ANALISI DI MEDICINA TRASFUSIONALE SUL PAZIENTE

RACCOMANDAZIONI dell'Associazione Svizzera di Medicina Trasfusionale (ASMT) e di Trasfusione CRS Svizzera (T-CH) rivolte a specialisti, laboratori e istituti medici relative alle analisi di immunoematologia e di biologia molecolare dei campioni di sangue dei pazienti

Draft

Modifiche nell'attuale versione 10, valida dall'01.02.2024

1.1 Requisiti generali per la trasfusione: Ogni organizzazione che trasfonde prodotti ematici labili è tenuta a istituire un sistema di garanzia della qualità in linea con lo stato attuale della scienza e della tecnologia medica (cfr. § 1) Fonte: OM art. 65.

3.3.1 Controlli interni di qualità: 1° e 6° punto: (**concentrazione massima** ng anti-RH1 / ml (0,1 UI/ml).

4.1 Raccolta e identificazione del campione: eliminare il 3° punto: La persona che esegue il prelievo di sangue deve assicurarsi che l'identità del paziente sia stata chiaramente verificata in precedenza dall'amministrazione responsabile (ospedale, studio medico, ecc.).

Aggiunta al 4° punto: La persona che esegue il prelievo di sangue controlla **e conferma** che la corretta identificazione del paziente è avvenuta in modo appropriato (firma/visto sul modulo d'ordine e/o sulla provetta, lettura in un sistema di registrazione elettronico, ecc.) Il laboratorio deve essere in grado di verificare queste informazioni.

4.3 Validità del materiale del campione e dei risultati delle indagini supplementari: integrare il 2° punto: In casi eccezionali in cui non è possibile escludere gli anticorpi (ad es. anti-RH8 o anti-KEL3) a causa della mancanza di cellule di test, è possibile selezionare CE antigene compatibile.

Tabella 5.1.3: Integrazione del primo e del secondo siero di prova anti-RH1: debolmente positivo/indebolito.

5.3.2 Metodi per il test di screening e l'identificazione degli anticorpi: 3° punto: la sensibilità e la specificità sono verificate tramite un anti-RH1 debole [concentrazione massima di ≤2~~1~~0 ng anti-RH1 / ml (**0,1 UI/ml**)] .

5.3.4 Identificazione degli anticorpi: aggiungere al 4° punto: gli anticorpi non rilevanti per la trasfusione, ad esempio gli anti-Bg, non devono essere confermati o esclusi attivamente (per le gravidanze, vedere § 7.1.6).

5.5 Controllo di compatibilità pre-trasfusionale: adattare il 5° punto: se sono presenti anticorpi contro antigeni a bassa frequenza (anticorpi "anti-"privati"), i CE devono essere rilasciati mediante un test di compatibilità negativo.

Aggiungere l'ultimo punto: se è presente un anticorpo anti-RH3 (anti-E) o anti-RH8 (anti-Cw) "solo enzimatico", che non è mai stato rilevato nello IAT, possono essere rilasciati CE RH/KEL1 compatibili secondo la regola del T&S.

6.1 Inserimento manuale dei risultati: L'inserimento dei dati **deve** essere controllato, documentato e firmato da una seconda persona **il prima possibile**.

6.3.1 Rapporto: il rapporto di analisi deve contenere quanto segue (integrare il 7° punto): Nel documento devono essere menzionati anche gli alloanticorpi non più rilevabili.

7.1.6 Alloanticorpi in gravidanza: nuovo punto (4): **un anticorpo clinicamente irrilevante, come l'anti-Bg, non deve essere ricercato attivamente o escluso.**

7.2.3: Test di Coombs diretto (DAT): supplemento al punto 3: se non sono rilevabili anticorpi nella RAI della madre (e non sono presenti anticorpi con specificità anti-A/-B nell'eluato del bambino), si può prendere in considerazione un test di compatibilità con il siero/plasma della madre e gli eritrociti del bambino o del padre per **escludere la presenza di un anticorpo contro un antigene a bassa frequenza** ("anti-privato") (attenzione all'incompatibilità ABO!).

8.1 Scelta del gruppo sanguigno per i concentrati di eritrociti: Il laboratorio, nel limite del possibile, è responsabile della trasfusione di concentrati di globuli rossi ABO e RH1 identici.

Attenzione: questa procedura è necessaria per evitare che i pazienti, soprattutto quelli con gruppo sanguigno O RH1 negativo o alloimmunizzati, siano svantaggiati a causa della mancanza di CE compatibili.

8.1.2 Selezione dell'antigene RH1: Aggiunta del secondo punto: le trasfusioni di CE RH1-positivo a riceventi RH1-negativi sono possibili in alcune situazioni (vedi § 9.4.2). **Un cambiamento del gruppo sanguigno RH1 deve essere considerato come una trasfusione non corretta e deve essere notificato** (Emovigilanza).

Draft

9.7 Trasfusioni di concentrati di globuli rossi irradiati: nuovo punto: per le trasfusioni intrauterine, vedere § 7.4.1.

9.8 Procedura e scelta degli emoderivati in caso di reazioni trasfusionali allergiche/anafilattiche e carenza di IgA: Aggiunta: in base alla prevalenza della carenza di IgA nella popolazione, l'incidenza delle reazioni trasfusionali di ipersensibilità dovrebbe essere maggiore. Ci si aspetterebbe che 1:1000 trasfusioni causino una reazione trasfusionale di ipersensibilità.

Uno studio di emovigilanza francese ha mostrato un'incidenza di 1 su 871.911 pazienti esposti.

Le persone con titoli IgA misurabili di solito non sviluppano anticorpi anti-IgA. Inoltre, attualmente è possibile misurare solo gli anti-IgA IgG, ma non ancora gli anti-IgA IgE, che potrebbero essere ugualmente essere all'origine della clinica. Questo potrebbe spiegare la discrepanza tra reazioni effettive e reazioni attese.

9.9 Procedura e scelta degli emoderivati per la terapia con anticorpi monoclonali: gli **anticorpi monoclonali come gli anti-CD38 o gli anti-CD47** sono utilizzati, ad esempio, nel trattamento di malattie emato-oncologiche e autoimmuni.

Prima di iniziare la terapia con anticorpi monoclonali ~~come gli anti-CD38~~, devono essere disponibili almeno due determinazioni valide del gruppo sanguigno e un test di screening degli anticorpi valido. È inoltre consigliabile effettuare un fenotipo esteso o una genotipizzazione prima di iniziare la terapia. Questa procedura è necessaria per poter trasfondere i pazienti in situazioni in cui gli anticorpi di importanza clinica non possono essere esclusi con assoluta certezza (inibizione insufficiente degli anticorpi monoclonali interferenti). Questo dovrebbe permettere di evitare di ritardare la trasfusione del paziente.

Nel caso degli anti-CD38, la determinazione del gruppo sanguigno può essere effettuata anche dopo l'inizio della terapia (...).

9.11 Drepanocitosi: Adattamento 13° punto: (...) Questo può ridurre al minimo il rischio di una reazione trasfusionale dovuta a un **anticorpo contro un antigene a bassa frequenza** ("anti-privato").

10. Reazioni trasfusionali avverse ed **errori trasfusionali**: **La gestione di eventi trasfusionali avversi (ad es. reazioni trasfusionali, errori trasfusionali) fa parte del dovere di diligenza nella manipolazione degli emoderivati e la notifica degli eventi è un'esigenza legale nel quadro dell'emovigilanza (Later art. 3, Later art. 59)**. Il presente documento tratta solo le reazioni trasfusionali avverse che si verificano nel contesto delle indagini immunoematologiche su campioni dei pazienti.

~~Le informazioni sull'ulteriore classificazione e chiarimento delle reazioni trasfusionali sono disponibili sul sito web di Swissmedic (Haemovigilance: https://www.swissmedic.ch/swissmedic/de/home/humanarzneimittel/marktueberwachung/haemovigilance/haemovigilance-reporting.html)~~ **Il chiarimento delle allo-immunizzazioni è elencato altrove – se verificati a seguito di una trasfusione gli allo-anticorpi sono classificati come effetti secondari della trasfusione stessa e devono essere segnalati (vedi § 5.3 e 5.7). Ulteriori informazioni (classificazione e chiarimento delle reazioni trasfusionali e degli errori trasfusionali) sono disponibili sul sito web di Swissmedic** (Haemovigilance: **Haemovigilance (swissmedic.ch)**.

10.2 Errori trasfusionali (nuovo sottocapitolo): **Gli errori trasfusionali sono eventi in cui, ad esempio, è stato trasfuso un prodotto ematico non idoneo, incompatibile o solo accidentalmente compatibile. I "near miss" sono errori di trasfusione che sono stati evitati per poco. Se durante i test immunoematologici viene rilevato un errore o un quasi errore trasfusionale, il medico responsabile deve essere informato immediatamente e deve essere effettuata un'analisi delle cause. La gestione dell'evento e le eventuali misure adottate devono essere documentate nell'ambito del sistema di assicurazione della qualità e gli eventi devono essere segnalati a Swissmedic (vedi § 10.3).**

10.3 Notifiche (nuovo sottocapitolo): Le reazioni trasfusionali avverse, gli errori trasfusionali e gli errori trasfusionali evitati per poco (near miss) devono essere segnalati a Swissmedic.

Draft

Il responsabile dell'emovigilanza o il medico trasfusionista è responsabile dell'adempimento dell'obbligo di segnalazione. Ulteriori informazioni e i relativi moduli sono disponibili presso Swissmedic (Haemovigilance (swissmedic.ch)). Se si sospetta una reazione trasfusionale avversa, è necessario informare immediatamente anche il produttore (STCRS), in modo da poter bloccare o richiamare tutti gli altri prodotti potenzialmente interessati (ad esempio, provenienti dallo stesso donatore).

Draft

Lista delle abbreviazioni

AC	Anticorpo
Ag	Antigene
AIHA	Anemia emolitica autoimmune
ASMT	Associazione Svizzera di Medicina Trasfusionale
CE	Concentrato eritrocitario
CFLAM	Criteri di funzionamento dei laboratori di analisi mediche
CQE	Controllo di qualità esterno
CQI	Controllo di qualità interno
CT	Concentrato trombocitario
DAT	Test dell'antiglobulina umana diretto (prima: test di Coombs diretto)
DVI	D-variante VI
EDTA	Sangue anticoagulato con acido etilendiamminotetraacetico
EFI	European Federation for Immunogenetics
Fenotipo RH/KEL1	RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e) e KEL1 (K)
IAT	Test dell'antiglobulina umana indiretto (prima: test di Coombs indiretto)
IgG, IgA, IgM	Immunoglobulina di classe G, A ed M
IGVE	Immunoglobuline per via endovenosa
KBMAL	Kriterien zum Betreiben von medizinisch-analytischen Laboratorien (Criteri di funzionamento dei laboratori di analisi mediche [CFLAM])
LATer	Legge sugli agenti terapeutici
LISS	Low ionic strength solution, soluzione fisiologica NaCl a bassa forza ionica
MDAT	DAT monospecifico
MEN	Morbo emolitico neonatale
NA	Non applicabile
NaCl	Cloruro di sodio
OAMed	Ordinanza sulle autorizzazioni nel settore dei medicamenti
OM	Ordinanza sui medicamenti
Pannello DTT	Criteri di funzionamento dei laboratori di analisi mediche
PCR	Reazione a catena della polimerasi (polymerase chain reaction)
PFC	Plasma fresco congelato
Profilassi RHIG	Profilassi con immunoglobulina RH
QUALAB	Associazione svizzera per la promozione della qualità nei laboratori medici
RAI	Ricerca anticorpi irregolari
RHD*06	Variante *RHD*06 (RHD*DVI)* di RHD
SG	Settimana di gravidanza
SGQ	Sistema di gestione della qualità
T&S	Type and screen (determinazione del gruppo sanguigno e ricerca anticorpi)
TC	Test di compatibilità
T-CH CRS	Trasfusione CRS Svizzera

Draft

Indice

Premessa **9**
1 Introduzione e campo di applicazione **10**
1.1 Esigenze trasfusionali generali 10
2 Sistema di gestione della qualità e documentazione **11**
2.1 Requisiti di qualità generali 11
2.2 Requisiti per la liberazione elettronica di CE 11
2.3 Obbligo di registrazione e conservazione 11
3 Reattivi, apparecchiature e controlli di qualità **12**
3.1 Reattivi 12
3.1.1 Generalità 12
3.1.2 Soluzione di lavaggio per eritrociti 12
3.1.3 Eritrociti-test 12
3.1.4 Sieri-test 12
3.2 Apparecchiature 12
3.3 Controlli di qualità 13
3.3.1 Controlli di qualità interni 13
3.3.2 Controlli di qualità esterni 14
4 Preanalitica **15**
4.1 Prelievo di campioni e identificazione 15
4.2 Requisiti pretrasfusionali 15
4.2.1 Gruppo sanguigno ABO/RH1 15
4.2.2 Ricerca anticorpi 16
4.3 Validità del materiale del campione e risultati delle analisi pretrasfusionali 16
5 Analisi immunoematologiche **17**
5.1 Determinazione dei gruppi sanguigni ABO e RH1 17
5.1.1 Determinazione completa dei gruppi sanguigni ABO/RH1 17
5.1.2 Risultati e interpretazione della determinazione del gruppo sanguigno ABO 17
5.1.3 Risultato e interpretazione della determinazione dell'antigene RH1 17
5.1.4 Controllo antigeni AB/RH1 18
5.1.5 Risultato e interpretazione del controllo antigeni AB/RH1 18
5.2 Fenotipo RH/KEL1 e fenotipo esteso 18
5.2.1 Determinazione del fenotipo RH/KEL1 e fenotipo esteso 18
5.2.2 Risultato e interpretazione del fenotipo RH/KEl1 (Rh/K) e di altri antigeni dei gruppi sanguigni 19
5.3 Ricerca e identificazione anticorpi 19
5.3.1 Generalità 19
5.3.2 Metodi per la ricerca e l'identificazione di anticorpi 19

Draft

5.3.3 Risultati della ricerca anticorpi ... 19
5.3.4 Identificazione di anticorpi irregolari ... 19
5.4 Test di Coombs diretto ed eluizione ... 20
5.4.1 Test di Coombs diretto ... 20
5.4.2 Eluizione ... 20
5.5 Controllo pre-trasfusionale della compatibilità ... 23
5.5.1 Liberazione di CE per trasfusione ... 23
5.5.2 Liberazione mediante T&S ... 23
5.5.3 Liberazione mediante TC ... 23
5.6 Etichettatura, distribuzione dei concentrati eritrocitari ... 24
5.6.1 Etichettatura dei documenti d'accompagnamento ... 24
5.6.2 Distribuzione dei concentrati eritrocitari liberati ... 24
5.7 Controllo immunoematologico post-trasfusionale ... 24
6 Postanalitica ... 25
6.1 Registrazione dei risultati ... 25
6.2 Liberazione/convalida dei risultati ... 25
6.3 Trasmissione dei risultati ... 25
6.3.1 Rapporto ... 25
6.3.2 Tessera del gruppo sanguigno ... 25
7 Gravidanza e pediatria ... 26
7.1 Assistenza immunoematologica durante la gravidanza ... 26
7.1.1 Controllo tra la 8ª e la 16ª settimana di gravidanza ... 26
7.1.2 Controllo nella 28ª settimana di gravidanza ... 26
7.1.3 Donne in gravidanza con varianti RH1 ... 26
7.1.4 Determinazione fetale *RHD* da sangue materno ... 26
7.1.5 Profilassi con immunoglobulina RH ... 26
7.1.6 Alloanticorpi in gravidanza ... 27
7.2 Analisi sul neonato e sul bambino fino a quattro mesi ... 27
7.2.1 Campioni di sangue ... 27
7.2.2 Determinazione del gruppo sanguigno ABO e antigene RH1 ... 27
7.2.3 Test di Coombs diretto ... 28
7.2.4 Indagini pretrasfusionali ... 28
7.2.5 Risultati ... 28
7.3 Analisi nel bambino dai quattro mesi ... 28
7.4 Trasfusioni nel bambino ... 28
7.4.1 Trasfusione intrauterina ... 28
7.4.2 Trasfusione nei prematuri, nei neonati e bambini fino a 4 mesi ... 29
7.4.3 Trasfusione nei bambini (dai 5 ai 12 mesi) ... 29

Draft

7.4.4 Exanguinotrasfusioni vedi § 9.2 ... 29
8 Scelta del gruppo sanguigno dei prodotti sanguigni labili ... 30
8.1 Scelta del gruppo sanguigno dei CE ... 30
8.1.1 Scelta del gruppo ABO ... 30
8.1.2 Scelta dell'antigene RH1 ... 30
8.1.3 Scelta di altri antigeni di gruppo sanguigno ... 32
8.2 Scelta del gruppo sanguigno ABO del plasma fresco congelato ... 34
8.3 Scelta del gruppo sanguigno ABO/RH1 dei concentrati di trombociti ... 34
8.4 Scelta del gruppo sanguigno ABO/RH1 in situazioni particolari ... 35
9 Procedura e scelta dei prodotti sanguigni in situazioni cliniche particolari ... 36
9.1 Trasfusione autologa ... 36
9.2 Exanguinotrasfusioni ... 36
9.3 Trasfusione in urgenza ... 36
9.3.1 Scelta del gruppo ABO e RH1 nelle trasfusioni in urgenza ... 36
9.3.2 Altri test pretrasfusionali ... 36
9.4 Trasfusione massiccia ... 36
9.4.1 Generalità ... 36
9.4.2 Scelta del gruppo sanguigno ABO/RH1 in caso di trasfusione massiccia ... 37
9.5 Anemia emolitica autoimmune ... 37
9.6 Trasfusioni croniche ... 37
9.7 Trasfusione di concentrati eritrocitari irradiati ... 38
9.8 Procedura e scelta dei prodotti sanguigni nel caso di reazione trasfusionale allergica/anafilattica e deficienza da IgA ... 38
9.9 Procedura e scelta dei prodotti sanguigni nella terapia con anticorpi monoclonali ... 38
9.10 Trapianti ... 39
9.10.1 Trapianti di organi ... 39
9.10.2 Trapianto di cellule staminali allogeniche (donatore diverso dal ricevente) ... 39
9.11 Drepanocitosi ... 39
10 Reazioni trasfusionali indesiderate ... 41
10.1 Generalità ... 41
10.2 Indagini da eseguire in caso di sospetta reazione trasfusionale emolitica ... 41
10.2.1 Materiale ... 41
10.2.2 Indagini immunoematologiche ... 41
10.2.3 Ulteriori indagini ... 42
10.3 Annuncio ... 42
11 Standards for Molecular Blood Group Typing ... 43

Draft

Premessa

Questo documento è stato redatto in collaborazione con l'Associazione Svizzera di Medicina Trasfusionale (ASMT) e Trasfusione CRS Svizzera (T-CH CRS) e revisionato conformemente allo stato attuale della scienza e della tecnica.

