



# Aggiornamenti in Medicina Trasfusionale

**Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.**

**Dott. Sebastiano Salvatore Pergolizzi**  
*Azienda Ospedaliero-Universitaria G.Rodolico-San Marco*  
*Catania*

Il sottoscritto, 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.

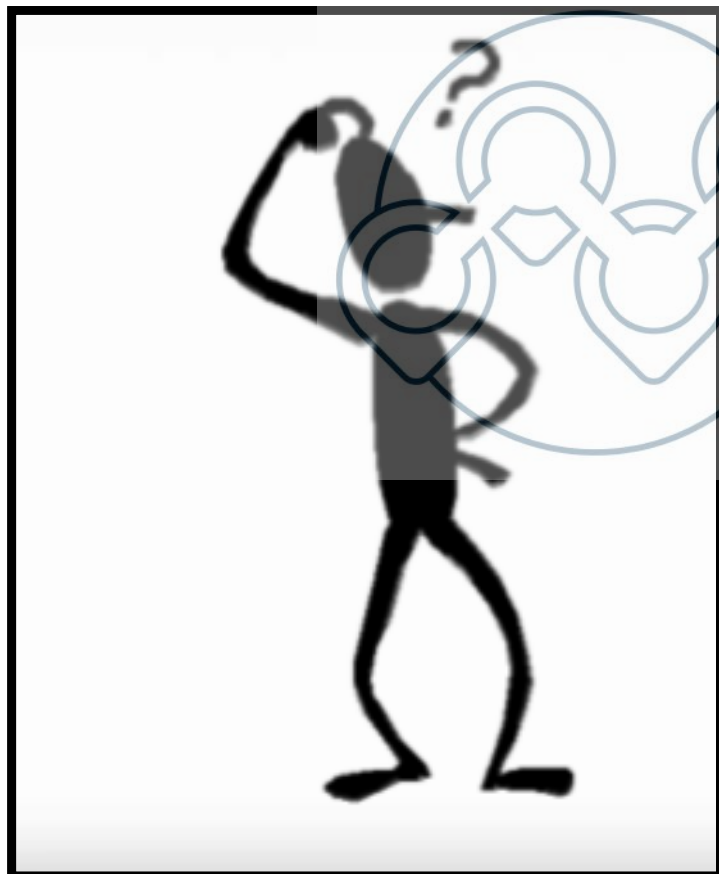


# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.



**Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.**

## **Panagglutinazione/panreattività**



**SIMPTI**

**Tutte le  
cellule sono  
positive**

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## Panreattività plasmatica:

1. Miscela alloanticorpale
2. Miscela autoanticorpale
3. Miscela auto/alloanticorpale
4. Interferenza da mezzi potenzianti
5. HFA
6. HTLA

**Test di Coombs diretto**

**A.C.**

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

**HTLA**  
Anticorpi ad alto titolo e bassa avidità considerati  **clinicamente non significativi**; generalmente di tipo IgG e diretti contro antigeni ad alta incidenza, reagiscono con tutte le emazie test determinando quadri di **debole pan reattività** nei test di laboratorio e mascherando potenzialmente la presenza di altri alloanticorpi a significato clinico incerto o spesso clinicamente significativi.

**Ab-HFA**  
Gli anticorpi diretti contro antigeni ad elevata frequenza reagiscono con i determinanti antigenici presenti sui globuli rossi di almeno il 90% della popolazione. Si tratta di anticorpi rari alcuni dei quali a significato nullo o incerto (appartengono alla classe degli HTLA), mentre altri sono **in grado di causare reazioni trasfusionali anche gravi**. Sono definiti **HTLA-like** in quanto possono dare un quadro di **pan-reattività**, ma con **score più alto**.

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## HTLA- High Titer Low Avidity

- High Titer  
Reactivity continues to be observed at high dilutions
- Low Avidity  
Weak reactivity due to weak bonds

## Common Characteristics of HTLA-like Antibodies

- Some are neutralizable with pooled serum or plasma
- Do *not* adsorb well onto red cells

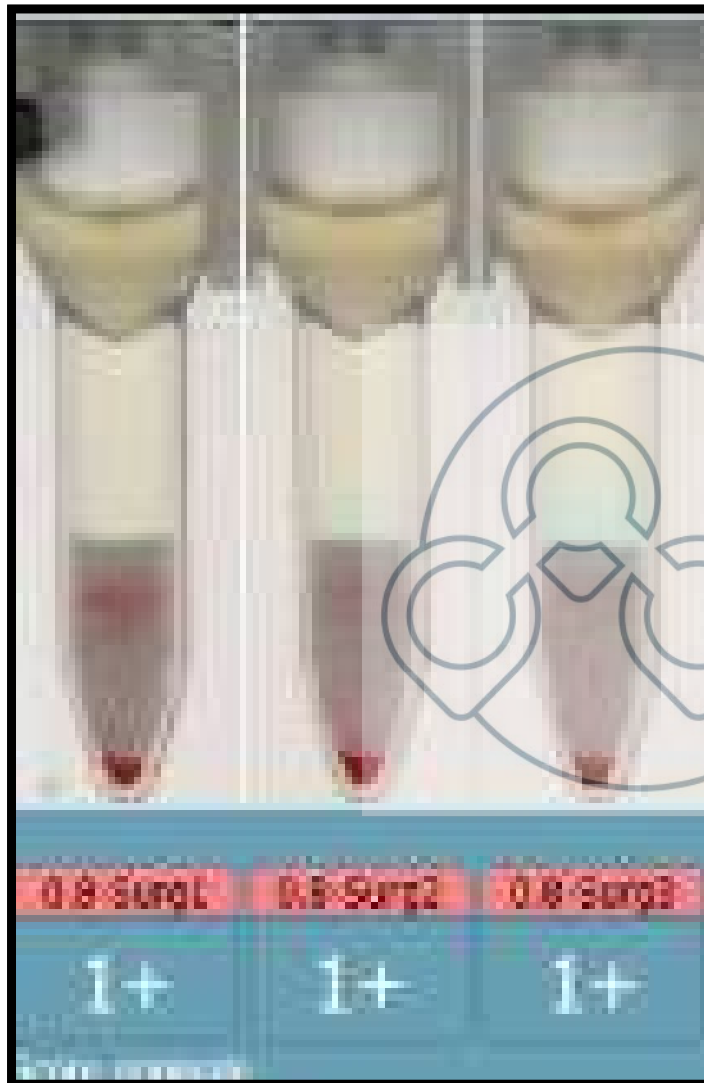
## Common Characteristics of HTLA-like Antibodies

- Weak, nebulous activity
- Diluted serum reacts
- Reactivity may be difficult to reproduce
- Antibodies to high frequency antigens

## Why are HTLA-like antibodies important?

- Mask underlying clinically significant antibodies
- Some clinically significant antibodies have HTLA-like characteristics

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.



## HTLA-like Antibodies

- Usually have HTLA-like characteristics:
  - Cs<sup>a</sup>
  - Knops system
  - Chido/Rodgers
  - JMH

**NON CLINICAMENTE  
SIGNIFICATIVI**

**Agglutinazione nebulosa**

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## Antibodies to HFAs

- Difficult for routine laboratories to investigate
- Invariably referred to a Reference laboratory
- Antibody identification is required to:
  - Assess likely clinical significance
  - exclude underlying alloantibodies
  - to guide decisions regarding suitable blood for transfusion

## High Frequency Antigens

- Also referred to as 'high incidence', 'high prevalence' and 'public' antigens
- For HFA classification must have incidence of >90% but majority have an incidence of >99%
- Lack of a HFA = rare phenotype
- ~189 red blood cell antigens classified as HFAs by the ISBT

Some almost ethnically exclusive

## Ruling Out a Complex Mixture

- Need to know patient's "routine antigen" phenotypes

Important!

