



# 46° Convegno Nazionale di Studi di Medicina Trasfusionale

*Rimini, 13-15 maggio 2026*

## **Il Laboratorio di immunoematologia nelle immunizzazioni complesse**

*Donatella Londero*

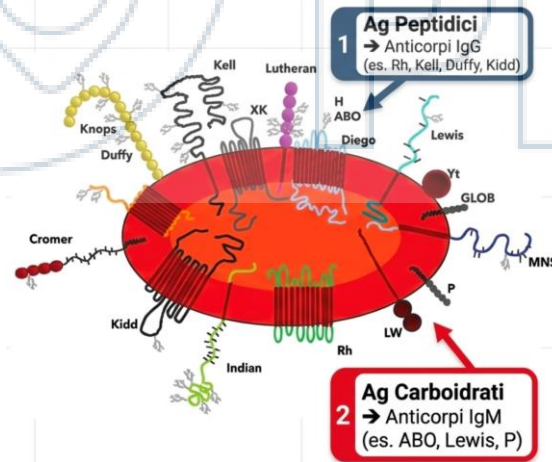
*Dip. Medicina Trasfusionale ASUFC-Udine*

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 sue funzioni al fine di trarne vantaggio.

# Alloimmunizzazione

- **risposta immunitaria adattativa multifattoriale**
- **esposizione primaria ad antigeni eritrocitari non self** (trasfusioni, trapianti, gravidanze, sostanze immunogene)
- **complicanze cliniche:** inefficacia trasfusione (RT); ritardo trasfusione (unità rare); HDFN.



### Releases

Latest ISBT database release and previous versions

Latest Release Current

#### May 2026

v15

Changes From: 01/04/2026

Last Updated: 01/05/2026

#### Release Notes

No release notes available

#### Dataset Information

Blood Group System

48

Updated 0

Transcription Factor

2

Updated 0

Collection

3

Updated 0

Series

2

Updated 0

Suggestions Applied

4

Genes

57

Updated 0

Antigens

397

Updated 0

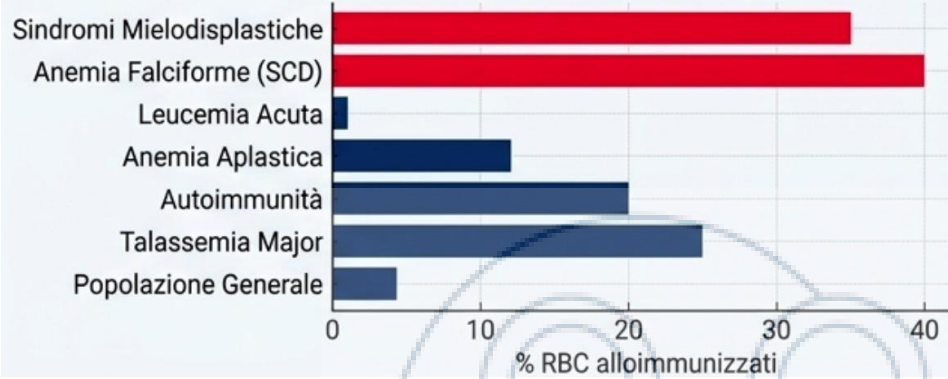
Alleles

2004

Updated 1448

# Rischio → Prevalenza

## Prevalenza: Tassi di Alloimmunizzazione RBC



### Dettagli sulla Prevalenza

- Il tasso varia dallo **0.8%** ad oltre il **40%** in base alla patologia.
- Popolazione Generale: **~4%**
- Sindromi Mielodisplastiche: **~35% (Rischio Alto)**
- Anemia Falciforme (SCD): **>40% (Rischio Critico)**

# Rilevabilità → Evanescenza

## Evanescenza: La Scomparsa degli Anticorpi



### Statistiche sull'Evanescenza

- Il **66%** degli anticorpi **non** viene rilevato dagli attuali metodi.
- Tassi di scomparsa:
  - **25%** entro 1 mese
  - **50%** entro 6 mesi
  - **60-70%** a 5 anni.

