

# Attualità nella gestione delle terapie cellulari avanzate

**Lo standard immunoematologico di donatore e  
ricevente nel trapianto allogenico di CSE**

**Donatella Londero**

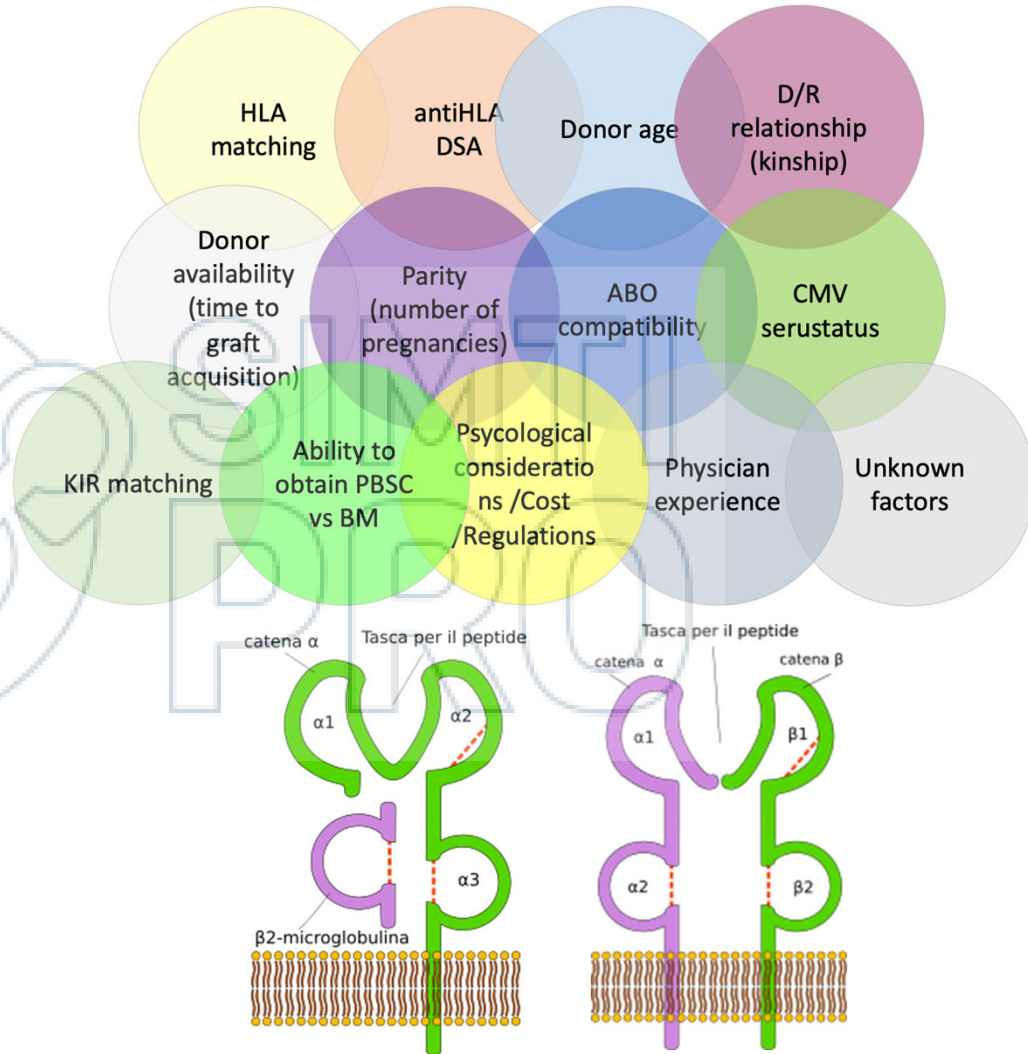
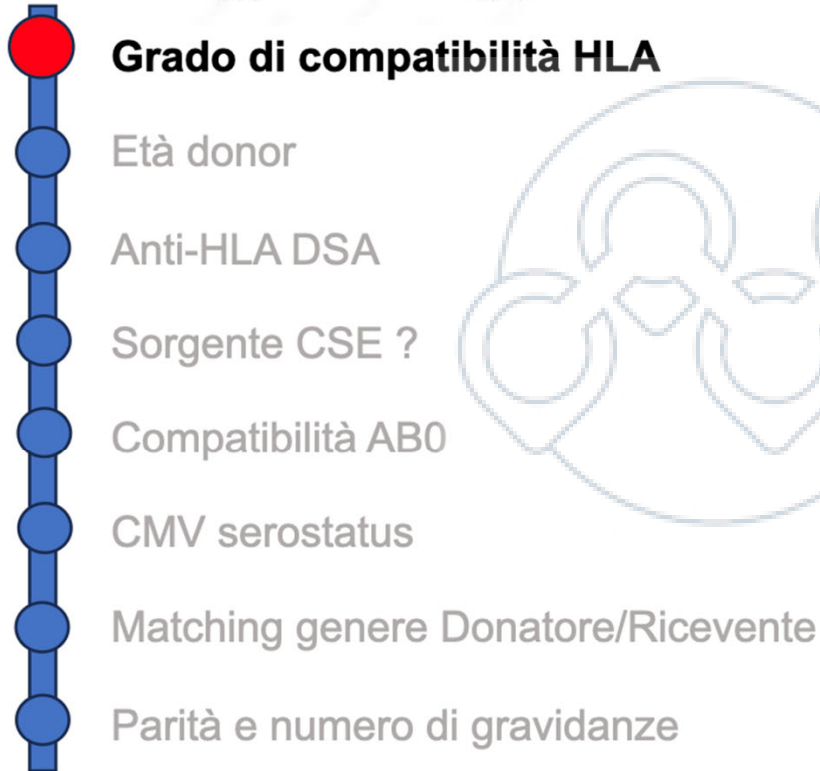
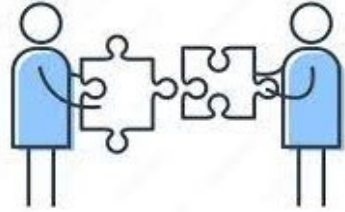
***Dip. Medicina Trasfusionale ASUFC - Udine***

La sottoscritta, Donatella Londero, in qualità di Relatrice 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 mie funzioni al fine di trarne vantaggio.



