

Offre de stage de master

ACVe – Protocole médical

Université de Bordeaux



Bordeaux



Stage de Master 1 & 2



6 mois de Janvier à juin 2027 (possibilités d'ajustement)



Envoyez CV et lettre de motivation à :

nicolas.berger@u-bordeaux.fr

marine.cargou@chu-bordeaux.fr

Mots clés : *Analyse de cycle de vie environnementale, Biologie médicale, Crossmatch cellulaire, master 1, master 2*

Contexte du projet

La transplantation rénale est le traitement le plus efficace de l'insuffisance rénale terminale, mais elle reste fortement contrainte par des enjeux immunologiques et organisationnels. Le crossmatch (XM) cellulaire évalue la compatibilité immunologique HLA entre le donneur et le receveur.

Le XM cellulaire est historiquement réalisé juste avant la transplantation. Ceci représente un frein organisationnel majeur, prolongeant la durée d'ischémie froide du greffon et mobilisant des ressources humaines et matérielles importantes, souvent en dehors des heures ouvrables. L'évolution récente des techniques de typage HLA et de détection des anticorps anti-HLA a fiabilisé le XM virtuel. Le XM virtuel consiste à identifier des anticorps anti-HLA dirigés contre le donneur (DSA) sur la base du suivi sérologique du receveur. Il offre un niveau de sécurité immunologique élevé et permet de prédire le risque de rejet sans attendre le résultat du XM cellulaire. Les recommandations de la Société Francophone d'Histocompatibilité et d'Immunogénétique (SFHI) proposent même d'omettre le XM cellulaire chez les receveurs dits à « risque immunologique maîtrisé », sur la base de données rétrospectives montrant une sécurité satisfaisante avec un niveau de preuve faible.

Cette étude s'inscrit dans une étude nationale pour démontrer qu'une stratégie de greffe avec omission de XM cellulaire est aussi sécuritaire qu'une stratégie basée sur le XM cellulaire en cytométrie en flux. Elle permettra en parallèle d'évaluer les co-bénéfices écologiques de l'omission de XM via la méthodologie de l'ACV environnemental. Un volet organisationnel et économique pourra être également ajouté.

Afin d'apporter des précisions sur les techniques voici une description ci-dessous.

1) Le principe du crossmatch cellulaire en cytométrie en flux

Le crossmatch cellulaire a pour objectif de déceler chez un ou plusieurs receveurs potentiels d'un greffon, la présence d'anticorps dirigés contre les lymphocytes T et/ou B du donneur.

Les cellules du donneur sont issues d'un ganglion, d'un fragment de rate ou du sang (dans le cas d'un donneur vivant notamment), et les sérums du receveur sont des sérums récents et/ou historiques, car l'immunisation contre les antigènes tissulaires du donneur peut avoir existé dans le passé, mais avoir disparu ensuite. Cela ne signifie pas qu'il n'y ait plus de risque immunologique, puisque les lymphocytes B qui produisaient ces anticorps sont dotés d'une mémoire et pourraient être réactivés rapidement après la transplantation.

Le crossmatch cellulaire peut être réalisé avec différentes techniques, dont la cytométrie en flux.

Le principe est la mise en contact des cellules mononuclées du donneur (essentiellement des lymphocytes T et B) avec un ou plusieurs sérums du receveur. Après incubation pour permettre la fixation de ces éventuels anticorps aux cellules, et lavage pour éliminer les constituants du sérum non fixés, on incube les cellules avec des anticorps fluorescents permettant d'identifier les leucocytes (CD45), et parmi eux de distinguer les lymphocytes T (CD3) et les lymphocytes B (CD19). On ajoute aussi un anticorps anti-IgG humaine ou anti-IgM humaine, pour révéler la fixation des anticorps anti-donneur. Cette combinaison de 4 marqueurs de 4 couleurs différentes permet d'identifier une immunisation IgG ou IgM anti-LyT ou -LyB. Un témoin négatif et un témoin positif sont ajoutés au test pour permettre de le valider.

Ce test dure en moyenne 4h.