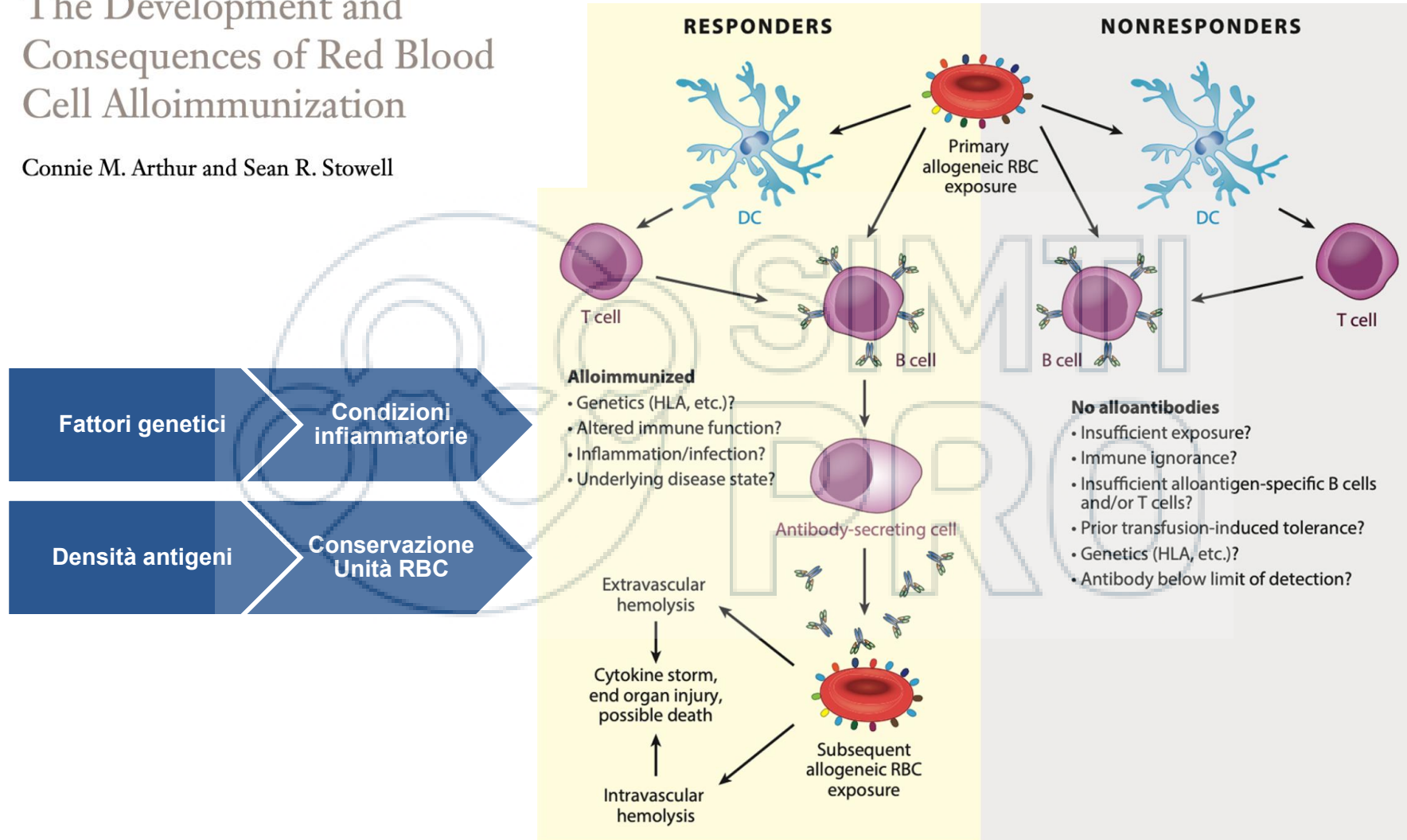
**K, Jk, Lu**

# Rischio Immunizzazione

*Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*

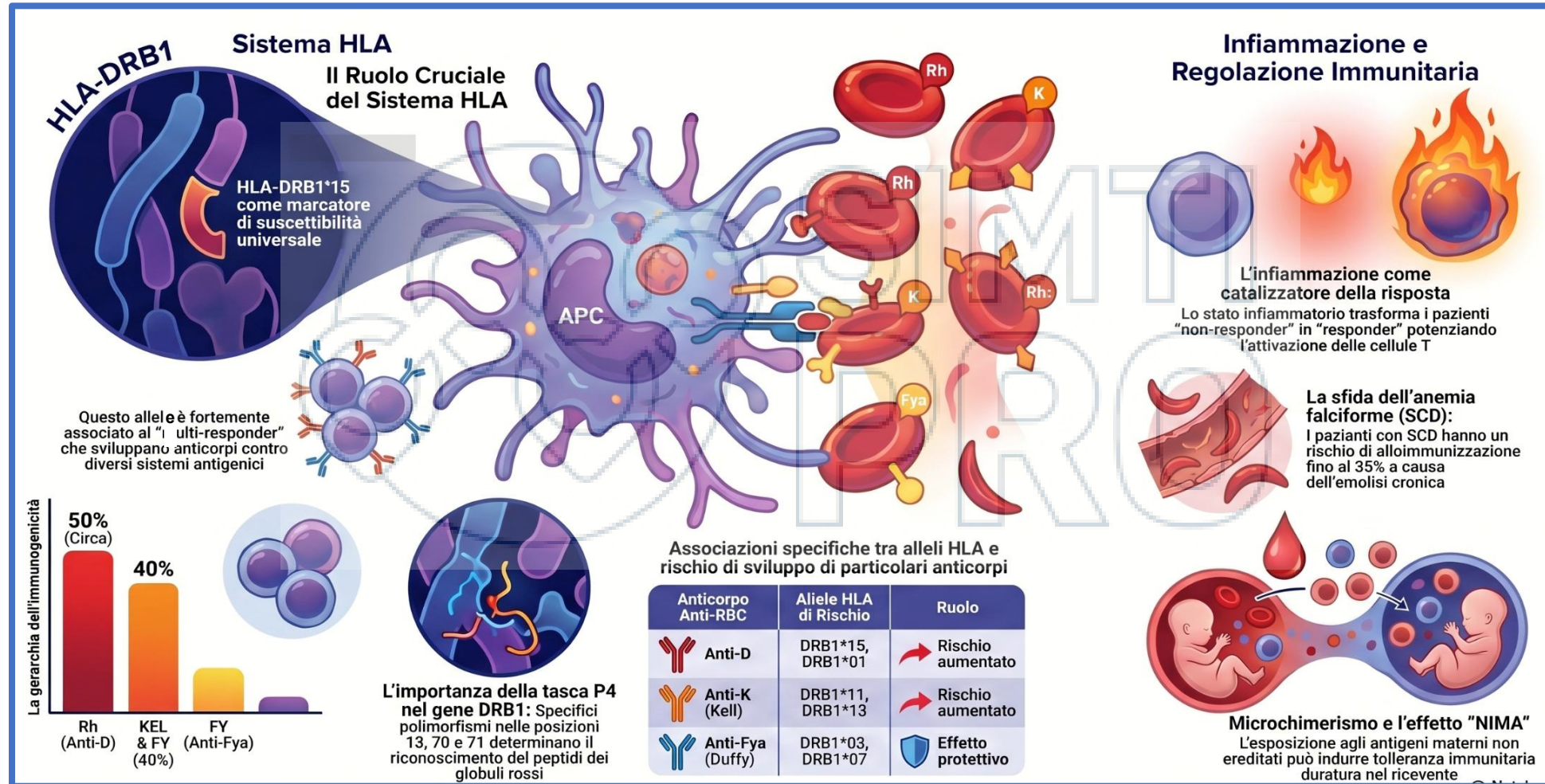
## The Development and Consequences of Red Blood Cell Alloimmunization

Connie M. Arthur and Sean R. Stowell



# Fattori di rischio immunogenetici

P.Pedini, J.Chiaroni, C.Picard- Current Opinion in Immunology 2025, 96:102634



# Anticorpi clinicamente significativi

Anticorpi che portano *in vivo* alla distruzione degli eritrociti o comunque ne riducono la sopravvivenza, e sono implicati in reazioni trasfusionali emolitiche o sono in grado di passare la placenta e causare la malattia emolitica del neonato.

