Erste Schweizer Validierung der Titration von Fremdtestzellen auf dem IH-500 (BioRad) im Vergleich zum Goldstandard

Adna Mujic, BMA 22-25

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

Inselspital Bern, Transfusionsmedizin

1. Zusammenfassung

Im Labor der Transfusionsmedizin im Inselspital Bern werden regelmässig Titrationen bei schwangeren Frauen durchgeführt, welche negativ für das Rhesus D Antigen sind und einen Antikörper gegen dieses Antigen aufweisen. Dabei handelt es sich um eine Blutgruppeninkompatibilität zwischen Mutter und Kind, wobei die Mutter Antikörper gegen die fetalen Erythrozyten des Kindes bildet. In der Routine werden manuelle Ansätze mit Fremdtestzellen mittels Gelzentrifugationsmethode (ID-System) durchgeführt, da die IH-Geräte (IH-1000 und IH-500) die Funktion in der Software nicht beinhalten. Es waren keine Titrationen mit Fremdtestzellen auf dem IH-500 möglich, die einzige Möglichkeit besteht mit den Zellen der Firma BioRad. Um die Titration durchzuführen, wird immer eine Ror-Zelle verwendet, welche bei der Firma BioRad immer die Zelle Nr. 8 ist. Die Ror-Testzelle ist heterozygot und dadurch am ehesten mit der klinischen Situation des Fötus (Phänotyp) verwandt; man möchte somit den Phänotyp am nächsten vom Kind replizieren. Die Aufgabe in dieser Diplomarbeit war es die Anti-D Titrationen mit Hilfe von Fremdtestzellen zu automatisieren. Bisher wurden die Titer manuell angesetzt, da für das Gerät die Zelle der eigenen Firma zu schnell aufgebraucht wurde und diese nicht einzeln erhältlich ist. Mit Hilfe von Fremdanbietern kann man die Ror-Zelle verdünnen und länger brauchen. Diese Vorgehensweise minimiert die Kosten. Um diese Fremd-Ror-Zellen auf dem Gerät zu etablieren, wurden Barcode Etiketten hergestellt und andere Glasröhrchen verwendet. In dieser Diplomarbeit wurde die Ror-Zelle aus einem Erythrozytenkonzentrat selbst hergestellt. Der manuelle und der automatische Anti-D Titer wurden verglichen. Dabei stimmen die Ergebnisse mit dem Goldstandard sehr gut überein. Der manuelle Ansatz wird als Goldstandard bezeichnet. Aufgrund der Resultate konnte die Titration von Fremdtestzellen auf dem IH-500 evaluiert werden. Mit dieser Automatisation wurde ganz klar der Arbeitsaufwand minimiert und dem Laborpersonal einen grossen Mehrwert in der Routine generiert.

2. Einleitung

Das Anti-D wird als passive Impfung den Rhesus negativen schwangeren Frauen gespritzt. Voraussetzung für die Verabreichung der Anti-D-Prophylaxe ist, dass das Kind das väterliche D-Antigen trägt, das bei der Mutter nicht vorhanden ist. Unter einer passiven Impfung versteht man das Spritzen von Antikörpern, die sofort wirken sollen. So täuscht man dem Immunsystem vor, dass er schon genug Antikörper hat und nicht mehr nachproduzieren muss. Mit dieser Impfung werden keine Gedächtniszellen gebildet. Die Anti-D-Prophylaxe wird den rhesusnegativen Schwangeren zwischen der 28. und der 30. Schwangerschaftswoche intramuskulär oder intravenös injiziert mit dem Ziel, die über die Plazenta gelangten fetalen Erythrozyten aus dem mütterlichen Kreislauf zu entfernen, bevor das Immunsystem Antikörper gegen das Fremdantigen bilden kann. Dies kann im schlimmsten Fall zu Morbus haemolyticus neonatorum (MHN) führen. Falls die Mutter durch vorherige Schwangerschaften oder sonstige Einflüsse ein autoimmunes Anti-D entwickelt hat, kann es ernsthafte fetale Schädigungen verursachen, die zum Abort führen. Die Therapie wird dementsprechend angepasst. Es ist wichtig zu unterscheiden ob das Anti-D durch die Rhophylac-Gabe oder durch ein alloimmunes Geschehen im Körper ansteigt. Im Panel sieht man nicht ob die Zelle durch Rhophylac oder durch alloimmunes Anti-D positiv ist. Normalerweise wenn der Titer 128 nicht übersteigt ist es die Rhophylacprophylaxe. Nach 2 bis 3 Monaten wird das injizierte Anti-D wieder abgebaut und ist somit nicht mehr im Kreislauf der Mutter nachweisbar.

