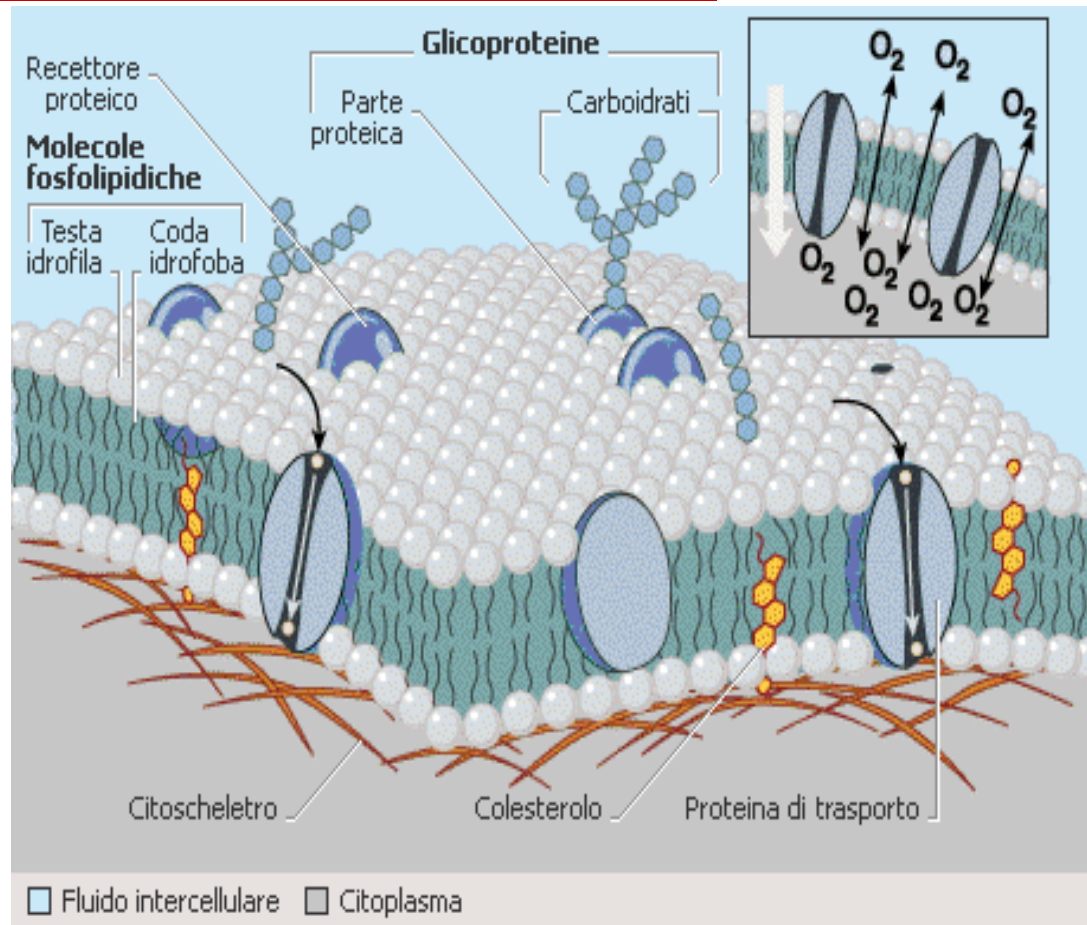


La superficie del globulo rosso è ricca di complesse strutture aventi caratteristiche antigeniche