**ABO, D, C, c, E, e, K, M, N, S, s, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>**

- Modes of reactivity – use a range of techniques and temperatures to find the clues

## Antibody Characteristics

- Important for all antibody identification
- Essential for determining antibodies to HFAs
  - Mode of reactivity (technique, temperature)
  - Reactivity with enzyme treated/chemically modified cells (eg. papain, AET, trypsin)
  - Strength and consistency of reactivity
  - Appearance of agglutination
  - Ability to induce invitro haemolysis

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## HTLA-like Antibodies

Some of these antibodies can have HTLA-like characteristics

- Ge<sup>2</sup>, Ge<sup>3</sup>
- Lu<sup>b</sup>
- Yt<sup>a</sup>
- Fy<sup>3</sup>
- Co<sup>a</sup>
- Di<sup>b</sup>
- In<sup>b</sup>
- Vel



**CLINICAMENTE  
SIGNIFICATIVI**

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## All Cells Positive

Panel Cells	A		B		C		D		18°C
	IAT		IAT		IAT		IAT		
	Unt	Pap	Unt	Pap	Unt	Pap	Unt	Pap	
1	1	0	3	0	4	4	4	H	4
2	3	0	3	0	4	4	4	H	4
3	1	0	3	0	4	4	4	H	4
4	2	0	3	0	4	4	4	H	4
5	1	0	3	0	4	4	4	H	4
6	1	0	3	0	4	4	4	H	4
7	2	0	3	0	4	4	4	H	4
8	3	0	3	0	4	4	4	H	4
9	2	0	3	0	4	4	4	H	4
10	1	0	3	0	4	4	4	H	4
Auto	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anti-Ch/Rg, -Kna/McCa, -Yka

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## All Cells Positive

Panel Cells	A		B		C		D		18°C
	IAT		IAT		IAT		IAT		
	Unt	Pap	Unt	Pap	Unt	Pap	Unt	Pap	
1	1	0	3	0	4	4	4	H	4
2	3	0	3	0	4	4	4	H	4
3	1	0	3	0	4	4	4	H	4
4	2	0	3	0	4	4	4	H	4
5	1	0	3	0	4	4	4	H	4
6	1	0	3	0	4	4	4	H	4
7	2	0	3	0	4	4	4	H	4
8	3	0	3	0	4	4	4	H	4
9	2	0	3	0	4	4	4	H	4
10	1	0	3	0	4	4	4	H	4
Auto	0	0	0	0	0	0	0	0	0

**Anti-JMH, -In<sup>b</sup>, -Ge2, -Yt<sup>a</sup>**

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## All Cells Positive

Panel Cells	A		B		C		D		18°C
	IAT		IAT		IAT		IAT		
	Unt	Pap	Unt	Pap	Unt	Pap	Unt	Pap	
1	1	0	3	0	4	4	4	H	4
2	3	0	3	0	4	4	4	H	4
3	1	0	3	0	4	4	4	H	4
4	2	0	3	0	4	4	4	H	4
5	1	0	3	0	4	4	4	H	4
6	1	0	3	0	4	4	4	H	4
7	2	0	3	0	4	4	4	H	4
8	3	0	3	0	4	4	4	H	4
9	2	0	3	0	4	4	4	H	4
10	1	0	3	0	4	4	4	H	4
Auto	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Rh, Kell, Jk, Scianna, Colton, Dombrock, Diego, Cromer

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## All Cells Positive

Panel Cells	A		B		C		D		18°C
	IAT		IAT		IAT		IAT		
	Unt	Pap	Unt	Pap	Unt	Pap	Unt	Pap	
1	1	0	3	0	4	4	4	H	4
2	3	0	3	0	4	4	4	H	4
3	1	0	3	0	4	4	4	H	4
4	2	0	3	0	4	4	4	H	4
5	1	0	3	0	4	4	4	H	4
6	1	0	3	0	4	4	4	H	4
7	2	0	3	0	4	4	4	H	4
8	3	0	3	0	4	4	4	H	4
9	2	0	3	0	4	4	4	H	4
10	1	0	3	0	4	4	4	H	4
Auto	0	0	0	0	0	0	0	0	0

**Anti-Vel, -PP1P<sup>k</sup>, -H (made in O<sub>h</sub>)**

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## Proteolytic enzymes

- Enhance: ABO, Hh, Rh, Lewis, Kidd, Ii, P, Colton and Dombrock
- Inhibits or depresses: M,N,S,Fy<sup>a</sup>,Fy<sup>b</sup>,**En<sup>a</sup>,Pr,Ch<sup>a</sup>, Rg, JMH,Yt<sup>a</sup>**,T,Tn,Mg,Mi<sup>a</sup>/Vw,Cl<sup>a</sup>,Je<sup>a</sup>,Ny<sup>a</sup>,**Lu8,Lu14**, In, **In<sup>b</sup>** and Xg<sup>a</sup>. (**High Incidence antigens are in bold letters**)

**DTT 0,2M**

6% AET 2-aminoethylisothiuronium bromide (not commercially available)

- Depresses or destroys **JMH, Yt<sup>a</sup>, Gy, Hy, Kn<sup>a</sup>, McC<sup>a</sup>, Yk<sup>a</sup>, LW<sup>a</sup>** and high incidence antigens in the Kell, Lutheran and Cromer Blood Group Systems

Use of cord red cells

Cord red cells have depressed expression of: **A1,I,Sd<sup>a</sup>, Le<sup>a</sup>,Le<sup>b</sup>,Lu<sup>a</sup>,Lu<sup>b</sup>,Vel, Yt<sup>a</sup>, Gy,Hy,McC<sup>a</sup>, Cs<sup>a</sup>,Ch,Rg** and **JMH**.

## ZZAP

- Destroys enzyme-sensitive antigens PLUS **Lw<sup>a</sup>,Yt<sup>a</sup>,Ge2,3,4, Yk<sup>a</sup>,McC<sup>a</sup>/Kn<sup>a</sup>**, and high incidence antigens in the Dombrock, Lutheran and Kell blood group system

EDTA, glycine, acid

- All Kell Blood Group System Antigens including those high incidence antigens. **Er<sup>a</sup>** and Bg

High frequency antigens more frequently missing in certain racial groups:

– Black	Hro, Hr, U, Fy5, Jsb, Hy, Ata
– Japanese	Dib, Jra
– Mongolian descent/Mexicans	Di <sup>P</sup>
– Polynesian/Filipino	Jk3
– Swedish	PP <sub>1</sub> , P <sup>a</sup>
– Melanesians	Ge
– Jewish/Arab/Druse	Yt <sup>a</sup>

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

Antigen	Treatment						
	Tryp <sup>1</sup>	Chym <sup>2</sup>	T/C <sup>3</sup>	Pap <sup>4</sup>	Pro <sup>5</sup>	St <sup>6</sup>	AET <sup>7</sup>
MNS5 (U)	+	+	+	+	+	+	+
En <sup>a</sup> TS	O <sup>1</sup>	+	O	O	O	+O <sup>2</sup>	+
En <sup>a</sup> FS	+	+	+	O	O	+	+
En <sup>a</sup> FR	+	+	+	+	+	+	+
RH17	+	+	+	+	+	+	+
RH29	+	+	+	+	+	+	+
LU2 (Lu <sup>b</sup> )	O	O	O	+	+	+	O
LU3	O	O	O	+	+	+	O
LU4	O	O	O	+	+	+	O
LU5	O	O	O	+	+	+	O
LU6	O	O	O	+	+	+	O
LU8	O	O	O	O	O	+	O
LU12	O	O	O	+	+	+	O
LU13	O	O	O	+	+	+	O
LU17	O	O	O	+	+O	+	O
KEL2 (k)	+	w <sup>4</sup>	O	+	+	+	O
KEL4 (Kp <sup>b</sup> )	+	w	O	+	+	+	O
KEL5 (Ku)	+	w	w	+	+	+	O
KEL7 (Is <sup>b</sup> )	+	w	w	+	+	+	O
KEL11	+	w	O	+	+	+	O
KEL12	+	w	w	+	+	+	O
KEL13	+	w	w	+	+	+	O
KEL14	+	w	O	+	+	+	O
KEL18	+	w	O	+	+	+	O
KEL19	+	O	O	+	+	+	O
KEL22	+	w	O	+	+	+	O
FY3	+	+	+	+	+	+	+
FY6	+	O	O	O	O	+	+
JK3	+	+	+	+	+	+	+
DI2 (Di <sup>b</sup> )	+	+	+	+	+	+	+
YT1 (Yt <sup>a</sup> )	+	O	O	O	O	+	O
SC1	+	+	+O	+	+O	+	+
CO1 (Co <sup>a</sup> )	+	+	+	+	+	+	+
CO3	+	+	+	+	+	+	+
LW3 (LW <sup>a</sup> )	+	w	+	+	O	+	O
LW6 (LW <sup>ab</sup> )	+	w	w	+	O	+	O
Ch	O	O	O	O	O	+	+
Rg	O	O	O	O	O	+	+