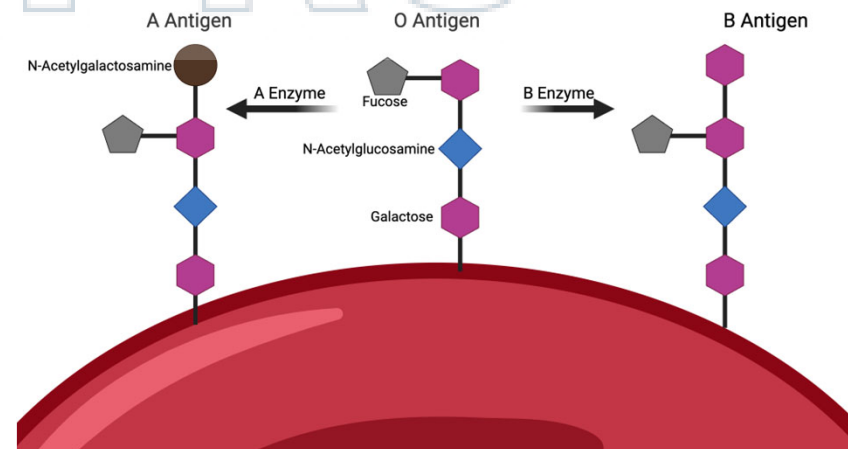
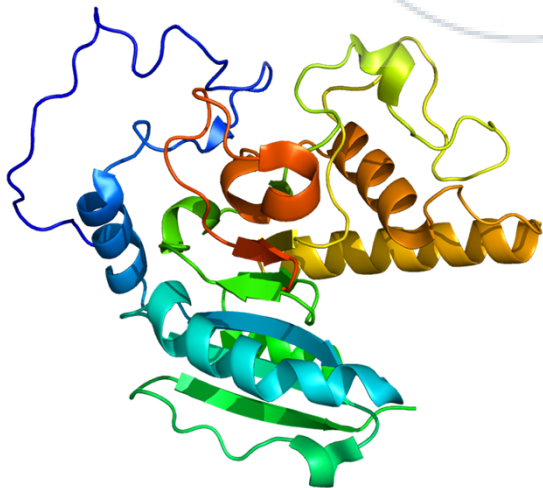
# Compatibilità immunologica



HLA determina il successo immunologico globale

# Il sistema ABO nel trapianto CSE

- ABO ≠ HLA
- Incompatibilità ABO nel 30-50% dei trapianti
- **Non costituisce un impedimento al trapianto**
- Complicanze immunoematologiche
- Esito clinico peggiore



# Standard immunoematologico

- Approccio sistematico
- Pianificazione protocolli operativi



**Fase di inquadramento iniziale** (fino inizio chemioterapia ablativa)

**Dall'inizio della chemioterapia ablativa (condizionamento) fino all'attecchimento** (engraftment).

**Fase successiva all'attecchimento**

Definizione grado di incompatibilità e valutazione rischio



Monitoraggio delle complicanze



Gestione delle complicanze

# Inquadramento iniziale DON/RIC

-30gg dal trapianto

Determinazione gruppo completo  
ABO/Rh/Kell

Ricerca e Titolazione IHA  
(IgM, IgG)

Test all'antiglobulina diretto (TCD)

Ricerca anticorpi irregolari (TCI)

# Classificazione incompatibilità ABO

## Incompatibilità Maggiore

Il ricevente possiede isoemoagglutinine (IHA) dirette contro gli antigeni del donatore.

Donatore → Ricevente

 ← A, B, AB |  ← AB |  ← AB

## Incompatibilità Minore

Il donatore (graft) possiede linfociti B e plasma contenenti IHA dirette contro gli antigeni del ricevente.

Donatore → Ricevente

 ,  , AB ←  | AB ←  , 

## Incompatibilità Bidirezionale

Presenza incrociata di IHA sia nel donatore che nel ricevente.

Donatore → Ricevente

 ←  |  ← 

# Conseguenze cliniche ed eziologia

## Incompatibilità Maggiore

### Rischio:

Emolisi immediata  
Emolisi ritardata  
Ritardato attecchimento eritroide  
Aplasia pura della serie rossa (PRCA).

### Causa:

Titolo IHA elevato nel ricevente  
Volume eritrocitario nel graft  
Persistenza plasmacellule ricevente.

## Incompatibilità Minore

### Rischio:

Emolisi ritardata (Sindrome del linfocita passeggero - PLS)  
Emolisi immediata.

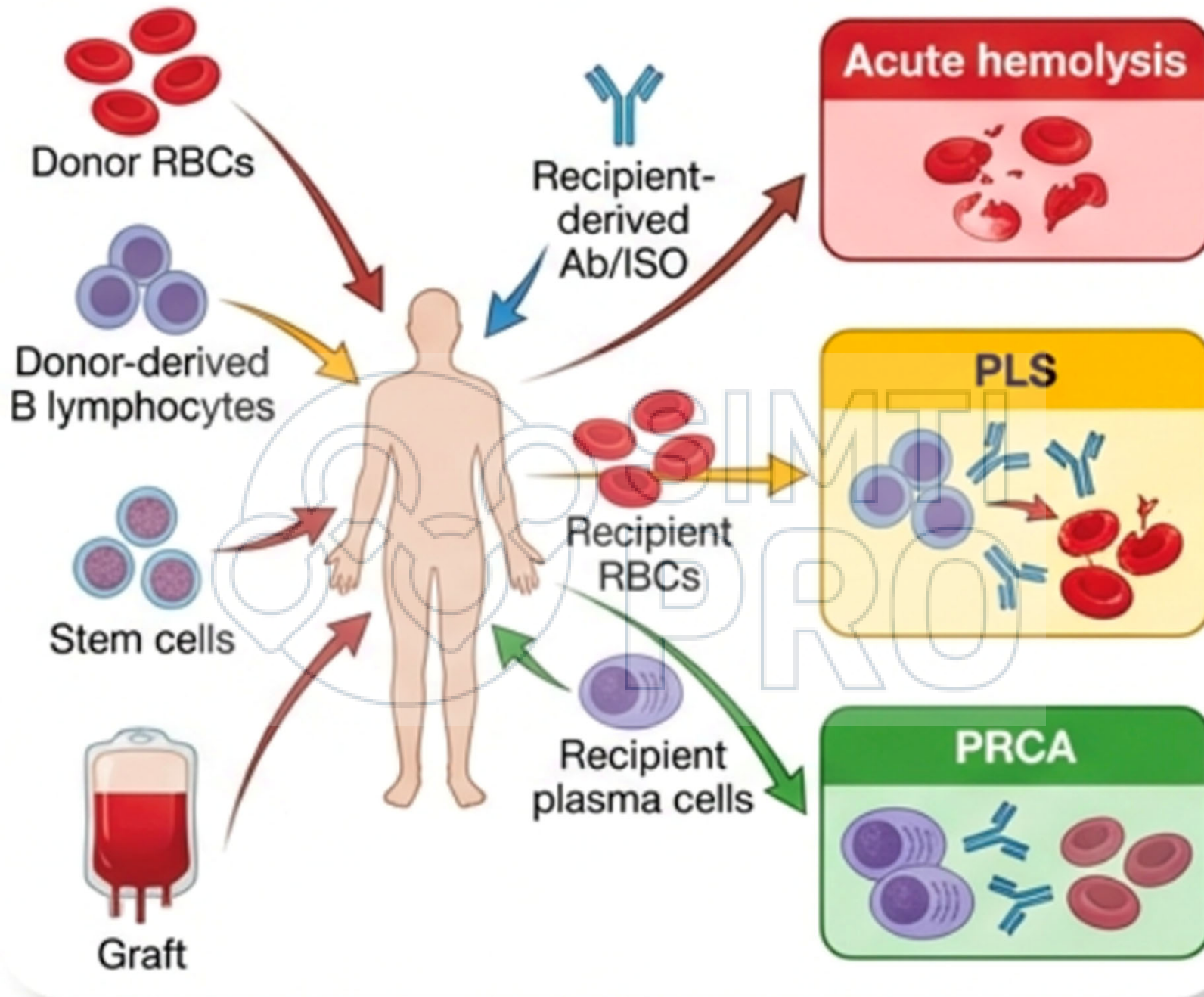
### Causa:

Elevato titolo IHA nel plasma del donatore  
Produzione di IHA anti-ricevente da parte dei linfociti B infusi col graft.

