

# **MALATTIA EMOLITICA NEONATALE**

**Dr.ssa Enza Coluccia MD**

***Servizio di Medicina Trasfusionale  
AULSS3 Serenissima***

La sottoscritta, in qualità di Relatore  
dichiara che

nell'esercizio della Sua funzione e per l'evento in oggetto, NON È in alcun modo portatore 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 mie funzioni al fine di trarne vantaggio.



La **malattia emolitica neonatale** è una patologia caratterizzata dalla distruzione immunomediata dei globuli rossi del feto e del neonato per la presenza in circolo di **allo-anticorpi prodotti dalla madre diretti contro gli antigeni dei globuli rossi ereditati dal padre**





### EXPERIMENTAL STUDIES ON Rh IMMUNIZATION

KURT STERN, M.D., ISRAEL DAVIDSOHN, M.D., AND LILLIAN MASAITIS  
Mount Sinai Medical Research Foundation, and the Departments of Pathology, Mount Sinai Hospital and Chicago Medical School, Chicago, Illinois

1961

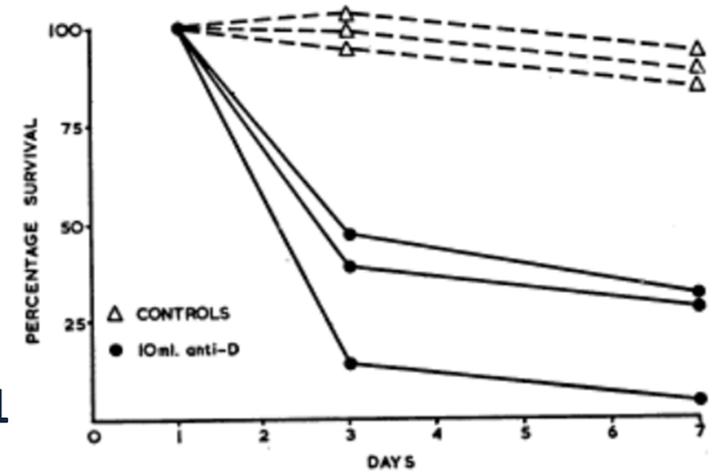


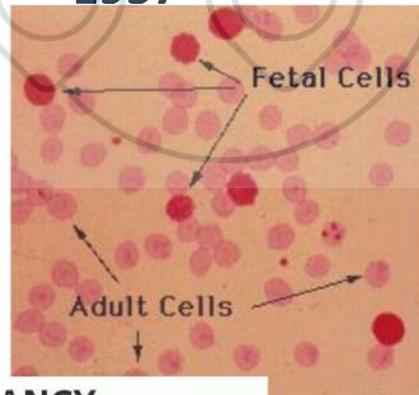
FIG. 2.—Remaining percentage radioactivity at various times after injection of 5 ml. of Rh-positive blood tagged with Cr-51 into 6 Rh-negative male volunteers.

1940

1956



1957



1963-1965



1941

## ISOIMMUNIZATION IN PREGNANCY ITS POSSIBLE BEARING ON THE ETIOLOGY OF ERYTHROBLASTOSIS FOETALIS

PHILIP LEVINE, M.D.; EUGENE M. KATZIN, M.D.; LYMAN BURNHAM, M.D.

## INDAGINI DIAGNOSTICHE PRENATALI (Legge 219 del 2015)

Entro il primo trimestre:

Determinazione Gruppo ABO

Determinazione fattore  
RhD

Ricerca anticorpi  
irregolari

I campioni devono riportare i **dati anagrafici della paziente** e la **firma dell'operatore** che ha eseguito il prelievo.

Le indagini devono essere svolte con **metodiche convalidate**

**Gruppo  
ABO**



- Prova diretta: sieri anti-A, anti-B, anti-AB
- Prova indiretta: emazie test A1 e B

**Rh**



- 2 diversi anti-D monoclonali, che non riconoscano la variante  $D^{VI}$
- D weak non è raccomandato, se non è possibile confermarlo in biologia molecolare (D variant)

