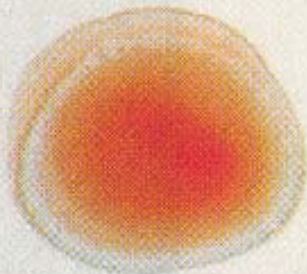
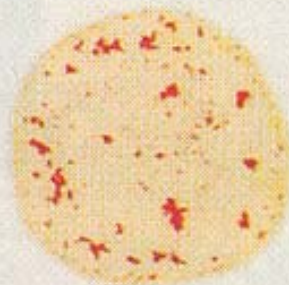


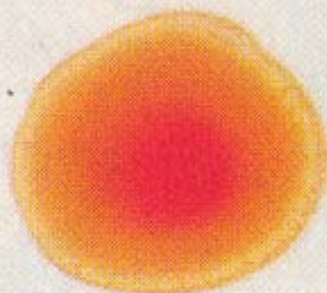
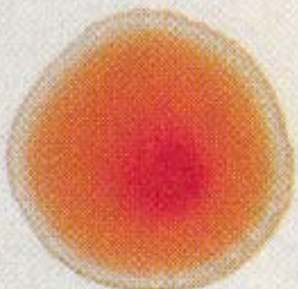
A



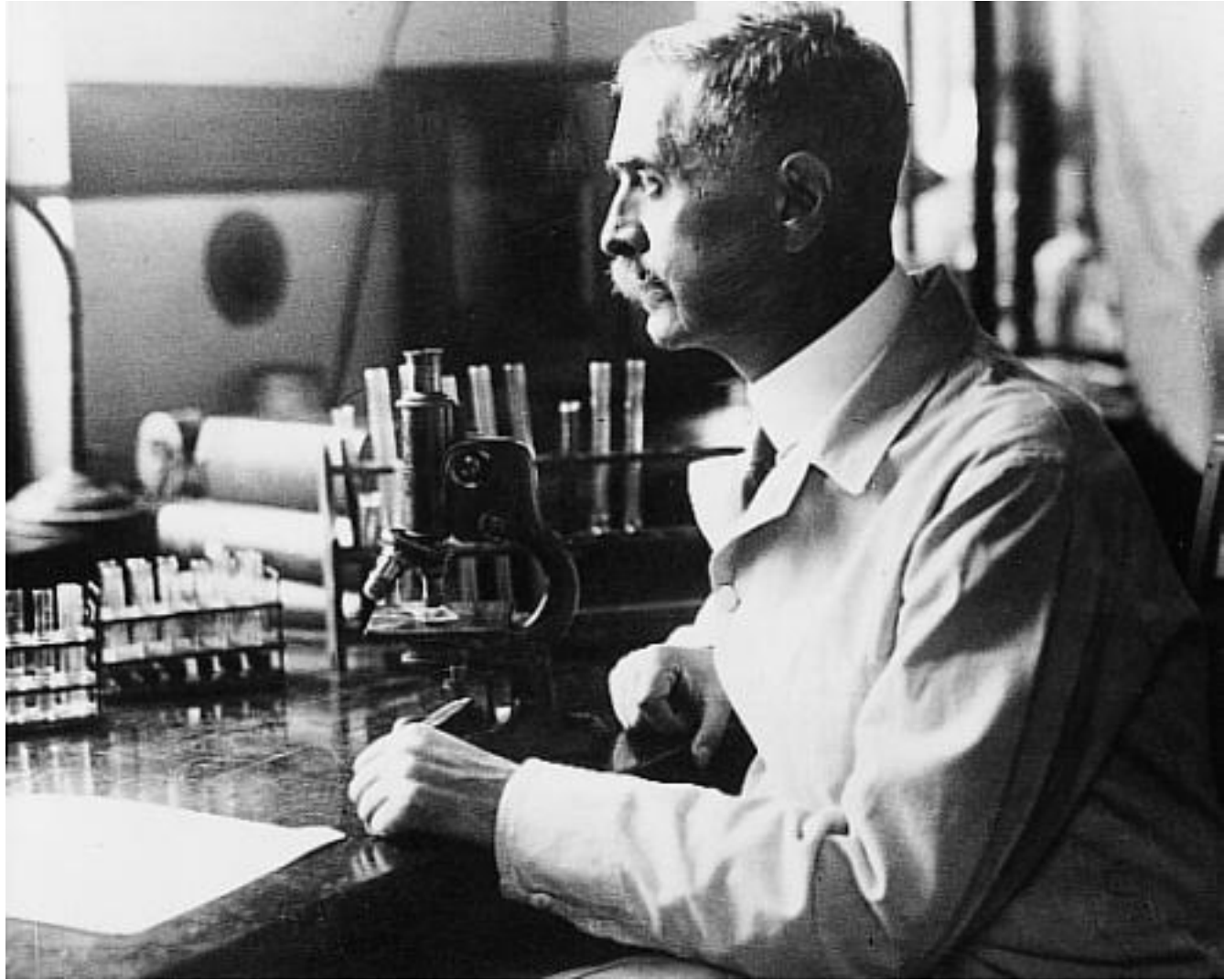
B



AB



O



# Storia del sistema ABO

**1901** Esperimento di Karl Landsteiner con il siero dei suoi collaboratori



Scoperta del sistema ABO

**1910** Premio Nobel a Karl Landsteiner per la medicina



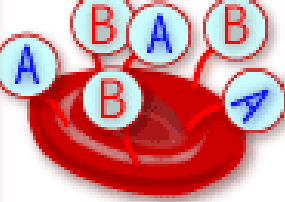
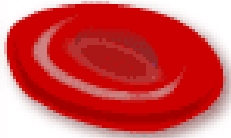
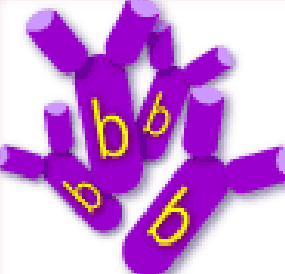




Serum von	Blutkörperchen von					
	Dr. Störk	Dr. Pietschnig	Dr. Sturli	Dr. Erdheim	Zaritsch	Dr. Landsteiner
Dr. Störk						
Dr. Pietschnig						
Dr. Sturli						
Dr. Erdheim						
Zaritsch						
Dr. Landsteiner						

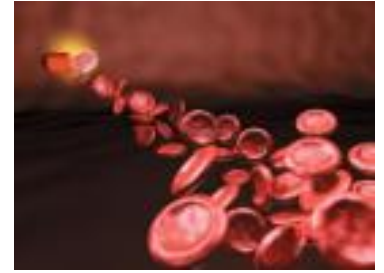
**TABLE I BLOOD GROUP NOMENCLATURES. 1900–1927<sup>13</sup>**

<b>Original Landsteiner (1901)</b>	<b>Jansky (1907)</b>	<b>Moss (1910)</b>	<b>“International” (1927)</b>
<b>C A B Von Decastello and Sturli</b>	<b>I II III IV</b>	<b>IV II III I</b>	<b>O A B AB</b>

# The ABO Blood System

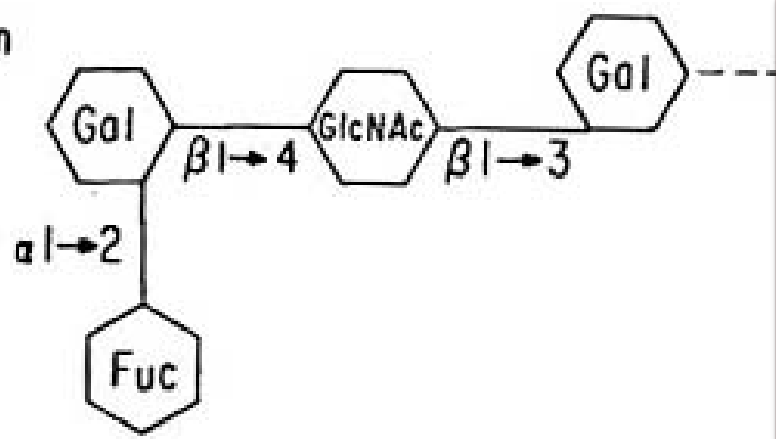
Blood Type (genotype)	Type A (AA, AO)	Type B (BB, BO)	Type AB (AB)	Type O (OO)
Red Blood Cell Surface Proteins (phenotype)	 <p>A agglutinogens only</p>	 <p>B agglutinogens only</p>	 <p>A and B agglutinogens</p>	 <p>No agglutinogens</p>
Plasma Antibodies (phenotype)	 <p>b agglutinin only</p>	 <p>a agglutinin only</p>	<p>NONE.</p> <p>No agglutinin</p>	 <p>a and b agglutinin</p>

