

Introduzione

È stato fornito un campione di plasma (Campione 1) insieme a uno scenario clinico in cui il campione era stato prelevato da una donna a 12 settimane di gestazione. È stata data l'informazione che i campioni contenevano anti-E e che il partner della donna era risultato omozigote per l'antigene E. La storia ostetrica della donna è G1 P0+0.

Ai partecipanti è stato inoltre inviato un secondo campione di plasma (Campione 2) con lo stesso scenario del Campione 1 ma contenente anti-D. Ai partecipanti è stato chiesto di titolare questo anticorpo anche se non era la loro normale politica farlo.

Risultati

Tabella 1 – Mediana e range

Campione 1 – Anti-E	Titolo
Mediana (tutte le tecnologie)	8
Range (tutte le tecnologie)	1-128
Campione 2 - Anti-D	Titolo
Mediana (tutte le tecnologie)	128
Range (tutte le tecnologie)	4--256

Analisi dei dati

Percentuale di risposta

I risultati della titolazione sono stati restituiti da 97/101 (96%) partecipanti. Non tutti i laboratori hanno completato tutte le parti del questionario, pertanto i dati del denominatore variano in base alla domanda.

Qualità dei campioni

Tutti i laboratori hanno riportato una qualità soddisfacente dei campioni.

Dati del questionario relativi ai test

Preparazione delle diluizioni: le diluizioni sono state preparate completamente a mano da 65/96 laboratori (67,7%) che hanno risposto a questa domanda. 72/95 (75,8%) hanno utilizzato PBS/NISS come diluente per le diluizioni del plasma, 21/95 (22,1%) hanno usato il diluente fornito dal produttore della loro tecnologia IAT e 2/95 (2,1%) hanno utilizzato una soluzione di albumina o non hanno specificato il diluente.

Follow up basato sul risultato di titolazione ottenuto per il campione 1 (anti-E)

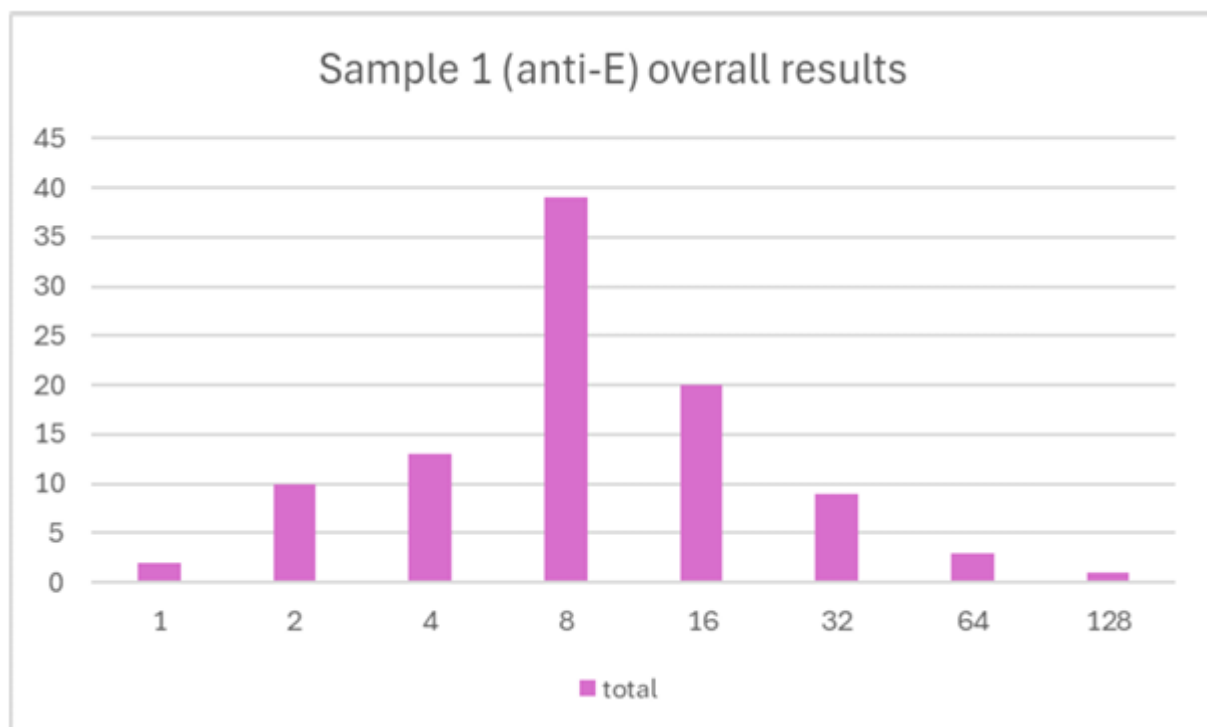
Dei laboratori che hanno risposto alla domanda, 13/96 (13.5%) hanno riportato un titolo di 32 o più alto, e 12/13 (92.3%) avrebbero sottoposto il campione a un centro di medicina fetale in linea con la guida BSH che stabilisce che un anti-E con un titolo di 32 o più alto dovrebbe essere segnalato.