Antigen	Treatment						
	Tryp	Chym	T/C	Pap	Pro	St	AET
H1 (H)	+	+	+	+	+	+	+
XK1 (Kx)	+	+	+	+	+	+	+
GE2	O	w	O	O	O	+O	+
GE3	O	+	O	+	O	+	+
GE4	O	+	O	O	O	O	+
CROMER1 (Cr <sup>a</sup> )	+	O	O	+	+	+	w
CROMER2 (Il <sup>a</sup> )	+	O	O	+	+	+	w
CROMER5 (Dr <sup>a</sup> )	+	O	O	+	+	+	w
CROMER6 (Es <sup>a</sup> )	+	O	O	+	+	+	w
CROMER7 (IFC)	+	O	O	+	+	+	w
CROMER9 (WES <sup>b</sup> )	+	O	O	+	O	+	w
CROMER10 (UMC)	+	O	O	+	+	+	w
IN2 (In <sup>b</sup> )	O	O	O	O	O	+	O
COST1 (Cs <sup>a</sup> )	+	+	+	+	+	+	+
COST3 (Yk <sup>a</sup> )	O	O	O	+	+	O	O
COST4 (Kn <sup>a</sup> )	O	O	O	+	+	+	O
COST5 (MCC <sup>a</sup> )	O	O	O	+O	w	+	O
Gy1 (Gy <sup>a</sup> )	w	+	w	+	w	+	w
Gy2 (Hy)	+	+	w	+	+	+	w
I1 (I)	+	+	+	+	+	+	+
I2 (I)	+	+	+	+	+	+	+
ER1 (Er <sup>a</sup> )	+	+	+	+	+	+	+
GLOBO1 (P)	+	+	+	+	+	+	+
GLOBO3 (LKE)	+	+	+	+	+	+	+
WR2 (wr <sup>b</sup> )	+	+	+	+	+	+	+
Vel	+	+	+	+	+	+	+
Lan	+	+	+	+	+	+	+
Ar <sup>a</sup>	+	+	+	+	+	+	+
Jr <sup>a</sup>	+	+	+	+	+	+	+
Ok <sup>a</sup>	+	+	+	+	+	+	+
JMH	O	O	O	O	+O	+	O
Emm	+	+	+	+	+	+	+
AnWj	+	+	+	+	+	+	+
MB-2D10	+	w	w	+	O	+	+

TRIPSINA  
 CHEMIOTRIPSINA  
 PRONASE  
 DTT/AET  
 FICINA/PAPAINA  
 SIALIDASI

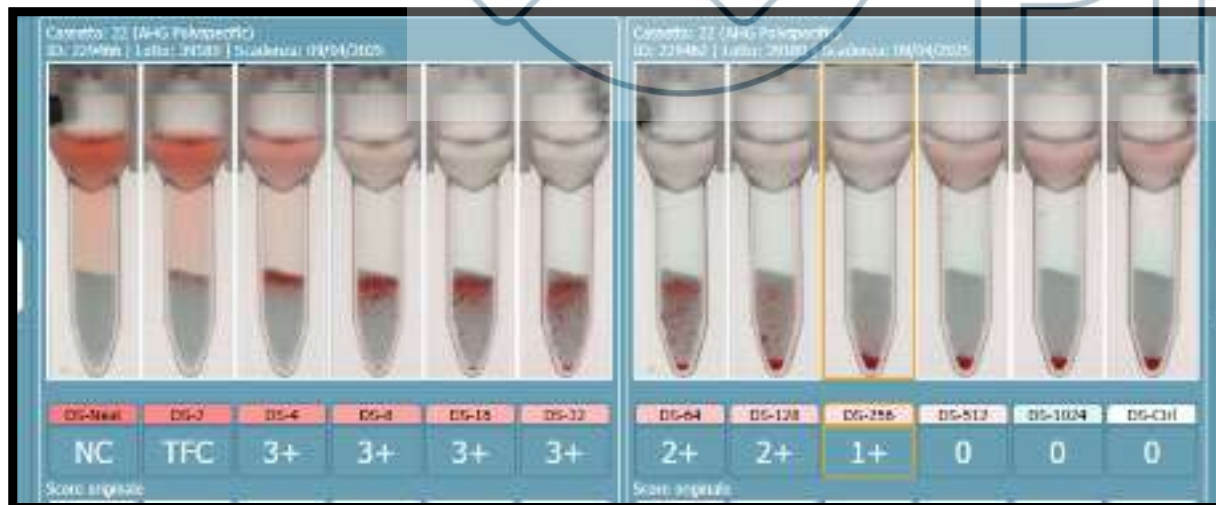
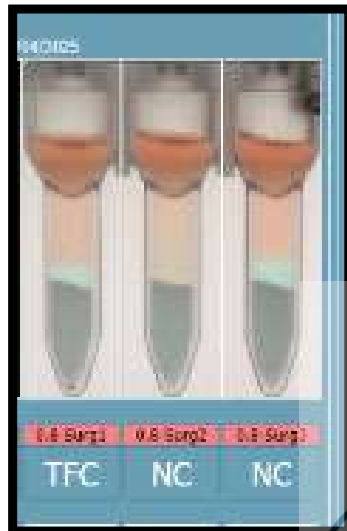
# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## Caso clinico

Paziente con storia di infertilità  
Congelamento di embrioni  
Numerosi tentativi di fecondazione assistita  
Nessuna evidenza di TCI eseguiti  
Familiarità per poliabortività (< 8°w) e gravidanze pretermine  
Accesso al PS ostetrico per curettage uterino



# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.



Anti-Vel, -PP1P<sup>k</sup>, -H (made in O<sub>h</sub>)



Potente emolisina

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

Reagent	Well Image	Reaction Strength	Original Grade	Revised Grade
Cell 1		17	-	-
Cell 2		19	-	-
Cell 3		19	-	-
IgG Pos		25	-	-

**P1 = negativa**  
**Vel = positiva**  
**H = positiva**

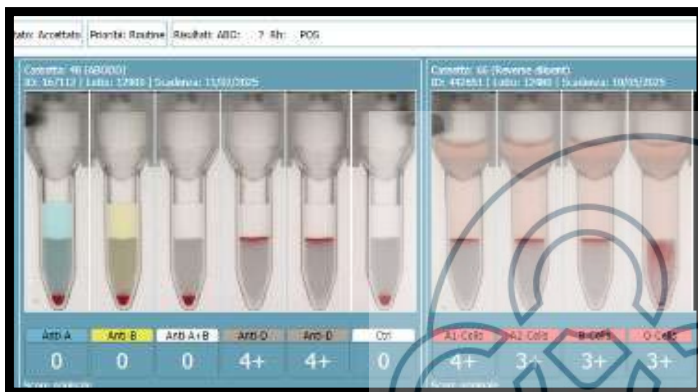


**POTENTE EMOLISINA**

	Well Image	Reaction Strength	Original Grade	Revised Grade
Cell 1		79	3	3
Cell 2		81	3	3
Cell 3		85	3	3
IgG Pos		97	4	4

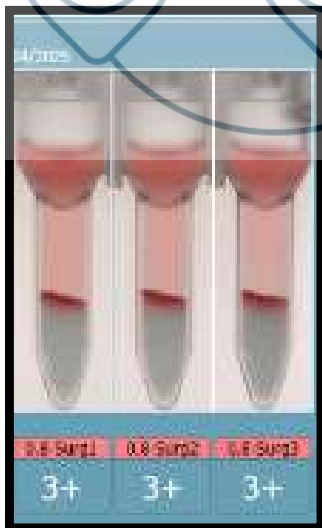
# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## FAMILIARITÀ PER POLIABORTIVITÀ E GRAVIDANZE PRETERMINE