# Antigeni ABO

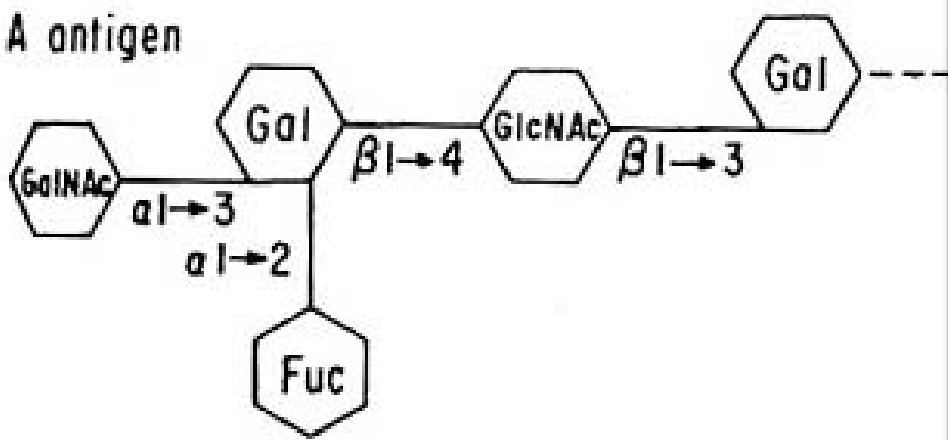


- 🔴 Gli Ag ABO sono glicolipidi, **oligosaccaridi** attaccati direttamente ai lipidi della membrana del RBC.
- 🔴 Ogni RBC ha circa **800.000** siti antigenici
- 🔴 Si possono ritrovare in forma solubile anche nel plasma e nella saliva.
- 🔴 Si trovano espressi anche su cellule di altri tessuti del corpo umano
- 🔴 Sono moderatamente sviluppati alla nascita, quindi le MEN da anti A e anti B non sono generalmente gravi.

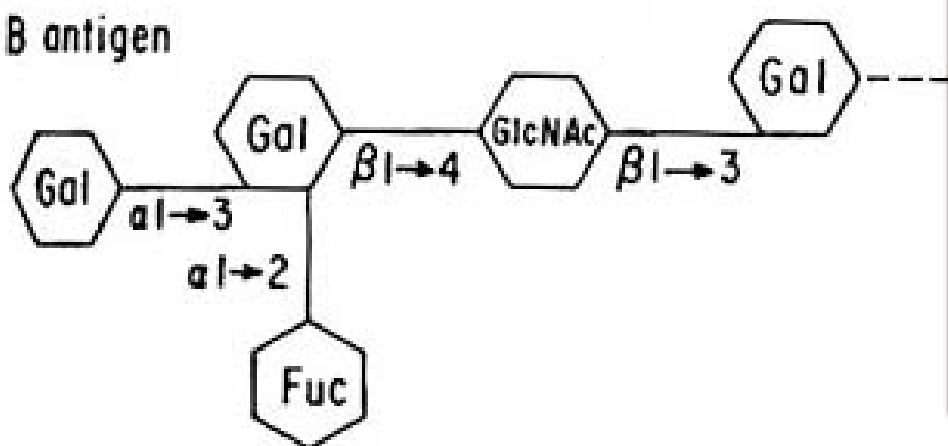
H antigen



A antigen

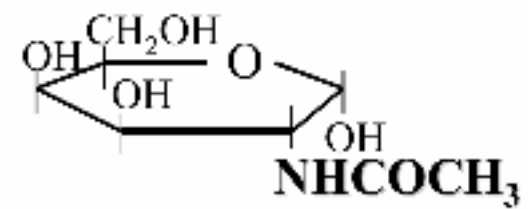


B antigen

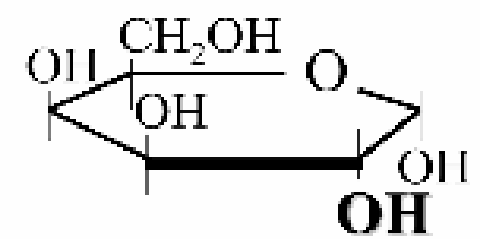


RBC membrane

N-acetyl-D-galactosamine (GalNAc)



