

TITOLAZIONE DELLE ISOEMOAGGLUTININE ANTI-A/ANTI-B NEI TRAPIANTI DI RENE ABO INCOMPATIBILI: METODI A CONFRONTO

Vicarioto M.⁽¹⁾, Vio C.⁽¹⁾, Sanavio D.A.⁽¹⁾, Fama A.⁽¹⁾, Hutabba S.⁽¹⁾, Di Narda S.⁽²⁾, De Silvestro G.⁽¹⁾

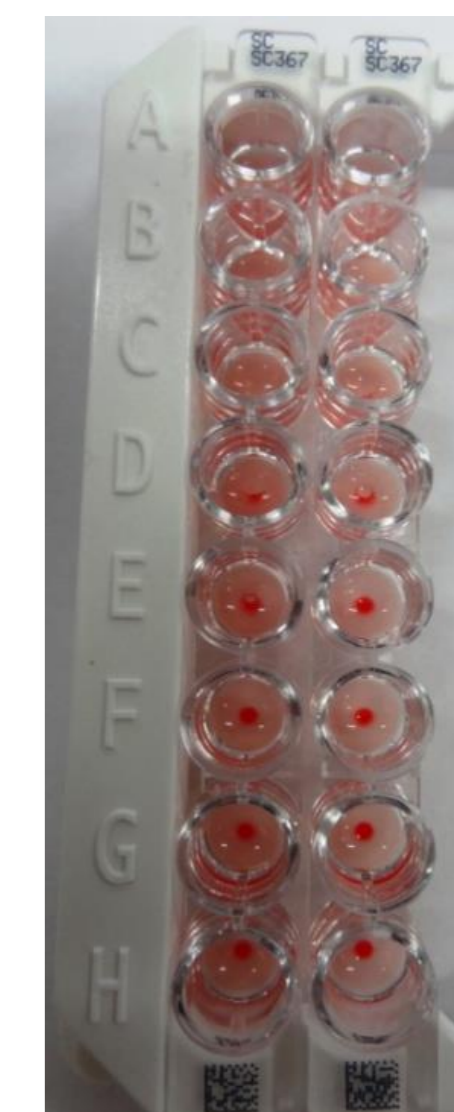
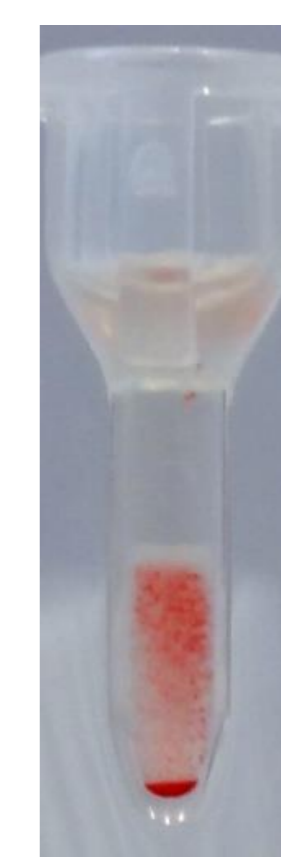
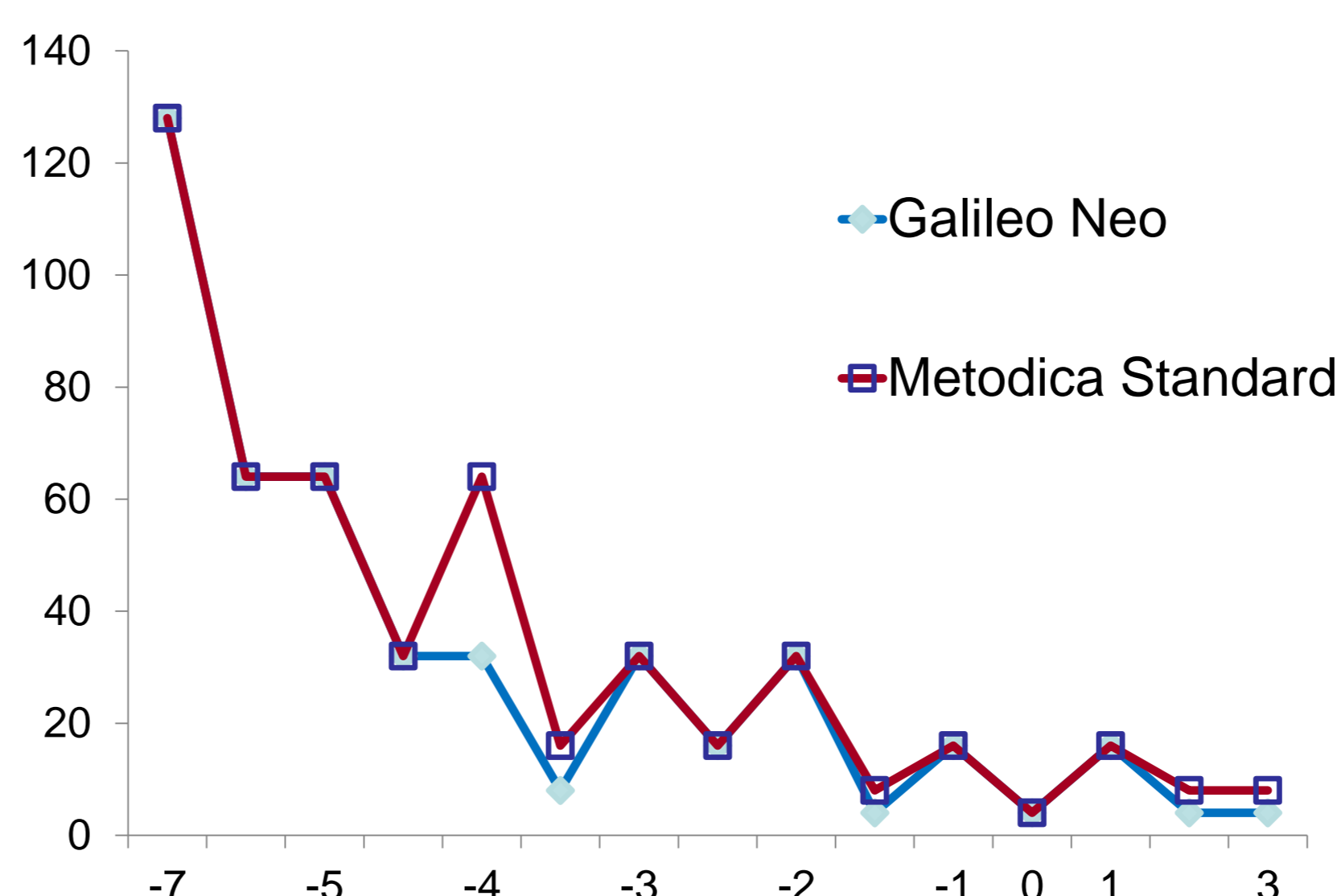
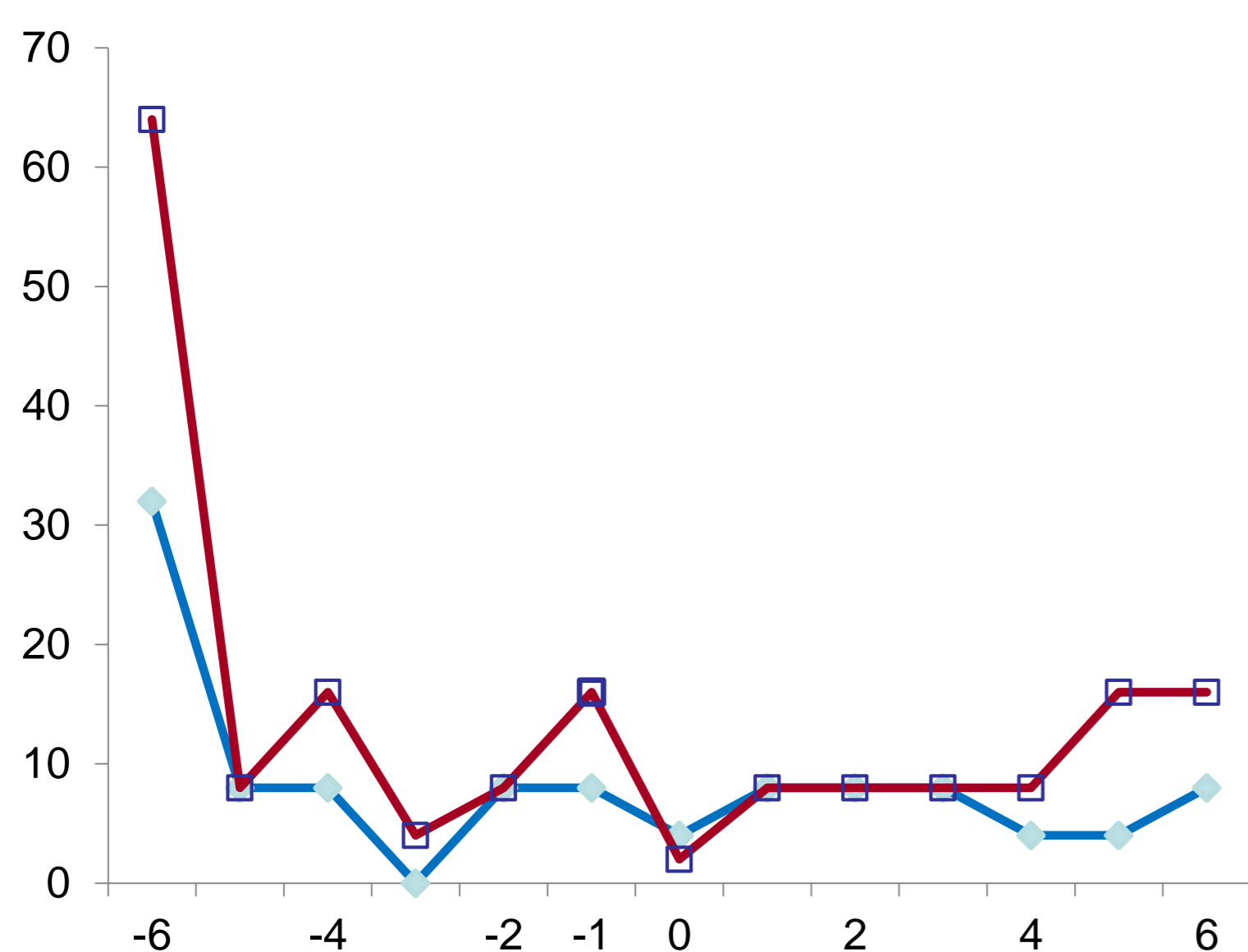
⁽¹⁾Servizio Immunotrasfusionale, Azienda Ospedaliera di Padova; ⁽²⁾ Immucor Italia, Milano

