

Caratteristiche sierologiche e problematiche trasfusionali nelle AEA

Serelina Coluzzi



***Azienda Ospedaliero-Universitaria
Policlinico Umberto I- Sapienza Roma***

La sottoscritta, in qualità di Relatore
dichiara che

nell'esercizio della Sua funzione e per l'evento in oggetto, NON È in alcun modo portatrice di interessi commerciali propri o di terzi; e che gli eventuali rapporti avuti negli ultimi due anni con soggetti portatori di interessi commerciali non sono tali da permettere a tali soggetti di influenzare le proprie funzioni al fine di trarne vantaggio.



Anemia Emolitica Autoimmune (AEA)

- Disordine del sistema immunitario
- AutoAc contro antigeni self eritrocitari
- Incidenza: 1/40.000-80.000 individui
- Forme:
 - primitive
 - secondarie (>50% dei casi)

Disordini linfoproliferativi

Malattie autoimmuni

Malattie infiammatorie croniche

Neoplasie maligne

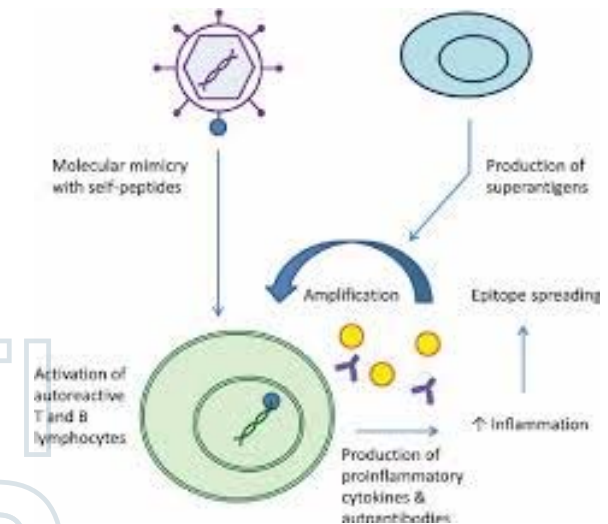
Infezioni

Farmaci

Anemie emolitiche autoimmuni: meccanismi patogenetici

L' agente causale:

- si lega ad un antigene eritrocitario e ne modifica la normale via di degradazione
- contiene una struttura antigenica simile a quella di un antigene eritrocitario bersaglio (*molecular mimicry*: es. Mycoplasma Pneumoniae e antigene I)
- induce modificazioni di un antigene eritrocitario (α -metildopa)





© Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2010

CONCLUSION: _____

Cell#	Rh-hr	Donor Number	Rh-hr										KELL					DUFFY		KIDD		Sex Linked	LEWIS		MNS				P	LUTHERAN		Special Antigen Typing	Cell#	Z-Test							
			D	C	E	c	e	f	C ^w	V	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Xg ^a	Le ^a	Le ^b	S	s	M	N	P ₁	Lu ^a	Lu ^b											
1	R1wR1	114567	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA+	1	4+	4+
2	R1R1	315675	+	+	0	0	+	0	0	0	+	+	0	+	/	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA+	2	4+	4+
3	R2R2	306274	+	0	+	+	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA+	3	3+	4+	
4	Ror	305698	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		4	3+	4+	
5	r'r	307656	0	+	0	+	+	+	0	0	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	@	5	3+	4+	
6	r'r	71249	0	0	+	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	@	6	3+	4+	
7	rr	307139	0	0	0	+	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	@	7	3+	4+		
8	rr	313518	0	0	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	/	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	@, HLA+	8	3+	4+		
9	rr	315671	0	0	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	/	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+		9	3+	4+		
10	rr	313278	0	0	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	/	+	+	0	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+		10	3+	4+			
11	R1R1	315366	+	+	0	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	/	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+		11	3+	4+	
Patient Cells																																									
Mode of Reactivity			37°C/Antiglobulin										Antiglobulin					Variable		Cold		Var.																			

Shaded columns indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment. "/" represents "Not Tested" for new donors.

Additional Cells	Rh-hr	KELL	DUFFY	KIDD	Sex Linked	LEWIS	MNS	P	LUTHERAN	Special Antigen Typing	Cell#	Te
II.IAC	- [-]	II.IAC	- [-]	II.IAC	- [-]	II.IAC	- [-]	II.IAC	- [-]			

AEA: diagnosi di laboratorio

- Test diretto dell'antiglobulina (DAT) o test di Coombs diretto
Eluizione anticorpale

- Ricerca anticorpi eritrocitari nel siero

- Ricerca emolisine mono- e bifasiche

- Identificazione di eventuali alloanticorpi associati

- Tipizzazione eritrocitaria (almeno fenotipo Rh completo e Kell)

AEA: test dell'antiglobulina diretto (test di Coombs diretto)

Il TAD da solo non definisce una condizione di AEA:

- può risultare positivo in individui sani e in pazienti senza evidenza di emolisi (< 0,1% dei donatori sani e nello 0,3-8% dei pz ospedalizzati. L.D. Petz, G. Garratty, 2004)
- Può rimanere positivo in pazienti con AEA in remissione clinica
- Può essere positivo per altre circostanze (alloimmunizzazione, farmaci....)