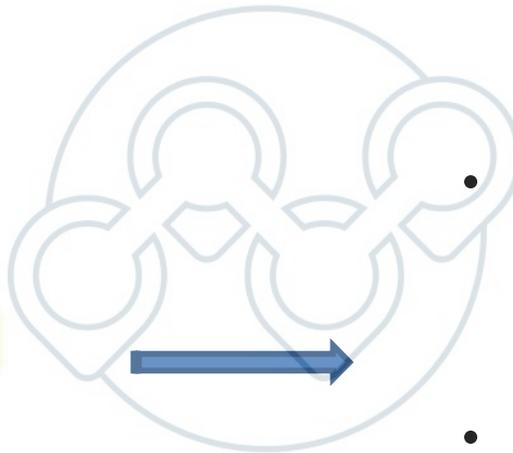
**D - variant**



**Test  
dell'antiglobulina  
indiretto (TAI)**

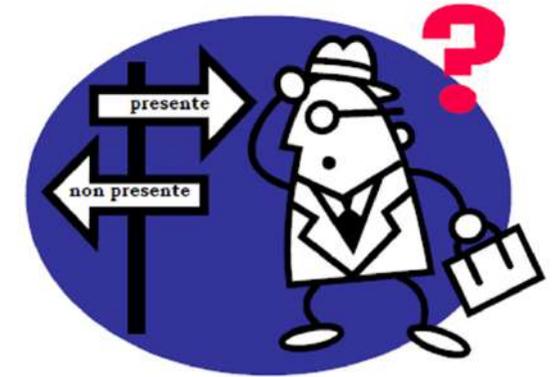


**28 w**

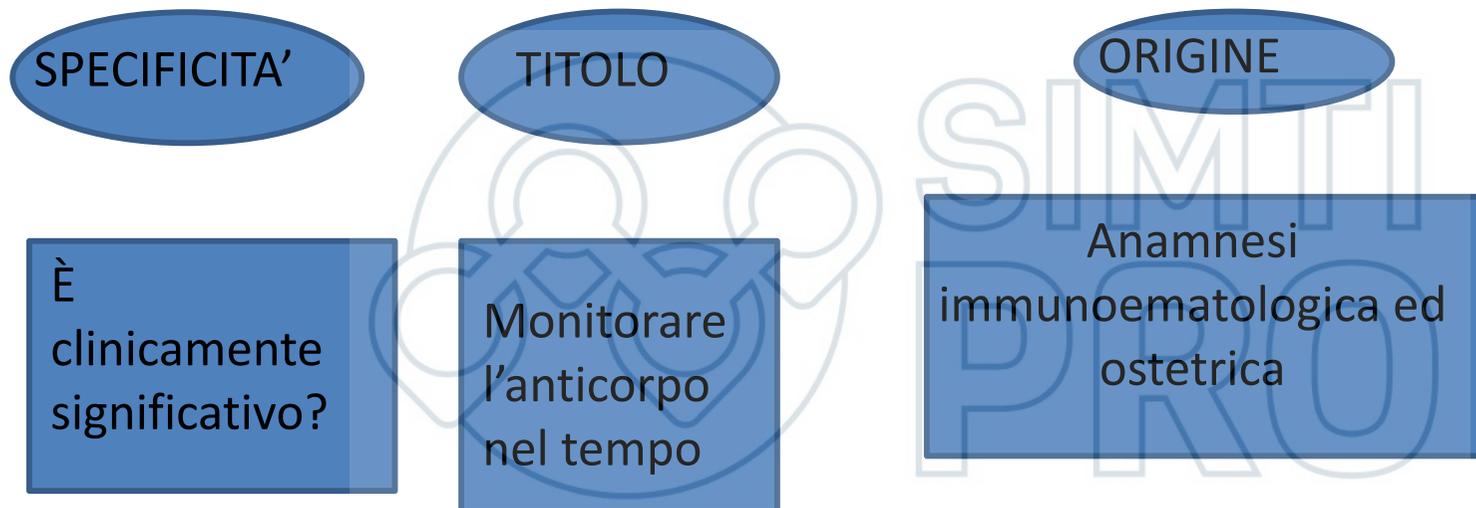


- Sugerito l'uso di siero **anti- IgG**
- Non necessari pannelli eritrocitari che esprimano antigeni a bassa frequenza (Cw, Kpa, Lua)
- Non è consigliato il trattamento enzimatico
- Il TAI, se negativo in precedenza, deve essere ripetuto a tutte le donne in gravidanza indipendentemente dallo stato RhD.
- Nelle donne Rh negative andrebbe eseguito prima della somministrazione dell'IP
- È suggerito un nuovo controllo di Gruppo ABO e RhD se non presente negli archivi della ST.

