

## Logiciel IH-AbID : Une aide précieuse pour l'identification des anticorps irréguliers

La recherche et l'identification des anticorps irréguliers demandent une attention particulière, dictée tant par l'importance immédiate de dépister une éventuelle incompatibilité transfusionnelle ou fœto-maternelle, que par la large place des techniques manuelles à mobiliser.

En constante recherche d'amélioration de ses pratiques, le laboratoire Cerballiance de la Digue a souhaité améliorer sa paillasse d'immuno-hématologie (*Encadré 1*). Pour ce faire, le Dr Delphine Loze, biologiste référente du poste de travail d'immuno-hématologie, a pu tester le nouveau logiciel IH-AbID de la société Bio-Rad et a accepté de partager son expérience.

### Encadré 1



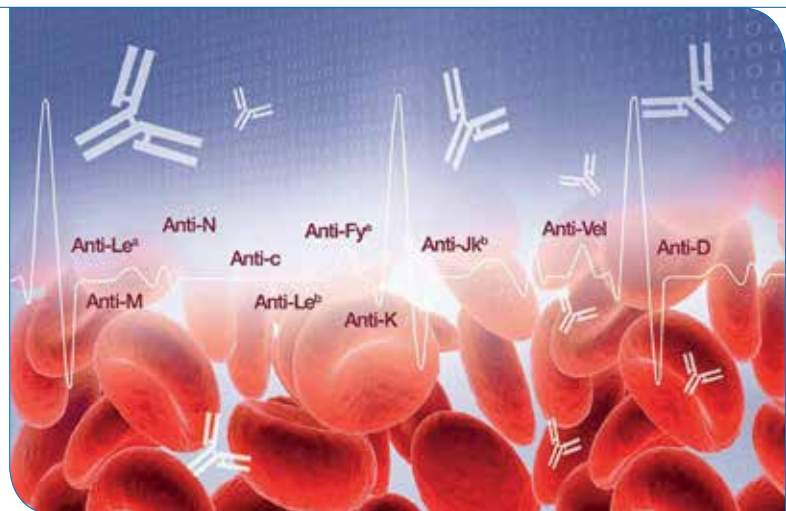
### Le laboratoire Cerballiance

Créé en 1948, Cerballiance Hauts-de-France fort de ses 22 sites répartis sur la métropole Lilloise et le Hainaut, est engagé dans la norme qualité NF ISO 15189 avec pour motivation le respect des bonnes pratiques.

Cerballiance offre aux biologistes, médecins et patients un panel très large de plus de 2000 analyses couvrant toutes les spécialités médicales.

Quatre sites dédient plus particulièrement leurs activités de biologie médicale pour divers établissements de soins, soit pour plus de 1 200 lits. Grâce à ses domaines d'expertise, le laboratoire réalise également des analyses spécialisées confiées par des laboratoires de la région Nord Pas-de-Calais.

L'équipe des biologistes du laboratoire est particulièrement attentive à l'accueil et à l'information du patient ainsi qu'au dialogue clinico-biologique, mis en place notamment au travers de réunions scientifiques et de bulletins d'informations mensuels.



Le dépistage et l'identification des anticorps irréguliers sont indispensables afin d'assurer la prévention et le diagnostic des incompatibilités anti-érythrocytaires lors des transfusions ainsi que la surveillance des incompatibilités fœto-maternelles érythrocytaires non ABO. Pour ce faire, le laboratoire Cerballiance de la Digue a choisi de réaliser ces analyses grâce à l'automate IH-1000 de la société Bio-Rad.

Afin d'améliorer leurs performances sur cette paillasse, le laboratoire a testé le nouveau logiciel IH-AbID de la société Bio-Rad. Intégré au système informatique IH-Com de l'IH-1000, le logiciel IH-AbID permet d'aider à la détermination des anticorps irréguliers (AI), en se basant sur les tests de recherche des anticorps irréguliers (RAI) et les tests d'identification de ces anticorps. Cette nouvelle méthode a été installée sur l'automate IH-1000, validée par les techniciens de laboratoire sur l'automate et peut également être utilisée manuellement notamment pour des tests complémentaires ne pouvant être réalisés sur l'automate.

### I - Etude du nouveau logiciel

L'étude du système a été réalisée à partir de 40 dossiers de patients ayant une RAI positive chez qui une identification des anticorps irréguliers a donc été réalisée. Les résultats obtenus depuis le logiciel IH-AbID (interprétation automatique) ont été comparés aux résultats obtenus manuellement par les techniques actuellement utilisées seules au laboratoire (interprétation manuelle).