Test di eluizione degli anticorpi

Finalità

Dissociazione degli anticorpi dalle emazie mediante impiego di cloroquina difosfato o glicina acida/EDTA in modo da poter tipizzare le emazie trattate o utilizzarle per ulteriori test sierologici

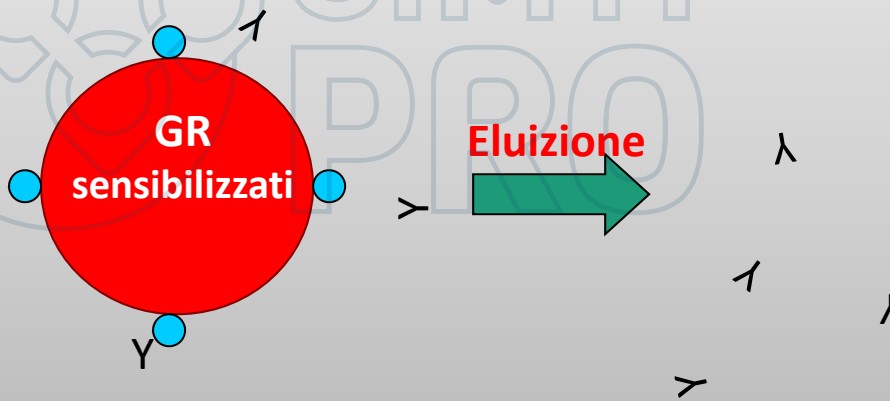


Anemia emolitica autoimmune
Malattia emolitica del neonato
Reazioni post-trasfusionali

AEA: eluizione degli anticorpi

Procedure tecniche

- Congelamento-Scongelamento rapido
- Calore
- Etere
- Glicina acida
- Glicina/EDTA



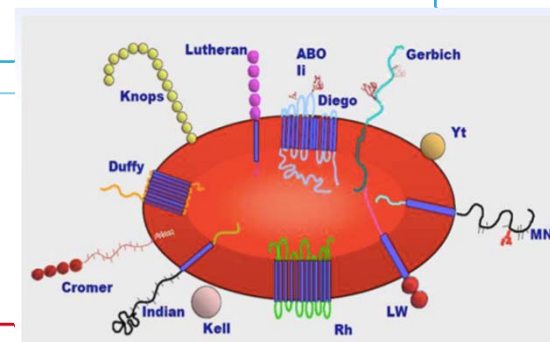
AEA: specificità dell'autoanticorpo

- Principalmente rivolta verso Ag del sistema Rh, ma non solo
- Anche: LW, Kell, Kidd, Duffy, Diego

Raramente autoanticorpi caldi possono presentare specificità rivolte verso Ag apparentemente non espressi sui GR : anti-E, anti-e , anti-c.

In questi casi è molto difficile distinguere se l'anticorpo sia di natura autoimmune o alloimmune: tuttavia le cellule prive dell'Ag possono adsorbire l'anticorpo

L'anamnesi e la valutazione dei campioni nel follow-up sono utili per valutare la natura di questi anticorpi



AEA TAD negative



Immune Hemolytic Anemia Associated With Negative Routine Serology

George Garratty

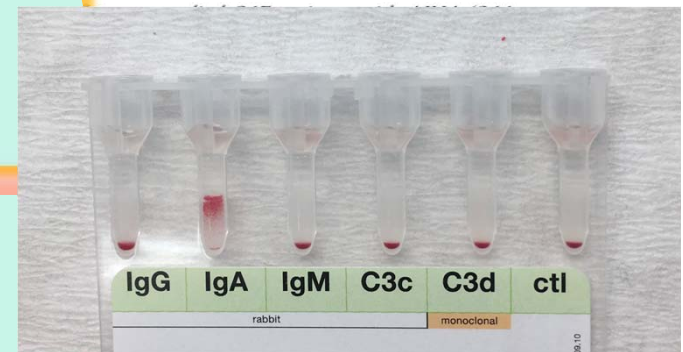
Immune hemolytic anemia can occur in patients who have no antibodies detectable by (DAT) antiglobulin tests). DAT-negative auto- to 10% of all AIHAs. Three causes have (RBC)-bound IgG molecules below the bodies; and (3) low-affinity autoantibodies. y natural killer (NK) cells have also been itive when tested by reference laborato- tests in hospital laboratories. Hemolytic alloantibodies are detectable by routine etected by special serologic procedures henotypically matched RBCs survive well ved, suggesting a specificity (like anti-C) other than to blood group antigens, such ay sometimes be involved. All rights reserved.