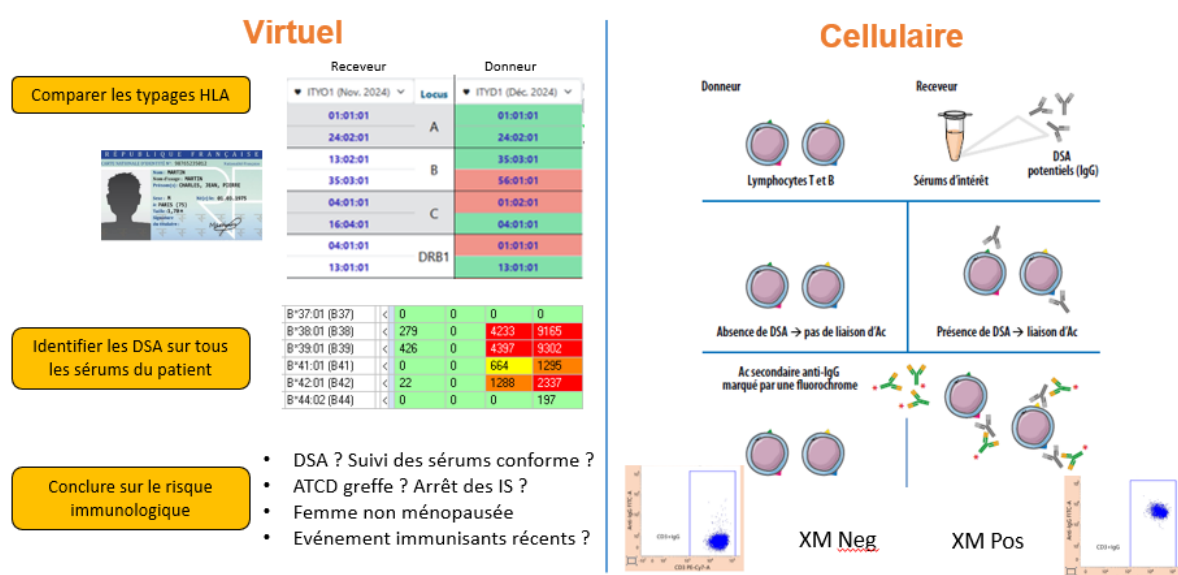


Figure 1 : Comparaison des techniques du crossmatch virtuel et du crossmatch cellulaire.

2) Le principe de la recherche d'anticorps anti-HLA en urgence ou « Single Antigen »

La technologie Luminex utilise des microbilles synthétiques contenant deux fluorochromes stimulés par le même rayon lumineux (laser à 635 nm), mais de longueurs d'onde d'émission différentes. Il est possible de créer plusieurs types de billes en faisant varier la proportion respective des deux fluorochromes. Chaque espèce de bille est présente en plusieurs centaines d'exemplaires, et toutes les billes sont mélangées au sein d'une même suspension. Il est actuellement possible d'utiliser 100 types de billes différents en même temps.

Les kits « single antigen » présentent des billes sur lesquelles un seul antigène HLA est fixé sur un type de bille précis. Cela permet d'identifier avec précision la spécificité des anticorps anti-HLA présente dans le sérum des patients.

Les sérums à tester sont prétraités à l'EDTA de façon à éviter le phénomène d'interférence lié à l'activation du complément. En effet, pour les échantillons contenant des anticorps en quantité élevée, l'activation de la voie classique du complément empêche l'accès du conjugué anti-IgG aux anticorps anti-HLA, se traduisant par une inhibition du signal mesuré, d'autant plus importante, et même jusqu'à négativation, que la quantité de l'anticorps est élevée. L'EDTA dissocie le complexe C1, premier intervenant de la voie classique du complément, et donc neutralise ce phénomène.

L'échantillon traité à l'EDTA est incubé avec les billes, fournies sous la forme d'un mélange unique pour la classe I et d'un mélange unique pour la classe II. L'éventuelle fixation d'anticorps du sérum à tester aux billes est détectée après lavage, par incubation avec un conjugué anti-IgG humaines couplé à la phycoérythrine.

Après lavage, la suspension de billes est analysée avec un cytomètre en flux dédié à cette technique, l'appareil Luminex. Les populations de billes sont révélées et identifiées selon leur propre fluorescence. La fixation d'anticorps sur les billes est mise en évidence avec le second laser (532 nm) qui stimule la phycoérythrine. Chaque nuage de billes est constitué de billes identiques donc recouvertes de la même molécule HLA, celle-ci étant connue par ailleurs. Il est donc facile de relier la présence d'anticorps anti-HLA au phénotype des billes.

Objectifs du stage

Les objectifs du stage seront de

- 1) Réaliser une analyse de cycle de vie environnementale du crossmatch cellulaire selon la méthode de l'environnemental footprint et les normes ISO14040/14044.
- 2) Réaliser une analyse de cycle de vie environnementale de la recherche d'anticorps anti-HLA en urgence selon la méthode de l'environnemental footprint et les normes ISO14040/14044. Cette technique permet de remplacer le crossmatch cellulaire.
- 3) Une étude comparative économique et organisationnelle.

Postes et missions

Environnement technique

Environnement :

- Windows
- Simapro 10.3
- Ecoinvent 3.12

Compétences recherchées

- Formation de niveau Master 1 ou 2 en ingénierie, chimie (ACV étudiée en cours)
- intérêt pour la biologie médicale
- capacité d'adaptation et d'autonomie ;
- rigueur dans la documentation;
- bonnes capacités de communication et de travail en équipe ;

Environnement de travail

La personne recrutée sera accueillie au sein de l'équipe de biologie médicale. Le travail se fera à distance du site de biologie médical pour travailler sur le logiciel ACV au sein du département SGM de l'IUT de Bordeaux.