

XXVIII Congresso Nazionale

abstract book 2022



AIT

**Associazione Italiana
di Immunogenetica
e Biologia dei Trapianti**

con il patrocinio di



**SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA**
Azienda Ospedaliero - Universitaria di Parma



"The programme of this event
has been approved by the EFI
Education Committee"

20•22 ottobre 2022, Starhotel Du Parc, Parma

Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate	Pag.
AIB17058-65	Identificazione del nuovo allele HLA-B*51:367 in un'unità di sangue cordonale mediante Next Generation Sequencing	Ingrassia Francesco	<F. Ingrassia> ^{1} , A. Pecoraro ^{1} , M. Blando ^{1} , A. Corica ^{1} , S. Mistretta ^{1} , G. Davì ^{1} , R. Bavetta ^{1} , F. Bruno ^{1} , A. Lo Brutto ^{1} , V. Cappuzzo ^{1} , R. Fedele ^{1}	1.Laboratorio Regionale di Tipizzazione Tessutale ed Immunologia dei Trapianti - U.O.C. Medicina Trasfusionale e dei Trapianti - A.O.O.R. Villa Sofia-Cervello – Palermo	13
AIB17059-66	Evoluzione delle strategie di tipizzazione HLA ad alta risoluzione: esperienza di un singolo centro	Ingrassia Francesco	<F. Ingrassia> ^{1} , A. Pecoraro ^{1} , M. Blando ^{1} , R. Bavetta ^{1} , S. Mistretta ^{1} , F. Bruno ^{1} , A. Corica ^{1} , G. Davì ^{1} , A. Lo Brutto ^{1} , V. Cappuzzo ^{1} , R. Fedele ^{1}	1.Laboratorio Regionale di Tipizzazione Tessutale ed Immunologia dei Trapianti - U.O.C. Medicina Trasfusionale e dei Trapianti - A.O.O.R. Villa Sofia-Cervello – Palermo.	14
AIB17150-58	Plasma cell-directed therapy and anti-HLA antibody production: results from a mono-center prospective study	Soldarini Martina	<M. Soldarini> ^{1} , A. Caffro ^{1} , P. Bertazzoni ^{1} , G. Lando ^{1} , E. Sommaruga ^{1} , G. Cornacchini ^{1} , M. Pioltelli ^{1} , A. Milano ^{1} , R. Cairolì ^{1} , S. Rossini ^{1} , R. Crocchiolo ^{1}	1.ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano	15/16
AIB17151-59	Potential selection of unrelated donor based on HLA-DPB1 T-cell epitope matching using data from a single-center analysis	Crocchiolo Roberto	<R. Crocchiolo> ^{1} , D. Girgenti ^{1} , F. D'Amico ^{1} , G. Cornacchini ^{1} , G. Lando ^{1} , B. De Marco ^{1} , G. Magliano ^{1} , G. Grillo ^{1} , S. Rossini ^{1}	1.ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano	17
AIB17153-61	Differenze nelle Frequenze Alleliche dei Geni MHC classe I Polipeptide-related sequenza A (MICA) e B (MICB) fra la Popolazione Sarda e quella Caucasica/ Europea	Lai Sara	S. Lai ^{1} , R. Littera ^{1} , E. Giuressi ^{1} , S. Rassu ^{1} , <C. Sanna> ^{2} , R. Stradoni ^{2} , R. Porcella ^{1} , F. Alba ^{1} , S. Mocci ^{2} , S. Tranquilli ^{2} , A. Mascia ^{2} , F. Cannas ^{2} , N. Orru ^{1} , S. Giglio ^{2}	1.Medical Genetics Unit, R. Binaghi Hospital, Local Public Health and Social Care Unit (ASL) of Cagliari, Cagliari, Italy 2.Medical Genetics Unit, Department of Medical Sciences and Public Health, University of Cagliari, Cagliari, Italy	18/19
AIB17154-62	L'Aplotipo Esteso HLA-A*02:01, B*18:01, DRB*03:01 Contrasta il Rischio di Manifestazioni Cliniche Severe da COVID-19 nei Soggetti Portatori della Variante Neanderthal (rs35044562)	Mocci Stefano	<S. Mocci> ^{1} , S. Tranquilli ^{1} , A. Mascia ^{1} , F. Cannas ^{1} , S. Lai ^{2} , E. Giuressi ^{2} , S. Cipri ^{3} , R. Stradoni ^{1} , S. Rassu ^{2} , R. Littera ^{2} , S. Giglio ^{1}	1.Medical Genetics Unit, Department of Medical Sciences and Public Health, University of Cagliari, Cagliari, Italy 2.Medical Genetics Unit, R. Binaghi Hospital, Local Public Health and Social Care Unit (ASL) of Cagliari, Cagliari, Italy 3.Association GeneMos A.P.S, Reggio Calabria, Italy	20/21



Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate	Pag.
AIB17155-63	Lo Yin e lo Yang dell' HLA-G (Human Leukocyte Antigen-G) nell'Epatite Autoimmune di tipo I: L'effetto Negativo delle Molecole HLA-G Esprese dalle Plasmacellule.	Mascia Alessia	A. Mascia ^{1} , S. Lai ^{2} , M. Vacca ^{1} , L. Martorana ^{2} , N. Orrù ^{2} , S. Cipri ^{3} , E. Giuressi ^{2} , S. Rassu ^{2} , S. Mocci ^{1} , S. Tranquilli ^{1} , R. Stradoni ^{1} , R. Porcella ^{2} , F. Alba ^{2} , F. Cannas ^{1} , C. Sanna ^{1} , C. Cocco ^{1} , <R. Littera> ^{2} , S. Giglio ^{1}	1. Medical Genetics Unit, Department of Medical Sciences and Public Health, University of Cagliari, Cagliari, Italy 2. Medical Genetics Unit, R. Binaghi Hospital, Local Public Health and Social Care Unit (ASL) of Cagliari, Cagliari, Italy 3. Genomos A.P.S. Association, Reggio Calabria, Italy	22/23
AIB17159-67	Supertype HLA di Classe I ed anticorpi anti SARS-CoV2 in pazienti trapiantati di rene vaccinati	Cervelli Carla	<C. Cervelli> ^{1} , M. Tupone ^{1} , V. Torrelli ^{1} , O. Valdez ^{1} , A. Panarese ^{2} , R. Azzarone ^{1} , C. Battistoni ^{1} , D. Fracassi ^{1} , D. Pulcinelli ^{1} , S. Scacchi ^{1} , S. Scipione ^{1} , B. Spaziani ^{1} , F. Pisani ^{2} , F. Papola ^{1}	1. Centro Regionale di Immunematologia e Tipizzazione Tissutale - ASL1 Abruzzo 2. Centro Trapianti di Organo - Dipartimento Scienze Chirurgiche e dei Trapianti di Organo Università di L'Aquila	24
AIB17160-59	Influenza degli antigeni HLA di Classe I nel tempo di negativizzazione dei tamponi molecolari da SARS-CoV2	Papola Franco	<F. Papola> ^{1} , V. Cofini ^{2} , M. Tupone ^{1} , V. Torrelli ^{1} , O. Valdez ^{3} , S. Necozone ^{2} , S. Melena ^{4} , A. Petrucci ^{5} , V. De Silvestri ^{5} , R. Azzarone ^{1} , M. Scimitarra ^{1} , C. Cervelli ^{1}	1. Centro Regionale di Immunematologia e Tipizzazione Tissutale - ASL1 Abruzzo 2. Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università degli Studi di L'Aquila 3. Centro Trapianti di Organo - Dipartimento Scienze Chirurgiche e dei Trapianti di Organo Università di L'Aquila 4. Dipartimento Sanità - Servizio Assistenza Farmaceutica - Regione Abruzzo 5. Dipartimento Sanità - Servizio Flussi Informativi e Sanità Digitale - Regione Abruzzo	25/26
AIB17161-60	The presence of Anti-HLA antibodies, even when not directed against the donor, correlates with impaired survival after hematopoietic stem cell transplantation	Milano Antonio	<A. Milano> ^{1} , G. Lando ^{1} , G. Cornacchini ^{1} , G. Grillo ^{1} , S. Rossini ^{1} , R. Crocchiolo ^{1}	1. ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano	27/28
AIB17162-61	The role of HLA chimerism analysis on peripheral blood in post liver transplant Graft versus Host Disease: report of two clinical cases	Mariani Anna	A. Mariani ^{1} , F. Ferla ^{1} , M. Triepi ^{1} , G. Checchini ^{1} , <R. Crocchiolo> ^{1} , G. Lando ^{1} , I. Mangoni ^{1} , A. De Gasperi ^{1} , S. Rossini ^{1} , L. De Carlis ^{1}	1. ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano	29



Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate	Pag.
AIB17163-62	Impatto della divergenza evolutiva del sistema HLA (HED) sull'andamento clinico di pazienti pediatrici affetti da malattie ematologiche maligne sottoposti a trapianto di cellule staminali emopoietiche da donatore non correlato	Crivello Pietro	<P. Crivello> ^{1} , P. Merli ^{2} , M. Andreani ^{3} , L. Strocchio ^{2} , R. Pinto ^{2} , M. Algeri ^{2} , F. Del Bufalo ^{2} , D. Paggiara ^{2} , M. Becilli ^{2} , R. Carta ^{2} , S. Gaspari ^{2} , F. Galaverna ^{2} , F. Quagliarella ^{2} , G. Boz ^{2} , E. Bocceri ^{2} , G. Testa ^{3} , M. Troiano ^{3} , K. Fleischhauer ^{4} , F. Locatelli ^{5}	1.Institute for Experimental Cellular Therapy, University Hospital Essen, Essen, Germany 2.Department of Hematology/Oncology, Cell and Gene Therapy, IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italy 3.Laboratory of Transplant Immunogenetics, Department of Hematology/Oncology, Cell and Gene Therapy, IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italy 4.Institute for Experimental Cellular Therapy, University Hospital Essen, Essen, Germany and German Cancer Consortium, partner site Essen/Düsseldorf, Germany 5.Department of Hematology/Oncology, Cell and Gene Therapy, IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italy and Sapienza, University of Rome, Rome, Italy	30/31
AIB17164-63	Trapianto di cellule staminali emopoietiche da donatore aploidentico in una paziente con anticorpi anti-HLA donatore specifici	Mistretta Serena	S. Mistretta ^{1} , <R. Bava> ^{1} , F. Bruno ^{1} , A. Corica ^{1} , G. Davi ^{1} , F. Ingrassia ^{1} , A. Pecoraro ^{1} , M. Blando ^{1} , V. Cappuzzo ^{1} , R. Fedele ^{1}	1.A.O.O.R. VILLA SOFIA-CERVELLO - PALERMO	32
AIB17165-64	Cross-match citometrico tetraparametrico: valutazione contemporanea IgG/IgM in urgenza	Cervelli Carla	<C. Cervelli> ^{1} , O. Valdez ^{1} , R. Azzarone ^{1} , M. Scimitarra ^{1} , C. Battistoni ^{1} , D. Fracassi ^{1} , D. Pulcinelli ^{1} , S. Scacchi ^{1} , S. Scipione ^{1} , B. Spaziani ^{1} , F. Papola ^{1}	1.Centro Regionale di Immunematologia e Tipizzazione Tissutale - ASL1 Avezzano, Sulmona, L'Aquila	33
AIB17166-65	Studio degli anticorpi IgM anti-HLA nei pazienti in lista di attesa per trapianto di rene	Valdez Olaida	O. Valdez ^{1} , <C. Cervelli> ^{1} , C. Battistoni ^{1} , D. Fracassi ^{1} , D. Pulcinelli ^{1} , S. Scacchi ^{1} , S. Scipione ^{1} , B. Spaziani ^{1} , A. Panarese ^{2} , F. Pisani ^{2} , F. Papola ^{1}	1.Centro Regionale di Immunematologia e Tipizzazione Tissutale - ASL1 Avezzano, Sulmona, L'Aquila 2.Centro Trapianti di organo Dipartimento Scienze Chirurgiche e dei trapianti di organo Università di L'Aquila	34/35



Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate	Pag.
AIB17167-66	Incidenza di anticorpi anti-HLA e Graft Failure in pazienti ematologici trattati con trapianto HSCT da donatore aploidentico	Giustiniani Paola	<P. Giustiniani>^1, F. Galaverna^2, P. Merli^2, A. Bianculli^1, M. Becilli^2, R. Carta^2, E. Boccieri^2, M. Troiano^1, M. Battarra^1, M. Andreani^1, F. Locatelli^3	1.Laboratorio di Immunogenetica dei Trapianti, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma 2.Dipartimento di Oncologia, Ematologia, Trapianto e Terapia Cellulare e Genica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma 3.Dipartimento di Oncologia, Ematologia, Trapianto e Terapia Cellulare e Genica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; Sapienza, Università di Roma	36
AIB17168-67	Long-term persistence of mixed full donor chimerism after double cord blood transplantation. Example of tolerance in allogeneic hematopoietic cell transplantation setting	Saison Carole	C. Saison^1, V. Mathias^1, M. Balsat^2, F. Barraco^2, <R. Crocchiolo>^3, S. Ducastelle^2, C. Giannoli^1, H. Labussière-Wallet^2, D. Luscalov^1, P. Moskovtchenko^1, V. Dubois^1, M. Michallet^4	1.Etablissement Français du Sang, Lione, Francia 2.Clinical Hematology Service, Hospices Civils de Lyon, Lione, Francia 3.ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano 4.Clinical Hematology Service, Centre Léon Bérard, Lione, Francia	37/39
AIB17169-68	Valutazione delle prestazioni del sequenziatore AB SeqStudio attraverso la validazione del kit Powerplex 16 HS System	Balza Giuseppina	<G. Balza>^1, L. Mele^1, R. Neri^1, M. Cagnati^1, M. Arata^1, M. Verri^1, T. Bensi^2, S. Leoncino^3, F. Pollis^4	1.Laboratorio HLA, SC Medicina TrASFusionale, AO SS Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria 2.Settore Citofluorimetria, SC Laboratorio Analisi, AO SS Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria 3.Settore di raccolta aferetica, SC Medicina TrASFusionale, AO SS Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria 4.SC Medicina TrASFusionale, AO SS Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria	40/41
AIB17170-60	Sequenziamento NGS: l'esperienza del laboratorio dell'Aquila nell'analisi dei risultati	Azzarone Raffaella	<R. Azzarone>^1, O. Valdez^1, M. Scimitarra^1, C. Cervelli^1, S. Scipione^1, C. Battistoni^1, D. Fracassi^1, D. Pulcinelli^1, S. Scacchi^1, B. Spaziani^1, F. Papola^1	1.Centro Regionale di Immunematologia e Tipizzazione Tissutale - ASL1 Avezzano, Sulmona, L'Aquila	42
AIB17171-61	Chimerismo Misto con outcome favorevole: Case Report	Tagliaferri Cinzia Marina	<C. Tagliaferri>^1, M. Mantia^1, C. Lievore^1, S. Zappacosta^1, E. Falisi^1, C. Borghero^2, F. Elice^2, E. Novella^2, I. Giaretta^2, A. Tosetto^2, F. Fiorin^1	1.AZIENDA ULSS8 BERICA - MEDICINA TRASFUSIONALE - VICENZA 2.AZIENDA ULSS8 BERICA - EMATOLOGIA - VICENZA	43



Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate	Pag.
AIB17172-62	La risposta umorale e cellulare al vaccino ad mRNA contro la proteina Spyke di SARS-CoV-2 è influenzata dal polimorfismo HLA	Bertinetto Francesca Eleonora	F. Bertinetto ^{1} , P. Maggistrone ^{1} , G. Mazzola ^{1} , C. Costa ^{2} , E. Garino ^{1} , S. Alizzi ^{3} , G. Scozzari ^{4} , E. Migliore ^{5} , C. Galassi ^{5} , G. Ciccone ^{5} , F. Arruga ^{1} , G. Ricciardelli ^{2} , A. Scarmozzino ^{4} , L. Angelone ^{4} , P. Cassonni ^{6} , R. Cavallo ^{7} , S. Deaglio ^{3} , <A. Amoroso> ^{3}	1.Immunogenetica e Biologia dei Trapianti - Az. Osp. Univ. Città della Salute e della Scienza - Torino 2.Dipartimento di Salute Pubblica e Scienze Pediatriche - Università di Torino 3.Dipartimento di Scienze Mediche - Università di Torino 4.Direzione Medica - Az. Osp. Univ. Città della Salute e della Scienza - Torino 5.Epidemiologia Clinica - Az. Osp. Univ. Città della Salute e della Scienza - Torino 6.Servizio di Patologia - Dipartimento di Scienze Mediche - Università di Torino 7.Servizio di Microbiologia e Virologia - Az. Osp. Univ. Città della Salute e della Scienza - Torino	44/45
AIB17173-63	Epitope Compatibility nel trapianto di organo solido	Bianculli Antonio Giuseppe	A. Bianculli ^{1} , L. Dello Strologo ^{2} , M. Spada ^{3} , P. Giustiniani ^{1} , A. Cappoli ^{2} , R. Labbadia ^{2} , G. Spagnoletti ^{3} , Z. Larghi Laureiro ^{3} , T. Galluccio ^{1} , A. Di Luzio ^{1} , <M. Troiano> ^{1} , M. Andreani ^{1}	1.Laboratorio di Immunogenetica dei Trapianti - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS - Roma 2.Dipartimento di Nefrologia e Urologia, U.O. di Nefrologia e Dialisi - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS - Roma 3.Chirurgia Epatobiliopancreatica e del Trapianto di Fegato e di Rene - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS - Roma	46
AIB17174-64	Utilizzo dell'anticorpo monoclonale 10C5 per lo studio dei crossmatch in pazienti in trattamento con Rituximab	Troiano Maria	<M. Troiano> ^{1} , L. Dello Strologo ^{2} , A. Bianculli ^{1} , A. Cappoli ^{3} , R. Labbadia ^{3} , A. Guagnano ^{1} , P. Giustiniani ^{1} , M. Andreani ^{1}	1.Laboratorio di Immunogenetica dei Trapianti - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS - Roma 2.Dipartimento di Nefrologia e Urologia, U.O. di Nefrologia e Dialisi - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS - Roma 3.Unità di Nefrologia, dialisi e trapianto renale - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS - Roma	47



Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate	Pag.
AIB17175-65	Reazioni cutanee severe avverse ai farmaci e HLA	Bertinetto Francesca Eleonora	F. Bertinetto ^{1} , R. Ver- rua ^{2} , S. Deaglio ^{3} , P. Magistrone ^{1} , G. Maz- zola ^{1} , M. Berrino ^{1} , E. Garino ^{1} , <F. Arru- ga> ^{1} , A. Faini ^{4} , G. Brach Del Prever ^{4} , M. Stella ^{2} , A. Amoroso ^{3}	1.SC Immunogenetica e Bio- logia dei Trapianti, Città della Salute e della Scienza, Torino 2.SC Centro Grandi Ustionati, Città della Salute e della Scien- za, Torino 3.SC Immunogeneti- ca e Biologia dei Trapianti, Città della Salute e della Scienza, Torino. Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Torino, Torino 4.Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Torino, Torino	48/49
AIB17176-66	Caratterizzazione genetica ad eleva- ta processività di pazienti caucasici affetti da artrite reu- matoide o psoriasica resistenti ai farmaci	Tesolin Paola	P. Tesolin ^{1} , F. Bertinet- to ^{2} , E. Garino ^{2} , <F. Arruga> ^{2} , A. Sona- glia ^{3} , S. Cappellani ^{4} , M. Concas ^{4} , A. Mor- gan ^{4} , N. Ferrero ^{2} , A. Zabotti ^{3} , P. Gaspa- rini ^{5} , A. Amoroso ^{2} , L. Quartuccio ^{3} , G. Giroto ^{5}	1.Dipartimento Universitario Clinico di Scienze Mediche Chirurgiche e della Salute, Università di Trieste, Trieste 2.SC Immunogenetica e Bio- logia dei Trapianti, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, Torino 3.Divisione di Reumatologia, Dipartimento di Area Medica (DAME), ASUFC, Università di Udine, Udine 4.IRCCS materno infantile Burlo Garofolo, Trieste 5.Diparti- mento Universitario Clinico di Scienze Mediche Chirurgiche e della Salute, Università di Trieste. IRCCS materno infantile Burlo Garofolo, Trieste.	50
AIB17177-67	Lo studio degli anti- corpi non-HLA può essere utile dopo trapianto di cuore e polmone?	Caorsi Cristiana	<C. Caorsi> ^{1} , C. Rosso ^{1} , I. Carelli ^{1} , R. Chidichimo ^{1} , D. Covelli ^{1} , A. Oda ^{1} , S. Tontoni ^{1} , P. Magistro- ni ^{1} , M. Mansouri ^{1} , M. Boffini ^{2} , M. Sorbi- ni ^{1} , S. Deaglio ^{1} , M. Rinaldi ^{2} , A. Amoro- so ^{1}	1.Struttura Complessa di Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino 2.Struttura Complessa di Car- diochirurgia, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino	51
AIB17178-68	“MATCH AT HOME”: tracciabilità e auto- mazione del proces- so di analisi	Tagliaferri Cinzia Marina	<C. Tagliaferri> ^{1} , M. Mantia ^{1} , C. Lievore ^{1} , S. Zappacosta ^{1} , E. Fali- si ^{1} , F. Vicentini ^{1} , S. Fortuna ^{1} , F. Fiorin ^{1}	1.AZIENDA ULSS8 BERICA - MEDICINA TRASFUSIONALE - VICENZA	52



Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate	Pag.
AIB17179-69	Progetto Match At Home: innovazione nel reclutamento presso il CD CN01	Perotti Laura	<L. Perotti> ^{1} , A. Testa ^{1} , L. Longa ^{1} , I. Avonto ^{1} , L. Maddalena ^{1} , B. Bruno ^{1} , L. Calcagno ^{1} , M. Prucca ^{1} , F. Piovano ^{1} , R. Balbo ^{1}	1.Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale (SIMT) - AO S. Croce e Carle - Cuneo	53
AIB17180-61	L'algoritmo PIRCHE (Predicted Indirectly Recognizable HLA Epitopes) come possibile fattore di rischio di AMR post-trapianto cardiaco: case report.	Giorgio Floriana	F. Giorgio ^{1} , F. Romanelli ^{1} , G. Mongelli ^{1} , <M. Margiotta> ^{1} , R. Marzella ^{1} , M. Monteleone ^{1} , N. Menolascina ^{1} , F. Bellini ^{1} , D. Mininni ^{1} , G. Fischetti ^{2} , L. Giovannico ^{2} , T. Bottio ^{2} , A. Milano ^{2}	1.UOSD Tipizzazione Tessutale e Immunologia dei Trapianti-AOUC Policlinico di Bari 2.UOC Cardiocirurgia-AOUC Policlinico di Bari	54
AIB17181-62	Identificazione di fattori di rischio genetici sesso-dipendenti per lo sviluppo di neoplasie ematologiche	Nappo Stefania	<S. Nappo> ^{1} , D. Madalense ^{1} , R. Casalino ^{1} , G. Maisto ^{1} , L. Auriemma ^{1} , M. Toriello ^{1} , F. Topo ^{1} , F. Tambaro ^{2} , G. Menna ^{3} , R. Penta De Vera D'aragona ^{1}	1.UOSD BaSCO, Manipolazione cellulare e Immunogenetica – A.O.R.N. Santobono-Pausilipon - Napoli 2.S.C. Trapianto di Cellule Ematopoietiche e Terapie Cellulari – A.O.R.N. Santobono-Pausilipon - Napoli 3.S.C. Oncoematologia Pediatrica – A.O.R.N. Santobono-Pausilipon - Napoli	55
AIB17182-63	Valore diagnostico degli anticorpi HLA Donatore Specifico (DSA) nello studio familiare del Trapianto di Cellule Staminali Emopoietiche (TCSE)	Margiotta Marcella	<M. Margiotta> ^{1} , F. Giorgio ^{1} , G. Mongelli ^{1} , S. De Franceschi ^{1} , A. Spinelli ^{1} , E. Colucci ^{1} , A. Marinelli ^{1} , D. Mininni ^{1}	1.UOSD Tipizzazione Tessutale e Immunologia dei Trapianti-AOUC Policlinico di Bari	56
AIB17183-64	Caratterizzazione fenotipica di sottopopolazioni NK KIR+ utilizzando l'anticorpo monoclonale HP-DM1, in grado di riconoscere selettivamente KIR2DL1 e di bloccare l'interazione specifica con HLA-C	Meazza Raffaella	<R. Meazza> ^{1} , M. Falco ^{2} , P. Canevali ^{1} , F. Loiacono ^{1} , N. Colomar-Carando ^{1} , A. Muntasell ^{3} , A. Rea ^{4} , M. Mingari ^{1} , F. Locatelli ^{5} , L. Moretta ^{5} , M. Lopez-Botet ^{3} , D. Pende ^{1}	1.IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova 2.IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova 3.Hospital del Mar Medical Research Institute (IMIM), Barcellona, Spagna 4.Universitat Pompeu Fabra, Barcellona, Spagna 5.IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma	57



Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate	Pag.
AIB17184-65	L'escape immunologico perfetto: un'analisi molecolare	Boschi Beatrice	<B. Boschi>{1}, G. Marseglia{1}, G. Rombolà{1}, A. Gozzini{2}, S. Iozzi{1}, M. Falco{3}, F. Papola{4}, I. Giotti{1}, E. Pelo{1}	1.Immunogenetica, SOD Diagnostica Genetica, AOU Careggi, Firenze 2.SOD Terapie Cellulari e Medicina Trasmfusionale, AOU Careggi, Firenze 3.Laboratorio Immunologia Clinica e Sperimentale, Istituto G. Gaslini, Genova 4.Centro Regionale Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale, PO L'Aquila	58/59
AIB17185-66	Confronto tra due prodotti per la ricerca di anticorpi anti-HLA: un'analisi statistica	Iozzi Sara	<S. Iozzi>{1}, D. Ciappi{1}, G. Rombolà{1}, M. Betti{1}, S. Palchetti{1}, C. Ferrari{1}, C. Ceccarelli{1}, E. Pelo{1}	1.Immunogenetica, SOD Diagnostica Genetica, AOU Careggi, Firenze	60/61
AIB17186-67	Genotipizzazione dei loci HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-H, MICA, MICB e analisi delle frequenze alleliche nella popolazione dei Donatori di Midollo Osseo afferenti al Registro Regionale del Friuli Venezia Giulia	Sindici Chiara	<C. Sindici>{1}, D. Londero{1}, M. Candolini{1}, C. Cervellin{1}, E. Russian{1}, G. Barillari{1}	1.Dip. Med. Trasmfusionale, ASUFC Udine	62
AIB17187-68	Analisi della Mediana di Fluorescenza attraverso un algoritmo ad "hoc" per l'interpretazione del CrossMatch Citofluorimetrico	De Gregorio Veronica	<V. De Gregorio>{1}, S. Fornaciari{1}, S. Di Beo{1}, R. Lamanna{1}, C. Biagini{1}, D. Mandarino{1}, M. Curcio{1}	1.SOD Immunogenetica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, PISA	63/64
AIB17188-69	Analisi degli anticorpi anti-HLA-attraverso tecnologia x-MAP: due KIT a confronto	Lamanna Roberta	<R. Lamanna>{1}, S. Fornaciari{1}, V. De Gregorio{1}, C. Biagini{1}, L. Felet{1}, D. Gonnella{1}, B. Luchetti{1}, M. Curcio{1}	1.SOD Immunogenetica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Pisa	65/66
AIB17189-70	L'esperienza del laboratorio di Immunogenetica dell'AOU Pisana nella tipizzazione HLA mediante Next Generation Sequencing: varianti e nuovi alleli	Biagini Chiara	<C. Biagini>{1}, R. Lamanna{1}, S. Fornaciari{1}, V. De Gregorio{1}, F. Galati{1}, F. Salvadori{1}, B. Luchetti{1}, M. Curcio{1}	1.SOD Immunogenetica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Pisa	67/68



Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate	Pag.
AIB17190-62	Caratterizzazione dell'epitopo riconosciuto dall'anticorpo monoclonale anti-KIR2DL1 HP-DM1.	Falco Michela	<M. Falco> ^{1} , R. Meazza ^{2} , C. Alicata ^{3} , P. Canevali ^{2} , A. Muntasell ^{4} , C. Bottino ^{5} , L. Moretta ^{3} , D. Pende ^{2} , M. Lopez-Botet ^{4}	1.IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italia 2.IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova, Italia 3.IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia 4.Hospital del Mar Medical Research Institute (IMIM), Barcellona, Spagna 5.DIMES, Università di Genova, Italia	69
AIB17193-65	Divergenza evolutiva del sistema HLA e risposta anticorpale al vaccino anti-Covid BNT162b2	Traverso Matilde	M. Traverso ^{1} , P. Crivello ^{2} , A. Gallina ^{1} , N. Sacchi ^{1} , F. Scaglione ^{3} , A. Pani ^{3} , S. Rossini ^{4} , <R. Crocchio> ^{4}	1.Registro Italiano dei Donatori di Midollo Osseo, EO Ospedali Galliera, Genova, Italia 2.Institute for Experimental Cellular Therapy, University Hospital Essen, Essen, Germany 3.Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologiche, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano, Italia 4.Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano, Italia	70/71
AIB17194-66	Anticorpi anti-recettori dell'angiotensina di tipo II e dell'endothelina-1 di tipo A nel trapianto di rene pediatrico	Vadori Marta	<M. Vadori> ^{1} , E. Cuciz ^{1} , S. Negrisolio ^{2} , A. Carraro ^{2} , E. Vianello ^{3} , J. Igeno San Miguel ^{3} , E. Poggi ^{4} , A. Manfreda ^{4} , R. Labbadia ^{5} , V. Sioli ^{6} , E. Longhi ^{6} , T. De Feo ^{6} , M. Spada ^{7} , M. Andreani ^{8} , E. Benetti ^{3} , L. Dello Strologo ^{5} , E. Cozzi ^{1}	1.UOSD Immunologia dei Trapianti, Dipartimento di Scienze Cardio-Toraco-Vascolari e Sanità Pubblica, Università di Padova 2.Laboratorio di Immunopatologia e Biologia Molecolare del Rene, DIDAS Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedale Università Padova 3.UOC Nefrologia Pediatrica, DIDAS Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedale Università Padova 4.CNR-IFT Roma San Camillo-Centro Regionale Trapianti Lazio-Laboratorio di Tipizzazione Tissutale e Immunologia dei Trapianti, Ospedale San Camillo, Roma 5.UOC Follow up trapianto Renale. Ospedale pediatrico Bambino Gesù. Roma 6.UOC Trapianti Lombardia/NITp, Fondazione IRCCS CA' Granda Ospedale Policlinico di Milan 7.Chirurgia Epatobiliopancreatica e del Trapianto di Fegato e di Rene, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS 8.UOS Laboratorio di Immunogenetica dei Trapianti, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma	72/73



Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate	Pag.
AIB17195-67	Dati preliminari sulla permissività DPB1 correlata nel trapianto di CSE da donatore aploidentico	Giuliodori Silvia	<S. Giuliodori> ^{1} , M. Benecchi ^{1} , A. Rinaldi ^{2} , R. Troiano ^{1} , J. Manduca ^{1} , S. Bonomi ^{2} , L. Prezioso ^{2} , D. Vallisa ^{3} , M. Soli ^{4} , P. Zanelli ^{1}	1.SSD Immunogenetica dei Trapianti, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma 2.U.O. Ematologia e Centro trapianti midollo osseo (CTMO), Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma 3.U.O. Ematologia e Centro Trapianti, Azienda USL di Piacenza; U.O. Ematologia e Centro trapianti midollo osseo (CTMO), Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma 4.U.O. Immunoematologia e Trasfusionale, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma	74/75
AIB17196-68	Non è tutto oro quel che luccica. Anticorpi anti-HLA: elevati MFI e FC-XM negativo	Giuliodori Silvia	<S. Giuliodori> ^{1} , M. Benecchi ^{1} , C. Labate ^{1} , E. Magni ^{1} , J. Parrotta ^{1} , P. Zanelli ^{1}	1.SSD Immunogenetica dei Trapianti, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma	76
AIB17197-69	Anticorpi contro antigeni naturali: strategie di analisi in fase solida a confronto	Sgobba Valentina	<V. Sgobba> ^{1} , R. Merli ^{1} , R. Troiano ^{1} , J. Manduca ^{1} , E. Russo ^{1} , P. Zanelli ^{1}	1.S.S.D. IMMUNOGENETICA DEI TRAPIANTI, A.O.U. PARMA	77
AIB17198-70	Il ruolo degli RSA (Recipient Specific Antibodies) nell'outcome trapiantologico. Analisi di un gruppo di donatori familiari selezionati per pazienti sottoposti a trapianto aploidentico.	Cacciatore Rosalia	R. Cacciatore ^{1} , <A. Pasi> ^{1} , P. Bergamaschi ^{1} , G. Giorgiani ^{2} , D. Caldera ^{3} , P. Comoli ^{2} , A. Colombo ^{3} , I. Sbarsi ^{1} , L. Chiesa ^{1} , D. Troletti ^{4} , E. Cornella ^{1} , M. Hoffmann ^{3} , M. Monti ^{1} , A. Leone ^{1} , C. Perotti ^{4} , P. Bernasconi ^{3} , L. Arcaini ^{5} , M. Zecca ^{2}	1.Laboratorio di Immunogenetica, Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia. 2.Dipartimento di Ematologia-Oncoematologia Pediatrica e Cell Factory, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia. 3.UOS Centro Trapianti - UOC Ematologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia. 4.Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia. 5.UOC Ematologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia.	78
AIB17199-71	Case report, update 2022: analisi di chimerismo quantitativo post-trapianto di CSE in una paziente affetta da NKTCL	Oggioni Alice	A. Oggioni ^{1} , <L. Musolino> ^{1} , E. Sironi ^{1} , A. Galli ^{1} , L. Santoleri ^{1} , B. Mazzi ^{1}	1.Laboratorio di Istocompatibilità e Immunogenetica, HLA e Chimerismi, Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, IRCCS Ospedale San Raffele - Milano	79



Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate	Pag.
AIB17200-54	INTRODUZIONE DEL CROSSMATCH VIRTUALE PER IL TRAPIANTO DI RENE IN AREA NITp	Angela Nocco	<N. Angela> ^{1} , L. Crespiatico ^{1} , V. Sioli ^{1} , V. Caporale ^{1} , A. Comino ^{1} , F. Drago ^{1} , A. Espadas de Arias ^{1} , M. Ramondetta ^{1} , D. Bertola ^{1} , C. Brambilla ^{1} , N. Cagni ^{1} , L. Chidichimo ^{1} , M. Grassi ^{1} , A. Innocente ^{1} , M. Macchiagodena ^{1} , B. Speringo ^{1} , E. Soccio ^{1} , N. Suvajac ^{1} , M. Tivelli ^{1} , E. Longhi ^{1}	1.Laboratorio Immunologia dei Trapianti - UOC Trapianti Lombardia-NITp - Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano	80/81



Abstract Code: AIB17058-65

Identificazione del nuovo allele HLA-B*51:367 in un'unità di sangue cordonale mediante Next Generation Sequencing

F. Ingrassia¹, A. Pecoraro¹, M. Blando¹, A.A. Corica¹, S. Mistretta¹, G. Davì¹, R. Bavetta¹, F. Bruno¹, A. Lo Brutto¹, V. Cappuzzo¹, R. Fedele¹