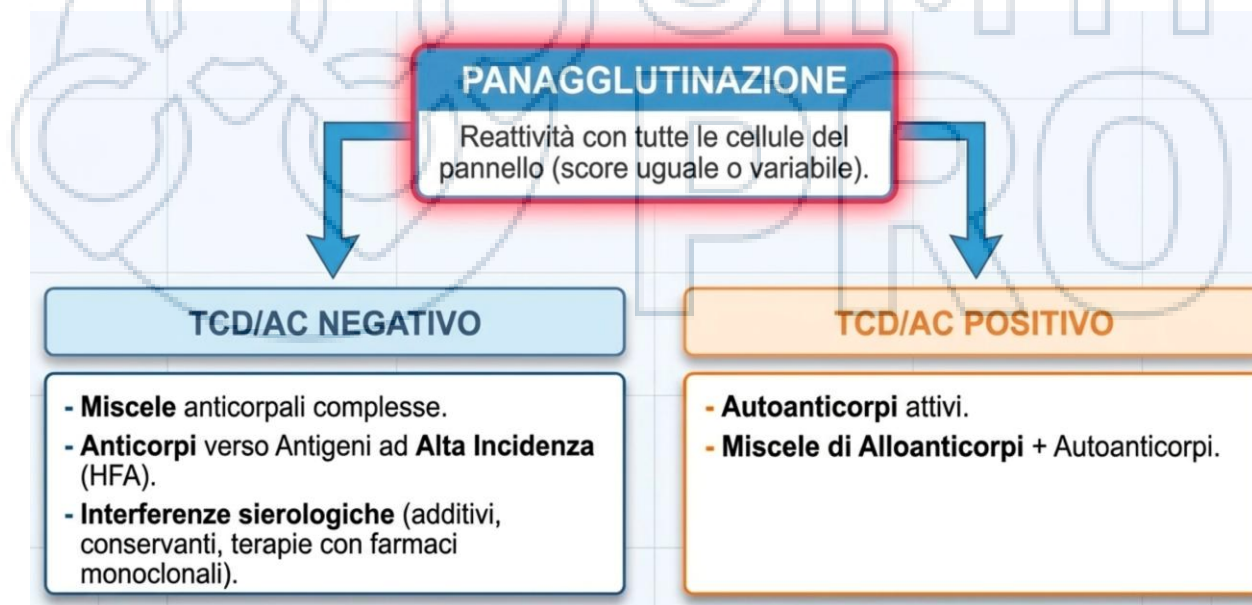
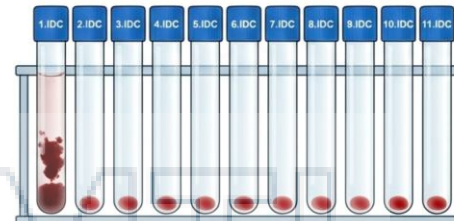
Generalmente Significativi	A volte Significativi	Non Significativi se <37°C	Generalmente Non Significativi
ABO, Diego, Duffy, Kell, Kidd, P/PP1Pk, Rh, S/s/U, Vel	Colton, Cromer, Dombrok, Gerbich, Indian, Lw, Scianna	A1, H, Lea, Lutheran, M/N, P1	Chido/Roger, Cost, JMH, HLA/Bg, Knops, Leb

*“With few exceptions, red cell antibodies which are likely to be of clinical significance are only those which are reactive in the indirect antiglobulin test (IAT), performed*

# Immunizzazione complessa

Quando le indagini sierologiche di routine non sono in grado di identificare la/e specificità anticorpali coinvolte.

- reattività con una **singola cellula**
- presenza di un quadro di **panagglutinazione**



# Ab verso Ag a bassa incidenza (LFA)

Vengono sospettati quando:

- Una unica cellula del pannello di screening o di identificazione è positiva
- Crossmatch incompatibile in presenza di screening negativo
- Riscontro casuale

➤ Presenti in <1% popolazione  
 ➤ Appartengono alla serie 700 (ISBT)

**Low Prevalence Antigens [700]**  
 System #700

**Description**  
 The 700 series of blood group antigens represent low-prevalence red cell antigens (incidence of <1%) which cannot be categorised into any system or collection.

**Antigens**  
 Antigen In System

[LIA2] By	[LIA3] Chr <sup>a</sup>	[LIA5] Bi	[LIA6] Bx <sup>a</sup>
[LIA17] To <sup>a</sup>	[LIA18] Pt <sup>a</sup>	[LIA19] Re <sup>a</sup>	[LIA21] Je <sup>a</sup>
[LIA28] Li <sup>a</sup>	[LIA39] Milne	[LIA40] RASM	[LIA44] JFV
[LIA47] JONES	[LIA49] HJK	[LIA50] HOFM	[LIA54] REIT

Antigeni poco frequenti (1-10%)  
 in molte popolazioni

Rh	Lutheran	Kell	Yt	Scianna	Colton	Knops
C <sup>w</sup>	Lu <sup>a</sup>	K	Yt <sup>b</sup>	Sc2	Co <sup>b</sup>	Kn <sup>b</sup>
V > A	(Lu <sup>b</sup> ) Lu14 (Lu8)	(k) Kp <sup>a</sup> (Kp <sup>b</sup> )	(Yt <sup>a</sup> )	(Sc1)	(Co <sup>a</sup> )	(Kn <sup>a</sup> )

- **Possono essere comuni in specifici gruppi etnici o popolazioni chiuse**  
 (es: **Di<sup>a</sup>** = LFA nei caucasici e africani; 36% Indigeni Sud America; 10-12% popolazioni asiatiche di origine mongola)

# Il Laboratorio vs LFA

1

**Problema diagnostico**  
Più che trasfusionale/clinico

2

**Sangue facilmente reperibile**  
Nessuna criticità nella  
selezione delle unità

3

**Naturally occurring**  
IgM, non reagiscono a 37°C

4

**Identificazione possibile (LIR)**

- Utilizzo di mezzi potenzianti (enzimi proteolitici), additivi, reagenti tiolici
- Emazie rare
- Studi familiari
- Tipizzazioni molecolari estese



# Panagglutinazione

(Score uguale o variabile)

## TCD/AC NEGATIVO

Miscele anticorpali

Anticorpi verso antigeni  
ad Alta Incidenza (HFA)