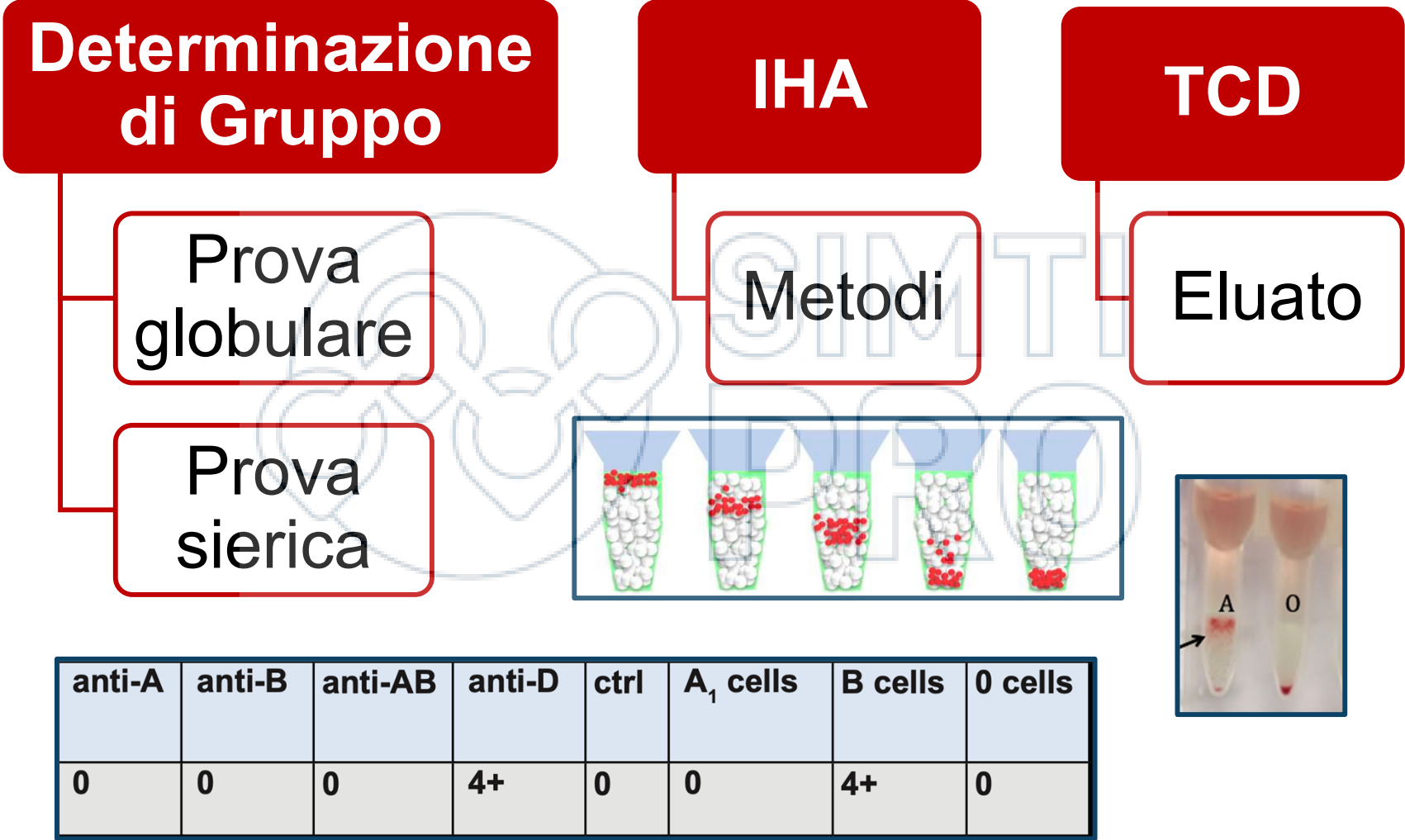
## Incompatibilità Bidirezionale

### Rischio:

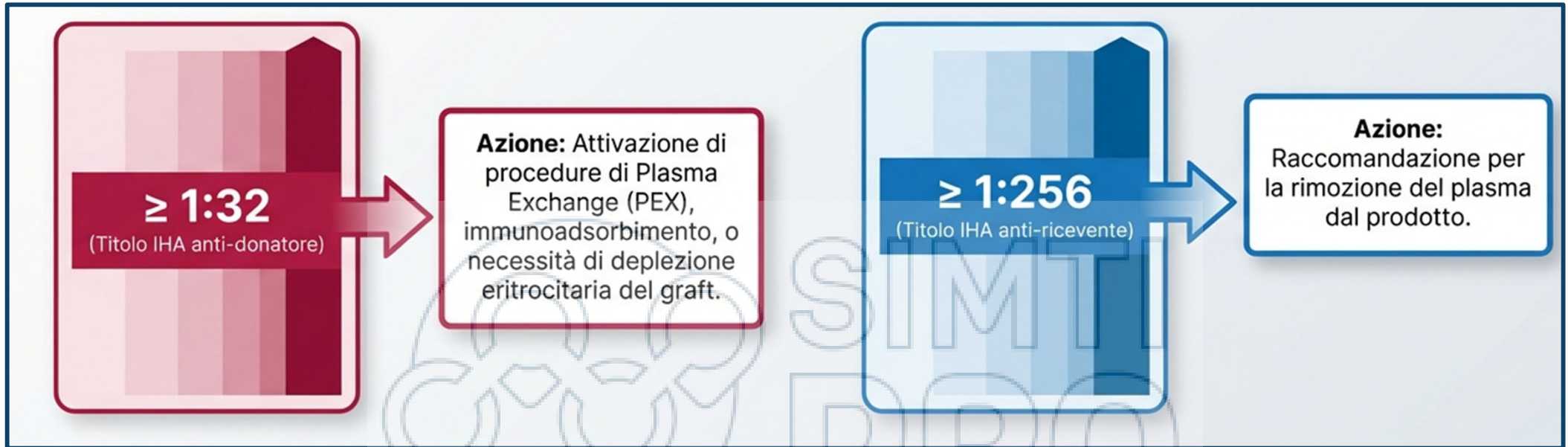
Combinazione delle conseguenze (inclusa AEA).