### II - Matériels et méthodes

#### 1. Matériels

Une réaction positive au dépistage des AI impose de les identifier, à l'aide d'un lot de 11 hématies spécifiques. Il peut s'avérer utile, voire indispensable, d'utiliser également le panel 6+ ou les techniques dites enzymatiques (papaïne) notamment en cas de difficulté d'identification (association d'allo-anticorps) et lors des étapes de diagnostic biologique des accidents immuno-hémolytiques transfusionnels.

Les réactifs utilisés, marqués de la norme CE, sont les cartes gels liss/Coombs, les cartes gels Papaïne, les héma-

ties ID-Diacell I-II-III ainsi que les hématies ID-Diapanel. La composition et le choix des sangs de contrôles suivent les recommandations de l'arrêté de mai 2018.

Les analyses sont effectuées sur l'automate IH-1000 de la société Bio-Rad, un automate d'immuno-hématologie dédié aux déterminations des groupes sanguins et des phénotypes, aux Coombs directs, à la détection d'anticorps irréguliers (RAI) et à leur identification (Encadré 2).

### IH-1000 de Bio-Rad

Le dépistage et l'identification des AI sur IH-1000 sont basés sur la réaction de Coombs indirecte sur colonnes de gel filtration effectuée sur sang total.

L'automate prépare les 3 puits (en dépistage) ou les 11 puits (en identification) en cartes gel LISS/Coombs avec les hématies tests. Le plasma du patient est ensuite pipeté et mis au contact des hématies-tests dans les microtubes des cartes.

Pour l'identification, un 12<sup>e</sup> puits sert à l'autocontrôle, non plus avec le plasma du patient mais avec ses hématies. En cas d'auto-agglutination dans ce puits, le reste ne peut être interprété. L'autocontrôle doit toujours être négatif, sinon cela démontre la production par le patient d'auto-anticorps.

Grâce au module de lecture de l'IH 1000, le logiciel IH-Com propose la photo de chaque micropuits, ainsi que le résultat associé à l'intensité de l'agglutination.

Enfin, le logiciel IH-AbID de la société Bio-Rad est un module logiciel optionnel de l'IH-Com. Il fournit à l'utilisateur une aide et des informations pour l'identification des anticorps dirigés contre les antigènes érythrocytaires.

Il aide à l'identification des anticorps, sans fournir d'interprétation diagnostique : la décision finale reste à l'utilisateur. En effet, si le logiciel IH-AbID peut aider, structurer le processus et en automatiser les étapes, il ne peut pas remplacer les connaissances et l'expérience du technicien de laboratoire. Pour l'utiliser, il faut y intégrer les informations des panels (dépistage et identification). Les résultats sont présentés selon un code couleur et un classement des anticorps dans

un ordre précis, rendant la proposition du logiciel IH-AbID traçable pour l'utilisateur (Figure 1A) :

- à gauche et en jaune le ou les anticorps les plus probables
- au milieu et en orange le ou les anticorps non exclus
- à droite et en rouge les anticorps exclus.

### 2. Méthodes

Les résultats obtenus grâce au logiciel IH-AbID ont été comparés à ceux déterminés manuellement, selon la même méthode que celle utilisée par l'IH-1000.

Rappelons que des méthodes d'identification complémentaires sont possibles si la méthode classique à 37 °C ne permet pas l'identification :

- la même méthode réalisée à 4 °C, car certains anticorps sont plus actifs à froid,
- un panel d'hématies en papaine,
- un panel d'hématies 6+, de 6 hématies complémentaires.

Ces techniques complémentaires peuvent être réalisées par l'automate.

### III - Résultats et discussion

La comparaison systématique des résultats obtenus par interprétation du logiciel IH-AbID aux résultats interprétés après techniques manuelles et automatiques (résultat attendu) sur une série de 15 jours d'étude, a montré une concordance parfaite pour 39 des 40 cas étudiés. Un seul cas de discordance d'interprétation a été relevé : pour ce patient, l'anti-D révélé par les techniques manuelles et automatiques n'a pas été détecté avec certitude par l'IH-AbID.

Le logiciel IH-AbID a donc pu réaliser l'identification de l'anticorps irrégulier présent dans 97,5 % des cas, soit une grande performance par rapport aux techniques manuelles qui présentent également des risques.

La seule discordance, ainsi qu'une seconde décelée ultérieurement à cette étude, sont intéressantes à étudier pour mieux comprendre les atouts de ce logiciel IH-AbID.