Se la ricerca di anticorpi è **POSITIVA**?



- Identificare :



- Il referto deve indicare la rilevanza clinica del risultato e l'eventuale necessità di indagini successive

# SPECIFICITA' ANTICORPALE

- La MEFN da **anti-D** la più grave
  - **15-20%** delle gravidanze è presente **incompatibilità** di gruppo tra madre e figlio, ma solo **1,5 %** dei casi richiede un supporto trasfusionale. La frequenza della MEFN da incompatibilità da **ABO** è a stessa sia nella prima che nelle gravidanze successive: la malattia non è né prevenibile, né prevedibile.
  - La ricerca di **IgG anti-A e/o anti B** nel corso della gravidanza è **scarsamente indicativa**.
  - In ordine di frequenza : **anti-c, -K, -C, Fya, Jka, -e, -E**
- Nelle donne con **anti-K** il titolo anticorpale non correla con la gravità della malattia. Inoltre il meccanismo patogenetico determinante l'anemia fetale non è solo rappresentato dall'emolisi, ma dalla **soppressione dell'eritropoiesi fetale**.



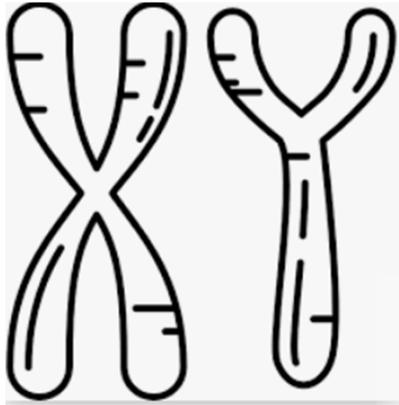
**Anche un basso titolo (uguale o superiore a 1:8) deve essere considerato a rischio**

# SPECIFICITA' ANTICORPALE

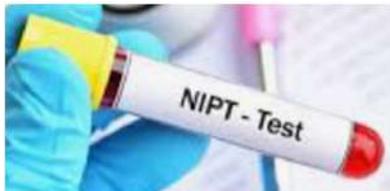
- Incompatibilità per gli antigeni dei sistemi:  
**Kidd, MNS, Dombrock sono molto rari**
- Gli **anti – Cw, - Fyb, -Jka, -Jkb, -Jk3, -S, -s** si limitano a determinare positività dal TAD nel neonato
- Gli anticorpi come **anti-I, - P<sub>1</sub>, -Lea, e Leb** possono essere ignorati



# SPECIFICITA' ANTICORPALE



**Tipizzazione paterna e determinazione della zigosità** (per RhD)



Per le donne che si sottopongono a diagnosi prenatale



E' suggerita la **determinazione del genotipo fetale** in PCR



# TITOLAZIONE

## Titolazione

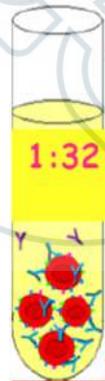
Il titolo di un anticorpo viene normalmente determinato cimentando diluizioni seriali per raddoppio del siero in esame con campioni di emazie selezionate. I risultati vengono espressi come il reciproco della diluizione più elevata del siero in grado di determinare un'agglutinazione macroscopica. Il valore del titolo anticorpale può



## Ab clinicamente significativi o Ab anti-D

4.3.3 Per le titolazioni dell'anti-D si suggerisce l'uso di emazie eterozigoti (R1r,R2r)

4.3.4 Per l'anticorpo anti-D se si eseguono titolazioni con un TAI in fisiologica (senza additivo), con incubazione di 60 ' a 37°C (tecnica standard), utilizzando anti IgG, il valore critico è pari a 1:32



Le Ig anti-D somministrate sono identificabili per almeno 3 mesi non sono differenziabili da Ig anti-D immuni di natura attiva

**MA andranno a diminuire nel tempo.**

Titolazione ogni 4 settimane fino alla 18 w, poi ogni 2-4 settimane.