# Criticità analitiche/post-analitiche



# Inquadramento iniziale: Titolazione IHA anti-A/anti-B (IgM e IgG)



ABO mismatch	PBSC/BM graft manipulation	Therapeutic apheresis
<i>Major</i> Recipient anti-donor isohemagglutinins ≥1:32	<i>PBSC:</i> <20 ml RBC: no manipulation; ≥20 ml RBC: RBC depletion <i>BM:</i> RBC depletion	plasma exchange with AB plasma or albumin/sodium [26]
<i>Major</i> Recipient anti-donor isohemagglutinins ≤1:16	<i>PBSC:</i> no manipulation <i>BM:</i> infusion without modification possible [11]; to be on the safe side: RBC depletion	plasma exchange with AB plasma or albumin/sodium
<i>Minor</i> Donor anti-recipient isohemagglutinins ≥1:256	<i>PBSC + BM:</i> plasma depletion	experimental: RBC exchange with group O RBCs [17]
<i>Minor</i> Donor anti-recipient isohemagglutinins ≤1:128	<i>PBSC:</i> no manipulation <i>BM:</i> infusion without modification possible [11]; to be on the safe side: plasma depletion	experimental: RBC exchange with group O RBCs [17]
<i>Bi-directional</i>	RBC depletion and plasma depletion (when anti-recipient isohemagglutinins are >1:128)	

N.Worel

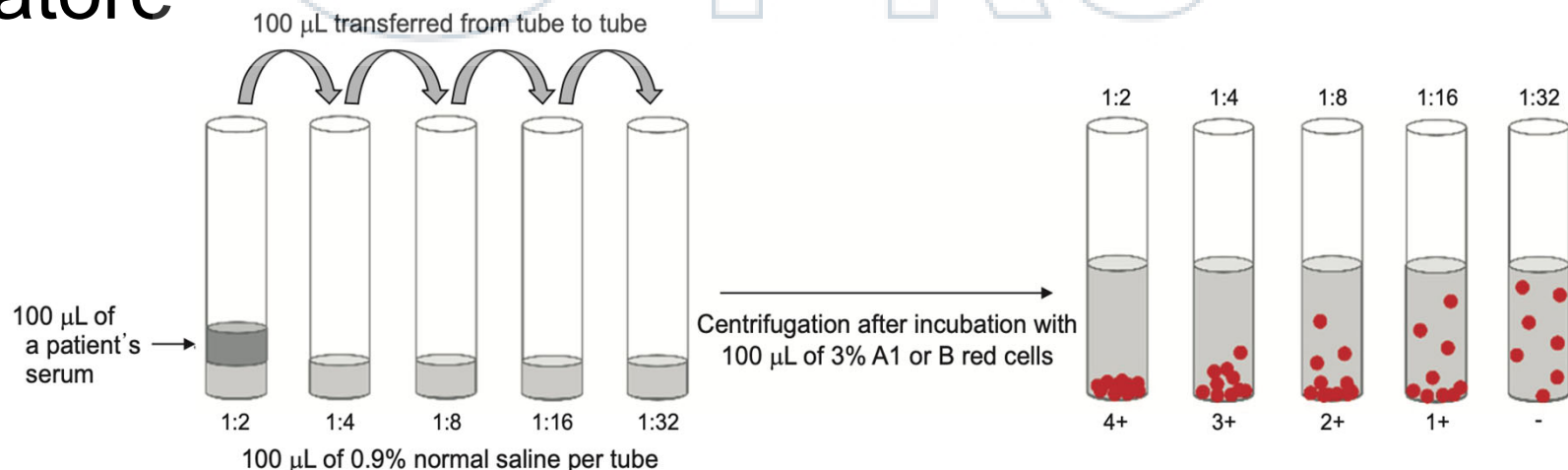
*Transfus Med Hemother* 2016; 43:3–12

# Procedura titolazione IHA

**Tecnica semi-quantitativa che misura la concentrazione di Anticorpo nel siero, mediante diluizioni al raddoppio**

## Variabili:

- Metodo (manuale vs automatico)
- Tecnologia (fase liquida, fase solida, microcolonna)
- Reagenti (emazie, diluenti, DTT)
- Tempo e T° incubazione
- Operatore



# Comparative Evaluation of Five Different Methods of Anti-ABO Antibody Titration: An Aid for ABO-Incompatible Organ Transplants

*Therap Apher Dial* 2019; 23: 86-91-337

**Provetta vs Gelcard vs Fase solida**

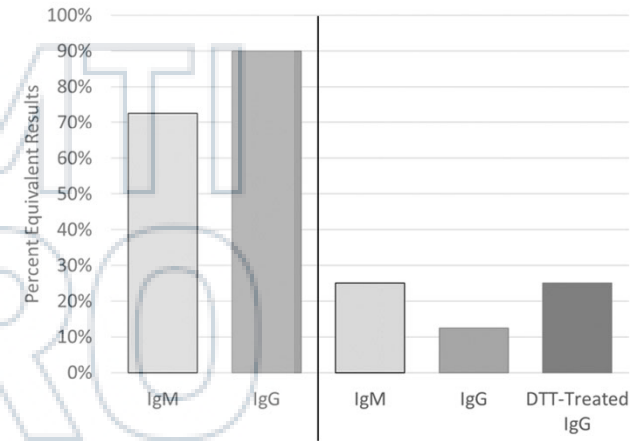
Sweta Nayak ✉, Raj Nath Makroo, Bindu Prakash, Trilok Chandra, Soma Agrawal, Mohit Chowdhry, Archisman Mohapatra

> *Blood Transfus.* 2022 Jul;20(4):329-337. doi: 10.2450/2022.0197-21. Epub 2022 Jan 20.

**Metodica Automatizzata in fase solida vs Metodica Manuale in microcolonna**

**ABO antibody titres: a multisite comparative study of equivalency and reproducibility for automated solid-phase and haemagglutination titration, and manual dilution with gel column agglutination technology**

Dana Schneider <sup>1</sup>, Mariangela Vicarioto <sup>2</sup>, Serelina Coluzzi <sup>3</sup>, Antonella Matteocci <sup>4</sup>, Nicoletta Revelli <sup>5</sup>, Barbara Foglieni <sup>6</sup>, Patrizia Artusi <sup>7</sup>, Donatella Londero <sup>8</sup>, Anna Quaglietta <sup>9</sup>, Giancarla Barrotta <sup>10</sup>, Domenico Visceglie <sup>11</sup>, Giuseppina Portararo <sup>12</sup>, Jonella Gilsdorf <sup>1</sup>

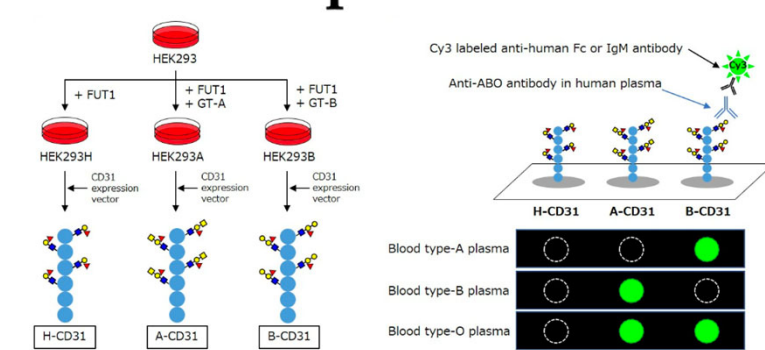


# Advancing Antibody Titer Assessment in ABO-Incompatible Transplantation

*Antibodies* 2025, 14, 78

Masayuki Tasaki <sup>1,\*</sup>, Kazuhide Saito <sup>1</sup> and Kota Takahashi <sup>2</sup>

**Diagnostica molecolare avanzata con CD31-ABO Microarray:** nel trapianto d'organo ABOi >> antigeni AB espressi su endotelio vascolare organo.