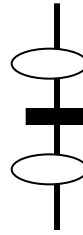
○ Galattosio

— N-acetil-glucosamina

▲ Fucosio

★ N-acetil-galattosamina

Glicolipide di base



eritrocita

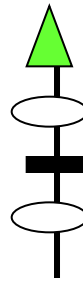
○ Galattosio

— N-acetil-glucosamina

▲ Fucosio

★ N-acetil-galattosamina

Sostanza H

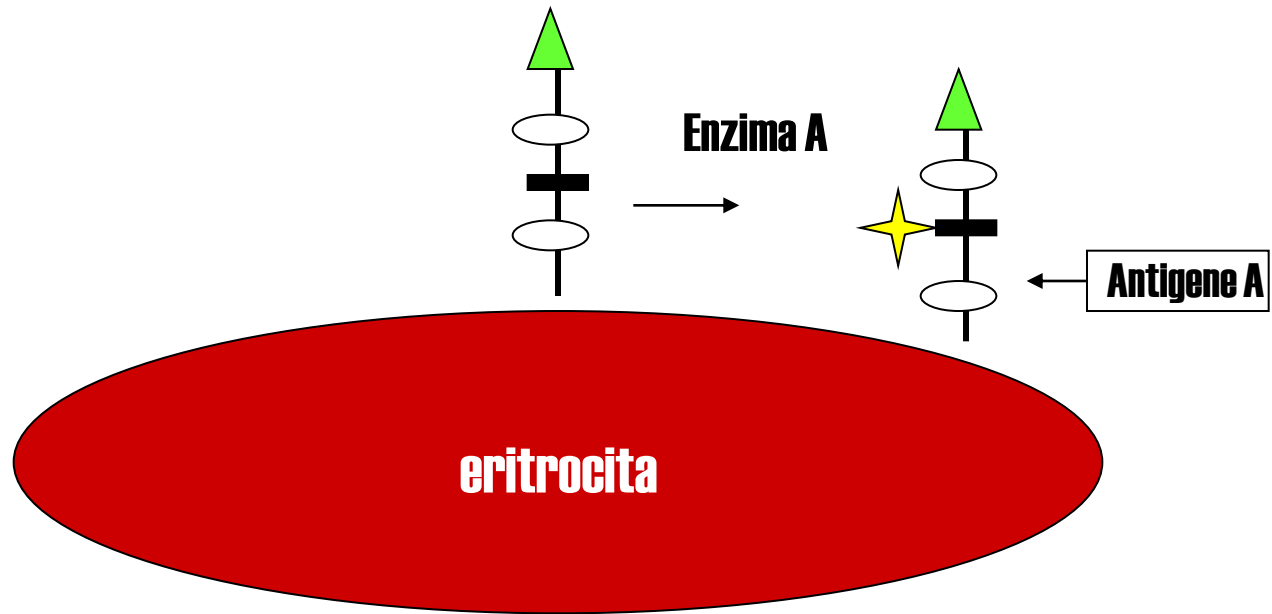


○ Galattosio

■ N-acetil-glucosamina

▲ Fucosio

★ N-acetil-galattosamina

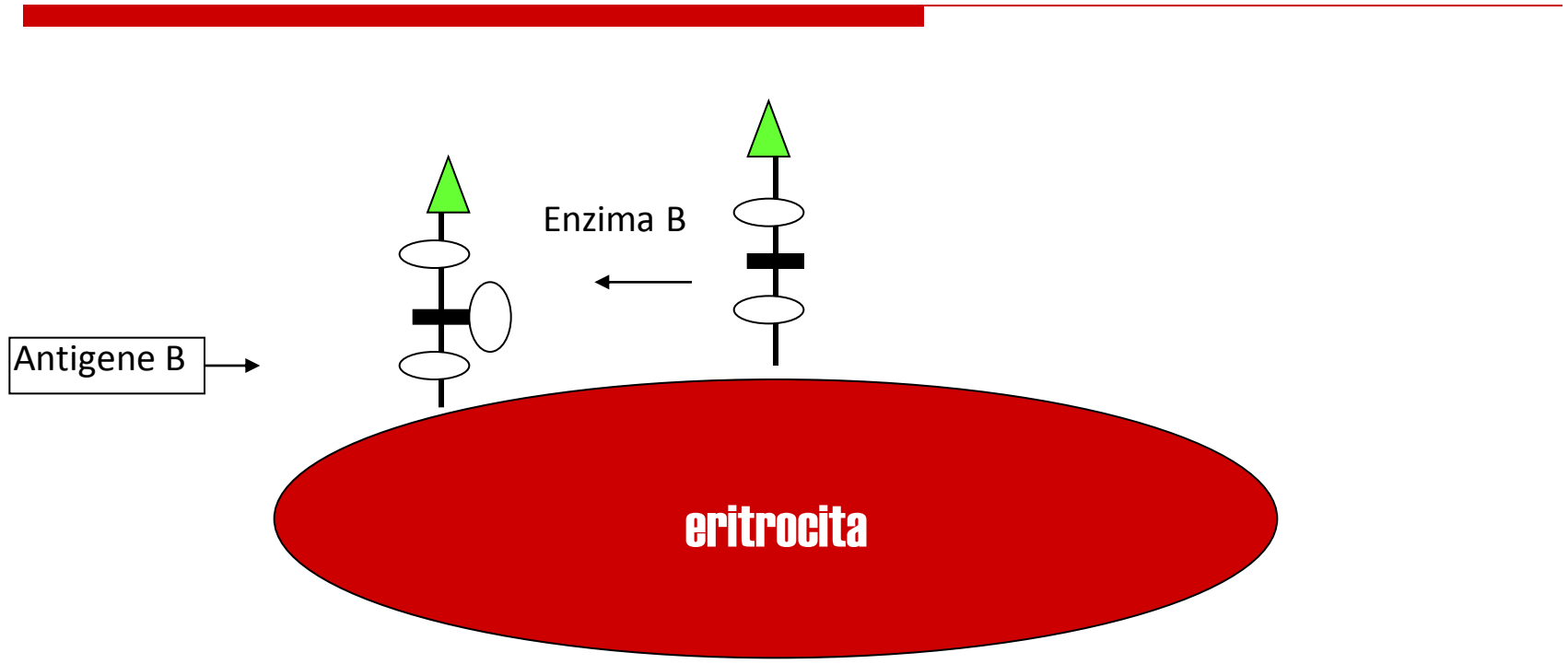


○ D-galattosio

■ N-acetil-glucosamina

▲ Fucosio

★ N-acetil-galattosamina

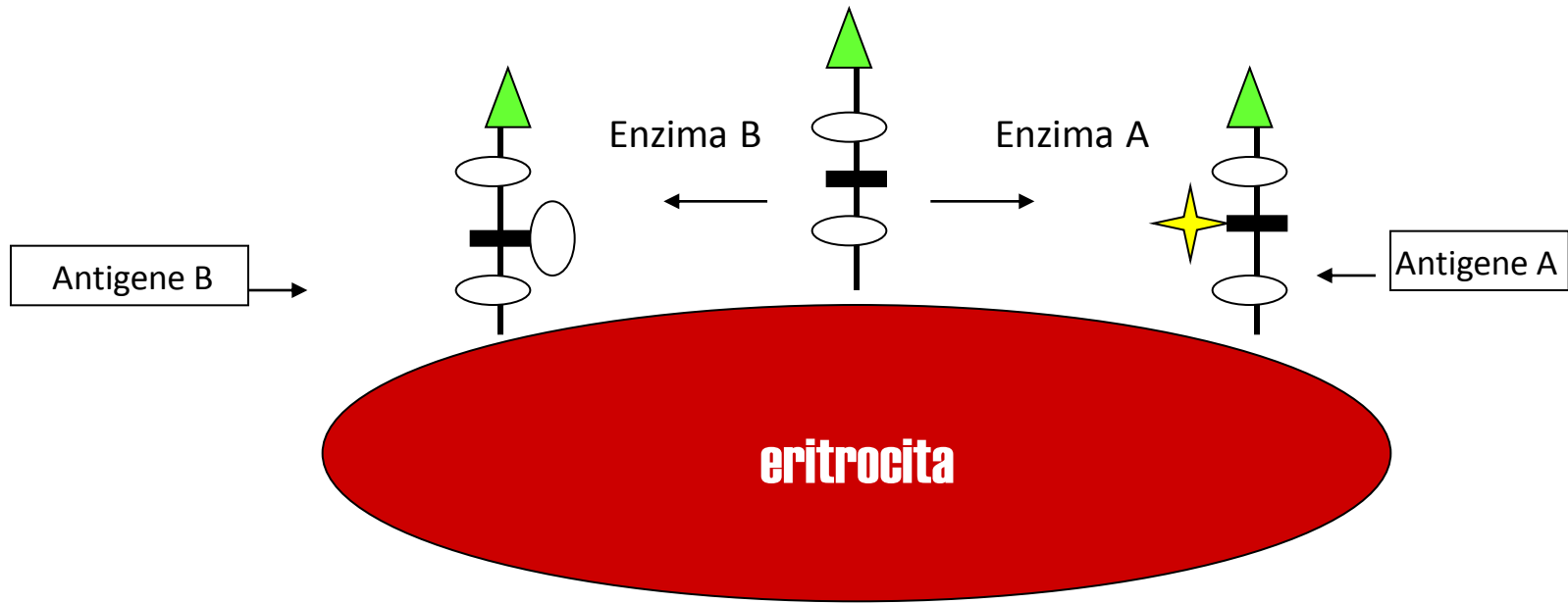


○ Galattosio

■ N-acetil-glucosamina

▲ Fucosio

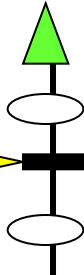
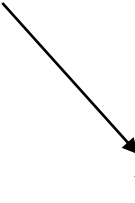
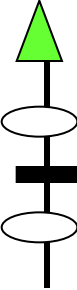
★ N-acetil-galattosamina



Gene A



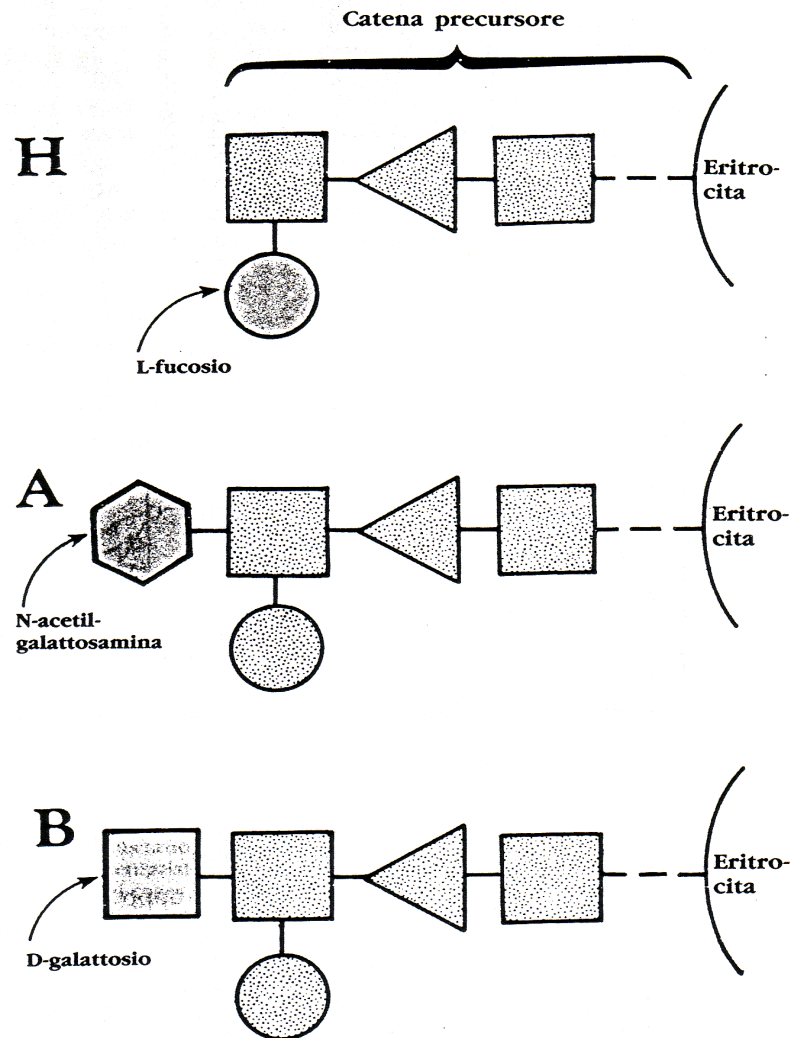
Enzima A (*N* acetil galattosammin transferasi)



