

Introduzione

Sono stati forniti due campioni di globuli rossi che rappresentavano campioni di pazienti emoglobinopatici inviati per la genotipizzazione al fine di facilitare il supporto trasfusionale. I laboratori sono stati invitati ad eseguire la genotipizzazione dei globuli rossi nello stesso modo in cui la eseguono per i campioni clinici, a registrare il metodo usato e a registrare il genotipo e il fenotipo previsto per D, Cc, Ee, MN, Ss, Kk, Fy^a, Fy^b, Fy, Jk^a, Jk^b, Do^a e Do^b.

Percentuale di ritorno / analisi dei dati

L'esercizio è stato distribuito a 56 laboratori, 11 nel Regno Unito e Repubblica d'Irlanda (ROI) e 45 al di fuori del Regno Unito. I risultati sono stati restituiti da 55/56 (98,2%) laboratori entro la data di chiusura.

Tutti i laboratori hanno riportato una qualità soddisfacente per entrambi i campioni dei pazienti.

A causa dell'insolito genotipo *RHD* riscontrato nel Paziente 1, il genotipo e il fenotipo previsto non sono stati valutati.

Cinque laboratori hanno restituito ciascuno un risultato fuori consenso, e questi sono evidenziati nella Tabella 1.

Tabella 1 – Risultati fuori consenso

Lab	Patient sample	Reported Genotype	Consensus genotype	Reported predicted phenotype	Consensus predicted phenotype
A	Patient 1	FY*02/02	FY*02/02	Fy(a-b+)	Fy(a-b-)
		Not tested	Homozygous for GATA mutation (FY*02N.01)		
B	Patient 1	FY*02/02	FY*02/02	Fy(a-b+)	Fy(a-b-)
		Not tested	Homozygous for GATA mutation (FY*02N.01)		
C	Patient 1	FY*01/02	FY*02/02	Fy(a-b-)	Fy(a-b-)
		Homozygous for GATA mutation (FY*02N.01)	Homozygous for GATA mutation (FY*02N.01)		
D	Patient 1	FY*02/02	FY*02/02	Fy(a-b-)	Fy(a-b-)
		Heterozygous for GATA mutation	Homozygous for GATA mutation (FY*02N.01)		
E	Patient 2	DO*02/02	DO*01/02	Do(a-b+)	Do(a+b+)

Varianti *RHD*

Il campione del paziente 1 fu ordinato come Fy(a-b-) e fu anticipato che poteva avere una variante D. 13/46 (28,3%) laboratori hanno registrato la presenza di un gene *RHD* anomalo nel paziente 1, tutti e tredici indicando "*DAU*" o "*RHD*10*".

21/46 (45,7%) laboratori hanno registrato la presenza di un gene *RHD* anomalo nel paziente 2, tutti e 21 hanno indicato "tipo 2 debole" o "*RHD*01W.2*".

DO*02.-04

5/50 (10,0%) laboratori hanno registrato la presenza di un gene *DO* inusuale nel paziente 1, tutti e cinque hanno indicato DO*02.-04 o DO*B_HY; tutti e cinque hanno previsto un fenotipo Do(a-b+), in linea con gli altri 45 laboratori che hanno eseguito i test.

Discussione

Paziente 1 - [RHD*01N.01/DAU0]

Tutti e tredici i laboratori che hanno registrato un allele RHD insolito per il Paziente 1 hanno menzionato "DAU" o "RHD*10". Dei tredici laboratori, quattro laboratori hanno predetto un fenotipo D positivo, tre hanno predetto un fenotipo D negativo, quattro hanno predetto un fenotipo D parziale e che i globuli rossi D negativi dovessero essere trasfusi, mentre due non hanno fatto alcuna predizione.

Il sequenziamento genico di tutti e dieci gli esoni del gene RHD ha identificato la mutazione c.1136 C>T, risultante in un cambio da Treonina a Metionina in posizione 379 della proteina RhD (T379M); non sono state identificate altre mutazioni. Questa mutazione è caratteristica della variante RHD*DAU0. L'allele di riferimento RHD*01 non è stato rilevato, quindi il genotipo previsto è RHD*DAU0. RHD*DAU0 presenta solo questa mutazione e tutti gli epitopi dell'antigene D sembrano essere espressi, quindi questi individui possono essere trattati come D positivi.

Altri sottotipi di RHD*DAU presentano mutazioni aggiuntive, quindi chi esegue il test solo per la mutazione c.1136 C>T non sarebbe in grado di determinare la specifica variante DAU presente e, in queste circostanze, è consigliabile trattare il paziente come D-negativo.

Paziente 2 - [RHD*01/01W.02]

Tutti i ventuno laboratori che hanno registrato un allele RHD insolito per il Paziente 2 hanno menzionato "tipo 2 debole" o "RHD*01W.2". Tutti i laboratori che hanno predetto un fenotipo hanno predetto D positivo, tranne uno che ha predetto D negativo; questo laboratorio ha riportato un genotipo RHD*01N.01/01W.2.1 (nessun allele RHD di riferimento presente).

