

EVALUATION AU CNRHP DE L'AUTOMATE IH-500 (Bio-Rad®) POUR LE MICROTITRAGE DES ANTI-D (ANTI-RH1)

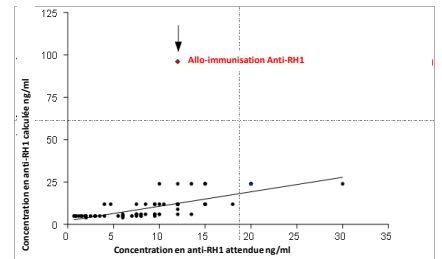
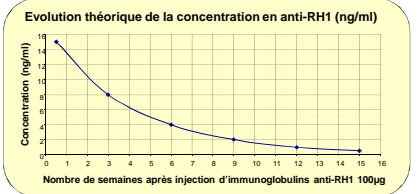
J. Beaud¹, H. Delaby¹, C. Toly-Ndour¹, A. Mailloux¹, S. Huguet-Jacquot^{*1}

¹ Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale (CNRHP), Hôpital Saint-Antoine, Paris, France



INTRODUCTION

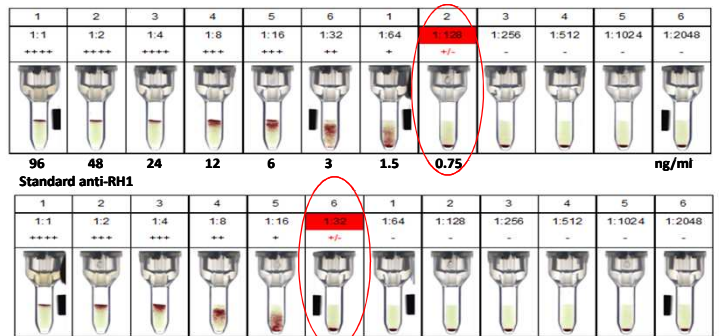
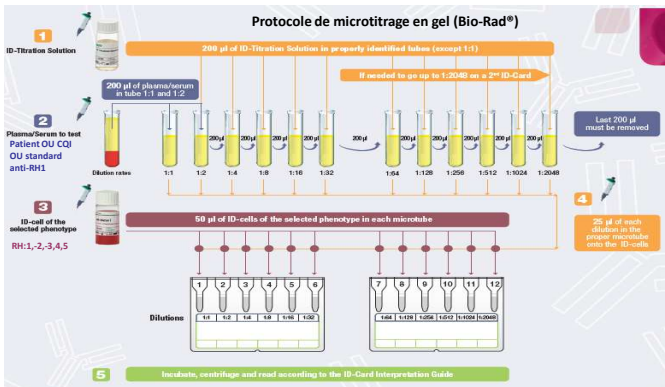
La généralisation de l'immunoprophylaxie par injection d'immunoglobulins anti-RH1 (Rhophylac®) depuis 1970 complique l'interprétation des identifications d'agglutinines irrégulières pendant la grossesse. Afin de distinguer un anti-RH1 passif d'un anti-RH1 immun, il est recommandé de quantifier les anti-RH1 par la technique de microtitrage. Le microtitrage est une technique d'hémagglutination en support gel Liss-Coombs sur hématies R0r (RH:1,-2,-3,4,5). Elle permet de quantifier les faibles taux d'anti-RH1 grâce à une gamme de standard anti-RH1. La concentration en anti-RH1 ainsi obtenue est comparée à la concentration attendue après une injection et permet de conclure sur la nature passive ou immune des anti-RH1. Le microtitrage est bien adaptée à la prophylaxie Rhésus. Cette technique est réalisée depuis 1999 au CNRHP et automatisée sur Evo clinical Base Tecan en 2008 (étapes de dilutions et distribution).



OBJECTIF L'objectif de l'étude était d'évaluer la technique sur l'IH-500 de Bio-Rad® en comparaison avec celle du CNRHP.

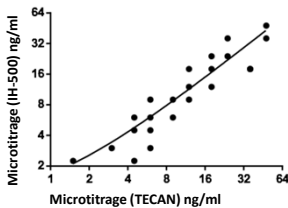
METHODE

Sur IH-500, la réactivité des réactifs Bio-Rad® a été comparée à celle des réactifs du CNRHP (R0r, standard anti-RH1). Les performances de la méthode ont été évaluées à l'aide de 3 CQI (2 CQI préparés au CNRHP et 1 CQI Bio-Rad®) sur hématies R0r papainées (PLC) et natives (NLC). Enfin une comparaison de méthode à partir de sérums de patientes variant de 1,5 à 48ng/ml a été faite.

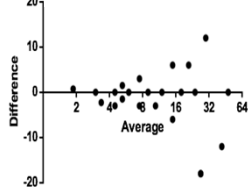


Sérums de patientes ou CQI
Calcul de la concentration en anti-RH1 = 32 X 0.75 = 24 ng/ml

Régression linéaire – Deming (R0r PLC)



Graphiques des différences – Bland-Altman
Microtitrage anti-RH1
CNRHP vs IH500 - R0r PLC



RESULTATS

Les résultats des 3 CQI sont comparables entre les différents réactifs utilisés sur IH-500.

Il n'y a pas de différence significative entre les 2 types d'hématies R0r PLC ou NLC ; sauf pour la limite de détection: 1,5ng/ml en PLC - 6ng/ml en NLC.

Pour les 3 CQI, les tests de répétabilité, reproductibilité sur les rangs de dilution ont des CV entre 0 à 15%, performances similaires à celles retrouvées avec l'Evo Clinical Base.

La corrélation avec la technique réalisée au CNRHP sur 50 échantillons en PLC et 44 échantillons en NLC a été satisfaisante.

Deming PLC : $Y=0.89X+0.78$

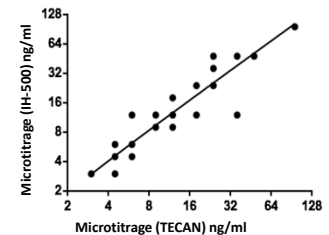
NLC : $Y=1.08X-0.25$

Régression linéaire

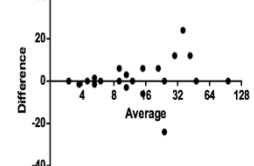
PLC : $r^2=0.80$

NLC : $r^2=0.86$

Régression linéaire – Deming (R0r NLC)



Graphique des différences – Bland-Altman
Microtitrage anti-RH1
CNRHP vs IH500 - R0r NLC



CONCLUSIONS

Le microtitrage anti-D sur l'IH-500 offre des performances similaires à la méthode réalisée au CNRHP. L'IH-500 permet une lecture automatisée des gels. Cependant, il ne dispose pas d'algorithme de calcul ni d'interprétation permettant un rendu des concentrations en anti-D qui reste manuel nécessitant un personnel formé.