

CRCC REGIONE LIGURIA

Corso Regionale Avanzato di Immunoematologia

**LA TERAPIA TRASFUSIONALE
NEL PAZIENTE AFFETTO DA
ANEMIA EMOLITICA AUTOIMMUNE**

3 ottobre 2007

Dr. Federico Morelli



Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino di Genova
Servizio di Immunoematologia e Trasfusionale
Direttore Dr. Paolo Strada

MEA
O
AEA?



INDICAZIONE ALLA TRASFUSIONE

TRASFONDO?

SELEZIONE DEL SANGUE DA TRASFONDERE

CHE COSA TRASFONDO? COME TRASFONDO?

VOLUME OTTIMALE DEL SANGUE DA TRASFONDERE

QUANTO TRASFONDO?

*Prove crociate in AEA da autoAb caldi di solito
INCOMPATIBILI*

1° Problema

Difficile evidenziare alloanticorpi
(donne, politrasfusi)

Test diretto dell'antiglobulina
POSITIVO

2° Problema

**Difficile raggiungere l'incremento
Hb desiderato**

*Anemia grave con rischio di
MORTE*

3° Problema

**Difficile convincere il clinico a
trasfondere sangue incompatibile**

Anamnesi

Valutazione del paziente

Ci sono sintomi e segni di
EMOLISI acuta e grave?

Ci sono sintomi e segni di
ANEMIA acuta e grave?

Comunicazione diretta tra
clinico e trasfusionista

Classificazione clinica basata su

- acuzie di insorgenza**
- rapidità di progressione**

- anemia cronica**
- anemia grave ma stabile**
- anemia severa ingravescente**
- anemia emolitica fulminante**

Anemia cronica

- **frequente nelle MEA da autoanticorpi freddi**
- **la ridotta sopravvivenza eritrocitaria è compensata**
- **strategia trasfusionale simile a quella dell'anemia refrattaria**
- **livelli ottimali di Hb tra 8 e 10 g/dl**

Trasfondere emazie concentrate deleucocitate

Anemia grave ma stabile

**La risposta alla terapia in genere è rapida
(miglioramento dei parametri nel 50% dei casi
entro la prima settimana di trattamento)**

Non dovrebbe ricevere terapia trasfusionale

(solo in caso di

- marcata diminuzione di tolleranza all'esercizio**
- palpitazioni durante l'esercizio)**

Anemia severa ingravescente

- **la gravità dell'anemia è in progressione costante**
- **possono esserci sintomi legati all'ipossiemia**
- **non ci sono segni di shock**
- **se Hb < 4 g/dl sintomi neurologici e rischio morte**

Trasfondere concentrati eritrocitari in dose sufficiente a mantenere modesti incrementi dell'ematocrito

Anemia emolitica fulminante

- **causata da emolisi acuta massiva**
- **presenti segni di shock**
- **emoglobinemia ed emoglobinuria**
- **reticolocitosi spesso assente**

Avviare indagini diagnostiche per

- **setticemia da Clostridium perfringens**
- **anemia emolitica autoimmune da farmaci**

**Transfusione urgente ma...
le emazie trasfuse raramente sono “compatibili” !!**

TRASFUSIONE INCOMPATIBILE

IL CLINICO CURANTE
La trasfusione è necessaria?

L'IMMUNOEMATOLOGO
Ci sono alloanticorpi clinicamente significativi?
ovvero
Che cosa accadrà alle emazie trasfuse?
Come, dove e quando saranno distrutte?

CLINICO CURANTE E IMMUNOEMATOLOGO
Monitoraggio

TEST PRETRASFUSIONALI

- **GRUPPO SANGUIGNO (GRU)**
- ***IMMEDIATE SPIN (IS)***
- **RICERCA DI ANTICORPI IRREGOLARI (RAI)**
- **PROVE CROCIATE DI COMPATIBILITÀ (PC)**
- **IDENTIFICAZIONE ANTICORPALE (ID)**
- **AUTOCONTROLLO**
- **TEST DI COOMBS DIRETTO (TCD)**
- **TIPIZZAZIONE ERITROCITARIA**