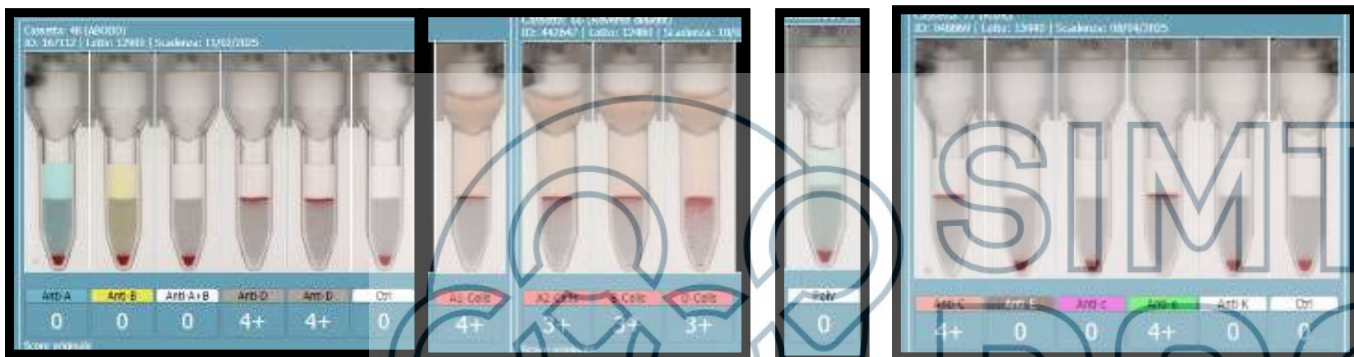
**P1 = negativa**  
**Vel = positiva**  
**H = positiva**

**SORELLA N°1**  
1 aborto  
2 gravidanze (di cui 1 pretermine)



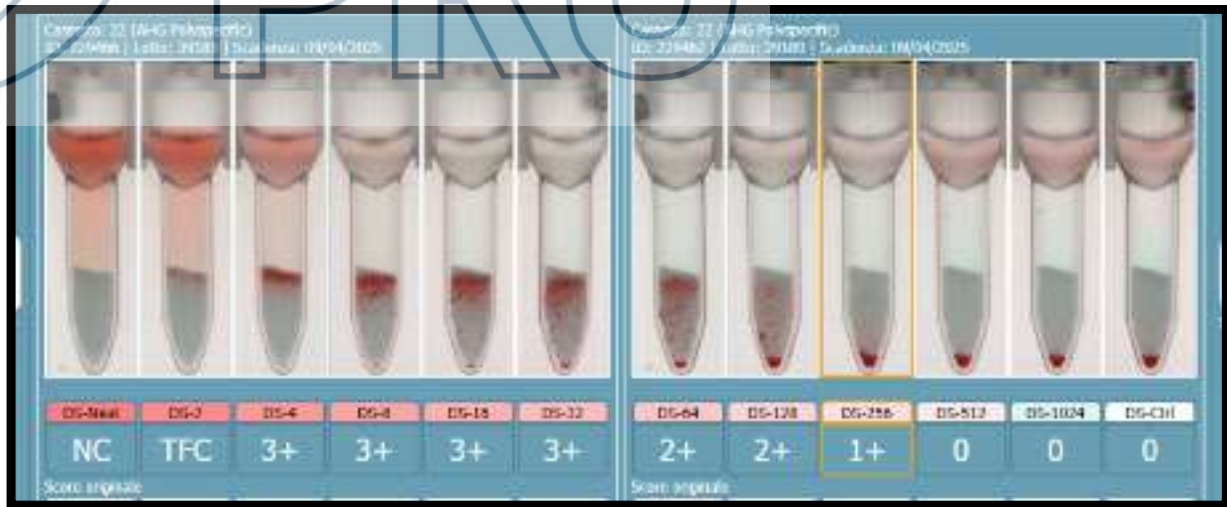
# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## FAMILIARITÀ PER POLIABORTIVITÀ E GRAVIDANZE PRETERMINE



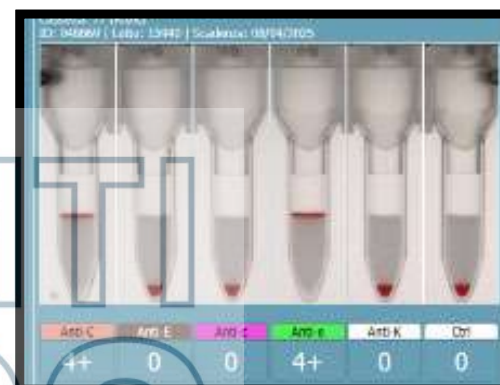
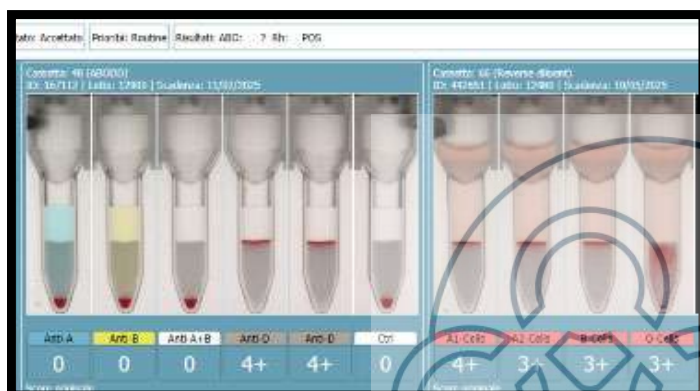
**P1 = negativa**  
**Vel = positiva**  
**H = positiva**

**SORELLA N°2**  
**7 aborti**

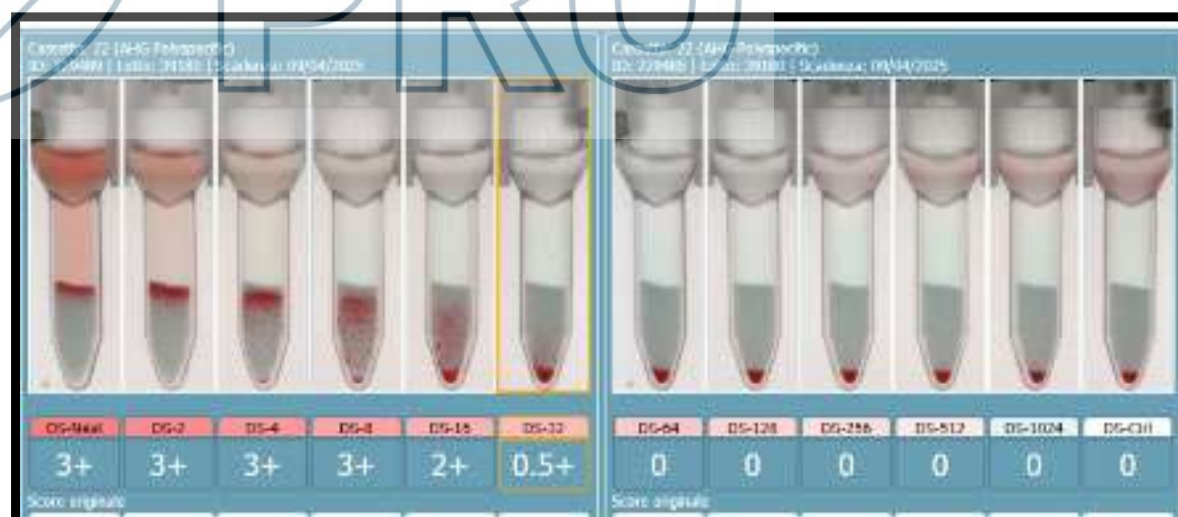
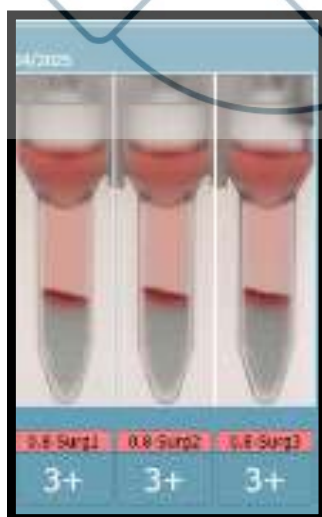


# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

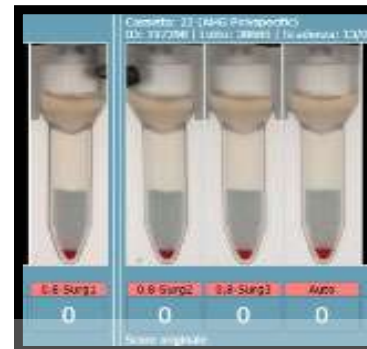
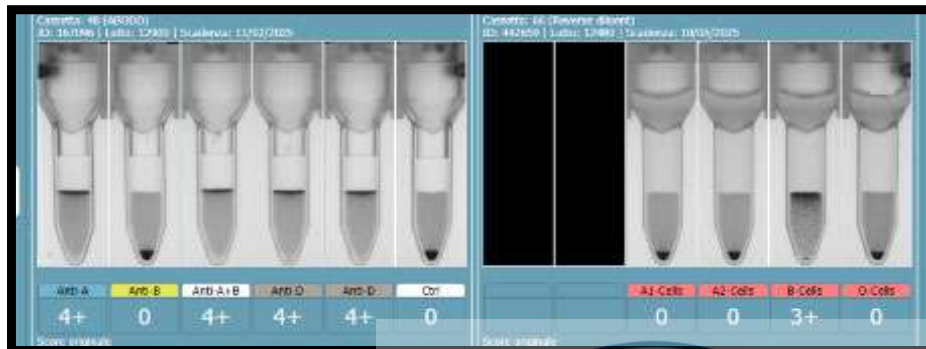
## FAMILIARITÀ PER POLIABORTIVITÀ E GRAVIDANZE PRETERMINE



**MADRE**  
1 aborto  
3 gravidanze

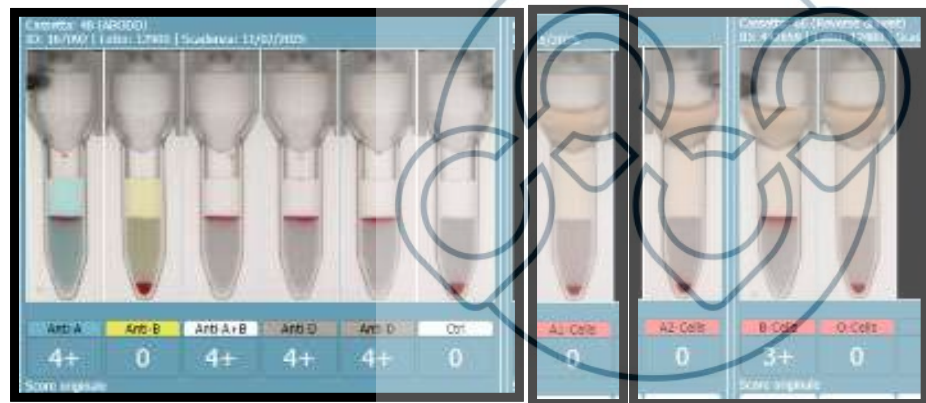


# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.



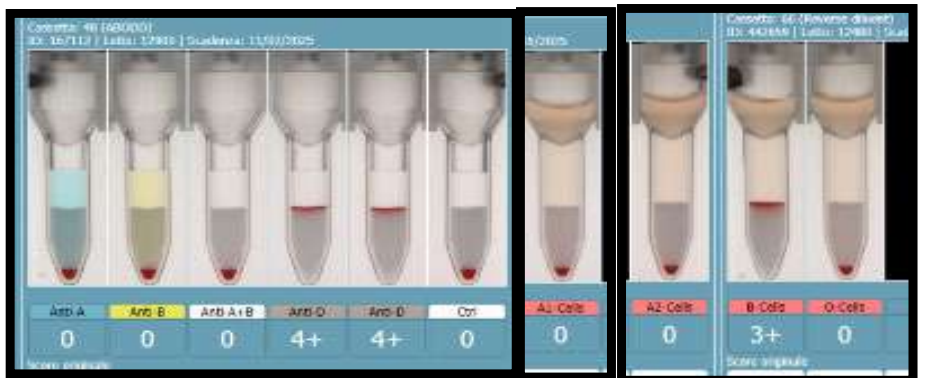
**P1 = negativa**  
 Vel = positiva  
 H = positiva

**Nipote 1**



**P1 = negativa**  
 Vel = positiva  
 H = positiva

**Nipote 2**



**P1 = negativo**  
 Vel = positivo  
 H = positivo

**Nonno**

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

Strumenti a disposizione 1

Antigeni ricombinanti

rBGA	REF	PROTEIN SPECIFICATION
Chido(a)	R_Ch(a)	<b>C4B*3</b>
CROM/DAF	R_CROM	Cr(a+), Tc(a), <b>Dra+</b> , Esa+, IFC+, WES(b), UMC+, GUTI+, SERF+, CROZ+, CROV+, ZENA+, CRAM+, CROK+, CORS+
Dombrock(a)	R_Do(a)	<b>Do(a)</b> , Hy+, Jo(a+), DOLG+, DOYA+, DOMR+, DOLC+, DODE+
Dombrock(b)	R_Do(b)	<b>Do(b)</b> , Hy+, Jo(a+), DOLG+, DOYA+, DOMR+, DOLC+, DODE+
Duffy(a)	R_Fy(a)	<b>Fy(a)</b> , Fy6
Duffy(b)	R_Fy(b)	<b>Fy(b)</b> , Fy6
Kell-Kp(b)-Js(a)	R_grKba	<b>Js(a)</b> , K12+, LU(a-), K19+, TOLU+, K23-, K13+, K22+, K11, <b>Kp(b)</b> , RAZ+, VLAN+, k, K14/24, K18+, KASH+, KELP+, KYO-, KHUL+, KTIM+, KUCI+, KANT+, KETI+, KALT+, VONG+
Indian(b)	R_Ia(b)	<b>Ia(b)</b> , INFI+, INJA+, INRA+, INSL+
JMH	R_JMH	<b>JMH1</b> , JMH2, JMH3, JMH4, JMH5, JMH6
Cellano-Kp(b)-Js(a)	R_klKba	<b>Js(a)</b> , K12+, LU(a-), K19+, TOLU+, K23-, K13+, K22+, K11, <b>Kp(b)</b> , RAZ+, VLAN+, k, K14/24, K18+, KASH+, KELP+, KYO-, KHUL+, KTIM+, KUCI+, KANT+, KETI+, KALT+, VONG+
Landsteiner-Wiener(a)	R_LW(a)	<b>LW(a)</b>
Rodgers(a)	R_Rg(a)	<b>C4A*3</b>
Sciannat	R_Sci	Sci, Rd-, SCAN+, STAR+, SCER+
Xg(a)	R_Xg(a)	<b>Xg(a)</b>
Cartwright	R_Yt(a)	<b>Yt(a)</b> , YTEG+, YTLI+, YTOT+
Kn(a)/DA	R_CR1_2	<b>Kn(a)</b> , McC(a), SI(a), SI3+, KCAM+, Yk(a), DACY
YCAD	R_YCAD	YCAD
Lutheran(a)/Au(a)	R_Lu(a)_2	<b>Lu(a)</b> , Lu4+, Lu5+, Lu6, Lu8, Lu12+, Lu13+, Lu16+, Lu17+, Lu20+, Lu21+, LURC+, Lu7+, Lu23, Lu24, Lu25, Lu27, Lu18
Lutheran(b)/Au(b)	R_Lu(b)_2	<b>Lu(b)</b> , Lu4+, Lu5+, Lu6, Lu8, Lu12+, Lu13+, Lu16+, Lu17+, Lu20+, Lu21+, LURC+, Lu7+, Lu23, Lu24, Lu25, Lu27, Lu19

corresponding antigens. Serologically tested antigens are in bold.

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

**Strumenti a disposizione 2**

**Formazione teorico-pratica**

**Letteratura scientifica**

**Strumentazione, personale, tempo**

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

**Strumenti a disposizione 3**

**STROMI DI EMASIE DI CONIGLIO**

**TEST DI NEUTRALIZZAZIONE CON POOL DI PLASMI**

**CONCENTRATO LIOFILO DI PIASTRINE**

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## Strumenti a disposizione 4

**Tipizzazione  
molecolare**




**S.I.M.T.  
A.S.P.  
RAGUSA**

Alloadsorbimento con emazie selezionate sulla base delle differenze antigeniche tra paziente e partner e pretrattate con ZZAP: nessun ulteriore alloimmunizzazione

**SEQUENZIAMENTO**



 **New York Blood Center**  
NYBC Genomics Laboratory  
45-01 Vernon Blvd, Long Island City, NY 11101

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

Metodica di adsorbimento/eluizione con antisiero anti-P1

	Paziente	Sorella 1	Sorella 2	Madre	Padre	Nipote 1	Nipote 2	CTR +	CTR -
Emazie P1+	NEG	NEG	NEG	NEG	+/-	1+	1s+	3+	NEG
Emazie P1-	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

Paziente, sorelle e madre

Service requested: Sequencing of A4GALT  
Test(s) performed: Sanger Sequencing of A4GALT and flanking intron regions

## RESULTS:

Detected variants: c.109A>G-het [p.37Met/Val], c.287G>A-het [p.96Cys/Tyr], c.676delC-het [p.226Arg/Gly>fs], c.903C>G-het [silent], c.987G>A-het [silent].