Questo documento può essere considerato come una guida per la buona prassi di laboratorio in immunoematologia e servire da ausilio nelle decisioni da prendere in situazioni cliniche specifiche. Per i casi non menzionati si dovranno consultare le referenze esistenti e/o il medico responsabile della trasfusione.

Da gennaio 2002 l'ordinanza sui medicamenti impone sia ai produttori che agli utilizzatori dei prodotti sanguigni labili di predisporre un sistema di garanzia della qualità che sia conforme allo stato attuale della scienza e della tecnica medica (OM art. 65 cpv. 4).

Swissmedic ha preso parte al processo di consultazione della versione revisionata e sostiene appieno il documento. Queste raccomandazioni descrivono i metodi idonei per controllare la compatibilità dei prodotti sanguigni labili con il ricevente. Inoltre, essi definiscono i requisiti minimi in termini di preanalitica, di ordinazione e di selezione di componenti sanguigni adatti e la documentazione delle tappe di lavoro al fine di garantire la sicurezza trasfusionale. Conviene dunque applicare queste raccomandazioni nell'ambito di esami pretrasfusionali e a tutti gli eventuali processi che portano alla consegna di prodotti sanguigni labili per una trasfusione.

Altri metodi possono essere ugualmente utilizzati, a patto che dimostrino di raggiungere in modo affidabile gli stessi obiettivi di qualità e di sicurezza sulla base delle conoscenze scientifiche attuali. Queste raccomandazioni verranno considerate quali documenti di riferimento nel caso di eventuali ispezioni. Inoltre, le presenti raccomandazioni fungono da riferimento per verificare se il sistema di qualità di istituti che effettuano delle trasfusioni di prodotti sanguigni labili è adeguato.

In qualità di autorità competente, vogliamo ringraziare le organizzazioni e le persone che hanno contribuito all'elaborazione di queste raccomandazioni che rappresentano un importante contributo alla sicurezza trasfusionale.

SWISSMEDIC, Unità di Emovigilanza e Progetti

Queste raccomandazioni sono state elaborate dal gruppo specializzato Immunoematologia.

Draft

1 Introduzione e campo di applicazione

La trasfusione di prodotti sanguigni labili è un atto terapeutico complesso che esige da parte del personale coinvolto competenze professionali specifiche in materia di esami pretrasfusionali e trasfusioni di sangue. Gli utilizzatori di tali prodotti si assumono la grande responsabilità di evitare i potenziali effetti secondari. Se gli esami pretrasfusionali non sottostanno a disposizioni legali, l'ordinanza sui medicamenti (art. 65 cpv. 4) impone invece agli istituti che impiegano prodotti sanguigni di definire un sistema di gestione della qualità conforme allo stato attuale delle conoscenze scientifiche, e di nominare un responsabile dell'emovigilanza. Il laboratorio deve inoltre rispettare le norme riconosciute e applicabili ai sistemi di gestione della qualità (ISO 15189 e/o 17025).

Le seguenti raccomandazioni concernono i laboratori che eseguono le indagini immunoematologiche per gli utilizzatori di PSL. Esse definiscono l'ambito, le metodiche e le procedure di analisi, come anche l'interpretazione dei risultati. Definiscono inoltre le procedure amministrative riguardanti l'identificazione dei campioni e dei prodotti sanguigni, la registrazione e trasmissione dei risultati e i requisiti minimi in termini di qualità.

Allo scopo di assicurare la competenza immunoematologica necessaria all'esecuzione di una trasfusione, il personale del laboratorio sotto la responsabilità della direzione consiglia il medico responsabile della trasfusione nello svolgimento dei test immunoematologici e nella scelta dei prodotti sanguigni. La direzione del laboratorio e il servizio infermieristico garantiscono che i prodotti corrispondano alle specifiche della richiesta medica (vedi Guida all'assicurazione qualità nella pratica trasfusionale, Gruppo di lavoro svizzero Assicurazione qualità nell'impiego degli emoderivati).

Il contenuto delle raccomandazioni concerne:

- indagini immunoematologiche,
- avvertenze sulla trasfusione di prodotti sanguigni,
- avvertenze sulla gestione della qualità,
- emovigilanza riceventi.

Dal 2022 la nomenclatura dei sistemi dei gruppi sanguigni utilizzata nel presente documento sarà adeguata alla terminologia ISBT per tener conto delle sigle utilizzate a livello internazionale . Per facilitare la lettura e l'applicazione della nuova nomenclatura è stata elaborata una tabella, seppure non esaustiva, che confronta la terminologia tradizionale con quella dell'ISBT (addendum 1). Fa eccezione il sistema dei gruppi sanguigni ABO.

Per motivi di leggibilità il presente documento utilizza la forma maschile.

1.1 Esigenze trasfusionali generali

I PSL in uso devono essere utilizzati conformemente alle attuali conoscenze scientifiche. Gli aspetti seguenti sono particolarmente importanti:

- pre- e postanalitica,
- indagini pretrasfusionali immunoematologiche,
- distribuzione di prodotti sanguigni labili,
- completa tracciabilità dei campioni, delle analisi e dei prodotti sanguigni labili (consegnati e rinviati, link prodotto/ricevente),
- si raccomanda di inserire le informazioni importanti (raccomandazioni trasfusionali, eventi legati alla trasfusione e prodotti trasfusi) nella cartella clinica digitale del paziente sotto la responsabilità del medico prescrivente.

I diversi aspetti del processo di trasfusione devono essere disciplinati in disposizioni interne all'istituto (ospedale / clinica / studio medico o laboratorio di analisi). Le indicazioni e le norme di applicazione dei singoli prodotti sanguigni sottostanno alla responsabilità del medico che effettua la trasfusione.

Ogni organizzazione che trasfonde prodotti ematici labili è tenuta a istituire un sistema di garanzia della qualità in linea con lo stato attuale della scienza e della tecnologia medica (cfr. § 1) Fonte: OM art. 65.

Draft

2 Sistema di gestione della qualità e documentazione

2.1 Requisiti di qualità generali

Le analisi, i controlli di qualità e la documentazione di laboratorio devono essere conformi alle esigenze fissate dal SGQ.

- La direzione del laboratorio è responsabile:
  - dell'applicazione e del rispetto delle procedure di lavoro dettagliate relative alle analisi eseguite. Tali procedure devono essere accessibili a tutti i collaboratori,
  - della formazione/abilitazione di tutto il personale,
  - della qualifica e della manutenzione dei dispositivi,
  - della qualifica del materiale d'uso,
  - del rispetto delle disposizioni riguardanti i locali,
  - della documentazione e della gestione dei cambiamenti.
- La documentazione di laboratorio deve comprendere:
  - i risultati e l'interpretazione delle analisi pretrasfusionali,
  - la data e la firma/sigla del collaboratore (in alternativa quella informatica) che ha effettuato l'analisi,
  - la lista dei PSL distribuiti al paziente (specificare il type e il numero del prelievo).

2.2 Requisiti per la liberazione elettronica di CE

In caso di liberazione elettronica devono essere soddisfatte le seguenti condizioni:

- il sistema deve soddisfare le norme riconosciute ed essere qualificato come tale,
- in caso di guasto deve essere disponibile un sistema manuale di sostituzione,
- la procedura deve essere stabilita per iscritto (p. es. documentata in SOP).

Se esistono discrepanze nel gruppo sanguigno e/o nella determinazione degli anticorpi non è ammesso procedere alla liberazione elettronica finché non sono risolte.

2.3 Obbligo di registrazione e conservazione

A norma degli art. 39 e 40 della legge sugli agenti terapeutici (LATer), dal 2020 le registrazioni e tutti i documenti rilevanti devono essere conservati per 30 anni.

Secondo le linee guida di Swissmed del 17.01.2020 relative alle ispezioni di banche di sangue («Inspections des banques de sang», § 5.4.6 «Documenti») devono essere rispettati i seguenti requisiti:

- garantire la tracciabilità dal donatore (attraverso il numero donatore) al paziente e viceversa per 30 anni (preferibilmente tramite il centro di distribuzione e non solo nel dossier del cliente; ciò implica informare il centro di distribuzione dell'avvenuta trasfusione),
- documenti normativi (istruzioni di lavoro, SOP) per tutte le procedure,
- risultati e interpretazione delle verifiche della compatibilità,
- tracciabilità dei materiali utilizzati (incl. numero di lotto) e procedure di test,
- richiami avvenuti e analisi a posteriori (look back),
- impiego di sistemi EDP (sistemi di laboratorio, sistemi per pazienti.

Draft

3 Reattivi, apparecchiature e controlli di qualità

3.1 Reattivi

3.1.1 Generalità

- I reattivi usati in laboratorio devono portare il marchio CE.
- I reattivi senza un marchio CE o di produzione propria devono essere convalidati prima dell'utilizzo secondo le norme di riferimento in vigore.
- Nel caso in cui le informazioni concernenti le norme di qualità fossero insufficienti è raccomandata la richiesta al fornitore di un certificato d'analisi.
- I reattivi devono essere utilizzati conformemente alle prescrizioni fornite dal produttore (istruzioni per l'uso). Ogni modifica deve essere precedentemente validata.

3.1.2 Soluzione di lavaggio per eritrociti

- Gli eritrociti devono essere lavati con una soluzione di NaCl isotonica con pH compreso tra 7,0 e 7,5.

3.1.3 Eritrociti-test

Per la controprova ABO nel siero

- Nella determinazione del gruppo ABO, la ricerca delle isoagglutinine viene effettuata grazie a eritrociti-test A_1, B e O. L'uso di eritrociti-test A_2 è facoltativo.

Per la ricerca e l'identificazione di anticorpi

- Gli eritrociti-test di gruppo O usati nella ricerca e nell'identificazione di anticorpi devono possedere i seguenti antigeni: RH1 (RhD), RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e), RH8 (C^w), KEL1 (K), KEL2 (k), KEL3 (Kp^a), JK1 (Jk^a), JK2 (Jk^b), FY1 (Fy^a), FY2 (Fy^b), MNS1 (M), MNS2 (N), MNS3 (S), MNS4 (s), LE1 (Le^a), LE2 (Le^b), P1PK1 (P1) e se possibile LU1 (Lu^a).

Almeno una cellula deve essere omozigote per gli antigeni RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e), JK1 (Jk^a), JK2 (Jk^b), FY1 (Fy^a), FY2 (Fy^b), MNS3 (S) e MNS4 (s). Gli eritrociti-test disponibili in commercio per la ricerca di anticorpi devono essere privi degli antigeni MNS9 (Vw), MNS11 (Mg) e DI3 (Wr^a).

  - In presenza di alloanticorpi l'esclusione di ulteriori anticorpi viene svolta con eritrociti-test, che presentano gli stessi criteri delle cellule-test per la ricerca di anticorpi. Se viene evidenziato l'anti-RH1 (anti-D), la presenza eterozigote degli antigeni RH2 (C) und RH3 (E) è sufficiente per la loro esclusione.
  - Gli eritrociti-test usati non devono essere mescolati tra loro.

3.1.4 Sieri-test

Per la determinazione degli antigeni del gruppo ABO e dell'antigene RH1

- Per la determinazione degli antigeni ABO si raccomanda l'utilizzo di sieri-test monoclonali anti-A e anti-B. L'uso del siero-test monoclonale anti-AB è facoltativo. I sieri-test anti-B monoclonali non reagiscono con un «antigene B acquisito».
- La determinazione dell'antigene RH1 deve essere realizzata con due sieri-test anti-RH1 monoclonali distinti, provenienti da due cloni diversi. Almeno un reattivo anti-RH1 non deve rilevare la variante *RHD*06 (RHD*DVI).* Caso particolare per il neonato (vedi § 7.2).

Per la determinazione del fenotipo RH/KEL1 e degli altri antigeni dei gruppi sanguigni

- Se disponibili in commercio utilizzare sieri-test monoclonali specifici (vedi anche § 5.2).

3.2 Apparecchiature

Gli apparecchi di laboratorio devono essere qualificati. Gli strumenti di laboratorio impiegati in immunoematologia devono sottostare a una manutenzione regolare. Le apparecchiature di laboratorio devono essere controllate secondo le norme interne di garanzia della qualità e i risultati devono essere registrati e archiviati conformemente alle disposizioni in vigore (cfr. § 2.3).

Draft

Tutti gli impianti a controllo termico per prodotti sanguigni (frigoriferi, congelatori, oscillatori per trombociti, scongelatori per PFC) devono essere usati conformemente alle direttive di Swissmedic o delle autorità cantonali.

3.3 Controlli di qualità

3.3.1 Controlli di qualità interni

I controlli di qualità interni devono essere conformi alle seguenti esigenze minime.

- Controllo degli eritrociti-test
  - Per la controprova plasmatica/sierica ABO
    - giornalmente o almeno ad ogni utilizzo
    - controllo degli eritrociti-test con dei sieri/plasma anti-A e anti-B noti
  - Per la ricerca di anticorpi
    - giornalmente o almeno ad ogni utilizzo
    - controllo degli eritrociti-test con un anti-RH1 con titolo debole (concentrazione massima ≤20 ng anti-RH1 /ml (0,1 UI/ml))
- Controllo dei sieri-test
  - Per la determinazione degli antigeni AB/RH1
    - giornalmente o almeno ad ogni utilizzo
    - controllo dei sieri-test con eritrociti con antigeni AB/RH1 noti
  - Per la determinazione del fenotipo RH/KEL1
    - giornalmente o almeno ad ogni utilizzo
    - controllo dei sieri-test con eritrociti con antigeni eterozigoti RH2 (C), RH3 (E), RH4, RH5 (e) e KEL1 (K) noti
  - Per la determinazione di altri antigeni dei gruppi sanguigni
    - giornalmente o almeno ad ogni utilizzo
    - controllo dei sieri-test con almeno una sospensione eritrocitaria negativa e una positiva in forma eterozigote per ogni antigene
- Controllo del risultato della determinazione di un antigene del gruppo sanguigno tramite la tecnica del test all'antiglobulina umana indiretto
  - Per escludere un risultato falsamente positivo in IAT, occorre eseguire in parallelo un test di Coombs diretto (DAT) usando lo stesso metodo di analisi.
- Controllo dei test di Coombs diretti e indiretti (DAT/IAT) in provetta
  - Ogni risultato negativo deve risultare positivo dopo l'aggiunta del reattivo «Coombs control»
- Controllo del DAT
  - Al momento non sono disponibili test commerciali appropriati (p. es. cellule test con debole contenuto di IgG e/o C3d).
- Controllo del test di compatibilità
  - giornalmente o almeno ad ogni esecuzione del test
  - controllo del test di compatibilità con eritrociti RH1 positivi e RH1 negativi e un siero contenente una bassa concentrazione di anti-RH1 (concentrazione massima ≤20 ng anti-RH1 / ml (0,1 UI/ml))
- Controllo delle metodiche di biologia molecolare
  - Il type di controllo dipende dal metodo utilizzato (marchio CE o metodica sviluppata in sede) (cfr. § 11).
- Controllo di ulteriori tecniche o metodiche

Draft

– Se le analisi vengono realizzate con più tecniche/metodi, ognuna di esse deve essere oggetto di un controllo di qualità.

3.3.2 Controlli di qualità esterni

I laboratori che praticano l'immunoematologia devono partecipare 4 volte all'anno ai controlli di qualità esterni per immunoematologia svolti da un laboratorio riconosciuto (vedi QUALAB) per tutte le analisi praticate per le quali è disponibile un CQE.

I laboratori che utilizzano metodi di biologia molecolare devono partecipare 2 volte all'anno ai controlli di qualità esterni (vedi § 11).

Draft

4 Preanalitica

4.1 Prelievo di campioni e identificazione

- Ogni analisi di immunoematologia implica l'utilizzo di un campione di sangue nativo (senza anticoagulante) e/o prelevato in EDTA.
- Si dovrà evitare di prelevare i campioni di sangue da vie venose usate per somministrare medicamenti, perfusioni o trasfusioni (rischio di diluizione). Se questo non fosse possibile, eliminare un sufficiente volume di sangue, prima di effettuare il prelievo, per evitare il rischio di diluizione.
- La persona che effettua il prelievo controlla e conferma che la corretta identificazione del paziente è avvenuta in modo appropriato (firma/visto sulla richiesta di analisi e/o sulle provette, lettura in un sistema di registrazione elettronico, ecc.). Questa informazione deve poter essere verificata dal laboratorio.
- L'etichettatura delle provette deve permettere un'identificazione del paziente senza equivoci, quindi:
  - cognome, nome, data di nascita completa, o
  - numero di identificazione unico del paziente.
- Per ogni campione deve essere specificata la data e l'ora del prelievo (sulla provetta e/o sulla richiesta e/o in base ai dati di laboratorio).
- Se l'etichettatura del campione non è corretta, ma è possibile risalire all'identità del paziente, la decisione di effettuare o meno le analisi spetta al responsabile di laboratorio. Ogni nonconformità deve essere documentata.
- Su campioni non etichettati o non attribuibili non si possono svolgere analisi pretrasfusionali.
- Ogni responsabile di laboratorio deve elaborare un piano di emergenza che garantisca la sicurezza dell'attribuzione al paziente in caso di guasto del sistema informatico.

4.2 Requisiti pretrasfusionali

4.2.1 Gruppo sanguigno ABO/RH1

La trasfusione di CE richiede che siano state effettuate almeno due determinazioni del gruppo sanguigno ABO/RH1 valide e documentate (Type). Se il gruppo ABO/RH1 non è stato mai determinato devono essere eseguite due determinazioni del gruppo complete su due campioni di sangue prelevati indipendentemente l'uno dall'altro, con ogni identificazione eseguita in modo indipendente, per scoprire qualsiasi type di scambio.

