

Place du dosage pondéral dans le suivi de grossesse des patientes allo-immunisées anti-RH1

C. TOLY-NDOUR(1), H. MOURTADA (2), S. HUGUET-JACQUOT (1), C. MARION (1), F. SOURBIER (1), P. THOMAS (2), E. MAISONNEUVE (3), B. CARBONNE (3), A. CORTEY (2), A. MAILLOUX(1)

(1) UF Biologique du Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale (CNRHP)- Pôle Biologie Médicale et Pathologie – Hôpital St Antoine – GH HUEP – APHP – Paris
 (2) UF Clinique du Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale (CNRHP)- Pôle Périnatalité – Trousseau – GH HUEP – APHP - Paris
 (3) Service de Gynécologie Obstétrique - Pôle Périnatalité – Trousseau – GH HUEP – APHP - Paris

Résumé

Contexte : Dans de nombreux pays, le suivi biologique des patientes enceintes allo-immunisées anti-RH1 s'effectue à partir du titrage des anticorps en test indirect à l'antiglobuline. Un titre d'anticorps supérieur ou égal à 16 est classiquement considéré comme à risque d'induire une anémie fœtale sévère. En France, le dosage pondéral des anticorps anti-RH1 par la technique d'hémagglutination en flux continu est réalisable en plus du titrage, notamment au CNRHP.

Objectifs : Apprécier la valeur ajoutée du dosage pondéral des anticorps anti-RH1 en technique 2 temps et 1 temps par rapport à un suivi biologique basé uniquement sur le titrage.

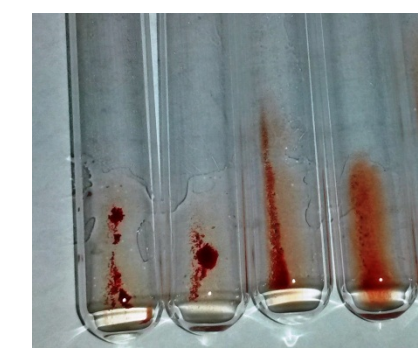
Méthodes : Etude de la sévérité de la maladie hémolytique observée chez le fœtus et/ou le nouveau-né à partir de la cohorte de 110 patientes présentant une allo-immunisation anti-RH1 avec un titre > 16 ayant accouché à la maternité de l'hôpital Trousseau entre 2013 et 2014, à l'aide d'indicateurs biologiques (titre, dosage pondéral, score, taux d'hémoglobine et bilirubinémie à la naissance) et cliniques (recours à la transfusion fœtale, à l'exsanguinotransfusion ou à la transfusion dans le 1^{er} mois de vie).

N=110 patientes → N=86 patientes

Critères d'inclusion:

- Patiente en suivi intégral ou conjoint à la maternité Trousseau
- Immunisation anti-RH1 isolée ou majoritaire
- Titre de l'anti-RH1 en test indirect à l'antiglobuline > ou = à 16
- Génotypage foetal RHD positif (sur plasma maternel)
- Grossesse menée à terme ou déclenchée après 35SA
- Au moins 2 dosages pondéraux effectués en cours de grossesse
- Primo-immunisation anti-RH1 exclue

Analyse statistique (Graph pad Prism): test de Mann-Whitney, test de corrélation de Spearman et test apparié de Wilcoxon (cf infra)
 Seuil de significativité: p < 0,05 (* en rouge) / « tendance » p < 0,10 (en bleu)

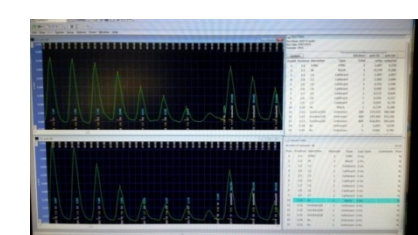


Titration (test indirect à l'antiglobuline) : technique de référence en tube en milieu salin sur différentes dilutions du sérum. Reflet de l'affinité de l'anticorps (fonction de sa concentration et de sa capacité à reconnaître et à fixer l'antigène in vitro)