Inferred genotype: A4GALT\*01.02(676delC) / A4GALT\*02N.24

Predict. phenotype: p (Null; PP1Pk-)

Anti-PP1Pk (Tja)

A4GALT\*01.02(676delC) / A4GALT\*02N.24  
p (Null; PP1Pk-)

Titolo in fase liquida con emazie del partner =  
Esordio 1024  
Attuale 64

Tipizzazione P1 Partners:  
Paziente = P1+  
Sorella 1 = non noto  
Sorella 2 = P1+

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## Strumenti a disposizione 3

**STROMI DI EMAZIE DI CONIGLIO**

Non adsorbe l'anti-PP1Pk

**TEST DI NEUTRALIZZAZIONE CON POOL DI PLASMI**

Non neutralizza l'anti-PP1Pk

**CONCENTRATO LIOFILO DI PIASTRINE**

Adsorbe l'anti-PP1Pk

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

**Nipote 1**

**Service requested:** Sequencing of A4GALT

**Test(s) performed:** Sanger Sequencing of A4GALT and flanking intron regions

**RESULTS:**

**Detected variants:** c.109A>G-het [p.37Met/Val], c.676delC-het [p.225Arg[Cly>fs], c.903C>G-het [silent], c.987G>A-het [silent]

**Inferred genotype:** A4GALT / A4GALT\*01.02(676delC)

**Predict. phenotype:** P1+ or P1-, P<sup>k</sup>+

**Nipote 2**

**Service requested:** Sequencing of A4GALT

**Test(s) performed:** Sanger Sequencing of A4GALT and flanking intron regions

**RESULTS:**

**Detected variants:** c.287G>A-het [p.96Cys/Tyr].

**Inferred genotype:** A4GALT / A4GALT\*02N.24

**Predict. phenotype:** P1+ or P1-, P<sup>k</sup>+

## Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

Service requested:	Sequencing of A4GALT	<b>Padre</b>
Test(s) performed:	Sanger Sequencing of A4GALT and flanking intron regions	
<b>RESULTS:</b>		
Detected variants:	c.109A>G-het [p.37Met/Val], c.287G>A-het [p.96Cys/Tyr], c.903C>G-het [silent], c.987G>A-het [silent].	
Inferred genotype:	A4GALT*01.02 / A4GALT*02N.24	
Predict. phenotype:	P1+ P <sup>k</sup> +	

**Inferred genotype:** A4GALT\*01.02 / A4GALT\*02N.24  
**Predict. phenotype:** P1+ P<sup>k</sup>+

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

Nipote 1 e 2

Phenotype	Allele Name	Nucleotide change	Exon Intron	Predicted amino acid change
P1+ P <sup>1</sup> +	A4GAL T*01			
P1+ P <sup>1</sup> +	A4GAL T*01.02	c.109A>G	3	p.Met37Val
P1- P <sup>2</sup> + (P <sub>2</sub> )	A4GAL T*02	rs5751348:G>T	i1	n.a. (lower transcript levels)
P1- P <sup>2</sup> + (P <sub>2</sub> )	A4GAL T*02.02	rs5751348:G>T c.109A>G	i1,3	p.Met37Val
P1+ Pk+ NOR+	A4GAL T*01.04	c.631C>G	3	p.Gln211Glu
Null alleles are given consecutive numbers and names including A4GAL T*01N or 02N indicate P <sup>1</sup> , P <sup>2</sup> status. A4GAL T*0X. The P2 alleles have rs5751348:G>T displayed in the				
p	A4GAL T*0XN.01.01	c.241_243del c.903C>G	3	p.Phe81del
p	A4GAL T*02N.01.02	c.241_243del	3	p.Phe81del
p	A4GAL T*01N.03.01	c.299C>T c.903C>G	3	p.Ser100Leu
p	A4GAL T*01N.03.02	c.299C>T	3	p.Ser100Leu
p	A4GAL T*0XN.04	c.301delG	3	p.Ala101Profs*13
p	A4GAL T*0XN.06	c.470_496delins	3	p.Asp157Alafs*120
p	A4GAL T*01N.10	c.559G>C	3	p.Gly187Arg
p	A4GAL T*01N.11	c.560G>A	3	p.Gly187Asp
p	A4GAL T*01N.09.01	c.548T>A	3	p.Met183Lys
p	A4GAL T*0XN.09.02	c.548T>A c.987G>A	3	p.Met183Lys

Padre

## Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

Phenotype	Allele Name	Nucleotide change	Exon Intron	Predicted amino acid change
p	A4GAL F*01N.13	c.657del	3	p.Phe220Serfs*130
p	A4GAL F*0XN.12	c.656C>T	3	p.Ala219Val
p	A4GAL F*01N.16	c.752C>T	3	p.Pro251Leu
p	A4GAL F*02N.14	c.732dup	3	p.Ile245Aspfs*38
p	A4GAL F*0XN.15	c.751C>T	3	p.Pro251Ser
p	A4GAL F*01N.17	c.769delG	3	p.Val267Serfs*93
p	A4GAL F*01N.18	c.769delG	3	p.Trp261Ter
p	A4GAL F*01N.19	c.797del	3	p.Ang328Alafs*113
p	A4GAL F*02N.20	c.725dup	3	p.Thr344Hisfs*103
p	A4GAL F*02N.21	c.201dup	3	p.Thr68Hisfs*215
p	A4GAL F*02N.22	c.418C>T	3	p.Gln140Ter
p	A4GAL F*02N.23	c.498G>A	3	p.Trp166Ter
p	A4GAL F*02N.24	c.37G>A	3	p.Cys96Tyr
p	A4GAL F*02N.25	c.418_428delins	3	p.Gln140Trpfs*73
p	A4GAL F*02N.26	c.473G>A	3	p.Trp158Ter
p	A4GAL F*02N.27	c.504dupC c.914C>T	3	p.Tyr169Leufs*114