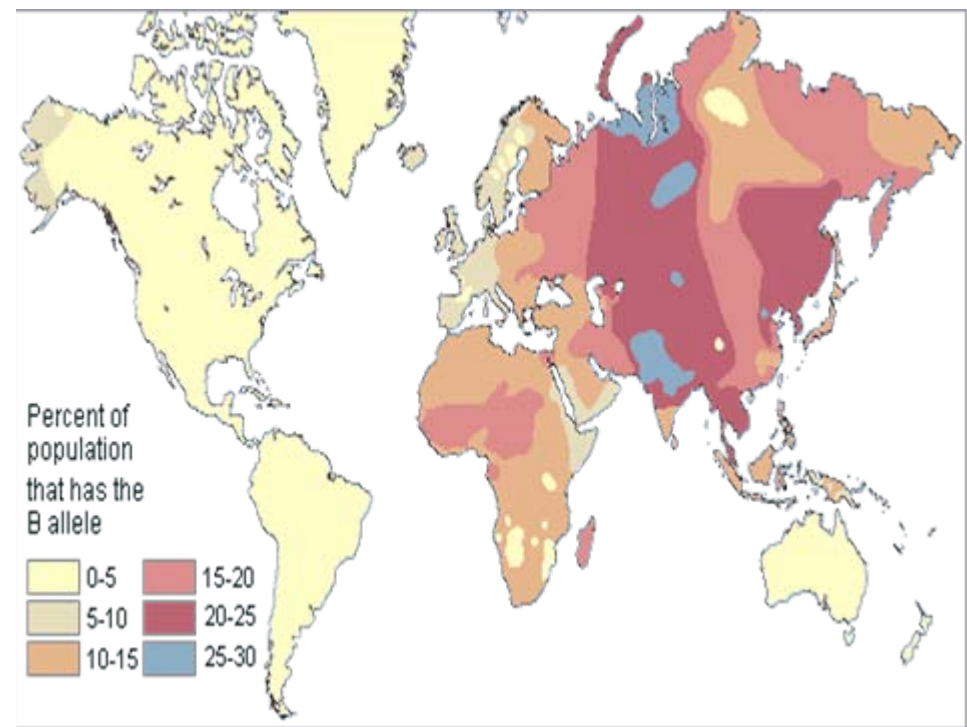
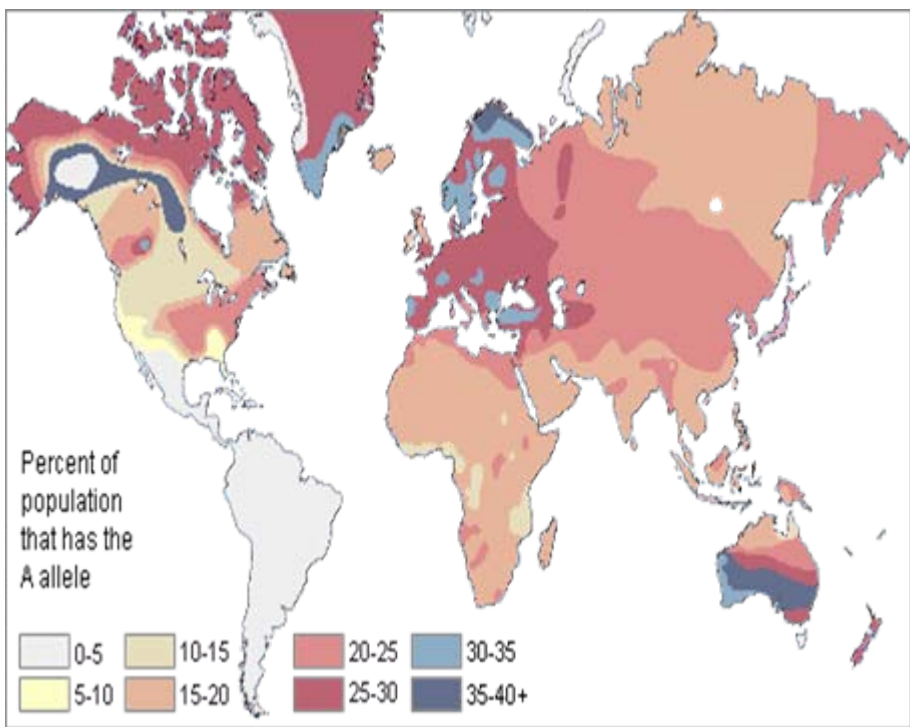
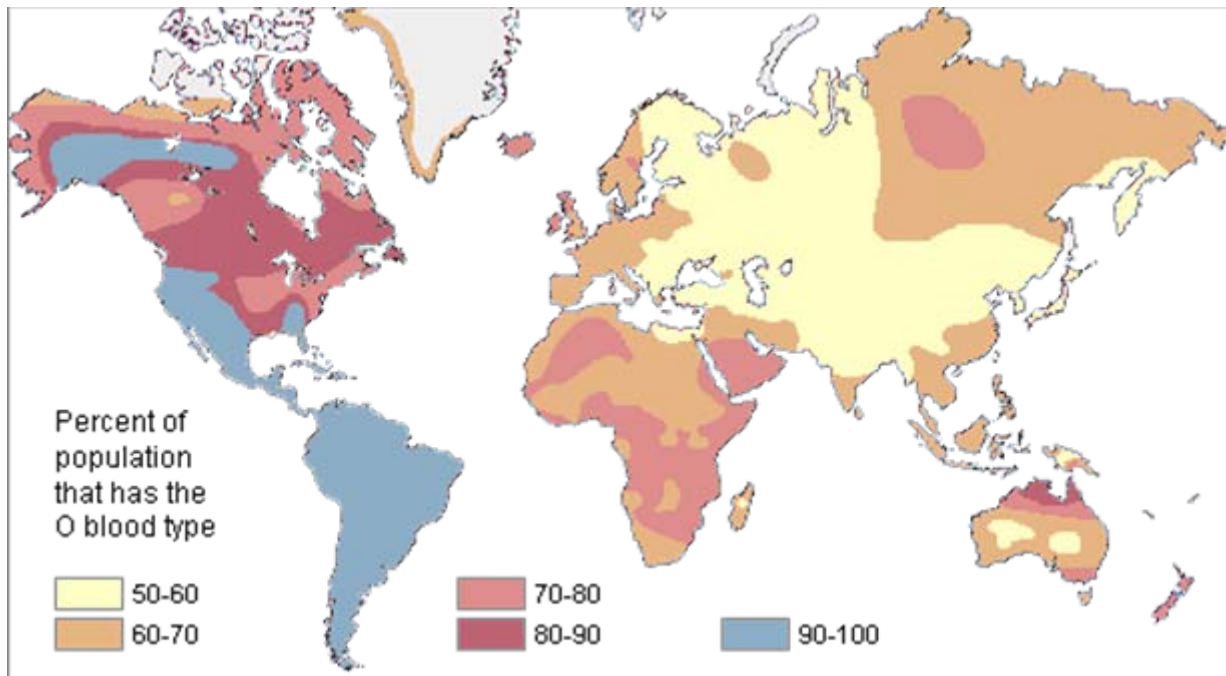
D-galactose (Gal)





# Incidenza dei gruppi ABO

Gruppo	Bianchi (%)	Neri (%)
O	45	49
A	40	27
B	11	20
AB	4	4



# Anticorpi ABO

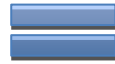


- Sono prodotti **naturalmente** per contatto con alcuni batteri (E.coli) della flora intestinale
- Principalmente di **classe IgM**
- Reagiscono in fisiologica e agglutinano le emazie macroscopicamente
- Optimum di temperatura **30°C**
- Hanno normalmente **un alto titolo** (1:128-1:256) anche se sono naturali
- Sono assenti alla nascita e si completano dopo **3-6 mesi** di vita

# Determinazione del gruppo ABO

- 🔴 **Prova diretta (globulare):** ricerca dell'antigene A, B sui globuli rossi
- 🔴 **Prova indiretta (sierica):** ricerca degli anticorpi anti-A e anti-B nel siero

**Prova diretta**



**Prova indiretta**



**Gruppo Sanguigno chiuso**

**Prova diretta**



**Prova indiretta**



**Discrepanza di gruppo**



- Anticorpi murini monoclonali IgM
- Anti-A **BLU**
- Anti-B **GIALLO**
- Anti-A,B : stessi cloni ma con più mezzo potenziante (per evidenziare deboli agglutinazioni)

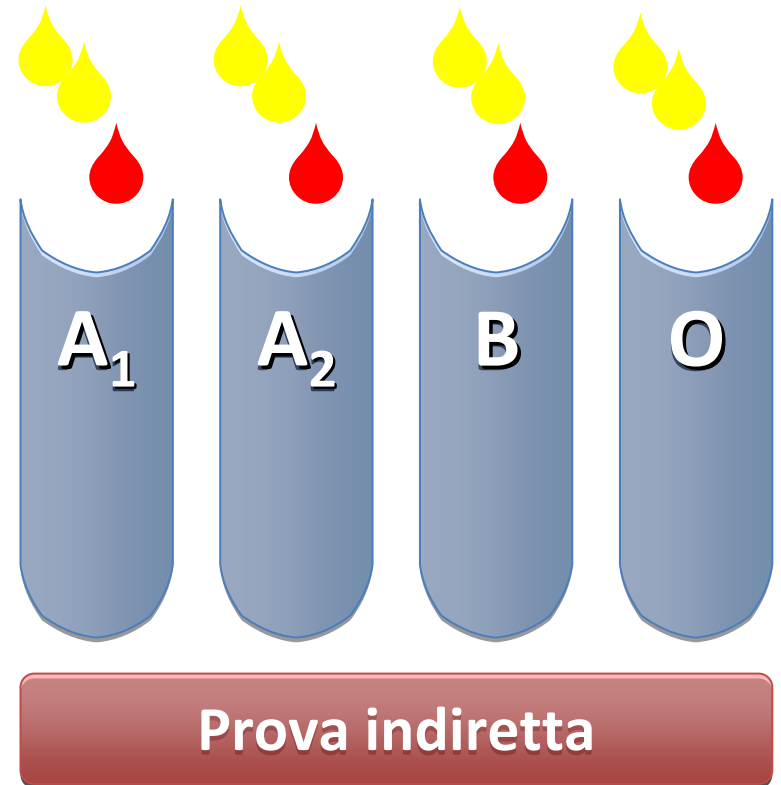
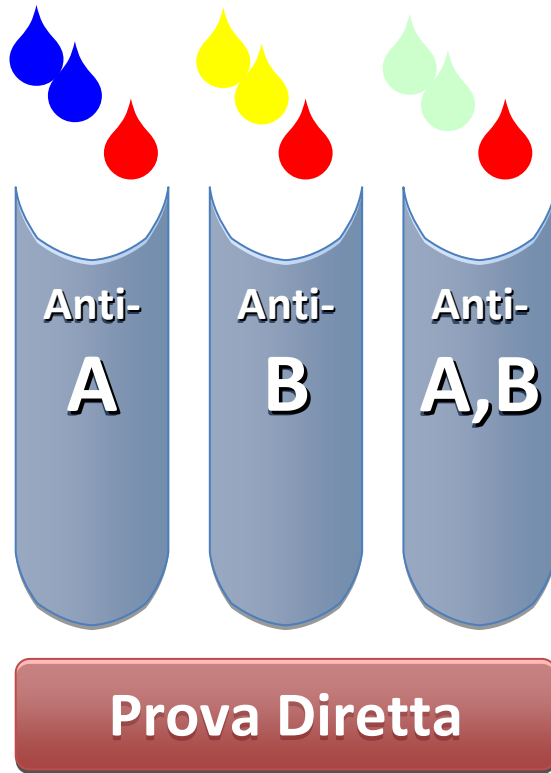




