

## TEST D'UN ALGORITHME DE CALCUL DU MICROTITRAGE ANTI-RH1 AUTOMATISÉ SUR IH-500 (Bio-Rad®)

Jenny BEAUD, Lance AUGIER, Stéphanie HUGUET-JACQUOT, Cécile TOLY-NDOUR, Hélène DELABY, Agnès MAILLOUX

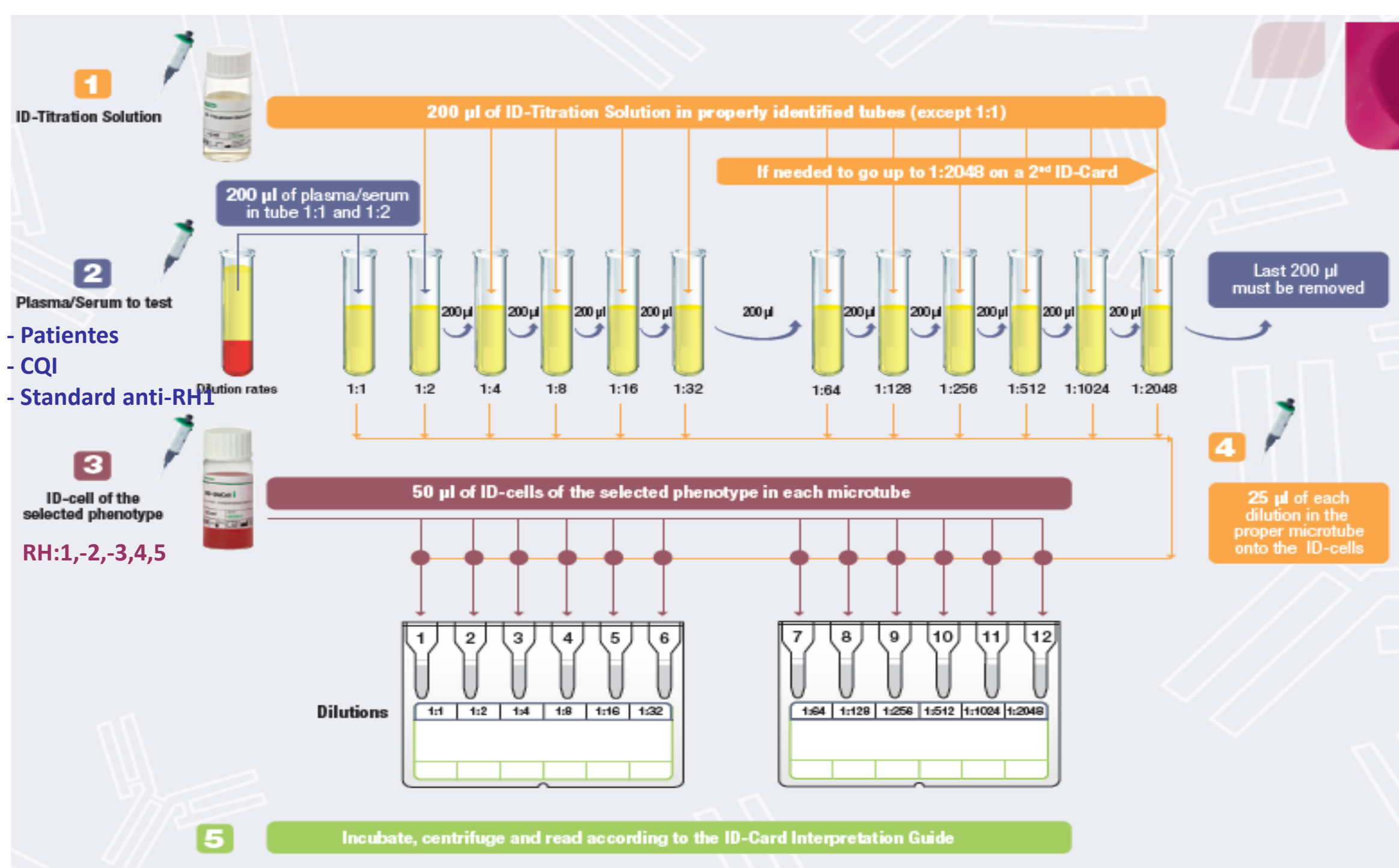
Service d'hémobiologie fœtale et périnatale (CNRHP) - DMU BioGeM - AP-HP - Sorbonne Université Site Saint-Antoine, 184 rue du Faubourg St Antoine 75012 PARIS

**Contexte :** Le microtitrage (MT) anti-RH1, test indirect à l'antiglobuline en support gel sur hématies RH:1,-2,-3,4,5 (R0r) papainées, permet de quantifier les faibles taux d'anti-RH1 grâce à une gamme de standard anti-RH1. Mis au point au CNRHP en 1999, cet examen permet de différencier la nature passive (suite à une injection de gammaglobulines anti-RH1 (IgRH)) ou immune d'un anti-RH1 circulant chez la femme enceinte. Son automatisation sur l'IH-500 (Bio-Rad®) a été validée par le CNRHP en 2018. La seule étape encore « manuelle » était le calcul final de la concentration anti-RH1. L'objectif de cette étude était de valider un algorithme de calcul automatisé de cette concentration dans le but de minimiser l'intervention de l'opérateur.

