

E-Poster 00187 :Exploration du complément: quel substrat choisir pour le dosage ?

S. Rouhi, J. Belkhair, S. Abbassi, S. Ed-Dyb 1, B. Admou.
Service d'Immunologie de Chu Mohammed 6 de Marrakech

Introduction

Le Complément est impliqué dans de nombreuses affections inflammatoires et infectieuses. Ainsi, une hypocomplémentémie peut être un indicateur essentiel de l'activité de plusieurs pathologies et peut diriger les stratégies thérapeutiques.

Le dosage des protéines du complément est très délicat, nécessitant une manipulation adéquate des échantillons pour éviter leur activation in vitro lors de la phase pré-analytique.

objectifs

Notre étude vise l'évaluation de l'effet des conditions pré-analytiques locales sur le dosage des fractions C3 et C4 du complément.

Méthodes

- Il s'agit d'une étude comparative portant sur 11 demandes de dosage du complément, colligées au niveau du laboratoire d'immunologie du CHU de Marrakech
- Le sang a été prélevé sur 2 tubes, un tube sec (sérum) et un tube EDTA (plasma), les échantillons étaient acheminés au laboratoire en moins de 2 heures, centrifugés pdt 10 min à une fréquence de 3000 tour/min avant d'être analysés
- Le dosage des fractions C3 et C4 s'est fait par technique de Néphélométrie (BN prospec, Siemens).
- Le dosage de C3 et C4 a été réalisé selon 3 modalités:
 - Au moment de réception des échantillons T0 sur tube sec ou tube EDTA.
 - Dosage sur tube EDTA conservé à +4°C pendant 24h : T1.
 - Dosage sur tube EDTA conservé à +4°C pendant 48h : T2.

Résultats

	C3 (P1)	C3 (S1)	DIFFERENCE
E1	0,9	0,911	1,20%
E2	0,559	0,592	5,90%
E3	0,999	1,16	16,10%
E4	1,28	1,37	7,03%
E5	0,744	0,895	20,20%
E6	1,16	1,24	6,80%
E7	0,516	0,649	25,70%
E8	0,47	0,49	4,20%
E9	0,581	0,654	12,50%
E10	1,42	1,586	11,60%
E11	0,499	0,619	24%
Moyenne	0,829	0,924	11,30%

Comparaison résultats entre sérum et plasma à T0

	C4 (P1)	C4 (S1)	DIFFERENCE
E1	0,409	0,432	5,60%
E2	0,277	0,287	3,60%
E3	0,299	0,312	4,30%
E4	0,294	0,308	4,70%
E5	0,208	0,236	13,40%
E6	0,307	0,323	5,20%
E7	0,251	0,274	9,10%
E8	0,06	0,071	18,30%
E9	0,153	0,179	16,90%
E10	0,44	0,485	10,20%
E11	0,283	0,292	3,10%
Moyenne	0,271	0,290818	7,30%

Comparaison résultats entre sérum et plasma à T0

- ✓ Le dosage des protéines du complément à T0 a objectivé des concentrations de C3-C4 plus élevées au niveau du sérum qu'au niveau du plasma
- ✓ Le dosage à T1 a montré la stabilité des concentrations plasmatiques de C3-C4 après conservation à +4^o pendant 24h.
- ✓ Le dosage à T2 a montré l'ascension des concentrations de C3-C4 au bout de 48h de conservation.

Discussion

- ✓ La différence des concentrations de C3-C4 entre le sérum et le plasma est dû à l'activation du système du complément au cours de la coagulation [1], ce phénomène est bloqué par l'activité chélatrice de l'EDTA vis-à-vis le Calcium et le Magnésium.
- ✓ Au niveau du plasma, les concentrations de C3-C4 sont stables au cours des 1^{ers} 24h, si les échantillons sont conservés à +4^oC. Au-delà de 24h, on assiste à une ascension des concentrations de C3-C4 par activation du système du complément.[2]
- ✓ En effet, les anticorps utilisés sont des anticorps polyclonaux reconnaissant des produits de fragmentation du complément C3c/iC3b et C3dg, ce qui explique l'augmentation progressive des concentrations mesurées au cours du stockage. [3]

Références

1. Yang S., McGookey M., Wang Y., Cataland S. R. & Wu H. M. Effect of blood sampling, processing, and storage on the measurement of complement activation biomarkers. American journal of clinical pathology 143, 558–565
2. MOLLNES, T.E, GARRED & G, P (1988) Effect of time, temperature and anticoagulants on in vitro complement activation: Consequences for collection and preservation of samples to be examined for complement activation. Clin. exp. Immunol. 73, 484-488
3. Harboe M, Thorgersen EB, Mollnes TE. Advances in assay of complement function and activation. Adv Drug Deliv Rev. 2011;63:976–987.