- Donatori volontari di gruppo A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B e O
- Risospesi al 3% in fisiologica
- Aggiunti dei mezzi conservanti (antibiotici e antimicotici)
- Verificare quotidianamente l'emolisi



# 1. Semina reagenti e campioni





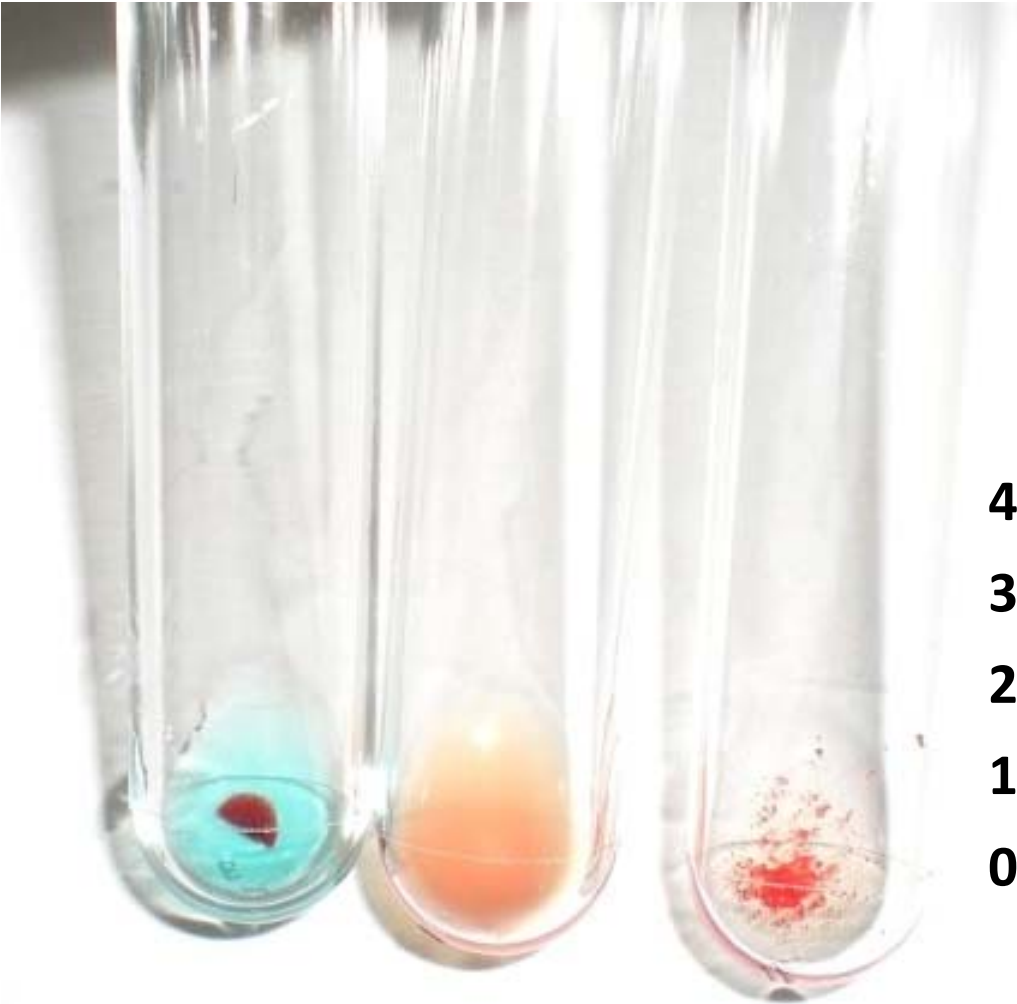
## 2. Centrifugazione

**ALTI GIRI: 15''**

oppure

**BASSI GIRI: 60''**

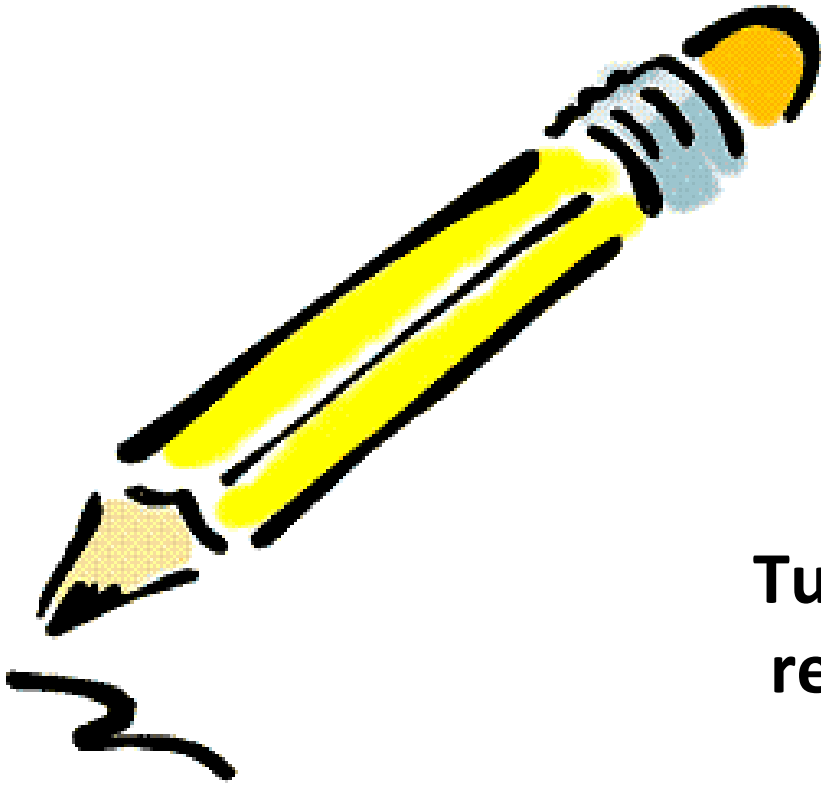
## 3. Lettura risultati



### SCORE risultati

- 4+ unico grosso agglutinato
- 3+ grandi agglutinati
- 2+ piccoli agglutinati fini
- 1+ agglutinati visibili con una lente
- 0 nessun agglutinato

## 4. Registrazione dei risultati



**Tutti i risultati devono essere registrati sul foglio di lavoro**

## 5. Interpretazione dei risultati

**O**

**A**

**B**

**AB**

# Interpretazione

Siero anti-A	Siero anti-B	Siero anti-A,B	Emazie A <sub>1</sub>	Emazie A <sub>2</sub>	Emazie B	Emazie O	Risultato
0	0	0	+	+	+	0	O
+	0	+	0	0	+	0	A
0	+	+	+	+	0	0	B
+	+	+	0	0	0	0	AB

# Discrepanze nella determinazione ABO

## Problemi nella prova diretta (globuli rossi)

- Antigeni con debole/assente reattività
- Cause extra antigeni
- Reazioni a campo misto
- Trasfusioni recenti con GR non-omogruppo