Antigene A



Struttura oligosaccaridica degli antigeni H, A e B

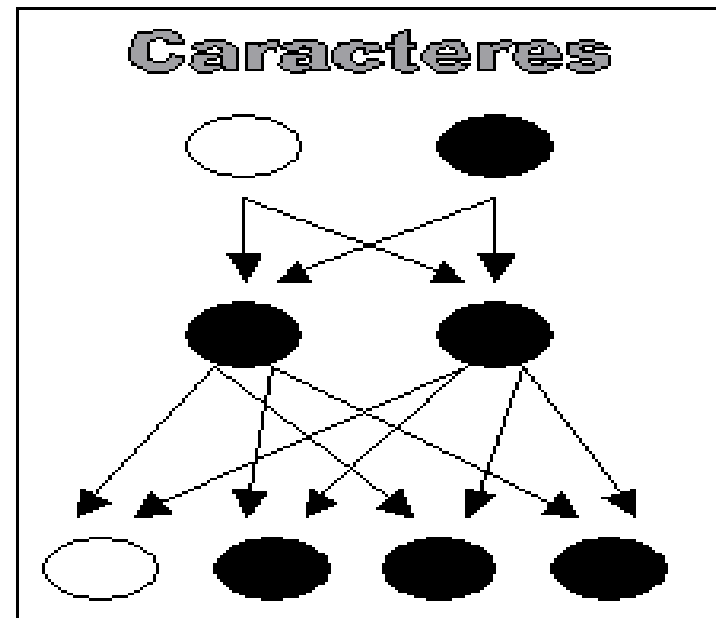
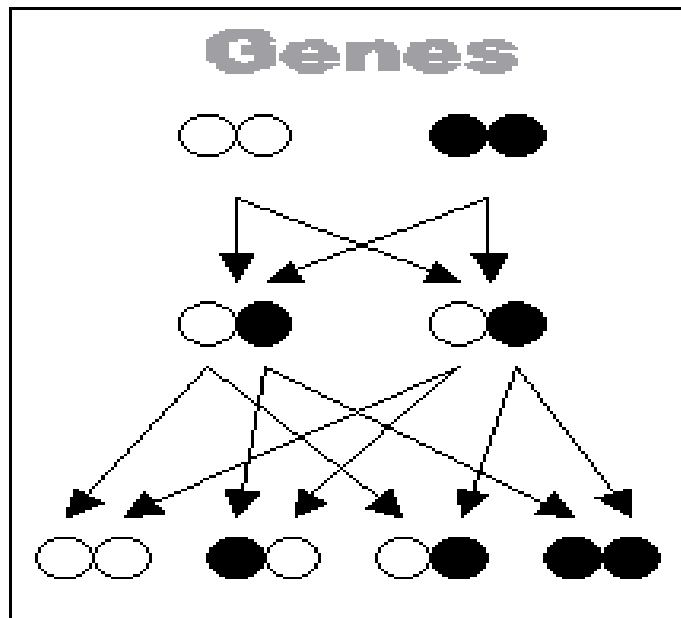


Il **genotipo** è l'insieme dei geni posseduti da un individuo per un carattere.

Il **fenotipo** è la manifestazione esterna di un carattere.

Il **locus genico** è la posizione specifica che un gene occupa nel cromosoma, quindi tutte le forme alleliche di un gene si trovano in posizioni corrispondenti su cromosomi geneticamente simili (i cromosomi omologhi).

RATAS



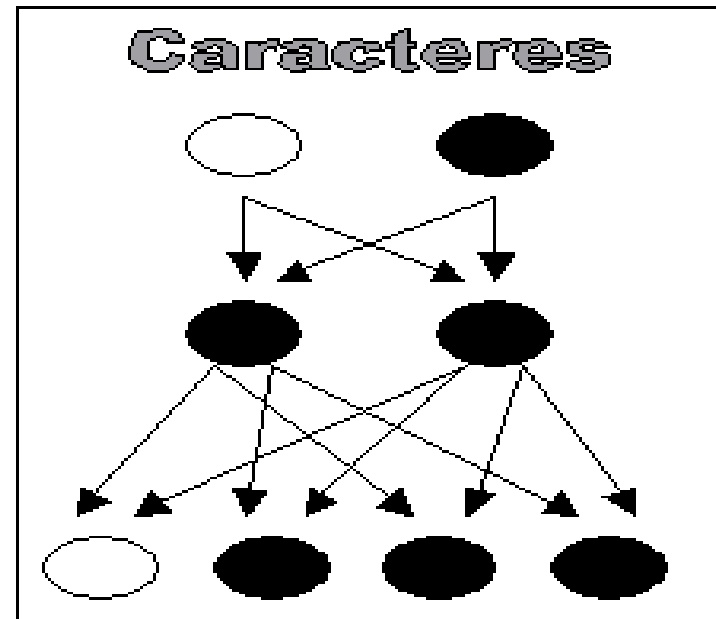
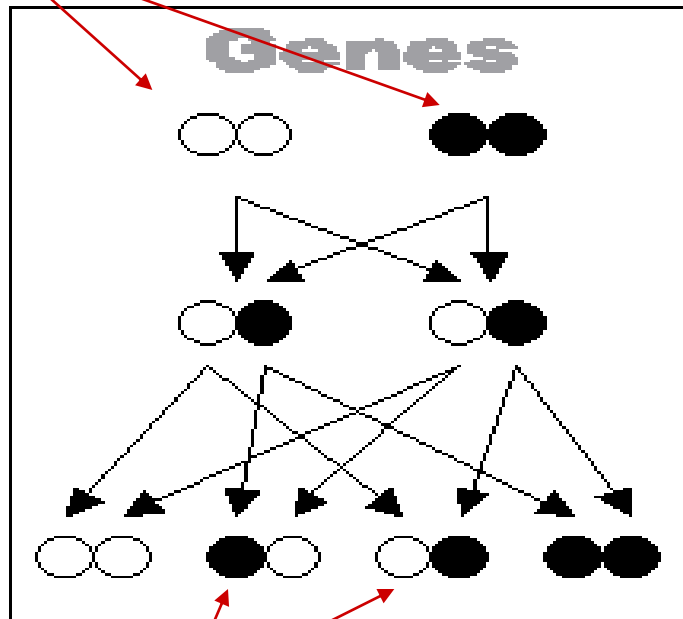
La presenza degli antigeni A e B è sotto il controllo genico

La trasmissione di questi geni avviene secondo le leggi di Mendel

I geni A e B sono codominanti mentre il gene 0 è recessivo

omozigote

RATAS



eterozigote

Come nella maggior parte dei sistemi gruppo-ematici si tratta di geni alleli.

Quando i due loci di una coppia di cromosomi sono occupati da geni identici si dice che l'individuo è *omozigote* per quel gene ed il rispettivo antigene viene sintetizzato in doppia dose.

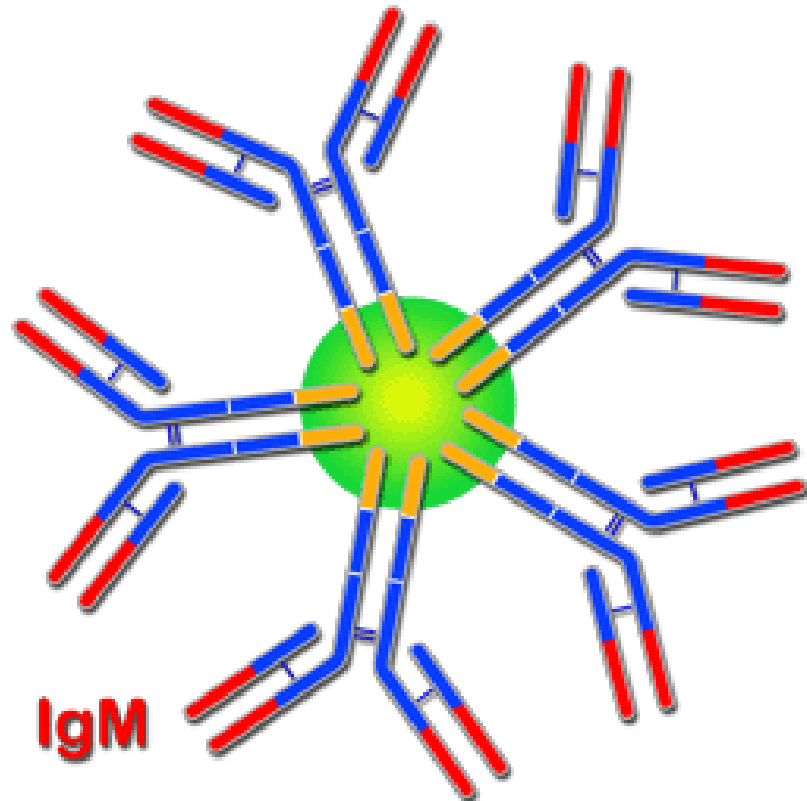
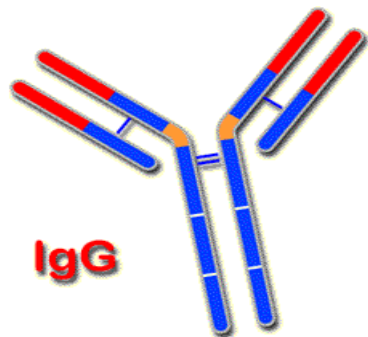
Quando nei due loci sono presenti geni diversi si dice, invece, *eterozigote* e l'antigene, controllato dal gene, viene prodotto in singola dose.

