

Titolazione anticorpi anti-eritrocitari in donne in gravidanza




*Quale metodo utilizzare per questa
analisi? Quale valore
diagnostico ha al giorno d'oggi?*

Lavoro di diploma 2009

Redatto da: Regazzoni Cinzia

Scuola Superiore Medico Tecnica, Locarno

Svolto presso:  Servizio Trasfusionale CRS Svizzera Italiana
Responsabile: Ryser Belinda

1. RIASSUNTO/ABSTRACT

INTRODUZIONE

Il Morbo emolitico del neonato (MEN) è una malattia caratterizzata dalla distruzione di eritrociti del feto ad opera di anticorpi specifici, che si sono formati nella madre dopo un processo di alloimmunizzazione (antigene assente dagli eritrociti materni), diretti contro eritrociti fetali; questa situazione si può osservare durante la gravidanza o subito dopo il parto. I test di screening prenatali sono molto importanti al fine di prevenire e/o monitorare l'insorgere di un MEN. Secondo le Raccomandazioni dei Ginecologi, a tutte le donne Rh negative (prive di alloanticorpi anti-D), alla 28° settimana di gravidanza e nelle 72 ore seguenti il parto, viene somministrata la profilassi anti-D (300 µg in 2 ml) sufficiente per neutralizzare 24-30 ml di sangue fetale. Per monitorare la concentrazione degli anticorpi nel corso della gravidanza si esegue l'analisi della titolazione anticorpi. Lo scopo del mio lavoro di diploma è quello di fare un confronto tra il metodo ID-Gel (in uso presso ST CRS SI) e il metodo in provetta (raccomandato da ISBT), trovare i fattori influenzanti per quest'analisi e valutare quale valore diagnostico ha al giorno d'oggi.

MATERIALE E METODI

L'analisi della titolazione anticorpi è stata eseguita su 95 campioni (sangue EDTA) di donne in gravidanza: 82 con anti-D da profilassi, 10 anti-D immune e 3 altri alloanticorpi. Per ogni campione l'analisi è stata determinata con 2 metodi: metodo ID-Gel (Diamed) con ID-Diluent 2 (LISS) per le diluizioni geometriche e metodo in provetta (Biotest) con soluzione isotonica Immusol (Medion Diagnostics); i tempi di incubazione sono diversi (15 min metodo ID-Gel; 1 ora metodo in provetta); si è constatato che i risultati ottenuti con queste 2 metodiche non sono riproducibili. Per questo motivo si è modificato il metodo ID-Gel e come soluzione di diluizione si è deciso di utilizzare la soluzione isotonica Immusol.

RISULTATI E CONCLUSIONI:

Con questo lavoro si è potuto dimostrare che il metodo ID-Gel, con la soluzione isotonica Immusol, per la titolazione anticorpi fornisce dei risultati paragonabili al metodo in provetta raccomandato dalle normative internazionali ISBT. I risultati ottenuti mostrano una buona riproducibilità che al massimo evidenziano una differenza di una diluizione tra i due metodi soprattutto per i risultati con titolo basso (1 o 2). Utilizzando questa nuova metodica ID-Gel con Immusol resta valido il riferimento al valore limite definito per l'anticorpo immune anti-D titolo ≥ 16 . Questo metodica è già entrata in applicazione presso ST CRS SI, rispettando così gli standard internazionali.

INTRODUCTION

The hemolytic disease of the newborn is a disease where the fetus erythrocytes are destroyed by specific antibodies that are produced after the alloimmunization in the mother (antigen absent in the mother's erythrocytes). These antibodies are directed against fetus erythrocytes, and we can see this situation in pregnancy or immediately after the birth. Antenatal screening tests are very important for the prevention of the onset of hemolytic disease of the newborn. Gynecologists' recommendations say that all Rh negative woman (without alloantibody anti-D) in the 28° week of pregnancy and in the 72 hours after the birth, must receive prophylaxis anti-D (300 µg in 2 ml), enough to neutralize 24-30 ml of fetal blood. For the monitoring of the concentrations of antibody during pregnancy, we must do an alloantibody titration. The aim of my diploma study was to compare the method ID-Gel, in use at ST CRI SI (Transfusion Service CRS Italian Switzerland) and the tube method recommended by ISBT (International society of blood transfusion), find the interference factors for this analysis and evaluate the current diagnostic value.

MATERIALS AND METHODS

95 plasma (EDTA) samples were analyzed for the alloantibody titration in pregnant woman: 82 with anti-D from prophylaxis, 10 with immune anti-D and 3 with other alloantibodies. All the samples were determined with the following 2 methods: method ID-Gel (DiaMed) with ID-Diluent 2 (LISS) for the geometric dilutions and tube method (Biotest) with isotonic solution Immusol (Medion Diagnostics); the incubation times were different (15 min for the method ID-Gel and 1 hour for the tube method). It was deduced that the 2 methods are not reproducible. For this reason the method ID-Gel was modified and the isotonic solution Immusol was used as dilution solution.

RESULTS AND CONCLUSION

With this diploma study it was demonstrated that the method ID-Gel, with isotonic solution Immusol, for antibody titration gives the same results as the tube method recommended by the international norms of ISBT.

The results that we obtained have very good reproducibility, which gives a maximum difference of one dilution between the two methods for the results with a low title (1 or 2). Using this new method, ID-Gel with Immusol remains valid with reference to the significant value for the antibody immune anti-D title ≥ 16 . This method is already in use at ST CRS SI, thus respecting international standards.