Fino al 10% delle AEA

Ridotto N° molecole anticorpo (<200/300 /eritrocita per la microcolonna (> IgG3)

Scarsa affinità Ag/Ac o dissociazione durante la fase di allestimento della sospensione eritrocitaria

IgA o IgM non rivelate dal TAD con reagente polispecifico (anti-IgG+C3d)



TAD e limite soglia del test

Test in provetta: ≥ 500 molecole Ac/GR

Microcolonna e fase solida: $\geq 200/300$ molecole Ac/GR

Specificità/sensibilità: Fase liquida : 87%/43%

Microcolonna e fase solida: 70%/65%

Br J Haematol., 2000

Piccole quantità di autoAc possono essere evidenziate da tecniche più sensibili:

Tuttavia i risultati forniti dai suddetti metodi devono essere considerati con cautela, in considerazione della elevata sensibilità e scarsa specificità

(“Small amounts of both IgG and Complement appear to be present on all red cells. A range of 5 to 90 IgG molecules/red cell and 5 to 40 C3d molecules/red cells appears to be normal on the red cells of healthy individuals” Technical Manual, AABB)

Ricerca anticorpi eritrocitari nel siero

In fase liquida:

a 4° , 20° e 37° C in fisiologica e mediante test indiretto dell'antiglobulina con impiego di

- emazie autologhe ed omologhe pre-trattate con enzimi proteolitici (papaina, ficina)
- mezzi potenzianti (albumina, soluzioni a bassa forza ionica)

Su microcolonna:

con test indiretto dell'antiglobulina e test enzimatici

- mediante impiego di pannelli eritrocitari estesi
- emazie autologhe

AEA: caratterizzazione del range termico dell'autoanticorpo

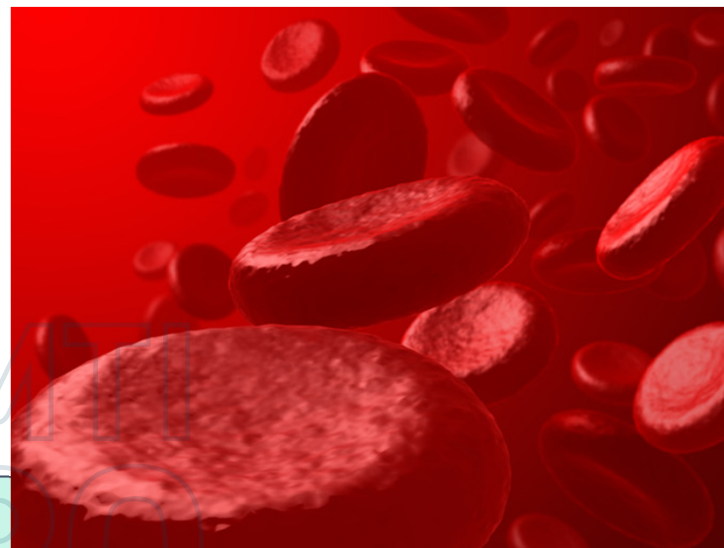
- Range termico: parametro di valutazione della significatività clinica dell' anticorpo
- Gli anticorpi con optimum termico di azione prossimo o uguale a 37° C hanno maggiore rilevanza clinica



AEA: classificazione sierologica

- **Comportamento clinico**
- **Scelta del trattamento**
- **Risposta alla terapia**

AEA di tipo caldo: aspetti sierologici



- Anticorpi di tipo caldo: > IgG1
- Occorrono almeno 1180 molecole IgG/eritrocita per l'adesione ai recettori del sistema reticolo-istiocitario
- Coinvolgimento della sottoclasse IgG3 in casi di AEA sierologicamente negativi

AEA di tipo caldo : aspetti sierologici

- Il test dell' antiglobulina diretta
tipo IgG e/o IgA e/o Complemento

Polyspecific AHG	3 - 4+
Anti-IgG	3 - 4+
Anti-C3	0 - 3+
Control	0

- Gli autoanticorpi di tipo caldo sono in genere dimostrabili r

Circa il 50% dei pz hanno un autoAc evidenziabile nel siero con metodi standard;l'autoAc compare nel plasma quando tutti i siti antigenici sui GR sono saturati.

- Gli autoanticorpi reagiscono contro gli eritrociti normali

AEA di tipo freddo : aspetti sierologici

TAD negativo o positivo di tipo Complemento (C_{3c} e C_{3d})

Presenza nel siero di autoanticorpi di norma di classe IgM, monoclonali, con catene k (policlonali nei casi secondari a infezioni)

Gli autoAc reagiscono meglio a 0° - 4° C, ma contrariamente alle crioagglutinine fisiologiche, hanno un ampio range termico (fino a 37° C)

L'analisi di proteine IgM clonali ha identificato una regione variabile della catena pesante codificata dal segmento genico IGHV4-34 che produce le specificità I e i, con specificità cross-idiotipica (K.N. Potter, J Immunol. 2002)

Anticorpi di tipo freddo

Fenomeno dell'auto-agglutinazione : difficoltà ad eseguire correttamente il conteggio cellulare e lo striscio per valutare la morfologia cellulare (riscaldando il campione di sangue gli agglutinati spariscono)

Striscio periferico: agglutinati, policromasia , anisocitosi, poichilocitosi



Prelevare il campione a caldo, lavare gli eritrociti a caldo, effettuare la semina dei reagenti, del siero e delle emazie a caldo (37° C)

