

Titration anti-D (RH1) en gel sur automate IH-500 (Bio-Rad®) : Détermination des seuils de risque d'anémie fœtale et de maladie hémolytique néonatale sévère à partir des résultats d'une cohorte de patientes immunisées suivies à la maternité TROUSSEAU

L. Augier¹, C. Toly-Ndour¹, H. Delaby¹, S. Huguet-Jacquot¹, J. Beaud¹, J. Babinet, P. Maurice², M.G. Guillemain², A. Mailloux¹

¹Service d'hémiologie fœtale et périnatale (Centre National de Référence en Hémiologie périnatale), Hôpital St Antoine - LBM Est Parisien - DMU BIOGEM - AP-HP. Sorbonne-Université.

²UF clinique du CNRHP (Centre National de Référence en Hémiologie périnatale), Hôpital Trousseau - DMU ORIGYNE - AP-HP. Sorbonne-Université.

Contexte: En France, pour les grossesses compliquées par une allo-immunisation anti-D (RH1), la réalisation d'un dosage pondéral est recommandée en complément du titrage en test indirect à l'antiglobuline pour préciser le risque d'atteinte hémolytique fœtale et néonatale. Récemment, une méthode de titrage sur carte gel LISS Coombs a été développée sur l'automate IH-500 par la société Bio-Rad®. Lors de l'évaluation de cette méthode de titrage en 2018, les valeurs des titres anti-D avaient été trouvées en moyenne 3 fois supérieures à celles de la technique de référence en tube. Mais pour un titre donné en tube, les valeurs trouvées en gel pouvaient varier de 2 à 6 dilutions de plus, rendant difficile l'extrapolation de la valeur seuil décisionnelle, établie à 16 en technique tube. Nous avons par ailleurs mis en évidence une corrélation entre les scores de titrage en gel et les valeurs de dosage pondéral, avec la valeur seuil de dosage de 250 UCHP/ml (5 UI/ml, 1 µg/ml) qui semblait correspondre à des scores gel autour de 75 pour l'anti-D.

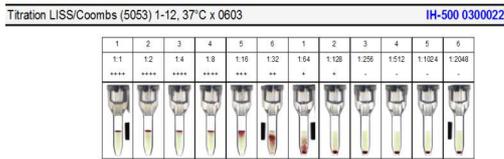
Objectifs: Nous avons cherché à définir les valeurs seuils décisionnelles pour les titres et les scores anti-D en technique gel à partir de données cliniques. Entre le 01/01/21 et le 30/05/22, pour les patientes présentant une immunisation anti-D suivies à la maternité Trousseau à Paris, une extraction des données (titres et scores sur IH-500) a été effectuée à partir du SGL du laboratoire du CNRHP (GLIMS). Le nombre de transfusions fœtales et/ou néonatales, et les taux d'hémoglobine et de bilirubines à la naissance ont été recueillis.

Méthode de titrage en gel sur IH-500

Dilutions automatisées de raison 2 du plasma/serum en « Bio-Rad titration solution ».
Distribution des dilutions dans la carte gel contenant de l'antiglobuline anti-IgG et ajout de la suspension d'hématies test en diluant Bio-Rad (milieu basse force ionique (LISS))
Incubation (15 min à 37°C) / Centrifugation
Lecture en point final 1+ automatisée



Calcul automatisé des scores (Marsh) dans le SGL du laboratoire à partir des cotations faites Par le logiciel de l'IH-500
4+ = 12
3+ = 10
2+ = 8
1+ = 5



Seuils biologiques pour déclencher une surveillance échographique fœtale spécifique à la recherche de signes indirects d'anémie fœtale sévère

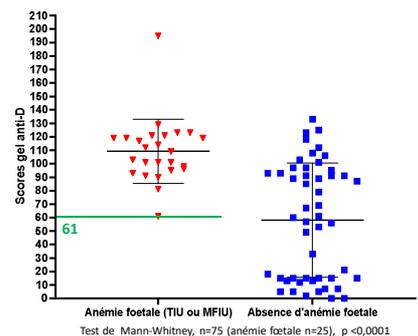
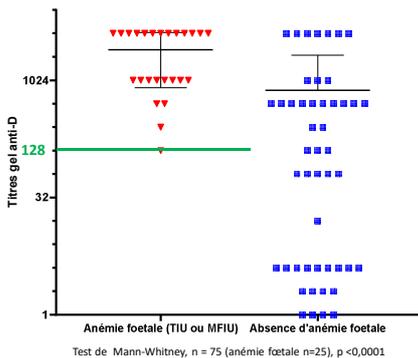
L'hémolyse des hématies fœtales causées par les anticorps anti-D maternels ayant traversé le placenta peut induire une anémie fœtale sévère, qui, sans traitement, peut évoluer vers un état d'anasarque et une mort fœtale *in utero*. Dans les cas d'allo-immunisation importante, définie par un titre des anticorps en Coombs indirect supérieur à 16 et une concentration en anticorps supérieure à 250 UCHP/ml (5 UI/ml), dès 18SA une surveillance échographique fœtale avec mesure du pic systolique de vélocité à l'artère cérébrale moyenne, reflétant indirectement l'anémie, est entreprise de manière hebdomadaire. Ainsi, en cas de signes échographiques d'anémie fœtale sévère, des transfusions *in utero* peuvent être effectuées.