Score : quantification de la taille des agglutinats à chaque dilution de sérum effectuée lors du titrage

Dosage pondéral : technique automatisée d'hémagglutination en flux continu

Variante 2 temps : prétraitement des hématies de phénotype RH:1,2,3,4,5 par la broméline: mesure de la quantité totale des anticorps



Variante 1 temps : ajout de la broméline dans le circuit: destruction des IgG3 et fixation uniquement des anticorps de haute affinité. Correspond le plus souvent au dosage des IgG1 de haute affinité = anticorps les plus dangereux en antenatal (passent la barrière placentaire efficacement et très précocement (dès 13 SA))

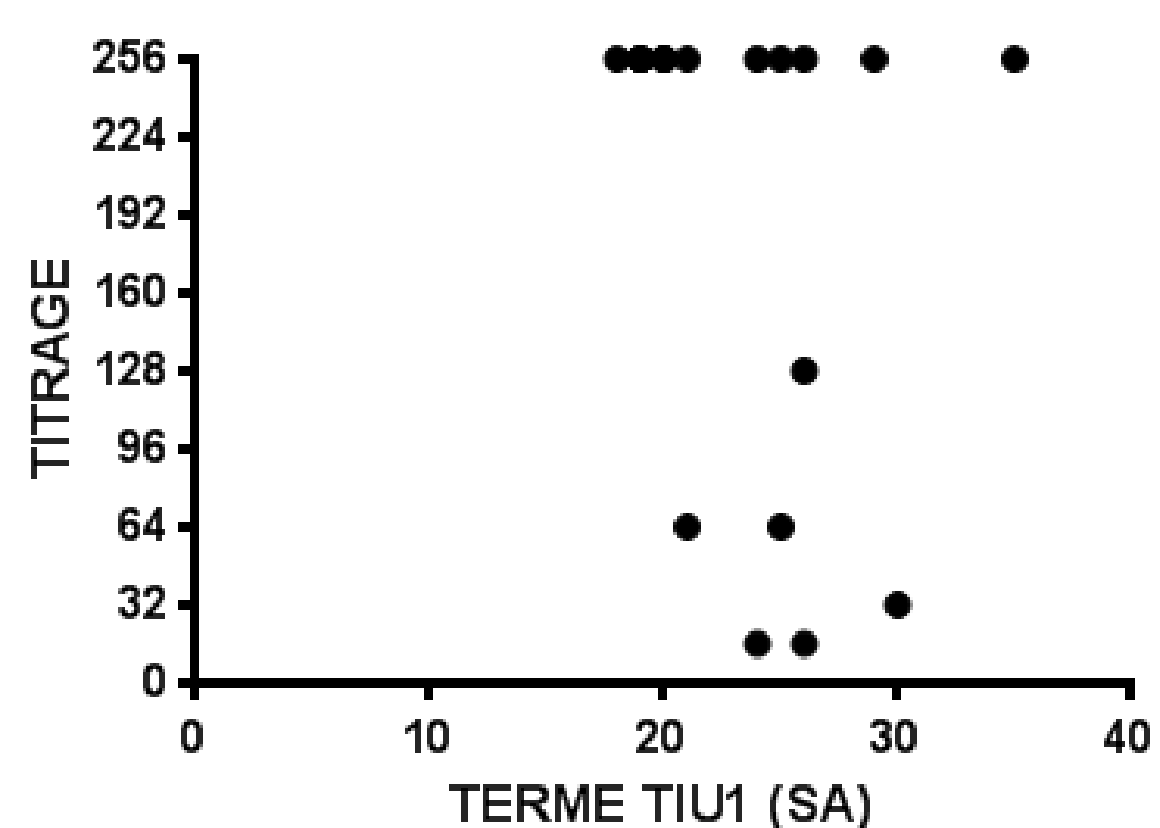
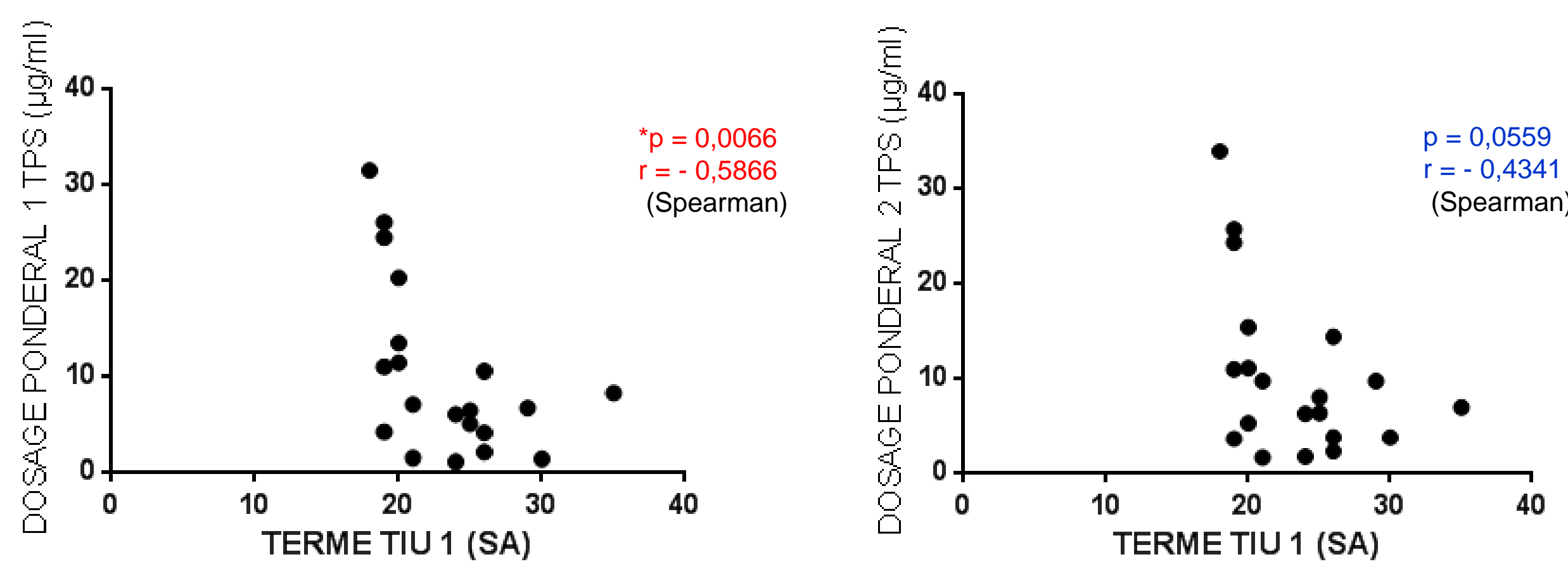
Dosage pondéral titrage et atteinte hémolytique antenatale