Interferenze sierologiche

(es. farmaci monoclonali,  
sostanze additive, conservanti)

## TCD/AC POSITIVO

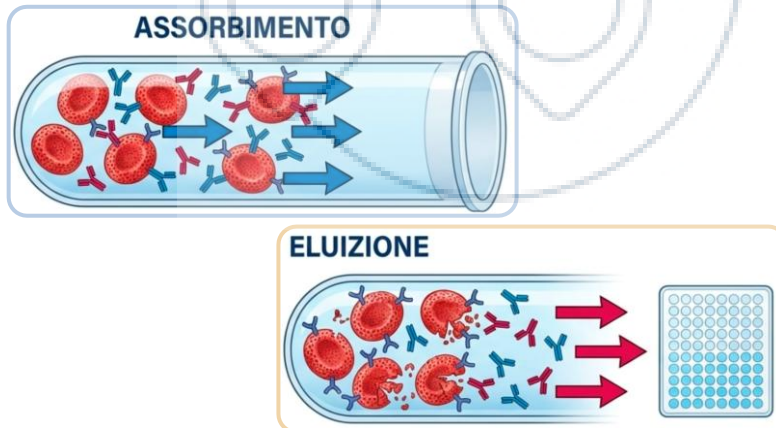
Autoanticorpi

Miscele di  
Allo/Auto anticorpi

# Miscele anticorpali

## Indizi sierologici

- **Autocontrollo/TCD negativo**
- **Score di reazione** variabile
- Insieme di reazioni positive e negative non coincide con unica specificità



## Soluzioni del laboratorio

- Utilizzo metodi e fasi diverse
- Utilizzo di enzimi proteolitici o agenti riducenti
- Tipizzazione eritrocitaria estesa
- Prova di compatibilità con emazie fenotipo identico
- **Assorbimento allogenico** con emazie di donatori con fenotipo idoneo
- **Eluizione** a conferma della specificità assorbita

# Portfolio Lab IE

## Intensificare






Aumento del tempo di incubazione o del rapporto siero/emazie.

## Selezionare (Specificità)

Utilizzo di mezzi potenzianti (enzimi proteolitici), additivi (LISS, PEG), o reagenti tiolici (DTT, ZZAP).

## Inibire

Tecniche di neutralizzazione tramite sostanze gruppo-specifiche, pool di plasmi o urina.

PROBLEMA		SOLUZIONE/INTERVENTO
Anticorpi Anti-Ch/Rg (HTLA)	➔	Neutralizzazione tramite incubazione con pool di plasma ABO compatibile. 
Anticorpi Anti-HLA	➔	Adsorbimento del siero utilizzando un ampio pool di piastrine random. 
Sospetti IgM vs IgG	➔	Trattamento con reagenti tiolici (DTT, 2-ME). Distrugge i ponti disolfuro delle IgM, lasciando intatte le IgG.  <small>Table 4.3.1. Effect of Dithionite on Blood Group Antibodies</small>
Anticorpi Anti-Le, -P1, -M	➔	Riduzione della temperatura di incubazione (4°C) per esaltare la reattività. 
Interferenza da Crioagglutinine	➔	Tecniche "Prewarmed" (Pre-incubazione di reagenti e campione a 37°C). 

# Miscele di Allo/Auto Anticorpi

## Indizi sierologici

- Autocontrollo/TCD positivo
- Score di reazione uguale o variabile (in base alla forza degli AutoAb)

### Branch & Petz, Transfusion (1999)

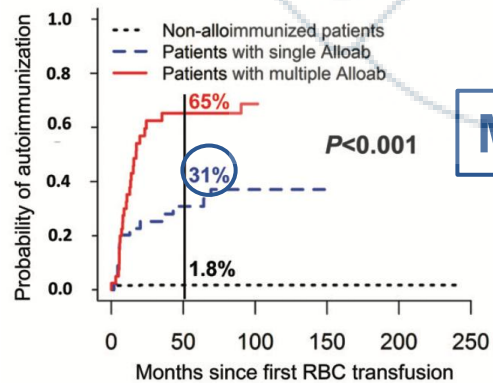
Table 1. RBC alloantibodies in patients with warm autoantibodies

Reference	Number of alloantibodies found/number of sera tested	Percentage of sera with alloantibodies
Morel et al. <sup>6</sup>	8/20	40
Branch and Petz <sup>7</sup>	5/14	36
Wallhermfechtel et al. <sup>12*</sup>	19/125	15
Laine and Beattie <sup>14*</sup>	41/109	38
James et al. <sup>13*</sup>	13/41	32
Issitt et al. <sup>11</sup> (alloadsorptions)†	13/34	38
Issitt et al. <sup>11</sup> (autoadsorptions)†	5/41	12
Leger and Garratty <sup>10‡</sup>	105/263	40
Totals	209/647	32

AIHA

### Chhetri et al, Haematologica (2017)

Cumulative incidence of autoimmunization



### Aygun et al, Transfusion (2002)

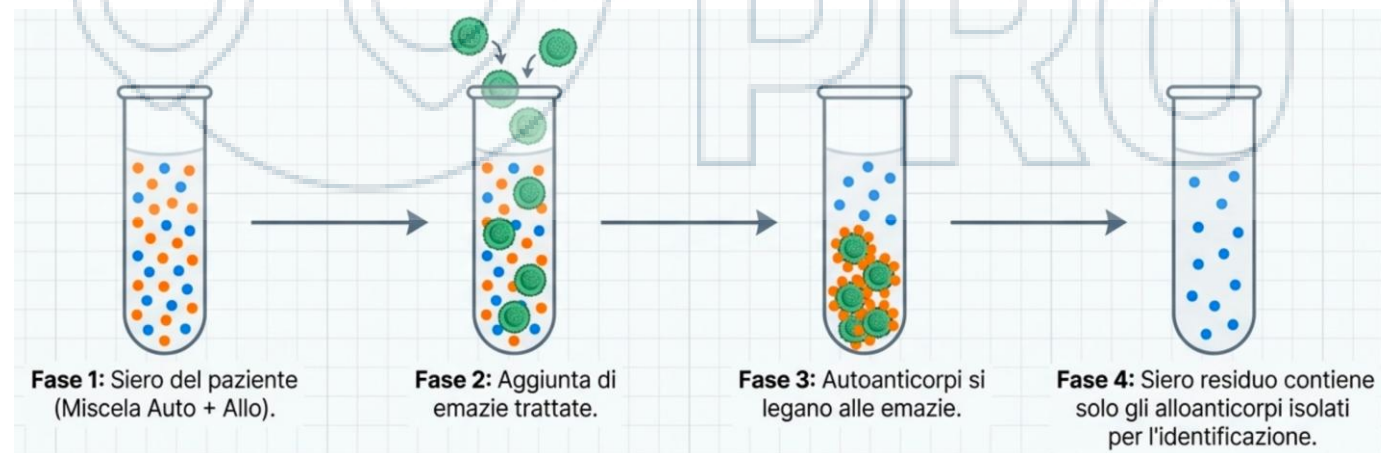
TABLE 1. Comparison of pediatric and adult transfusion data