Come già detto fa eccezione l'anti-Kell. Significativo anche ad un titolo 1:8



# TITOLAZIONE

**Ab non clinicamente  
significativi**

**Rh NEG** : ripetere  
identificazione a 24 e 34 w

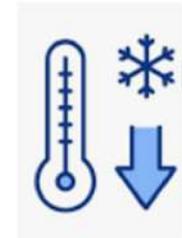
**Rh POS**: Ripetere identificazione  
a 34w

# TITOLAZIONE

## ...in generale:

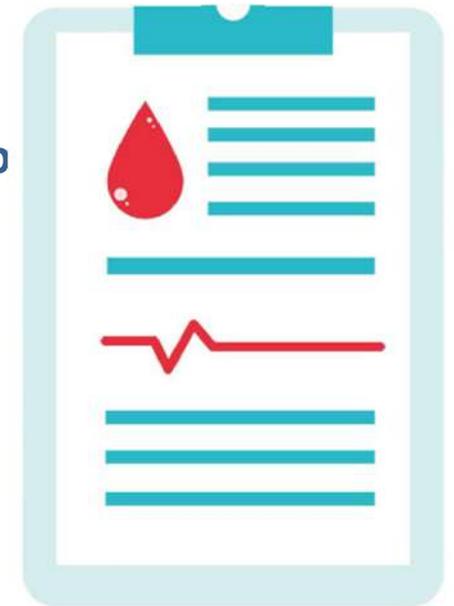
Dopo l'identificazione di un Ab clinicamente significativo:

- congelare il campione  $T \leq -20^{\circ}\text{C}$
- confrontare le titolazioni successive con i risultati precedenti



- Utilizzare sempre la stessa metodica
- Emazie test della stessa zigosità
- **Valutare la velocità di incremento del titolo**

Il referto deve indicare la metodica utilizzata per la titolazione e lo specifico livello critico



# CASI CLINICI

# CASO CLINICO 1

BL anni 37 ;

Parità: un parto a termine e un aborto

Epoca Gestazionale: 27° week

Non note precedenti trasfusioni.

Gruppo : A CcDee kk

**TCI : POS IgG panagglutinante** per tutte le emazie testo poliantigeniche di gruppo 0

TCD : neg

AC : neg

Siero tipizzazione estesa: Fya-Fyb+, Jka-Jkb+, M+,N+,S-s+, Lea-Leb+, Lua-Lub+

Eseguita genotipizzazione (tabella seguente)

Sistema gruppo ematico eritrocitario	Antigene	DS	BL
<b>Rh</b>	c	Positivo	Positivo
	C	Positivo	Positivo
	e	Positivo	Positivo
	E	Negativo	Negativo
<b>Kell</b>	K	Negativo	Negativo
	k	Positivo	Positivo
	Kpa	Negativo	Negativo
	Kpb	Positivo	Positivo
	Jsa	Negativo	Negativo
	Jsb	Positivo	Positivo
<b>Kidd</b>	Jka	Negativo	Negativo
	Jkb	Positivo	Positivo
<b>Duffy</b>	Fya	Negativo	Negativo
	FYb	Positivo	Positivo
<b>MNSs</b>	M	Positivo	Positivo
	N	Positivo	Positivo
	S	Negativo	Negativo
	s	Positivo	Positivo
<b>Lutheran</b>	Lua	Negativo	Negativo
	Lub	Positivo	Positivo
<b>Diego</b>	Dia	Negativo	Negativo
	Dib	Positivo	Positivo
<b>Colton</b>	<b>Coa</b>	<b>Positivo</b>	<b>Negativo</b>
	Cob	Negativo	Positivo
<b>Dombrock</b>	Doa	Positivo	Positivo
	Dob	Negativo	Positivo
	Joa	Positivo	Positivo
	Hy	Positivo	Positivo
<b>Scianna</b>	Sc1	Positivo	Positivo
	Sc2	Negativo	Negativo

# Un campione di siero materno è stato inviato al Policlinico di Milano che ha confermato la presenza di un allo anticorpo a specificità anti-Colton a

- TC alla 36° EG
- APGAR 9/10/10, peso alla nascita 2120 gr, L 45 cm
- Gruppo Neonato: AB +
- **TCD debolmente pos per IgG**
- A sette giorni: ittero (Bilirubina Tot: 26,3 ), condizioni generali buone, esame obiettivo neurologico nella norma
- Trattato con **fototerapia, idratazione ed IgG e.v.**
- **Dimissione dopo 4 gg.**



- Il genotipo **Coa-Cob+** è presente in meno dello 0,1 % della popolazione caucasica.
- Il ceppo familiare è stato estesamente studiato
- Gli **anticorpi anti Coa** possono essere causa di **reazioni trasfusionali emolitiche e di MEN.**
  
- Per i soggetti Coa-Cob+ con anti – Coa , in caso di richiesta trasfusionale ,potrebbe essere necessario ricorrere a banche di emazie di gruppo raro per la **difficoltà nel reperire emazie compatibili**
- Alla paziente è stato raccomandato un percorso di predeposito e criopreservazione delle emazie.

