

Détermination des scores de Marsh en technique de titrage anti-D (RH1) et anti-c (RH4) automatisée sur colonnes à microbilles de verre et corrélation avec les résultats du dosage pondéral

Cécile TOLY-NDOUR¹, Stéphanie HUGUET-JACQUOT¹, Jenny BEAUD¹, Jérôme BABINET¹, Elodie MAENULEIN¹, Christelle MARION¹, Mathieu REGOUBY¹, Agnès MAILLOUX¹

¹ Service d'hémiologie fœtale et périnatale, Centre National de Référence en Hémiologie Périnatale, Hôpital Saint-Antoine, Paris

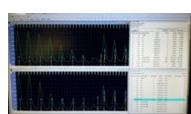
Nous avons cherché à corréler les résultats des scores de Marsh anti-D et anti-c calculés manuellement à partir des intensités de réaction des différents puits dans la technique de titrage automatisée sur colonne à microbilles de verre (QuideIOrtho® VISION MAX) avec les valeurs de dosage pondéral en hémagglutination en flux continu sur auto-analyseurs Astoria (WHS) et Proxima (AMS Alliance) (technique 2 temps).

Dosage pondéral anti-D et anti-c par hémagglutination en flux continu sur auto-analyseur Alliance Evolution III

Méthode décrite dans la Pharmacopée Européenne.

Mesure indirecte de l'intensité de l'agglutination des hématies test bromélinées de phénotype RH:1,2,3,4,5 (D+C+E+c+e+) induite dans le flux continu de l'auto-analyseur en présence des anticorps anti-D (RH1) ou anti-c (RH4) présents dans le plasma/serum des patientes (méthode 2 temps avec de la méthylcellulose comme agent « inducteur de rouleaux »)

Grâce à une gamme d'étalon international de l'OMS (01/572), la concentration en anti-D peut être déterminée en unités locales arbitraires (UCHP/ml) ou en UI/ml (250 UCHP/ml = 5 IU/ml) et la concentration en anti-c en UCHP/ml (conversion en équivalent UI/ml : 500 UCHP/ml ≈ 7,5 UI/ml)



Méthode de titrage sur colonne à microbilles de verre sur automate QuidelORTHO VISION MAX

Dilutions sérielles automatisées de raison 2 du plasma/sérum des patientes (du pur (1/1) à la dilution 1/1024).

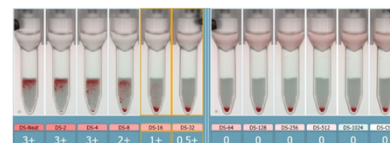
Réactifs : hématies RH:1,2,3,4,5 (D+C+E+c+e+) K+k+ UPR (ref MPO02) mise à la concentration de 0.9% en Red Cell Diluent Biovue)).

Incubation des dilutions du serum/plasma avec la suspension d'hématies pendant 15 min à 37° C au niveau de la chambre réactionnelle des cassettes Biovue anti-human globulin anti-IgG.

Centrifugation et lecture de la réaction par la caméra de l'automate. Interprétation en point final 1+.



Calcul manuel des scores (Marsh):
4+ = 12
3+ = 10
2+ = 8
1+ = 5



Titre 16
score 43

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

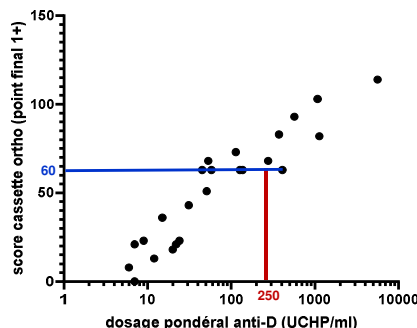
L'hémolyse des hématies fœtales causées par les anticorps anti-D et anti-c maternels ayant traversé le placenta peut aboutir à une anémie fœtale sévère, un état d'anasarque et une mort fœtale in utero. Dans les cas d'allo-immunisation sévère, définie par une concentration en anticorps supérieure à 250 UCHP/ml (5 UI/ml) pour l'anti-D et 500 UCHP/ml (équivalent à 7,5 UI/ml) pour l'anti-c, 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.



Résultats: Respectivement 24 et 25 échantillons de femmes enceintes contenant un anti-D ou un anti-c ont été testés.

Figure 1: Corrélation entre les scores en technique de titrage sur microbilles de verre et les concentrations en anti-D (RH1) obtenues par dosage pondéral

Les échantillons avec des titres > 256 (tube) ou > 1024 (microbilles) n'ont pas été pris en compte

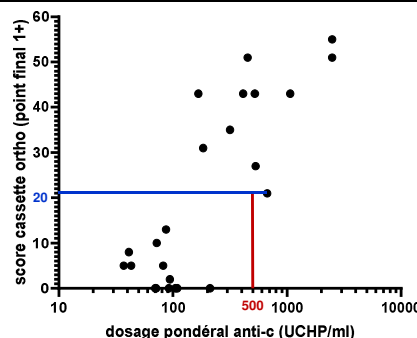


**Corrélation de Spearman score de Marsh cassette et Dosage pondéral 2 temps pour l'anti-D
n= 24, p = 0,0031,
r=0.5774 [0.2268-0.7955]

Les scores de Marsh en technique de titrage sur microbilles de verre sont corrélés de manière significative avec la concentration en anti-D ($p = 0.0031$, $r = 0.58$).

Le score seuils pour l'anti-D correspondant à la concentration seuil de 250 UCHP/ml (5 UI/ml) semble être d'au moins 60 pour la technique sur microbilles de verre

Figure 2: Corrélation entre les scores de titrage sur microbilles de verre avec les concentrations en anti-c (RH4) trouvées par dosage pondéral



***Corrélation de Spearman score de Marsh cassette et Dosage pondéral 2 temps pour l'anti-c,
n= 25, p = 0,0001,
r=0.6868 [0.3899-0.8544]

Les scores de titrage en technique microbilles sont corrélés de manière significative avec la concentration en anti-c obtenue par dosage pondéral ($p = 0.0001$, $r = 0.69$)

Le score seuils pour l'anti-c correspondant à la concentration seuil de 500 UCHP/ml (équivalent 7,5 UI/ml) semble être d'au moins 20 pour la technique sur microbilles de verre.

Conclusion :

Le calcul des scores de Marsh dans la technique de titrage automatisée anti-D et anti-c sur colonne à microbilles de verre montre une corrélation significative avec les valeurs du dosage pondéral, ce qui apporte une valeur ajoutée par rapport à la seule lecture du titre. Des études complémentaires sur un plus grand nombre d'échantillons, appuyées sur des données cliniques, sont à envisager pour consolider et valider ces résultats.