# Standardizzazione procedura titolazione



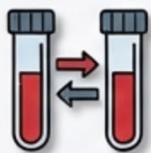
- Adozione di uno Standard di riferimento universale (es. WHO: siero liofilizzato 14/300).



- Partecipazione attiva a Esercizi EQA (External Quality Assessment).



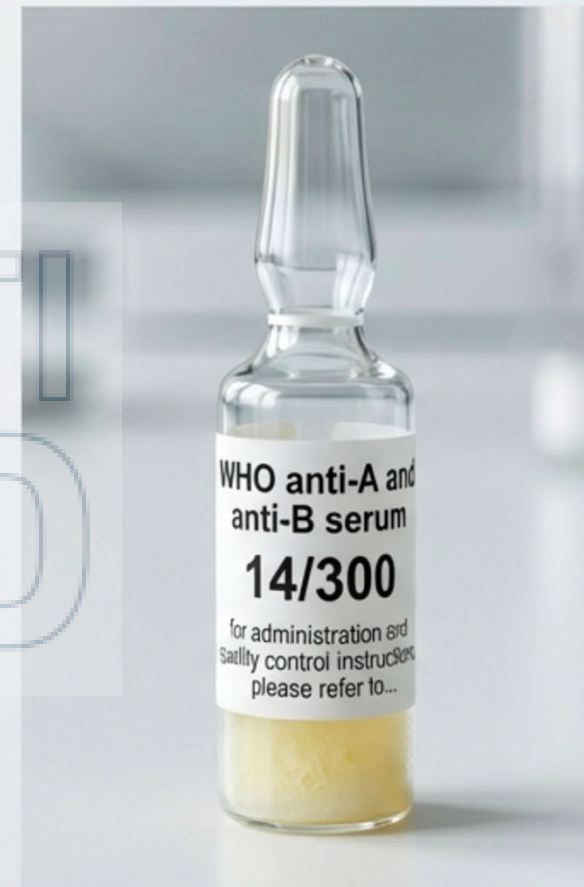
- Qualificazione rigorosa degli strumenti e convalida dei metodi interni.



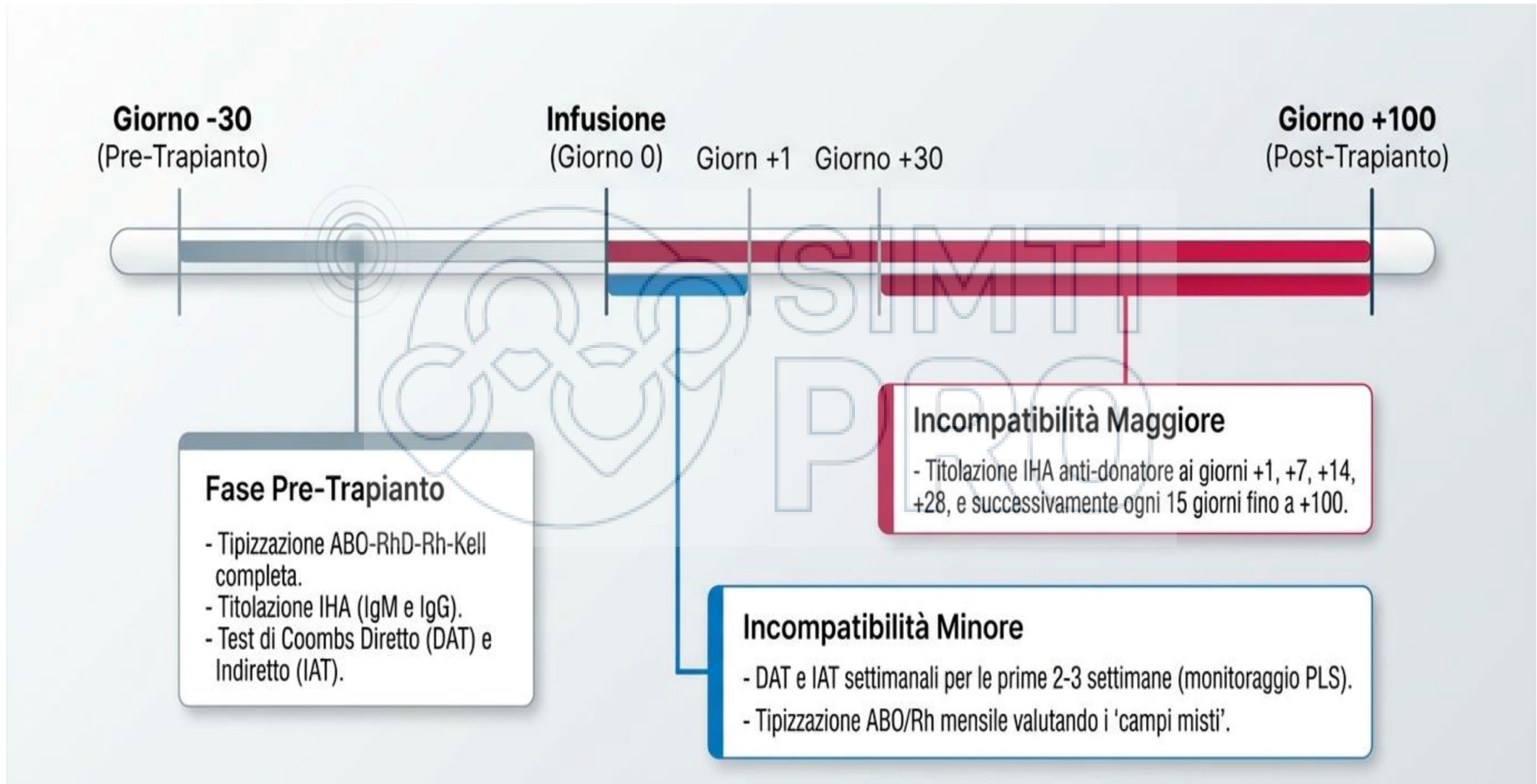
- Esecuzione di titolazioni in parallelo tra campioni di siero.



- Esecuzione sistematica del TCI (Test di Coombs Indiretto) prima di procedere alla titolazione.