	Pediatric (n = 78)	Adult (n = 62)
Age range in years (mean age)	1-31 (11.1)	19-57 (31.5)
Total number of transfusions (units)	1860	1379
Number of transfusions (units/patient)	1-139	1-141
Mean number of units per patient	23.8	23.3
Alloimmunized patients (%)	23 (29%)	29 (47%)
Percentage of males to females with alloimmunization	28.5 vs. 31.4	38 vs. 54.5
Number of delayed hemolytic and/or serologic transfusion reactions (%)	7 (9%)	5 (8%)
Incidence of hyperhemolysis in transfused patients (%)	4 (5.1%)	1 (1.6%)
Number of patients with autoantibodies	6 (8%)	6 (9.7%)

# Miscele di Allo/Auto Anticorpi

## Soluzioni del laboratorio

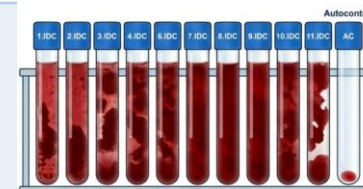
- **Assorbimento autologo** con emazie del paziente (no trasfuso nei tre mesi precedenti)
- **Assorbimento allogenico** con emazie donatore matched (trasfuso nei tre mesi precedenti)
- **ZZAP** (DTT + Papaina); **PEG**
- **Tipizzazione molecolare estesa**



# Ab verso Ag ad alta incidenza (HFA)

## Indizi sierologici

- **Autocontrollo/TCD negativo**
- **Score di reazione uguale o variabile**
- **Reazioni positive** con tutte le emazie test
- **Emolisi** (talvolta)
- **Prova crociata positiva** con emazie a fenotipo identico



- **Presenti in >90%** popolazione (spesso >99%)
- **Appartengono alla serie 901 (ISBT)**
- **Presenti in molti sistemi gruppo-ematici**
- **Associati alle diverse etnie** (U neg; Fy neg negli Africani)
- **Assenza HFA definisce fenotipo raro**

# Il Laboratorio vs HFA

Ficin/papain	DTT (200 mM)	Possible specificity
Negative	Positive	M, N, S, s <sup>*</sup> ; Ge2, Ge4; Xg <sup>a</sup> ; Fy <sup>a</sup> , Fy <sup>b</sup> ; Ch/Rg
Negative	Negative	Indian; JMH
Positive	Weak	Cromer; Knops (weak or negative in ficin)
Variable	Negative	Yt <sup>a</sup>
Positive	Weak	Lutheran; Dombrock; AnWj; MER2
Positive	Negative	Kell; LW; Scianna
Positive	Positive	A,B; H; P1; Rh; Lewis; Kidd; Fy3; Diego; Co; Ge3; I, i; P, LKE; At <sup>a</sup> ; Cs <sup>a</sup> ; Emm; Er <sup>a</sup> ; Jr <sup>a</sup> ; Lan; Ok <sup>a</sup> ; Vel; Sd <sup>a</sup> ; PEL
Positive	Enhanced	Kx

Specificità	IAT	Papaina	18°C
Anti-Ch/Rg, Anti-Kn <sup>a</sup> /McC <sup>a</sup> , Anti-Yk <sup>a</sup>	1+/3+	0	0
Anti-JMH, Anti-In <sup>b</sup> , Anti-Ge2, Anti-Yt <sup>a</sup>	3+	0	0
Anti-Rh, Anti-Kell, Anti-Jk, Anti-Sc, Anti-Co, Anti-Do, Anti-Di, Anti-Cr	4+	4+	0
Anti- Vel, Anti-P, Anti-PP <sub>1</sub> P <sup>k</sup> , Anti-I, Anti-H	4+	Emolisi	4+

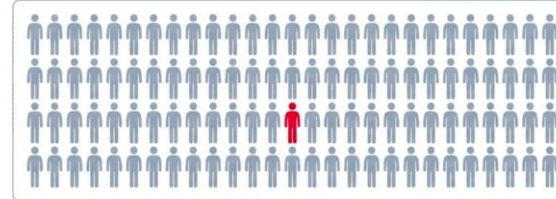
## Soluzione Operativa



Necessari eritrociti test privi dell'antigene (tramite laboratori di riferimento).