Difficoltà gruppoematiche e sierologiche nelle MEA

Determinazione ABO/Rh

MEA da autoanticorpi caldi

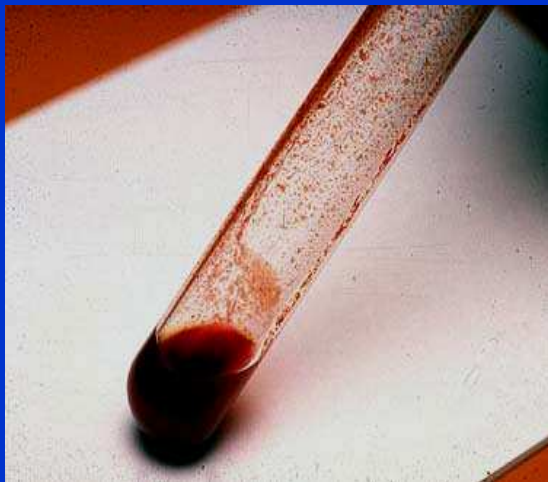
Nessuna difficoltà per ABO

**Molte difficoltà per determinazione Rh
(se si utilizzano comuni antisieri albuminati)**

Difficoltà gruppoematiche e sierologiche nelle MEA

Determinazione ABO/Rh

MEA da autoanticorpi freddi



**Molte difficoltà per ABO
(lavaggio con fisiologica calda)**

Nessuna difficoltà per Rh

Difficoltà gruppoematiche e sierologiche nelle MEA

Test diretto dell'antiglobulina

TCD > TCI
AUTOANTICORPI
Malattia Emolitica Autoimmune

TCD < TCI
ALLOANTICORPI
Reazione Emolitica Ritardata (DHTR)
(agglutinazione a campo misto)

Possibile negatività in corso di MEA

- errato lavaggio
- anti-IgA
- scarsa concentrazione Ig
- alta costante di dissociazione

ELUIZIONE

- E' impossibile tipizzare usando il siero di Coombs o antisieri con potenzianti
- Bisogna eluire gli anticorpi senza danneggiare gli antigeni o usare antisieri monoclonali in salina se disponibili

Metodi di eluizione da eritrociti intatti per tipizzazione eritrocitaria in *WAIHA DAT positive*

- cloroquina
- glicina-HCL e acid/EDTA
- calore a +56°C per 3'

Difficoltà gruppoematiche e sierologiche nelle MEA

Specificità autoanticorpi

MEA da autoanticorpi caldi
(anti-Rh, anti-En^a, anti-Wr^b)

MEA da autoanticorpi freddi
(anti-I/i)

Emoglobinuria parossistica a *frigore*
(anti-P)

Difficoltà gruppoematiche e sierologiche nelle MEA

Prove crociate

MEA da autoanticorpi caldi
di solito ***INCOMPATIBILI***

MEA da autoanticorpi freddi

- In genere *compatibili* se si utilizzano i test pre-riscaldati
- Utilizzare siero antiglobuline monospecifico anti-IgG

Difficoltà gruppoematiche e sierologiche nelle MEA

Ricerca alloanticorpi irregolari

*Se Test di Coombs indiretto
più potente del test diretto:
probabile alloanticorpo*

**Il siero modicamente diluito dà
reazioni di diversa intensità al pannello**

Difficoltà gruppoematiche e sierologiche nelle MEA

Ricerca alloanticorpi irregolari

Per evidenziare eventuali alloanticorpi è necessario eseguire autoassorbimento previa eluizione autoAb con:

ZZAP

Cloroquina

Calore (+56°C)

Difficoltà gruppoematiche e sierologiche nelle MEA

Assorbim. con:	Si assorbono:	Restano:
CCDee (R_1R_1)	anti-C, D, e anti-nl, pdl, dl	anti-c, E
ccDEE (R_2R_2)	anti-c, D, E anti-nl, pdl, dl	anti-C, e
ccdee (rr)	anti-c, e anti-nl, pdl, dl	anti-C, D, E

Shirey RS, Boyd JS, Parwani AV, et al.

Prophylactic antigen-matched donor blood for patients with warm autoantibodies: an algorithm for transfusion management.

Transfusion 2002;42:1435-41.

Al 1° ricovero

- tipizzazione per: c, C, D, E, e, K, Jk^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, S e s
- RAI e identificazione alloAb mediante assorbimento
- trasfusione “profilattica” di RBC deleucocitati “antigen-matched”

Ai successivi ricoveri

- TCD e pannelli per confermare MEA
- trasfusione “profilattica” di RBC “antigen-matched” senza assorbimento per RAI
- assorbimento per RAI solo se tipizzazione non possibile o RBC “antigen-matched” non disponibili

Quale “trigger” trasfusionale?