	Groupe TIU n= 36 (42%)	Groupe sans TIU n = 50 (58%)	
Dosage pondéral 2 temps **	8,5 µg/ml * (1,6 - 44) soit 42,5 UI/ml (8-220)	3,25 µg/ml (0,45 - 24) soit 16,2 UI/ml (1,3-120,5)	* p = 0,0002 (Mann Whitney)
Dosage pondéral 1 temps **	6,9 µg/ml * (1-31,5) soit 34,35 UI/ml (5,2-157,4)	1,9 µg/ml (0,1 - 21,5) soit 9,3 UI/ml (0,5-107,7)	* p < 0,0001 (Mann Whitney)
Rapport 1 temps / 2 temps **	0,89 * (0,33-3,83)	0,68 (0,09-1,32)	* p = 0,0097 (Mann Whitney)
Titre **	> 256 * (16 - >256) (titre max >256)	64 (16 - >256)	* p < 0,0001 (Mann Whitney)
Score du titrage **	> 86 * (25 - >86) (score max >86)	46 (12 - >86)	* p < 0,0001 (Mann Whitney)
Nombre de TIU	3 (1-7)		
Taux Hémoglobine avant 1 ^{ère} TIU	5.5 g/dl (1,6-14,2)		
Terme 1 ^{ère} TIU	26 SA (18-36)		

