

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-RH 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*** |
| | | | CAPTURE-R | AGGLUTINATION |
| 5 Anti-RH3 | < 1/2 | Pur | 87 | 1,5+ |
| | < 1/2 | Pur | 88 | 1+ |
| | < 1/2 | Pur | 83 | 1+ |
| | < 1/2 | Pur | 56 | (+) |
| | 1/8 | Pur | 88 | 2,5+ |
| 3 Anti-RH4 | 1/2 | Pur | 99 99 95 | 2+ |
| | 1/4 | Pur | 99 99 99 | 2,5+ |
| | 1/256 | 1/50 | 99 99 86 | 3+ |
| | | 1/100 | 99 99 90 | 2,5+ |
| | | 1/200 | 99 87 83 | 2,5+ |
| 1 Anti-RH5 | < 1/2 | Pur | 99 99 99 | 2+ |
| 5 Anti-KEL1 | 1/8 | Pur | 64 | 2+ |
| | 1/32 | 1/12 | 85 | 1+ |
| | | 1/25 | 67 | - |
| | | 1/50 | neg | - |
| | 1/64 | 1/25 | 90 | 1+ |
| | | 1/50 | 41 | - |
| | | 1/100 | 14 | - |
| | 1/128 | 1/50 | 96 | 2+ |
| | | 1/100 | 89 | 1+ |
| | | 1/200 | 74 | 0,5+ |
| 1 AntiKEL3 | 1/32 | 1/40 | 62 | 2+ |
| 2 Anti-RH8 | 1/2 | Pur | 25 | 2+ |
| | 1/4 | 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+

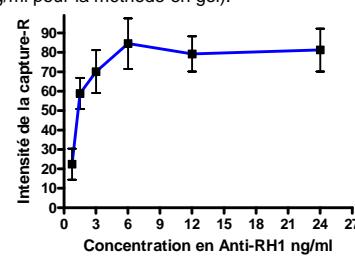
*** Intensité de l'agglutination avec les gels LISS Coombs de - à 4+

| ECHANTILLONS POSITIFS | | GALILEO | GEL LISS COOMBS DIAMED | |
|-----------------------|--------|-----------------|------------------------|---------------|
| ANTICORPS | TITRE* | DILUTION TESTEE | INTENSITE** | INTENSITE*** |
| | | | CAPTURE-R | AGGLUTINATION |
| 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+ |
| 2 Anti-JK1 | 1/4 | 1/100 | 86 90 98 | 1,5+ |
| | 1/32 | Pur | 54 61 67 | 0,5+ |
| | | | | |
| 3 Anti-MNS3 | 1/8 | Pur | 29 42 | 1,5+ |
| | 1/64 | 1/25 | 99 80 | 2,5+ |
| | | 1/50 | 89 83 | 2+ |
| | | 1/100 | 53 78 | 1,5+ |
| | 1/128 | 1/50 | 85 80 | 2+ |
| 1 Anti-MNS4 | 1/128 | 1/100 | 86 82 | 1+ |
| | | 1/200 | 55 64 | - |
| | | | | |
| | 1/50 | 87 81 86 | 2,5+ | |
| 1 Anti-LU1 | 1/4 | Pur | 32 51 | 2,5+ |
| | 1/256 | 1/50 | 77 | 2+ |
| | | 1/100 | neg | - |
| 1 Anti-LU2 | 1/256 | 1/200 | 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).

| Intensité de la Capture-R | Concentration en anti-RH1 | | | | | |
|---------------------------|---------------------------|----------|---------|---------|-----------|------------|
| | 24 ng/ml | 12 ng/ml | 6 ng/ml | 3 ng/ml | 1,5 ng/ml | 0,75 ng/ml |
| 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 |
| Déviation 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.