## Problemi nella prova indiretta (siero)

- Anticorpi assenti
- Anticorpi deboli
- Cause extra anticorpi

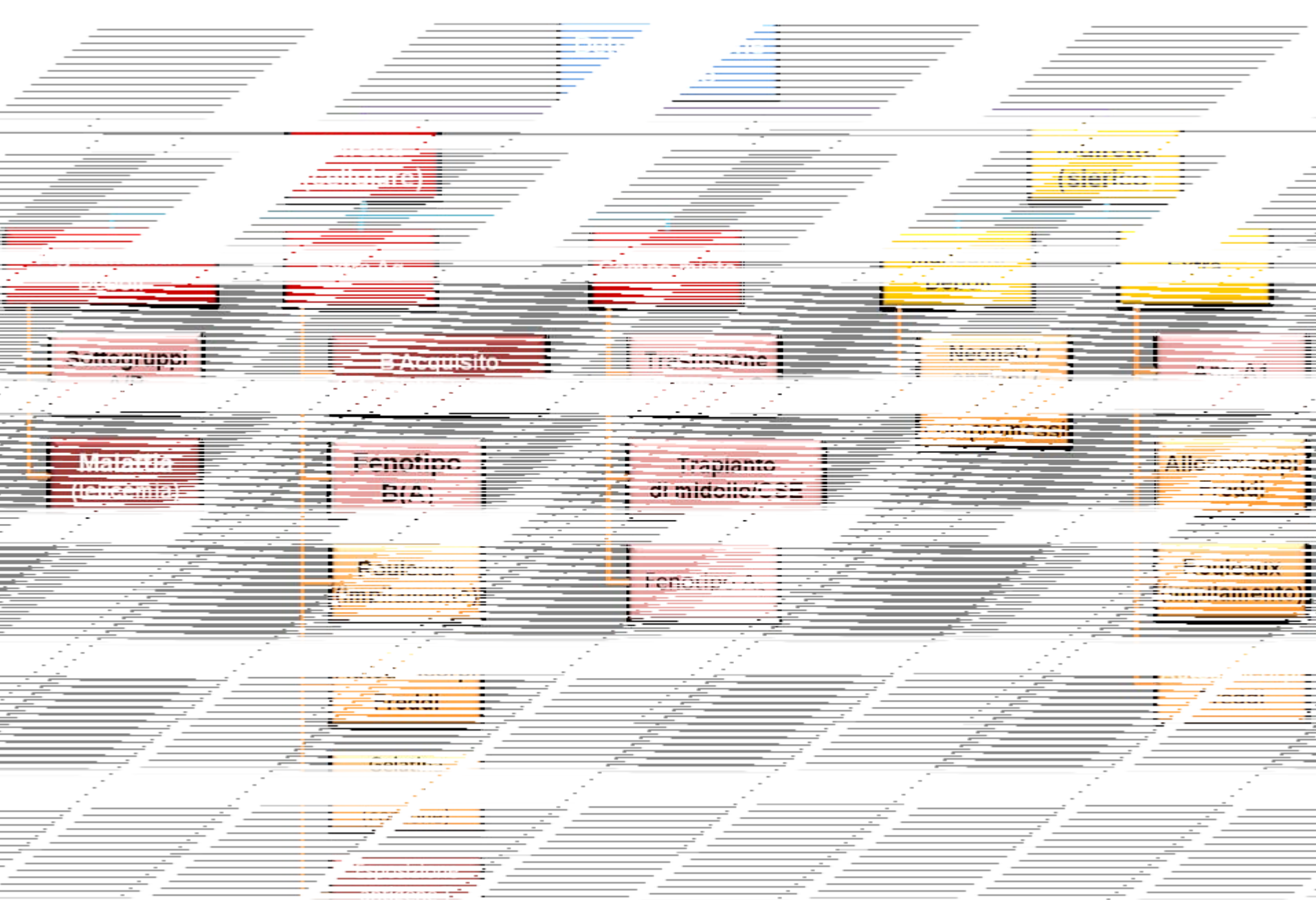


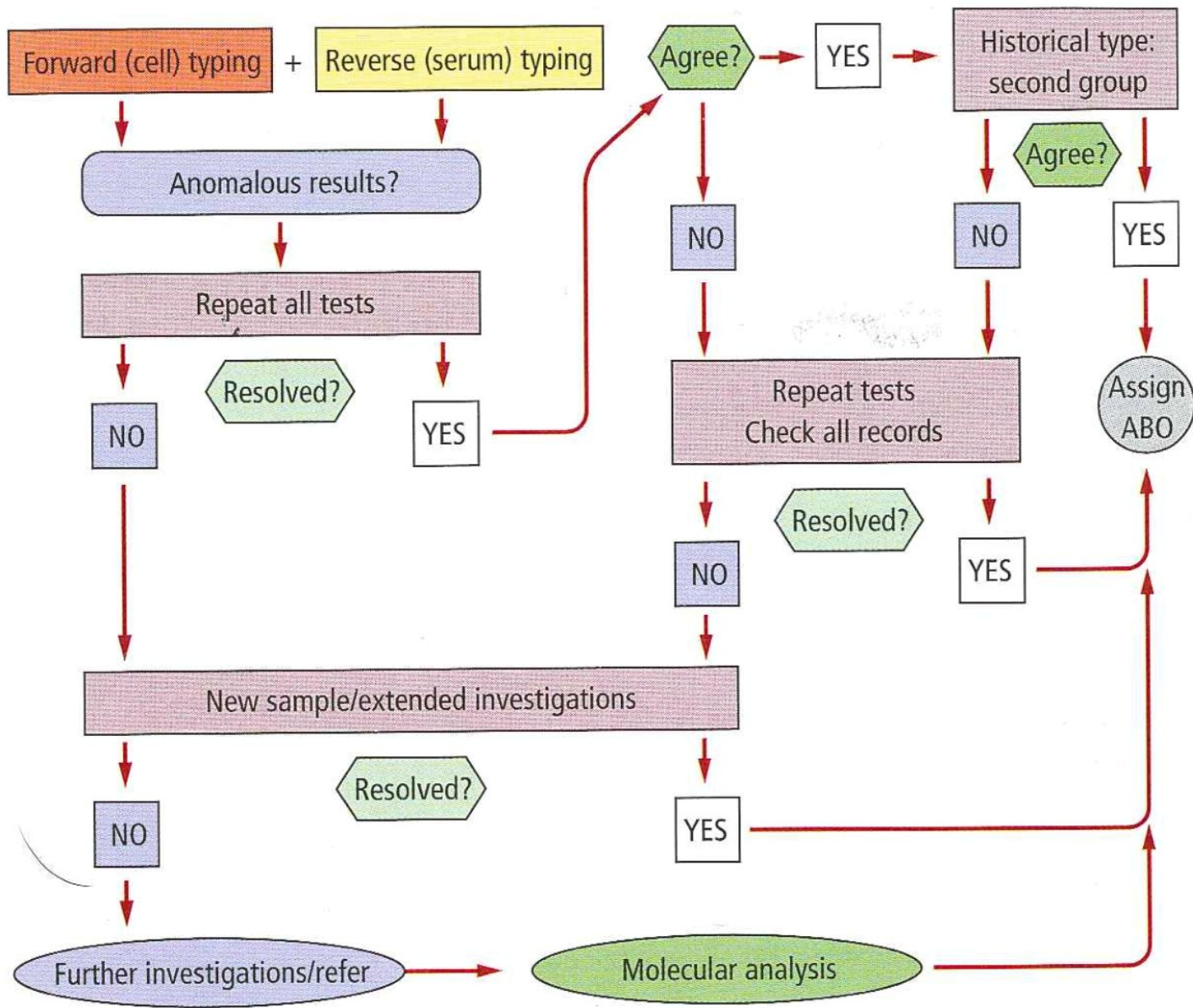
# Protocollo per le discrepanze

- 🔴 Escludere una causa tecnica
  - 🔴 Ripetere il test sullo stesso campione (controllare che il campione sia quello giusto)
  - 🔴 Verificare i reagenti (scadenza, quantità dispensata)
- 🔴 Verificare il tipo di paziente
  - 🔴 Neonato?
  - 🔴 Anziano, immunodepresso?
  - 🔴 Trapiantato di CSE allogenico?