Petz LD. *Blood transfusion in hemolytic anemias.*

Immunohematology 1999;15:15-23

“The more cells are present, the more cells will be destroyed”

Trasfondere il meno possibile e per il minor tempo possibile: una terapia trasfusionale aggressiva è gravata da complicanze

Rosenfield RE, Jagathambal. *Transfusion therapy for autoimmune hemolytic anemia. Seminars Hematol* 1976;13:311-21.

- “Boli” di 100 ml di RBC due volte al dì (secondo gravità emolisi)
- Non trasfondere se Hb > 8 g/dl

MEA da autoAb freddi

- Preriscaldare (+37 °C) l'unità da trasfondere?
- Trasfondere con riscaldatore?
- Tenere il paziente in ambiente caldo

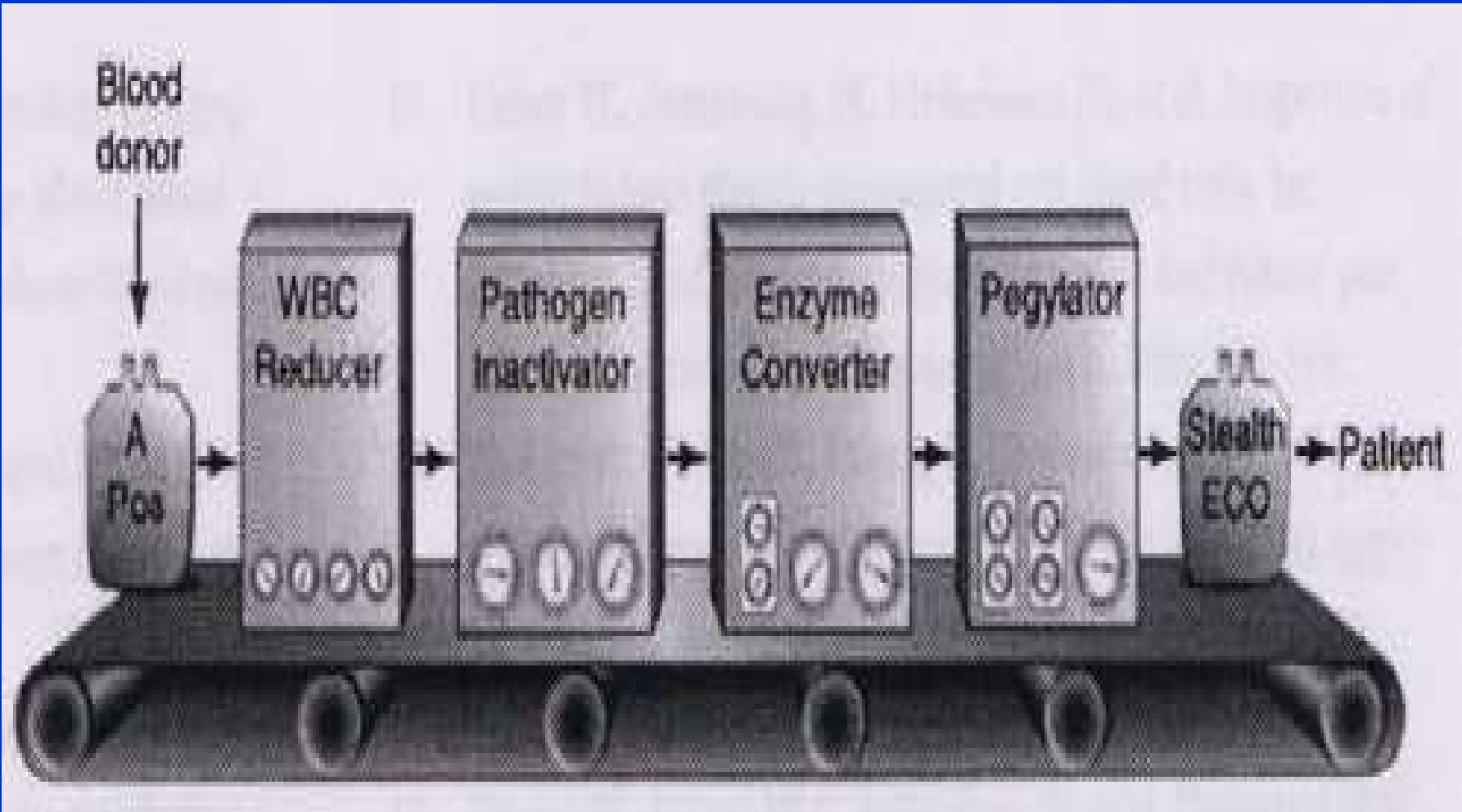
MEA da autoanticorpi caldi

- Se esiste autoAb con singola specificità, scegliere sangue privo dell'antigene in causa? (possibilità di alloimmunizzazione)
- Se autoAb panreattivo, scegliere sangue "meno incompatibile"?

Petz LD. *“Least incompatible” units for transfusion in autoimmune hemolytic anemia: should we eliminate this meaningless term? A commentary for clinicians and transfusion medicine professionals.* Transfusion 2003;43:1503-1507.

Ruivard M, Tournilhac O, Montel S, Fouilhoux AC, Quainon F, Lénat A, Travade P and Philippe P. *Plasma exchanges do not increase red blood cell transfusion efficiency in severe autoimmune hemolytic anemia: a retrospective case-control study.* J Clin Apheresis 2006; 21:202-206.

Mullon J, Giacoppe G, Clagett C, McCune D, Dillard T. *Transfusions of polymerized bovine hemoglobin in a patient with severe autoimmune hemolytic anemia.* N Engl J Med 2000;342;1638-1643.



© 2005 Baxter International, Inc. All rights reserved. Baxter International, Inc. is a registered trademark of Baxter International, Inc. Stealth is a registered trademark of Baxter International, Inc. ECO is a registered trademark of Baxter International, Inc. WBC Reducer is a registered trademark of Baxter