20° C

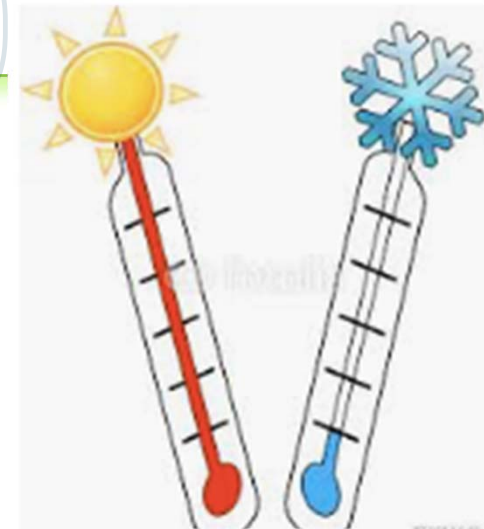
	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
AuF	eee w	ee -	e w	-	-	-	-		
Au	w/-	-	-	-	-				
OF	eee w	ee w	e +	e +	-	-	-		
O	e w/-	w	-	-	-				
Ocord	+	w	w						

4° C

	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
AuF	Emol totale	e w	e ++	e ++	+	+	w	-	-
Au	+	+	w	w	-	-	-	-	
OF	Emol totale	e +	e +	e ++	++	+	+	w	-
O	e w	+	w	w	-	-	-		
Ocord	e +	e w	-	-	-	-	-		

AEA di tipo misto: aspetti sierologici

- Autoanticorpi di tipo caldo (IgG) e agglutinine fredde (IgM)
- Agglutinine fredde: in genere con basso titolo a 4° C (<64) ma elevata amplitudine termica (in genere 30° -37° C in salina)



Identificazione della classe immunoglobulinica

Table 4.3-1. Effect of Dithiothreitol on Blood Group Antibodies

Test Sample	Dilution					Interpretation
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	
Serum + DTT	3+	2+	2+	1+	0	IgG
Serum + PBS	3+	2+	2+	1+	0	
Serum + DTT	0	0	0	0	0	IgM
Serum + PBS	3+	2+	2+	1+	0	
Serum + DTT	2+	1+	0	0	0	IgG+IgM*
Serum + PBS	3+	2+	2+	1+	0	

*May also indicate only partial inactivation of IgM.

AABB, TECHNICAL MANUAL

Ricerca autoemolisine mono- e bifasiche

Interpretazione dell'emolisi che si verifica cimentando il siero (fresco o con aggiunta di Complemento) del paziente con eritrociti autologhi in determinate condizioni di pH e variazioni di temperatura, in parallelo con opportuni test di controllo con donatore sano omogruppo

Schema di base

SP + EP (a pH acido)

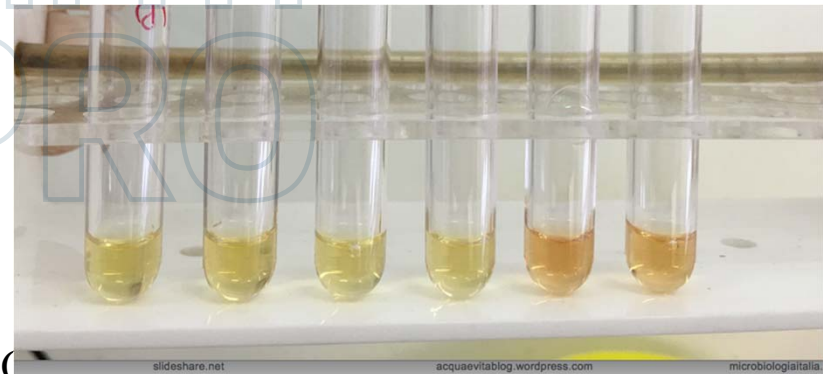
SP scomplementato + EP (a pH acido)

SP + ED (a pH acido)

SD + EP (a pH acido)

SP + EP (a pH acido) incubando direttamente a 37° C

SP + EP (a pH neutro)



AEA di tipo bifasico: dimostrazione della emolisina bifasica di Donath-Landsteiner

Reazione in due tempi:

Falsi negativi	Falsi positivi
Mancato impiego di siero fresco	Agglutinine fredde con elevato range termico
Campione mantenuto a basse temperature prima del test	
Presenza di anticorpo in quantità al di sotto del limite di rilevazione del test	
Consumo <i>in vivo</i> del complemento	



DL Siero di base

pap

Emoglobinuria parossistica a frigore (EPF): aspetti sierologici

- Dimostrazione della presenza nel siero della emolisina bifasica di Donath-Landsteiner:

Table 5 Comparison of typical characteristics of the antibody in cold agglutinin syndrome with the Donath-Landsteiner antibody of paroxysmal cold hemoglobinuria.

	Cold agglutinin Syndrome	Donath-Landsteiner Antibody
Titer (4 °C)	high (>500)	moderate (<64)
Thermal range	high (>30 °C)	moderate (< 20 °C)
Bithermic lysis (Donath-Landsteiner test)	negative	positive
Immunoglobulin class	IgM	IgG
Specificity	anti-I or i	anti-P

L.D. Petz, Blood Reviews 2008

Emoglobinuria Parossistica a Frigore (EPF): incidenza

	n° casi	%
PETZ L.D. e GARRATTY G., 1980	347	1.72
SOKOL R.J. e AL., 1981	865	1.96
GOUDEMAN M. e SALMON C., 1982	510	0
GOTTSCHKE B. e AL., 1990	599	3.67
ENGELFRIET C.P. e AL., 1992	1649	3.57

Emoglobinuria Parossistica a Frigore (EPF): incidenza

PERIODO DI OSSERVAZIONE : 4 ANNI

	N° PZ	N° CASI	%
ADULTI	531	0	0
BAMBINI	68	22*	32.4

***infezione acuta , presumibilmente virale; episodi emolitici severi, di breve durata;
emolisina evidenziata solo con emazie papainizzate in 10 casi.**