# Cosa fare?

- 🔴 Lavare le emazie e ripetere il test
- 🔴 Richiedere un nuovo campione
- 🔴 Preincubare a temperatura ambiente (o 4°C) per 15 minuti
- 🔴 Se il problema sussiste, provare la tecnica dell'adsorbimento ed eluizione

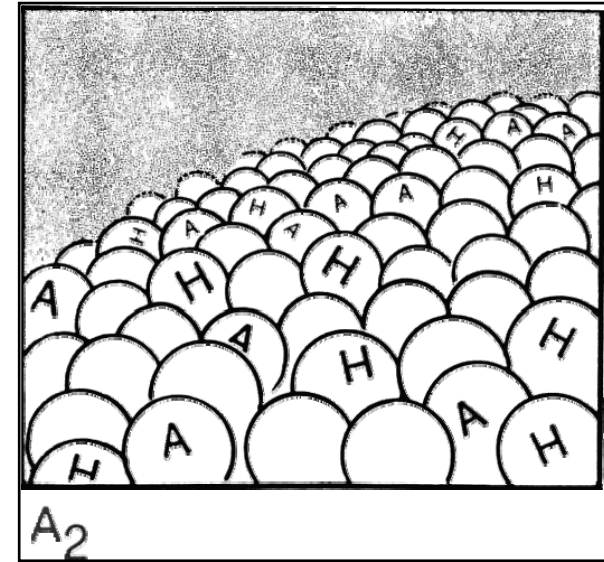


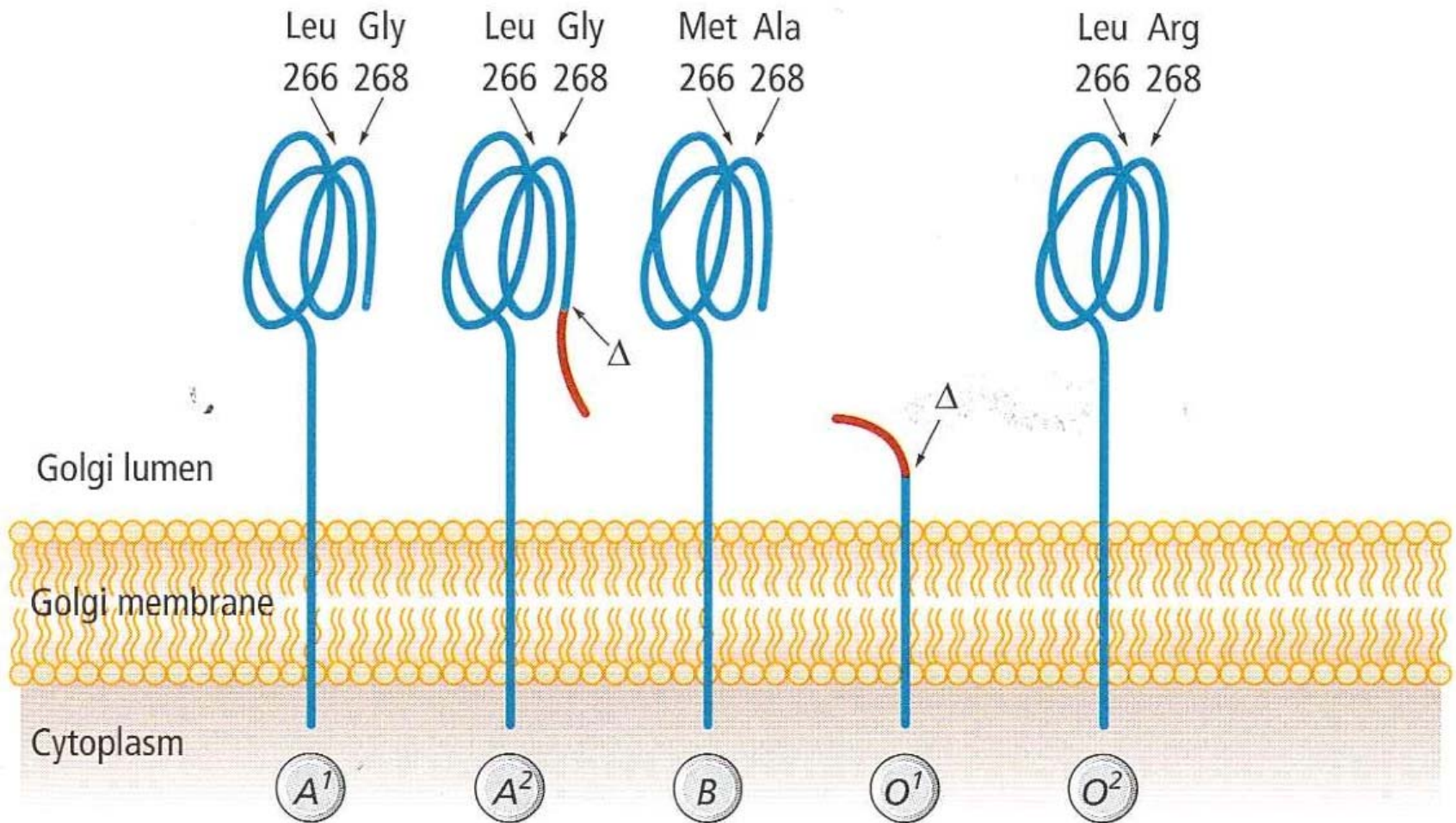


**Fig. 8.1** Flow chart for helping to resolve ABO typing discrepancies.

# Sottogruppi di A: A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub>

- 80% dei soggetti A è A<sub>1</sub> e il 20% A<sub>2</sub>
- 1/10 dei pazienti A<sub>2</sub> hanno gli anticorpi anti-A<sub>1</sub>
- Gli eritrociti di gruppo A<sub>1</sub> reagiscono con la Lectina A<sub>1</sub> (*Dolichos biflorus*)
- Gli eritrociti A<sub>2</sub> hanno sostanza H (sono fortemente reattivi con anti-H)





**Fig. 3.4** Model of glycosyltransferase products of five alleles of *ABO*, showing the positions of the amino acid substitutions that are most important in determining the specificity of the enzymes.  $\Delta$ : the position of the single nucleotide deletion in the  $A^2$  and  $O^1$  alleles that introduces a reading frameshift.

# Lectina anti-A<sub>1</sub> e anti-H



Lect. A1	Anti-H	Esito
+++	Neg	A <sub>1</sub>
Neg	+++	A <sub>2</sub>



Tabella 2 -Reazioni sierologiche osservate in alcuni gruppi ABO

Gruppo	Reazioni dei globuli rossi con anti-					Reazioni del siero con globuli rossi				ABO nella saliva
	A	B	A,B	H	A <sub>1</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B	O	
A <sub>1</sub>	4+	0	4+	0	4+	0	0	4+	0	A & H
A <sub>int</sub>	4+	0	4+	3+	2+	0	0	4+	0	A & H
A <sub>2</sub>	4+	0	4+	2+	0	†	0	4+	0	A & H
A <sub>3</sub>	2+ <sup>mf</sup>	0	2+ <sup>mf</sup>	3+	0	†	0	4+	0	A & H
A <sub>m</sub>	0/±	0	0/±	4+	0	0	0	4+	0	A & H
A <sub>x</sub>	0/±	0	1+/2+	4+	0	2+/0	1+/0	4+	0	H
A <sub>el</sub>	0	0	0	4+	0	2+/0	0	4+	0	H
B	0	4+	4+	0		4+	4+	0	0	B & H
B <sub>3</sub>	0	1+ <sup>mf</sup>	2+ <sup>mf</sup>	4+		4+	4+	0	0	B & H
B <sub>m</sub>	0	0	0/±	4+		4+	4+	0	0	B & H
B <sub>x</sub>	0	0/±	0/2+	4+		4+	4+	0	0	H

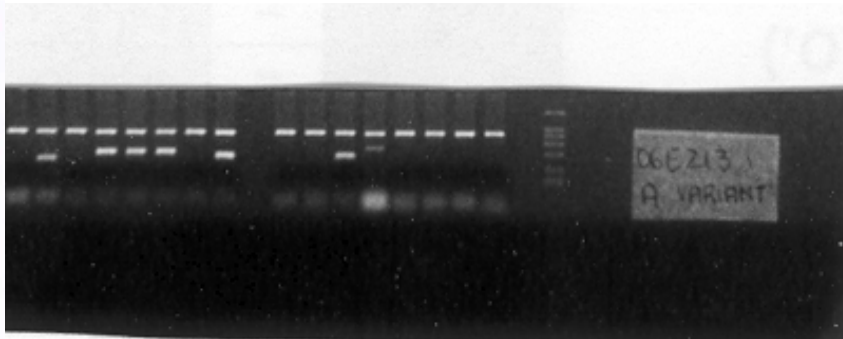
† gli anticorpi anti-A<sub>1</sub> sono riscontrati nel 1- 2% dei soggetti di gruppo A, nel 22-26% dei soggetti A<sub>2</sub>B e possono essere presenti nel siero di soggetti di gruppo A<sub>3</sub>



