

Recherche et identification d'anticorps irréguliers : place de la technique en gel diamed par rapport à la technique classique

H. ELLEUCH^{*,**}

H. MNIF^{*,**}

S. SELLAMI^{**}

H. REKIK^{*,**}

J. GARGOURI^{*,**}

* CRTS Sfax

** 99/UR/08-33 Laboratoire
d'Hématologie, Faculté de
Médecine - Sfax

Introduction

Examen capital dans la sécurité immunologique des transfusions, la recherche d'agglutinines irrégulières ou RAI est, aujourd'hui, obligatoire en Tunisie chez les polytransfusés et les multipares (1).

La RAI consiste à mettre en évidence dans le sérum humain, l'existence éventuelle d'anticorps (Ac) dirigés contre des antigènes (Ag) érythrocytaires connus. Pour cela, le sérum à tester est mis en présence d'une gamme d'hématies-tests appelée panel d'hématies et dont la constitution phénotypique est connue (2, 3, 4). La présence d'un Ac se traduit par une réaction d'agglutination des hématies du panel possédant l'Ag correspondant. Cependant, si quelques Ac anti-érythrocytaires sont spontanément agglutinants, comme l'anti M ou l'anti N, la majorité des Ac se fixent sur les hématies portant l'Ag correspondant sans les agglutiner. Des artifices techniques sont alors utilisés pour mettre en évidence cette fixation d'Ac (2, 3, 4) :

- addition au milieu réactionnel de macromolécules (Albumine, Dextran) ;
- traitement des hématies par des enzymes protéolytiques (papaine, broméline, trypsine) ;

Résumé : La recherche d'agglutinines irrégulières (RAI) est un examen essentiel pour la sécurité immunologique des transfusions. Parmi les nombreuses techniques qui existent, la meilleure association est : technique de coombs indirect (CI) et technique enzymatique (TE). Notre étude avait pour objectif de comparer, pour la recherche des Ac anti-Rh (D, C, c, E, e) et Kell et pour les 2 techniques (CI et TE), la sensibilité de 2 supports de réaction : tube (support classique) et gel.

Pour cela, nous avons testé 6 anticorps (6 sérums-tests) en dilution en eau physiologique sur les 2 supports : tube et gel et dans les 2 techniques (CI et TE).

Le résultat était une meilleure sensibilité de la technique en gel par rapport à celle en tube : une à trois dilutions, quelle que soit la technique utilisée (CI et TE). Ainsi, le support en gel permettrait de mettre en évidence des Ac anti-érythrocytes de faible taux que ne pourrait visualiser le support en tube, comme c'est le cas du début d'immunisation.

Mots Clés : Recherche d'agglutinines irrégulières, gel-test, coombs indirect

- réaction de Coombs indirect ou test à l'antiglobuline humaine.

En pratique et pour des raisons de coût, il n'est pas logique de réaliser conjointement l'ensemble des techniques suscitées. L'association d'une technique enzymatique (papaine) et de la technique de Coombs indirect permet une détection suffisante des Ac anti-érythrocytaires (2, 5). Quant au support de la réaction, il était habituel d'utiliser le tube à hémolyse. Plus récemment, un nouveau support à base de gel a été mis en place. (6, 7, 8). Cette nouvelle technologie s'est donnée pour objectif la standardisation de la sensibilité de détection des Ac et la possibilité de garder une trace de la réaction longtemps après sa réalisation.

Notre étude a pour but de comparer, pour la recherche des Ac anti-Rh et Kell, la sensibilité de la technique en tube et la technique en gel (hématies papainées et Coombs indirect)

Matériel et méthodes

Matériel :

- Sérums : pour être certains du contenu en anticorps de nos sérums étudiés, nous avons choisi des sérums-tests de spécificité connue : anti-D, anti-C, anti-c, anti-E, anti-e,

anti-K (Ac monoclonaux IgG+IgM BIORAD)

- Antigènes érythrocytaires : nous avons utilisé le panel de dépistage produit par le centre qui garantit la présence des antigènes érythrocytaires correspondants aux spécificités des anticorps (sérum) étudiés. Il est à noter que les hématies utilisées étaient homozygotes pour les antigènes étudiés.

Méthodes

- Pour chacun des 6 sérums-tests, nous avons réalisé des dilutions croissantes de demi en demi en eau physiologique. Sur chaque sérum-test ainsi que ses différentes dilutions, nous avons effectué une RAI en tube et une RAI en gel (Diamed) dans deux techniques : Coombs indirect en basse force ionique (CI BFI ou LISS) et test enzymatique (papaïne) (2, 9)

- Une étude préliminaire a été effectuée sur chacun des sérums-tests pour définir la dilution donnant, en tube, une réaction d'agglutination d'intensité deux croix pour la technique en BFI et celle en papaïne. Cette dilution a, ensuite, été utilisée comme dilution de départ dans notre étude. Les résultats de cette étude préliminaire sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Dilution de départ des sérums-tests

Sérum-test		Anti-D	Anti-C	Anti-c	Anti-E	Anti-e	Anti-K
Dilutions	CI. BFI	1/50	1/25	1/25	1/25	1/25	1/5
	Papaïne	1/50	1/50	1/50	1/50	1/50	1/5

Résultats

L'étude comparative de la sensibilité des 2 techniques de RAI (tube et gel) a donné les résultats résumés dans les tableaux 2 et 3 :

Tableau 2 : RAI en tube

Dilutions	CI LISS						PAPAINE					
	Pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	Pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Anti-D	++	++	+	-	-	-	++	++	+	-	-	-
Anti-C	++	+	-	-	-	-	++	++	+	-	-	-
Anti-c	++	++	+	-	-	-	++	++	+	+	-	-
Anti-E	++	+	-	-	-	-	++	++	+	+	-	-
Anti-e	++	++	+	-	-	-	++	++	+	+	-	-
Anti-K	++	++	++	+	+	-	++	+	-	-	-	-