- Se è presente solo una determinazione del gruppo (interna o esterna), deve essere eseguita una seconda determinazione completa del gruppo. Le tessere del gruppo sanguigno emesse all'estero devono essere chiaramente leggibili e in seguito convalidate dal responsabile del laboratorio.
- In caso di interventi programmati, si raccomanda di eseguire il primo prelievo prima dell'entrata in ospedale (determinazione del gruppo con ev. ricerca anticorpi) e prelevare il secondo campione solo al momento dell'entrata in ospedale (determinazione del gruppo, ev. ricerca anticorpi).
- In presenza di due determinazioni del gruppo complete e documentate (vedi § 5.1) o di una tessera del gruppo sanguigno valida con due determinazioni, è sufficiente eseguire solo un controllo degli antigeni AB/RH1.
  - Un cosiddetto «Bedside Test» non sostituisce la regolare determinazione del gruppo sanguigno. Eventuali deviazioni dalla procedura sopra descritta (per esempio nelle trasfusioni in urgenza) sono di responsabilità del medico che svolge la trasfusione e devono essere documentate (vedi anche § 9.3).
- Per la trasfusione di PFC si applicano le stesse disposizioni come per CE.
- Per la trasfusione di CT è sufficiente un'unica determinazione.

Draft

4.2.2 Ricerca anticorpi

- Presenza di una RAI valida (screen) o identificazione degli anticorpi:
  - le analisi immunoematologiche possono essere svolte durante il periodo di validità del campione (mass. 96 ore).

4.3 Validità del materiale del campione e risultati delle analisi pretrasfusionali

- Per le analisi pretrasfusionali il campione di sangue deve essere prelevato al massimo 96 ore prima della trasfusione.

Al termine della validità si dovrà eseguire una nuova ricerca anticorpi prima di ogni ulteriore trasfusione, per escludere la presenza di nuovi anticorpi. Esigenze minime: escludere RH (Rh), FY (Fy), JK (Jk), MNS3 (S) e MNS4 (s) con sospensioni eritrocitarie omozigoti (§5.3). In casi eccezionali in cui non è possibile escludere gli anticorpi (ad es. anti-RH8 o anti-KEL3) a causa della mancanza di cellule di test, è possibile selezionare CE antigene compatibile.

- I campioni possono essere conservati in sieroteca di norma tra 2 e 8 °C per 7 giorni. Se il siero viene conservato per più di 7 giorni, deve essere congelato.
- Un campione di sangue del paziente e un campione dei CE trasfusi (p. es. segmentino o sacca) devono essere conservati in laboratorio almeno per 7 giorni.
- Nei pazienti che non hanno ricevuto trasfusioni nei quattro mesi precedenti e al di fuori di una gravidanza, la validità dei risultati di una ricerca anticorpi irregolari negativa può essere prolungata a 21 giorni. Si dovrà allora verificare che:
  - la ricerca anticorpi sia stata eseguita sotto la responsabilità del laboratorio dell'ospedale / della clinica dove il paziente viene trasfuso,
  - il laboratorio sia in possesso, al più tardi al momento della richiesta di sangue, di un documento firmato dal medico responsabile che conferma che il paziente non ha ricevuto trasfusioni dall'ultimo prelievo di sangue e se si tratta di una donna, che essa non sia incinta. In assenza di tale conferma la RAI ha una validità di 96 ore, e un prolungamento della validità a 21 giorni non è conforme alle regole (vedi anche § 5.5).

Draft

5 Analisi immunoematologiche

Questo capitolo riguarda esclusivamente i metodi sierologici. Per la diagnosi molecolare si rimanda a § 11.

5.1 Determinazione dei gruppi sanguigni ABO e RH1

5.1.1 Determinazione completa dei gruppi sanguigni ABO/RH1

La determinazione completa dei gruppi sanguigni ABO/RH1 comprende:

- la determinazione degli antigeni AB sugli eritrociti del paziente e una controprova nel siero/plasma del paziente,
- la determinazione dell'antigene RH1.

Determinazione manuale

- La determinazione degli antigeni AB, la controprova sierica e la determinazione dell'antigene RH1 dovrebbero essere realizzate da due operatori diversi. Se l'analisi è eseguita da una sola persona, la determinazione deve essere ripetuta una seconda volta sullo stesso prelievo (con una nuova sospensione).

Determinazione automatizzata

- Una determinazione automatizzata comporta una determinazione con un apparecchio automatico ed un trasferimento elettronico dei dati nel sistema informatico del laboratorio.
- Se la determinazione degli antigeni AB/RH1 e la controprova sierica (gruppo completo) sono eseguite con un apparecchio automatico è sufficiente un unico test.

5.1.2 Risultati e interpretazione della determinazione del gruppo sanguigno ABO

- I risultati della determinazione del gruppo sanguigno e la loro interpretazione figurano nella tabella 5.1.2. I gruppi sanguigni devono essere documentati nella forma «O», «A», «B» o «AB».
- In caso di divergenze o dubbi, il gruppo sanguigno non può essere interpretato. È necessario procedere a ulteriori indagini (vedi § 11).
- Se la prima determinazione del gruppo sanguigno è stata svolta attraverso la genetica molecolare, la seconda determinazione può essere realizzata in sierologia. Il risultato della determinazione sierologica deve essere compatibile con il risultato della prima determinazione.

Tabella 5.1.2 Risultati dei test e interpretazione della determinazione del gruppo ABO

Agglutinazione degli eritrociti del paziente con i sieri-test			**Agglutinazione degli eritrociti-test con il siero/plasma del paziente**				**Interpretazione**
Anti-A	Anti-B	Anti-AB*	A_1	A_2*	B	O	Gruppo sanguigno
–	–	–	+	+	+	–	O
+	–	+	–	–	+	–	A
–	+	+	+	+	–	–	B
+	+	+	–	–	–	–	AB

* Facoltativo

5.1.3 Risultato e interpretazione della determinazione dell'antigene RH1

- I risultati della determinazione dell'antigene RH1 e la loro interpretazione figurano nella tabella 5.1.3.
- In caso di divergenze o dubbi, l'antigene RH1 non può essere interpretato. È necessario procedere a ulteriori indagini (vedi § 11).

Draft

- Se la prima determinazione dell'antigene RH1 è stata svolta attraverso la genetica molecolare, la seconda determinazione può essere realizzata in sierologia. Il risultato della determinazione sierologica deve essere compatibile con il risultato della prima determinazione.
- Nell'individuazione genotipica degli alleli *RHD*01W.1 (RHD* D weak type 1, RHD*01W.2 (RHD*weak D type 2), RHD*01W.3 (RHD*weak D type 3)* e *RHD*09.04 (RHD*weak D type 4.1, RHD*DAR4)* il paziente è considerato RH1 positivo, tutte le altre varianti di RH1 sono considerate RH1 negative. In mancanza di una chiara evidenza raccomandiamo per il momento di considerare i pazienti con *RHD*09.03.01 (RHD*weak D type 4.0, RHD*DAR3.1)* come RH1 negativi.

Tabella 5.1.3 Risultati dei test e interpretazione della determinazione dell'antigene RH1 (RhD)

Agglutinazione degli eritrociti del paziente con			**Interpretazione RH1 (RhD)**
un primo siero-test anti-RH1	un secondo siero-test anti-RH1	un siero di controllo RH	
positivo	positivo	negativo	positivo
negativo	negativo	negativo	negativo
debolmente pos./indebolito	debolmente pos./indebolito	negativo	RH:W1/RH:P1* (weak D / RhD partial
XX**	XX**	negativo	RH:W1/RH:P1*
neg./pos.	neg./pos.	positivo	indeterminabile, da chiarire

* Raccomandazioni trasfusionali e gravidanza: vedi § 7.1 e § 8.1.2. In circa l'80% dei casi di RH:W1 (weak D) si tratta di *RHD*01W.1, RHD*01W.2* o *RHD*01W.3*

** Risultati discrepanti tra i due antisieri utilizzati

5.1.4 Controllo antigeni AB/RH1

Per il controllo degli antigeni AB/RH1 è sufficiente una determinazione con un siero-test anti-A, anti-B e anti-RH1.

5.1.5 Risultato e interpretazione del controllo antigeni AB/RH1

- I risultati devono concordare con la determinazione completa del gruppo sanguigno documentata.
- In caso di discordanze o dubbio del risultato del controllo antigeni AB/RH1, si dovrà eseguire una determinazione del gruppo completa di ABO e RH1 su un nuovo prelievo.

Osservazione importante: si devono prendere in considerazione tutti gli errori possibili, in particolare uno scambio di provetta e/o paziente (presente o passato). Siccome diversi pazienti potrebbero essere coinvolti simultaneamente, si dovrà procedere con urgenza al chiarimento del caso e rinviare la distribuzione di ulteriori prodotti sanguigni eventualmente interessati.

- Una determinazione sierologica negativa in provetta non è contrastante con un noto risultato (chiarito) di RH:W1 (weak D). Un risultato positivo di una determinazione dell'antigene RH1 non è considerato divergente da un risultato negativo documentato prima del 2012 (variante non differenziata RH:W1/RH:P1 [weak D_/ partial D]).

5.2 Fenotipo RH/KEL1 e fenotipo esteso

5.2.1 Determinazione del fenotipo RH/KEL1 e fenotipo esteso

- La determinazione del fenotipo RH/KEL1 comprende gli antigeni RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e) e KEL1 (K).
- Il fenotipo esteso comprende almeno i seguenti antigeni dei gruppi sanguigni: JK1 (Jk^a), JK2 (Jk^b), FY1 (Fy^a), FY2 (Fy^b), MNS3 (S) e MNS4 (s).

Il requisito minimo è la determinazione con un solo metodo e un solo siero-test.

Draft

5.2.2 Risultato e interpretazione del fenotipo RH/KEL1 (Rh/K) e di altri antigeni dei gruppi sanguigni

- I risultati devono essere chiaramente positivi o negativi.
- In caso di divergenze o dubbi, gli antigeni dei gruppi sanguigni non possono essere interpretati. È necessario procedere a ulteriori indagini (vedi § 11).
- La biologia molecolare può contribuire a determinare i principali antigeni dei gruppi sanguigni nei pazienti trasfusi negli ultimi quattro mesi (vedi § 11).

5.3 Ricerca e identificazione anticorpi

5.3.1 Generalità

- L'eventuale presenza di alloanticorpi anti-eritrocitari (o autoanticorpi) viene evidenziata tramite la ricerca anticorpi nel plasma/siero o nell'eluato del paziente.
- In caso di risultato positivo della ricerca, si dovrà procedere all'identificazione degli eventuali alloanticorpi anti-eritrocitari (o autoanticorpi).
- I metodi utilizzati devono permettere di individuare anticorpi a caldo di type IgG.

5.3.2 Metodi per la ricerca e l'identificazione di anticorpi

- Il metodo di riferimento è il test di Coombs indiretto (IAT) in provetta a 2 fasi con antiglobuline umane mono- o polispecifiche.
- Il plasma/siero del paziente o l'eluato devono essere analizzati a 37 °C con eritrociti-test di gruppo O con modelli di antigeni noti (vedi anche § 3.1.3).
- la sensibilità e la specificità sono verificate tramite un anti-RH1 debole [concentrazione massima di ≤2~~1~~0 ng ~~(0,05 UI)~~ anti-RH1 / ml (0,1 UI/ml)] .
- Non sono obbligatorie ulteriori tecniche d'analisi, come ad esempio la tecnica enzimatica.
- Si raccomanda al laboratorio che esegue l'identificazione degli anticorpi di effettuare almeno un controllo degli antigeni AB/RH1 sul campione usato.

5.3.3 Risultati della ricerca anticorpi

- Se la RAI risulta negativa non sono necessari ulteriori esami.
- Se la RAI risulta positiva è necessario chiarire il motivo del risultato positivo (alloanticorpi, autoanticorpi, anti-CD38, LISS, ecc.).

5.3.4 Identificazione di anticorpi irregolari

- Gli alloanticorpi devono essere identificati, nel limite del possibile, con almeno 2 o ancora meglio 3 cellule positive e 3 cellule negative per gli antigeni corrispondenti.
- La specificità di un alloanticorpo deve essere confermata, se possibile, dimostrando l'assenza dell'antigene corrispondente sugli eritrociti del paziente (eccezione: trasfusioni recenti).
- Gli anticorpi identificati devono essere interpretati in funzione della loro importanza clinica in medicina trasfusionale (vedi § 8.1.3.2) .
- Per gli anticorpi noti, ma non più evidenziabili vedi § 5.5.1 (TC) e § 8.1.3.2 (requisiti minimi per la scelta di CE in presenza di anticorpi). Gli anticorpi non rilevanti per la trasfusione, ad esempio gli anti-Bg, non devono essere confermati o esclusi attivamente (per le gravidanze, vedere § 7.1.6).
- Di regola, gli alloanticorpi di specificità Anti-A1, -H1 (H), -H1(I1) (H[I]), -P1PK1 (P1), -LE1 (Le^a), -LE2 (Le^b), -MNS1 (M) e -MNS2 (N) non sono considerati di importanza clinica se reagiscono unicamente a freddo o nel test enzimatico (risultato negativo in NaCl (test salino) a 37 °C o con risultato negativo in IAT) (vedi § 8.1.3.2).
- Il test enzimatico è un metodo supplementare, usato perlopiù nei laboratori di riferimento. Occasionalmente può portare all'identificazione di anticorpi anti-RH3 (anti-E) o anti-RH8 (anti-C^w) «enzyme only». In questi casi possono venir liberati CE RH/KEL compatibili secondo la regola del T&S (non è necessario testare l'antigene RH8 [C^w]).
- Nei pazienti trasfusi con risultati non chiari in IAT può essere presa in considerazione una eluizione anche in caso di DAT negativo.

Draft

- Per pazienti con autoanticorpi liberi vedi § 9.5.
- Per pazienti in terapia anti-CD38 vedi § 9.9.

5.4 Test di Coombs diretto ed eluizione

5.4.1 Test di Coombs diretto

Il DAT serve a mettere in evidenza anticorpi e fattori del complemento legati in vivo agli eritrociti propri del paziente e/o trasfusi. Il DAT viene svolto preferibilmente con il test di agglutinazione in colonna.

Le indicazioni per un DAT polispecifico sono riportate nella figura 5.4.1.

- In caso di DAT negativo senza segni di emolisi non sono necessarie ulteriori procedure.
- In caso di DAT negativo con segni di emolisi (p. es. LDH, bilirubina totale e aptoglobina) vedi § 5.4.2.
- Se il DAT è positivo ma non indicato non sono necessarie ulteriori indagini. Lo stesso vale anche quando l'anamnesi trasfusionale non è nota. È responsabilità del medico curante informare il laboratorio di un'eventuale pre-trasfusione <14 giorni.
- In caso di risultato positivo si dovrebbe svolgere un DAT monospecifico (IgG/C3d) (vedi fig. 5.4.2). Un DAT monospecifico esteso (IgM/IgA) è raccomandato in presenza di segni di emolisi. Se vi sono segni di emolisi e una prima evidenza di un'unica presenza di C3d nel DAT monospecifico, la diagnosi differenziale dovrebbe prendere in considerazione le agglutinine fredde, anticorpi indotti da farmaci o reazioni emolitiche ritardate dovute ad alloanticorpi.

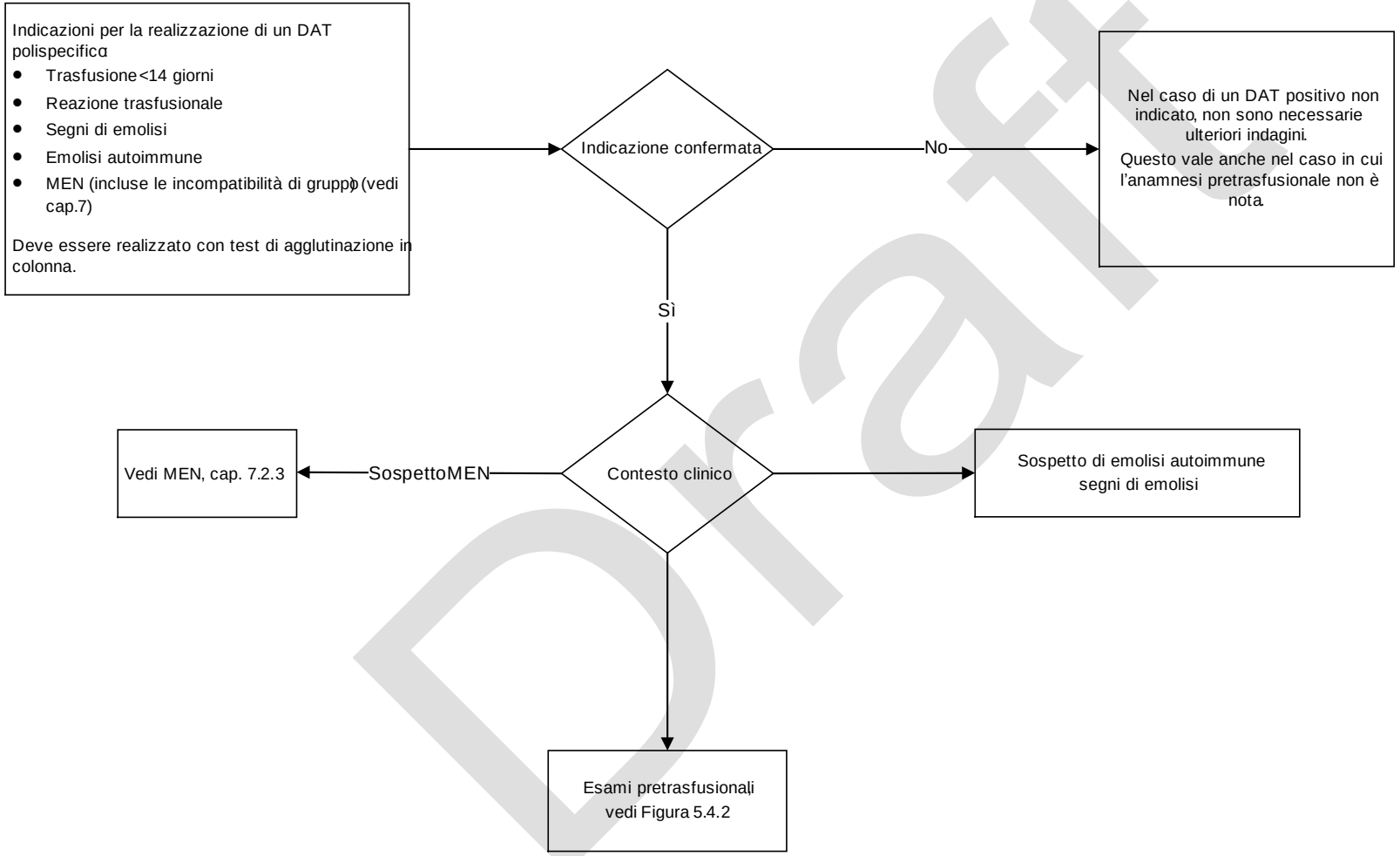
5.4.2 Eluizione

L'eluizione serve a accertare la presenza e individuare gli allo- e/o autoanticorpi legati a eritrociti.