Fenotipo	Possibile genotipo
A	AA A0
B	BB B0
AB	AB
O	00

La natura chimica degli antigeni eritrocitari non è completamente nota per tutti

Nella denominazione degli antigeni eritrocitari non è stato seguito un criterio logico

Per alcuni antigeni è stata effettuata una conta delle molecole presenti sulla superficie di ogni singolo globulo rosso



Leggi sulle agglutinine di Landsteiner

Nel siero è sempre assente l'agglutinina diretta verso l'antigene presente sui propri globuli rossi

Nel siero è sempre presente l'agglutinina diretta verso l'antigene assente sui propri globuli rossi

Antigene	Fenotipo (gruppo)	Anticorpo	Frequenza (nella razza bianca)
A	A	Anti-B	45%
B	B	Anti-A	9%
AB	AB	-	3%
-	0	Anti-A,B	43%

Schema della compatibilità tra gruppi

Donatore

R

i

c

e

v

e

n

t

e

	A	B	AB	O
A	si	no	no	si
B	no	si	no	si
AB	si	si	si	si
O	no	no	no	si

DPR 24 agosto 1971 n.1256

69. La ricerca degli antigeni del sistema ABO deve essere eseguita con l'impiego di sieri anti-A, anti-B, anti-A+B (siero di gruppo 0)...
70. La ricerca delle agglutinine regolari nel siero deve essere eseguita utilizzando emazie note di gruppo A₁, B e 0...
-

La tipizzazione del sistema AB0 deve necessariamente includere:

- Un test eseguito sugli eritrociti:
prova globulare o test diretto

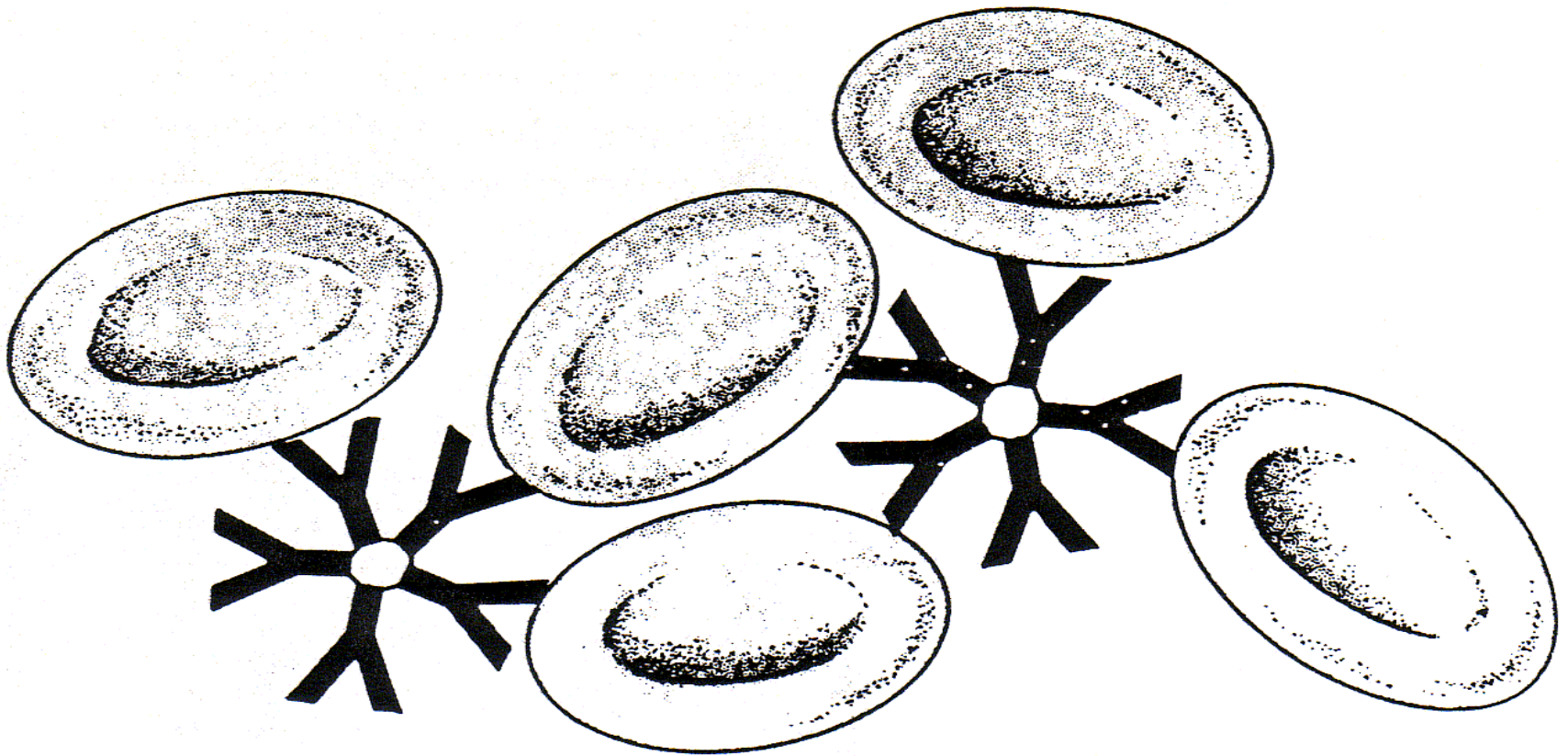
 - Un test eseguito sul siero:
prova sierica o test indiretto
-

Prova globulare

Scopo: serve a dimostrare la presenza o l'assenza degli antigeni A e/o B sugli eritrociti

Esecuzione: le emazie da esaminare vengono testate con antisieri anti-A ed anti-B ed osservate per rilevare la presenza o l'assenza di agglutinazione.

Agglutinazione eritrocitaria



Antisieri per la prova globulare



Prova globulare

Emazie	Antisiero anti-A	Antisiero anti-B
A	+	-
B	-	+
AB	+	+
0	-	-

L'antisiero anti-A,B

- ❑ Non è una miscela di anti-A + anti-B
 - ❑ E' un componente del siero di gruppo 0
 - ❑ E' più efficace dei singoli anti-A o anti-B nell'individuare gli antigeni espressi debolmente sugli eritrociti
-

Prova globulare

Emazie	Antisiero anti-A	Antisiero anti-B	Antisiero anti-A,B
A	+	-	+

Prova globulare

Emazie	Antisiero anti-A	Antisiero anti-B	Antisiero anti-A,B
A	+	-	+
B	-	+	+

Prova globulare

Emazie	Antisiero anti-A	Antisiero anti-B	Antisiero anti-A,B
A	+	-	+
B	-	+	+
AB	+	+	+

Prova globulare

Emazie	Antisiero anti-A	Antisiero anti-B	Antisiero anti-A,B
A	+	-	+
B	-	+	+
AB	+	+	+
0	-	-	-

Prova globulare

Emazie	Antisiero anti-A	Antisiero anti-B	Antisiero anti-A,B
A	+	-	+
B	-	+	+
AB	+	+	+
0	-	-	-
A debole	-	-	+

Prova sierica

Scopo: serve a dimostrare la presenza delle agglutinine regolari anti-A o anti-B

Esecuzione: al siero del soggetto in esame si aggiungono emazie A₁ ed emazie B e, dopo centrifugazione, si verifica la presenza di agglutinazione

