

1. Test de la lymphocytotoxicité se base sur la diversité de système CMH ce dernier détermine la compatibilité entre donneur et receveur dans le cadre de greffes. Le CMH est caractérisé par son extrême diversité (gènes les plus polymorphes de l'espèce humaine), il est présent sur les leucocytes appelés HLA pour Human Leucocyte Antigen chez les humains, ce polymorphisme conduit à une variabilité interindividuelle très importante.

Le test de lymphocytotoxicité consiste, dans un premier temps, à incuber les lymphocytes avec le sérum inactivé du malade, puis à ajouter le complément. La mort cellulaire sera évaluée par le dosage du bleu de tryptan dans le milieu, colorant qui ne pénètre que dans les cellules mortes.

2. Test de micro-lymphocytotoxicité :

La recherche et l'identification des anticorps anti-HLA (Human Leukocyte Antigen) sont au coeur de la prise en charge de la réponse immunitaire humorale en transplantation d'organes. La source d'antigènes HLA la plus accessible, la plus évidente et la plus fiable pour la réalisation de ces examens est représentée par les cellules exprimant naturellement le HLA. Les lymphocytes T, qui expriment la classe I, et les lymphocytes B, qui expriment en plus la classe II, sont le plus facilement accessibles et sont donc utilisés en routine.

Pour déterminer la spécificité des anticorps Anti-HLA on incube des antigènes HLA de spécificité connue en présence de complément avec le sérum d'un sujet à étudier. Après l'addition du sérum, il se produit, en cas de concordance des spécificités de l'antigène HLA et des anticorps HLA, une lyse des lymphocytes par l'activation de la cascade, celle-ci est rendue visible à l'aide d'un colorant

Le nombre de lymphocytes lysés ou non sont évalués à l'aide d'un microscope à contraste de phase inverse ou à l'aide d'un microscope à fluorescence inverse

3. Lymphocytotoxicité Dépendante du Complément La LCT : est une technique qui consiste à mettre le sérum à tester en présence de lymphocytes B et T allogéniques d'haplotype connu, et de complément de lapin. On évalue ensuite la mortalité cellulaire causée par les alloanticorps présents dans le sérum en ajoutant un « colorant vital ».

Si la lyse cellulaire est supérieure à 20%, le test est positif. Cette technique met donc en évidence des anticorps fixant le complément. Lorsque les anticorps sont des IgM (et non des IgG) la réaction est rendue négative par le Dithiothreitol (DTT), qui rompt les ponts disulfure entre les 5 immunoglobulines composant les IgM. De plus, la distinction entre anticorps de classe I et/ou II est possible par une adsorption des sérums sur pool de plaquettes, ce qui permet d'éliminer les anticorps de classe I.

Elle peut également se faire, lorsque les deux types de lymphocytes sont disponibles, en comparant les résultats des tests faits séparément sur les lymphocytes T – qui n'expriment que les molécules HLA de classe I – et les lymphocytes B qui expriment les molécules de classe I et II. Cette méthode est utilisée dans 2 situations en transplantation d'organe.

Tout d'abord elle permet la réalisation du test canonique du crossmatch de cytométrie (« complement dependent cell-cytotoxicity crossmatch » ou CDCXM). Le crossmatch consiste à effectuer juste avant la transplantation un test de LCT entre les lymphocytes provenant de ganglions et/ou de la rate du donneur, et un ou plusieurs sérums prélevés au cours du suivi pré-transplantation du receveur. La signification péjorative d'un crossmatch positif en transplantation rénale a été décrite, un crossmatch positif est une contre-indication à la greffe en raison du risque de rejet hyperaigu. De fait, en 40 respectant cette contre-indication, la fréquence du rejet hyperaigu liée aux anticorps anti-HLA préformés a été considérablement réduite en transplantation rénale.

Par ailleurs, la technique de LCT est utilisée au cours de l'évaluation pré-greffe dans le but d'évaluer le « Panel Reactive Antibody (PRA) » d'un patient, c'est-à-dire le pourcentage de réactivité vis-à-vis d'une série de lymphocytes provenant d'au moins trente donneurs différents.