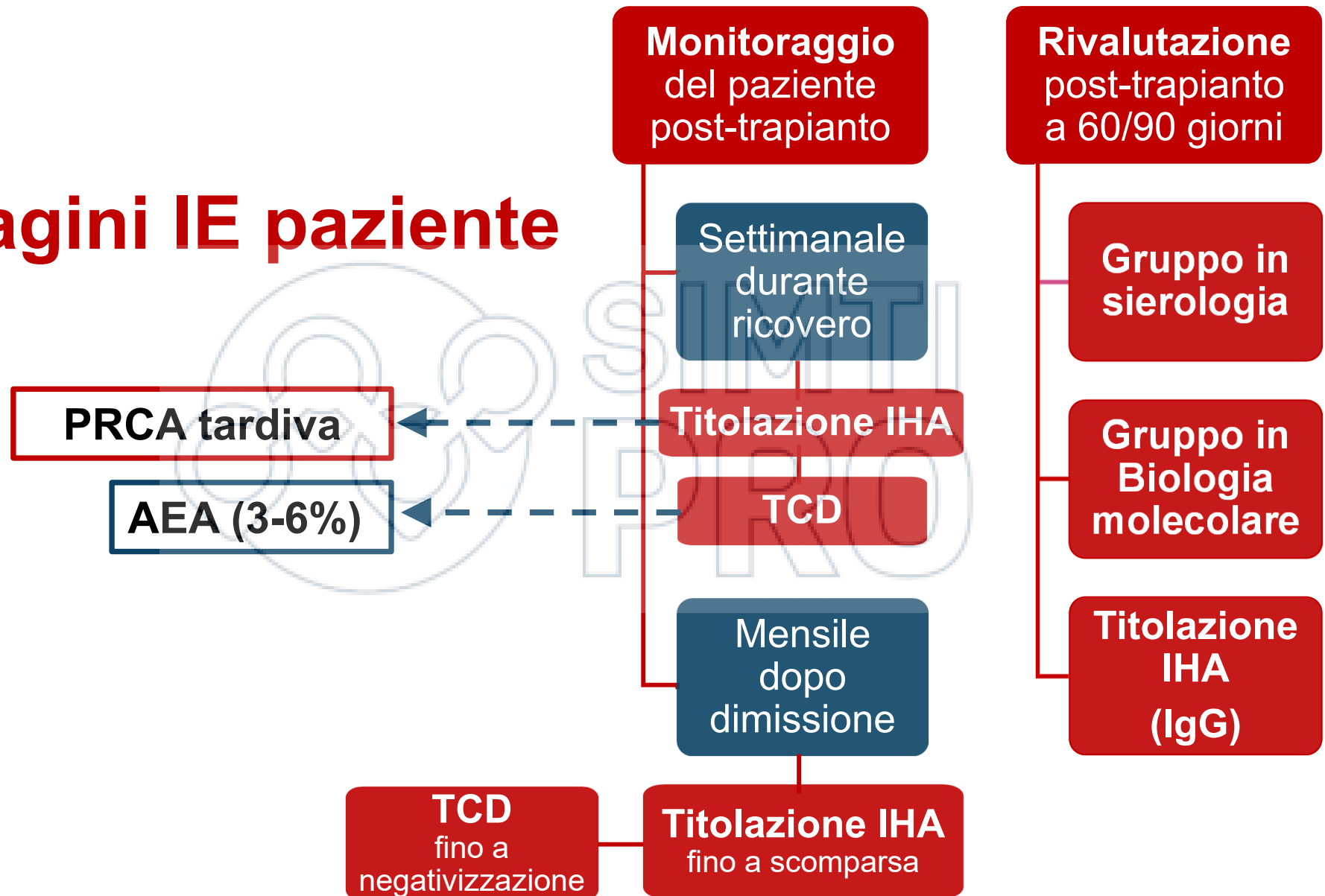


# Monitoraggio immunohaematologico



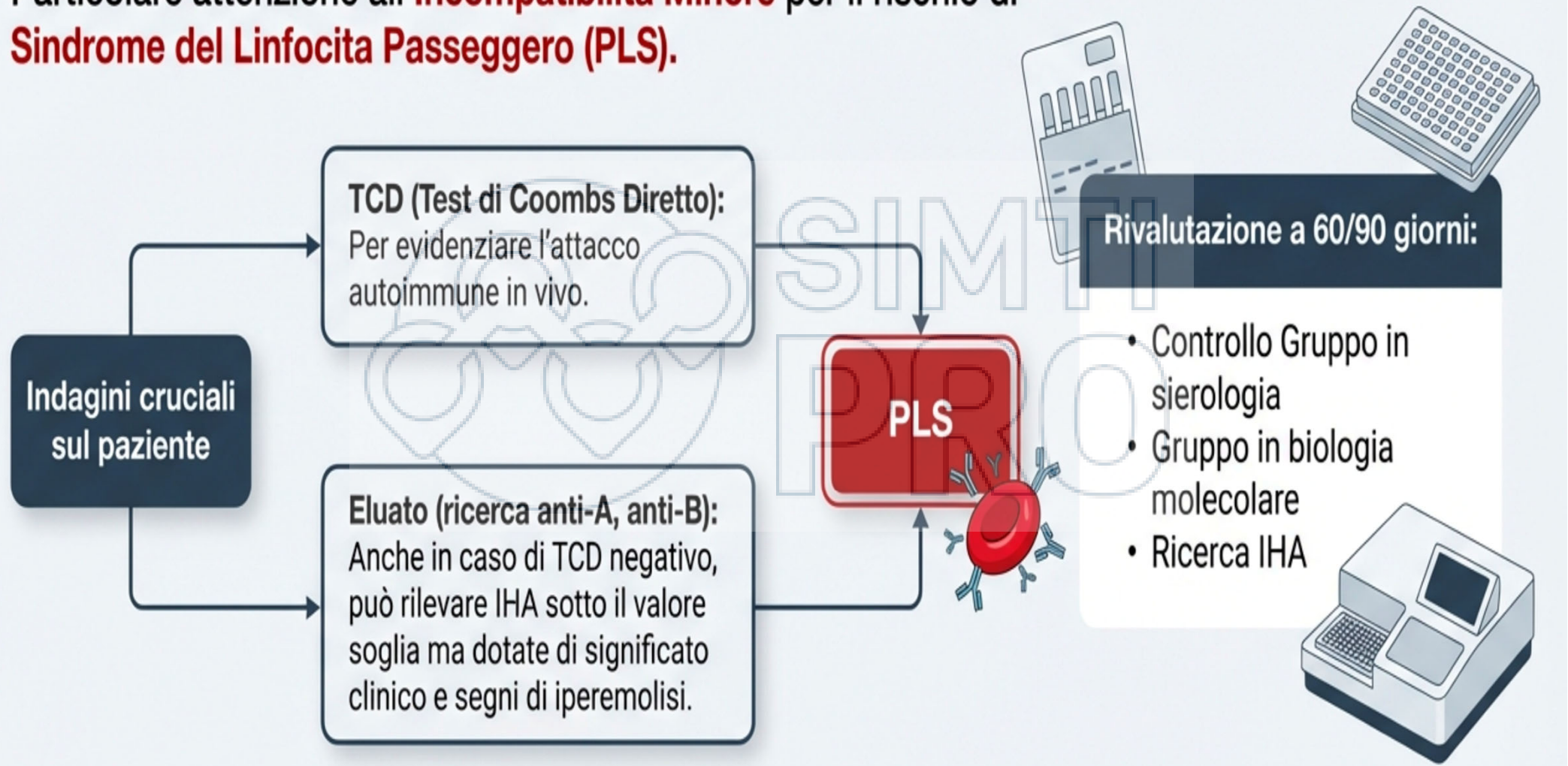
# Incompatibilità Maggiore o Bidirezionale

## Indagini IE paziente



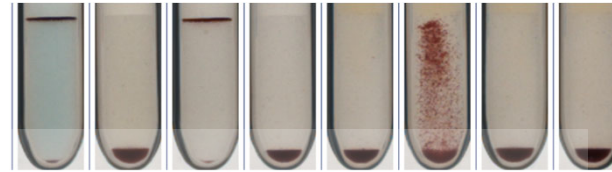
# Incompatibilità Minore

Particolare attenzione all'**Incompatibilità Minore** per il rischio di **Sindrome del Linfocita Passeggero (PLS)**.