International, Inc. Pathogen Inactivator is a registered trademark of Baxter International, Inc. Enzyme Converter is a registered trademark of Baxter International, Inc. Pegylator is a registered trademark of Baxter International, Inc. Stealth ECO is a registered trademark of Baxter International, Inc. Patient is a registered trademark of Baxter International, Inc.

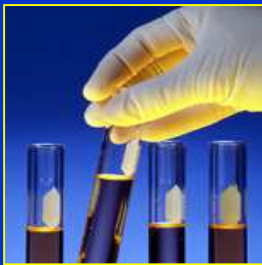
ABO - Discrepanza tra Prova Diretta e Indiretta



- MEA DA AUTOANTICORPI FREDDI (AUTOAGGLUTINAZIONE)
- POLIAGGLUTINABILITÀ
- IMPILAMENTO
- FENOTIPO RARO
- ANTIGENI DEBOLI O INESPRESSI (B ACQUISITO, LEUCEMIE)
- DOPPIA POPOLAZIONE (AGGLUTINAZIONE A CAMPO MISTO)



- Chimerismo
- Emorragia materno fetale
- Trapianto di midollo da un donatore di diverso gruppo ABO
- Trasfusione recente con ABO compatibile ma non identico



- ALLOANTICORPI IRREGOLARI FREDDI
- MEA DA AUTOANTICORPI FREDDI
- TRAPIANTO DI MIDOLLO ABO INCOMPATIBILE (O→A)
- SENSIBILE RIDUZIONE DEGLI ANTICORPI NATURALI
- IMPILAMENTO

MEA DA AUTOANTICORPI FREDDI

GRUPPO ABO

➤ Prova diretta

eluizione degli anticorpi: termica (+37°C)

chimica (reagenti tiolici)

➤ Prova indiretta

prelievo e separazione a +4°C per adsorbire l'Ab

AUTOANTICORPI FREDDI

determinare se l'ampiezza termica è significativa e il titolo è alto

prelievo e separazione a +37°C

ricercare eventuali alloanticorpi significativi (RAI)

assorbimento a freddo per rimuovere autoAb e non alloAb

tecnica rigorosamente a caldo con reagenti pre-riscaldati a +37°C

siero di Coombs monospecifico anti-IgG piuttosto che polispecifico

TCD pos - RAI pos
*evento immunoematologico in corso
il paziente sta emolizzando*

TCD neg - RAI pos
*evento immunoematologico passato, spento
rimane la memoria immunologica*

TCD neg - RAI neg
*evento immunoematologico molto lontano
l'anticorpo non è rilevabile,
ma in caso di trasfusione la risposta anamnesticca è rapida*



