

D Adenet
A Grozelier
K Gaillard
A Barrault
L Devaux
A Floch
B Chami
R Djoudi
F Pirienne
C Tournamille

Protocole d'urgence pour génotypage courant érythrocytaire



Laboratoire d'immuno-hématologie moléculaire
EFS IdF

GENOTYPAGE RECEVEUR

→ Place de la biologie moléculaire en IH receveur

- Patient transfusé (bilan drépanocytaire, validation allo-Ac)
- Patient avec un Coombs direct positif de type IgG (AHAI)
- Absence de réactifs commerciaux (DO)
- Confirmation d'un groupe rare chez un patient (K+k- ; U-)
- Recherche de variants dans le système RH (MHNN, patients drépanocytaires)



Sécurité transfusionnelle



Gestion de la ressource

GENOTYPAGE RECEVEUR

Techniques commercialisées

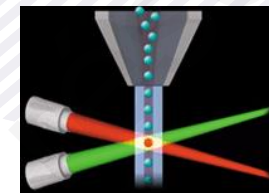
➔ PCR-SSO

ERY SPOT (BAG HEALTH CARE)



➔ PCR-SSP

xMAP Luminex - ID Core (GRIFOLS)



HIFI Blood 96™ (AXOScience)



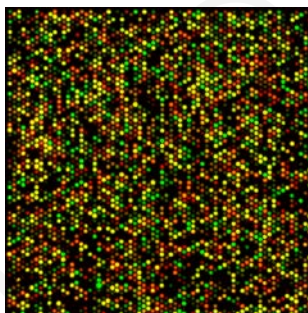
➔ e-MAP

RBC-Fluogene (inno-train)



BioArray-BeadChip (IMMUCOR)
HEA-HPA-RHD, RHCE

elongation -
mediated
Multiplex
Analysis of
Polymorphisms

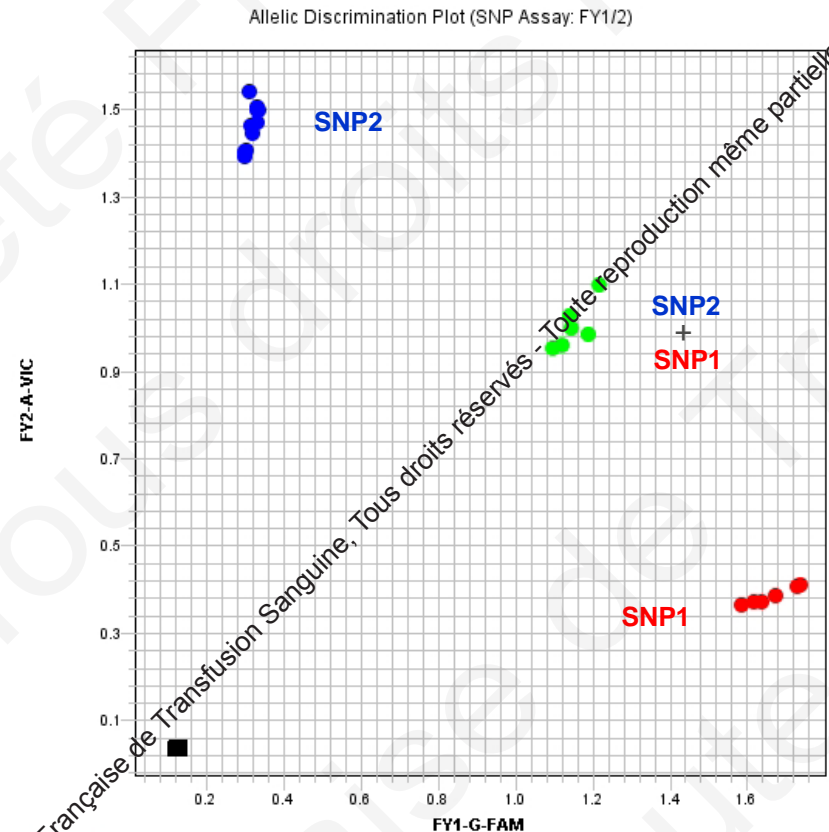
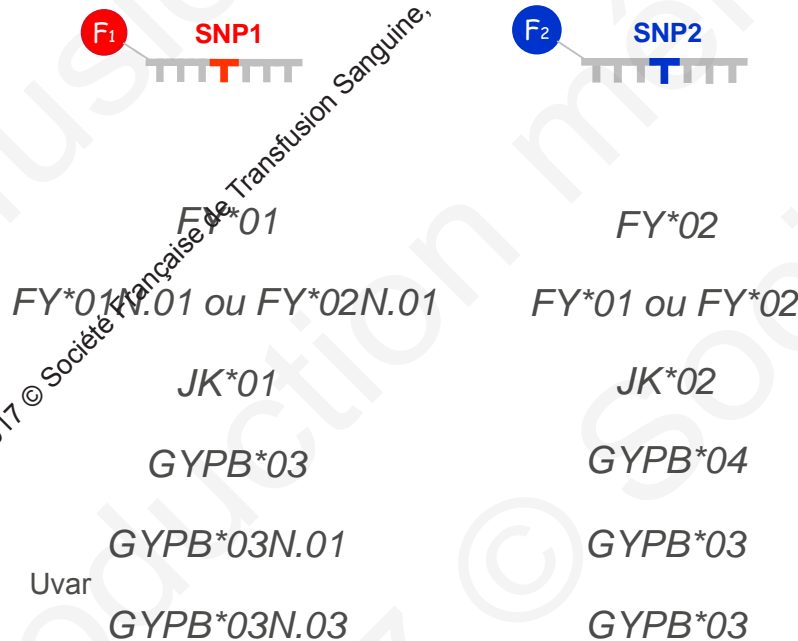