- Le indicazioni per una eluizione sono riportate nella figura 5.4.2.
- Se nell'eluato si evidenziano alloanticorpi di importanza clinica, questi devono essere presi in considerazione (prova di compatibilità e Ag negativo); altrimenti è possibile liberare CE secondo la regola del T&S.
- In presenza di autoanticorpi nell'eluato vedi § 9.5. I motivi per un eluato negativo a fronte di un DAT positivo sono ad esempio l'assunzione di determinati farmaci, diverse malattie, la distruzione di eventuali anticorpi con il metodo dell'eluizione.
- Esistono due studi non pubblicati che indicano che gli alloanticorpi legati a eritrociti presentano preferibilmente un'intensità DAT < a 2+.
- Per aumento significativo si intende una reazione di ≥1+.
- In caso di reazione trasfusionale con segni di emolisi si svolge sempre un'eluizione indipendentemente dal fatto che il DAT polispecifico risulti positivo o negativo. In presenza di segni di emolisi viene svolto sempre un eluato anche se il DAT è negativo.

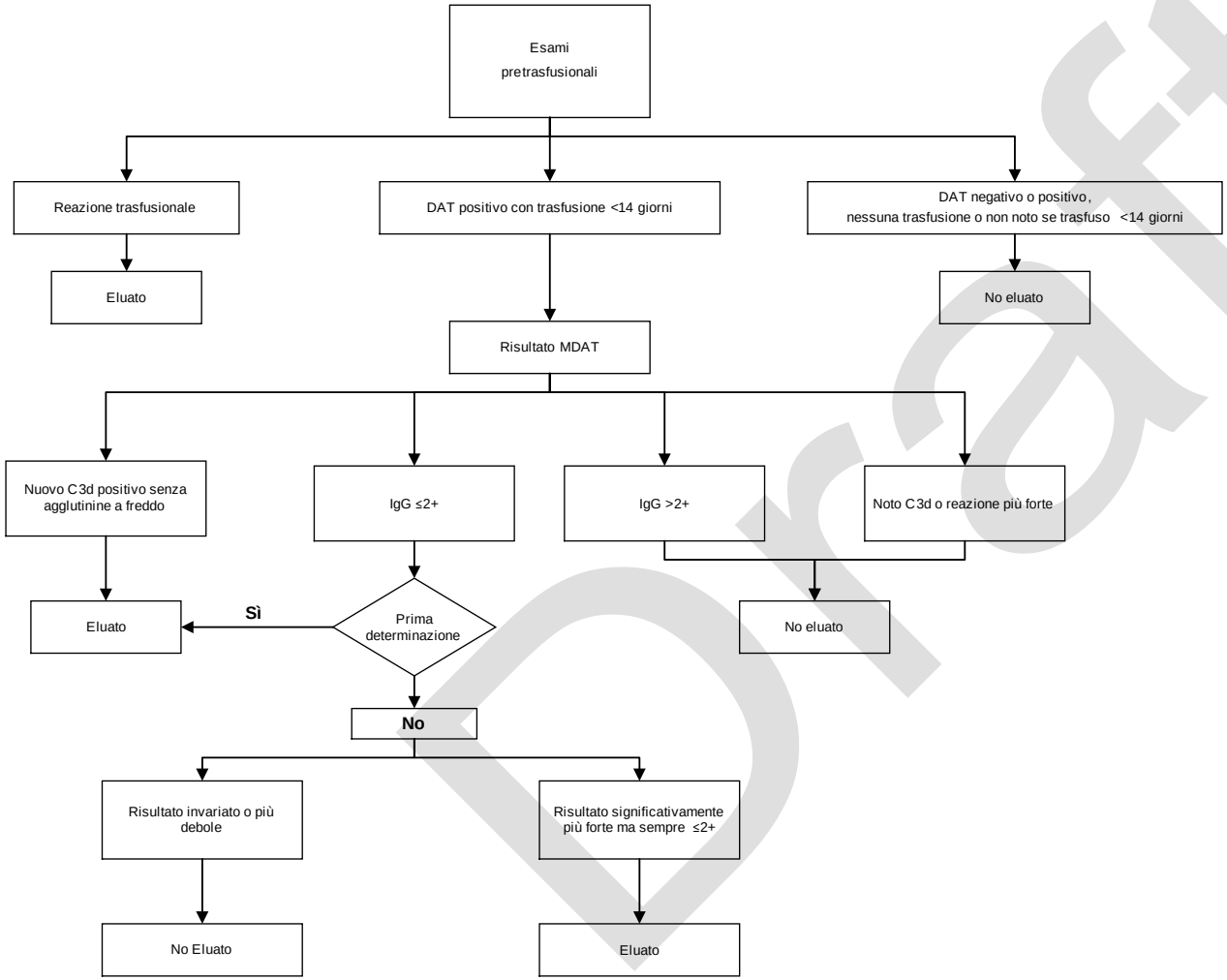
Draft

Figura 5.4.1



Draft

Figura 5.4.2



Draft

5.5 Controllo pre-trasfusionale della compatibilità

Il controllo della compatibilità tra il campione del paziente e i prodotti sanguigni può essere assicurato con il procedimento T&S (metodo standard) o TC.

- Gli antigeni A, B e RH1 devono essere controllati nel CE.
- Il gruppo sanguigno del paziente e quello dei CE devono essere compatibili (vedi § 8.1).
- Se a titolo preventivo si prendono in considerazione le specificità degli antigeni, questi ultimi non devono essere necessariamente controllati nel CE.
- In caso di alloanticorpi di importanza clinica, attualmente evidenziabili o noti, è necessario controllare la negatività degli antigeni sui CE selezionati ed effettuare un TC (vedi tabella 8.1.3.2).
- In presenza di anticorpi contro antigeni a bassa frequenza (anti-privati) il CE può essere liberato tramite TC negativo.
- In caso di dubbio o risultati non chiari, è necessario eseguire un TC.
- Se un anti-RH1 è da ricondurre a una profilassi RHIG e si escludono altri anticorpi di importanza clinica, i CE possono essere liberati secondo la regola del T&S.
- In presenza di un anticorpo anti-RH3 (anti-E) o anti-RH8 (anti-C^w) «enzyme only»", che non è mai stato rilevato nello IAT, i CE RH/KEL1 compatibili possono essere liberati secondo la regola del T&S.

5.5.1 Liberazione di CE per trasfusione

In questo contesto liberazione significa preparare un prodotto sanguigno che soddisfa i criteri di compatibilità immunoematologica per un determinato paziente.

5.5.2 Liberazione mediante T&S

- Condizioni per la liberazione con T&S:
  - determinazione del gruppo sanguigno ABO e dell'antigene RH1 nel campione del paziente (Type),
  - presenza di una RAI negativa valida (Screen),
  - controllo antigeni AB/RH1 dei CE,
  - controllo e documentazione della compatibilità del gruppo AB/RH1 del paziente con il gruppo AB/RH1 dei CE.

5.5.3 Liberazione mediante TC

- Condizioni per la liberazione con TC:
  - determinazione del gruppo sanguigno ABO e dell'antigene RH1 nel campione del paziente,
  - presenza di una RAI valida risp. identificazione degli anticorpi,
  - TC in IAT del siero/plasma del paziente con ogni CE.
  - controllo antigeni AB/RH1 dei CE e controllo della negatività antigenica in presenza di alloanticorpi,
  - controllo della compatibilità:
    - tra il gruppo AB/RH1 del paziente e quello dei CE,
    - di eventuali alloanticorpi individuati nel paziente e l'assenza di antigeni corrispondenti nei CE selezionati.

Se il TC risulta inspiegabilmente positivo, prima della trasfusione si rendono necessarie ulteriori indagini. Se le analisi approfondite non forniscono alcun risultato, occorre informare il medico richiedente sui possibili rischi e le misure preventive.

Draft

5.6 Etichettatura, distribuzione dei concentrati eritrocitari

5.6.1 Etichettatura dei documenti d'accompagnamento

- Le informazioni seguenti devono figurare sull'etichetta del CE liberato per un determinato paziente:
  - cognome, nome e data di nascita completa del ricevente,
  - gruppo sanguigno ABO e antigene RH1 del ricevente,
  - numero di donazione, gruppo sanguigno ABO e antigene RH1 del CE,
  - data di scadenza della trasfusione (rispetto della validità di 96 ore),
  - data e firma/sigla della persona che rilascia i CE.

5.6.2 Distribuzione dei concentrati eritrocitari liberati

In questo contesto distribuzione significa consegna di prodotti sanguigni che soddisfano i criteri per la liberazione.

- Documentazione della data di distribuzione con firma/sigla della persona che ha distribuito il CE.
- In caso di applicazione della regola delle 96 ore di validità, i CE liberati (T&S e TC) devono essere trasfusi al massimo entro le 96 ore dal prelievo (vedi § 4.2.2). La trasfusione deve iniziare entro la scadenza delle 96 ore. Allo scadere di questo termine, si deve nuovamente eseguire un test pre-trasfusionale su un nuovo campione di sangue del paziente prima di ogni ulteriore trasfusione.

5.7 Controllo immunoematologico post-trasfusionale

Dopo trasfusioni omologhe di CE, si raccomanda di verificare anche l'eventuale formazione di nuovi alloanticorpi. Dato che alcuni anticorpi richiedono diverse settimane per essere rilevati e altri, invece, possono rapidamente scendere al di sotto del limite di detezione, tale controllo dovrebbe essere fatto preferibilmente tra 6 e 12 settimane dopo la trasfusione.

Draft

6 Postanalitica

6.1 Registrazione dei risultati

- Registrazione manuale dei risultati
- L'inserimento dei dati deve essere controllato, documentato e firmato da una seconda persona il prima possibile.Registrazione elettronica dei risultati
  - Una validazione della connessione informatica deve dimostrare l'assenza del rischio di errori di trasferimento prima della sua messa in funzione.

6.2 Liberazione/convalida dei risultati

I referti finali possono essere liberati solo dopo la convalida, qualunque sia il metodo impiegato (manuale o automatico).

Liberazione significa convalida e trasmissione del risultato al prescrivente (richiedente).

- I risultati vengono convalidati dal responsabile del laboratorio (firma manuale o elettronica). La delega della responsabilità deve essere stabilita in direttive interne documentate.
- Ogni laboratorio stabilisce la propria politica di convalida medica per garantire che non vengano omessi dei risultati rilevanti che potrebbero compromettere la sicurezza del paziente.

6.3 Trasmissione dei risultati

L'uso della nomenclatura internazionale (ISBT) è da perseguire a lungo termine.

6.3.1 Rapporto

Il rapporto di analisi deve contenere i seguenti dati:

- nome e indirizzo del laboratorio,
- numero del campione,
- cognome, nome e data di nascita del paziente,
- data del prelievo del campione,
- data delle analisi svolte,
- risultati delle analisi,
- gli anticorpi non più evidenziabili devono essere anch'essi segnalati nel rapporto,
- interpretazione e valutazione delle analisi,
- data e firma/visto della persona responsabile della convalida (o alternativa elettronica) o del suo sostituto,
- è auspicabile specificare i metodi utilizzati.

6.3.2 Tessera del gruppo sanguigno

- Esigenze minime per la tessera del gruppo sanguigno:
  - cognome, nome, data di nascita completa,
  - gruppo sanguigno ABO e RH1, comprese indicazioni su eventuali varianti RH1,
  - data e firma/visto (o alternativa elettronica),
  - alloanticorpi eritrocitari evidenziati,
  - la tessera del gruppo sanguigno è valida solamente dopo l'esecuzione della seconda determinazione del gruppo sanguigno (vedi § 4.2.1). Questa indicazione deve essere stampata chiaramente sulla tessera del gruppo sanguigno.
- Esigenze complementari per la tessera del gruppo sanguigno:
  - fenotipo RH/KEL1 e altri antigeni del gruppo sanguigno, se noti e se il sistema informatico lo permette,
  - raccomandazioni trasfusionali se necessarie.
- Il responsabile del laboratorio, il suo sostituto o una persona autorizzata (medico assistente, tecnico in analisi biomediche (TAB), ecc.) emette la tessera del gruppo sanguigno con la sua firma.

Draft

7 Gravidanza e pediatria

7.1 Assistenza immunoematologica durante la gravidanza

7.1.1 Controllo tra la 8ª e la 16ª settimana di gravidanza

- Determinazione ABO
- Determinazione antigene RH1
- Determinazione fenotipo RH/KEL1
- RAI

7.1.2 Controllo nella 28ª settimana di gravidanza

Nella 28ª SG viene svolta una nuova RAI, tenendo presente che nella letteratura l'evidenza per le donne in gravidanza RH1 positive è piuttosto scarsa. Nelle donne in gravidanza RH1 negative il prelievo del sangue deve avvenire prima della profilassi RHIG.

7.1.3 Donne in gravidanza con varianti RH1

Per pazienti con antigene RH1 debole determinato con metodi sierologici (vedi § 5.1.3) è opportuna una determinazione in biologia molecolare del genotipo esatto (vedi § 11).

7.1.4 Determinazione fetale *RHD* da sangue materno

Dalla 18ª SG, se la donna in gravidanza è RH1 negativa, si raccomanda una genotipizzazione *RHD* fetale dal sangue materno. Questo test serve a decidere se è indicata una profilassi RHIG. In questo test occorre rispettare rigorosamente le condizioni preanalitiche (è essenziale rivolgersi previamente al laboratorio competente) (vedi § 11).

Nota bene: se la donna in gravidanza presenta una variante RH1 non è possibile la determinazione fetale *RHD.* L'analisi non è stata convalidata per le gravidanze gemellari.

7.1.5 Profilassi con immunoglobulina RH

- La profilassi RHIG è raccomandata per donne in gravidanza RH1 negative.
- *RHD*01W.1 (RHD*weak D type 1), RHD*01W.2 (RHD*weak D type 2), RHD*01W.3 (RHD*weak D type 3)* e *RHD*09.04 (RHD*weak D type 4.1)* sono considerate RH1 positive e non necessitano di una profilassi RHIG.
- Tutte le altre varianti RH1 sono considerate RH1 negative; in questo caso è consigliata la profilassi RHIG (vedi tabella 7.1.5).
- In mancanza di una chiara evidenza raccomandiamo per il momento di considerare le pazienti con *RHD*09.03.01 (RHD*weak D type 4.0, RHD*DAR3.1)* come RH1 negative.

L'iniezione della profilassi RHIG ha lo scopo di evitare l'immunizzazione materna contro il RH1 del feto. La profilassi RHIG è raccomandata intorno alla 28ª SG se il feto è RHD1-positivo o non noto nonché in caso di complicanze durante la gravidanza (per informazioni più precise rimandiamo all'opinione degli esperti n. 68).

Dopo la nascita di un bambino RH1 positivo è necessario somministrare una profilassi RHIG postpartum entro le 72 ore.

Draft

Tabella 7.1.5 Profilassi RHIG e varianti RH1

Fenotipo RH1	Genotipo	Profilassi RHIG in gravidanza
RH:–1 (RhD negativo)	NA	sì, se il risultato della determinazione fetale *RHD* è positiva o non nota
RH:W1/RH:P1	non noto	sì, finché non è noto il risultato PCR
RH:W1/RH:P1	*RHD*01W.1/.2/.3 (RHD*weak D type 1/2/3),* o *RHD*09.04 (RHD*weak D type 4.1)*	no
RH:W1/RH:P1	diverso da *RHD*01W.1/.2/.3 (RHD*weak D type 1/2/3),* o *RHD*09.04 (RHD*weak D type 4.1)*	sì

7.1.6 Alloanticorpi in gravidanza

- Quando si ottiene un risultato positivo della RAI, proseguire con l'identificazione degli alloanticorpi (vedi § 5.3).
- Se vengono individuati alloanticorpi rilevanti per la gravidanza, si raccomanda di analizzare la presenza dell'antigene corrispondente nel padre biologico del bambino.
- Se gli alloanticorpi identificati sono di importanza clinica per la gravidanza, si raccomanda di monitorare regolarmente il titolo degli alloanticorpi nel corso della gravidanza.
- Un anticorpo clinicamente irrilevante, come l'anti-Bg, non deve essere ricercato attivamente o escluso.
- La titolazione deve sempre essere eseguita con il medesimo metodo e, se possibile, dallo stesso laboratorio in parallelo con il campione prelevato precedentemente e conservato in sieroteca. Si raccomanda di indicare il titolo con un numero intero (p. es. titolo 2, 4, 8, ecc.).
- Si raccomanda di conservare i campioni congelati in sieroteca fino al termine della gravidanza.
- Ogni anti-RH1 evidenziato deve essere confrontato con il contesto clinico perché nell'analisi non è possibile distinguere tra immunizzazione passiva e attiva.

7.2 Analisi sul neonato e sul bambino fino a quattro mesi

7.2.1 Campioni di sangue

- I seguenti campioni possono essere usati per la determinazione del gruppo sanguigno e il DAT del neonato:
  - sangue del cordone,
  - sangue capillare o venoso.
- Se i risultati ottenuti con il sangue del cordone sono dubbi, occorre lavare gli eritrociti più volte con una soluzione fisiologica tamponata oppure ripetere la determinazione su un prelievo capillare o venoso. Se il problema persiste, inviare il campione ad un laboratorio di riferimento.

7.2.2 Determinazione del gruppo sanguigno ABO e antigene RH1

- Eseguire unicamente la determinazione degli antigeni del gruppo ABO/RH1 sugli eritrociti in quanto la controprova sierica/plasmatica non è interpretabile.
- La prima determinazione degli antigeni ABO e RH1 deve essere realizzata con due reattivi diversi (con una doppia determinazione i cui reattivi abbiano almeno un clone diverso). Se il risultato è debolmente positivo si dovrà eseguire un DAT per escludere un falso positivo.
- Uno dei due sieri-test RH1 deve poter identificare la variante *RHD*06 (RHD*DVI).*

Draft

- Il sangue del cordone può essere usato unicamente per una prima determinazione del gruppo sanguigno. I risultati devono essere inequivocabili.
- Non si potrà emettere una tessera di gruppo sanguigno.

