

COMPARAISON DE L'INTENSITE DE L'ANTI-RH1 SUR NEO®(IMMUCOR) AVEC LA TECHNIQUE EN GEL PAR MICROTITRAGE: UNE APPROCHE SEMI QUANTITATIVE AUTOMATISEE POUR DETERMINER L' ORIGINE DE L' ANTI- RH1.

Hélène Delaby, Stéphanie Huguette-Jacquot, Annick Montillet, Véronique Zerr, Cécile Toly-Ndour, Agnès Mailloux

Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale (CNRHP), Pôle de biologie médicale et pathologie, Hôpitaux de l'Est Parisien, AP-HP, Paris

Contexte

En 2005, le CNGOF a publié des recommandations pour l'injection systématique d'IgRH chez la patiente enceinte RH:-1 à 28 SA ce qui a causé une augmentation considérable du nombre de RAI positive au cours du 3ème trimestre de la grossesse et à l'accouchement. Lors de l'identification d'un anti-RH1, il est devenu essentiel de déterminer sa nature : passive résiduelle (post-injection d'IgRH) ou immune. Seule la détermination de la concentration en anticorps permet de répondre à cette question. Au CNRHP la technique de microtitrage est utilisée .

Objectif

Déterminer si l'étude du signal de la capture ID sur automate Néo Immucor permettait une approche de la concentration en anti-RH1 et si elle pouvait se substituer au microtitrage.

Matériel et méthode

Une identification d'agglutinines irrégulières sur le sérum de femmes en post-partum immédiat ayant reçu des IgRH au cours de leur grossesse est d'abord réalisée par technologie Capture-R sur Néo® d'Immucor. (panel CAPTURE-R READY-IDI : 14 puits dont 5 RH1 positifs : 1,2,3,4 et 14)

Puis un microtitrage est ensuite réalisé sur ces mêmes échantillons selon la méthode décrite dans les feuillets de biologie 2002 Vol XXXVIII. N°245, 11-17. La comparaison est alors effectuée.

Test d'immuno capture sur Néo®



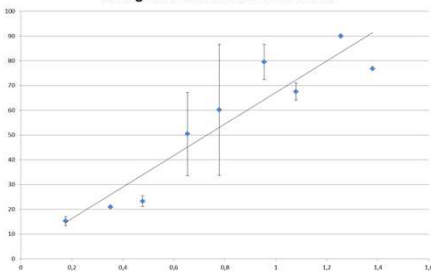
Intensité de réaction avec la technologie Capture-R :
Neo Signal UA
De 0 to 20 = Negative
De 20 to 30 = Indeterminé
De 30 to 45 = 1+
De 45 to 65 = 2+
De 65 to 90 = 3+
De 90 to 99 = 4+

Resultats

32 sérums avec identification anti-RH1 ont été analysés avec les 2 techniques : 2 < 1,5ng/ml; 4 à 1,5 ng/ml ; 1 à 2,25 ng/ml; 5 à 3 ng/ml; 7 à 4,5 ng/ml; 3 à 6 ng/ml; 5 à 9 ng/ml; 3 à 12 ng/ml; 1 à 18ng/ml et 1 à 24 ng/ml.

Une bonne corrélation a été trouvée entre les 2 méthodes $r = 0.948$ avec $p=0.00016$ (Pearson)

moyenne de l'intensité du signal sur néo en fonction du log de la concentration en anti-D