83/96 (86.5%) hanno riportato un titolo minore di 32; 39/83 (47.0%) avrebbero inviato il campione a un'unità di medicina fetale.

Risultati dei test

La figura 1 mostra tutti i risultati di titolazione per il Campione 1.

Figura 1



Risultati dei test

La figura 2 mostra tutti i risultati di titolazione per il Campione 2 e la figura 3 mostra i risultati per il campione 2 con le varie tecnologie.

Figura 2

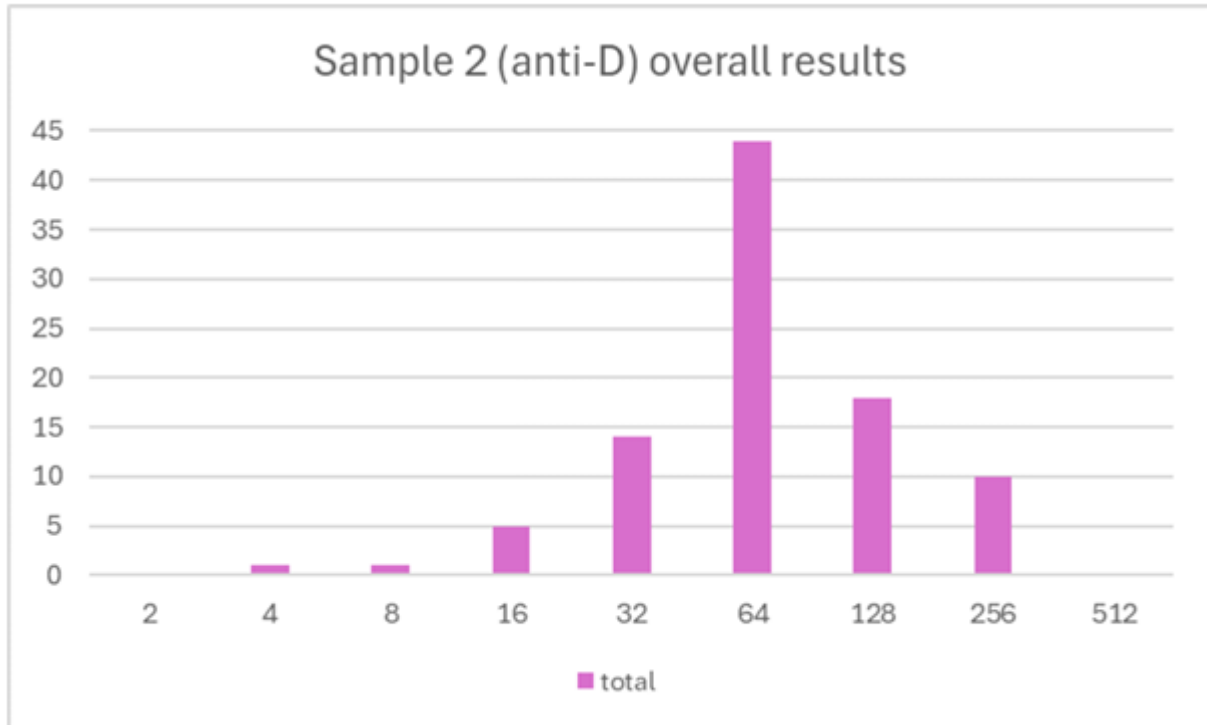
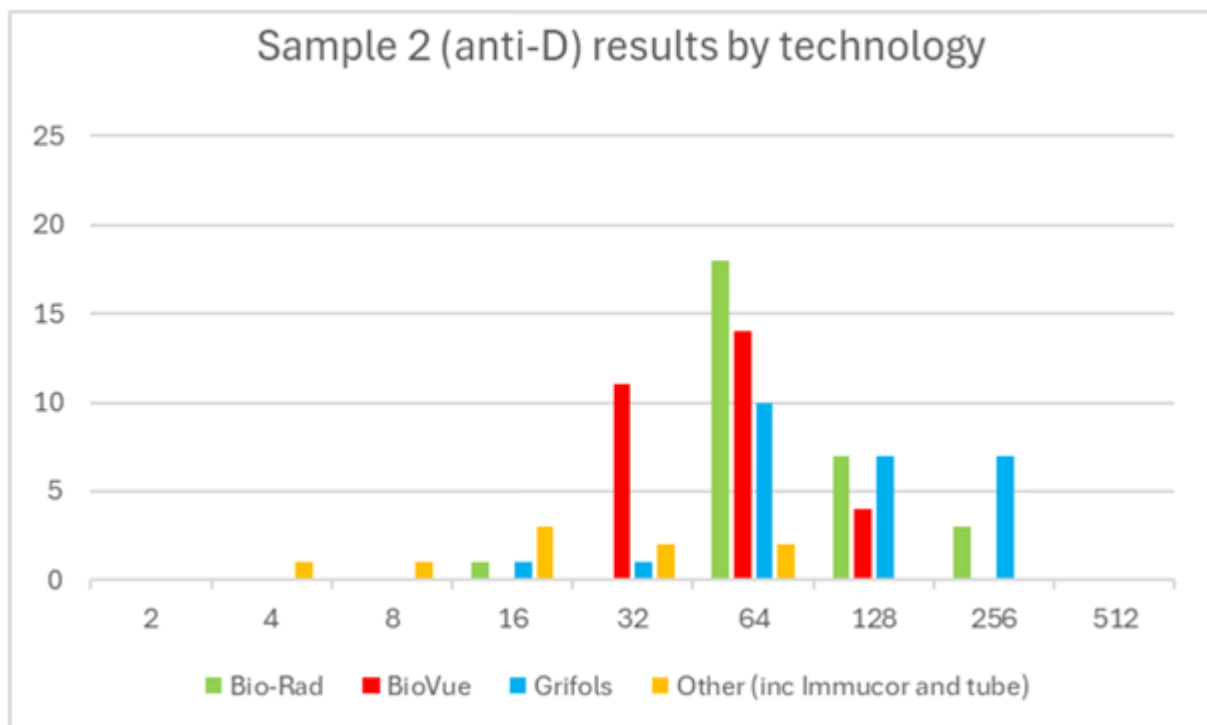