SIERO ANTIGLOBULINE UMANE (DI COOMBS) TEST DI COOMBS INDIRETTO – TCI o IAT

permette di evidenziare una reazione di agglutinazione tra anticorpi plasmatici incompleti e antigeni eritrocitari

permette di determinare se le emazie sono state ricoperte
IN VITRO
con immunoglobuline e/o complemento

anticorpo noto + **antigene ignoto** = **tipizzazione gruppoemica**

anticorpo ignoto + **antigene noto** = **ricerca o identificazione anticorpale**

anticorpo ignoto + **antigene ignoto** = **prova crociata pretrasfusionale**

TEST PRETRASFUSIONALI

RAI NEGATIVA

IMMEDIATE SPIN INCOMPATIBILE

Incompatibilità ABO
Varianti deboli ABO
AlloAb anti-A₁ o altri alloAb reattivi a t. l.
Poliagglutinabilità su emazie del donatore

PROVA CROCIATA INCOMPATIBILE

TCD positivo su emazie del donatore
AlloAb contro Ag a bassa incidenza
AlloAb IgG anti-A e/o anti-B passivi da donatore O pericoloso

PROVE CROCIATE COMPATIBILI

Ab anti-H o anti-IH
Ab anti-Le^{bH}
Ab anti-diluente o anti-conservante

RAI POSITIVA

Cellule positive e negative
AlloAb singolo

Tutte cellule positive (differente forza e/o fase)
AlloAb multipli

Tutte cellule positive (stessa forza e/o fase)
AutoAb
AlloAb verso Ag ad alta incidenza