CONCENTRATION (ng/ml)	RESULTATS DE L'INTENSITE DU SIGNAL DES PUIITS RH1+					MOYENNE DE L'INTENSITE DU SIGNAL	ECART-TYPE
	1	2	3	4	14		
<1,5	21,5	17,4	22,9	22	14,7	19,62	
<1,5	16,6	10,5	12,6	14	12	13,1	4,6103
1,5	20,4	10,7	18,2	18	9,6	15,36	
1,5	15,5	10,2	12,4	15	11	12,84	
1,5	22,6	12	15,1	17	9,3	15,28	
1,5	16,6	14,5	18,2	25	11,7	17,24	1,803847739
2,25	23,1	20	22	22	17,1	20,86	
3	23,9	17,3	26,6	24	19,3	22,16	
3	23,9	25,9	32,1	32	21,3	27	
3	26,2	23,1	24,9	25	16,5	23,16	
3	24,3	20	23	23	17,4	21,62	
3	28,6	20,5	24,7	24	13	22,16	2,185131575
4,5	30,4	29,5	56,5	56	42,6	43,04	
4,5	25	21,1	25,6	25	20,9	23,48	
4,5	54,4	27	71,3	76	21,6	49,964	
4,5	45,9	27,4	55,1	54	15,8	39,66	
4,5	77	73,5	78,4	77	75,8	76,3	
4,5	74,4	45,6	78,4	80	23,5	60,3	
4,5	50,2	46,9	74,1	61	50,7	55,5	16,82
6	70,2	74,1	73,9	71	58,2	69,4	
6	44,4	41,1	23,4	24	19,3	30,44	
6	80	75,8	85,1	86	76,9	80,78	26,47
9	88,4	88,7	89,5	88	88,3	88,56	
9	69,9	74,5	72,1	69	63,4	69,86	
9	79,2	79,8	79,5	78	72,9	77,96	
9	82,4	85,3	86,2	81	82,4	83,68	
9	75	79,7	76,1	77	79,9	77,56	
12	66,7	72,6	70,2	69	65,1	68,74	
12	70,9	60,4	72,1	75	72,5	70,22	
12	67,2	58,8	73,2	71	48,1	63,68	3,4294
18	87,2	99	93,4	82	87,8	89,96	
24	74,6	77,5	76,7	80	75,8	76,86	

En pratique

Chez la femme RH:-1 à l'accouchement, une injection d'IgRH est préconisée en cas de bébé RH1 positif, la dose étant à adapter en fonction du test de Kleihauer.

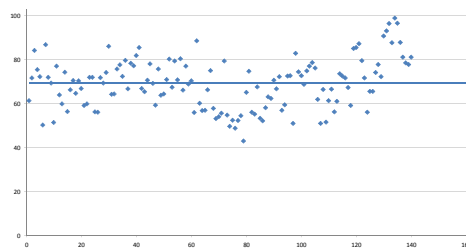
- Toutefois une abstention est possible, en cas :
- de Kleihauer = 0
 - injection d'IgRH datant de moins de 3 semaines
 - de microtitrage > 6ng/ml

C'est pourquoi il est essentiel de déterminer si la concentration en anti-RH1 est inférieure à 6ng/ml (traitement nécessaire) ou supérieure à 6ng/ml (abstention thérapeutique).

De plus une valeur chiffrée devient également nécessaire quand la concentration est supérieure à 6ng/ml pour déterminer la nature de l'anti-RH1 (passive ou allo-immune),

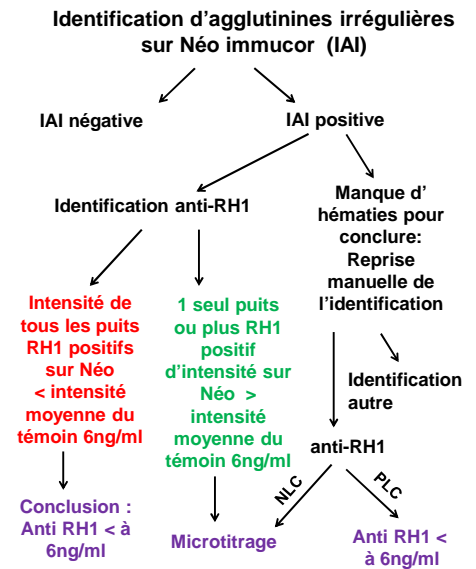
Cette valeur seuil de 6ng/ml a été choisie comme témoin de microtitrage. Il est passé quotidiennement et la moyenne de l'intensité du signal est calculée. Celle-ci est reproductible de jour en jour. (sur 140 valeurs, moyenne : 69, CV=16%, écart-type: 11)

Moyenne des intensités du signal du témoin 6ng/ml



Tous les sérums de concentration > 6ng/ml dans notre étude avaient au moins un puits d'intensité supérieure à 69.

Ces résultats nous ont permis de mettre en pratique dans la prévention du post-partum l'identification d'agglutinine irrégulière sur Néo selon le schéma ci-dessous:



Conclusion

Ce travail fait suite à un travail réalisé en 2011 sur le Galiléo d'Immucor.

Ces tests montrent que le Néo peut être utilisé avec succès pour l'identification d'anti-RH1 et l'approche de la concentration anti RH1 :

- dans le monitoring en post-partum immédiat des femmes RH:-1 après injection d'IgRH au cours de la grossesse afin de déterminer la nécessité d'une injection d'IgRH
- dans la détermination de l'origine des IgRh : passive ou allo-immune (résultats supérieurs à ceux attendus).