3. Ziele und Fragestellungen

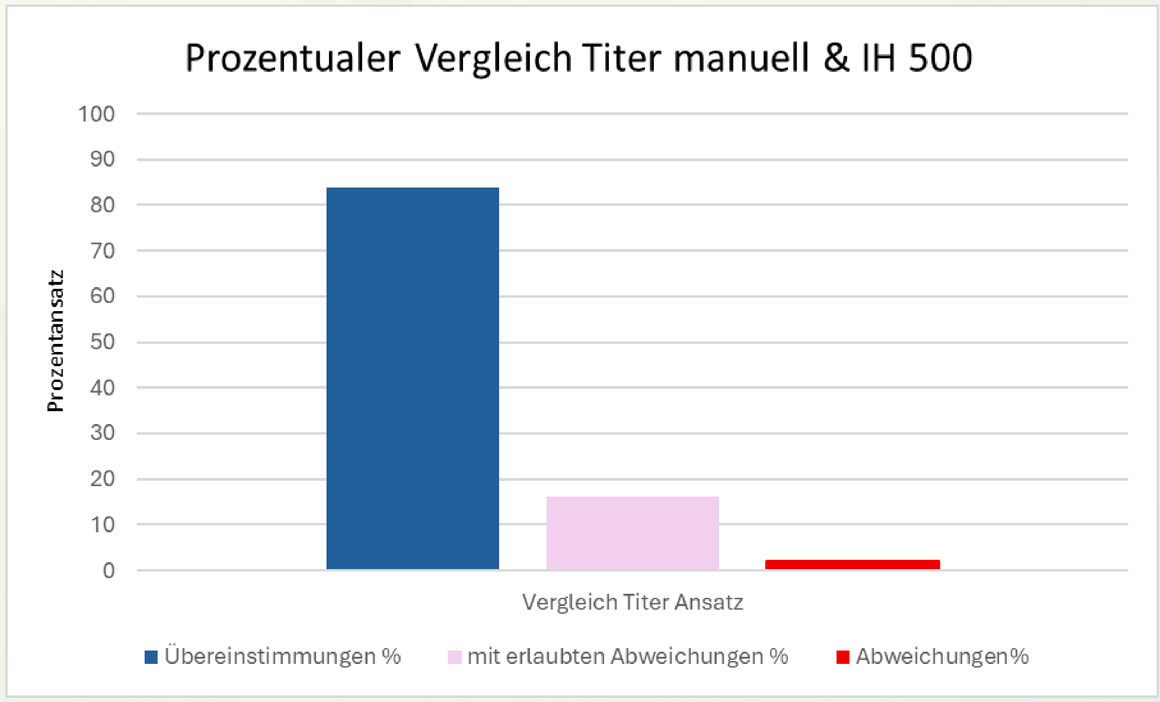
Kann der manuelle Titer Ansatz mit Fremdtestzellen automatisiert werden und in die Routine etabliert werden?

Erzielt die derzeit im Labor angewandte manuelle Methode für den Titeransatz vergleichbare Ergebnisse mit dem automatisierten Titeransatz am IH 500 unter Verwendung von Fremdtestzellen?

4. Material, Methodik, Vorgehen

Die Anti-D Titration ist eine semiquantitative Methode, um die Menge von vorhandenen Antikörpern zu bestimmen [1].
Das Ansetzen erfolgt durch eine geometrische Verdünnungsreihe [2]
Eine Titrationsbestimmung bei schwangeren Frauen reicht nicht komplett aus, um einen MHN auszuschliessen. Parallel gemessene Werte müssen ebenfalls berücksichtig werden.

5. Ergebnisse/ Resultate



Säulendiagramm 1: Vergleich des Titer-Ansatzes manuell & IH-500 (Adna Mujic, 2025) - eigne Darstellung

Im Säulendiagramm 1 gelten 44 Proben als übereinstimmend. Davon werden 16 Proben mit erlaubten und unerlaubten Abweichungen zusammengezählt, wobei 14 Proben erlaubte Abweichungen darstellen. Titerstufen ≤ 1 werden als akzeptabel gewertet, da sich die Konzentration der Ror-Zellen natürlicherweise leicht unterscheiden kann.
Die Messung zeigt eine Übereinstimmung von 73,3 % zwischen dem Gerät IH-500 und dem manuellen Goldstandard. Werden die erlaubten Abweichungen ausgeschlossen, ergibt sich eine deutlich höhere Übereinstimmung von 96,6 %.

6. Diskussion

Mit dieser Diplomarbeit konnte das Ziel, die Methodenevaluation der Anti-D Titration von Fremdtestzellen auf dem IH-500, erfolgreich erreicht werden.
Die maschinelle Anti-D Titration mit Fremdtestzellen konnte in die Routine integriert werden und somit den Arbeitsaufwand minimieren. Während dem Verfassen dieser Arbeit konnte eine SOP ergänzt werden, welche für die Mitarbeitenden als unterstützende Funktion dient. Die Methodenevaluation zeigt, dass die automatisierte Anti-D Titration mit Fremdtestzellen am IH-500 eine sinnvolle und praktikable Alternative zum manuellen Verfahren darstellt und ohne größere Qualitätsschwierigkeiten in die Routinediagnostik übernommen werden konnte.



Referenzen

[1] BioRad IH-500 Benutzerhandbuch (2022, S. 55)
[2] Verdünnungsreihe herstellen (Roman, Share Point Inselspital, 2025)

Säulendiagramm

Säulendiagramm 1: Vergleich des Titer-Ansatzes manuell & IH-500 (Adna Mujic, 2025) - eigne Darstellung