7.2.3 Test di Coombs diretto

- Nel caso di sospetto di una malattia emolitica neonatale (MEN) o di trasfusione, occorre effettuare un DAT.
- Se il risultato mostra una positività ≥2+ e/o segni di emolisi, occorre eseguire un'eluizione per identificare la specificità dell'anticorpo.
- Se non sono rilevabili anticorpi nella RAI della madre (e non sono presenti anticorpi con specificità anti-A/-B nell'eluato del bambino) si può prendere in considerazione un TC con il siero/plasma della madre e gli eritrociti del bambino o del padre per escludere la presenza di un anticorpo contro un antigene a bassa frequenza ("anti-privato") (attenzione all'incompatibilità ABO!).
- Se si sospetta un MEN dovuto a un'incompatibilità ABO tra madre e figlio, l'eluato deve essere effettuato con l'aggiunta di almeno una cellula test A o B .

7.2.4 Indagini pretrasfusionali

- Le analisi vengono eseguite con sangue materno e con sangue del bambino:
  - analisi con sangue materno: ABO/RH1 e RAI,
  - analisi con sangue del bambino: ABO/RH1 e DAT,
  - se non è disponibile sangue materno e il risultato del DAT è positivo, si potrebbe eseguire in via eccezionale anche un'eluizione su sangue del bambino o idealmente una RAI.

7.2.5 Risultati

- Il rilevamento dell'anti-RH1 nel bambino deve essere interpretato nel contesto clinico (immunizzazione passiva o attiva della madre).
- La determinazione degli antigeni A e B può risultare debolmente positiva.
- Una presenza importante di anticorpi di origine materna sugli eritrociti del neonato può negativizzare la reazione di agglutinazione. Questo deve essere controllato tramite l'esecuzione di un DAT e la plausibilità del risultato deve essere verificata nel contesto clinico.
- La determinazione sierologica o fenotipo esteso del gruppo ABO/RH1 in un prematuro o in un neonato dopo trasfusione intrauterina può dare risultati non corretti.

7.3 Analisi nel bambino dai quattro mesi

- Le analisi immunoematologiche e l'interpretazione dei risultati sono identiche a quelle dell'adulto.
- Si può emettere una tessera di gruppo sanguigno a condizione che:
  - sia stata svolta una determinazione completa degli antigeni AB/RH1 e una controprova sierica, e l'interpretazione dei risultati corrisponda alla tabella 5.1.1,
  - nel caso in cui le isoagglutinine o una determinazione completa del gruppo ABO non siano concludenti, può essere eseguito come alternativa un PCR (trasfusione: vedi § 7.4.3, indagine PCR: vedi § 11).

7.4 Trasfusioni nel bambino

7.4.1 Trasfusione intrauterina

Le indagini immunoematologiche e la preparazione di sangue per le trasfusioni intrauterine devono essere svolte da un laboratorio specializzato.

In situazioni normali per la trasfusione di CE valgono le seguenti regole.

- Somministrare CE di gruppo O.

Draft

- Gli antigeni RH1 e del fenotipo RH/KEL1 devono essere compatibili con il sangue materno. Dovrebbero essere presi in considerazione anche altri antigeni della madre (JK1 [Jk^a], JK2 [Jk^b], FY1 [Fy^a], FY2 [Fy^b], MNS3 [S], MNS4 [s]).
- Devono essere trasfusi CE compatibili con eventuali alloanticorpi presenti nel sangue materno e negativi nel test di compatibilità.
- Nel caso di trasfusioni intrauterine devono essere somministrati CE irradiati e iperconcentrati (ematocrito 70-85%).
- Utilizzare CE con un corto periodo di conservazione (ideale non più vecchi di 5 giorni).

7.4.2 Trasfusione nei prematuri, nei neonati e bambini fino a 4 mesi

Valgono le seguenti regole.

- I CE devono essere compatibili con il gruppo ABO della madre e del bambino.
- Prima della prima trasfusione deve essere realizzato un controllo AB/RH1 su un secondo campione. In questo modo si può procedere in sicurezza alla trasfusione con gruppo sanguigno e RH1 identico. Se ciò non fosse possibile si devono somministrare CE di gruppo O.
- In assenza di anticorpi anti-RH1 materni, la trasfusione di CE deve essere compatibile con il risultato RH1 del bambino.
- In assenza di anticorpi materni e con DAT negativo del bambino, possono essere trasfusi CE secondo la regola del T&S. In questo caso il T&S può essere prolungato fino alla fine del 4° mese di vita del bambino senza ulteriori indagini pretrasfusionali.
- In presenza di anticorpi materni e/o DAT positivo nel neonato, dopo identificazione degli anticorpi procedere nel modo seguente:
  - alla prima trasfusione eseguire il TC con CE antigene-negativo e siero/plasma materno,
  - in caso di ulteriori trasfusioni eseguire il TC con CE antigene-negativo e siero/plasma materno fino alla fine del 4° mese. In alternativa il TC può essere eseguito con siero/plasma del bambino. Se necessario, il siero materno con alloanticorpi può essere congelato per eseguire il CT con CE antigene-negativo..
- Nel caso in cui il DAT del bambino e/o la ricerca anticorpi positiva della mamma confermino senza dubbio la somministrazione di profilassi RHIG (immunizzazione passiva), è possibile rinunciare ad ulteriori T&S fino alla fine del 4° mese di vita (vedi quarto punto dell'elenco). Ulteriori alloanticorpi materni devono essere esclusi nell'identificazione .
- L'indicazione dell'irradiazione dei CE dipende dall'età del bambino e dal contesto clinico ed è di competenza del medico responsabile .
- Utilizzare CE con un corto periodo di conservazione, ideale non più vecchi di 5 giorni. Nel caso di trasfusione di prodotti più vecchi di 5 giorni la situazione clinica deve essere precedentemente discussa con il medico responsabile, per evitare complicazioni come il rischio di ipercaliemia.
- Per trasfusioni di PFC selezionare unità di gruppo AB.

7.4.3 Trasfusione nei bambini (dai 5 ai 12 mesi)

Valgono le seguenti regole.

- Nei bambini sopra i 4 mesi nei quali le isoagglutinine sono ancora assenti e una determinazione completa del gruppo sanguigno ABO non è possibile, si possono trasfondere CE di gruppo ABO/RH1 identico e plasma di gruppo AB. Considerare se procedere all'esecuzione di un PCR ABO (vedi § 11).

7.4.4 Exanguinotrasfusioni vedi § 9.2

Draft

8 Scelta del gruppo sanguigno dei prodotti sanguigni labili

8.1 Scelta del gruppo sanguigno dei CE

Il laboratorio, nel limite del possibile, è responsabile della trasfusione di concentrati di globuli rossi ABO e RH1 identici.

Attenzione: questa procedura è necessaria per evitare che i pazienti, soprattutto quelli con gruppo sanguigno O RH1 negativo o alloimmunizzati, siano svantaggiati a causa della mancanza di CE compatibili.

8.1.1 Scelta del gruppo ABO

- Il gruppo ABO dei CE da trasfondere deve essere possibilmente identico a quello del paziente.
- La distribuzione di CE di gruppo ABO non identico senza particolari situazioni mediche giustificabili e/o per problemi di approvvigionamento deve essere evitata e deve tuttavia rimanere un'eccezione.
- In caso di carenza di CE dello stesso gruppo ABO o se il paziente presenta degli alloanticorpi, è possibile trasfondere dei CE ABO compatibili.
- Dopo una trasfusione di CE di gruppo ABO non identico si deve ritornare a CE di gruppo ABO identico conformemente allo stato attuale della scienza e della tecnica medica non appena è possibile da un punto di vista medico e in base all'approvvigionamento di sangue. In caso di trasfusioni di massa vedi § 9.4.

Tabella 8.1.1 Regole di compatibilità ABO

Gruppo sanguigno del paziente	Gruppo sanguigno dei CE
O	O
A	A e O
B	B e O
AB	AB, A, B e O

8.1.2 Scelta dell'antigene RH1

- Pazienti con un stato antigene RH1 normale (positivo o negativo).
  - Normalmente il paziente viene trasfuso con dei CE RH1 identici, ciò vale soprattutto per le donne di età inferiore a 50 anni. In caso di carenza di CE RH1 identici è possibile trasfondere CE RH1 negativi a pazienti RH1 positivi. Questa situazione deve tuttavia rimanere un'eccezione. Il richiedente deve essere informato della situazione.
  - La trasfusione di CE RH1 positivi a pazienti RH1 negativi è possibile in determinate situazioni (vedi § 9.4.2). Un cambiamento del gruppo sanguigno RH1 deve essere considerato come una trasfusione non corretta e deve essere notificato (Emovigilanza).
- Pazienti con RH1 debole determinato con metodi sierologici
  - Senza indagini di genetica molecolare
    - Uomini e donne >50 anni possono essere trasfusi con CE RH1 positivi, a patto che non siano presenti alloanticorpi anti-RH1.
    - Le bambine e le donne fino a 50 anni devono essere trasfuse con dei CE RH1 negativi.
  - Dopo indagini di genetica molecolare
    - In presenza degli alleli *RHD*01W.1 (RHD*weak D type 1), RHD*01W.2 (RHD*weak D type 2), RHD*01W.3 (RHD*weak D type 3)* o *RHD*09.04 (RHD*weak D type 4.1)* si utilizzeranno CE RH1 positivi; ciò vale anche per le donne al di sotto di 50 anni.

Draft

- Per tutte le altre varianti RH1 si utilizzeranno CE RH1 negativi.
- In mancanza di una chiara evidenza raccomandiamo per il momento di considerare i pazienti con *RHD*09.03.01 (RHD*weak D type 4.0, RHD*DAR3.1)* come RH1 negativi.

Draft

Tabella 8.1.2 Selezione dell'antigene RH1

Fenotipo RH1	Genotipo	Trasfusioni donne <50	Trasfusioni donne ≥50 o uomini
RH:–1	NA	RH1 neg.	RH1 neg.
RH:W1/RH:P1	non noto	RH1 neg., finché non è noto il risultato PCR	RH1 pos.*, finché non è noto il risultato PCR
RH:W1/RH:P1	*RHD*01W.1/.2/.3 (RHD*weak D type 1/2/3)* o *RHD*09.04 (RHD*weak D type 4.1)*	RH1 pos.	RH1 pos.
RH:W1/RH:P1	diverso da *RHD*01W.1/.2/.3 (RHD*weak D type 1/2/3)* o *RHD*09.04 (RHD*weak D type 4.1)*	RH1 neg.	RH1 neg.

* Trasfondere RH1 neg. se si è certi della presenza di RH:P1 (RhD partial)

8.1.3 Scelta di altri antigeni di gruppo sanguigno

8.1.3.1 Presenza di alloanticorpi

- Se sono stati identificati degli alloanticorpi di importanza trasfusionale si dovranno trasfondere dei CE privi degli antigeni corrispondenti. I CE devono essere negativi. Questo vale anche per anticorpi di importanza clinica noti, ma non più identificabili.
- Dopo l'identificazione di un primo alloanticorpo, si raccomanda di eseguire una tipizzazione più estesa degli antigeni (KEL1 [K], KEL2 [k], JK1 [Jk^a], JK2 [Jk^b], FY1 [Fy^a], FY2 [Fy^b], MNS3 [S] e MNS4 [s]) allo scopo di prevenire altre immunizzazioni, e trasfondere se possibile dei prodotti compatibili. Nei pazienti recentemente trasfusi è consigliabile eseguire la genotipizzazione (vedi § 11).

8.1.3.2 Requisiti minimi per la scelta di CE in presenza di anticorpi

- Se l'anticorpo non è menzionato nella tabella seguente, si raccomanda di rivolgersi al laboratorio di riferimento.

Draft

	Mezzo di reazione				
Anticorpi	**NaCl**	**Solo enzima («enzyme only»)**	**ID/IAT**	**AC non più identificabili**	**Fenotipo RH/KEL1 compatibile**
ABO					
Anti-A1	T&S	T&S	Ag neg. e TC neg.	T&S	♀ <50 anni
RH					
Profilassi RHIG	NA	T&S	T&S	T&S	♀ <50 anni
Altri AC anti-RH**	Ag neg. e TC neg.	Ag neg. e TC neg.	Ag neg. e TC neg.	Ag neg e TC neg	Sì
KEL					
Tutti AC KEL (Kell)	Ag neg. e TC neg.	Ag neg. e TC neg.	Ag neg. e TC neg.	Ag neg e TC neg	Sì
JK					
Tutti AC JK (Kidd)	Ag neg. e TC neg.	Ag neg. e TC neg.	Ag neg. e TC neg.	Ag neg e TC neg	Sì
FY					
Tutti AC FY (Duffy)	Ag neg. e TC neg.	NA	Ag neg. e TC neg.	Ag neg e TC neg	Sì
MNS					
Anti-MNS1 (anti-M), anti-MNS2 (anti-N)	T&S	NA	Ag neg. e TC neg.	T&S	♀ <50 anni
Anti-MNS3 (anti-S), anti-MNS4 (anti-s), anti-MNS5 (anti-U)	Ag neg. e TC neg.	Ag neg. e TC neg.	Ag neg. e TC neg.	Ag neg e TC neg	Sì
LE					
Anti-LE1 (anti-Le^a), anti-LE2 (anti-Le^b)	T&S	T&S	TC neg.	T&S	♀ <50 anni
P1PK					
Anti-P1PK1 (anti-P1)	T&S	T&S	TC neg.	T&S	♀ <50 anni
LU					
Anti-LU1 (anti-Lu^a)	T&S	NA	TC neg.	T&S	♀ <50 anni
Anti-LU2 (anti-Lu^b)	Ag neg. e TC neg.	NA	Ag neg. e TC neg.	Ag neg e TC neg	Sì
DI					
Anti-DI3 (anti-Wr^a)	T&S	T&S	Ag neg. TC neg. / T&S	T&S	♀ <50 anni
CO					
Anti-CO1 (anti-Co^a)	Ag neg. e TC neg.	Ag neg. e TC neg.	Ag neg. e TC neg.	Ag neg e TC neg	Sì
Anti-CO2 (anti-Co^b)	Ag neg. e TC neg.	Ag neg. e TC neg.	TC neg.	Ag neg e TC neg	Sì
YT					
Anti-YT1 (anti-Yt^a)	T&S	NA	Ag neg. e TC neg.	Ag neg e TC neg	Sì
Anti-YT2 (anti-Yt^b)	T&S	NA	TC neg.	T&S	♀ <50 anni
Altri AC					
Anti-HLA	NA	NA	T&S	T&S	♀ <50 anni
Anti-HTLA	NA	NA	T&S	T&S	♀ <50 anni
Anti-H1I1 (anti-HI)	T&S	T&S	Ag neg. e TC neg.*	T&S	♀ <50 anni
Anti-I1 (anti-I)	T&S	T&S	T&S	T&S	♀ <50 anni
Auto-AC in IAT	NA	NA	T&S	T&S	Sì
AC contro la soluzione stabilizzatrice	T&S	T&S	T&S	T&S	♀ <50 anni

* Sangue di gruppo ABO identico

** Per AC anti-RH3 (anti-E) e anti-RH8 (anti-C^w) «enzyme only»: vedi § 5.3.4 e § 5.5

Draft

Abbreviazioni

- Ag neg. e TC neg.: trasfondere CE antigene-negativo per l'anticorpo identificato e con test di compatibilità negativo
- TC neg. (solo): trasfondere CE con test di compatibilità negativo senza conferma di negatività dell'antigene
- T&S: trasfusione CE secondo la regola del Type & Screen
- ♀ <50 anni: donne in età compresa tra 0 e 50 anni

8.1.3.3 Altre indicazioni per la scelta di CE feno-/genotipizzati

- Viene raccomandato di trasfondere dei CE compatibili con fenotipo RH/KEL1 nei seguenti casi:
  - nelle bambine e nelle donne fino a 50 anni,
  - in caso di autoimmunizzazioni anti-eritrocitarie. Se la determinazione del fenotipo con metodi sierologici non è possibile, si deve prendere in considerazione una genotipizzazione RH/KEL1 (vedi § 11); per anticorpi liberi vedi § 9.5,
  - per i pazienti trasfusi cronicamente (es.: emoglobinopatie come la drepanocitosi o la talassemia), si raccomanda di trasfondere se possibile dei CE compatibili con fenotipo RH/KEL1 e se possibile JK1 (Jk^a), JK2 (Jk^b), FY1 (Fy^a), FY2 (Fy^b), MNS3 (S) e MNS4 (s).

Nota bene

- Nel caso di trasfusioni profilattiche antigene-compatibili si può rinunciare alla verifica sierologica della negatività degliantigeni coinvolti.
- Questo procedere è raccomandato quale misura preventiva. La misura non deve penalizzare pazienti con anticorpi irregolari. Ciò significa che sangue RH4 (c) o RH5 (e) negativo non deve essere distribuito illimitatamente per trasfusioni antigene-compatibili a titolo preventivo.
- Il trattamento preventivo con antigeni RH/KEL1 non è fortemente raccomandato per bambine di meno di 4 mesi, poiché il rischio di un'alloimmunizzazione è considerato molto basso nella letteratura.

8.2 Scelta del gruppo sanguigno ABO del plasma fresco congelato

Le seguenti raccomandazioni si applicano ad adulti e bambini di età superiore a 5 mesi.

- Come regola generale il paziente deve essere trasfuso con dei PFC isogruppo ABO.
- Non è necessario rispettare l'antigene RH1.
- In caso di carenza di PFC ABO isogruppo è possibile trasfondere dei PFC di gruppo ABO compatibile (vedi tabella 8.2).

Tabella 8.2 Regole di compatibilità per i PFC

Gruppo sanguigno del paziente	Gruppo sanguigno del PFC
O	O, A, B e AB
A	A e AB
B	B e AB
AB	AB

La distribuzione di PFC di gruppo ABO compatibile non isogruppo deve rimanere un'eccezione. Il richiedente deve essere informato della situazione.

8.3 Scelta del gruppo sanguigno ABO/RH1 dei concentrati di trombociti

- Le seguenti raccomandazioni si applicano ad adulti e bambini
  - La scelta del gruppo sanguigno ABO e dell'antigene RH1 di un CT dipende dal gruppo sanguigno ABO/RH1 del ricevente e dalla disponibilità dei prodotti.

Draft

- In caso di trasfusione di CT RH1 positivi in un paziente RH1 negativo, dovrebbe essere considerata la somministrazione di una profilassi RHIG nelle bambine e donne <50, siccome esiste un rischio di sensibilizzazione.Sembra che questo sia maggiore con CT da pool rispetto a CT da aferesi. L'indicazione per la somministrazione di una profilassi RHIG deve essere valutata caso per caso, in rapporto al rischio di immunizzazione nella situazione specifica.
- È sufficiente una sola determinazione del gruppo sanguigno (in situazioni d'urgenza possono venire trasfusi CT anche senza determinazione del gruppo sanguigno ABO).
- Nel caso di trasfusione di CT inattivati dai patogeni con Intercept (basato su Amotosalene) non è richiesta l'irradiazione quale profilassi per Graft versus Host Disease (in futuro si potranno eventualmente considerare altre procedure se autorizzate).