Figure 1A

	C	Fya	D	E	Jka	Jkb	Lea	M	N	S	s	Xpa	Ce	K	Fya	Lus	Dia	Wra	c	e	
1 ID-DiaPanel 1*	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
2 ID-DiaPanel 2	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	0	0	0	0	+	+
3 ID-DiaPanel 3	0		+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
4 ID-DiaPanel 4*	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0	+	0	0	0	+	+	+
5 ID-DiaPanel 5	0	+	0	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+
6 ID-DiaPanel 6	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	0	0	0	+	+	+
7 ID-DiaPanel 7	0		0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+	+
8 ID-DiaPanel 8	0		+	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+	+
9 ID-DiaPanel 9	0		0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+	+
10 ID-DiaPanel 10	0	+	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+	+
11 ID-DiaPanel 11	0	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	0	0	0	+	0	0	0	+	+	+

**1. Premier cas**

Dans le premier cas, le logiciel IH-AbID n'a certes pas pu déterminer avec exactitude la présence de l'anticorps anti-D, mais ne l'a pas exclu non plus : le logiciel IH-AbID a considéré sa présence comme « hypothétique », tout comme les anticorps anti-K, anti-Kpa, anti-C, anti-Lea et anti-Lua (Figure 1B). La présentation des résultats montre d'ailleurs qu'il ne manquait que les résultats du puits 2 pour conclure à la présence de l'anticorps anti-D. C'est donc par manque d'informations que le logiciel IH-AbID n'a, ici, pas pu trancher.

Par expérience, la technicienne de laboratoire a pu conclure à la présence de l'anticorps anti-D, même en l'absence des résultats du puits 2 du panel. Pour s'en assurer, le choix s'est porté sur la technique classique réalisée manuellement, et les résultats ont décelé la présence de l'anticorps anti-D recherché. Celui-ci s'est révélé n'être

que très légèrement positif, et dans ce cas la lecture par le logiciel IH-AbID peut ne pas être optimale.

**2. Second cas**

Ultérieurement à l'étude, un second cas de discordance a eu lieu en présence d'un mélange d'anticorps irréguliers, tels qu'ils s'en présentent chez des patients polytransfusés. La RAI et l'identification ayant été réalisées isolément, le logiciel IH-AbID ne disposait que des résultats de l'étape d'identification, et a conclu à la présence des anticorps anti-C et anti-Fya, en lieu et place du mélange anti-K et anti-Fya.

Dans un premier temps, l'observation des résultats sur les 3 puits de dépistage ainsi que sur les 11 puits d'identification, montre que l'intensité des agglutinations dans les micro-puits est très variable, ce qui est en faveur de la présence d'un mélange de deux anticorps irréguliers chez ce patient (Figure 2).

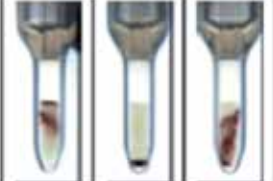
Figure 1B

		D	C	K	Kpa	Lea	Lua	E	Cw	Dia	Wra	c	e	k	Kpb	Fya	Fyb	Jka	Jkb
I	ID-DiaCell I	+	+	0	+	+	0	0	+	nt	nt	0	+	+	+	0	+	+	0
II	ID-DiaCell II	+	0	+	0	+	0	+	0	nt	nt	+	0	+	+	0	+	0	+
III	ID-DiaCell III	0	0	0	0	0	0	0	0	nt	nt	+	+	+	+	+	+	+	+
1	ID-DiaPanel 1	+	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	+	+	+	+	0	+	0
2	ID-DiaPanel 2	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
3	ID-DiaPanel 3	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	0	+
4	ID-DiaPanel 4	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
5	ID-DiaPanel 5	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
6	ID-DiaPanel 6	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
7	ID-DiaPanel 7	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
8	ID-DiaPanel 8	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+
9	ID-DiaPanel 9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
10	ID-DiaPanel 10	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
11	ID-DiaPanel 11*	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+

Figure 2

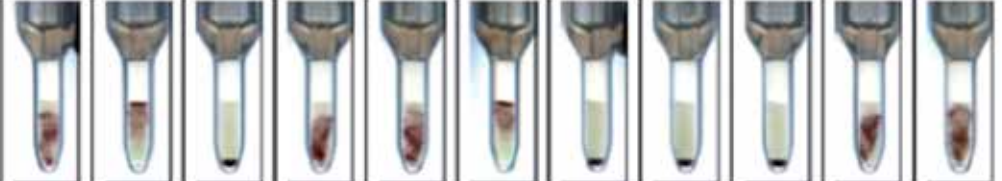
**Recherche des anticorps**

1	2	3
I	II	III
+++	-	++



**Identification des anticorps**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
++	++	-	++	++	+++	-	-	-	++	++



Les agglutinations les plus fortes sont au niveau de l'hématie 1 du panel de dépistage et des hématies 2 et 6 du panel d'identification, ce qui ne correspond pas.

