

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

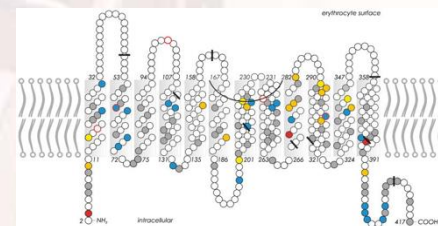
Una volta effettuate le determinazioni di gruppo sanguigno e sistema Rh abbiamo collezionato i campioni non wild type e li abbiamo sottoposti a procedure automatizzate e sierologiche

- Strumentazione Automatizzata:
- IH500 (Bio-Rad) e Neoris 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.





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

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	Alita name	Nucleotide change	Exon	Partial/entire amino acid change	[Reference No.] PMID	Accession number	rs number	Comment
D5/2	RhD/12 (H500)	g.607T>C	5	p.Val222M	PMID: 10604255	p103356		
		g.607C>G	5	p.Val222L		p103356		
		g.718G>A	5	p.Val248M		p103356		
		g.732G>C	5	p.Val248L		p103356		
		g.744C>T	5	p.Val248I		p103356		
		g.787G>A	6	p.Val283M		p103356		
		g.803A>T	6	p.Val283M		p103356		
		g.816G>A	6	p.Val283M		p103356		
		g.832A>G	6	p.Val283M		p103356		
		g.845C>T	7	p.Val283M		p103356		
		g.862A>G	7	p.Val283M		p103356		
		g.874C>T	7	p.Val283M		p103356		
D5/2	RhD/12 (H500)	g.607T>C	5	p.Val222M		p103356		
		g.607C>G	5	p.Val222L		p103356		
		g.718G>A	5	p.Val248M		p103356		
		g.732G>C	5	p.Val248L		p103356		
		g.744C>T	5	p.Val248I		p103356		
		g.787G>A	6	p.Val283M		p103356		
		g.803A>T	6	p.Val283M		p103356		
		g.816G>A	6	p.Val283M		p103356		
		g.832A>G	6	p.Val283M		p103356		
		g.845C>T	7	p.Val283M		p103356		
		g.862A>G	7	p.Val283M		p103356		
		g.874C>T	7	p.Val283M		p103356		
D5/2	RhD/12 (H500)	g.607T>C	5	p.Val222M		p103356		
		g.607C>G	5	p.Val222L		p103356		
		g.718G>A	5	p.Val248M		p103356		
		g.732G>C	5	p.Val248L		p103356		
		g.744C>T	5	p.Val248I		p103356		
		g.787G>A	6	p.Val283M		p103356		
		g.803A>T	6	p.Val283M		p103356		
		g.816G>A	6	p.Val283M		p103356		
		g.832A>G	6	p.Val283M		p103356		
		g.845C>T	7	p.Val283M		p103356		
		g.862A>G	7	p.Val283M		p103356		
		g.874C>T	7	p.Val283M		p103356		
D5/2	RhD/12 (H500)	g.607T>C	5	p.Val222M		p103356		
		g.607C>G	5	p.Val222L		p103356		
		g.718G>A	5	p.Val248M		p103356		
		g.732G>C	5	p.Val248L		p103356		
		g.744C>T	5	p.Val248I		p103356		
		g.787G>A	6	p.Val283M		p103356		
		g.803A>T	6	p.Val283M		p103356		
		g.816G>A	6	p.Val283M		p103356		
		g.832A>G	6	p.Val283M		p103356		
		g.845C>T	7	p.Val283M		p103356		
		g.862A>G	7	p.Val283M		p103356		
		g.874C>T	7	p.Val283M		p103356		
D5/2	RhD/12 (H500)	g.607T>C	5	p.Val222M		p103356		
		g.607C>G	5	p.Val222L		p103356		
		g.718G>A	5	p.Val248M		p103356		
		g.732G>C	5	p.Val248L		p103356		
		g.744C>T	5	p.Val248I		p103356		
		g.787G>A	6	p.Val283M		p103356		



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