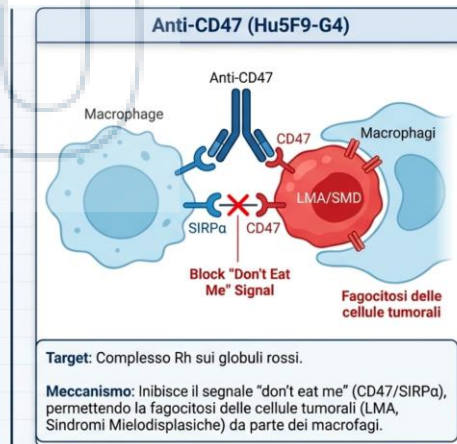
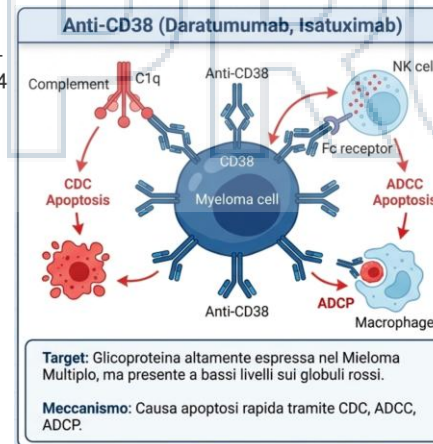
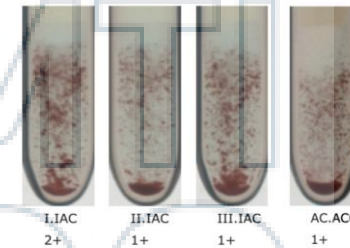
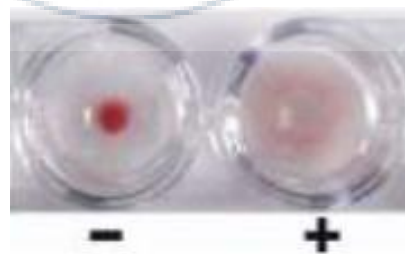
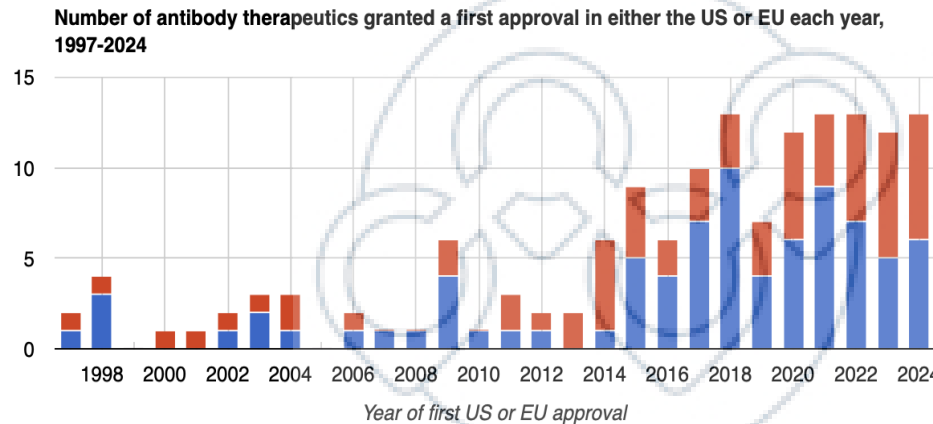


Attivazione immediata della ricerca donatori compatibili in ambito familiare (fratria) o Banche di Fenotipi Rari.



# Interferenze sierologiche

- Anticorpi diretti contro conservanti delle emazie testate
- Anticorpi diretti contro alcuni additivi (*LISS, albumina*)
- **Interferenze farmacologiche** (*anticorpi monoclonali*)



Anticorpo monoclonale (mAb)	anti-CD38	anti-CD47
Tipo di farmaco e sottoclasse di IgG	moAb (IgG1)	moAb (IgG4)/ proteine di fusione (IgG1)
Indagine immunoematologica	Interferenza da anti-CD38	Interferenza da anti-CD47 (IgG1/IgG4)
Tipizzazione antigeni ABO/Rh	No	No/Si (IgG4)
Tipizzazione altri antigeni eritrocitari	Si	Si
TAD	No/Si	Si (IgG1) No/Si(IgG4)
Eluato	No/Si	Si
Autocontrollo	No/Si	Si
Screening anticorpale	Si	Si
Identificazione anticorpale	Si	Si
Cross-match sierologico	Si	Si

- Legame farmaco/CD38 su emazie test/donatore
- **Panreattività screening/identificazione(AHG)**
- Legame farmaco/CD47 su tutte le emazie
- **Panreattività in tutti i test pretrasfusionali**

# Il Laboratorio vs interferenze da farmaci

1

## ANAMNESI:

- Patologia
- Terapia

2

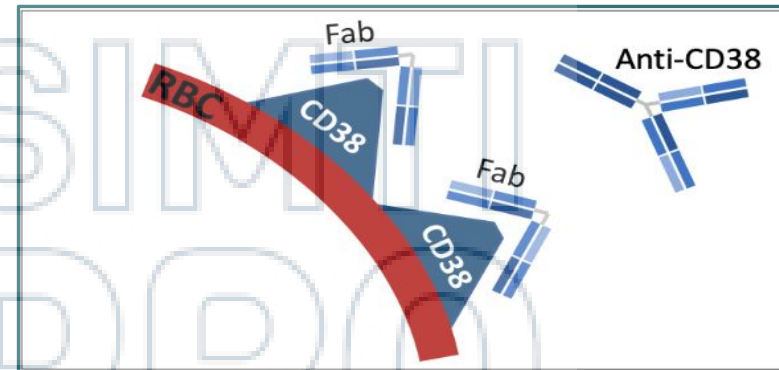
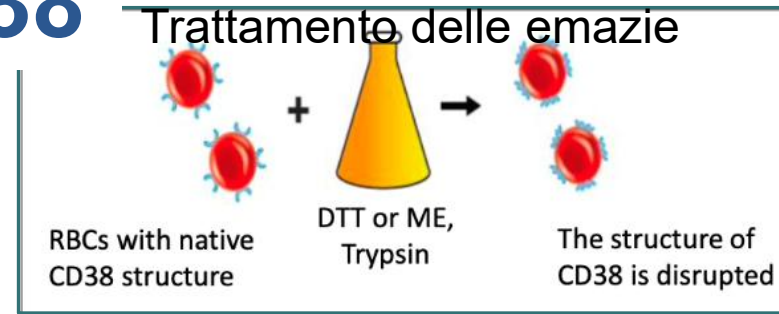
- Strategie di mitigazione della interferenza sierologica
- Tipizzazione estesa sierologica/molecolare

Strategia di mitigazione	anti-CD38	anti-CD47 (IgG1/IgG4)
Fase liquida: TAI in albumina, LISS o PEG	Efficace	Non efficace
Utilizzo di reagenti AHG che non rilevano anticorpi di sottoclasse IgG4	Non efficace	Efficace (IgG4), non efficace (IgG1)
Tecniche enzimatiche	Efficacia variabile	Non efficace
Agenti riducenti (es. DTT)	Efficace	Non efficace
Tecniche di adsorbimento	Non efficace	Efficace
Antigeni solubili	Efficace	Efficace

