

Recherche et quantification de l'hémorragie fœto-maternelle par cytométrie en flux avec double marquage anti-hémoglobine F et anti-anhydrase carbonique

Introduction

But : Evaluer la technique de détection et quantification de l'hémorragie fœto-maternelle (HFM) par cytométrie en flux (CMF), à l'aide d'un kit

utilisant un double marquage anti-hémoglobine fœtale (anti-HbF) et anti-anhydrase carbonique (anti-AC).

Méthode

L'anticorps anti-HbF est dirigé contre l'hémoglobine fœtale exprimée dans les érythrocytes fœtaux, et dans un faible pourcentage d'hématies adultes. En cas d'augmentation de l'HbF chez l'adulte, la recherche d'HFM à l'aide d'un réactif anti-HbF seul ou par technique cytochimique de Kleihauer peut être ininterprétable. L'utilisation d'un deuxième anticorps anti-AC présente alors tout son intérêt car l'expression de l'anhydrase carbonique est limitée aux hématies adultes.

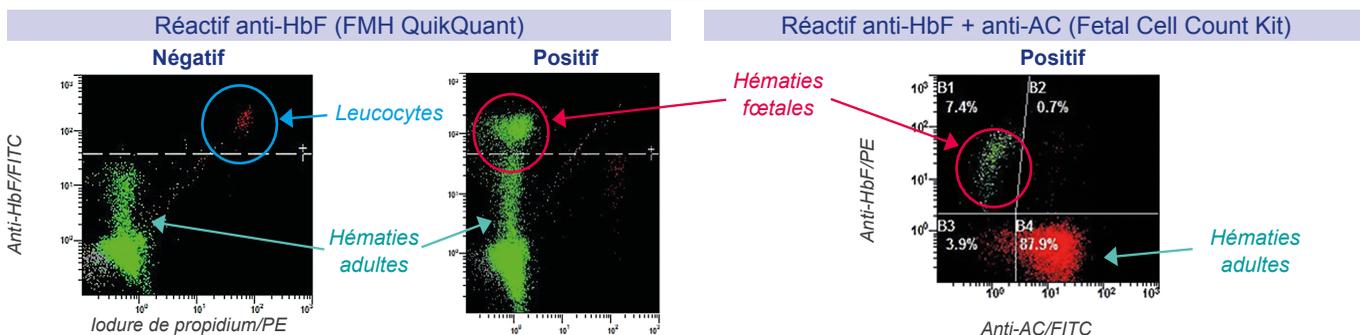
29 prélèvements de sang total EDTA de femmes enceintes, dont 22 présentent un résultat ininterprétable et 7 un résultat positif avec le réactif de routine anti-HbF FMH QuikQuant (IQ Products) ont été testés avec le réactif Fetal Cell Count Kit (IQ Products), sur cytomètre en

flux Navios, Beckman-Coulter. L'acquisition est effectuée sur 100 000 évènements.

Les contrôles internes de qualité FetalTrol, IQ Products (1 niveau négatif et 1 niveau positif fort) sont utilisés pour encadrer les séries. Le contrôle positif fort permet de définir les régions (hématies adultes/hématies fœtales). Le CV maximum acceptable a été défini à 15% pour ce niveau positif fort.

En parallèle : réalisation d'une électrophorèse capillaire de l'hémoglobine chez toutes les patientes présentant un résultat ininterprétable avec le réactif FMH QuikQuant.

Résultats



L'iode de propidium est utilisé pour exclure les cellules nucléées qui génèrent une autofluorescence.

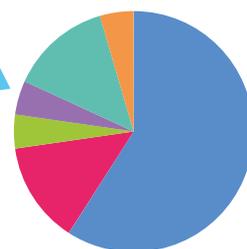


Comparaison des 2 réactifs de cytométrie en flux

	Marquage anti-HbF/iode de propidium (Kit FMH QuikQuant)	Marquage anti-HbF/anti-AC (kit Fetal Cell Count)
N = 22 échantillons	Résultat ininterprétable	<0,06 %
Échantillon positif n°1	7,84 %	6,63 %
Échantillon positif n°2	1,47 %	1,77 %
Échantillon positif n°3	0,96 %	1,40 %
Échantillon positif n°4	0,16 %	0,10 %
Échantillon positif n°5	5,51 %	7,40 %
Échantillon positif n°6	3,31 %	4,22 %
Échantillon positif n°7	0,12 %	0,13 %

Electrophorèse de l'hémoglobine des 22 patientes présentant un résultat ininterprétable avec le réactif anti-HbF QuikQuant

- Tracé électrophorétique normal (n=13)
- Bêta-thalassémie mineure (n=3)
- PHHF ou delta-bêta thalassémie (n=1)
- Trait drépanocytaire (A/S, n=1)
- Augmentation acquise HbF liée à la grossesse (n=3)
- Mutant delta (n=1)



Les résultats sont exprimés en % d'hématies fœtales dans la circulation maternelle.

Le seuil de positivité de la méthode est de 0,06% (soit environ 3 mL de sang fœtal).

Conclusion

+ Ce kit est intéressant en 2^{ème} intention chez les patientes présentant un premier résultat ininterprétable avec le réactif anti-HbF (notamment chez les patientes RH:1 pour lesquelles l'utilisation d'un réactif anti-D en CMF n'est pas possible). Chez ces patientes, il peut être par ailleurs conseillé de compléter le bilan par une électrophorèse de l'hémoglobine en l'absence d'antécédent (27% de patientes présentant une hémoglobinopathie dans notre série).

- Réactif non utilisable en 1^{ère} intention car le conditionnement du kit n'est pas adapté à notre activité de routine (seulement 25 tests/kit) et le réactif est par ailleurs coûteux. Temps technicien nécessaire : environ 2h