# CASO CLINICO 2

SC anni 39

Parità: terza gravidanza

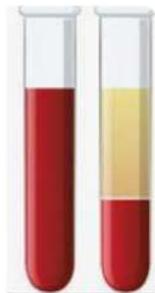
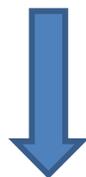
TCD emazie neonato (2° figlio) : fortemente POS +++- ; senza segni di malattia emolitica

Gruppo : AB CcDee kk

TCI : neg (anche nelle precedenti gravidanze) pannelli commerciali emazie poliantigeniche di gruppo 0.

	SC	PE
Gruppo ABO	AB	O
Rh	Positivo	Negativo
Fenotipo Rh	CcDee	ccdee
Fenotipo Kk	kk	Kk
TCD	Negativo	Negativo
TCI	Negativo	negativo

# I campioni non evidenziavano la presenza di auto o alloanticorpi.



E' stato cimentato il siero materno con emazie paterne

**POS**



Il titolo anticorpale era:

1:16 con metodica immunocromatografica per affinità

1:4 con metodica manuale in provetta

Sistema gruppo ematico eritrocitario	SC	PE
Rh	CcDee	ccdee
Kk	kk	Kk
MNSs	MNss	NNss
Kidd	Jka+Jkb-	Jka+ <b>Jkb+</b>
Scianna	Sc1+Sc2-	Sc+Sc2-
Sutter	Jsa-Jsb+	Jsa-Jsb+
Penney	Kpa-Kpb+	Kpa-Kpb+
Duffy	Fya+Fyb-	Fya+ <b>Fyb+</b>
Lutheran	Lua+Lub+	Lua-Lub+
LW	LWa+LWb-	LWa+LWb-
Dombrok	Doa-Dob+	Doa-Dob+
Colton	Coa+Cob-	Coa+Cob-
Hy	Hy+	Hy+
Jo	Joa+	Joa+
Diego	Dia-Dib+	Dia-Dib+

- Sono stati effettuati TCI trattando le emazie paterne con Papaina, DTT, Tripsina e Clorochina: La reattività restava imm modificata : titolo 1:4 (metodica manuale in provetta).



é stata sospettata la **presenza di allo-anticorpo anti-eritrocitario diretto verso un antigene a bassa frequenza espresso sulle emazie paterne e trasmesso ai prodotti del concepimento.**



Campioni del siero materno sono stati inviati a due laboratori di riferimento negli USA che non sono stati in grado di identificare la specificità anticorpale.

**La diagnosi è stata quindi di presenza di un anticorpo diretto verso un antigene a bassa frequenza a specificità non identificabile.**

Fortunatamente tale anticorpo si è dimostrato non essere in grado di dare MEFN  
Unica azione da intraprendere è stata ritenuta il monitoraggio del titolo anticorpale.



# CONCLUSIONE

L'ottimizzazione dei risultati nella prevenzione e nel trattamento della MEFN mediante una gestione multidisciplinare tra Specialisti in Ostetricia, in Neonatologia, in Immunoematologia e Medicina Trasfusionale ha sicuramente contribuito a ridurre l'incidenza della Malattia Emolitica Neonatale.

**300.000 gravidanze/anno sono ancora colpite dalla Malattia Emolitica**

Mancata immunoprofilassi (paesi a basso reddito)

Dose inadeguata rispetto all'emorragia fetto- materna

Sensibilizzazione in gravidanza

Errori di tipizzazione materna

**C'è ancora tanto da fare per l'eradicazione in tutto il Mondo della Malattia Emolitica del fetto e del Neonato.**

# GRAZIE PER L'ATTENZIONE