GENOTYPAGE RECEVEUR

70% des antigènes = SNP
(single nucleotide polymorphism)

➔ PCR en temps réel
sondes d'hydrolyses (Taqman) - discrimination allélique en point final

34 clones (62 antigènes) : FY ; JK ; MNS ; KEL ; YT ; DO ; RH ; HPA ; HNA



génomé courant dans le cadre de l'urgence

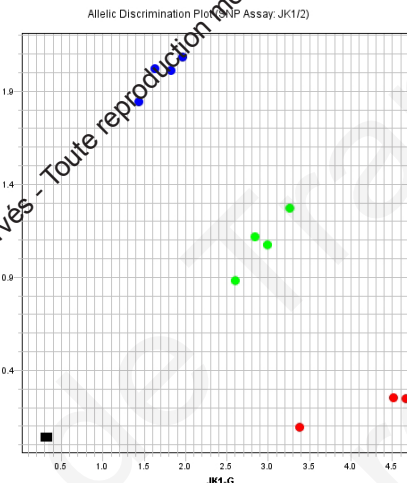
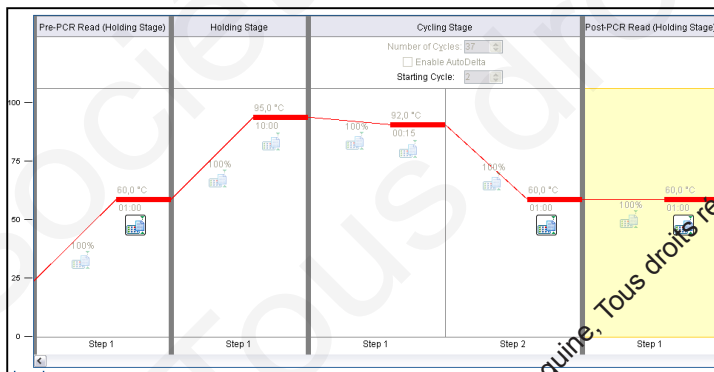
➔ extraction ADN



20µl de « solution d'extraction »
+
2µl de sang total EDTA
+
20µl de solution stabilisante