Tableau 3 : RAI en gel

Dilutions	CI LISS						PAPAINE					
	Pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	Pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Anti-D	++++	++++	+++	++	+	-	++++	++++	+++	++	++	+
Anti-C	++++	++	+	-	-	-	++++	+++	+++	+	-	-
Anti-c	+++	+++	++	+	-	-	++++	+++	+++	+	+	+
Anti-E	++++	+++	+	-	-	-	++++	++++	++	++	++	+
Anti-e	++++	+++	+++	++	+	-	++++	++	++	+	+	-
Anti-K	++++	++	++	++	+	+	++	++	++	+	-	-

Discussion

La recherche d'anticorps anti-érythrocytaires est une étape importante dans la sécurité immunologique des transfusions. La mise en évidence de tels anticorps dans le sérum des patients nécessite l'utilisation simultanée de plusieurs techniques dont les plus indispensables sont la technique de coombs indirect (BFI) et la technique utilisant des hématies papainées (2, 5). Cependant, à côté de la technique en tube, La pierre a développé un nouveau support, à savoir le gel qu'il décrit comme pouvant améliorer la sensibilité de la technique (6, 7). Dans notre étude, nous avons procédé à une comparaison des sensibilités des techniques en tube et en gel. L'étude des résultats des tableaux 2 et 3 permet de dégager les idées suivantes :

* La technique en gel est plus sensible que celle en tube quelle que soit la technique utilisée (coombs indirect BFI ou papaïne). L'écart de sensibilité varie entre 1 et 3 dilutions pour les sérums-tests utilisés. De plus, l'intensité d'agglutination est souvent plus importante, pour une même dilution, dans la technique en gel. Une étude similaire effectuée sur 229 sérums positifs de patients a conclu aux mêmes résultats (1 à 3 dilutions de différence de sensibilité) (10).

D'un autre côté, une meilleure sensibilité de la technique de RAI peut permettre de mettre en évidence, dans certains sérums de patients, des anticorps de faible intensité qui ne peuvent l'être par la technique en tube comme par exemple lors du tout début d'immunisation (2,5). Cette opportunité améliore nettement la sécurité immunologique des transfusions (2,5). Plusieurs études sont arrivées aux mêmes conclusions avec des pourcentages de discordance variables (10, 11, 12, 13). Cependant, l'augmentation de la sensibilité n'est pas sans risque. Elle

augmente, en effet, les réactions non spécifiques.

* Dans la recherche des anticorps anti-Rh et conformément à la littérature, la technique enzymatique est plus sensible que celle en CI BFI quel que soit le support utilisé. En revanche, pour les anti-K, la technique en CI BFI est plus sensible quelque soit le support utilisé (2, 5, 6, 7).

Enfin, la technique de CI BFI en gel procure une meilleure sensibilité dans la recherche des anti-Rh que la technique enzymatique en tube. Ce qui confirme la supériorité de la technique en gel par rapport à celle en tube. Mais ceci n'est pas vérifié pour l'anti-K (gel papaine vs tube CI BFI).

Conclusion

Même relativement plus coûteuse, la technique de RAI en gel est à préférer à celle en tube en raison du gain en sensibilité et en rapidité d'exécution. De plus elle permet de conserver le support de la réaction ou sa photocopie.

Références

- 1- La sécurité transfusionnelle
Circulaire 139/96 du 2 décembre 1996
Ministère de la santé publique de la république tunisienne
- 2- Rouger Ph., Salmon Ch.
La pratique des allo et auto-anticorps anti-érythrocytes
Masson, 1981, 114p
- 3- Genetet B., Mannoni P.
La transfusion
Flammarion Médecine Sciences, 1978, 680p.
- 4- Lafontaine M., Lebrun S.
Immuno-hématologie
Maloine-éditeur, 1985, 378p
- 5- Gargouri J., Brunot A., Souissi T.
La sécurité transfusionnelle. «sécurité immunologique»
Tunisie médicale, 1995, 73, n°2, 109-117
- 6- Lapiere Y.
Le gel-test : un nouveau procédé en immuno-hématologie.
Spectra biologie, 1989, 89/4, 38-42
- 7- Lapiere Y. Rigal D., Adam J., Josef D., Meyer F., Greber S., Drot C. The gel test : a new way to detect red-cell antigen antibody reactions.
Transfusion, 1990, 2 : 109-113.
- 8- Reis K.J., Chachowski R., Cupido A., Davies D., Jakway J., Setcavage TM.
Column agglutination technology : the antiglobulin test.
Transfusion, 1993, 33/8, 639-643.
- 9- Diamed A.G
Microtyping system-AG 1785
Cressier sur Morat-Suisse
- 10- Lassale B., Fourgnaud- Gaillard S., Malinvaud G.
Recherche et identification d'anticorps irréguliers : place de la technique en gel Diamed par rapport à la technique de référence.
Revue française des laboratoires, 1992, N : 245, 19-24
- 11- Pottier C., Quillet P., Baufine-Ducrocq H..
Gel-test : interpretation and value of a new technique for the detection of irregular antibodies.
Ann Biol clin 1992, 50 (10-11) : 679-685
- 12- Weisbach V, Ziener A., Zimmermann R., Glaser A., Zingsem J and Eckstein R.
Comparison of the performance of four microtube column agglutination systems in the detection of red cell allo-antibodies
Transfusion 1999, 39/10, 1045-1050.
- 13- Cate JC., Reilly N.
Evaluation and implementation of the gel test for indirect anti-globulin testing in a community hospital laboratory
Arch-pathol Lab-Med 1999, 123/8, 693-697.