Gottsche B., Salama A., Muller-Eckhart C., 1990

Test di Donath-Landsteiner

Deve essere sempre eseguito in caso di :

Emoglobinemia ed emoglobinuria

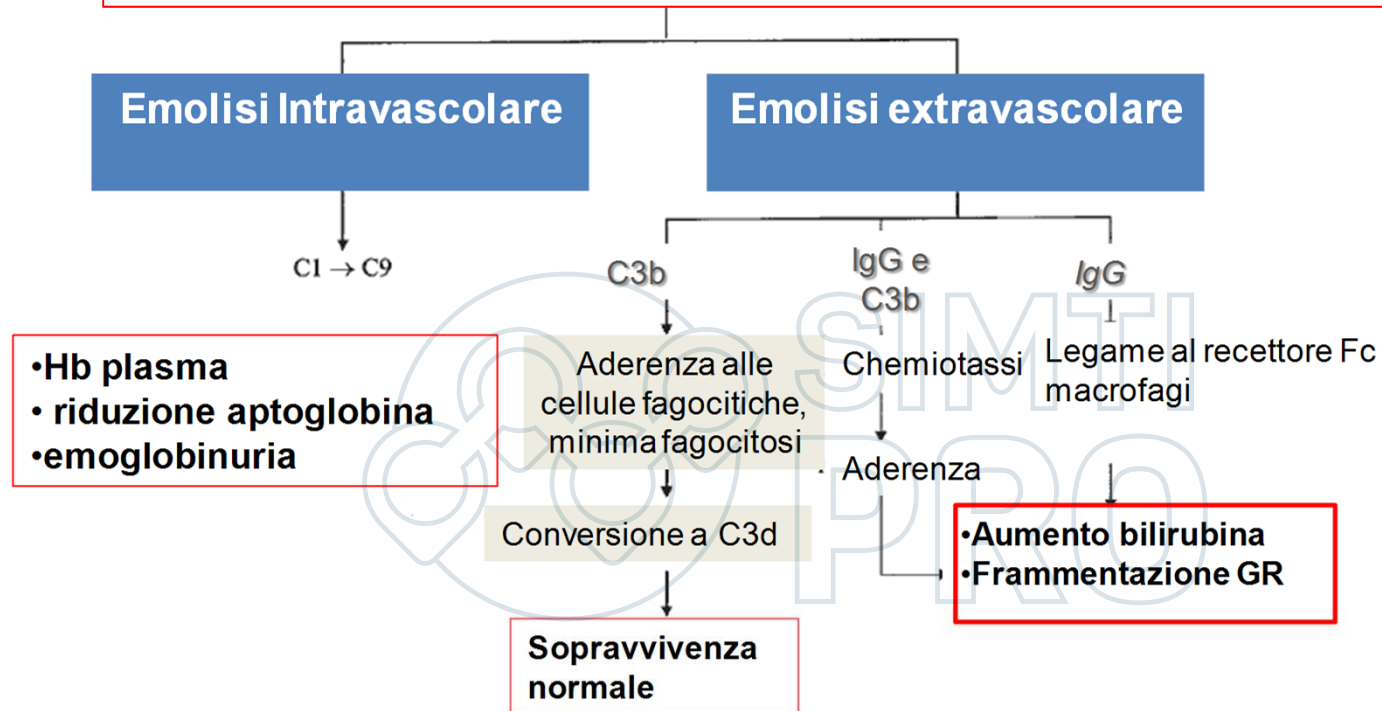
Test dell'antiglobulina diretto di tipo anti-Complemento

Emolisi in bambino/giovane adulto con anamnesi di malattia infettiva recente/vaccinazione

Morbillo
Varicella
Rosolia
Parotite epidemica
Mononucleosi infettiva
Influenza
Infezione da Parvovirus B19

.....

MECCANISMI DI ERITRODISTRUZIONE



AABB, Technical Manual,

Classificazione sierologica di 2561 casi di MEA

Periodo di osservazione:30 anni

TIPO	N°	%
CALDO	1729	67.5
FREDDO	732	28.6
MISTO	75	2.92
BIFASICO	26	1
Totale	2561	

UOC Immunoematologia e Medicina Trasfusionale
Policlinico Umberto I Roma

Aspetti sierologici di 2561 casi di MEA: studio degli eritrociti

TAD	N°	%
IgG	628	24.5
IgG+C'	676	26.4
IgG+IgA	57	2.2
IgA	11	0.4
C'	656	25.6
Altre associazioni	81	3.2
Negativo	452	17.6 (10.3% nelle MEA di tipo caldo)
Eluato con specificità definita	295	11.5

UOC Immunoematologia e Medicina Trasfusionale
Policlinico Umberto I Roma

Aspetti sierologici di 2561 casi di MEA: studio del siero

MEA di tipo caldo: classe Ig	N°	%
IgG	1351	78.1
IgM	131	7.6
IgA	5	0.3
Associazioni	35	2
MEA di tipo freddo		
Range termico:		
37° C	570	77.9
32° C	103	14
22° C	33	4.5
Titolo mediano a 4° C	256 (32-1.048.000)	/
Specificità autoAc:		
I	501	68.4
i	17	2.3
non-li	156	21.3
Pr	4	0.5


In 575 casi (38%) delle MEA di tipo caldo l'autoAc nel siero mostrava specificità definita

AEA del bambino: quadri sierologici (1983-2003)

Transfusion. 2007 Jan;47(1):50-4.

