



TIPIZZAZIONE DEL GRUPPO RhD: PROTOCOLLI LABORATORISTICI E TECNICHE AVANZATE PER LA RISOLUZIONE DI DISCREPANZE

L. Luciano¹, D. Cerbone¹, A. Barbato¹, P. Bullo¹, R. Prota¹, A. D'Alterio¹, S. Formisano¹, M. Serra¹

¹ AOU FEDERICO II, Napoli, UOC Immunoematologia e Medicina Trasfusionale

INTRODUZIONE

Il sistema Rh, ed in particolare l'antigene RhD, è cruciale in medicina trasfusionale e nella gestione delle donne in gravidanza e nei pazienti riceventi. Tuttavia, la presenza di varianti del RhD (RhD wild type, D debole e D parziale) può generare discrepanze nella tipizzazione – fenomeno riscontrato in circa lo 0,2%-1% delle tipizzazioni di routine. (Fig. 1)

Queste varianti, se non riconosciute adeguatamente, possono portare a errori diagnostici, trasfusioni non sicure (alloimmunizzazione) e somministrazione non necessaria di immunoglobuline anti-D nei contesti clinici.

METODOLOGIA

Una volta effettuate le determinazioni di gruppo sanguigno e sistema Rh abbiamo collezionato i campioni non wild type e li abbiamo sottoposti a procedure automatizzate e sierologiche

- Strumentazione Automatizzata:
 - IH500 (Bio-Rad) e Neoiris Immucor: strumenti per una determinazione rapida e standardizzata, che impiegano gel cards, reagenti liquidi e schede per il referto.
- Tipizzazione sierologica
 - ID-Partial RhD Typing Set per risolvere le discrepanze e definire in dettaglio la variante Rh (differenziando D debole da D parziale) attraverso l'uso di antisieri monoclonali etichettati.

OBIETTIVI

Gli obiettivi che ci siamo posti durante il percorso sono stati:

- Determinare i gruppi sanguigni e i fattori RhD dei pazienti, delle donne gravide e dei donatori dell'UOC di Immunoematologia e Medicina trasfusionale dell'AOU Federico II di Napoli e di quelli afferenti da associazioni di volontari di sangue con le metodiche manuali e automatizzate nel periodo di studio che va da Marzo 2024 ad Ottobre 2024.
- Individuare le discrepanze di non possibile attribuzione del fenotipo RhD.
- Effettuare sui campioni discrepanti la determinazione sierologica con l'ID-Partial RhD Typing Set.
- Visionare i database in letteratura come ausilio di attribuzione dell'Rh variant: D debole o D parziale.
- Collezionare i campioni RhD variant per eventuale e futuro sequenziamento genico.

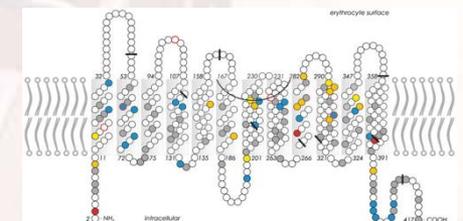


Fig. 1 – Struttura antigene D sulla membrana dei globuli rossi



TIPIZZAZIONE DEL GRUPPO RhD: PROTOCOLLI LABORATORISTICI E TECNICHE AVANZATE PER LA RISOLUZIONE DI DISCREPANZE

L. Luciano¹, D. Cerbone¹, A. Barbato¹, P. Bullo¹, R. Prota¹, A. D'Alterio¹, S. Formisano¹, M. Serra¹

¹ AOU FEDERICO II, Napoli, UOC Immunoematologia e Medicina Trasfusionale

RISULTATI

Campionamento:

Su 7102 tipizzazioni automatizzate, sono state individuate 12 discrepanze di non possibile interpretazione di RhD. (Fig. 2)

- Casi Clinici Analizzati:

- Donatori: 3 casi refertati come RhD positivo.
- Donne in Età Fertile: 5 casi (4 probabili D debole e 1 probabile D parziale – gestiti con trasfusioni e immunoglobuline in via precauzionale).
- Uomini: 4 casi (3 probabili varianti RhD partial e 1 probabile D debole; potenzialmente a rischio per trasfusioni).

- Analisi Integrata con Database:

Confronto con banche dati ISBT e NCBI ha suggerito che:

- 7 campioni sono compatibili con fenotipo “RhD debole” (positivi in DII, DIII, DIVa, DIVb).
- 5 campioni mostrano caratteristiche di “RhD partial” (reazioni positive con altri antisieri specifici, es. D1, D2, D5).(Fig. 3)