Figura 3



Discussione

Nel Regno Unito è prassi comune utilizzare l'analisi di flusso continuo (CFA) per monitorare il livello di anti-D in gravidanza e questo viene utilizzato come predittore della potenziale gravità della malattia emolitica del feto e del neonato (HDFN). Prove aneddotiche suggeriscono che la CFA non è di uso comune in tutto il mondo e che la titolazione degli anticorpi IAT è più comunemente utilizzata per monitorare i livelli di anti-D; il punto finale di una titolazione viene utilizzato come marcatore dei livelli di anticorpi, con titoli >16 che generalmente richiedono ulteriori indagini e un titolo < 64 che difficilmente può essere associato a HDFN¹⁻².

Un modo alternativo per utilizzare la titolazione è l'uso del "punteggio del titolo", che tiene conto della forza della reazione a ogni diluizione e quindi dell'avidità dell'anticorpo; i punteggi del titolo sono stati anche suggeriti come metodo per distinguere l'anti-D immune da quello profilattico. A ogni forza di reazione viene assegnato un punteggio (vedere tabella 2) e i punteggi per ogni diluizione vengono sommati per ottenere il punteggio del titolo finale. Per gli utenti di Ortho BioVue si suggerisce un cut-off di 35 come punteggio adeguato a determinare se l'anti-D è profilattico, con valori > 35 che vengono sottoposti a ulteriori indagini³. Non si sa quale cut-off sarebbe applicabile per gli utenti di altre tecnologie.

Tabella 2 – Punteggi titolo

Forza reazione	Punteggio titolo equivalente
4	12
3	10
2	8
1	5
weak	3
0	0

Come parte di questo esercizio abbiamo richiesto i risultati della titolazione dal Campione 2 (anti-D). In questo esercizio i titoli riportati variavano da 4 a 256 con un valore mediano di 64 che indica potenzialmente un livello possibilmente associato a HDFN.

UK NEQAS ha calcolato il punteggio del titolo per tutti i risultati completi inviati (n=92). Il punteggio del titolo mediano era 63 (intervallo da 21 a 81); vale la pena notare che tutti gli utenti BioVue hanno fornito un punteggio superiore a 35 (intervallo da 43 a 73) indicando che il campione dovrebbe essere sottoposto a CFA.

Quattordici serie di risultati CFA sono stati ottenuti per il Campione 2 dai centri di riferimento in tutto il mondo che hanno eseguito il test come parte del UK NHSBT Antibody Quantification Quality Assurance Scheme (AQQAS). Questi hanno fornito un risultato mediano di 1,22 UI/mL (intervallo da 0,45 a 1,6 UI/mL), un livello normalmente associato all'anti-D immune.

Riferimenti

1 White J, Qureshi H, Massey E, Needs M, Byrne G, Daniels G, Alard S, British Committee for Standards in Haematology. Guideline for blood grouping and red cell antibody testing in pregnancy. *Transfusion medicine*. 2016 Aug;26(4):246-63.

2 Bruce DG, Tinegate HN, Williams M, Babb R, Wels AW. Antenatal monitoring of anti-D and anti-c: could titre scores determined by column agglutination technology replace continuous flow analyser quantification?. *Transfusion Medicine*. 2013 Feb;23(1):36-41.

3 Evans ML, Holmes B, Dowling K, Lofting T, Barnett MR, Heydon N, Clarke T, Hal C, Surmann EM, Calsen SC, Malomgre W. Evaluating automated titre score as an alternative to continuous flow analysis for the prediction of passive anti-D in pregnancy. *Transfusion Medicine*. 2021 Feb;31(1):36-42.