Autoimmune hemolytic anemia in childhood: serologic features in 100 cases.

Vaglio S¹, Arista MC, Perrone MP, Tomei G, Testi AM, Coluzzi S, Girelli G.

 Author information

¹ Faculty of Medicine, Rome, Italy. stefvaglio15@libero.it

TABLE 1. Results of DAT in 100 pediatric patients with different serologic type of AIHA

DAT	AIHA			
	Warm (n = 64)	Cold (n = 26)	Mixed (n = 4)	PCH (n = 6)
DAT negative	5	11		5
DAT positive	59	15	4	1
Complement (C)	5	15		1
IgG	19			
IgG + C	31		3	
IgG + IgA	1			
IgG + IgA + C	1		1	
IgG + IgA + IgM + C	1			
IgA	1			

immunization is a relatively uncommon cause of anemia in children and presents some differences. Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) in childhood has prompted very few studies, and the literature. The objective of this study was to stress the importance of an appropriate serologic diagnosis in

This report describes the immunohematologic features of 100 patients with AIHA studied in the "La Sapienza" University of Rome. The patients were diagnosed in the same department from 1983

to the first 4 years of life. No sex predominance was noted. Warm AIHA was the most common type; it comprised 64 of the 100 patients, whereas 26 patients showed a cold AIHA. Associated AIHA (14/100) compared to idiopathic forms of AIHA (46/100).

Large series of 100 children with confirmed AIHA are reported. This series, much larger than any previously reported, was designed to delineate the immunologic features of the disease in childhood.

AEA del bambino (anni 2004-2017): quadri sierologici

UOC Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Policlinico Umberto I Roma

M/F	22/27
Età mediana(anni)	9 (<1-18)
Tipo AEA	
Caldo	37 (75,5%)
Freddo	4 (8,16%)
Misto	3 (6,12%)
Bifasico	5 (10,2%)
TAD	
IgG	23
IgG+C _{3d}	9
C _{3d}	7
Neg	10
Siero (AEA calde)	
IgG	29
IgG+IgM	1
IgM	1
Negativo	6

Totale pazienti: 49

Autoimmunizzazione eritrocitaria e alloimmunizzazione



40 % Branch D.R. et al., 1999
11.8% Garratty G., 2004

11.8% Coluzzi S. et al., 2009

TABLE 1. Alloantibody specificities of 202 antibody-containing sera from 418 AIHA patients

Specificity*	n	Percentage present in antibody-containing sera	Percentage present in total AIHA patients
Anti-E	92	46	22
Anti-K	45	22	10.8
Anti-C	36	18	8.7
Anti-Fy ^a	30	15	7.8
Anti-Jk ^a	21	10	5.0
Anti-c	20	10	4.8
Anti-Jk ^b	19	9.4	4.6
Anti-S	17	8.4	4.0
Anti-D	14	7	3.4
Anti-e	10	5	2.4
HTLA	9	4.5	2.2
Anti-M	9	4.5	2.2
Anti-V	8	4	1.9
Anti-Js ^a	7	3	1.7
Anti-C ^w	7	3	1.7
Anti-Le ^a	7	3	1.7
Anti-Wr ^a	5	2.5	1.2
Anti-s	4	2	1.0
Anti-rhi	4	2	1.0

* Other specificities detected in only one or two sera included anti-Kp^a, -Js^a, -VS, -P₁, -Ch, -G, -N, -Di^a, -Ce, -KnMc^a, -U, -Lu^a, -Lu14, -He, -Xg^a, -Mit, and -Fy5.

Garratty G, Transfusion, 2002, 42, 1391

AEA: identificazione di eventuali alloanticorpi associati

Tecniche:

- Autoadsorbimento del siero (a caldo, a freddo)
- Diluizione (titolazione) del siero
- Uso di reagenti tiolici (Mercaptoetanololo, DDT)

Il siero da cui sia stato allontanato l'autoanticorpo può essere studiato per la presenza di eventuali alloanticorpi mediante l'impiego di pannelli eritrocitari del commercio a specificità antigenica nota

Adsorbimento del siero: scelta degli eritrociti

GR per l'adsorbimento	Ac adsorbiti	Ac che non si adsorbono
CCDee (R ₁ R ₁)	Anti-C, -D, -nl	Anti-c, -E
ccdee (rr)	Anti-c, -e, -nl	Anti-C, -D,-E
ccDEE (R ₂ R ₂)	Anti-c,-D,-E,-nl	Anti-C,-e

Identificazione anticorpale: PROCEDURE DI ADSORBIMENTO

- Può essere necessario, in caso di anticorpi con forte score di reazione, **ripetere l'adsorbimento 2-3 volte**
- L'uso di **emazie pre-trattate con enzimi proteolitici** può ridurre il numero di adsorbimenti necessari (non può essere effettuato in caso di Ac verso Ag distrutti dal trattamento enzimatico)
- Non sempre è possibile la rimozione completa** dell' anticorpo dal siero adsorbito