8.4 Scelta del gruppo sanguigno ABO/RH1 in situazioni particolari

Per la trasfusione neonatale e intrauterina si rimanda ai rispettivi paragrafi nel capitolo 7. Per la trasfusione di massa, l'exanguinotrasfusione e la trasfusione in urgenza vedi capitolo 9.

Draft

9 Procedura e scelta dei prodotti sanguigni in situazioni cliniche particolari

9.1 Trasfusione autologa

Per evitare errori di scambio, devono essere eseguiti i medesimi test pretrasfusionali come per trasfusioni omologhe (§5 e 7)

9.2 Exanguinotrasfusioni

Le indagini immunoematologiche e la preparazione del sangue per le exanguinotrasfusioni devono essere svolte da un laboratorio specializzato.

Per le exanguinotrasfusioni si applicano le raccomandazioni trasfusionali secondo § 7.4.2, 7.4.3, 8 e 9.7.

Quando viene prodotto un nuovo emoderivato (p. es. CE e PFC) è necessario determinare il valore ematocrito e comunicarlo al richiedente.

9.3 Trasfusione in urgenza

Il capitolo riguarda ogni situazione che non permette di completare i test pretrasfusionali per tempo. Le condizioni e le responsabilità in situazioni di urgenza devono essere previamente regolamentate e documentate all'interno dell'istituto).

In linea di principio anche per le trasfusioni in urgenza dovrebbero, nel limite del possibile, essere trasfusi componenti sanguigni di gruppo identico tenendo conto in ogni caso degli anticorpi noti. Sempre se possibile si dovrebbe effettuare un prelievo di sangue prima dell'avvio di trasfusioni/infusioni.

9.3.1 Scelta del gruppo ABO e RH1 nelle trasfusioni in urgenza

- Determinazione del gruppo sanguigno non nota (senza T&S, TC e indagini DAT): si devono somministrare CE di gruppo O e plasma di gruppo AB (vedi § 9.4 «Trasfusione massiccia»).
- Presenza di una sola determinazione del gruppo (provetta o tessera del gruppo sanguigno): si possono somministrare CE di gruppo O, RH1 identico.
- Presenza di due determinazioni del gruppo, di cui almeno una da un prelievo che risale a meno di 96 ore prima (senza RAI): se i risultati non danno adito a dubbi, è da subito possibile tornare al gruppo sanguigno del paziente (attenzione: in un contesto di trasfusioni in urgenza è possibile che il gruppo sanguigno sia di difficile interpretazione a causa di campo misto e diluizione).

9.3.2 Altri test pretrasfusionali

- Di seguito eseguire subito una RAI e se necessario un DAT sul campione di sangue utilizzato per i test pretrasfusionali.
- Il medico responsabile della trasfusione deve essere informato immediatamente in caso di trasfusione incompatibile ancedente. Anche per eventuali ulteriori trasfusioni incompatibili deve decidere il medico competente. In caso di autoanticorpi caldi vedi § 9.5.

9.4 Trasfusione massiccia

9.4.1 Generalità

- In un adulto la trasfusione massiccia è definita come la somministrazione di più di 4 CE in un'ora o come la sostituzione di oltre il 50% del sangue nell'arco di 3 ore o la sostituzione completa del volume sanguigno nelle 24 ore.
- Non appena il protocollo di trasfusione massiccia non è più necessario, tornare ad applicare le regole per le analisi pretrasfusionali come da § 5.
  - Nel caso in cui i test pretrasfusionali non possono essere completati, seguire cap. «Trasfusione in urgenza» § 9.3.
  - Durante una trasfusione massiccia, in presenza di alloanticorpi si dovrebbero eseguire i TC possibilmente con un campione di sangue prelevato prima dell'inizio della trasfusione.

Draft

9.4.2 Scelta del gruppo sanguigno ABO/RH1 in caso di trasfusione massiccia

Appena sono disponibili i risultati del gruppo sanguigno ABO, RH1 e RAI procedere come segue:

- se il gruppo ABO dei CE trasfusi non è identico ma compatibile con quello del paziente, è possibile ritornare in qualsiasi momento a prodotti dello stesso gruppo sanguigno del paziente. Il principio descritto in § 8.1.1 si applica anche in questo caso.
- in caso di trasfusioni massicce, in accordo con il medico prescrivente e le procedure interne, si possono distribuire in via eccezionale delle unità di gruppo RH1 positivo a un paziente di gruppo RH1 negativo (o RH1 non noto).
  - Le condizioni sono le seguenti:
    - difficoltà nel coprire il possibile bisogno di CE di gruppo RH1 negativo,
    - nel paziente non sono stati rilevati o non sono noti anticorpi anti-RH1,
    - il paziente è un uomo oppure una donna di età superiore a 50 anni.
  - Appena l'emorragia acuta è sotto controllo, si deve ritornare al più presto possibile a trasfondere CE di gruppo RH1 negativo. In caso di ripetute trasfusioni di CE di gruppo RH1 positivo si dovrebbe escludere un'alloimmunizzazione o un Booster al più tardi dopo 96 ore. Tra le 6 e 12 settimane dopo la trasfusione incompatibile si dovrebbe eseguire una RAI (vedi § 5.3).
  - Si deve assolutamente evitare di trasfondere CE di gruppo RH1 positivo nelle bambine e donne fino a 50 anni di gruppo RH1 negativo (vedi anche § 8.1.2).

9.5 Anemia emolitica autoimmune

- Esistono diversi tipi di autoanticorpi (quelli che reagiscono a temperature calde [IgG], freddi [IgM] e misti [IgG e IgM]), ognuno dei quali richiede misure precauzionali diverse nelle trasfusioni.
- I pazienti con sospetto o confermato AIHA che hanno bisogno di una trasfusione devono essere indirizzati a un medico esperto in medicina trasfusionale.
- Gli autoanticorpi evidenziati nell'IAT possono eventualmente nascondere altri alloanticorpi presenti. Prima di eventuali trasfusioni è necessario assicurarsi che non siano presenti alloanticorpi di importanza clinica. Eventualmente occorre rivolgersi a un laboratorio di riferimento.
- Se negli ultimi 4 mesi è già stata svolta una trasfusione:
  - è impossibile distinguere tra allo- e autoanticorpi senza approfondite analisi di biologia molecolare,
  - in caso di autoanticorpi eritrocitari: vedi § 8.1.3.3. Sono auspicabili trasfusioni con CE RH1/KEL1 compatibili,
  - in presenza di agglutinine fredde di importanza clinica i prodotti sanguigni dovrebbero essere somministrati a una temperatura di 37 °C utilizzando un apparecchio debitamente testato e previsto a tale scopo,
  - in una situazione di emergenza, in cui non si possono attendere i risultati di laboratorio, il medico che svolge la trasfusione deve essere informato del rischio, vedi anche capitolo 9.3. Se noto i CE dovrebbero essere scelti in base al fenotipo RH/KEL1 e, se applicabile, al fenotipo esteso.

9.6 Trasfusioni croniche

Per la scelta dei CE vedi § 8.1.3.3.

- Nei pazienti affetti da drepanocitosi si dovrebbe contemplare sempre un TC con ogni CE anche in assenza di anticorpi irregolari.
- Nei pazienti di origine africana sono frequenti delle varianti di RH. Per questo motivo, nei pazienti affetti da drepanocitosi si raccomanda di svolgere un'approfondita analisi di biologia molecolare del genotipo RH. A questo scopo è opportuna una determinazione del genotipo e fenotipo esteso del paziente.

Draft

9.7 Trasfusione di concentrati eritrocitari irradiati

- I CE possono essere irradiati fino a 28 giorni dopo la donazione. Un CE irradiato deve essere trasfuso entro 14 giorni, al più tardi entro 28 giorni dalla donazione
- Pazienti con rischio di ipercaliemia: i CE irradiati devono essere trasfusi il più presto possibile, al massimo entro 24 ore dall'irradiazione.
- Nelle trasfusioni intrafamiliari (1° e 2° grado) i CE devono essere irradiati.
- Per le trasfusioni intrauterine, vedere § 7.4.1.
- Ogni ospedale definisce internamente altre indicazioni.

In casi eccezionali con l'accordo del medico curante, queste scadenze possono essere derogatei. Per casi eccezionali si intendono situazioni in cui il beneficio della deviazione supera il rischio potenziale di un ritardo trasfusionale. Le eccezioni devono essere ben documentate.

9.8 Procedura e scelta dei prodotti sanguigni nel caso di reazione trasfusionale allergica/anafilattica e deficienza da IgA

La correlazione tra la mancanza di IgA (concentrazione nel plasma <70 mg/dl [0,7g/l]) o deficienza di IgA (concentrazione nel plasma <0,05 ml/dl) in pazienti (con o senza anticorpi anti-IgA) e reazioni allergiche o anafilattiche viene discussa in modo controverso nella letteratura. In uno studio svizzero su 15'000 donatori è stata rilevata una deficienza di IgA con una frequenza di circa 1:850.

Dopo una reazione trasfusionale allergica/anafilattica grave è raccomandata un'indagine per la ricerca di un'eventuale deficienza da IgA.

In base alla prevalenza della carenza di IgA nella popolazione, l'incidenza delle reazioni trasfusionali di ipersensibilità dovrebbe essere maggiore. Ci si aspetterebbe che 1:1000 trasfusioni causino una reazione trasfusionale di ipersensibilità.
Uno studio di emovigilanza francese ha mostrato un'incidenza di 1 su 871.911 pazienti esposti.
Le persone con titoli IgA misurabili di solito non sviluppano anticorpi anti-IgA. Inoltre, attualmente è possibile misurare solo gli anti-IgA IgG, ma non ancora gli anti-IgA IgE, che potrebbero essere ugualmente essere all'origine della clinica. Questo potrebbe spiegare la discrepanza tra reazioni effettive e reazioni attese.

Attenzione: il prelievo di sangue per la determinazione del contenuto di IgA deve essere eseguito prima della trasfusione (plasma/CE/CT) e della somministrazione di immunoglobuline.

Il contenuto di IgA nei CE può essere ridotto tramite lavaggi e nei CT tramite deplasmatizzazione del prodotto.. Nel caso in cui si rilevino gravi reazioni trasfusionali allergiche in combinazione con una deficienza di IgA, come misura preventiva si possono preparare dei CE/CT o plasma ottenuto da donatori noti con deficienza di IgA. In casi eccezionali questi ultimi possono essere richiesti per trasfusioni programmabili in anticipo.

Questi prodotti speciali devono essere richiesti al proprio Servizio Trasfusionale.

9.9 Procedura e scelta dei prodotti sanguigni nella terapia con anticorpi monoclonali

Gli anticorpi monoclonali come gli anti-CD38 o gli anti-CD47 sono utilizzati, ad esempio, nel trattamento di malattie emato-oncologiche e autoimmuni.

Prima di iniziare la terapia con anticorpi monoclonali, devono essere disponibili almeno due determinazioni valide del gruppo sanguigno e un test di screening degli anticorpi valido. È inoltre consigliabile effettuare un fenotipo esteso o una genotipizzazione prima di iniziare la terapia. Questa procedura è necessaria per poter trasfondere i pazienti in situazioni in cui gli anticorpi di importanza clinica non possono essere esclusi con assoluta certezza (inibizione insufficiente degli anticorpi monoclonali interferenti). Questo dovrebbe permettere di evitare di ritardare la trasfusione del paziente.

Nel caso degli anti-CD38, la determinazione del gruppo sanguigno può essere effettuata anche dopo l'inizio della terapia. L'anti-CD38 può causare un risultato positivo della RAI fino a 6 mesi dopo la fine del trattamento. Questo perché anche gli eritrociti esprimono debolmente il CD38. La forza delle reazioni delle cellule test trattate con papaina e tripsina sono tra deboli e negative.

Draft

Prima dell'inizio della terapia con anticorpi monoclonali come anti-CD38, si deve eseguire una ricerca anticorpi. Si raccomanda inoltre di eseguire una tipizzazione antigenica estesa o una genotipizzazione.

- In caso di invio del campione in un laboratorio di riferimento, la diagnosi e il medicamento devono essere indicati sulla richiesta.
- Se la ricerca anticorpi realizzata mediante un metodo adeguato (ad es. provetta o DTT, tripsina o procedure alternative per inibire l'interferenza) è negativa possono essere liberati CE (compatibili con ABO / RH1 / RH/KEL1 / KEL3 [Kp^a]) secondo la regola del T&S
- Alternativamente si possono trasfondere CE compatibili con il fenotipo o genotipo (RH1, KEL1, KEL3 [Kp^a], JK [Jk], FY [Fy], MNS3 [S] e MNS4 [s]), secondo la regola del T&S senza dover procedere con l'identificazione degli anticorpi.

9.10 Trapianti

9.10.1 Trapianti di organi

In caso di trapianto di organo ABO incompatibile (incompatibilità maggiore) il gruppo ABO del plasma deve essere compatibile con il ricevente e con l'organo.

Gli alloanticorpi prodotti dai linfociti passeggeri (provenienti dall'organo trapiantato) devono essere presi in considerazione nella trasfusione finché sono evidenziabili.

9.10.2 Trapianto di cellule staminali allogeniche (donatore diverso dal ricevente)

Per la trasfusione sono necessarie le seguenti informazioni:

- come minimo fenotipo ABO/RH1 e RH/KEL1 del donatore / dei donatori,
- data del trapianto,
- centro trapianti,
- gruppo sanguigno del ricevente (ABO / fenotipo RH1 e RH/KEL1) e anamnesi delle trasfusioni degli ultimi 4 mesi.
- Se il DAT è positivo dopo un HSCT ABO incompatibile, è necessario aggiungere una cellula test A o B con l'eluato.

In mancanza di queste informazioni si devono trasfondere CE irradiati del gruppo O e plasma AB.

La cinetica (scomparsa e comparsa) di isoagglutinine anti-A/B varia molto da soggetto a soggetto. Una ricomparsa di isoagglutinine incompatibili anti-A/B è possibile in caso di recidiva/rigetto dell'organo trapiantato.

È importante seguire le raccomandazioni trasfusionali del centro trapianti.

9.11 Drepanocitosi

Questa situazione clinica può interessare tutti i pazienti con il fenotipo omozigote HbSS, eterozigote composto HbS-β talassemia (HbS-β+ o HbS-β° talassemia), HbSC, HbS OArab, HbS Lepore, HbSD e HbSE. A seconda della forma e delle caratteristiche cliniche possono essere necessarie delle trasfusioni. L'approvvigionamento di sangue per questi pazienti rappresenta una sfida dal punto di vista immunoematologico per tre motivi:

- Vi è un'ampia varietà genetica tra i pazienti (di origine africana) e la popolazione di donatori.
- Aumenta la probabilità di alloimmunizzazione e di reazioni immuno-emolitiche acute.
- Le varianti *RHD* e *RHCE* sono più frequenti rispetto alla popolazione caucasica (31, 32).

Valgono pertanto le seguenti raccomandazioni:

- Per ottimizzare la cura del paziente è necessario ottenere i risultati dei precedenti esami pre-trasfusionali e l'anamnesi trasfusionale.
- Se non sono disponibili dati precedenti sul fenotipo/genotipo, occorre eseguire i seguenti test:
- Fenotipo esteso: RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, KEL1, KEL2, JK1, JK2, FY1, FY2, MNS1, MNS2, MNS3 e MNS4 (RhD, C, E, c, e, K, k, Jk^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, M, N, S e s), se non sono state eseguite trasfusioni negli ultimi 4 mesi.
- Genotipo esteso: *KEL*01.01, KEL*02, JK*01, JK*02, FY*01, FY*02, FY*02.N.01, GYPA*01, GYPA*02, GYPB*03* e *GYPB*04.*

Draft

Eventualmente il genotipo può essere esteso agli alleli *DO*01*, *DO*02*, *KEL*02.03*, *KEL*02* (c.841C, c.1790T), *KEL*02.06* (Do^a, Do^b, Kp^a, Kp^b, Js^a e Js^b).

Inoltre vanno verificate le varianti più frequenti e significative dei geni *RHD* e *RHCE*. Il genotipo esteso va investigato anche se il fenotipo esteso è già noto.

- Nel caso in cui un paziente abbia ricevuto una trasfusione di oltre 12 unità di CE senza la formazione di alloanticorpi o autoanticorpi si può valutare la possibilità di rinunciare ad analisi più approfondite dei geni *RHD* e *RHCE*. (33)
- L'identificazione degli anticorpi va eseguita con un approccio enzimatico (p. es. papaina) oltre all'IAT. In particolare, se si verifica una crisi vaso-occlusiva dopo la trasfusione, se l'aumento dell'emoglobina è insufficiente o se si sospetta una reazione trasfusionale, l'alloimmunizzazione deve essere esclusa come causa. A questo scopo occorre effettuare test aggiuntivi come l'eluizione nonostante il DAT negativo o il TC con l'eluato.
- Alcuni alloanticorpi che nella maggior parte dei casi sarebbero trascurabili nella medicina trasfusionale (v. tabella 8.1.3.2) vanno monitorati da vicino nei pazienti affetti da drepanocitosi (p. es. LE1 in papaina), anche se non sono più rilevabili.
- I seguenti antigeni vanno rispettati preventivamente per ogni trasfusione di CE: RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, KEL1, KEL2, JK1, JK2, FY1, FY2, MNS3 e MNS4 (RhD, C, E, c, e, K, k, Jk^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, S, s). Se ciò non è possibile, occorre informare il medico prescrivente del rischio di un'immunizzazione.
- Il rilevamento di un primo anticorpo o autoanticorpo irregolare deve essere considerato un segnale di allarme: il paziente può essere un «responder», quindi a rischio di sviluppare ulteriori alloanticorpi, che potrebbero portare a difficoltà nel reperire prodotti compatibili per la trasfusione .
- Il rilascio di CE tramite procedure di T&S è altamente sconsigliato. Il test di compatibilità è raccomandato per tutti i CE da trasfondere, anche se non sono presenti anticorpi irregolari. In questo modo si può ridurre al minimo il rischio di una reazione trasfusionale dovuta a un anticorpo contro un antigene privato, poiché il rischio di presenza di un anticorpo contro un antigene privato è maggiore.
- Poiché alcuni anticorpi possono rapidamente scendere di nuovo al di sotto della soglia di rilevazione, è necessario effettuare nuovamente una verifica degli anticorpi da 10 a 21 giorni dopo ogni trasfusione.
- Qualsiasi crisi vaso-occlusiva che si verifichi entro 21 giorni dopo una trasfusione deve essere considerata una potenziale alloimmunizzazione e va indagata attivamente.