Phenotype	Antisera name	Hectadecite change	Excess antigen	Practical anti-isoId change	Reference No. PMID	Accession number	rs number	Comment
D02	rHD*11 (D) rHD*02 (E)	c.1087T>C	6	β-Phe223V	PMID: 10604255	U1933356	r1933356	
		c.1095G>C	5	β-Glu237V		U1933356	r1933356	
		c.1120A>A	5	β-Val248M		U1933362	r1933362	
		c.1202G>C	5	β-Val248M		U1933362	r1933362	
		c.1744C>T	5	β-Ile241E		U1933362	r1933362	
		c.1702G>A	6	β-Cys249A		U1933362	r1933362	
		c.1824A>T	5	β-Leu267M		U1933362	r1933362	
		c.1916A>A	6	β-Val279I		U1933362	r1933362	
		c.1824A>D	6	β-Tyr317Cys		U1933362	r1933362	
		c.1845G>T	7	β-Glu314M		U1933362	r1933362	
		c.1862A>D	7	β-Pro328H		U1933362	r1933362	
		c.1744C>T	7	β-Ser329I		U1933362	r1933362	
c.1978A>D	7	β-Leu327Val		U1933362	r1933362			
c.1965G>T	7	β-Glu328H		U1933362	r1933362			
c.1862A>A	7	β-Gly328H		U1933362	r1933362			
c.1888A>C	7	β-Tyr335Ser		U1933362	r1933362			
c.1882A>T	7	β-Asp331Ile		U1933362	r1933362			
Weak partial Type II	rHD*11 (D) rHD*02 (E) rHD*03 (F) rHD*04 (G) rHD*05 (H) rHD*06 (I) rHD*07 (J) rHD*08 (K) rHD*09 (L) rHD*10 (M) rHD*11 (N) rHD*12 (O)	c.1020T>C	7	β-Ile241E		U118233491	r118233491	
		c.1052G>C	7	β-Asp189His		U41307469	r41307469	
		c.1052G>T	7	Ile241E		U41307469	r41307469	
		c.1057A>T	7	β-Gly187Tyr		U200307239	r200307239	
		c.1059G>A	7	β-Cys187Tyr		U146833035	r146833035	
		c.1060G>A	7	β-Asp189His		U733812181	r733812181	
		c.1091C>A	7	β-Asp189His		U733812181	r733812181	
		c.1170T>C	8	Ile241E		U11132772	r11132772	
		c.1192A>T	8	β-Cys187Val		U45494044	r45494044	
		c.1452G>A	8	β-Gly183Asp	PMID: 9894185	U145494000	r145494000	also anti-D reported
		c.1452G>A	8	β-Tyr183Ile		U145494000	r145494000	
		c.1452G>A	8	β-Val299Ile		U145494000	r145494000	

Fig. 3 - Descrizione dei differenti genotipi delle banche dati

Fig. 2 – Tabella riassuntiva dei 12 casi clinici analizzati

DISCUSSIONE

Nel periodo di studio sono state identificate discrepanze in numerosi campioni, che sono state gestite con un approccio multimodale.

- L'integrazione dei test manuali (ID-Partial RhD Typing Set) con gli strumenti automatizzati (IH500, Neoiris) ha permesso di differenziare i campioni in:

- Varianti RhD deboli
- Varianti RhD parziali

- La corretta scelta del reagente anti-D è fondamentale per riconoscere anche le varianti clinicamente significative, migliorando così la sicurezza trasfusionale e la gestione delle terapie in gravidanza e nei pazienti riceventi.

CASO CLINICO	CATEGORIA PAZIENTE	RISULTATI E REFERTO DEL PAZIENTE
Caso clinico 1	Donatore Maschio	Probabile variante D debole – Refertato come variante RhD positivo
Caso clinico 2	Paziente Maschio	Probabile variante RhD partial (DFR) – Refertato come variante RhD negativo
Caso clinico 3	Paziente Donna	Probabile variante D debole – Refertato come variante RhD negativo
Caso clinico 4	Donatore Maschio	Probabile variante RhD partial (DFR) – Refertato come RhD positivo
Caso clinico 5	Paziente Donna	Probabile variante D debole (D III) – Refertato come variante RhD negativo
Caso clinico 6	Paziente Donna	Probabile variante D partial – Refertato come variante RhD partial
Caso clinico 7	Donatore Donna	Probabile variante D debole – Refertato come variante RhD positivo
Caso clinico 8	Paziente Donna	Probabile variante D debole – Refertato come RhD negativo
Caso clinico 9	Paziente Donna	Probabile variante D debole – Refertato come RhD negativo
Caso clinico 10	Paziente Maschio	Refertato come variante RhD negativo Probabile variante RhD partial (DFR) –
Caso clinico 11	Paziente Maschio	Refertato come variante RhD negativo Probabile variante RhD partial (DFR) –
Caso clinico 12	Paziente Maschio	Refertato come variante RhD negativo Probabile variante RhD debole Refertato come variante RhD negativo



III Convegno Nazionale SITLaB
7 - 8 giugno 2025 - Chieti

SITLaB
Società Scientifica Italiana dei TSLB



TIPIZZAZIONE DEL GRUPPO RhD: PROTOCOLLI LABORATORISTICI E TECNICHE AVANZATE PER LA RISOLUZIONE DI DISCREPANZE

L. Luciano¹, D. Cerbone¹, A. Barbato¹, P. Bullo¹, R. Prota¹, A. D'Alterio¹, S. Formisano¹, M. Serra¹

¹ AOU FEDERICO II, Napoli, UOC Immunoematologia e Medicina Trasfusionale

CONCLUSIONI

La tipizzazione RhD deve seguire fasi operative ben definite dalla raccolta del campione fino alla refertazione, con attenzione alle condizioni di incubazione, miscelazione e centrifugazione.

L'utilizzo combinato di tecniche sierologiche, strumenti automatizzati e metodiche molecolari è fondamentale per la definizione accurata delle varianti RhD, ottimizzando l'uso delle risorse (ad es. scorte di sangue RhD negativo) e garantendo la sicurezza clinica.

La revisione dei protocolli laboratoristici e l'adozione di reagenti innovativi rappresentano il percorso ideale per gestire in modo sicuro le varianti RhD e prevenire l'alloimmunizzazione.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Wagner et al 1999; fleger et al 2007
2. Okubo et al , 1984 ; Okubo et al , 1991
3. (EN) Jean-Pierre Cartron, RH blood group system and molecular basis of Rh-deficiency, in Best Practice & Research Clinical Haematology, vol. 12, n. 4, 1999-12, pp. 655-689, DOI:10.1053/beha.1999.0047. URL consultato il 4 maggio 2020