Selon les tables de correspondance fournies par la société Bio-Rad avec les panels d'hématies-tests de dépistage et d'identification (Figure 3), ces agglutinations correspondent en effet, non pas à l'anticorps anti-C mais à l'anticorps anti-Kell, qui est donc le premier anticorps anti-érythrocytaire à identifier, d'une part. Or, 3 hématies positives et 3 hématies négatives sont nécessaires pour confirmer la présence d'un anticorps irrégulier chez un patient. En l'absence du panel de dépistage, seules 2 hématies positives pour anti-Kell étaient disponibles pour le logiciel IH-AbID.

D'autre part, l'étude des autres puits, croisée avec les résultats obtenus via les panels d'hématies-tests, démontre la présence de l'anticorps anti-Fya. Le logiciel IH-AbID a pu aisément réaliser cette identification car il possédait assez de données.

Cependant, il restait des puits positifs qu'il fallait associer à un autre anticorps irrégulier. Malgré le manque de puits positifs pour que les résultats concordent parfaitement avec l'anticorps anti-C, c'était pourtant la réponse la plus logique selon le logiciel IH-AbID.

Afin de vérifier les résultats, l'échantillon du patient a été envoyé à l'Etablissement Français du Sang (EFS), qui a confirmé le mélange des 2 anticorps irréguliers anti-K et anti-Fya.

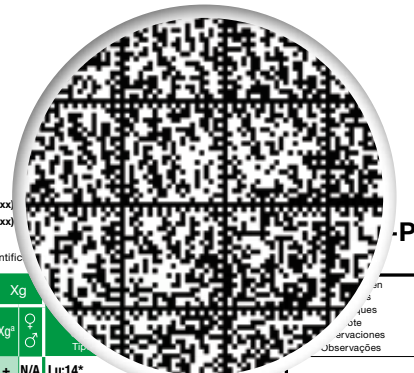
### 3. Les limites du logiciel IH-AbID

L'étude de ces deux cas de discordances détectées démontre que le logiciel IH-AbID a besoin de toutes les informations possibles concernant les panels d'hématies-tests : les représentations antigéniques des 2 panels doivent lui être accessibles. Il serait bon de pouvoir également y intégrer les réactions des techniques complémentaires (4°C...).

D'autre part, les mélanges d'anticorps irréguliers semblent représenter une difficulté supplémentaire pour le logiciel IH-AbID car il doit différencier les différentes intensités d'affinité d'agglutination, ce qui n'est pas forcément évident à faire à l'œil nu non plus dans certains cas.

**« une concordance parfaite pour 39 des 40 cas étudiés »**

Figure 3



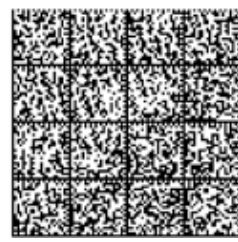
Set ID-DiaPanel: 45161.88.x (Japan: 4516.88.xx) LOT 06171.88.x - 06271.88.x (Japan: 0617.88.xx - 0627.88.xx)  
 Set ID-DiaPanel P: 45171.88.x (Japan: 4517.88.xx) 05361.88.x - 05461.88.x (Japan: 0536.88.xx - 0546.88.xx)

Antigen-Tabelle / Antigen-Table / Table d'antigènes / Tabella antigenica / Tabla de antígenos / Tabela de antígenos  
 Antikörper-Identifizierung / Antibody identification / Identification d'anticorps / Identificazione anticorpale / Identificación del anticuerpo / Identificação de anticorpos