IDENTIFICAZIONE SPECIFICITÀ ANTICORPALI CON PROCEDURE DI ADSORBIMENTO

PATIENT NAME: CASO 1 Lot No. RC433 Exp Date 2015-05-26
 PATIENT ID: _____ TECH: _____
 DATE: _____ CONCLUSION: _____

Panel **C**

© Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. 2010

Cell#	Rh-hr	Donor Number	Rh-hr											KELL				DUFFY		KIDD		Lewis		MNS			P	LUTHERAN		Special Antigen Typing	Cell#	Test Results			
			D	C	E	c	e	f	C ^w	V	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Xg ^a	Le ^a	Le ^b	S	s	M	N	P ₁	Lu ^a				Lu ^b		
1	R1wR1	114567	+	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA+	1	4+ 4+ 2+ - -
2	R1R1	315675	+	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA+	2	4+ 4+ 2+ - -
3	R2R2	306274	+	0	+	+	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	HLA+	3	3+ 4+ 1+ W 2+
4	Ror	305698	+	0	0	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	4	3+ 4+ 1+ W 2+
5	r ^r	307656	0	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	@	5	3+ 4+ 1+ - 2+	
6	r ^r	71249	0	0	+	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	@	6	3+ 4+ - W 2+	
7	rr	307139	0	0	0	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	@	7	3+ 4+ - W 2+	
8	rr	313518	0	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	@	HLA+	8	3+ 4+ - W 2+	
9	rr	315671	0	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	9	3+ 4+ - W 2+	
10	rr	313278	0	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	10	3+ 4+ - W 2+	
11	R1R1	315366	+	+	0	0	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	11	3+ 4+ 2+ - 2+
	Patient Cells																																		3+ 4+ W 2+ /

Mode of Reactivity: 37°C/Antiglobulin

Antiglobulin: Variable Cold Var.

Shaded columns indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment. "r" represents "Not Tested" for new donors.

Additional Cells

Cell#	Rh-hr	Donor Number	D	C	E	c	e	f	C ^w	V	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Xg ^a	Le ^a	Le ^b	S	s	M	N	P ₁	Lu ^a	Lu ^b	Special Antigen Typing	Cell#	Test Results			

Autoac anti-c
Alloac anti-D+ anti-C

Eluato dai GR della paziente

IDENTIFICAZIONE SPECIFICITÀ ANTICORPALI CON PROCEDURA DI AUTOADSORBIMENTO

D	C	E	e	e	Cw	K	k	Kpa	Kpb	Jsa	Jsb	Fya	Fyb	Jka	Jkb	Lea	Leb	P1	M	N	S	s	Lua	Lu _b	*	<input type="checkbox"/>
+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	-	+	+	+	+	+	0	+	4+	
+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	+	+	+	+	0	0	+	4+	
+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	3+	
+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	0	+	0	+	+	0	0	+	4+	
0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	4+	
0	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	4+	
0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	4+	
0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	4+	
0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	+	4+	
0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	4+	
+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	0	+	4+	

* TAI su siero pre-adsorbimento

TAI su siero autoadsorbito

AEA e trasfusione

Trasfondere con cautela

- Le unità di globuli rossi risultano incompatibili
- Il quadro emolitico può peggiorare
- Può essere indotta la produzione di alloanticorpi



Trasfondere quindi quando strettamente indicato, in presenza di anemia grave e:

- malattia cardiaca e polmonare
- sintomatologia neurologica

AEA e trasfusione

28-12-2015

Supplemento ordinario n. 69 alla GAZZETTA UFFICIALE

Serie generale - n. 31


4.4 prova di compatibilità tra i globuli rossi del donatore e il siero o plasma del ricevente (prova crociata di compatibilità maggiore); nel neonato, al primo evento trasfusionale, la prova crociata può essere effettuata sul siero materno.

5. Nel caso di negatività della ricerca di alloanticorpi irregolari anti-eritrocitari può essere omessa la prova crociata di compatibilità adottando le procedure di *type and screen*, purché il servizio trasfusionale predisponga specifiche procedure volte a garantire la sicurezza trasfusionale con particolare riferimento alla prevenzione dell'errore da incompatibilità ABO. Nel caso siano stati rilevati anticorpi irregolari anti-eritrocitari, le prove crociate di compatibilità devono essere obbligatoriamente eseguite.

5.1 Il servizio trasfusionale garantisce la conservazione dei campioni di sangue del ricevente e di quelli relativi ad ogni unità eritrocitaria trasfusa per almeno sette giorni dopo la trasfusione.

6. Per l'assegnazione di emocomponenti non eritrocitari deve essere garantita l'esecuzione delle

AEA e trasfusione

 Società Italiana di Medicina Trasfusionale e Immunoematologia	Standard di Medicina Trasfusionale Sezione D - Assegnazione e distribuzione emocomponenti allogenici	3 ^a Edizione
---	--	-------------------------

D.2.5.2.3 Per la assegnazione di emocomponenti contenenti emazie, la ST definisce i casi in cui vengono effettuate le prove crociate di compatibilità maggiore.