** valeurs sur le dernier prélèvement avant la TIU ou l'accouchement / valeur médiane (min-max)
 TIU = transfusion in utero

→ Valeurs du dosage pondéral (1 temps et 2 temps), du titrage, du score et du rapport dosage 1 temps / 2 temps significativement plus élevées dans le groupe TIU.

Corrélation entre le dosage pondéral 1 temps et 2 temps, le titrage et le terme de la 1^{ère} TIU (patientes sans réactivation de l'immunisation n=20)



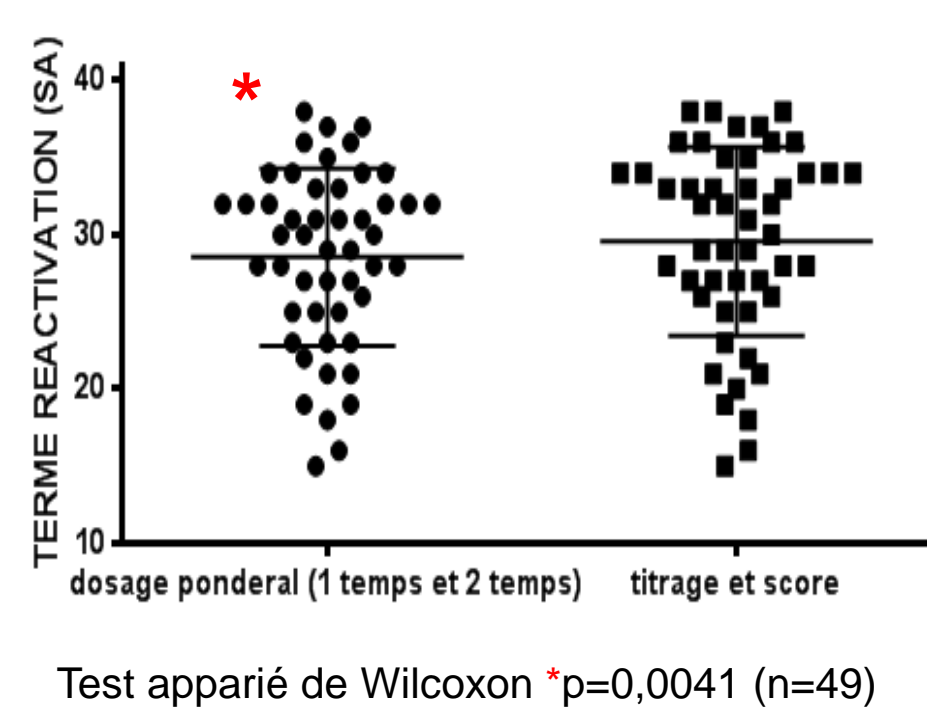
La valeur du dosage pondéral en technique 1 temps est corrélée, de manière significative, à la précocité de l'atteinte fœtale, ainsi qu'au nombre de transfusions in utero réalisées (données non illustrées).

Dosage pondéral titrage et détection des réactivations de l'immunisation

Groupe total n=86	Dosage pondéral	Titration-score
Pourcentage de réactivation**	51/86 (59%)	51/86 (59%)
Terme médian de réactivation**	30 SA (15-38)	32 SA (15-38)
Amplitude de la réactivation***	4,35 (1,2-11000)	

** réactivation si augmentation de la valeur du dosage pondéral ou du score > 30% ou si augmentation du titre de plus de 2 dilutions
 *** calculée uniquement pour la concentration en anticorps (palier à 256 pour le titrage)