Spezifität Specificity	O <sup>1</sup>	non O <sup>1</sup>	O <sup>2</sup>	non O <sup>2</sup>	B <sup>1</sup>	non B <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	non A <sup>2</sup>	O <sup>1v</sup>	A <sup>4</sup>	B <sup>3</sup>	A <sup>el</sup> A <sup>w</sup>	A <sup>w</sup>	A <sup>w</sup>	B <sup>2</sup>	B <sup>w</sup>			
PCR-Produkt (bp) PCR product (bp)	134	133	194	193	195	194	172	173	240	170	170	238 148	234	235	173	181			
Reaktions-Nr. Reaction No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Genotyp Genotype	Phänotyp Phenotype	
Häufige Allele in Kombination mit O <sup>1</sup> / common alleles in combination with O <sup>1</sup>																			
Position 1-positive (O <sup>1</sup> )	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	O <sup>1</sup> O <sup>1</sup>	O	
	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	O <sup>1</sup> O <sup>1v</sup>	O	
	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	O <sup>1</sup> O <sup>2</sup>	O	
	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	O <sup>1</sup> B <sup>1</sup> §	B	
	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	O <sup>1</sup> A <sup>1</sup> ⊙	A <sub>1</sub>	
	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	O <sup>1</sup> A <sup>2</sup> §	A <sub>2</sub>	
	Seltene Allele in Kombination mit O <sup>1</sup> / rare alleles in combination with O <sup>1</sup>																		
	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	O <sup>1</sup> B <sup>3</sup>	B <sub>3</sub>
	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	O <sup>1</sup> B <sup>x</sup>	B <sub>x</sub>
	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	O <sup>1</sup> B <sup>w</sup>	B <sub>w</sub>
	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	O <sup>1</sup> A <sup>3</sup>	A <sub>3</sub>
	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	O <sup>1</sup> A <sub>x</sub>	A <sub>x</sub>
	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	238	-	-	-	-	O <sup>1</sup> A <sup>el</sup>	A <sup>el</sup>
	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	148*	234*	235*	-	-	O <sup>1</sup> A <sup>w*</sup>	A <sub>w</sub>
Häufige Allele in Kombination mit O <sup>2</sup> / common alleles in combination with O <sup>2</sup>																			
Position 3-positive (O <sup>2</sup> )	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	O <sup>2</sup> O <sup>2</sup>	O	
	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	O <sup>2</sup> O <sup>1v</sup>	O	
	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	O <sup>2</sup> B <sup>1*</sup> §	B	
	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	O <sup>2</sup> A <sup>1</sup> ⊙	A <sub>1</sub>
	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	O <sup>2</sup> A <sup>2</sup> §	A <sub>2</sub>
	Seltene Allele in Kombination mit O <sup>2</sup> / rare alleles in combination with O <sup>2</sup>																		
	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	O <sup>2</sup> B <sup>3</sup>	B <sub>3</sub>
	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	O <sup>2</sup> B <sup>x</sup>	B <sub>x</sub>
	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	O <sup>2</sup> B <sup>w</sup>	B <sub>w</sub>
	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	O <sup>2</sup> A <sup>3</sup>	A <sub>3</sub>
	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	238	-	-	-	-	O <sup>2</sup> A <sub>x</sub>	A <sub>x</sub>
	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	O <sup>2</sup> A <sup>el</sup>	A <sup>el</sup>
	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	148*	234*	235*	-	-	O <sup>2</sup> A <sup>w*</sup>	A <sub>w</sub>
	Häufige Allele in Kombination mit O <sup>1v</sup> / common alleles in combination with O <sup>1v</sup>																		
Position 1+9-positive (O <sup>1v</sup> )	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	O <sup>1v</sup> O <sup>1v</sup>	O	
	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	O <sup>1v</sup> A <sup>1</sup> ⊙	A <sub>1</sub>	
	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	O <sup>1v</sup> A <sup>2</sup> §	A <sub>2</sub>	
	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	O <sup>1v</sup> B <sup>1</sup> §	B
	Seltene Allele in Kombination mit O <sup>1v</sup> / rare alleles in combination with O <sup>1v</sup>																		
	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	O <sup>1v</sup> B <sup>3</sup>	B <sub>3</sub>
	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	O <sup>1v</sup> B <sup>x</sup>	B <sub>x</sub>
	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	O <sup>1v</sup> B <sup>w</sup>	B <sub>w</sub>
	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	O <sup>1v</sup> A <sup>3</sup>	A <sub>3</sub>
	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	O <sup>1v</sup> A <sub>x</sub>	A <sub>x</sub>
	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	238	-	-	-	-	-	O <sup>1v</sup> A <sup>el</sup>	A <sup>el</sup>
	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	148*	234*	235*	-	-	-	O <sup>1v</sup> A <sup>w*</sup>	A <sub>w</sub>
	Häufige Allele in Kombination mit B <sup>1</sup> / common alleles in combination with B <sup>1</sup>																		
	Position 5-positive (B <sup>1</sup> )	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	B <sup>1</sup> B <sup>1*</sup> §	B
-		+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	A <sup>1</sup> ⊙B <sup>1</sup> §	A <sub>1</sub> B
-		+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	A <sup>2</sup> B <sup>1</sup>	A <sub>2</sub> B
Seltene Allele in Kombination mit B <sup>1</sup> / rare alleles in combination with B <sup>1</sup>																			
-		+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	A <sup>3</sup> B <sup>1</sup> §/A <sup>1</sup> B <sup>x</sup>	A <sub>3</sub> B/A <sub>1</sub> B <sub>x</sub>
-		+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	A <sup>x</sup> B <sup>1</sup> §/A <sup>1</sup> B <sup>3</sup>	A <sub>x</sub> B/A <sub>1</sub> B <sub>3</sub>
-		+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	A <sup>3</sup> B <sup>1</sup> §/A <sup>1</sup> B <sup>x</sup>	A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> /A <sub>1</sub> B <sub>x</sub>
-		+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	A <sup>1</sup> B <sup>w</sup>	A <sub>1</sub> B <sub>w</sub>
-		+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	A <sup>3</sup> B <sup>w</sup>	A <sub>3</sub> B <sub>w</sub>
-		+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	238	-	-	-	-	A <sup>el</sup> B <sup>1</sup>	A <sup>el</sup> B
-		+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	148*	234*	235*	-	-	A <sup>w</sup> B <sup>1*</sup> §	A <sub>w</sub> B
Häufige Allele mit A <sup>1</sup> , seltene Varianten sind im Auswertediagramm aufgelistet / common alleles with A <sup>1</sup> , rare variants are listed on the Evaluation Diagram																			
Position 2/4/6- positive (non O <sup>1</sup> /O <sup>2</sup> /B <sup>1</sup> )		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	A <sup>1</sup> A <sup>1</sup> ⊙	A <sub>1</sub>
		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	A <sup>1</sup> A <sup>1</sup> ⊙§
	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	A <sup>2</sup> A <sup>2</sup> §	A <sub>2</sub>

Genotipo=A<sup>el</sup>B<sup>1</sup>

Fenotipo=A<sub>el</sub>B



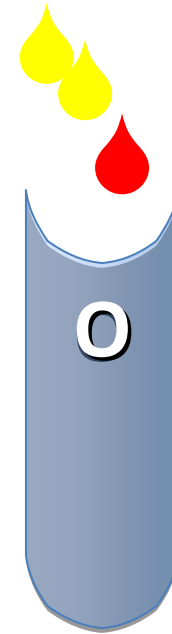
Ergebnis Result	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Genotyp Genotype	Phänotyp Phenotype
		+		+	+	+					+	+					A <sup>el</sup> B <sup>1</sup>	A <sub>el</sub> B

Da L. Mascaretti, Lezione 2 Il sistema ABO

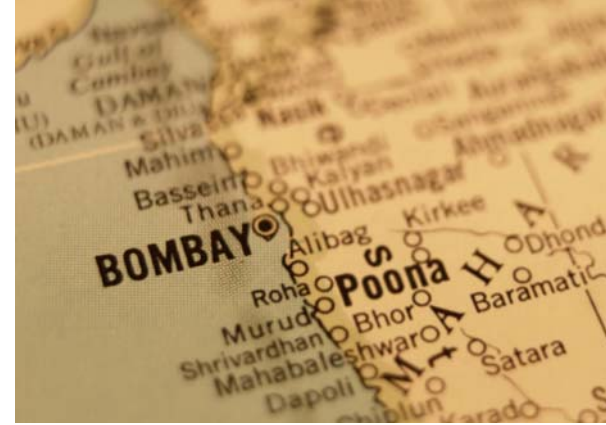
# E quando ho le emazie O positive?