3mn RT

➔ génotypage PCR temps réel



6 SNPs ciblés / 1 protocole PCR

FY1/2 ; FY null ; JK1/2 ;
MNS3/4 ; UvarP2 ; UvarNY

40mn

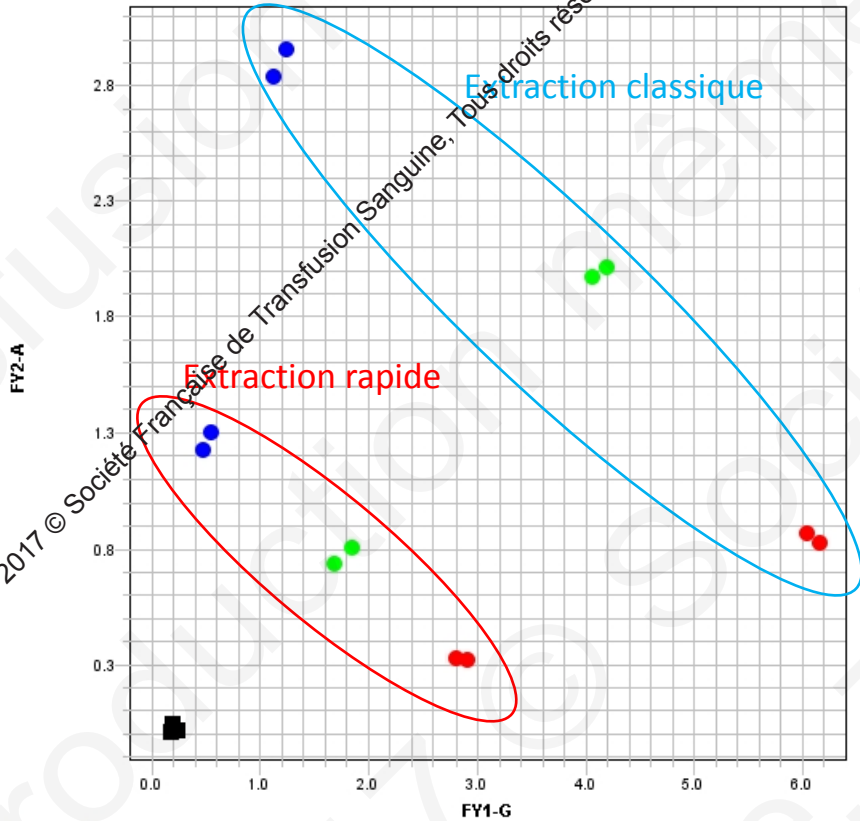
➔ comparaison extraction rapide/extraction classique