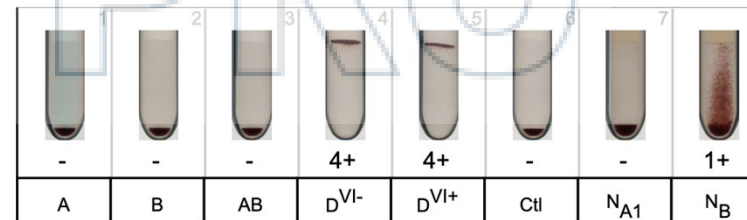


# Conversione completa di gruppo

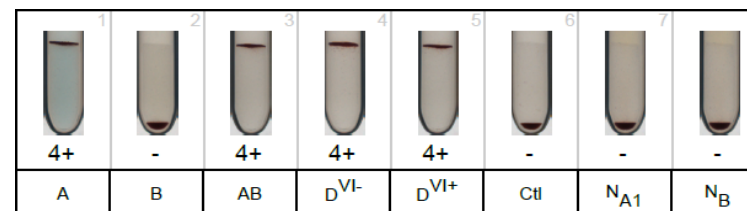
**Incompatibilità maggiore:** concordanza tra prova diretta ed indiretta; scomparsa IHA anti-donatore (es: O→A, senza anti-A)



**Incompatibilità minore:** prova diretta del donatore, prova indiretta del ricevente che per tolleranza immunologica non sviluppa IHA, TCD=neg (es: A→O, solo anti-B)



**Incompatibilità bidirezionale:** prova diretta donatore, assenza IHA (es: B→A)



# Strategia trasfusionale

**Fase I (Pre-trapianto):** Inizia nel momento esatto in cui il ricevente viene preparato al trapianto (regime di condizionamento ablativo).

## Obiettivo Assoluto

Fino all'avvenuto attecchimento, è tassativo evitare di introdurre:

**STOP**  


1. **Isoagglutinine (IHA) del tipo del ricevente** (tramite plasma/piastrine errati).

**STOP**  


2. **Antigeni ABO del tipo del donatore** (tramite globuli rossi errati).



# Strategia trasfusionale

ABO mismatch	Recipient	Donor	RBC support from start of conditioning regimen	Platelets <sup>b</sup> and plasma
Major	O	A	O <sup>a</sup>	A, AB
	O	B	O <sup>a</sup>	B, AB
	O	AB	O <sup>a</sup>	AB
	A	AB	A, O <sup>a</sup>	AB
	B	AB	B, O <sup>a</sup>	AB
Minor	A	O	O	A, AB
	B	O	O	B, AB
	AB	O	O	AB
	AB	A	A, O	AB
	AB	B	B, O	AB
Bi-directional	A	B	O <sup>a</sup>	AB
	B	A	O <sup>a</sup>	AB

Ricevente

Donatore

Donatore

Ricevente

**IM:** RBC gruppo ricevente; PLT/Plasma donatore

**im:** RBC gruppo donatore; PLT/Plasma ricevente

# L'evoluzione del supporto trasfusionale

## Fase II (Peri-trapianto)

Inizia dopo l'infusione delle Cellule Staminali Ematopoietiche (CSE).

Gestione attiva della fase di aplasia midollare; applicazione di rigidi criteri di compatibilità incrociata.



## Fase III (Post-trapianto)

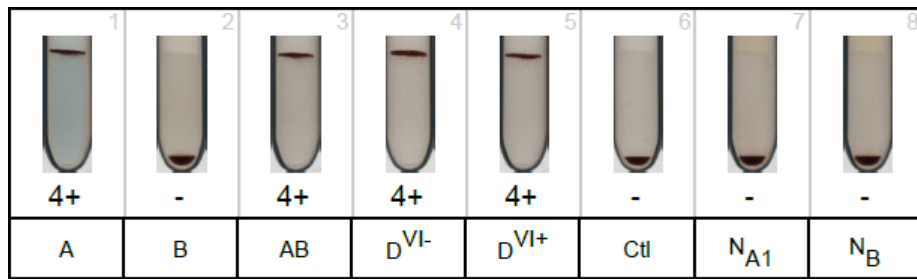
Inizia dopo l'attecchimento delle CSE con la ripresa dell'attività del midollo.



**Condizione sine qua non: Richiede la conversione di gruppo documentata sia con metodo sierologico che di biologia molecolare.**

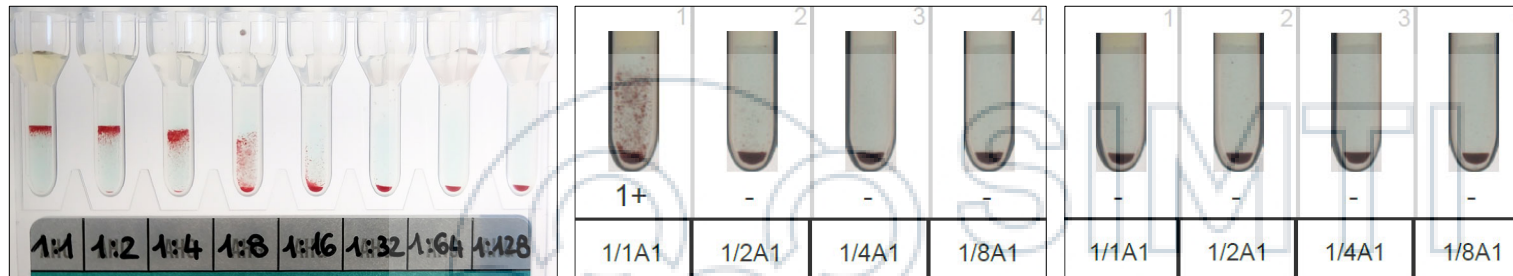


Ricevente	Donatore	Incompatibilita	Fase I	Fase II			Fase III	
			Emocomponenti	Eritrociti	PLT (1ª scelta)	PLT (scelte successive)*	PFC	Emocomponenti
A	O	Minore	Ricevente	O	A, AB	AB, B, O	A, AB	Donatore
B	O	Minore	Ricevente	O	B, AB	AB, B, O	B, AB	Donatore
AB	O	Minore	Ricevente	O	AB	A, B, O	AB	Donatore
AB	A	Minore	Ricevente	A, O	AB	A, B, O	AB	Donatore
AB	B	Minore	Ricevente	B, O	AB	B, A, O	AB	Donatore
O	A	Maggiore	Ricevente	O	A	AB, B, O	A, AB	Donatore
O	B	Maggiore	Ricevente	O	B	AB, A, O	B, AB	Donatore
O	AB	Maggiore	Ricevente	O	AB	A, B, O	AB	Donatore
A	AB	Maggiore	Ricevente	A, O	AB	A, B, O	AB	Donatore
B	AB	Maggiore	Ricevente	B, O	AB	B, A, O	AB	Donatore
A	B	Minore e maggiore	Ricevente	O	AB	A, B, O	AB	Donatore
B	A	Minore e maggiore	Ricevente	O	AB	B, A, O	AB	Donatore