Premessa: i trapianti di rene incompatibili rappresentano un'opzione importante per molti pazienti, con un outcome a lungo termine non inferiore ai trapianti ABO compatibili. D'altro canto è noto come gli antigeni del sistema ABO siano espressi non solo sulla superficie delle emazie ma anche in cellule di altri tessuti come il parenchima renale, sull'endotelio dei capillari glomerulari e sulle cellule dei tubuli distali; tali antigeni ABO sono il bersaglio per gli anticorpi immuni capaci di scatenare una grave reazione iperacuta. In questo scenario il preciso e costante monitoraggio degli anticorpi naturali ed immuni anti-A/B nel siero del ricevente è fondamentale per supportare i necessari trattamenti di aferesi previsti dal protocollo di trapianto, oltre che per verificare che il giorno del trapianto il titolo degli anticorpi immuni verso gli antigeni espressi nell'organo trapiantato sia inferiore a 1:8.

Metodi: sono stati messi a confronto due metodi di titolazione degli anticorpi naturali ed immuni anti-A/anti-B, il primo manuale su microcolonna (ID Cards Bio-Rad) secondo procedura standard proposta da UKNEQAS, il secondo in fase solida completamente automatizzato su strumento Galileo Neo (Immucor).

Risultati: nell'Azienda Ospedaliera di Padova nel corso del 2015 sono stati portati a trapianto di rene da donatore vivente con incompatibilità ABO 8 pazienti nei quali le titolazioni delle isoemoagglutinine con i due metodi considerati hanno affiancato i trattamenti aferetici pre/post trapianto. I valori di titolazione ottenuti con le due metodiche risultano essere contenuti entro una o due diluizioni, con una maggiore variabilità nella determinazione degli anticorpi naturali. I grafici a dispersione dei casi portati ad esempio mostrano l'andamento degli anticorpi immuni anti-A in pazienti di gruppo O con donatore di gruppo A:

Titolazione anticorpi immuni anti-A Tecnologie a confronto



Conclusioni: la principale criticità nella titolazione delle isoemoagglutinine è rappresentata dalla variabilità intra ed interlaboratorio, l'utilizzo dell'automazione completa elimina i possibili errori nella preparazione manuale delle diluizioni a scalare del campione e nella lettura finale della reazione consentendo al personale di laboratorio di eseguire agevolmente in routine la titolazione. Sono in corso ulteriori test con reagenti tiolici per verificare l'influenza di anticorpi di classe IgM sul valore finale del titolo. Per permettere l'armonizzazione intra ed inter laboratorio degli esiti di un test a così importante valenza clinica è auspicabile l'impiego di uno standard a valore noto.

<https://www.nibsc.org/documents/ifu/14-300.pdf>



Test Antiglobulina Indiretto (IAT)

- Schedine IgG
- 50 µl di emazie
- 25 µl di ciascuna diluizione del plasma
- Incubazione a 37°C per 15'
- Centrifugare 10'



Titolazione anticorpi Immuni in automazione completa

- Dispensazione referencells A1 o B
- Prima centrifugazione: immobilizzazione delle referencells sul fondo dei pozzetti.
- Primo lavaggio per eliminare l'eccesso di emazie.
- Dispensazione del plasma del campione ed esecuzione della diluizione a scalare.
- Incubazione: 30 minuti a 39°C
- Secondo lavaggio per eliminare l'eccesso di plasma e liss.
- Dispensazione delle emazie indicatrici.
- Lettura dei risultati