cible FY1/FY2

100%
corrélation

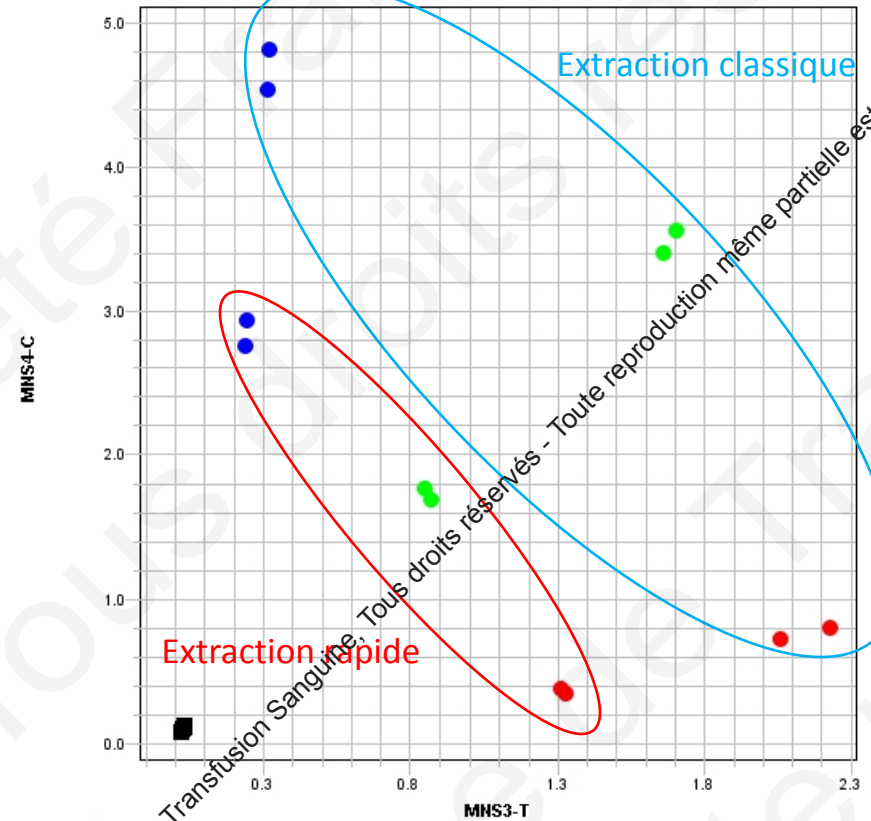
cible MNS3/MNS4

Allelic Discrimination Plot (SNP Assay: FY1/2)



Legend
 ● Homozygous 1/1
 ● Homozygous 2/2
 ● Heterozygous 1/2
 X Undetermined

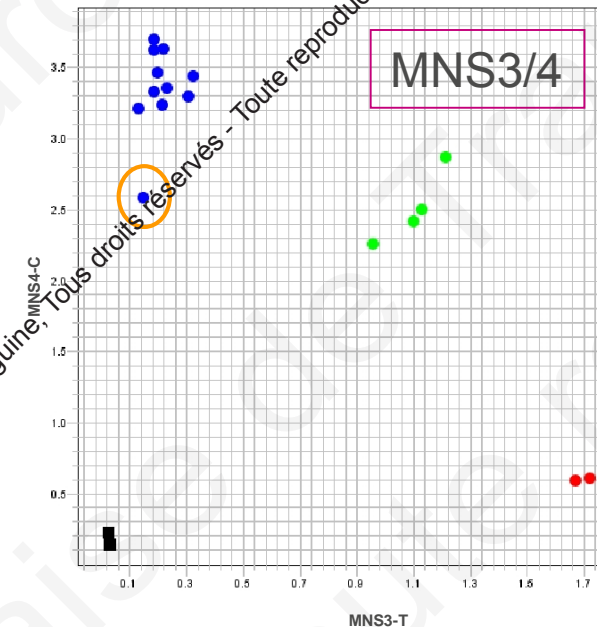
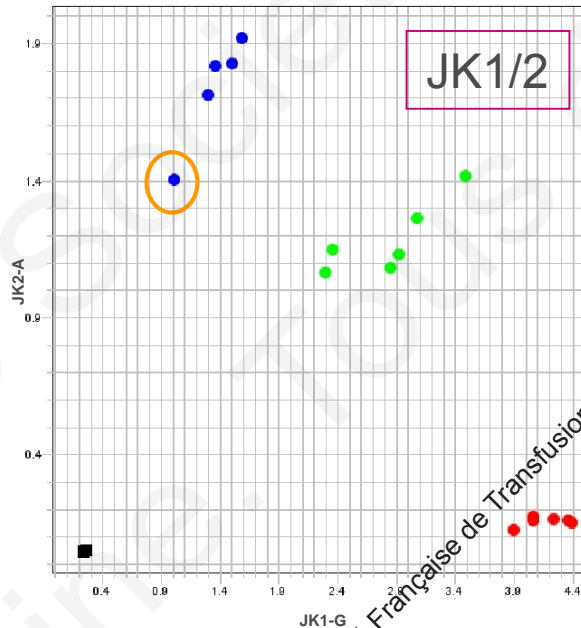
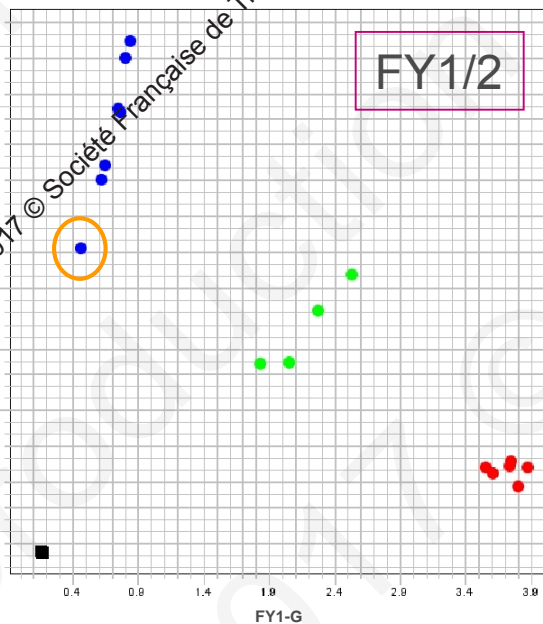
Allelic Discrimination Plot (SNP Assay: MNS3/4)