Prova sierica

Siero in esame	Emazie A ₁	Emazie B
A	-	+

Prova sierica

Siero in esame	Emazie A ₁	Emazie B
A	-	+
B	+	-

Prova sierica

Siero in esame	Emazie A ₁	Emazie B
A	-	+
B	+	-
AB	-	-

Prova sierica

Siero in esame	Emazie A ₁	Emazie B
A	-	+
B	+	-
AB	-	-
0	+	+

Prova sierica

Siero in esame	Emazie A ₁	Emazie B
A	-	+
B	+	-
AB	-	-
0	+	+

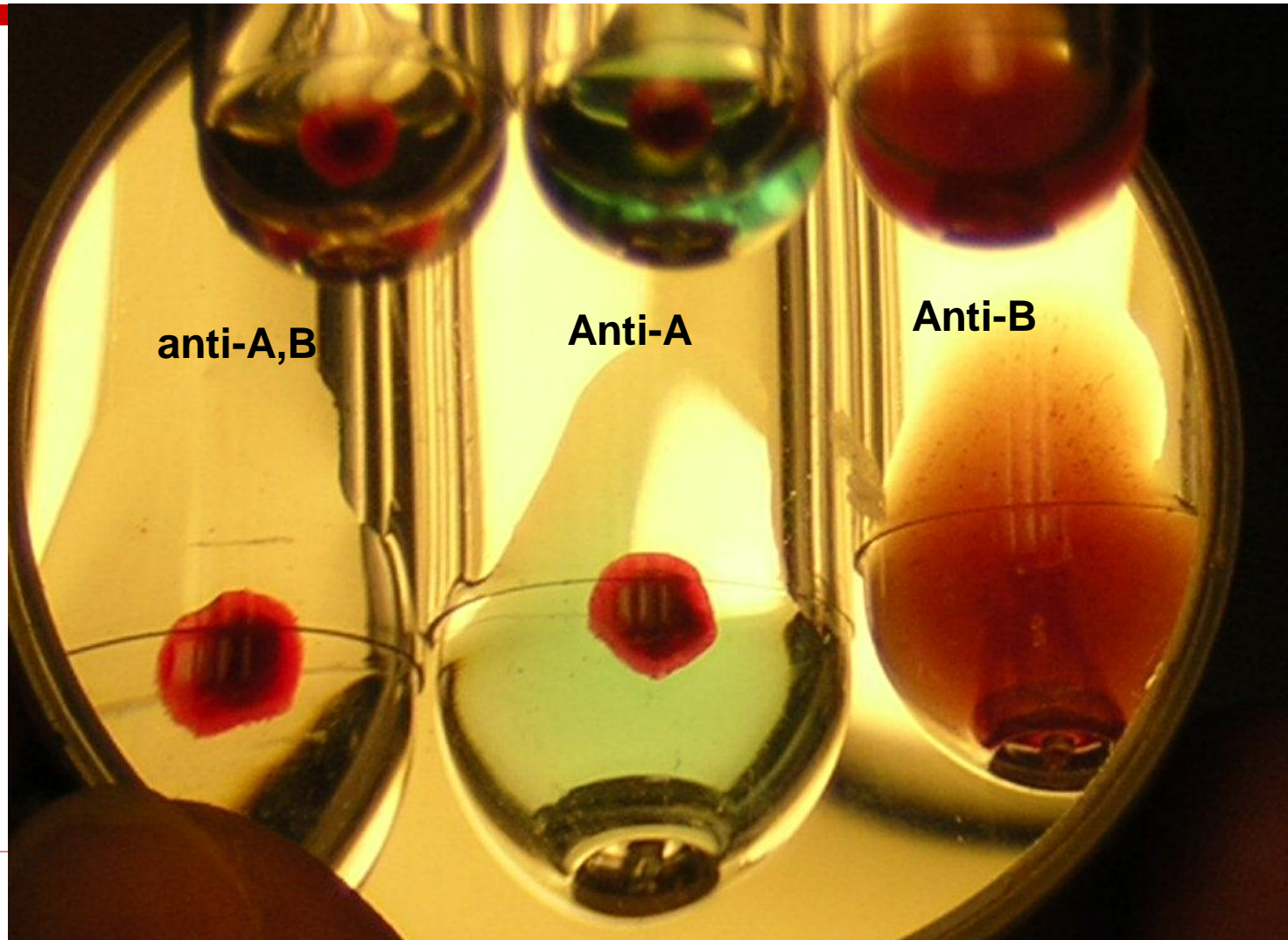
Tecniche per la tipizzazione del sistema AB0

- Vetrino
 - Provetta
 - Micropiastra
 - Microcolonna
-

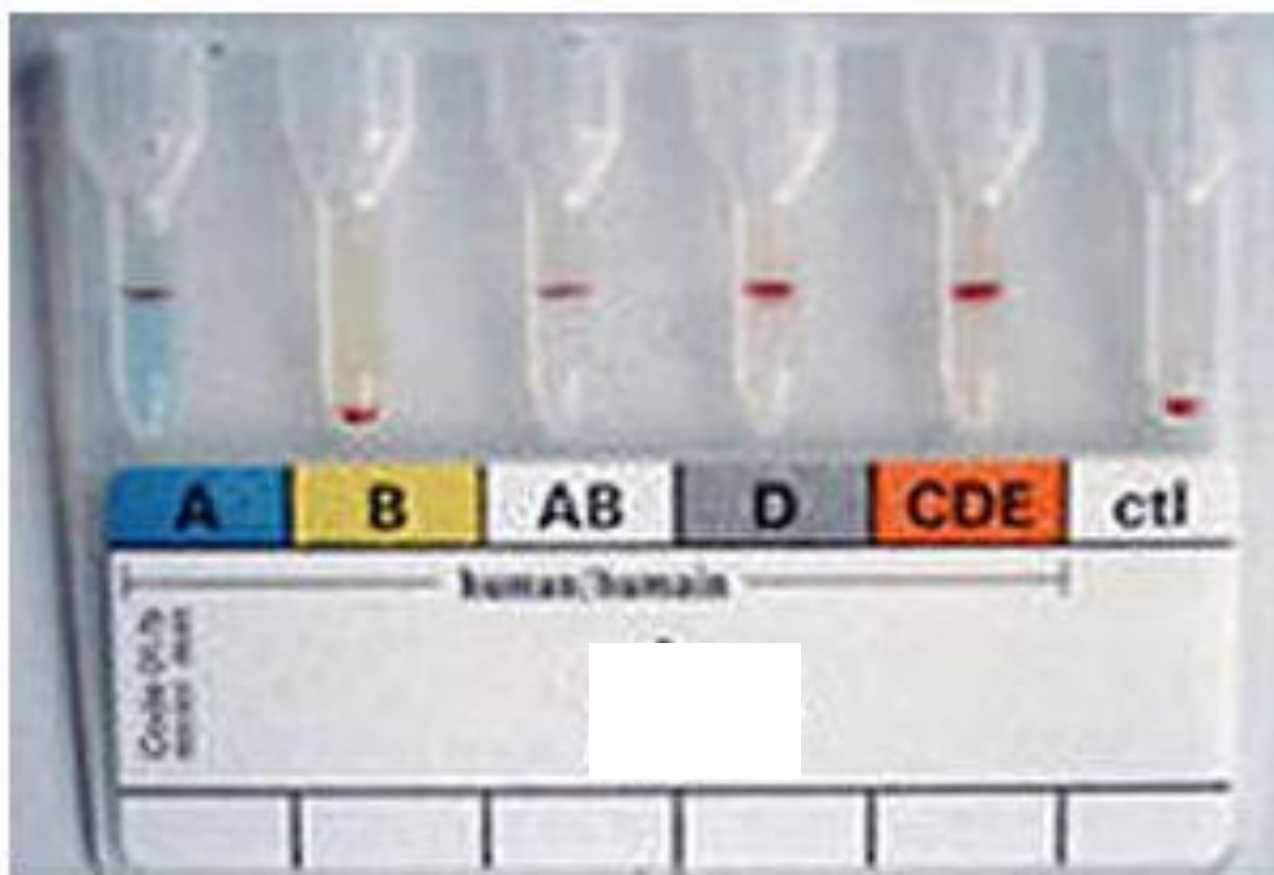
Tipizzazione ABO: metodica su vetrino



Tipizzazione AB0: metodica in provetta



Prova globulare su microcolonna



Prova sierica

Reagenti aggiuntivi (1)

Emazie di gruppo 0

Servono a smascherare l'eventuale presenza di anticorpi eritrocitari irregolari che possono interferire con la prova sierica.

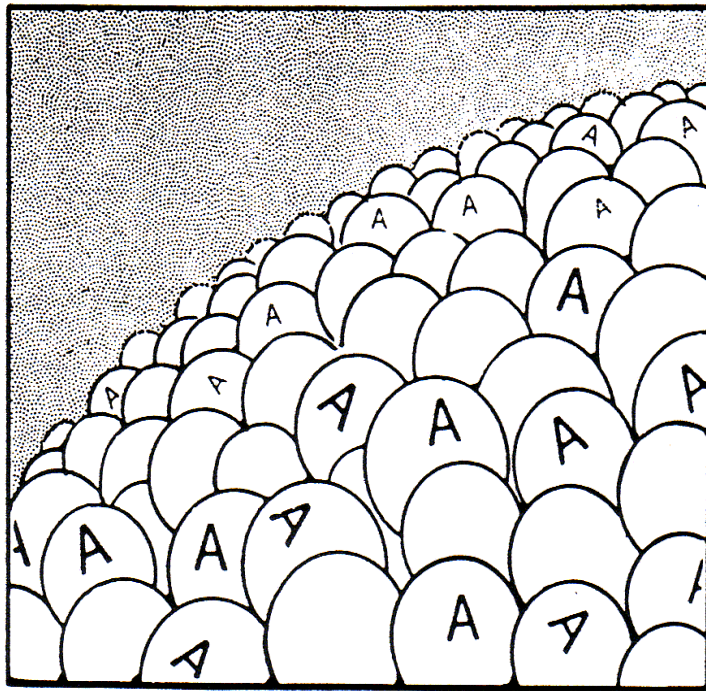
Prova sierica

Reagenti aggiuntivi (2)