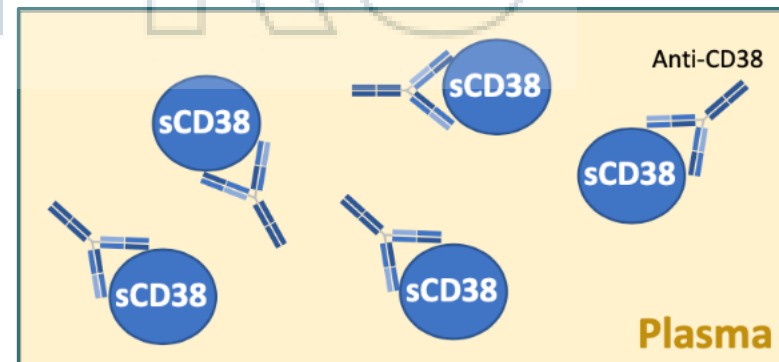
# Anti-CD38

Indagine immunoematologica	Strategia	Meccanismo
<b>DENATURAZIONE</b>	DTT 0.2M	Denatura CD38 sulle emazie test
	DTT 0.01M (Metodo Osaka)	Denatura CD38 sulle emazie test
	DTT 0.04M (Metodo Valencia)	Denatura CD38 sulle emazie test
Screening anticorpale, identificazione anticorpale, cross-match sierologico	Enzimi proteolitici	Clivano alcuni aminoacidi del CD38
	Fase liquida: TAI in albumina, LISS o PEG	Riduce l'interferenza in quanto metodo altamente specifico
<b>MASCHERAMENTO</b>	Frammenti Fab dell'anti-CD38	Si legano al CD38 e lo mascherano all'anticorpo
<b>NEUTRALIZZAZIONE</b>	Ab anti-idiotipo	Neutralizza anticorpo anti-CD38 prima del test
	Antigene CD38 Solubile (sCD38)	Neutralizza anticorpo anti-CD38 prima del test

