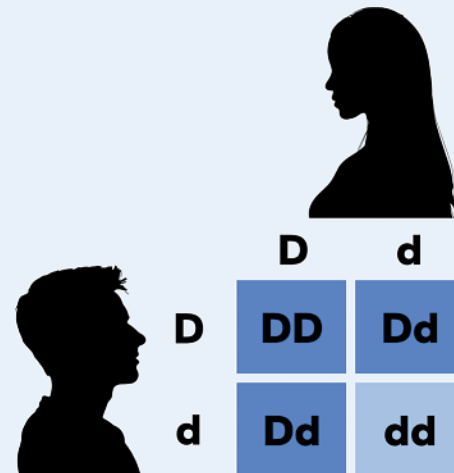


Determinazione del fattore Rhesus D fetale da sangue materno

OPUSCOLO INFORMATIVO

Definizione del fattore Rhesus D

Oltre al sistema ABO, il fattore Rhesus D (RhD) è la più importante caratteristica del gruppo sanguigno utilizzata per determinare la compatibilità del sangue di due persone. Il fattore Rhesus D (noto anche come antigene D) è una proteina di superficie presente sugli eritrociti (globuli rossi). Si parla di «Rhesus positivo» (RhD+) quando l'antigene D è presente sugli eritrociti e di «Rhesus negativo» (RhD-) quando è assente. Circa l'85 % della popolazione è RhD+ e solo il 15 % è RhD-. In rari casi (dallo 0,2 allo 0,5 % della popolazione), esiste una variante del fattore Rhesus che non è né chiaramente RhD+ né chiaramente RhD-. Il fattore Rhesus D è ereditato in modo dominante. Il fattore Rhesus D è essenziale nei processi trasfusionali. Svolge inoltre un ruolo clinico cruciale durante la gravidanza.



Ereditarietà del fattore Rhesus. Blu scuro: RhD+, blu chiaro: RhD-

FATTORE RHESUS-D E GRAVIDANZA

Durante la gravidanza può verificarsi un'incompatibilità Rhesus tra madre e figlio, nota come incompatibilità feto-materna o incompatibilità Rhesus. L'incompatibilità Rhesus può portare a una malattia emolitica del feto potenzialmente letale. Il risultato

è l'anemia perinatale dovuta all'emolisi del neonato. Questa distruzione dei globuli rossi porta anche alla produzione di bilirubina, che si accumula nella pelle o in altri tessuti, portando alla formazione del kernicterus. Si parla in questo caso della cosiddetta **malattia emolitica del feto e del neonato (HDFN)**.

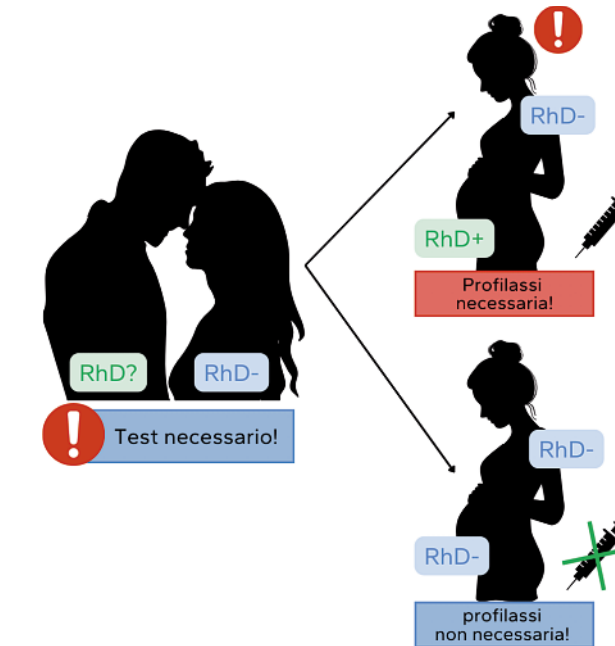
Per questi motivi, la Società Svizzera di Ginecologia e Ostetricia (SSGO) ha raccomandato che tutte le donne RhD-negative in gravidanza siano sottoposte al test del gene *RHD* fetale tramite analisi del DNA fetale libero (cffDNA) (Expert Opinion No. 68).