Draft

10 Reazioni trasfusionali indesiderate ed errori trasfusionali

La gestione di eventi trasfusionali avversi (ad es. reazioni trasfusionali, errori trasfusionali) fa parte del dovere di diligenza nella manipolazione degli emoderivati e la notifica degli eventi è un'esigenza legale nel quadro dell'emovigilanza (Later art. 3, Later art. 59). Il presente documento tratta solo le reazioni trasfusionali avverse che si verificano nel contesto delle indagini immunoematologiche su campioni dei pazienti.

10.1 Il chiarimento delle allo-immunizzazioni è elencato altrove – se verificati a seguito di una trasfusione gli allo-anticorpi sono classificati come effetti secondari della trasfusione stessa e devono essere segnalati (vedi § 5.3 e 5.7). Ulteriori informazioni (classificazione e chiarimento delle reazioni trasfusionali e degli errori trasfusionali) sono disponibili sul sito web di Swissmedic **(Haemovigilance:** Haemovigilance (swissmedic.ch). **Reazioni trasfusionali indesiderate**

10.1.1 Generalità

Le indagini da intraprendere dopo una reazione o una complicazione trasfusionale devono rispondere alle esigenze legali in vigore in materia di emovigilanza.

- Il medico responsabile della trasfusione deve conoscere le diverse possibili cause della reazione trasfusionale e prendere i provvedimenti necessari.
- Le reazioni trasfusionali devono essere immediatamente annunciate al laboratorio che ha effettuato le indagini immunoematologiche, allo scopo di poter chiarire tempestivamente le circostanze.
- I PSL che hanno causato delle reazioni trasfusionali inattese, come pure tutti gli altri prodotti che possono essere correlati, devono essere immediatamente ritirati dallo stock disponibile e liberati solo dopo le indagini (vedi § 10.3).

10.1.2 Indagini da eseguire in caso di sospetta reazione trasfusionale emolitica

10.1.2.1 Materiale

- Per l'indagine di eventuali reazioni trasfusionali emolitiche, il laboratorio deve disporre del materiale seguente:
  - campione sul quale sono stati effettuati i test pretrasfusionali del ricevente,
  - sacca e/o segmentino di tutti i PSL trasfusi,
  - campione del ricevente prelevato immediatamente dopo l'inizio della reazione.

10.1.2.2 Indagini immunoematologiche

- Escludere la possibilità di un errore amministrativo o scambio di provette.
- Effettuare le seguenti analisi sui campioni pre- e posttrasfusione del paziente:
  - controllo visivo del plasma/siero per ricercare un'emolisi prima e dopo la trasfusione,
  - determinazione completa del gruppo ABO/RH1 del paziente,
  - RAI,
  - determinazione del DAT: se positivo, occorre eseguire un'eluizione sul campione prelevato dopo la trasfusione in causa; se DAT negativo, ma in presenza di segni di emolisi, effettuare ugualmente un'eluizione. In caso di incompatibilità ABO, ad esempio dopo la somministrazione di CT o di IVIG, l'eluato deve essere eseguito anche con l'aggiunta di una sospensione test cellula A o B,
  - TC con tutti i CE trasfusi nelle ultime 6 ore.
- Analisi sui prodotti sanguigni trasfusi (CE o segmento):
  - aspetto visivo del PSL (colore e omogeneità),
  - controllo antigeni AB/RH1 sui segmentini dei CE e se necessario fenotipo RH/KEL1 e altri antigeni del gruppo sanguigno,
  - trasfusione di PFC: effettuare una prova crociata con un campione di plasma delle sacche trasfuse,
  - altri prodotti sanguigni dovranno, se clinicamente possibile, essere trasfusi solo al termine delle indagini.

Draft

10.1.2.3 Ulteriori indagini

In caso di reazioni trasfusionali, è di competenza del medico responsabile della trasfusione decidere se si rendono necessarie ulteriori indagini.

10.2 Errori Trasfusionali

Gli errori trasfusionali sono eventi in cui, ad esempio, è stato trasfuso un prodotto ematico non idoneo, incompatibile o solo accidentalmente compatibile. I “near miss” sono errori di trasfusione che sono stati evitati per poco. Se durante i test immunoematologici viene rilevato un errore o un quasi errore trasfusionale, il medico responsabile deve essere informato immediatamente e deve essere effettuata un'analisi delle cause. La gestione dell’evento e le eventuali misure adottate devono essere documentate nell'ambito del sistema di assicurazione della qualità e gli eventi devono essere segnalati a Swissmedic (vedi § 10.3).

10.3 Annuncio

Le reazioni trasfusionali indesiderate, gli errori trasfusionali e gli errori trasfusionali evitati per poco (near miss) devono essere segnalati a Swissmedic. Il responsabile dell'emovigilanza o il medico trasfusionista è responsabile dell'adempimento dell'obbligo di segnalazione. Ulteriori informazioni e i relativi moduli sono disponibili presso Swissmedic (Haemovigilance (www.swissmedic.ch)). Se si sospetta una reazione trasfusionale avversa, è necessario informare immediatamente anche il produttore (STCRS), in modo da poter bloccare o richiamare tutti gli altri prodotti potenzialmente interessati (ad esempio, provenienti dallo stesso donatore).

Draft

11 Standards for Molecular Blood Group Typing

Il capitolo 11 si divide nelle seguenti sezioni:

A – Applications
B – Personnel qualifications
C – Quality assurance
D – External proficiency testing
E – Analysis processes
P – Processing
R – Reporting
Z – Appendix

Le sezioni **A** – Applications, **P** – Processing, **R** – Reporting e **Z** – Appendix sono state elaborate e create da un sottogruppo del gruppo specializzato Immunoematologia.

Le sezioni **B, C, D** ed **E** sono state riprese alla lettera dai corrispondenti capitoli dell'European Federation for Immunogenetics (EFI): Standards for Histocompatibility & Immunogenetics Testing (HLA), versione 8 (in vigore dal 01.01.2020).

La versione originale degli standard EFI è stata accorciata escludendo alcuni sotto capitoli. I capitoli che sono stati mantenuti, così come i sotto capitoli, corrispondono parola per parola alle standard EFI (per usi futuri degli standard EFI).

L'EFI ha dato il suo consenso all'utilizzo delle sue direttive per il capitolo 11 «Standards for Molecular Blood Group Typing».

Riassunto delle referenze alla determinazione in biologia molecolare dei gruppi sanguigni, negli altri capitoli di questo documento:

1) 3.3.2 Controlli di qualità esterni
2) 5 Analisi immunoematologiche
3) 5.1.2 Risultato e interpretazione della determinazione del gruppo sanguigno ABO
4) 5.1.3 Risultato e interpretazione della determinazione dell'antigene RH1
5) 7.1.3 Donne in gravidanza con varianti RH1
6) 7.1.4 Determinazione fetale RHD da sangue materno
7) 7.3 Analisi nel bambino dai quattro mesi
8) 8.1.3 Scelta di altri antigeni di gruppo sanguigno
9) 8.1.3.3 Altre indicazioni per la scelta di CE feno-/genotipizzati

Draft

			A. Applications of molecular blood group detection			
			* donor genotyping is not topic of this recommendation	comments and examples	reci-pients	do-nors*
A	1		Clarification of serological prevalues			
A	1	1	ABO antigen and isoagglutinin dicrepancies		+	+
A	1	2	*RHD* categories and partials		+	+
A	1	3	Antigens reacting discrepant with different moAB (all blood groups)		+	+
A	2		Presence of antibodies (all blood groups)			
A	2	1	Presence of allo-antibody		+	+
A	2	2	Presence of auto-antibody		+	+
A	3		Determination of weakly agglutinating antigens			
A	3	1	Determination of *RHD*01W.01/.02/.03 (RHD*weak D type 1/2/3)*	recommended for girls and women under the age of 50	+	+
A	3	2	Determination of RH:W1 other than *RHD*01W.01/.02/.03 (RHD*weak D type 1/2/3)*		+	+
A	3	3	Determination of antigens with weak agglutination of all blood groups		+	+
A	4		Determination of antigens only detectable by adsorption/elution			
A	4	1	Detection of RH1 antigens only detectable by adsorption/elution ("*RHD*01EL,* Del")	also in screening for *RHD* in RH:–1	–	+
A	4	2	Detection of antigens only detectable by adsorption/elution of all blood groups		+	+
A	5		Clarification of geno-/phenotype discrepancies		+	+
A	5	1	Case phenotype correct positive, genotype false negative	e.g. alleles with "primer-binding-site" mutations	+	+
A	5	2	Case phenotype correct negative, genotype false positive	"null alleles", recognised by carrying an N in ISBT term	+	+
A	5	3	Case phenotype false positive, genotype correct negative	*RHD*01N.06* (DCeS) with pseudo RH2 (C), though genetically RH2 (C) negative. MNS15 (St[a]) / GYP*401 alleles of MNS	+	+
A	5	4	Case phenotype false negative, genotype correct positive	e.g. RHD*01EL.01	+	+
A	6		Screening for *RHD* among RH:–1			

Draft

A	6	1	Detection of RH1-negative *RHD-CE-D* hybrid alleles	–	+
A	6	2	Detection of unexpressed (RH:–1) *RHD* genes	–	+
A	7		Detection of blood groups in case no commercial reagents for serological detection are available		
A	7	1	Detection of Dombrock blood group system	DO1 (Do[a]) / DO2 (Do[b]), LU18 (Lu18) / LU19 (Lu19) …	+	+
A	7	2	Rare blood group antigens / high frequency antigen (HFA) negatives	DI1 (Di[a]) / DI2 (Di[b]), SC1 (Sc1) / SC2 (Sc2) …	+	+
A	7	3	Rare blood group antigens of defined ethnicities	e.g. RH10 (V), RH20 (VS), RH31 (Rh31), IN1 (In[a]) / IN2 (In[b])	+	+
A	8		Prenatal			
A	8	1	Prenatal detection of blood groups from fetal material		+	–
A	9		Blood group assessment in special clinical situations			
A	9	1	Mol. BG determination in polytransfused patients		+	–
A	9	2	Mol. BG determination in DAT-positive individuals		+	–
A	9	3	Monoclonal hematopoiesis (loss of BG alleles)		+	–
A	9	4	Post stem cell transplantation		+	–
A	9	5	Chronic transfusion needs (thalassemia, sickle cell disease, MDS, etc.)		+	–
A	10		Use of alternative sample material			
A	10	1	If indicated, alternative sample material may be used		+	–

Draft

			B. Personnel qualifications Effective from January 1st, 2020 **Comment:** [ ] … rectangular brackets indicate changes with respect to the EFI standards, e.g. [BG vs. ~~HLA~~] in these "Standards for Molecular Blood Group Typing" **Comment:** most current versions of the ISBT Blood Group Allele Tables (plus actual version number) are given at: http://www.isbtweb.org/working-parties/red-cell-immunogenetics-and-blood-group-terminology/	
B	5		Competency evaluation and continuous education	
B	5	2	The Laboratory Director and the technical staff must participate in continuing education relating to each category [of molecular blood group typing (e.g. single sample typing, blood group sequencing …)	[BG vs. HLA]

Draft

						C. Quality assurance		
						Comment: [ ] … rectangular brackets indicate changes with respect to the EFI standards, e.g. [BG vs. ~~HLA~~] in these "Standards for Molecular Blood Group Typing"	[BG vs. HLA]	comment added
						Comment: most current versions of the ISBT Blood Group Allele Tables (plus actual version number) are given at: http://www.isbtweb.org/working-parties/red-cell-immunogenetics-and-blood-group-terminology/	[BG vs. HLA]	comment added
C	2					Technical		
C	2	1	3			Laboratories performing amplification of nucleic acids must use:		
C	2	1	3	1		A dedicated work area with restricted traffic flow		
C	2	1	3	2		Physical barriers to prevent DNA contamination, including the use of dedicated:		
C	2	1	3	2	1	Equipment		
C	2	1	3	2	2	Laboratory coats		
C	2	1	3	2	3	Disposable supplies		
C	2	1	4			Pre-amplification procedures must be performed in an area which excludes amplified DNA that has the potential to serve as a template for amplification in any of the genetic systems tested in the laboratory		
C	2	1	5			All activities occurring from and including thermal cycling must take place in the post-amplification area		

Draft

	D. External proficiency testing	
	Comment: [ ] … rectangular brackets indicate changes with respect to the EFI standards, e.g. [BG vs. ~~HLA~~] in these "Standards for Molecular Blood Group Typing"	
D 1	Procedure of External Proficiency Testing	
D 1 1	Registration for EPT schemes	
D 1 1 1	The laboratory must participate in EPT programme(s) to cover	
D 1 1 1 1	All the accredited laboratory applications [of Molecular Blood Group Typing as exemplified by e.g. Instand e.V., or UK NEQAS	[BG vs. HLA]
D 1 2	The laboratory must prospectively define core and supplemental techniques according to the Accreditation Application	
D 1 3	The laboratory must	
D 1 3 1	Prospectively document the relevant EPT schemes or workshops on an annual basis	
D 1 3 2	Have a predetermined policy for testing EPT samples and must document this prior to the annual commencement of the EPT cycle	
D 1 4	EPT sample must be	
D 1 4 1	Tested by the same techniques as routinely employed for clinical samples, either individually or in combination	
D 1 4 2	Interpreted in a manner comparable to routine clinical samples	
D 1 5	Minimum number of samples for EPT per year	
D 1 5 1	The minimum number of samples applies to all techniques used to produce a final result:	
D 1 5 1 1	Blood Group Genotyping: [2 times per year, 4 samples each, specificities as currently requested by Instand e.V., or UK NEQAS]	[BG vs. HLA]
D 2 1	For phenotyping/genotyping schemes participants must report:	
D 2 1 1	The antigen specificities and alleles identified	
D 2 1 2	The method(s) used	
D 3	Laboratory performance	
D 3 5	Participating laboratories must ensure that all the following EPT-related documents are maintained and are made available to [~~EFI~~] inspectors [of the Swiss Accreditation Service (SAS)] for assessment:	[BG vs. HLA]
D 3 5 1	All data and analyses produced for all techniques	
D 3 5 2	Results submitted to the EPT	
D 3 5 3	EPT summary/scheme reports	

Draft

D 3 5 4 Certificates generated by the EPT Provider
D 3 5 5 Outcomes of investigations of any unsatisfactory results
D 3 5 6 Corrective or preventive actions

Draft

						E. Analysis processes
E	2	7				Thermal Cyclers
E	2	7	1			Accuracy of thermal cycling instruments:
E	2	7	1	1		Must be verified by annual thermal verification of the block using a calibrated device designed specifically for this purpose
E	1	5				Reagents for nucleic acid analysis
E	1	5	3			The appropriate performance of individual products must be documented before results using these reagents are reported for:
E	1	5	3	1		Each shipment, and
E	1	5	3	2		Each lot
E	1	5	4			For commercial kits, the following information must be documented:
E	1	5	4	1		Source
E	1	5	4	2		Lot number
E	1	5	4	3		Expiry date
E	1	5	4	4		Storage conditions
E	1	5	4	5		Test each lot and shipment of commercial kits against at least one DNA sample of known type
E	1	5	5			Reagents from different lots of commercial kits must not be mixed, unless either:
E	1	5	5	1		Specified by the manufacturer, or
E	1	5	5	2		Validated and documented with appropriate quality control in the laboratory
E	1	5	6			Inhouse Primers
E	1	5	6	1		The specificity of primer combinations and the annealing positions must be defined
E	1	5	6	2		Laboratories must:
E	1	5	6	2	1	Have a policy for quality control of each lot or shipment of primers
E	1	5	6	2	2	Confirm the specificity and quantity of the amplified product using reference material
E	1	5	6	2	3	
E	4	5	1			Nucleic acid extraction
E	4	5	1	1		The method used for nucleic acid extraction:
E	4	5	1	1	1	Must be published and documented
E	4	5	1	1	2	Must be validated in the laboratory
E	4	5	1	2		Purity and concentration of nucleic acids:
E	4	5	1	2	1	Must be sufficient to ensure reliable test results
E	4	5	1	2	2	Should be determined for each sample, or
E	4	5	1	2	3	If not determined for each sample, the laboratory must have tested and validated this policy

Draft

E	4	5	1	3		If the DNA is not used immediately after purification, suitable methods of storage must be available that will protect the integrity of the material		
E	4	5	2			Electrophoresis		
E	4	5	2	1		Electrophoretic conditions must be documented	[BG vs. HLA]	“optimal” deleted from Standards for Molecular Blood Group Typing
E	4	5	2	2		The laboratory must establish criteria for accepting each slab or capillary gel migration, and each lane of a gel or capillary injection		
E	4	5	2	3		When the size of an amplicon is a critical factor in the analysis of data, size markers that produce discrete electrophoretic bands spanning and flanking the entire range of expected fragment sizes must be included in each gel		
E	4	5	3			Analysis		
E	4	5	3	2		The method of allele assignment must be designated		
E	4	5	3	3		The [ISBT Blood Group Allele Tables-] must be:	[BG vs. HLA]	changed IMGT/HLA to ISBT
E	4	5	3	3	1	Documented		
E	4	5	3	3	2	Updated at least once a year with the most current version of the [ISBT Blood Group Allele Tables]	[BG vs. HLA]	changed IMGT/HLA to ISBT
E	4	5	3	4		If a manual allele call or interpretation of positive/negative reactions is performed for SSOP or SSP, two independent interpretations of primary data must be performed, except under justified special emergency situations		
E	4	5	4			Contamination control (“wipe-test”)		
E	4	5	4	3		If amplified product is detected, there must be:		
E	4	5	4	3	1	Written description of how to eliminate the contamination		
E	4	5	4	3	2	Measures taken to prevent future contamination		
E	4	5	4	3	3	Evidence of elimination of the contamination		
E	4	7				Sequence-specific primers (SSP)		
						Comment: in-house developed tests are addressed, versus for commercial products, responsibility for correct allele detection lies within the manufacturers.	[BG vs. HLA]	comment added
E	4	7	1			Each amplification reaction must include controls to detect technical failures (e.g. an internal control such as additional primers or templates that produce a product that can be distinguished from the typing product)		
E	4	7	3			The laboratory must use the following data in the interpretation phase of the typing:		
E	4	7	3	1		Information derived from the validation process		