Le suivi par dosage pondéral permet de détecter plus précocement les réactivations que le suivi par titration-score (détection en moyenne 1 semaine plus tôt)



Dosage pondéral titrage et atteinte hémolytique postnatale

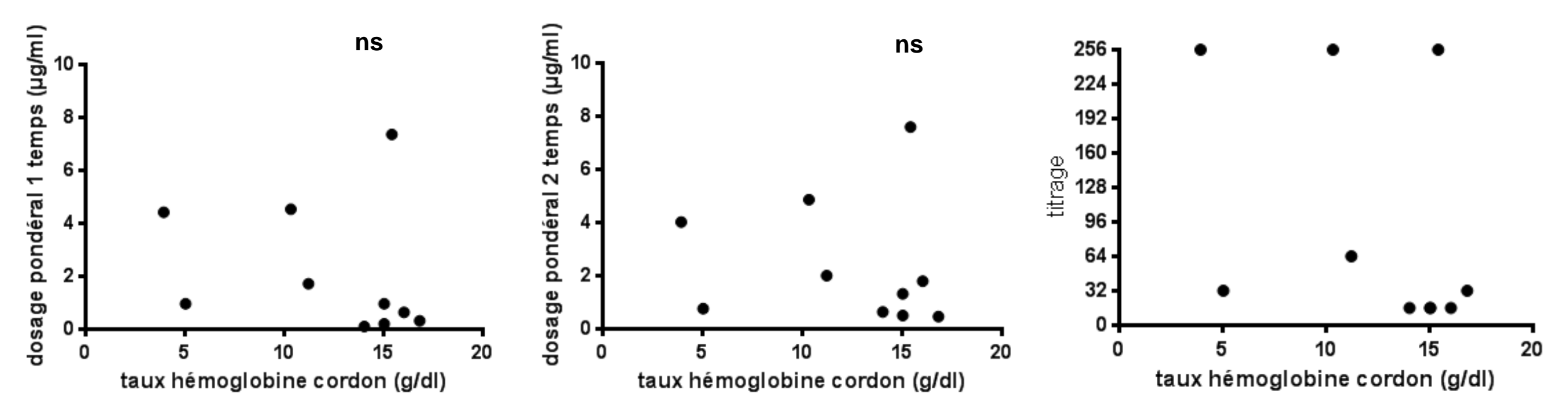
Grossesses sans transfusion in utero avec données transfusionnelles postnatales disponibles n=29

	Groupe transfusion post natale n=21 (72%) dont 2 ET	Groupe sans transfusion postnatale n=8 (28%)	
Dosage pondéral 2 temps **	4,3 µg/ml * (1 - 24) soit 21,4 UI/ml (5-120)	1,3 µg/ml (0,5 - 7,2) soit 6,7 UI/ml (2,5-36)	*p = 0,0059 (Mann Whitney)
Dosage pondéral 1 temps **	3,4 µg/ml * (0,15-19,1) soit 17 UI/ml (0,8-95,4)	0,7 µg/ml (0,1 - 2,35) soit 3,4 UI/ml (0,5-11,7)	*p = 0,0024 (Mann Whitney)
Rapport 1 temps / 2 temps **	0,82 (0,11-1,32)	0,36 (0,16-1)	p = 0,0927 (Mann Whitney)
Titre**	128 * (16 - >256) (titre max >256)	32 (16 - 128)	*p = 0,0039 (Mann Whitney)
Score **	49* (22 - >86) (score max >86)	30 (14 - 65)	*p = 0,0024 (Mann Whitney)
Terme accouchement	37 SA +1 j (34 +1 -39 + 2)	37 SA +3j (35+1-40)	p = 0,06 (Mann Whitney)
Taux Hémoglobine cordon	11,1 g/dl (3,9-16,9)	15 g/dl (12,8-16)	*p = 0,0025 (Mann Whitney)
Taux bilirubine cordon	69 µmol/l* (23-140)	36 µmol/l (30-54)	
Nombre moyen de TS ou d'ET par enfant	1 (1-5)		
Age 1 ^{ère} TS ou ET	11 jours (0-30)		