Per la assegnazione di emocomponenti contenenti emazie, la ST **deve** definire i casi in cui vengono effettuate le prove crociate di compatibilità maggiore (*crossmatch*) ed i casi in cui possono essere applicate altre procedure che ne comportano l'omissione²²⁵.

Per la assegnazione di emocomponenti contenenti emazie, la ST **deve** garantire l'esecuzione del *crossmatch* in tutti i casi in cui la ricerca anticorpi irregolari anti-eritrocitari nel ricevente risulti positiva o esista la traccia anamnestica di pregressa positività.

**Match fenotipico/genotipico e cross-match
mediante TAI**

Cross-match sierologico

Con siero **non adsorbito** → incompatibile

Con siero **dopo autoadsorbimento**

→ compatibile in vitro

→ incompatibile in vivo

1585 trasfusioni di GR in **222 pts** affetti da AEA
(82.5% mismatched al TAI-XM)

Nessuna reazione indesiderata



Conclusioni

Il TAI-XM:

- ✓ **non è efficace** sotto il profilo costo-tempo
- ✓ **non aggiunge sicurezza** alla trasfusione nei suddetti casi

AUTOIMMUNIZZAZIONE ERITROCITARIA E TRASFUSIONE: SCELTA DEL FENOTIPO

**Tipizzazione eritrocitaria estesa e scelta di unità
compatibili per fenotipo:**



Fenotipo Rh completo e K

AEA, trasfusione, eritrogenomica

**L'applicazione
delle metodiche
molecolari in
immunoematologia
consente di:**

Tipizzare gli eritrociti nelle condizioni in cui non è possibile con i metodi sierologici

Distinguere auto-/alloanticorpi

Prevenire e gestire l'alloimmunizzazione nei pazienti a rischio

Ottimizzare la terapia trasfusionale

Prevenire e gestire anemie emolitiche immuno-mediate

GESTIONE TRASFUSIONALE DELL'AUTOIMMUNIZZAZIONE ERITROCITARIA

Quando la trasfusione è realmente URGENTE?

In attesa dei risultati dei test di secondo livello, è FONDAMENTALE un'attenta **valutazione clinica**

Considerare:

- La probabilità che il paziente possa essere alloimmunizzato (pregresse trasfusioni/gravidanze?)
- Fenotipo eritrocitario paziente (se disponibile)
- La possibilità di effettuare almeno alcuni test (titolazione del siero, uso di pannelli con diverse composizioni antigeniche)

GESTIONE TRASFUSIONALE DELL'AUTOIMMUNIZZAZIONE ERITROCITARIA

Contatto col clinico:

- **informazioni** circa la complessità del quadro sierologico e il grado di difficoltà nel reperire unità compatibili per il paziente
- **rassicurazione** che saranno **adottate** tutte le procedure per garantire il massimo grado di sicurezza in caso di trasfusione
- **monitoraggio accurato del paziente:** prima, durante e dopo la trasfusione ; decisione condivisa di effettuare la terapia trasfusionale

GESTIONE TRASFUSIONALE DELL'AUTOIMMUNIZZAZIONE ERITROCITARIA

Scopo della trasfusione è mantenere le funzioni vitali del paziente

- In **condizioni critiche** possono essere sufficienti anche quantità ridotte di concentrati eritrocitari («circa 100 mL possono essere appropriati» *Petz L.D., 2004*)

- La scelta del fenotipo eritrocitario e la sua identificazione (Paziente di fenotipo CcDEe con autoAc con specificità anti-e: selezionare fenotipo EE)

In caso di anemia emolitica autoimmune da **autoanticorpi di tipo freddo**:

trasfondere il paziente lentamente, mantenendolo al caldo

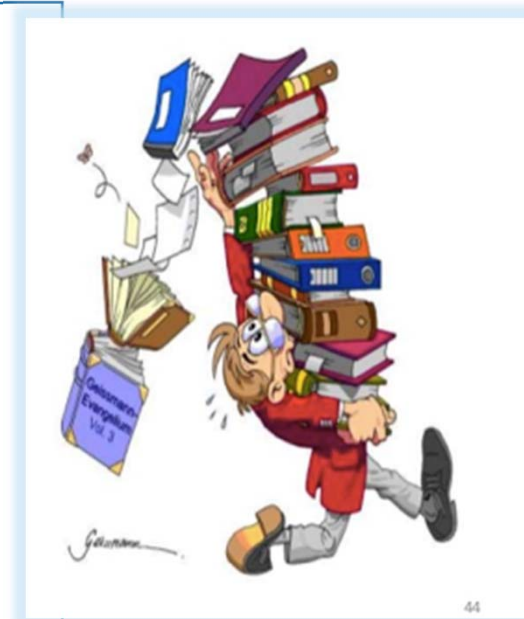
In conclusione?

La diagnosi di AEA si basa sull'impiego di più test (non basta il TAD!):

- esistono AEA senza TAD +
- soggetti sani e pazienti, non affetti da AEA, possono avere un TAD +

La caratterizzazione sierologica è fondamentale ai fini di una corretta gestione clinico-terapeutica

Il paziente affetto da AEA può rappresentare un'emergenza clinica, pertanto occorre attuare un workup immunoematologico adeguato in maniera rapida ed efficace





SIMPTI
PRO

Grazie

A TUTTI VOI