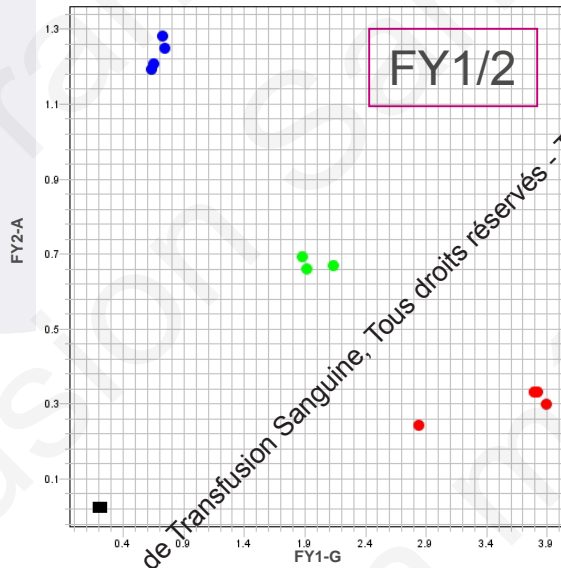
Legend
 ● Homozygous 1/1
 ● Homozygous 2/2
 ● Heterozygous 1/2
 X Undetermined

➔ impact nature du prélèvement / extraction rapide

Patients :	FY	FYGATA	JK	MNS	Pathologie
300025963	FY2/2	FYGATA-HMZmuté	JK1/1	MNS4/4	DHTR
302032690	FY1/2	FYGATA-HMZwt	JK2/2	MNS4/4	Myélome
302032738	FY1/1	FYGATA-HMZwt	JK1/2	MNS4/4	Myélome
302032746	FY1/1	FYGATA-HMZwt	JK1/2	MNS4/4	Lupus
302032754	FY1/1	FYGATA-HMZwt	JK2/2	MNS3/4	Myélome
302032843	FY2/2	FYGATA-HMZwt	JK1/2	MNS4/4	AHAI
302032886	FY2/2	FYGATA-HMZmuté	JK1/1	MNS4/4	Myélome
302032932	FY2/2	FYGATA-HMZmuté	JK1/1	MNS3/4	Drépano
302032959	FY1/2	FYGATA-HMZwt	JK1/2	MNS4/4	Lymphome
302033050	FY1/1	FYGATA-HMZwt	JK1/1	MNS4/4	Lymphome
302033076	FY2/2	FYGATA-HMZwt	JK2/2	MNS4/4	Aplasia