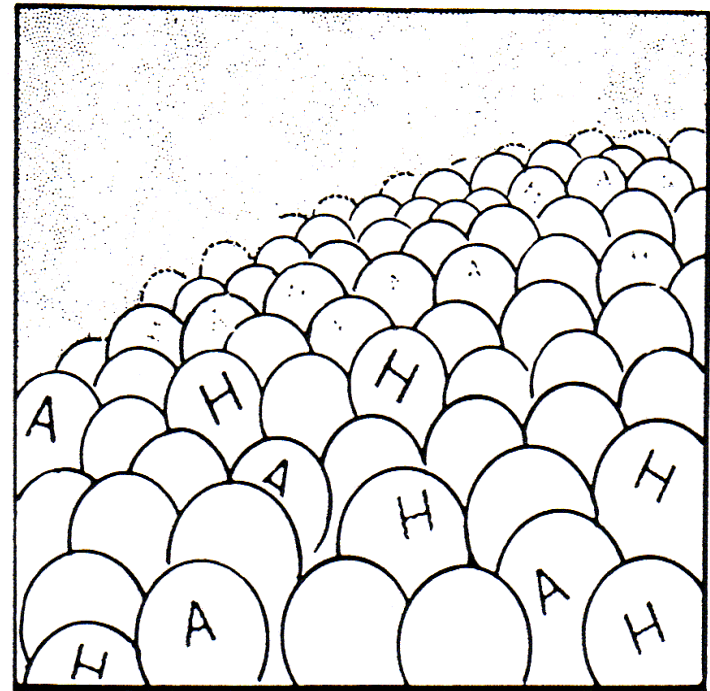
Emazie di gruppo A₂

Servono a facilitare il riconoscimento di anticorpi anti emazie A₁ presenti nel siero di soggetti con fenotipo debole di A.

Fenotipo A_1 e fenotipo A_2



A_1



A_2

Prova sierica

Siero in esame	Emazie A ₁	Emazie A ₂	Emazie B	Emazie 0
A	-	-	+	-
B	+	+	-	-
AB	-	-	-	-
0	+	+	+	-
A debole	+	-	+	-

Prova sierica

Reagenti aggiuntivi (3)

Emazie autologhe

Servono a svelare la presenza nel siero di anticorpi diretti contro le proprie emazie.

Prova globulare e prova sierica

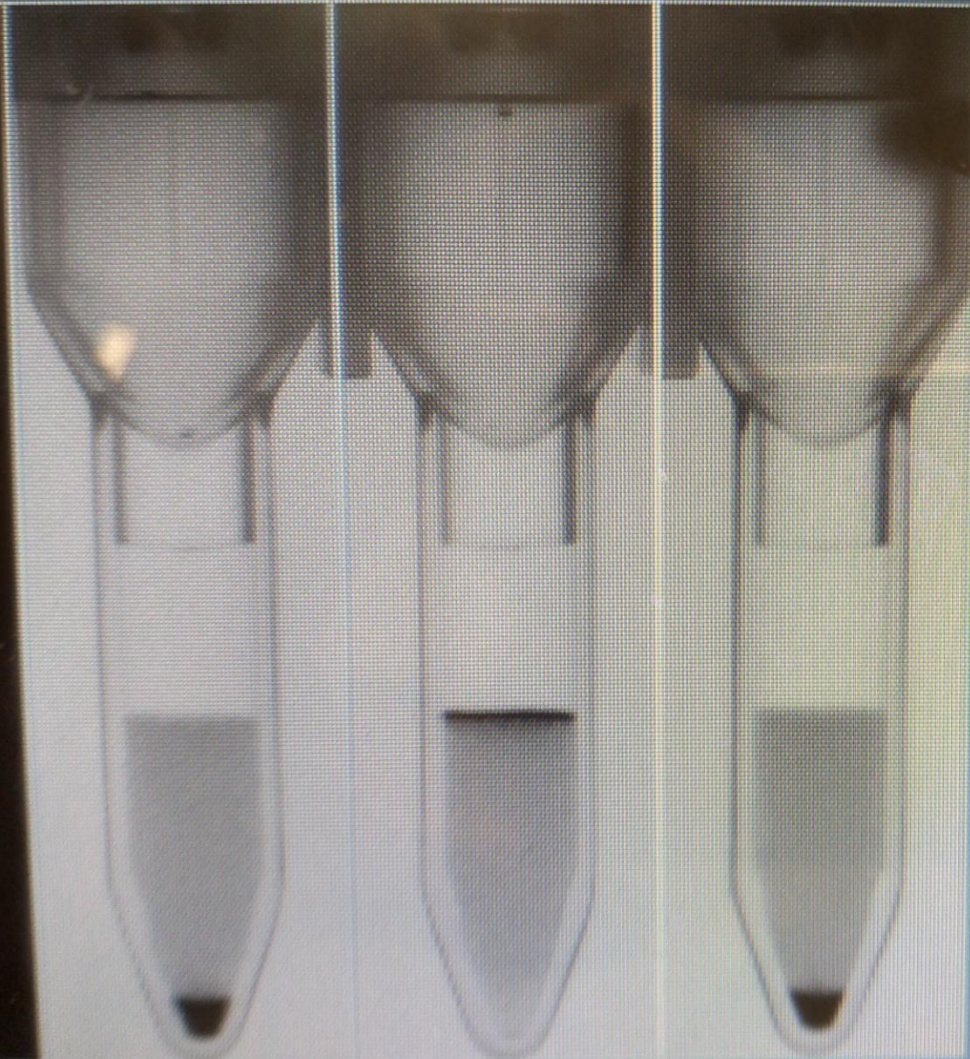
- Debbono sempre essere eseguite entrambe
 - I risultati debbono coincidere
 - Se si osservano discrepanze o se le emazie reagiscono debolmente con un antisiero, occorre effettuare ulteriori indagini variando i reagenti e/o le procedure
-

Prova globulare e sierica

E' possibile eseguire solo la prova globulare:

- Quando si deve eseguire la conferma della tipizzazione AB0 di un donatore già tipizzato
 - Quando si debba testare un neonato con meno di 4 mesi di età
-

enza: 29/10/2020

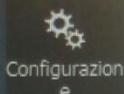


Anti-A

Anti-B

Anti-D



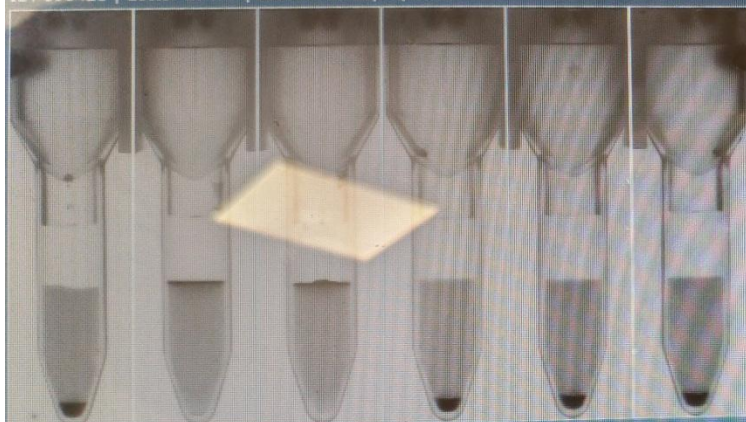


Ortho Clinical Diagnostics

terminal
terminal
25/03/2020 14:3

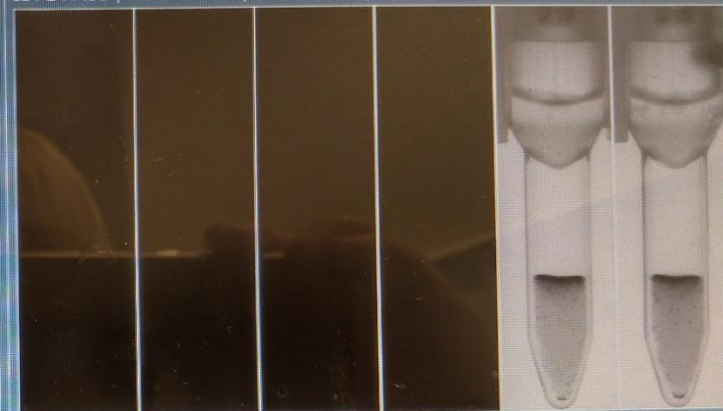
Revisione richiesta (completata) | Priorità: STAT | Risultati: ABO: B Rh: NEG ABO: B Rh: NEG ABScr: POS Pheno: ccee Kell: NEG | Tipo richiesta: 0

Cassetta: 48 (ABODD)
ID: 098421 | Lotto: 29410 | Scadenza: 16/06/2020



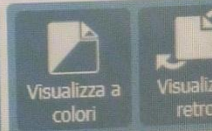
Anti-A	Anti-B	Anti-A+B	Anti-D	Anti-D	Ctrl
0	4+	4+	0	0	0
Score originale					
Soglia +					
2+	2+	2+	3+	3+	4+

