

EVALUATION DE LA TECHNIQUE DE DÉPISTAGE DES ANTICORPS ANTI-ÉRYTHROCYTAIRES CHEZ LA FEMME ENCEINTE SUR LE GALILEO® (IMMUCOR) : EXPÉRIENCE DU CNRHP

MAILLOUX A., MONTILLET A., SAURE C., LARSEN M., HUGUET-JACQUOT S., CORTEY A.
Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale (CNRHP), AP-HP St Antoine, 184 rue du Faubourg St Antoine, PARIS.

Résumé

La recherche d'agglutinine irrégulière est obligatoire chez toutes les femmes enceintes au premier et au dernier trimestre de la grossesse ainsi qu'au 6ème mois de grossesse uniquement chez les patientes RH1 négatif (avant l'injection IgRH). Le dépistage et l'identification de ces anticorps permet de diagnostiquer les situations à risque de maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né.

Il est essentiel pour notre laboratoire, en tant que Centre National de Référence en Hémobiologie périnatale d'avoir une technique de dépistage très sensible pouvant détecter de très faibles concentrations en anticorps car le suivi des grossesses et la prise en charge du nouveau-né dépendent de ces résultats. Cette exigence de sensibilité ne se limite pas à l'anti-RH1 (même si il y a encore 150 nouveaux cas d'allo-immunisation anti-RH1 en France par an), mais aussi à tous les autres types d'anticorps présentant un intérêt obstétrical (anti-RH4 ou anti-KEL1...).

L'objectif de cette étude a été d'évaluer la technique de dépistage des anticorps irréguliers chez la femme enceinte sur l'automate Galileo® de la société Immucor.

Matériels et méthodes

85 échantillons de femmes enceintes ont été analysés. La Capture-R (4 cellules), technologie utilisée pour le dépistage sur Galileo®, a été comparée à une méthode en carte gel effectuée manuellement dans notre laboratoire (LISS Coombs gel, DIAMED®).

Pour évaluer la sensibilité de détection des anticorps anti-RH1, nous avons utilisé 6 dilutions du standard international anti-RH1 : de 0,75 ng/ml à 24ng/ml.

Résultats

1- Pour les 50 échantillons négatifs analysés nous avons trouvé 50 résultats négatifs avec le Galileo®.

2- 14 spécificités d'allo-anticorps ont été testées : anti-RH3, anti-RH4, anti-RH5, anti-RH8, anti-KEL1, anti-KEL3, anti-FY1, anti-JK1, anti-MNS1, anti-MNS3, anti-MNS4, anti-MNS5, anti-LU1 et anti-LU2.

Le Galileo® a détecté 30 des 35 échantillons positifs et les 5 anticorps non détectés étaient : 2 anti-RH8, 3 anti-MNS1.

3- Pour évaluer la sensibilité de la Capture-R nous avons testé différentes dilutions en milieu albumineux de sérums contenant un anticorps. Les dilutions ont été choisies en fonction du titre initial de l'anticorps.

ECHANTILLONS POSITIFS			GALILEO		GEL LISS COOMBS DIAMED	
ANTICORPS	TITRE*	DILUTION TESTEE	INTENSITE**	INTENSITE***	AGGLUTINATION	
			CAPTURE-R			
5 Anti-RH3	< 1/2	Pur	87	1,5+		
		Pur	88	1+		
		Pur	83	1+		
		Pur	56	(1+)		
		Pur	88	2,5+		
3 Anti-RH4	1/2	Pur	99 99 95	2+		
		Pur	99 99 99	2,5+		
		1/50	99 99 86	3+		
		1/100	99 99 90	2,5+		
1 Anti-RH5	<1/2	Pur	99 99 99	2+		
		1/8	64	2+		
		1/32	85	1+		
5 Anti-KEL1	1/8	1/12	85	1+		
		1/25	67	-		
		1/50	neg	-		
		1/25	90	1+		
		1/50	41	-		
		1/100	14	-		
		1/50	96	2+		
		1/100	89	1+		
		1/200	74	0,5+		
		1/256	93	2,5+		
1 Anti-KEL3	1/32	1/40	62	2+		
		Pur	25	2+		
		Pur	86	3+		