Il sequenziamento del gene RHD per il Paziente 2 ha identificato la mutazione c.1154 G>C, che ha determinato un cambiamento da Glicina ad Alanina in posizione 385 della proteina RhD (G385A), predicendo il genotipo RHD*01/01W.02, ovvero eterozigote per il D debole Tipo 2 in combinazione con un allele RHD di riferimento. Il fenotipo predetto è quindi D positivo.

Gli individui con almeno un allele RHD di riferimento non produrranno anticorpi anti-D. In molti paesi, da molti anni, è prassi considerare gli individui con almeno una copia di uno qualsiasi dei geni RHD*01W.01, RHD*01W.02 e RHD*01W.03 (tipo D debole 1, 2 o 3) come D positivi, sulla base che anche essi non producono anticorpi anti-D.

Nel considerare come procedere con la valutazione del programma Red Cell Genotyping di UK NEQAS BTLT si prevede che verrà aggiunta una ulteriore sezione per permettere ai laboratori di registrare eventuali tipizzazioni estese o varianti rilevate. L'attuale sezione RHD non conterrà più una sezione di testo libero e avrà solo risposte fisse, il che faciliterà la valutazione. Si prenderà sempre in considerazione l'esclusione dei campioni dalla valutazione in assenza di un risultato definitivo o consensuale.

Paziente 1 - [FY*02N.01/02N.01]

Il Paziente 1 era omozigote per la mutazione GATA (FY*02N.01/02N.01), con conseguente fenotipo previsto dei globuli rossi Fy(a-b-).

I Laboratori A e B hanno dichiarato di non aver testato la mutazione GATA per nessuno dei due Pazienti e successivamente hanno riportato, fuori consenso, i fenotipi previsti di Fy(a-b+) per il Paziente 1. Uno di questi laboratori ha indicato che la mutazione GATA sarebbe stata testata nei donatori ma non nei riceventi; è il ricevente che dovrebbe essere testato per la mutazione GATA, poiché la presenza della mutazione in forma omozigote causa un'interruzione del legame del fattore di trascrizione GATA-1 specifico per gli eritroidi nelle cellule eritroidi. Ciò significa che gli eritrociti di un individuo omozigote non esprimeranno l'antigene Fy sui loro globuli rossi e potrebbero produrre anticorpi anti-Fy3 se esposti a globuli rossi Fyb+1.

Invitiamo vivamente tutti i laboratori che non testano la mutazione GATA a rivedere i propri algoritmi di test per garantire che vengano implementate procedure corrette.

Paziente 1 - [DO*02.-04]

Il sequenziamento dell'esone 2 del gene ART4 ha confermato i risultati di quattro laboratori che hanno segnalato per il Paziente 1 il genotipo DO*02/02.-04. Il gene DO*02.-04 è una variante del gene DO*02 che non causa l'espressione dell'antigene ad alta frequenza DO4 (noto anche come GY2, noto anche come Holey)². A causa della presenza di un allele di riferimento, il fenotipo predetto per il paziente è Do(a-b+) Hy+. Gli individui che non esprimono l'antigene DO4 possono produrre anticorpi anti-Hy se esposti a eritrociti DO4 positivi.

1. Daniels G. Human blood groups. John Wiley & Sons; 2008 Apr 15.
2. Reid ME, Lomas-Francis C. The blood group antigen factsbook. Academic press; 2003 Sep 8

Risultati Paziente 1

RISULTATI DI CONSENSO		
GENOTIPO	FENOTIPO PREVISTO ¹	ANTIGENI
<i>RHD*01N.01/01N.01</i>	Altro (si prega di specificare)	D
<i>RHCE*c/c</i>	C-c+	CcEe
<i>RHCE*e/e</i>	E-e+	CeEe
<i>GYPA*01/01</i>	M+N-	MN
<i>GYPB*04/04</i>	S-s+	Ss
<i>KEL*02/02</i>	K-k+	Kk
<i>FY*02/02</i>	Fy(a-b-)	Fy ^a Fy ^b Fy
Omozigosi per mutazione GATA (<i>FY*02N.01</i>)		
<i>JK*01/02</i>	Jk(a+b+)	Jk ^a Jk ^b
<i>DO*02/02</i>	Do(a-b+)	Do ^a Do ^b

1. I risultati di consenso di quelli testati per zigosità (9) era *RHD*01/01*

Risultati Paziente 2

RISULTATI DI CONSENSO		
GENOTIPO	FENOTIPO PREVISTO ¹	ANTIGENI
<i>RHD*01 (zigosità non determinata)</i>	D positivo	D
<i>RHCE*c/c</i>	C-c+	CcEe
<i>RHCE*E/E</i>	E+e-	CeEe
<i>GYPA*01/01</i>	M+N-	MN
<i>GYPB*03/04</i>	S+s+	Ss
<i>KEL*02/02</i>	K-k+	Kk
<i>FY*01/01</i>	Fy(a+b-)	Fy ^a Fy ^b Fy
Mutazione GATA non presente		
<i>JK*01/02</i>	Jk(a+b+)	Jk ^a Jk ^b
<i>DO*01/02</i>	Do(a+b+)	Do ^a Do ^b

¹ I risultati di consenso di quelli testati per zigosità (6) era *RHD*01/01*