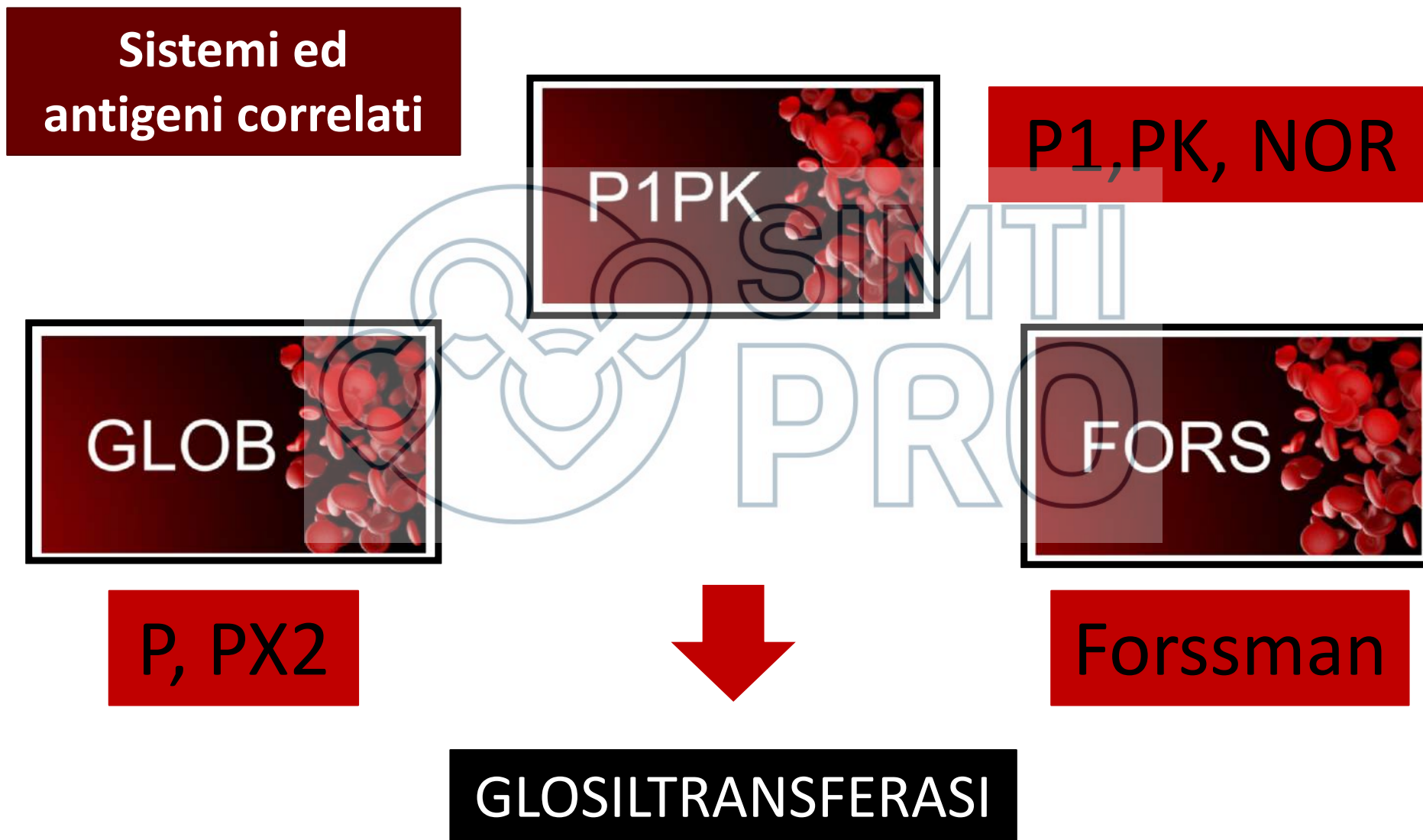
Paziente, sorelle e madre



## Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

Phenotype	Allele Name	Nucleotide change	Exon Intron	Predicted amino acid change
p	A4GALT*01N.28	c.68dupT c.109A>G	3	p.Phe24Valfs*31 p.Met37Val
p	<b>A4GALT*01.02(676delC)</b>			
p				
p	A4GALT*01N.31	c.109A>G	3	p.Met37Val
p	A4GALT*01N.32	c.972_997del c.109A>G	3	p.Arg325Alafs*113 p.Met37Val
p	A4GALT*01N.33	c.388dupA c.109A>G	3	p.Ile130Asnfs*153 p.Met37Val
p	Nuovo polimorfismo non ancora descritto in letteratura			
p				
p	A4GALT*01N.36	c.955A>T	3	p.Lys319Stop

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.



# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.



*A4GALT1*  
22q13.2

P1,PK: antigeni ad alta incidenza (> 99,9%)

$p: 5,8 \times 10^6$



blocco sintesi P,  
P1, Pk

**Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.**

**Anti-PP1Pk (IgM/IgG1/IgG3)**



**Citotossicità placentare  
Complemento-mediata**

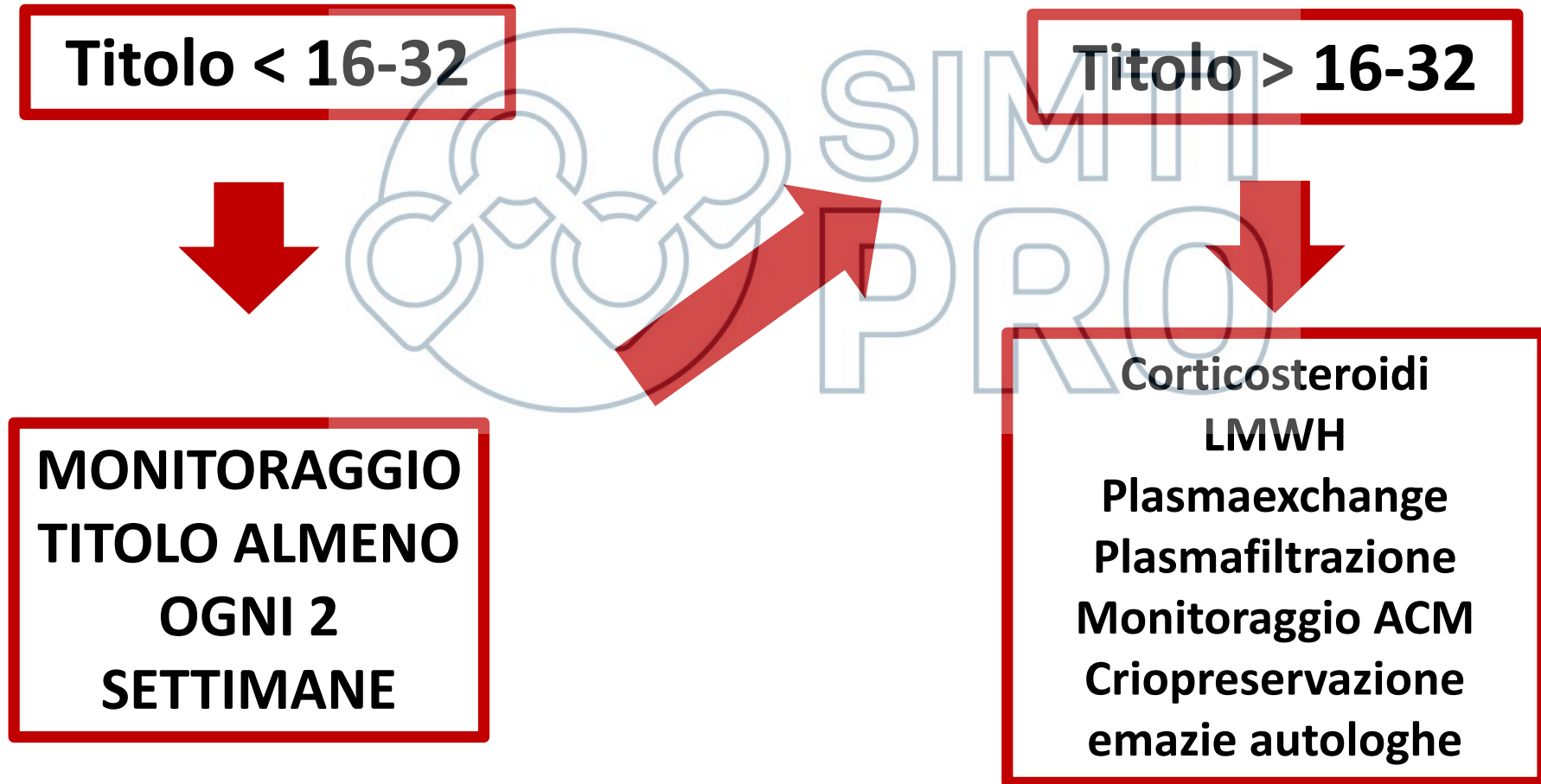


**POLIABORTIVITÀ < 20°w**

**Espressione  
antigenica  
placentare  
entro la  
19°w**

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## APPROCCIO TERAPEUTICO



# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## RED BLOOD CELL ALLOIMMUNIZATION, PREGNANCY COMPLICATIONS

**Incidence:** hemolytic disease of the fetus and newborn: 1,700 cases/100,000 newborns (United States)

Indication	Procedure	Category	Grade
Hemolytic disease of the fetus and newborn	TPE	III	2C
RhD alloimmunization prophylaxis after transfusion	RBC exchange	IV	2C
<b># reported patients:</b> >300	RCT	CS	CR
Hemolytic disease of the fetus and newborn	0	>10 (>200)	NA
RhD alloimmunization prophylaxis after transfusion	0	0	6 (8)

### Current management/treatment

The following describes management of a pregnant patient with a newly identified clinically significant RBC alloantibody who is at risk for HDFN: (1) history is obtained to identify exposure source (e.g., previous pregnancy, transfusion, transplant, IV drug use, etc.), (2) presumed father's RBCs are typed to assess for risk of inheritance. If the presumed father does not express the antigen, the fetus is deemed low risk. If the presumed father's RBCs express the antigen, further testing determines whether the father carries 1 or 2 gene copies. (3) Sensitized pregnancies are monitored with RBC antibody titer and by middle cerebral artery (MCA) Doppler ultrasound (US) with velocimetry to detect fetal anemia. Critical titer thresholds are typically 8 to 32 though titer does not always correlate with risk/severity of HDFN (e.g., anti-Kell). (4) If the titer is above a critical threshold or increased by 2 dilutions, serial US should be performed. Institutions use US with velocimetry at 18 weeks gestational age (GA) to determine treatment rather than titer. Moderate-severe anemia is predicted when MCA measurement is >1.5 multiples of the median (MoM). (5) After this, cordocentesis assesses fetal hematocrit (HCT); if HCT <30%, intrauterine transfusion (IUT) is indicated. IUT cannot be technically or safely performed until ~20 weeks GA. (6) Amniocentesis for fetal lung maturity assessment determines whether the fetus can be safely delivered. (7) HDFN can cause neonatal hyperbilirubinemia, which can result in kernicterus so the neonate must be monitored.