Può essere:

- 🔴 Iperproteïnemia nel plasma
- 🔴 Presenza di anticorpi irregolari freddi (le cui cellule O sono positive per l'antigene)
- 🔴 Interferenza (guarda l'Ac)
- 🔴 Gruppo O Bombay ( $O_h$ )



# Fenotipo Bombay



- 🔴 Raro gruppo sanguigno
- 🔴 Il paziente non ha la catena precursore H (è omozigote h/h)
- 🔴 Ha il gene ABO\*A e/o ABO\*B ma non può esprimersi fenotipicamente
- 🔴 Presenta un potente anticorpo anti-H completo, emolitico e con grande significato clinico
- 🔴 Può essere trasfuso solo con altri individui O<sub>h</sub>

# Identificazione di un fenotipo Bombay

- 🔴 Emazie **non** reattive con anti-H
- 🔴 Presenza nel siero di un allonaticorpo panreattivo che agglutina tutti i donatori
- 🔴 Siero compatibile solo con emazie di altri Bombay
- 🔴 Emazie non agglutinate dal siero di altri Bombay

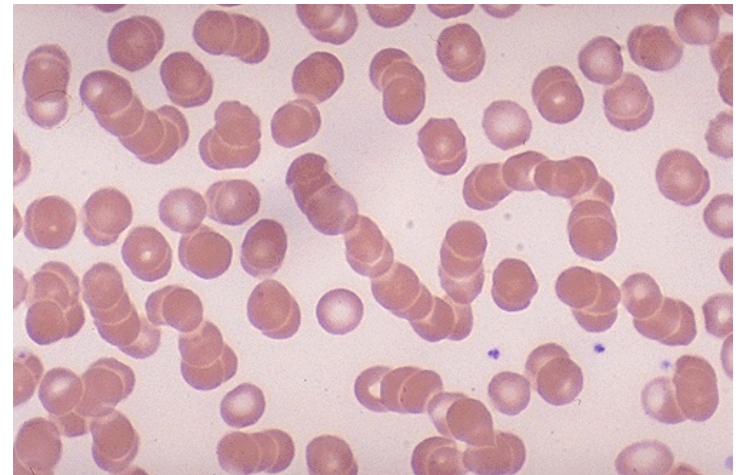
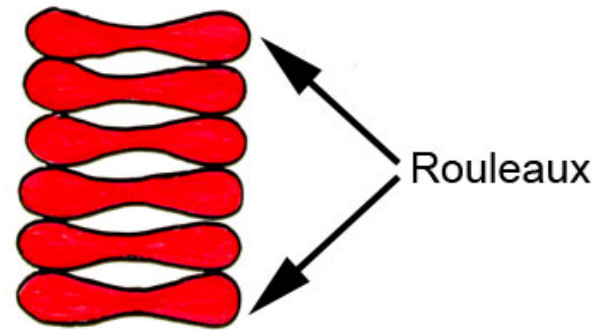
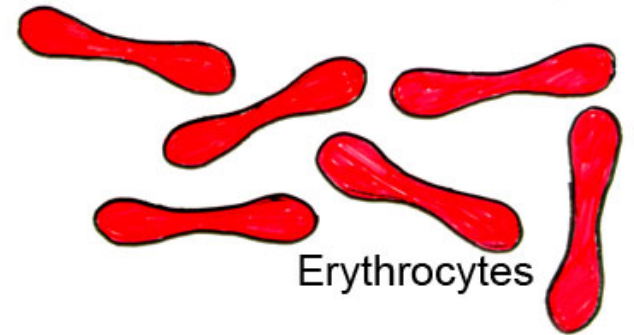


# Impilati (Rouleaux)

- Iperproteïnemia nel plasma del paziente (M. di Waldenström)
- Reagenti ad alto PM (albumine)



**Eeguire sostituzione del plasma con fisiologica**



# La reazione Mixed-Field (CM)

Doppia popolazione di eritrociti:

- 🔴 Tipica della trasfusione di EC non omogrupo
- 🔴 Trapianto di Midollo osseo e CSE
- 🔴 Passaggio emazie fetomaternali



# Gelatina di Wharton

Tessuto connettivo lasso del cordone ombelicale

- ⇒ Lavare abbondantemente le emazie con fisiologica
- ⇒ Richiedere un campione da prelievo periferico



# Anticorpi inattesi

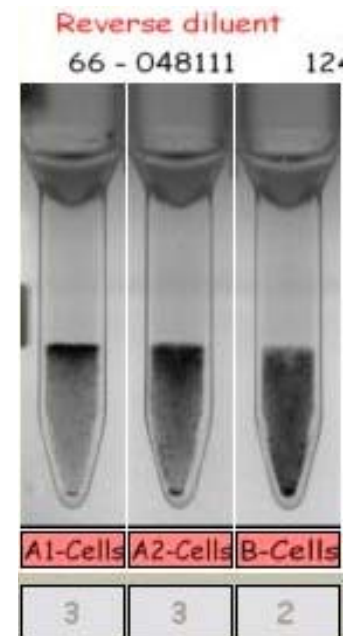
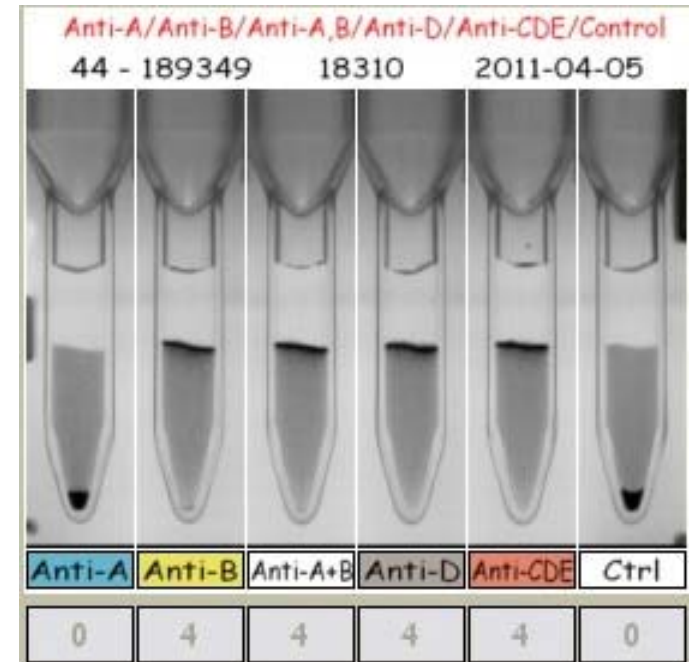
Anticorpi che non ci si attende:

🔴 AutoAb freddi panreattivi

🔴 Ab irregolari che reagiscono a 20°C

➡ Eseguire i test a caldo

➡ Rimuovere l'autoanticorpo



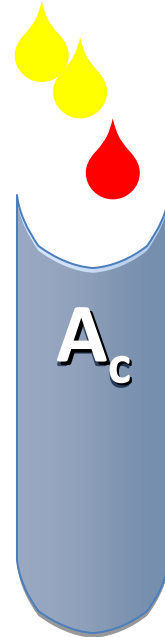


# Quale controllo per gli autoanticorpi?

Eseguire sempre un autocontrollo

🔴 Emazie del paziente con siero del paziente

🔴 Se positivo c'è un problema sierico (autoanticorpo, iperproteïnemia, ...)



# Ricordarsi!!!

- 🔴 L'errore clericale è in ASSOLUTO il più temuto e il più frequente
- 🔴 Un errore nell'identificazione del campione può essere fatale per il paziente
- 🔴 Effettuare i CQI con campioni noti
- 🔴 Usare sempre il sistema Check e Ri-Check
- 🔴 Il gruppo sanguigno va riconfermato su un secondo prelievo (oppure con il dato storico del database)