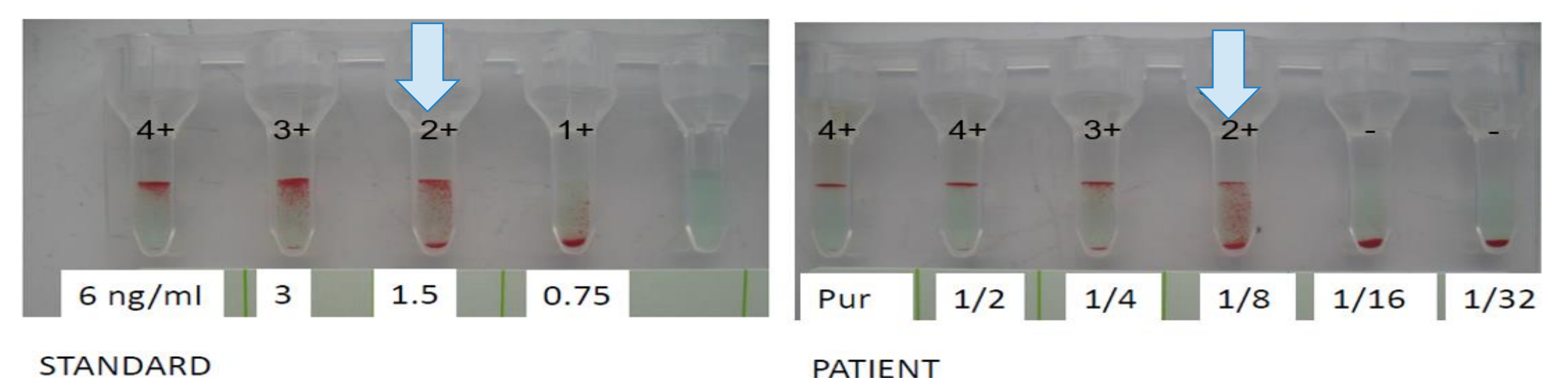


**Matériels et méthodes :** La concentration anti-RH1 est déterminée par le calcul de référence (CNRHP) suivant : inverse de la dernière dilution positive de l'échantillon multipliée par la concentration du standard avec la même intensité d'hémagglutination (jusqu'à l'intensité +/-). L'algorithme (paramétré sur le logiciel IH-Com) utilise ce calcul en ne tenant compte que des intensités 1+. Les MT ont été réalisés sur l'IH-500 à partir des plasmas de patientes du CNRHP (dont on connaissait la valeur du MT en technique de référence (Tecan)). Nous avons comparé les concentrations calculées par l'algorithme avec dans un premier temps celles calculées par l'opérateur avec le calcul de référence, puis dans un deuxième temps avec celles connues en technique de référence (Tecan).

### Protocole de microtitrage anti-RH1 sur IH-500 (Bio-Rad®)



### Calcul de référence du microtitrage anti-RH1 (CNRHP)



Concentration approchée =  $8 \times 1,5 = 12 \text{ ng/mL}$

Concentration en anti-RH1 =

Inverse de la dernière dilution réactive de l'échantillon

x Concentration de la dilution du standard avec la même intensité de réaction

**Résultats :** L'algorithme n'a pas réalisé les calculs de 17 MT sur 40. Ce problème s'est notamment posé quand l'intensité de la dernière dilution réactive de l'échantillon était différente de 1+ (cf tableau). Afin d'exploiter les résultats non rendus et pouvoir faire notre étude comparative avec la méthode de calcul de référence, nous avons appliqué la règle de l'algorithme en ne prenant compte dans le calcul que des réactivités 1+. Sur les 40 plasmas testés, la méthode de calcul de l'algorithme sous-estimait légèrement la concentration anti-RH1 par rapport à la méthode de calcul de référence (ratio Bland-Altman = 0.81 IC95% [0.3-1.3], Wilcoxon  $p < 0.0001$ ). Nous avons également remarqué que si les 2 dernières dilutions positives du standard étaient interprétées avec la même intensité de réaction 1+, les concentrations anti-RH1 de la série étaient rendues sous forme d'intervalle de concentration parfois trop importants (rendant difficile l'interprétation du MT). Il existe un potentiel impact clinique à rendre les résultats de MT avec cette première version de l'algorithme car les concentrations anti-RH1 qu'il calcule et celles obtenues par la technique de référence (Tecan) varient pour certaines de plus d'1 dilution (ratio Bland-Altman = 0.43 IC95% [0.2-0.7], Wilcoxon  $p < 0.0001$ ).

Résultat rendu par l'algorithme (IH-Com)	« Inconnu »	« Inconnu »	« Attention: des lots différents ont été utilisés! »
Contexte	Dernière dilution réactive de l'échantillon ou de l'anti-D Reference avec intensité 2+ ou 3+ (n = 8)	Le puit au pur de l'échantillon réactif avec une intensité +/- (n = 1)	Pas de résultat si des lots différents d'hématies-tests étaient utilisés dans une même série (n = 8)

**Conclusion :** Le calcul réalisé par cette première version de l'algorithme semble sous-estimer le microtitrage anti-RH1 des échantillons de patientes testées, ce qui peut avoir un impact clinique si une alloimmunisation anti-RH1 est suspectée (risque de sous-diagnostic). Quelques obstacles de paramétrage rendent l'intervention de l'opérateur encore nécessaire pour l'interprétation et le calcul.

**Perspectives :** Pour une prochaine version de l'algorithme, afin de coller maximum à l'objectif, l'opérateur ne devra intervenir que dans la modification des intensités de réaction du standard « anti-D Reference » dans les cas où l'IH-Com interprétait la ou les dernières dilutions réactives avec des intensités différentes de 1+. En revanche, afin de déployer et faciliter son utilisation à d'autres laboratoires, l'opérateur ne devra idéalement pas modifier l'interprétation des réactions des dilutions des plasmas de patientes. Il serait intéressant qu'une prise en compte des hémagglutinations +/- soit étudiée. Une nouvelle version du logiciel sera testée prochainement sur un plus grand nombre d'échantillons et avec un panel de concentrations anti-RH1 plus important.

