin. *Hum Immunol.* 2005 Apr;66(4):364–70.
119. Pinelli DF, Zachary AA, Friedewald JJ, Gjertson DW, Evans MA, Chatroop EN, et al. Prognostic tools to assess candidacy for and efficacy of antibody-removal therapy. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2018 Jul 7;
120. Shemin D, Briggs D, Greenan M. Complications of therapeutic plasma exchange: a prospective study of 1,727 procedures. *J Clin Apheresis.* 2007;22(5):270–6.
121. Cid J, Carbassé G, Andreu B, Baltanás A, Garcia-Carulla A, Lozano M. Efficacy and safety of plasma exchange: an 11-year single-center experience of 2730 procedures in 317 patients. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis.* 2014 Oct;51(2):209–14.
122. Kaplan A. Complications of apheresis. *Semin Dial.* 2012 Apr;25(2):152–8.

# Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer leurs consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses : que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque.

## EPURATION DES ANTICORPS ANTI-HLA PAR ECHANGES PLASMATIQUES ET IMMUNOADSORPTIONS

Les aphérèses sont fréquemment utilisées en transplantation d'organes pour l'épuration des anticorps anti-HLA. Cependant, le choix de la technique d'aphérèse [échange plasmatique (EP) ou immunoadsorption semi-sélective (IA)] et le nombre de séances nécessaire pour atteindre l'objectif fixé sont actuellement inconnus. Notre travail incluait 43 patients traités sur le CHU de Bordeaux par EP (n=29) ou IA (n=14) pour une désimmunisation pré-transplantation ou un rejet humoral. Nous avons comparé l'évolution de la MFI (*mean fluorescence intensity*) des 1416 billes positives détectées dans le sérum de ces patients après 4 et 8 séances d'aphérèses. L'utilisation des IA et la MFI initiale étaient indépendamment associées au pourcentage de succès d'épuration après 8 séances (défini par une MFI post-aphérèse > 2000), au contraire de la classe des anticorps anti-HLA et de l'indication du traitement. Pour les anticorps avec une MFI < 6000, 4 séances permettaient d'obtenir des résultats satisfaisant quelque que soit la méthode utilisée. Pour les anticorps avec une MFI ≥ 6000, la réduction de la MFI était plus importante avec les IA, malgré un taux de succès d'épuration relativement faible après 4 séances. De manière globale, pour les anticorps anti-HLA n'obtenant pas une épuration satisfaisante après les 4 premières séances, la MFI résiduelle prédisait l'efficacité de 4 séances supplémentaires, souvent faible avec les EP au contraire des IA. Sur le plan de la tolérance, nous n'avons pas observé de différence entre les deux techniques d'aphérèse, hormis la survenue plus fréquente d'hypotension avec les EP. Enfin, les IA représentaient un coût plus élevé que les EP, quel que soit le nombre de séances réalisées. A la lumière de ces résultats, nous proposons un algorithme décisionnel permettant de guider les cliniciens dans le choix de la technique d'aphérèse et dans le nombre de séances à réaliser en fonction de la MFI des anticorps anti-HLA.

## REMOVAL OF ANTI-HLA ANTIBODIES WITH PLASMAPHERESIS AND IMMUNOADSORPTION

In organ transplantation, apheresis are frequently used for anti-HLA antibodies removal. However, whether plasmapheresis (PP) or semi-selective immunoadsorption (IA) should be used, and the optimal number of apheresis sessions required to reach post-treatment objectives, are still unknown. We enrolled 43 patients from Bordeaux University Hospital who were treated with PP (n=29) or IA (n=14) for antibody-mediated rejection or pre-transplant desensitization. We compared, with Single Antigen Luminex, the initial mean fluorescence intensity (MFI) of the corresponding 1416 positive beads with those obtained after 4 or 8 apheresis sessions. IA treatment and initial MFI were independently associated with success of removal after 8 sessions (MFI post-treatment < 2000) as opposed to anti-HLA antibodies class and regardless of treatment indication. For antibodies with a MFI < 6000, the efficacy was high after 4 sessions, without difference between IA and PP. For those with a MFI ≥ 6000, MFI reduction was better with IA, with a relatively low rate of removal success after 4 sessions. For anti-HLA antibodies not undergoing satisfactory removal after the first 4 apheresis sessions, the residual MFI predicted the effectiveness of 4 additional sessions, often low with PP while good with IA. In addition, the tolerance of the two techniques was similar, except for the occurrence of hypotension, more frequent with PP. Finally, IA were more expensive than PP whatever the number of sessions performed. These findings enable to propose a decisional algorithm guiding the choice of apheresis technique and the number of sessions to be performed depending on anti-HLA antibodies MFI.

**MOTS CLES :** anticorps anti-HLA, aphérèse, immunoadsorption, échange plasmatique, transplantation d'organes, désimmunisation pré-transplantation, rejet humoral

**KEYWORDS:** anti-HLA antibodies, apheresis, immunoadsorption, plasmapheresis, organ transplantation, pre-transplant desensitization, antibody-mediated rejection

Discipline : MEDECINE – TRANSPLANTATION D'ORGANE / IMMUNOLOGIE

UFR des sciences médicales – Université de Bordeaux – 146 rue Léo Saignat 33076 Bordeaux Cedex