PROVE CROCIATE INCOMPATIBILI

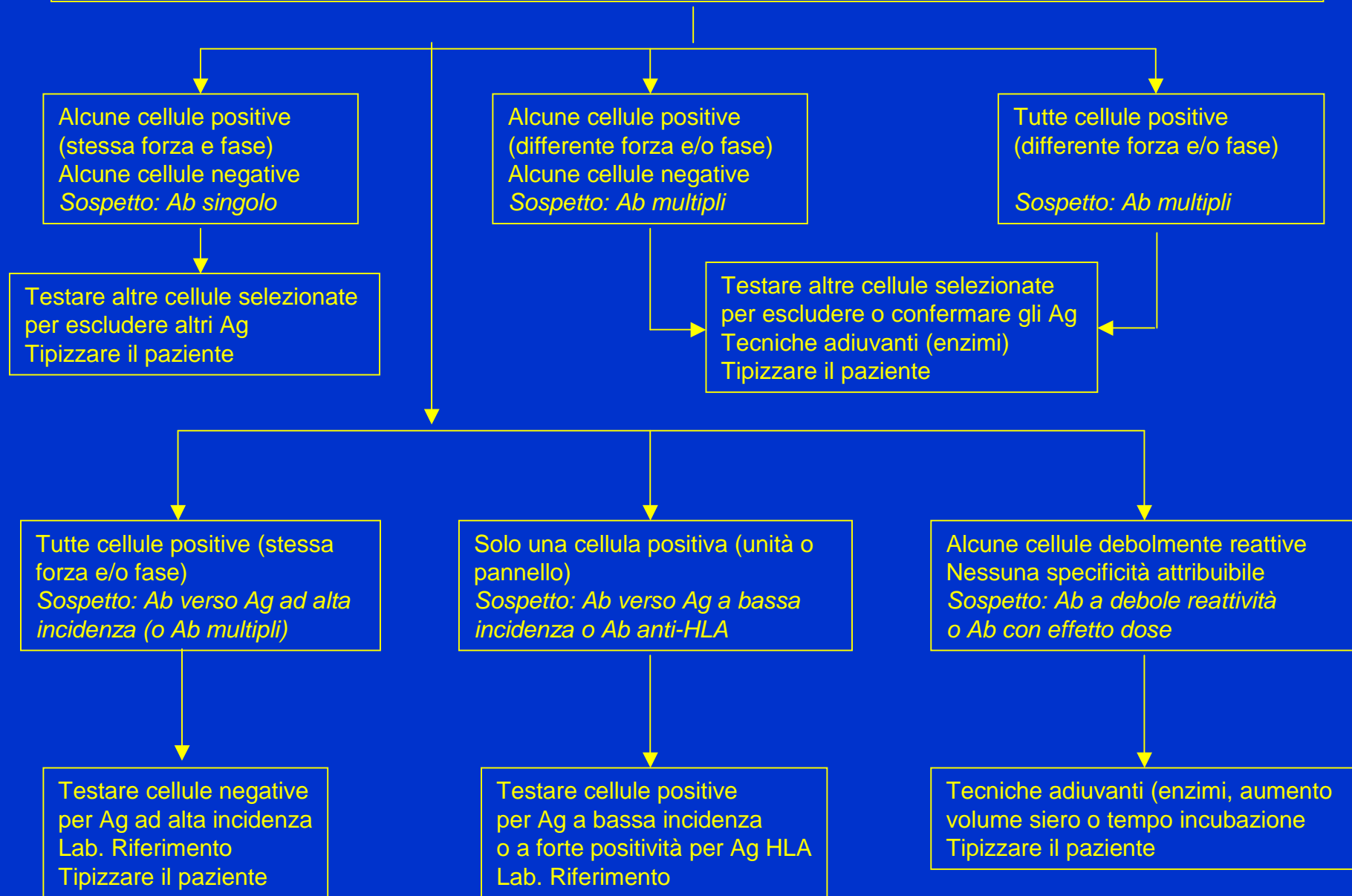
AUTOCONTROLLO NEGATIVO

AlloAb (singolo o multipli)
AlloAb contro Ag ad alta incidenza
Interazione inattesa con reagente

AUTOCONTROLLO POSITIVO

AutoAb
AlloAb in paziente trasfuso (DHTR)
Impilamento
Problemi con reagenti

Pannello di identificazione reattivo - Autocontrollo negativo



AUTOCONTROLLO
emazie proprie + plasma/siero proprio
deve essere **SEMPRE** incluso
in un pannello di identificazione anticorpale

AUTOCONTROLLO NEGATIVO
AlloAb (singolo o multipli)
AlloAb contro Ag ad alta incidenza
Interazione inattesa con reagente

AUTOCONTROLLO POSITIVO
AutoAb
AlloAb in paziente trasfuso (DHTR)
Impilamento
Problemi con reagenti

AGGLUTINAZIONE A CAMPO MISTO (DHTR)
Doppia popolazione eritrocitaria
Osservazione: al microscopio o in schedina
Trasfusione o trapianto di midollo recenti

AUTOCONTROLLO POSITIVO - TCD NEGATIVO
Presenza di anticorpi anti-reagente reattivi in vitro
Errore di identificazione del campione

Metodo	Tempo	Vantaggi	Svantaggi
Calore	10'	rapido, facile adatto per MEN ABO adatto per anticorpi freddi IgM	scadente per auto e alloanticorpi caldi
Etere	50'	adatto per auto e alloanticorpi caldi	altamente infiammabile, narcotico, tossico richiede evaporazione dell'etere insensibile per anti-S/s
Acido a freddo	10'	adatto per auto e alloanticorpi caldi	difficile aggiustamento del pH finale soggetto a falsa eluizione
Congelamento/ scongelamento	15'	rapido, facile piccoli volumi di emazie adatto per MEN ABO	scadente per auto e alloanticorpi caldi
Glicina-HCl/EDTA		adatto per auto e alloanticorpi caldi recupero di emazie DAT-negative per tipizzazione	denatura antigeni Kell
Digitonina acida	50'	non pericolosa adatto per auto e alloanticorpi caldi	meno sensibile per anti-Kidd
Xilene	25'	adatto per auto e alloanticorpi caldi meno infiammabile dell'etere	infiammabile, carcinogeno narcotico, tossico
Onde acustiche	5'	rapido adatto per MEN ABO adatto per anticorpi freddi IgM	scadente per auto e alloanticorpi caldi

Difficoltà gruppoematiche e sierologiche nelle MEA

Assorbimento

- **Lavare emazie 4 volte in fisiologica**
- **Sedimento e fisiologica (anaparti) a +56°C per 3'**
- **Lavare 3 volte in fisiologica**
- **Sedimento + siero paziente (anaparti) a +37 °c per 30'**
- **Centrifugare a 1000 x g e separare siero***
- **Ripetere i primi 4 passaggi e aggiungere siero***
- **Controllare su pannello identificativo**
- **Se negativo solo autoAb, se positivo AlloAb**