

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 Huguet-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

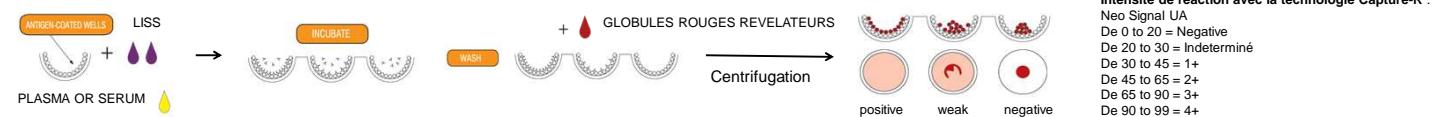
Déterminer si l'étude du signal de la capture ID sur automate Néo Immucor permettait une approche de la concentration en anti-RH1 et si elle pouvait se substituer au microtitrage.

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-ID1 : 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 XXXXIII. N°245, 11-17. La comparaison est alors effectuée.

Test d'immuno capture sur Néo®

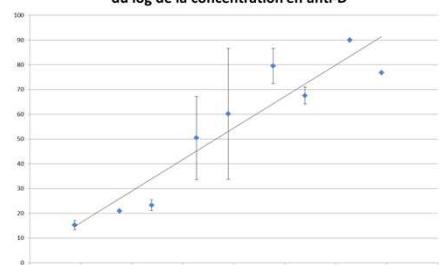


Résultats

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 PUITS RH1+				MOYENNE DE L'INTENSITE DU SIGNAL	ECART-TYPE
	1	2	3	4	14	
<1,5	21,5	17,4	22,9	22,4	19,62	4,6103
<1,5	16,6	10,5	12,6	14	12	13,1
1,5	20,4	10,7	18,2	18	9,6	19,36
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
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,	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
4,5	30,4	29,5	56,5	56	42,6	43,04
4,5	25	21,1	25	25	20,9	23,48
4,5	54,4	27	71,3	76	21,6	49,964
4,5	45,9	27,4	55,2	54	15,8	39,66
4,5	77	73,5	78,4	80	75,8	76,3
4,5	74,4	45,6	78,4	80	23,5	62
4,5	50,2	46,9	74,1	74,1	50,7	55,5
6	70,2	71,1	71	71	58,2	69,4
6	44,4	41,1	23,4	24	19,3	30,44
6	89	75,8	85,1	86	76,6	80,78
9	88,4	88,7	89,5	88	88,2	88,56
9	69,9	74,5	72,1	69	63,4	69,85
9	79,2	79,8	79,5	78	72,9	77,96
9	82,4	86,3	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
18	87,2	99	93,4	82	87,8	89,96
24	74,6	77,5	76,7	80	75,8	76,86

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

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.

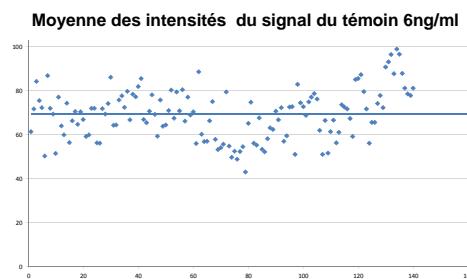
Toutefois une abstention est possible, en cas :

- de Kleihauer = 0
- injection d'IgRH datant de moins de 3 semaines
- de microtitrage > 6ng/ml

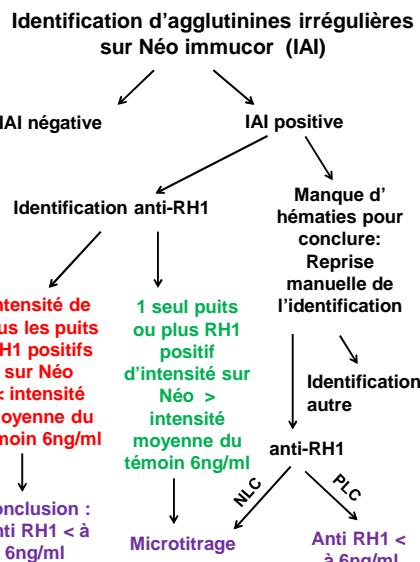
C'est pourquoi il est essentiel de déterminer si la concentration en anti-RH1 est inférieure à 6ng/ml (traitement nécessaire) ou supérieure à 6ng/ml (abstention thérapeutique).

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 reproductive de jour en jour. (sur 140 valeurs, moyenne : 69, CV=16%, ecart-type: 11)



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 monitorage 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).