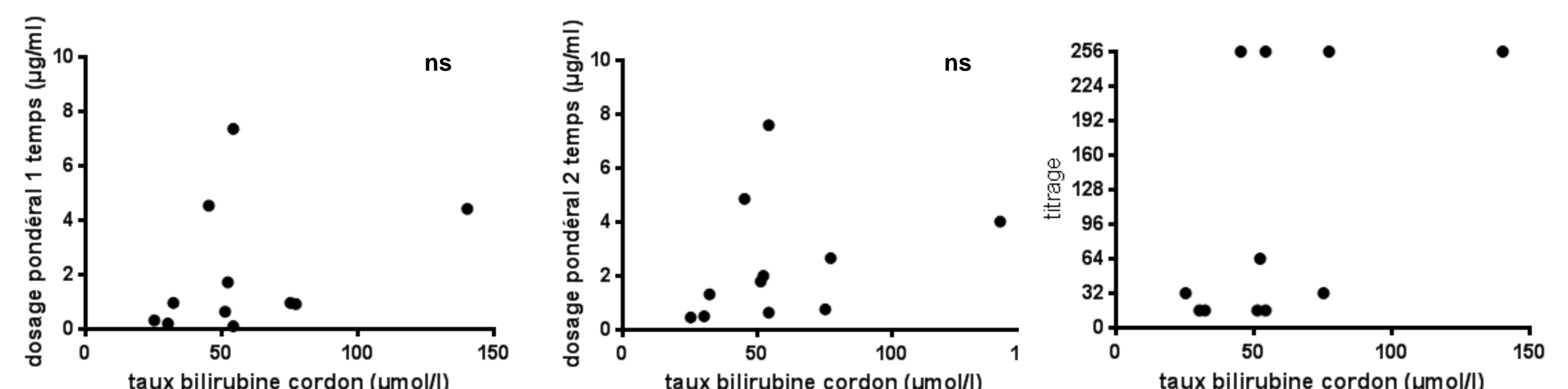
** valeurs sur le dernier prélèvement avant l'accouchement / valeur médiane (min-max)
 TS= transfusion simple / ET = exsanguino-transfusion

→ Valeurs du dosage pondéral (1 temps et 2 temps), du titrage et du score significativement plus élevées dans le groupe transfusion postnatale.

Corrélation entre le dosage pondéral 1 temps et 2 temps, le titrage et le Taux d'hémoglobine au cordon (patientes sans réactivation de l'immunisation avec données disponibles n=10)



Corrélation entre le dosage pondéral 1 temps et 2 temps, le titrage et le Taux de bilirubine au cordon (patientes sans réactivation de l'immunisation avec données disponibles n=11)



Test statistique: Corrélation de Spearman

Pas de corrélation significative quelque soit le paramètre ni avec la sévérité de l'ictère ou de l'anémie à la naissance ni avec le nombre de transfusions réalisées en postnatal (données non montrées). Mais faible taille de l'échantillon: à confirmer sur un plus grand nombre de données.

Résultats : Nos résultats montrent la supériorité d'un suivi biologique basé sur des dosages pondéraux couplés à des titrages, comparativement à un suivi basé sur des titrages seuls pour identifier les grossesses à risque (meilleure corrélation avec la sévérité de l'atteinte fœtale et détection anticipée des réactivations). Ils confirment aussi l'intérêt de la valeur du dosage pondéral en technique 1 temps, valeur peu souvent prise en compte, en tant qu'indicateur d'un risque hémolytique majoré en antenatal.

Conclusion : Dans le cadre du suivi des patientes enceintes avec allo-immunisation anti-RH1 sévère, le dosage pondéral des anticorps (techniques 2 temps et 1 temps) permet une approche plus fine des conséquences cliniques de l'immunohémolyse chez le fœtus et le nouveau-né.