## Tattamento delle emazie

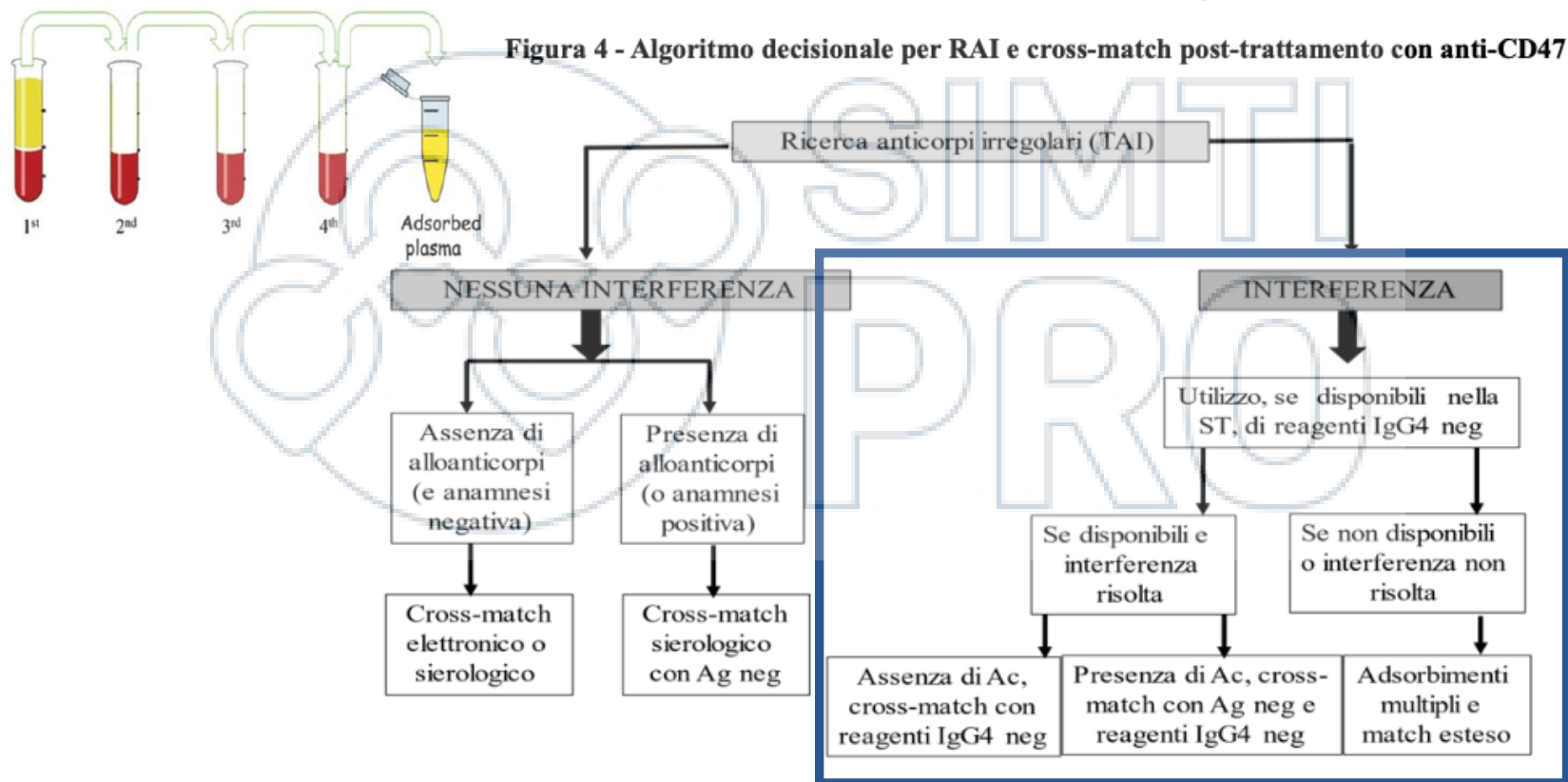


## Tattamento del plasma

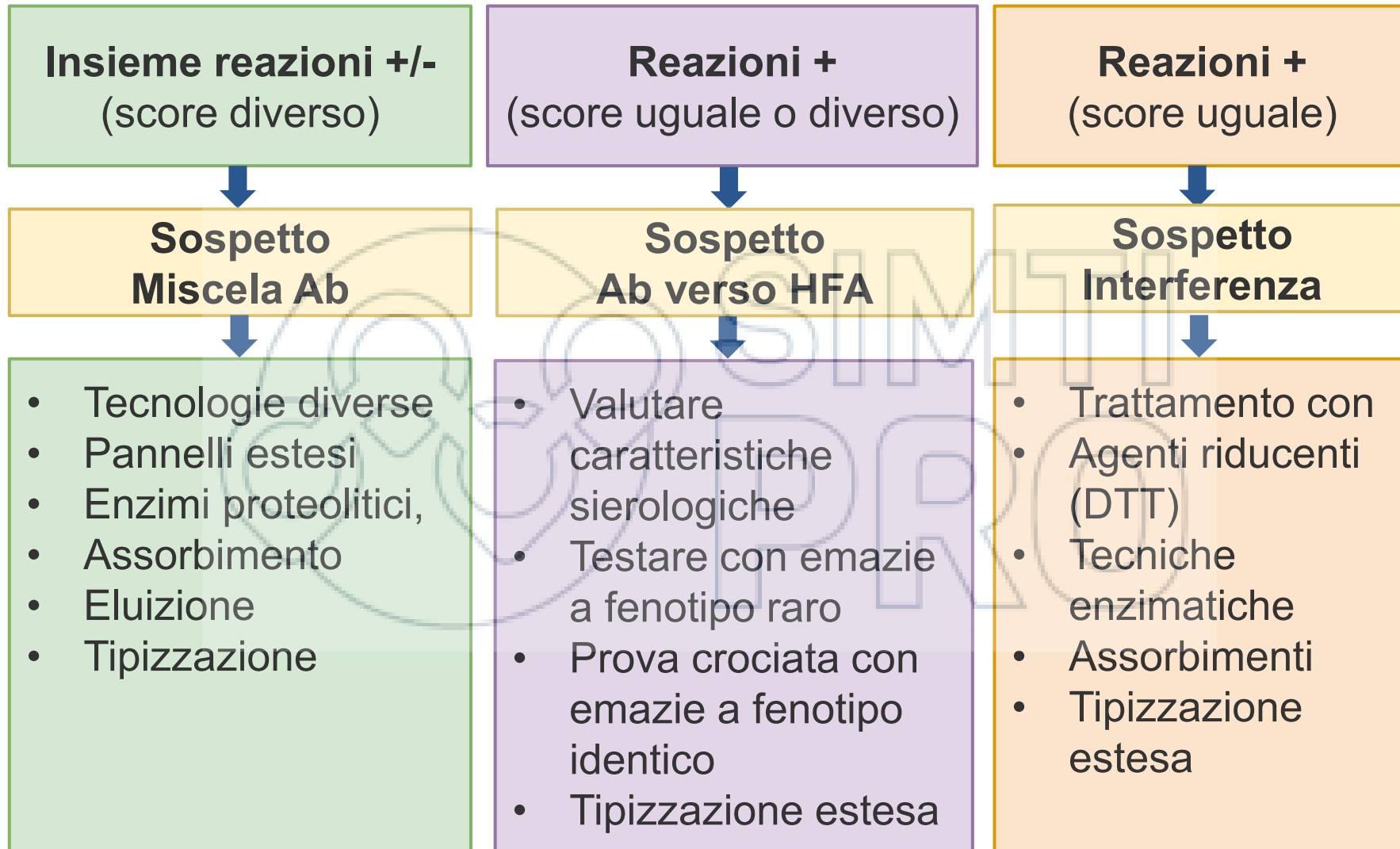


# Anti-CD47

- Utilizzo di metodiche (**fase solida**) o sieri antiglobuline privi di reattività **anti-IgG4**
- **Adsorbimenti multipli** con emazie (o con piastrine) al fine di ridurre la concentrazione dell'anticorpo.



## Panagglutinazione— Autocontrollo Negativo



# LIR



## E.3.6.2 I casi di immunizzazione complessa sono analizzati in laboratori ad elevata specializzazione presenti all'interno di ST, riconosciuti come laboratori di immunoematologia di riferimento.

Tali laboratori **devono** disporre dei reagenti necessari per la definizione dei casi complessi (ad esempio: diversi pannelli eritrocitari ed emazie rare, antisieri tipizzanti per antigeni comuni e rari, *kit* per eluizione, additivi, enzimi e reagenti tiolici).

### 6.1.4 Indagini di immunoematologia complessa

- In relazione al tipo di organizzazione e al contesto in cui opera, il LIR/LBM è in grado di gestire le indagini non effettuabili con le procedure di routine, offrendo, se richiesto, il proprio supporto ad altre organizzazioni nei casi complessi di:
  - associazioni anticorpali;
  - autoanticorpi eritrocitari;
  - anticorpi farmaco dipendenti;
  - malattia emolitica del feto e del neonato;
  - reazione trasfusionale emolitica;
  - anticorpi rivolti verso antigeni ad alta o bassa frequenza;
  - discrepanze nella tipizzazione dei globuli rossi, inclusi i sottogruppi del sistema ABO e altre espressioni antigeniche deboli o discrepanti;
  - casi di interferenze da anticorpi diretti contro sostanze presenti nella soluzione usata per la conservazione delle emazie testo oppure diretti contro alcuni additivi;
  - interferenze dovute ad agenti terapeutici;
  - trombocitopenia neonatale alloimmune;
  - refrattarietà piastrinica;
  - identificazione di anticorpi anti-piastrine, anti-HLA di classe I ed eparina/PF4.



# Conclusioni

L'immunizzazione complessa rappresenta una sfida diagnostica e clinica che richiede un **approccio sistematico e multidisciplinare**.

- **Conoscenza e Aggiornamento continuo** su caratteristiche dei sistemi gruppo-ematici, metodiche sierologiche e molecolari
- **Informazioni sul paziente** (età, etnia, patologia, terapia, storia ostetrica e trasfusionale)
- **Procedure e Algoritmi operativi**
- **Collaborazione/condivisione** tra laboratori (LIR) e **Comunicazione** coi clinici

Lo scopo finale è la **risoluzione tempestiva del problema immunoematologico**, riducendo il ritardo nella cura del paziente.