Draft

E	4	7	3	2	Information derived from previous typings with the same lot of primers		
E	4	9			Sanger sequencing		
E	4	9	1		Sequencing templates:		
E	4	9	1	1	Must have sufficient purity, specificity, quantity and quality to provide interpretable sequencing data		
E	4	9	1	2	Should be purified after amplification to eliminate the presence of dNTPs, Taq polymerase and amplification primers		
E	4	10	6	2	For each run the size of fragments must be documented and the selection must be specified		
E	4	9	2		Sequencing reaction:		
E	4	9	2	1	The specificity of the template in combination with the sequencing primer ([ISBT Blood Group Allele locus (gene) and alleles ~~HLA locus and alleles~~)] must be defined	[BG vs. HLA]	changed IMGT/HLA to ISBT
E	4	9	2	2	Quantity and quality of templates, sequencing primers and sequencing reagents must be sufficient to provide interpretable primary sequencing data		
E	4	9	2	3	The conditions for the sequencing reaction must be documented and appropriate for obtaining reliable primary sequencing data		
E	4	9	3		Nucleotide assignment		
E	4	9	3	2	The signal-to-noise ratio must be sufficient to ensure reliable nucleotide assignments		
E	4	9	5		Allele assignment	[BG vs. HLA]	overlap with reporting
E	4	9	5	2	Criteria for allele assignment must be established	[BG vs. HLA]	overlap with reporting (go to NCBI BLAST plus check ISBT allele tables)
E	4	13			Other methods		
E	4	13	1		If alternative methods (e.g. SSCP, heteroduplex, DGGE) are used for [Molecular Blood Group ~~HLA~~] typing, there must be established procedures in place which:	[BG vs. HLA]	changed IMGT/HLA to ISBT
E	4	13	1	1	Must be validated		
E	4	13	1	2	Must include sufficient controls to ensure accurate assignment of types for every sample		
E	4	13	1	3	Must comply with all relevant standards from section E **(Nucleic Acid Analysis)**		

Draft

P		P. Processing of molecular data
		Comment: most current versions of the ISBT Blood Group Allele Tables (plus actual version number) are given at: http://www.isbtweb.org/working-parties/red-cell-immunogenetics-and-blood-group-terminology/
P	1	Molecular Blood Group Typing may start from any appropriate source of molecular raw data, e.g. SNP typing, sequencing and others done on resources such as RNA and DNA
P	2	Raw molecular data must be translated to “haplotype alleles”, commonly described by the term “alleles” within this document
P	2 1	Current versions of the allele names as proposed by the ISBT terminology committee must be used, whenever available
P	2 2	In case of the discovery of new alleles and description of blood group alleles with non-existent ISBT names, <Trivial Names> for alleles must be used
P	2 2 1	Naming of new alleles with Trivial Names should be done in a way to avoid confounding with existent (and potential future) ISBT allele names
P	2 2 2	There should be written records for each newly discovered allele (with a Trivial Name)
P	2 2 3	Newly discovered alleles should be reported in peer-reviewed journals, the obtained sequences submitted to nucleotide databases and the discovery be reported to the respective point persons of the ISBT terminology committee
P	3	The two parental alleles must be described as a <Genotype>
P	3 1	Homozygosity may best be described by naming the respective allele only
P	3 2	Homozygosity for *RHD* (and similar genes) may best be inferred by RH box analysis or quantitative methods
P	3 3	Proven homozygosity for *RHD* (and similar genes) may be declared naming the respective *RHD* alleles twice
P	3 4	Untested zygosity determination for *RHD* (and similar genes) may be indicated similarly to serology by a dot <RHD/ " ">
P	3 5	If indicated, a third allele name per gene locus may be given in case of duplicated genes on one haplotype (e.g. *GYP*401*)
P	5	There should be written records for each genotype assignment to the Predicted Blood Group Phenotype (“interpretation matrices”), also considering newly discovered alleles (with Trivial Names)
		R. External reporting of results
R	1	Methods used, e.g. SNP typing, sequencing, and others, and type of material investigated (RNA, DNA), must be declared
R	1 2	When reporting SNP results, genetic positions of polymorphisms tested must be indicated as given by the ISBT terminology
R	2	Current versions of the allele names as proposed by the ISBT terminology committee must be used, whenever available
R	3	In case of the discovery of new alleles and description of blood group alleles with non-existent ISBT names, <Trivial Names> for alleles must be used
R	4	The two parental alleles must be described as a <Genotype>
R	5	Every genotype must be translated into a <Predicted Blood Group Phenotype>
R	6	All above-mentioned documentations may be commented, especially for rare alleles and uncommon genotype occurrences

Draft

R	7	There should be a transfusion recommendation, especially for rare alleles, uncommon genotype occurrences and newly discovered alleles (with Trivial Names)
		Z. Commonly known BG polymorphism
Z	1	APPENDIX 1: commonly recognised alleles with known BG phenotypes

Draft

Appendix Z: Commonly known BG polymorphism with known effects on BG phenotypes

Blood Group System	ISBT #	Blood Group	Gene (HGNC)	on	Chromo-some	allele name 1	allele name 2	nt position	nt 1	nt 2	amino a.	anti-gens	allele ct.	SNP ct.	rs #
ABO	001	ABO A vs O1	*ABO*	9q	9q34.2	*ABO*wt*	*ABO*O.01*	261	G	del G	fs Thr88Pro	1	2	1	rs8176719
ABO	001	ABO A vs O2	*ABO*	9q	9q34.2	*ABO*wt*	*ABO*O.02*	802	G	A	Gly268Arg	-	1	1	rs41302905
ABO	001	ABO A vs B	*ABO*	9q	9q34.2	*ABO*wt*	*ABO*O.02*	803	G	C	Gly268Ala	1	1	1	rs8176747
MN	002	M / N	*GYPA*	4q	4q31.21	*GYPA*01*	*GYPA*02*	59	C	T	Ser20Leu	2	2	1	rs7682260
Ss	002	S / s	*GYPB*	4q	4q31.21	*GYPB*03*	*GYPB*04 (wt)*	143	C	T	Thr48Met	2	2	1	rs7683365
RhD	004	RhD+ / RhD-	*RHD / RHCE*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*01N.01*	455	A	[C]	Asn152[Thr]	2	2	1	rs17418085
RhD	004	RhD+ / RhD-	*RHD / RHCE*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*01N.01*	787	G	[A]	Gly263[Arg]	-	-	1	rs3118454
RhD	004	RhD+ / RhD-	*RHD / RHCE*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*01N.01*	1362	A	[T]	-	-	-	1	no rs
RhD	004	RhD+ / RhD-	*RHD / RHCE*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*04N.01*	504-541	-	ins 37 bp	-	-	1	1	no rs
RhD	004	RhD+ / RhD-	*RHD / RHCE*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*01N.06*	1006	G	C	Gly336Gly	-	1	1	no rs
RhD	004	RhD+ / RhD partial	*RHD*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*05.01, or RHD*DV.1*	667	T	G	Phe223Val	-	-	-	rs1053356
.	.	.	.	.	.	.	.	697	G	C	Glu233Gln	-	-	-	rs1053359
RhD	004	RhD+ / RhD partial	*RHD*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*05.07, or RHD*DV.7*	667 ... to	T	G	Phe223Val	-	-	-	rs1053356
RhD	004	RhD+ / RhD partial	*RHD*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*06.01, or RHD*DVI.1*	505 ... to	A	C	Met169Leu	-	-	-	rs17421137
RhD	004	RhD+ / RhD partial	*RHD*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*07.01, or RHD*DVII.1*	329	T	C	Leu110Pro	-	-	-	rs121912762
RhD	004	RhD+ / RhD weak	*RHD*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*01W.1, or RHD*weak D type 1*	809	T	G	Val270Gly	-	-	-	rs121912763
RhD	004	RhD+ / RhD weak	*RHD*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*01W.2, or RHD*weak D type 2*	1154	G	C	Gly385Ala	-	-	-	rs71652374
RhD	004	RhD+ / RhD weak	*RHD*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*01W.3, or RHD*weak D type 3*	8	C	G	Ser3Cys	-	-	-	rs144969459
RhD	004	RhD+ / RhD Del	*RHD*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*01EL.01, or RHD*DEL1*	1227	G	A	Lys409Lys	-	-	-	rs549616139
RhD	004	RhD+ / RhD Del	*RHD*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*01EL.08, or RHD*DEL8*	486+1 = IVS3+1g>a	g	a	splice mutant	-	-	-	rs371990272
RhD	004	RhD+ / RhD weak, partial, Del	*RHD*	1p	1p36.11	*RHD*01 (wt)*	*RHD*11, or RHD*weak partial 11*	885	G	T	Met295Ile	-	-	-	rs371803235
RhCE	004	Rhc / RhC	*RHCE*	1p	1p36.11	*RHCE*01 (03) (wt)*	*RHCE*02 (04)*	i2+3095	-	ins 109 bp	-	2	2	1	no rs
RhCE	004	Rhc / RhC	*RHCE*	1p	1p36.11	*RHCE*01 (03) (wt)*	*RHCE*02 (04)*	307	C	T	Ser103Pro	-	-	1	rs676785
RhCE	004	RhC, Rhc / RhC^{w}	*RHCE*	1p	1p36.11	*RHCE*all*	*RHCE*02.08*	122	A	G	Gln41Arg	1	1	1	rs138268848
RhCE	004	Rhe / RhE	*RHCE*	1p	1p36.11	*RHCE*01 (02)*	*RHCE*03 (04)*	676	G	C	Pro226Ala	2	2	1	rs609320
Lutheran	005	Lu^{a} / Lu^{b}	*BCAM*	19q	19q13.32	*LU*01*	*LU*02 (wt)*	230	A	G	His77Arg	2	2	1	rs28399653
Kell	006	K / k	*KEL*	7q	7q34	*KEL*01*	*KEL*02 (wt)*	578	T	C	Met193Thr	2	2	1	rs8176058
Kell	006	Kp^{a} / Kp^{b}	*KEL*	7q	7q34	*KEL*02.03*	*KEL*02 (wt)*	841	T	C	Trp281Arg	2	1	1	rs8176059
Kell	006	Js^{a} / Js^{b}	*KEL*	7q	7q34	*KEL*02.06*	*KEL*02 (wt)*	1790	C	T	Pro597Leu	2	1	1	rs8176038
Duffy	008	Fy^{a} /Fy^{b}	*DARC*	1q	1q23.2	*FY*01, or FY*A*	*FY*02, or FY*B*	125	G	A	Gly42Asp	2	2	1	rs12075
Duffy	008	Fy^{b} / Fy^{c}	*DARC*	1q	1q23.2	*FY*02*	*FY*02M*	265	C	T	Arg89Cys	-	1	1	rs34599082
Duffy	008	Fy^{a,b} / Fy null	*DARC*	1q	1q23.2	*FY*02*	*FY*02N.01*	67	c>c	T	C	-	1	1	rs2814778
Kidd	009	Jk^{a} /Jk^{b}	*SLC14A1*	18q	18q11-q12	*JK*01, or JK*A*	*JK*02, or JK*B*	838	G	A	Asp280Asn	2	2	1	rs1058396
Diego	010	Di^{a} / Di^{b}	*SLC4A1*	17q	17q21.31	*DI*01*	*DI*02 (wt)*	2561	T	C	Leu854Pro	2	2	1	rs2285644
Wright	010	Wr^{a} / Wr^{b}	*SLC4A1*	17q	17q21.31	*DI*02.03*	*DI*02 (wt)*	1972	A	G	Glu658Lys	2	2	1	rs75731670
Cartwright	011	Yt^{a} / Yt^{b}	*ACHE*	7q	7q22.1	*YT*01 (wt)*	*YT*02*	1057	C	A	His353Asn	2	2	1	rs1799805
Scianna	013	SC:1, SC:2	*ERMAP*	1p	1p34.2	*SC*01 (wt)*	*SC*02*	169	G	A	Gly57Arg	2	2	1	rs56025238
Dombrock	014	Do^{a} / Do^{b}	*ART4*	12p	12p12.3	*DO*01*	*DO*02 (wt)*	793	A	G	Asn265Asp	2	2	1	rs11276
Colton	015	Co^{a} / Co^{b}	*AQP1*	7p	7p14.3	*CO*01.01 (wt)*	*CO*02*	134	C	T	Ala45Val	2	2	1	rs28362692
Landsteiner-Wiener	016	LW^{a} / LW^{b}	*ICAM-4*	19p	19p13.2	*LW*05 (wt)*	*LW*07*	299	A	G	Gln100Arg	2	2	1	rs77493670
Indian	023	In^{a} / In^{b}	*CD44*	11p	11p13	*IN*01*	*IN*02 (wt)*	137	G	C	Arg46Pro	2	2	1	rs121909545
Vel	n.a.	Vel+ / Vel-	*SMIM1*	1p	1p36.32	*[SMIM1*Vel+]*	*[SMIM1*Vel-]*	64-80	-	del 17 bp	-	1	2	1	rs566629828
[Hum Platelet AG 1]	n.a.	[HPA-1a / b]	*ITGB3*	17q	17q21.32	*[ITGB3*001] (HPA-1a) (wt)*	*[ITGB3*002] (HPA-1b)*	176	T	C	Leu59Pro	2	2	1	rs5918
[Hum Platelet AG 5]	n.a.	[HPA-5a / b]	*ITGA2*	5q	5q11.2	*[ITGA2*001] (HPA-5a) (wt)*	*[ITGA2*002] (HPA-5b)*	1600	G	A	Glu534Lys	2	2	1	rs10471371

Draft

Per ulteriori informazioni Trasfusione CRS Svizzera (T-CH CRS), tutti i servizi trasfusionali regionali CRS e il Comitato dell'ASMT sono a vostra disposizione:

Trasfusione CRS Svizzera
Waldeggstrasse 51
Liebefeld
www.blutspende.ch
bsd@blutspende.ch

Segretariato ASMT
c/o Trasfusione CRS Svizzera3097
Stefanie Mast
Waldeggstrasse 51
3097 Liebefeld
www.svtm-asmt.ch
svtm-asmt@blutspende.ch

Responsabili del Gruppo di lavoro specializzato di Immunoematologia

- Soraya Amar, membro gruppo specializzato (rappresentante T-CH)
- Adrian Bachofner, membro gruppo speacilizzato (rappresentante Universitätsspital Zürich)
- Daniel Bolliger, membro gruppo speacilizzato (rappresentante Anestesia)
- Giorgia Canellini, membro gruppo specializzato (TIR)
- Michael Daskalakis, membro gruppo specializzato (Inselspital)
- Charlotte Engström, membro gruppo specializzato (SRTS ZH)
- Sofia Lejon Crottet, responsabile gruppo specializzato (IRB)
- Antoinette Monn, membro gruppo speacilizzato (rappresentante Stadtspital Waid und Triemli)
- Tanja Rüfli, membro gruppo specializzato (SRTS BS-BL)
- Belinda Ryser, membro gruppo specializzato (SRTS SI)
- Sophie Waldvogel, membro gruppo specializzato (SRTS GE e Rappresentante ASMT)

Membri emeriti del gruppo di lavoro specializzato di immunoematologia

- Beat M. Frey
- Hein Hustinx
- Behrouz Mansouri
- Inga Hegemann
- Christoph Niederhauser

Draft

Addendum 1

N. ISBT	Sistema	Numero antigene												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
001	ABO[$]	A	B	A,B	A1	…								4
002	MNS	M	N	S	s	U	He	Mi^a	M^c	Vw	Mur	M^g	Vr	50
003	P1PK	P1	---	p^k	NOR									3
004	RH	D	C	E	c	e	f	Ce	C^W	C^X	V	E^W	G	55
005	LU (Lutheran)	Lu^a	Lu^b	Lu3	Lu4	Lu5	Lu6	Lu7	Lu8	Lu9	…	Lu11	Lu12	27
006	KEL (Kell)	K	k	Kp^a	Kp^b	Ku	Js^a	Js^b	…	…	Ul^a	K11	K12	36
007	LE (Lewis)	Le^a	Le^b	Le^{ab}	Le^{bH}	ALe^b	BLe^b							6
008	FY (Duffy)	Fy^a	Fy^b	Fy3	…	Fy5	Fy6							5
009	JK (Kidd)	Jk^a	Jk^b	Jk3										3
010	DI (Diego)	Di^a	Di^b	Wr^a	Wr^b	Wd^a	Rb^a	WARR	ELO	Wu	Bp^a	Mo^a	Hg^a	22

[$] Le raccomandazioni non utilizzano la terminologia ISBT per il sistema dei gruppi sanguigni ABO.
Ogni sistema di gruppi sanguigni è definito, da un lato, con il relativo numero ISBT e dall'altro con una combinazione di 2-4 lettere maiuscole (simbolo ISBT). Il sistema Kidd, ad esempio, contiene il simbolo ISBT JK e il numero ISBT 009. Nella nomenclatura ISBT l'antigene Jk^b è definito JK2.

Esempio 1

	Tradizionale	ISBT
Antigene	Fy^a	FY1
Fenotipo	Fy(a+b–)	FY:1,–2[$$]
Allele	*Fy^a*	*FY*01*
Genotipo	*Fy^a Fy^a*	*FY*01/FY*01*
Anticorpo	Anti-Fy^a	Anti-FY1

Esempio 2

	Tradizionale	ISBT
Antigene	K	KEL1
Fenotipo	K+k–	KEL:1,–2[$$]
Allele	*K*	*KEL*01.01*
Genotipo	*KK*	*KEL*01.01/KEL*01.01*
Anticorpo	Anti-K	Anti-KEL1

Esempio 3

	Tradizionale	**ISBT**
Antigene	D, C, E, c, e	RH1, RH2, RH3, RH4, RH5
Fenotipo	D+C+E+c+e+ (R1R2)	RH:1,2,3,4,5[$$]
Allele	*D, CE*	*RHD*01/RHCE*02/ RHCE*03*[$$$]
Genotipo	*CDe/cDE*[$$$]	*RHD*01/RHD*01, RHCE*02/RHCE*03*[$$$]
Anticorpo	Anti-D, -C, -E, -c, -e	Anti-RH1, -RH2, -RH3, -RH4, -RH5

[$$] Secondo ISBT gli antigeni sierologicamente deboli (weak o partial) nel fenotipo vengono contrassegnati con una W rispettivamente con una P prima del numero dell'antigene (p. es. FY:W2 = fenotipo Fy(b+w), RH:P1 = fenotipo RhD partial).

[$$$] Genotipo altamente probabile.

Draft