Se la **madre è RhD+**, non si prevede alcun problema di incompatibilità legato al fattore Rhesus, anche se il padre è RhD-. Poiché la madre non produce anticorpi contro le proteine di superficie dei propri eritrociti (antigene D), non produce nemmeno anticorpi contro quelle del feto.

Tuttavia, se la **madre è RhD-**, la prudenza è d'obbligo. Se anche il padre è RhD-, anche il feto sarà RhD- e non ci sarà incompatibilità Rh. Se invece il padre è RhD+, il rischio di complicazioni è presente, nel caso in cui il feto fosse RhD+. In questa costellazione, è necessario un test per determinare il fattore Rhesus D fetale (test RHD). Questo test determina con precisione se il feto di una madre RhD- e di un padre RhD+ avrà un fenotipo RhD+ o RhD-. **Per una maggiore certezza, la SSGO raccomanda il test RHD sul DNA fetale a tutte le madri RhD- negative, indipendentemente dal fattore Rhesus paterno.**

Durante la prima gravidanza, la madre RhD- può essere sensibilizzata al fattore RhD+ del feto. Se i globuli rossi del feto portatori dell'antigene RhD passano nella circolazione della madre, l'organismo di quest'ultima reagisce producendo anticorpi diretti contro l'antigene D presente sugli eritrociti del feto. Questa risposta immunitaria si verifica solo quando il sangue della madre e quello del feto entrano

in contatto durante la gravidanza o al momento del parto. Durante la prima gravidanza sensibilizzante, non si prevedono complicazioni RhD nel feto. Tuttavia, durante le gravidanze successive, questi anticorpi materni permanentemente attivi, attraversano la barriera placentare e distruggono gli eritrociti del feto RhD+. Le complicazioni che ne derivano sono descritte sopra e sono note come malattia emolitica del feto e del neonato (HDFN). La presenza di questi anticorpi nella madre può essere rilevata con un test anticorpale.



La SSGO raccomanda il test RHD del DNA fetale per tutte le madri RhD-, in modo che la profilassi Rhesus possa essere attuata solo se necessario.

Anche altre ragioni portano alla formazione di anticorpi materni contro gli eritrociti RhD+:

- Trasfusione di sangue RhD+ a una donna RhD-
- Aborti e interruzioni di gravidanza

PROFILASSI ANTI-D

L'incompatibilità Rhesus può essere prevenuta con l'immunoprofilassi anti-D.

Nelle donne in gravidanza, il gruppo sanguigno (ABO), il fattore Rhesus (comprese le varianti), la presenza di anticorpi anti-RhD+ e altri anticorpi eritrocitari vengono determinati durante il controllo di routine tra l'8a e la 12a settimana di gravidanza. La SSGO raccomanda che tutte le donne incinte RhD- siano sottoposte alla determinazione del fattore Rh fetale da sangue materno (DNA fetale acellulare) tra le 18 e le 24 settimane di gestazione.

La determinazione del fattore Rh fetale nelle madri RhD- evita la somministrazione di una profilassi anti-D sistematica in tutte le madri RhD-. La SSGO ha elaborato il seguente schema:

Madre RhD-
feto RhD+ → profilassi anti-D (28° SG)

Madre RhD-
feto RhD- → nessuna profilassi anti-D

La profilassi anti-D viene somministrata in conformità alle raccomandazioni SSGO.

TEST PER LA DETERMINAZIONE DEL FATTORE RHESUS D FETALE

Il test FetoGnost® KIT RHD può essere eseguito su campioni di sangue venoso prelevati da madri RhD- a partire dall'11 + 0 settimana di gestazione, ma è raccomandato dalla SSGO solo a partire dalla 18a settimana di gravidanza. È stato convalidato sia per i pazienti immunizzati che per quelli non immunizzati.

Il DNA fetale libero circolante (cffDNA) viene purificato dal plasma materno. Gli esoni 5, 7 e 10 del gene *RHD* vengono quindi amplificati mediante PCR in tempo reale, con due possibili risultati:

- L'assenza di amplificazione indica l'assenza del gene *RHD* nel feto: il genotipo fetale è RHD negativo.