Cassetta: 66 (Reverse diluent)
ID: 244458 | Lotto: 06780 | Scadenza: 19/01/2021



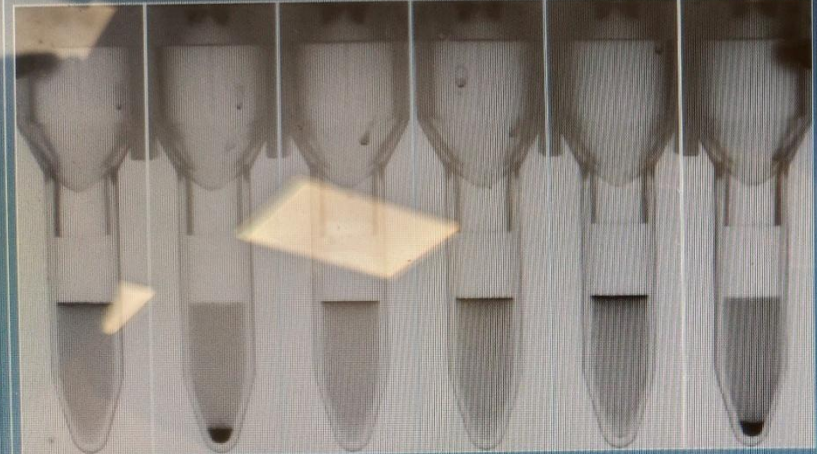
A1-Cells	A2-Cells
3+	3+
Score originale	
Soglia +	
0.5+	0.5+

ABO Originale	ABO Modifica	Rh Originale	Rh Modifica
B		NEG	



Revisione richiesta (completata) Priorità: STAT Risultati: ABO: A Rh: POS ABScr: POS Pheno: ccEE Kell: NEG ABO: A Rh: POS

Cassetta: 48 (ABODD)
ID: 099533 | Lotto: 29410 | Scadenza: 16/06/2020



Anti-A	Anti-B	Anti-A+B	Anti-D	Anti-D	Ctrl
4+	0	4+	4+	4+	0

Score originale

Soglia +

2+	2+	2+	3+	3+	4+
----	----	----	----	----	----

Cassetta: 66 (Reverse diluent)
ID: 244458 | Lotto: 06780 | Scadenza: 19/01/2021



A1-Cells	A2-Cells	B-Cells	O-Cells
0	0	3+	0

Score originale

Soglia +

0.5+	0.5+	0.5+	0.5+
------	------	------	------

ABO Originale A
ABO Modifica
Rh Originale POS
Rh Modifica

Visualizza

Lectine

Sostanze estratte dai semi di alcune piante, in grado di agglutinare le emazie umane con un alto grado di specificità.

Lectine di uso più comune

Nome
Anti-A ₁
Anti-H

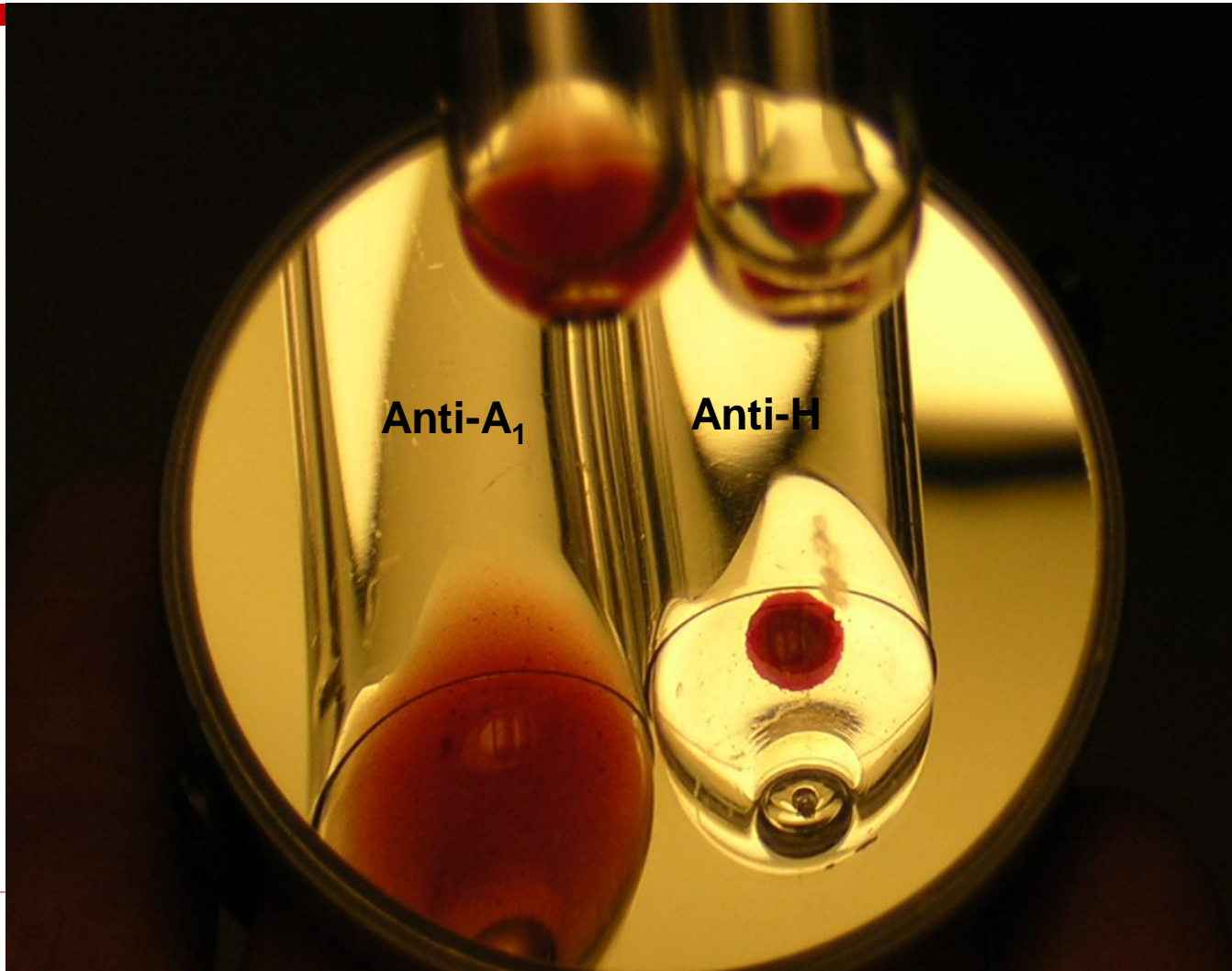
Lectine di uso più comune

Nome	Pianta
Anti-A ₁	Dolichos biflorus
Anti-H	Ulex europeus

Lectine di uso più comune

Nome	Pianta	Emazie agglutinate
Anti-A ₁	Dolichos biflorus	A ₁ ; A ₁ B
Anti-H	Ulex europeus	0>A ₂ >A ₁

Tipizzazione AB0 in provetta: le lectine



Prova globulare

<i>Antisiero</i>	
A	-
B	-
AB	-

Prova globulare

<i>Antisiero</i>	
A	-
B	-
AB	-
<i>Lectine</i>	
Anti-A1	-
Anti-H	+

Prova globulare

<i>Antisiero</i>	
A	-
B	-
AB	-
<i>Lectine</i>	
Anti-A1	-
Anti-H	+

Prova sierica

<i>Emazie</i>	
A1	+
A2	+
B	+
0	-

Prova globulare

<i>Antisiero</i>	
A	-
B	-
AB	-
<i>Lectine</i>	
Anti-A1	-
Anti-H	+

Prova sierica

<i>Emazie</i>	
A1	+
A2	+
B	+
0	-

Prova globulare

<i>Antisiero</i>	
A	-
B	-
AB	-
<i>Lectine</i>	
Anti-A1	-
Anti-H	-

Prova globulare

<i>Antisiero</i>	
A	-
B	-
AB	-
<i>Lectine</i>	
Anti-A1	-
Anti-H	-

Prova sierica

<i>Emazie</i>	
A1	+
A2	+
B	+
0	+

Prova globulare

prova sierica

Prova globulare

prova sierica

<i>Antisiero</i>	
A	-
B	-
AB	-
<i>Lectine</i>	
Anti-A1	-
Anti-H	+

<i>Emazie</i>	
A1	+
A2	+
B	+
0	-

<i>Antisiero</i>	
A	-
B	-
AB	-
<i>Lectine</i>	
Anti-A1	-
Anti-H	-

<i>Emazie</i>	
A1	+
A2	+
B	+
0	+

Il fenotipo Bombay (O_h ; ABH_{null})

Nel raro caso in cui nessun gene H viene ereditato (h/h), non vengono prodotte catene H cosicchè le trasferasi A e B non hanno a disposizione il substrato cui aggiungere i loro zuccheri.