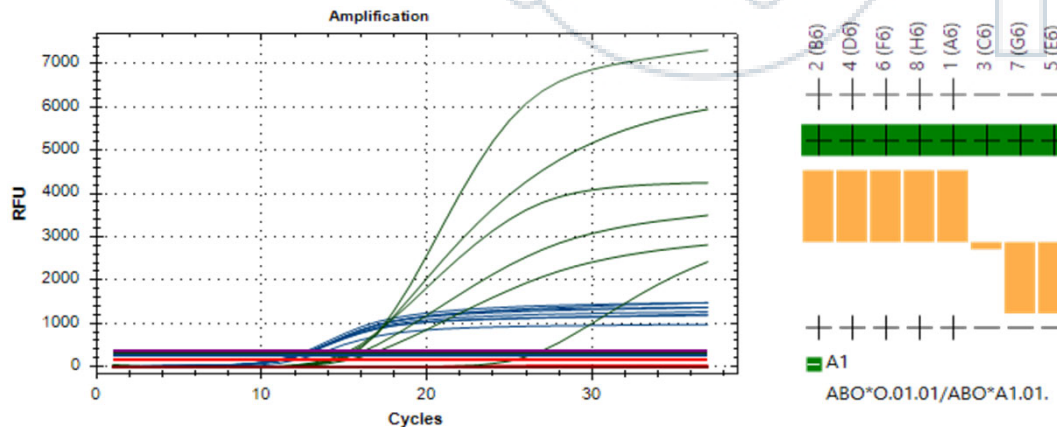


# Incompatibilità Bidirezionale B→A

**Tipizzazione gruppoematica completa con metodica sierologica in microcolonna:** gruppo diretto A, assenza di IHA



**Titolazione IHA anti-A di classe IgG con metodica manuale e automatizzata:** titolazioni eseguite in tempi diversi post-trapianto fino a scomparsa delle IHA.



**Tipizzazione gruppoematica con metodica molecolare in Real Time PCR:** tipizzazione ABO\*O.01.01/A1.01, fenotipo predetto A.

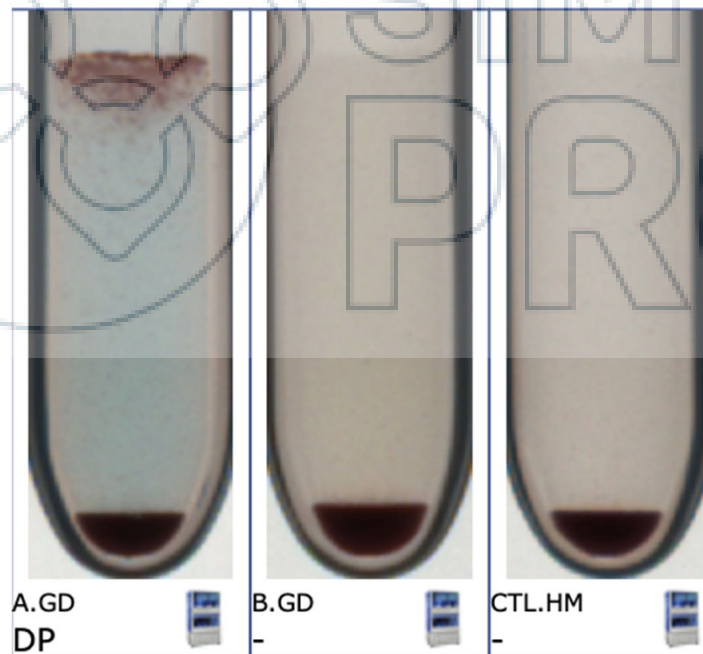


► In presenza di concordanza totale tra il risultato della tipizzazione molecolare a 60-90gg (fenotipo predetto) con quella sierologica (prova diretta ed indiretta) viene registrata sul sistema gestionale la **conversione di gruppo**.

► **Alla prima richiesta trasfusionale**, dopo conversione di gruppo, si esegue determinazione completa (diretta e inversa) con metodo sierologico e si trasfonde secondo il supporto trasfusionale appropriato

# Persistenza discrepanza

- ▶ Nel caso persista **discrepanza di gruppo**, viene richiesto un nuovo campione a +180gg per la ripetizione del test sierologico e molecolare e il paziente viene trasfuso secondo indicazioni Fase II

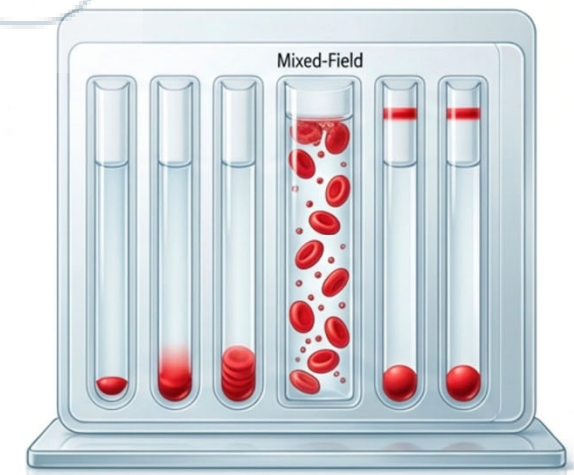


# Perché accade?

- ✓ **Espressione di antigeni ABO** su tessuti non ematopoietici (endoteli, cellule epiteliali, mucose), o su secrezioni individui secretori (Se/Se, Se/se) mantiene attive le IHA del ricevente (post trapianto non si modifica espressione tessuti di derivazione non staminale)
- ✓ **Clearance differenziale: Ab anti-B** (15.9g) più rapida rispetto **Ab anti-A** (38.4g)



**Il Campanello d'Allarme: L'agglutinazione a 'campo misto' a distanza di mesi è un segno prognostico sfavorevole (sospetta recidiva di malattia).**



# Conclusioni

- **Protocollo monitoraggio immunoematologico** standardizzato quale strategia per prevenire e ridurre le complicanze immediate e tardive, con trattamenti mirati su riceventi/graft
- **Supporto trasfusionale appropriato** mediante gestione efficace emocomponenti
- **Condivisione percorsi con trapiantologi** a garanzia di appropriatezza diagnostica e trasfusionale





*Grazie per l'attenzione*