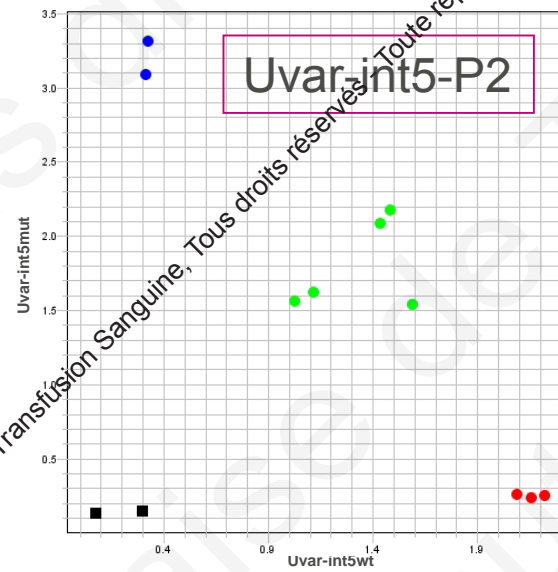
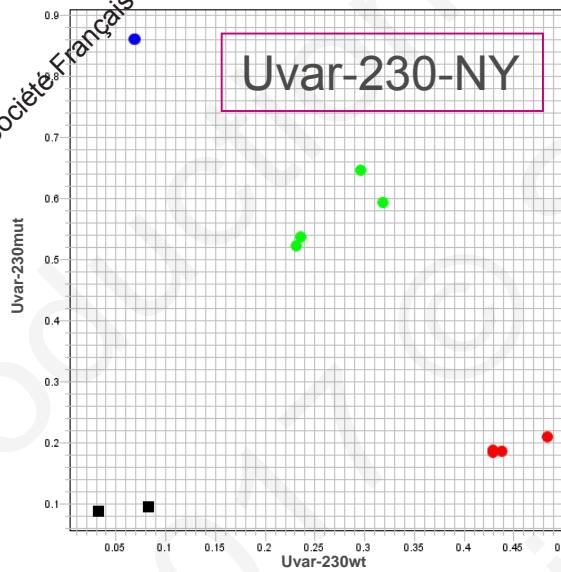
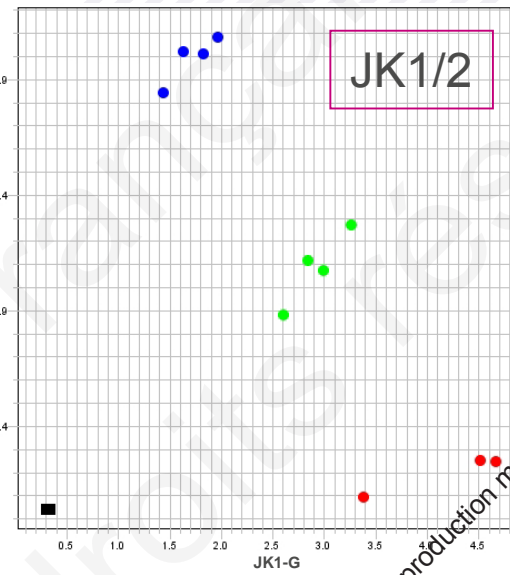
➔ impact congélation mélange réactionnel



2 mois

stabilité
mélange
réactionnel
à -20°C

4 mois



conclusions

→ protocole d'urgence génotypage courant érythrocytaire par PCR en temps réel :

FY1/2, FY null, JK1/2, MNS3/4, UvarP2, UvarNY

1 h

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	H2O pré	H2O ext	FY 1/1	FY 1/1	FY 1/2	FY 1/2	FY 2/2	FY 2/2	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4
B	H2O pré	H2O ext	FY GATA wt	FY GATA wt	FY GATA HTZ	FY GATA HTZ	FY GATA mut	FY GATA mut	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4
C	H2O pré	H2O ext	JK 1/1	JK 1/1	JK 1/2	JK 1/2	JK 2/2	JK 2/2	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4
D	H2O pré	H2O ext	MNS 3/3	MNS 3/3	MNS 3/4	MNS 3/4	MNS 4/4	MNS 4/4	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4
E	H2O pré	H2O ext	NYwt	NYwt	NY HTZ	NY HTZ	NY mut	NY mut	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4
F	H2O pré	H2O ext	P2wt	P2wt	P2 HTZ	P2 HTZ	P2 mut	P2 mut	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4

plaques prêtes à l'emploi
conservées 3 mois à -20°C

→ évolution du protocole avec de nouvelles cibles : DC1/2.....

Merci



↪ EFS IdF – Créteil
laboratoire IHM

Diannyl Adenet
Anna Grozelier
Kévin Gaillard
Aurélie Barrault
Laurent Devaux
Aline Floch
Btissam Chami
Rachid Djoudi
France Pirenne

Christophe Tournamille

● e-mail : christophe.tournamille@efs.sante.fr



efs.sante.fr

2017 ©

Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle.

Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

© Société Française de Transfusion Sanguine