- La presenza di amplificazione indica la presenza del gene *RHD* nel feto: il genotipo fetale è RHD positivo.

Salvo rare eccezioni, un genotipo RHD positivo indica che il feto esprime l'antigene RhD sui suoi eritrociti e quindi ha il fenotipo RhD+. Il test Fetognost è validato anche per le gravidanze multiple.

Il test FetoGnost® KIT RHD è pienamente conforme ai requisiti dei dispositivi diagnostici in vitro CE-IVD. Consente l'identificazione rapida e non invasiva del gene *RHD* fetale. Uno studio condotto su 2968 partecipanti ha dimostrato una sensibilità del test >99,9% e una specificità >98,9%. Il limite di rilevamento per gli esoni 5, 7 e 10 è stata di 13, 8 e 7 copie/reazione nel 95% dei casi. Non sono stati osservati risultati falsi positivi o falsi negativi nelle 203 gravidanze multiple esaminate.

PRELIEVI E PREANALITICA

L'analisi del fattore Rhesus, su DNA fetale viene effettuata utilizzando ca 10 ml di sangue materno non centrifugato (sangue-EDTA). Non è richiesta alcuna preparazione speciale della paziente e del campione.

La quantità di DNA fetale presente nel sangue materno aumenta ad ogni settimana di gravidanza. Per ridurre al minimo il rischio di un risultato falso negativo, si raccomanda di eseguire la genotipizzazione RHD solo a partire dalla 18a settimana di gravidanza.

La provetta di prelievo deve essere annotata con il cognome, il nome e la data di nascita della gestante.

te. Sono inoltre necessarie informazioni sulla data del prelievo, sulla settimana di gravidanza e sul numero di feti. Il campione deve essere conservato a temperatura ambiente e inviato al nostro laboratorio entro 24 ore (non congelarlo o riscaldarlo).

FATTURAZIONE

I costi per la determinazione del genotipo RHD dal DNA fetale libero circolante sono a carico della cassa malattia una sola volta per gravidanza e vengono fatturati come segue:

Codice	Titolo	PT	CHF
6604.50	Genotipizzazione molecolare (x2)	100.8 (x2)	201.60
6001.03	Estrazione di acidi nucleici umani	54.9	54.90
4700.00	Tassa amministrativa	21.6	21.60

Se il risultato dell'analisi del fattore Rh effettuata prima della 18ma settimana di gravidanza indica che il feto è RhD-, si raccomanda vivamente di ripetere il test RHD dopo la 18a settimana di gravidanza.

RIASSUNTO

Il test FetoGnost® KIT RHD consente di caratterizzare in modo non invasivo e con la massima affidabilità il gene *RHD* del feto utilizzando sangue materno già a partire dalla 11ma settimane di gestazione. Il risultato di questo test RHD consente di utilizzare una profilassi anti-D mirata nelle donne gravide RhD-negative che portano in grembo un feto RhD-positivo.

REFERENZE

Opinione degli esperti n. 68: Raccomandazioni per la somministrazione di immunoglobuline anti-D in gravidanza (= profilassi anti-D). M. Hodel, S. Lejon Crottet, L. Raio, R. Zimmermann, O. Lapaire, G. Canellini, C. Henny, C. Niederhauser, S. Waldvo-

gel et S. Fontana. Société Suisse de Gynécologie et d'Obstétrique 2020.

Diagnostic performance of the noninvasive prenatal FetoGnost RhD assay for the prediction of the fetal RhD blood group status. Tobias J Legler, Sandra Lührig, Irina Korschineck and Dieter Schwartz. Arch Gynecol Obstet. 2021; 304(5):1191-1196. doi: 10.1007/s00404-021-06055-1.

PER ULTERIORI INFORMAZIONI

LabPoint Laboratori Medici SA
Dipartimento di Genetica Medica

Route de la Plaine 49
CH-1580 Avenches
Telefono: +41 58 105 00 00
info@mylabpoint.ch
giuditta.filippini@mylabpoint.ch