*Titrage en technique indirecte à l'antiglobuline (technique tube en saline : 60 minutes d'incubation à 37°C, utilisation d'une anti-IgG)

**Intensité de la réaction avec la technique Capture-R : correspondance de 0 à 20 = Négatif de 20 à 30 = Indéterminé de 30 à 45 = 1+ de 45 à 65 = 2+ de 65 à 90 = 3+ de 90 à 99 = 4+

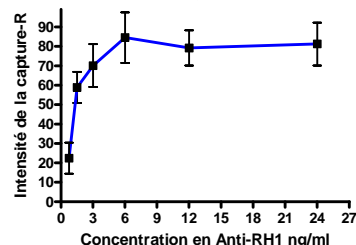
*** Intensité de l'agglutination avec les gels LISS Coombs de - à 4+

ECHANTILLONS POSITIFS			GALILEO		GEL LISS COOMBS DIAMED	
ANTICORPS	TITRE*	DILUTION TESTEE	INTENSITE**	INTENSITE***	AGGLUTINATION	
			CAPTURE-R			
3 Anti-FY1	1/8	Pur	44 71 74	2,5+		
		1/32	1/12	90 94 96	2,5+	
		1/25	88 89 99	2+		
		1/50	83 90 95	1+		
		1/128	1/50	91 87 99	2+	
		1/100	86 90 98	1,5+		
2 Anti-JK1	1/4	Pur	17 20 34	2+		
		1/32	Pur	87 99 87	2+	
3 Anti-MNS3	1/8	Pur	29 42	1,5+		
		1/64	1/25	99 80	2,5+	
		1/25	89 83	2+		
		1/100	53 78	1,5+		
		1/128	1/50	85 80	2+	
1 Anti-MNS4	1/128	1/50	87 81 86	2,5+		
		1/100	81 97 99	2,5+		
		1/200	99 99 99	2,5+		
1 Anti-LU1	1/4	Pur	32 51	2,5+		
1 Anti-LU2	1/256	1/50	77	2+		
		1/100	neg	-		
		1/200	neg	-		
1 Anti-MNS5	1/256	1/50	97 94 91 99	3+		
		1/100	99 93 94 92	2,5+		
		1/200	86 99 99 99	2+		

Nous avons observé une meilleure sensibilité de la Capture-R par rapport à la technique gel pour la majorité des anticorps détectés par le Galileo®, excepté pour 2 anticorps (1 Anti-RH8, 1 Anti-LU1).

4- La sensibilité de détection des anticorps anti-RH1 a été trouvée entre 0,75 et 1,5 ng/ml avec le Galileo® (contre 6 ng/ml pour la méthode en gel).

		Concentration en anti-RH1					
		24 ng/ml	12 ng/ml	6 ng/ml	3 ng/ml	1,5 ng/ml	0,75 ng/ml
Intensité de la capture-R	Nombre de valeurs	10	10	10	10	10	10
	Minimum	66	59	60	55	46	13
	Maximum	99	89	99	87	77	36
	Moyenne	81,2	79,2	84,5	70,1	58,9	22,4
	Déviat standard	11,12	9,886	13,76	11,53	8,962	8,027
	Erreur standard	3,518	3,126	4,352	3,647	2,834	2,538
	Coefficient de variation	13,70%	12,48%	16,29%	16,45%	15,22%	35,83%



Conclusion

Au cours de cette évaluation réalisée chez la femme enceinte, le Galileo® a montré une grande sensibilité pour la détection des 14 spécificités d'anticorps testées. La technologie Capture-R (4 cellules) est une méthode de dépistage des anticorps anti-érythrocytaires très satisfaisante présentant une excellente sensibilité de détection des anti-RH1. En outre, les 5 anticorps non détectés (2 anti-RH8 et 3 anti-MNS1) dans notre étude étaient des IgM ne traversant pas la barrière placentaire.