Rh-hr	Möglicher Genotyp Probable Genotype Genotipo probable Probabile genotipo Genótipo provável	Spender Donor Donateur Donatore Donante Donatario	Rh-hr		Kell					Duffy		Kidd		Lewis		P		MNS				Luth.		Xg		Titrage	Observações								
			D	C	E	c	e	C <sup>u</sup>	K	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	P <sub>1</sub>	M	N	S	s	Lu <sup>a</sup>			Lu <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>	Xg <sup>b</sup>					
1	CCC <sup>u</sup> D.ee	R <sub>1</sub> R <sub>1</sub>	096209	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	nt	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	N/A	Lu:14*			
2	CCD.ee	R <sub>1</sub> R <sub>1</sub>	619500	+	+	0	0	+	+	0	+	+	nt	nt	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	N/A			2	
3	ccD.EE	R <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	650623	+	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	N/A			3	
4	Ccddee	r <sup>+</sup> r	291079	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	N/A			4		
5	ccddEe	r <sup>+</sup> r	846207	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	N/A			5		
6	ccddee	rr	753968	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	nt	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	N/A			6		
7	ccddee	rr	331111	0	0	0	+	+	0	0	+	+	nt	nt	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	N/A			7		
8	ccD.ee	R <sub>0</sub> r	539022	+	0	0	+	+	0	0	+	+	nt	nt	0	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	nt	N/A			8				
9	ccddee	rr	528121	0	0	0	+	+	0	0	+	+	nt	nt	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	N/A			9		
10	ccddee	rr	556198	0	0	0	+	+	0	0	+	+	nt	nt	+	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	N/A			10	
11	ccddee	rr	566877	0	0	0	+	+	0	0	+	+	nt	nt	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	N/A			11		

Anmerkungen siehe rückseitig/Remarks see overleaf/Voir les remarques au verso/Per le note consultare il retro/Ver observações no verso

Name Name Nom Nome Nombre Nome	Blutgruppe + Antigen Blood group + antigens Groupe sanguine + antigènes Grupo sanguíneo + antigeni Grupo sanguíneo + antígenos Grupo sanguíneo + antígenos	Interpretation Interpretation Interpretation Interpretazione Interpretación Interpretação	Datum Date Date Data Fecha Data



#### 4. Axes d'amélioration

Notre expérience du logiciel IH-AbID nous a permis de définir des axes d'amélioration potentiels.

La réception au laboratoire d'un échantillon de patient avec une RAI positive nous impose soit de récupérer les résultats du dépistage, parfois fait dans un autre laboratoire, soit de la refaire. Il serait plus judicieux que l'IH-1000 puisse récupérer les résultats des examens déjà réalisés sur ce tube, lorsque l'automate le reconnaît, depuis les sites périphériques ou annexes pour les intégrer au logiciel IH-AbID.

Ensuite, le logiciel IH-AbID gagnerait en performance s'il pouvait mieux analyser les différentes intensités d'affinité dans les agglutinations, pour mieux distinguer les mélanges, et s'il avait une banque de données intégrée concernant les anticorps irréguliers.

#### IV - Conclusion

Le laboratoire Cerballiance a accepté de tester le logiciel IH-AbID de la société Bio-Rad, pour l'analyse et l'aide à l'identification des anticorps irréguliers. L'analyse des résultats délivrés par le logiciel IH-AbID a démontré sa fiabilité dans 97,5 % des cas : les techniciens de laboratoire ont ainsi pu gagner du temps grâce aux indications du logiciel. Les 2,5 % restants ne découlent pas d'erreurs d'analyse mais de discordances d'interprétation liées au manque d'informations délivrées au logiciel IH-AbID.

Pour une utilisation optimale, il faudrait fournir au système plus d'informations sur les analyses précédemment réalisées sur chaque échantillon ainsi qu'une base de données regroupant les spécificités de certains anticorps irréguliers. Si quelques améliorations du logiciel peuvent être conseillées, le logiciel IH-AbID s'est révélé être un très bon outil d'aide à l'identification des anticorps irréguliers. Il permet notamment un gain de temps intéressant lors de l'analyse des résultats par le technicien de laboratoire qui peut consulter le logiciel et donc s'orienter rapidement vers le(s) anticorps concerné(s).

Il optimise également la traçabilité des images réactionnelles obtenues par l'automate IH-1000, en transférant ces images vers le système d'information du laboratoire (SIL). A l'avenir, cette traçabilité devrait encore être améliorée par la mise en place d'un lecteur de cartes gels (le Banjo de la société Bio-Rad) techniques manuellement mais dont les images PDF pourront être intégrées au logiciel IH-AbID et apporter des informations réactionnelles supplémentaires.

**La dangerosité des anticorps irréguliers lors des transfusions sanguines et de la grossesse impose leur recherche et leur identification de manière rapide et efficace. Le logiciel IH-AbID de la société Bio-Rad constituera un outil d'aide apprécié sur les paillasses d'immuno-hématologie. ■**



• Bio-Rad Laboratories – 3, bd Raymond Poincaré  
92430 Marnes-la-Coquette  
Contact : Assistance Téléphonique Client  
Tél. : +33 (0) 1 47 95 61 20 – Fax : +33 (0) 1 47 95 69 86  
[www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com)

• Laboratoire Cerballiance – 17 rue de la Digue  
59016 Lille Cedex – [www.cerballiance.fr](http://www.cerballiance.fr)