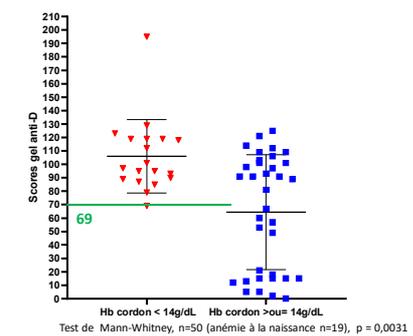
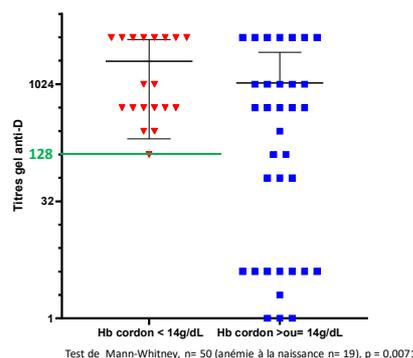
Les titrages et dosages des anti-D permettent également d'évaluer le risque de maladie hémolytique néonatale sévère (anémie néonatale et hyperbilirubinémie) et d'anticiper la prise en charge du nouveau-né (photothérapie, transfusion, exsanguino-transfusion...).

Résultats: 75 patientes ont été suivies. 25 fœtus ont développé une anémie fœtale sévère. Le titre minimum de l'anti-D maternel associé à une anémie fœtale sévère était de 128, avec un score correspondant à 61. Parmi les enfants qui n'avaient pas développé d'anémie fœtale (n=50), sur le bilan effectué à la naissance au cordon, 19 avaient une anémie (hémoglobinémie au cordon < 14g/dl) et 15 une hyperbilirubinémie (bilirubinémie au cordon > 80µmol/l). Les titres et scores minimums associés à une anémie néonatale et à un ictère sévère étaient respectivement de 128 et 69 et 256 et 87.

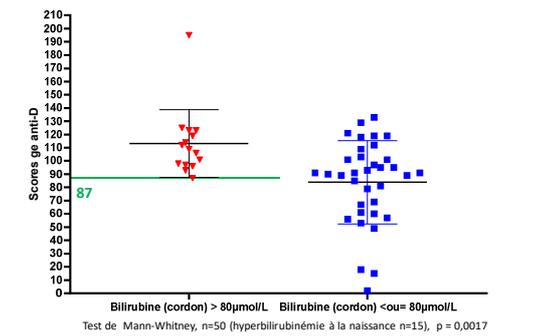
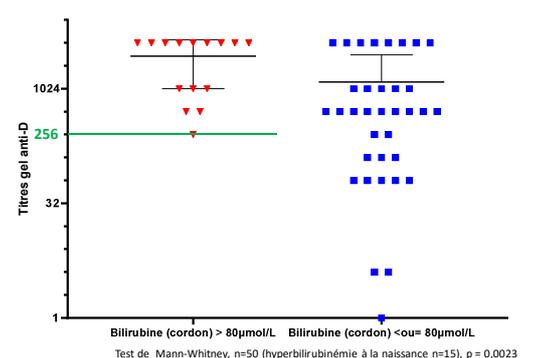
Anémie fœtale



Anémie néonatale



Hyperbilirubinémie néonatale



Conclusion: Pour les grossesses compliquées par une immunisation anti-D maternelle, grâce aux données cliniques, les scores et titres seuils proposés en technique gel automatisée sur IH-500 pour la mise en place d'un suivi échographique fœtal et pour anticiper une maladie hémolytique néonatale sévère ont ainsi pu être établis respectivement à 61 et 128.

Ces résultats concordent, pour le titre seuil, avec la moyenne des 3 dilutions d'écart observées avec la technique tube, et trouvent, pour le score seuil, une valeur légèrement inférieure à celle qui avait été estimée biologiquement par le biais des corrélations.