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## RED BLOOD CELL ALLOIMMUNIZATION, PREGNANCY COMPLICATIONS

**Incidence:** hemolytic disease of the fetus and newborn: 1,700 cases/100,000 newborns (United States)

Indication	Procedure	Category	Grade
Hemolytic disease of the fetus and newborn	TPE	III	2C
RhD alloimmunization prophylaxis after transfusion	RBC exchange	IV	2C

### Current management/treatment

The following describes management of a pregnant patient with a newly identified clinically significant RBC alloantibody who is at risk for HDFN: (1) history is obtained to identify exposure source (e.g., previous pregnancy, transfusion, transplant, IV drug use, etc.), (2) presumed father's RBCs are typed to assess for risk of inheritance. If the presumed father does not express the antigen, the fetus is deemed low risk. If the presumed father's RBCs express the antigen, further testing determines whether the father carries 1 of 2 gene copies. (3) Sensitized pregnancies are monitored with RBC antibody titer and by middle cerebral artery (MCA) Doppler ultrasound (US) with velocimetry to detect fetal anemia. Critical titer thresholds are typically 8 to 32 though titer does not always correlate with risk/severity of HDFN (e.g., anti-Kell). (4) If the titer is above a critical threshold or increased by 2 dilutions, serial US should be performed. Institute IUT at 18 weeks gestational age (GA) to determine treatment rather than titer. Moderate-severe anemia is predicted if MCA velocity is  $>1.5$  multiples of the median (MoM). (5) After this, cordocentesis assesses fetal hematocrit (HCT); if HCT  $<30\%$ , IUT is indicated. IUT cannot be technically or safely performed until  $\sim 20$  weeks GA. (6) Amniocentesis for RhD determines whether the fetus can be safely delivered. (7) HDFN can cause neonatal hyperbilirubinemia, which the neonate must be monitored.

**Cordocentesi:  $> 20^{\circ}w$   
HCT  $< 30\%$   
IUT**

### Rischio anemia:

- aumento del titolo di 2 diluizioni
- MCA  $> 1.5$  volte rispetto alla mediana per l'epoca gestazionale.

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

## GRADO DI RACCOMANDAZIONE

<b>Grade 2 C</b>	<b>Raccomandazione debole, qualità dell'evidenza bassa o molto bassa</b>	<b>Studi osservazionali o serie di casi</b>	<b>Raccomandazione molto debole; altre alternative potrebbero essere ragionevoli</b>
------------------	--	---	--

## CATEGORIE

<b>III</b>	<b>L'ottimo ruolo dell'aferesi non è stato ancora stabilito. Il processo decisionale dovrebbe essere individualizzato</b>
------------	---

## Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

### Cosa ci portiamo a casa?

1. La possibilità di imbattersi in un anticorpo diretto vs antigene ad elevata incidenza non è remota
2. Dovremmo almeno avere la capacità di distinguerlo da autoanticorpi o interferenze
3. Dovremmo lavorare, in questi casi, sia su plasma sia su siero
4. La cultura sierologica è essenziale
5. L'approccio molecolare è indispensabile
6. Dovremmo affidarci a chi ha più esperienza di noi
7. Dovremmo acquisire cultura, strumenti, reagenti, personale e buona volontà

## Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

E se la paziente avesse avuto bisogno di essere trasfusa in urgenza ??????

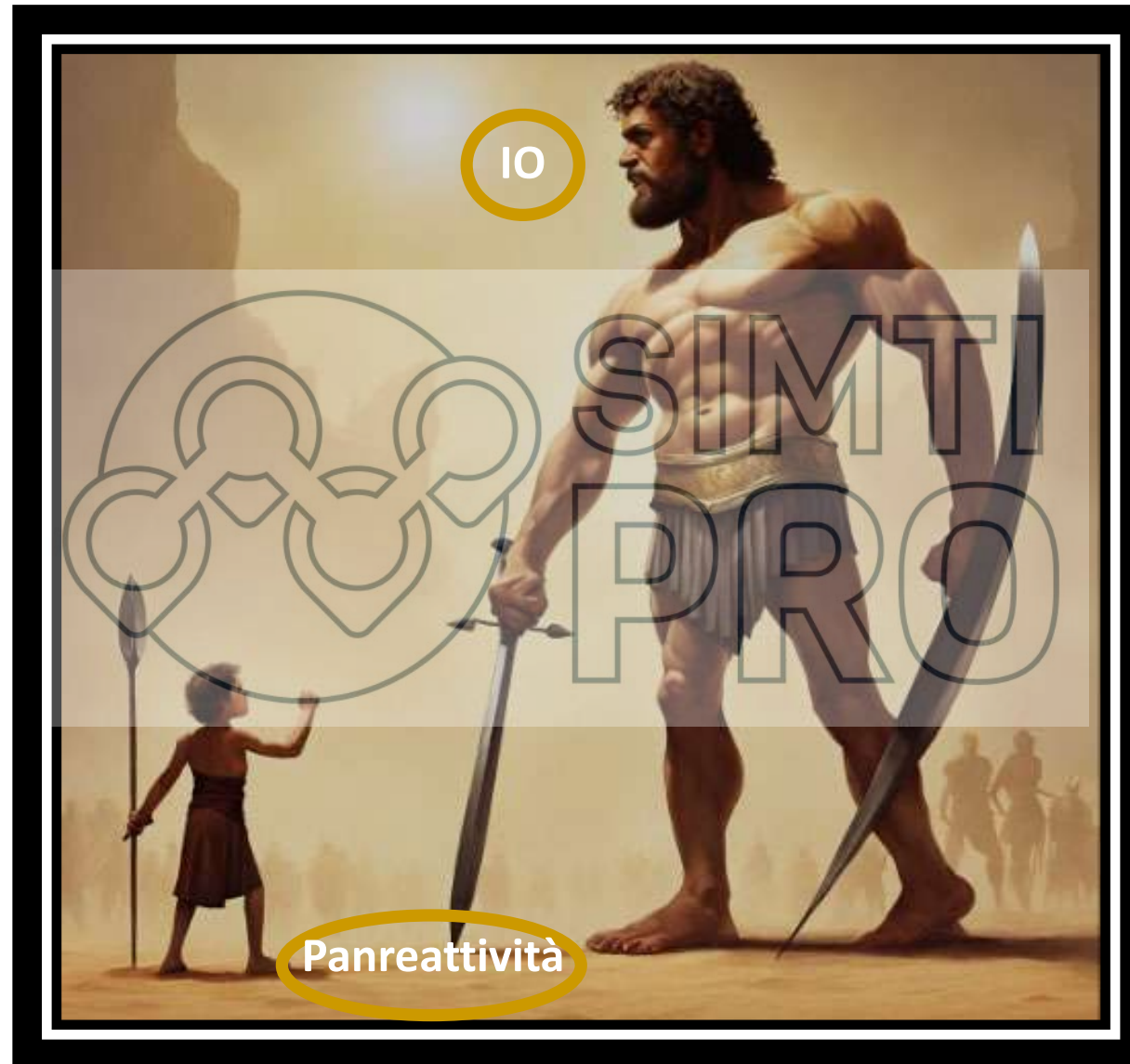
**Red Cell  
Compatibility  
Calculator |  
Australian Red  
Cross Lifeblood**

Anti- PP1PK	p	<0.1%
----------------	---	-------

**Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.**

**E se la paziente  
volesse avere una  
gravidanza ??????**

# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.



# Alloimmunizzazioni dirette verso antigeni pubblici: il ruolo del laboratorio di Immunoematologia in un raro caso di infertilità.

GRAZIE