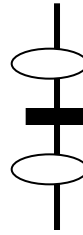
○ Galattosio

— N-acetil-glucosamina

▲ Fucosio

★ N-acetil-galattosamina

Glicolipide di base



eritrocita

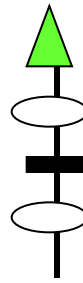
○ Galattosio

— N-acetil-glucosamina

▲ Fucosio

★ N-acetil-galattosamina

Sostanza H



Il fenotipo Bombay (O_h ; ABH_{null})

Nel raro caso in cui nessun gene H viene ereditato (h/h), non vengono prodotte catene H cosicchè le trasferasi A e B non hanno a disposizione il substrato cui aggiungere i loro zuccheri.

I soggetti h/h sembrano essere di gruppo 0

anche se dotati di geni A e/o B che producono delle trasferasi normali.

Prova globulare

<i>Antisiero</i>	
A	-
B	-
AB	-
<i>Lectine</i>	
Anti-A1	-
Anti-H	-

Prova sierica

<i>Emazie</i>	
A1	+
A2	+
B	+
0	+

Prova globulare

<i>Antisiero</i>	
A	-
B	-
AB	-
<i>Lectine</i>	
Anti-A1	-
Anti-H	-

Prova sierica

<i>Emazie</i>	
A1	+
A2	+
B	+
0	+

Alcuni fluidi del nostro organismo contengono glicoproteine solubili dotate di determinanti antigenici identici agli antigeni eritrocitari.

Questi antigeni solubili vengono chiamati **sostanze gruppo specifiche**.

Vi sono antigeni A e B sulla superficie degli eritrociti e sostanze A e B nella saliva ed in altri liquidi organici

La secrezione delle sostanze A, B, H nella saliva e in altri fluidi è controllata da una coppia di alleli *Se* e *se* chiamati *geni secretori*.

La secrezione di sostanze solubili A, B, H è condizionata dalla presenza di almeno un gene *Se* nel corredo cromosomico.

Il gene *se* è amorfo ed allo stato omozigote (*se/se*) non consente la secrezione.

Il locus per il carattere secretore è indipendente dal locus ABO

Le persone che hanno le sostanze A, B ed H nella saliva sono dette *secretori* e presentano questa situazione:

Gruppo sanguigno

Sostanze nella saliva

A	<i>A H</i>
B	<i>B H</i>
AB	<i>A B H</i>
0	<i>H</i>

Biologia molecolare in immunoematologia

- Ha ampliato le conoscenze genetiche sui gruppi sanguigni
 - Ha consentito una diagnostica precoce del genotipo fetale nell'alloimmunizzazione materno-fetale
 - Ha permesso una corretta definizione dei principali sistemi gruppoematici nei casi in cui una alterata espressione dell'antigene sulla superficie della membrana eritrocitaria ne rende difficile l'identificazione con le sole tecniche di emoagglutinazione
-

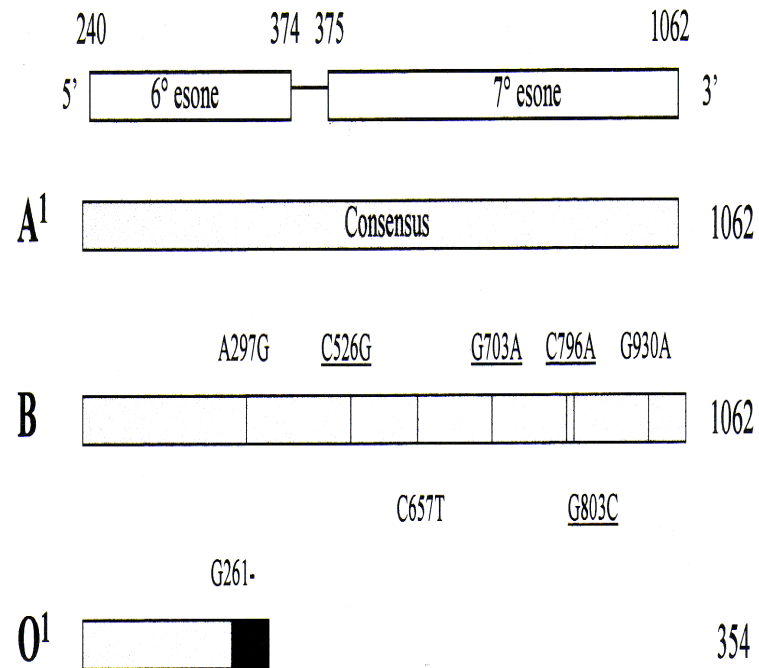
Sistema AB0

Gli alleli principali sono 3 :

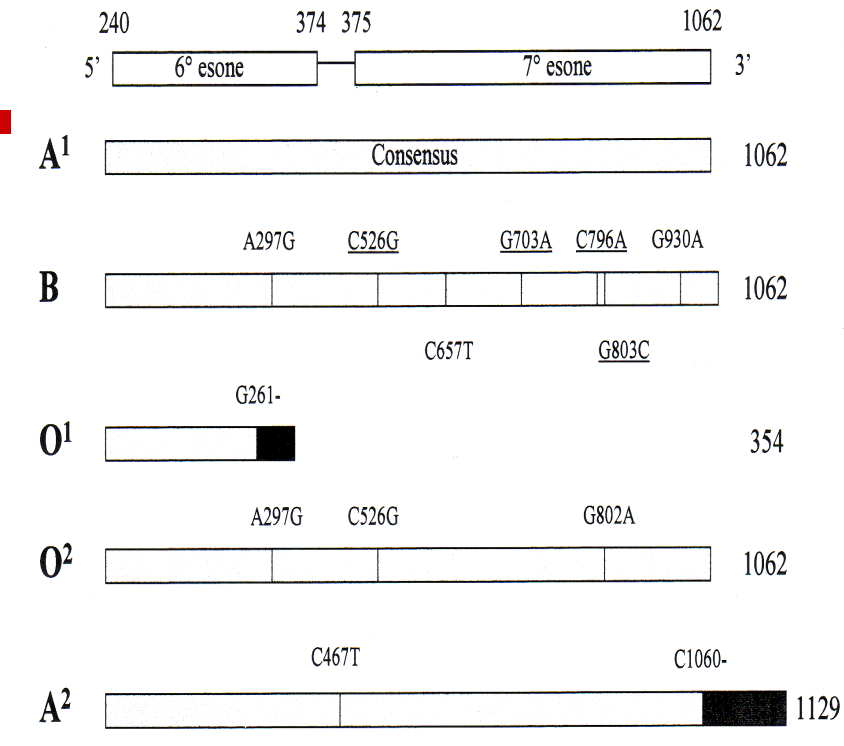
- A
- B
- O

Una singola delezione o una sostituzione di una base determinano le differenze tra questi tre alleli

Sequenza nucleotidica del gruppo 0



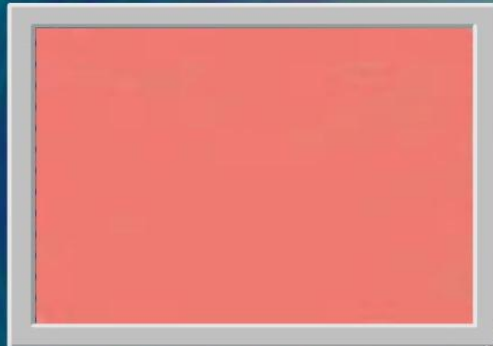
Sequenza nucleotidica del gene della transferasi A₂



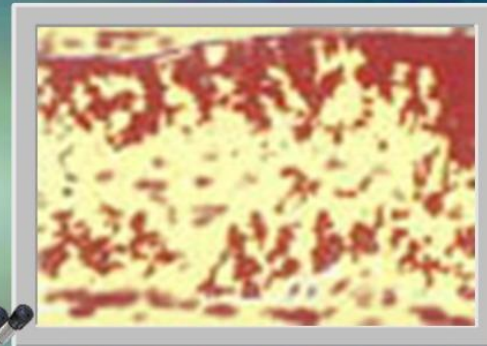
Presenza di una sostituzione C467T con conseguente sostituzione aminoacidica (prolina-leucina) e delezione di una delle tre C tra le posizioni 1059-1061.

Consequente produzione di una transferasi di 21 aa più lunga con una attività ridotta di 30-50 volte rispetto a quella A₁.

Che cosa vide Karl Landsteiner
al microscopio?



Sangue
normale



Sangue
Agglutinato