(1) Laboratorio Regionale di Tipizzazione Tessutale ed Immunologia dei Trapianti - U.O.C. Medicina Trasfusionale e dei Trapianti - A.O.O.R. Villa Sofia-Cervello – Palermo

Il sangue cordonale è utilizzabile come fonte di cellule staminali emopoietiche nel trapianto allogenico per la cura di malattie ematologiche maligne ed ereditarie con i vantaggi di una rapida disponibilità e facilità di trasporto soprattutto durante la pandemia da COVID-19. Convenzionalmente, per il sangue cordonale è richiesta la tipizzazione HLA a bassa risoluzione per i loci A e B e ad alta risoluzione per il locus DRB1, ma studi recenti evidenziano l'importanza della tipizzazione ad alta risoluzione dei loci A, B, C e DRB1. Il nostro Centro è attualmente coinvolto nella tipizzazione HLA e nell'inserimento dei dati genetici nel database IBMDR di circa 1000 unità di sangue cordonale raccolte dalla Banca del Sangue Cordonale della Sicilia. Durante quest'attività abbiamo caratterizzato un nuovo allele HLA-B con quattro cambiamenti nucleotidici nell'esone 1 in un'unità di sangue cordonale. Abbiamo identificato una sequenza in gran parte omologa a B*51:01:01:64 con quattro sostituzioni nell'esone 1: nt41 G>C, nt45 G>A, nt48 A>C, nt49 G>C. Queste sostituzioni determinano due cambiamenti di codifica da Triptofano a Serina al codone -11 TGG>TCG e da Valina a Leucina al codone -8 GTG>CTG e due cambiamenti silenti al codone -10 GGG>GGA e al codone -9 GCA>GCC. Il nuovo allele è stato identificato tramite Next Generation Sequencing che ha permesso di ottenere due sequenze separate: una del nuovo allele B*51:367 e l'altra dell'allele B*44:03:02. Nel database IMGT/HLA, le quattro variazioni sono già presenti negli alleli B*40:12, B*40:26, B*40:40 e nella maggior parte degli alleli B*15 e B*46. La sequenza HLA-B*51:367 è stata inviata a GenBank con il numero di accesso OM959509 e al database IPD-IMGT/HLA con il numero di accesso HWS10060778. Il nome B*51:367 è stato ufficialmente assegnato dal Comitato per la Nomenclatura del Sistema HLA dell'Organizzazione Mondiale della Sanità nel marzo 2022. Questo caso suggerisce come la tecnologia NGS sia un buon metodo per la tipizzazione delle unità di sangue cordonale al primo inserimento nel registro consentendo lo studio di molti campioni in una singola sessione con risoluzione allelica ad un costo relativamente basso, con il vantaggio di poter identificare nuovi alleli che potrebbero non essere rilevati da altre tecnologie.



Abstract Code: AIB17059-66

Evoluzione delle strategie di tipizzazione HLA ad alta risoluzione: esperienza di un singolo centro

F. Ingrassia¹, A. Pecoraro¹, M. Blando¹, R. Bavetta¹, S. Mistretta¹, F. Bruno¹, A.A. Corica¹, G. Davì¹, A. Lo Brutto¹, V. Cappuzzo¹, R. Fedele¹

(1) Laboratorio Regionale di Tipizzazione Tessutale ed Immunologia dei Trapianti - U.O.C. Medicina Trasfusionale e dei Trapianti - A.O.O.R. Villa Sofia-Cervello – Palermo.

La tipizzazione HLA ad alta risoluzione è indispensabile per garantire un buon esito clinico del trapianto di cellule staminali emopoietiche. Il nostro laboratorio, fino al 2016, eseguiva la tipizzazione ad alta risoluzione mediante sequenziamento Sanger con uno strumento mono-capillare. L'iter prevedeva di sequenziare solo gli esoni 2, 3 e 4 della Classe I non utilizzando gSSP: ciò produceva risultati con molte ambiguità dovute alle posizioni eterozigoti ed agli esoni non investigati, e di conseguenza, più della metà dei test, doveva essere ripetuta utilizzando il metodo PCR-SSP. La tipizzazione di Classe II ad alta risoluzione veniva eseguita utilizzando soltanto il metodo PCR-SSP. Questa metodica risultava molto lunga, laboriosa e spesso i risultati presentavano ambiguità. Dal 2017 abbiamo iniziato ad utilizzare un sequenziatore a 24 capillari che ci ha permesso di eseguire molte sequenze in breve tempo, di estendere il sequenziamento del DNA a tutti i loci HLA e di utilizzare primer gSSP ed esoni aggiuntivi per risolvere le ambiguità. Tuttavia, il metodo Sanger ha sempre alcune limitazioni come l'uso di più passaggi per ottenere una tipizzazione univoca, l'impossibilità di tipizzare molti campioni in breve tempo e anche di sequenziare l'intero gene. A partire dal 2019 abbiamo introdotto anche la tecnologia Next Generation Sequencing: questo ci ha permesso di superare i limiti del sequenziamento Sanger, ottenendo quasi sempre risultati univoci a risoluzione allelica con il vantaggio di poter tipizzare molti campioni in un'unica corsa, massimizzando l'efficienza e riducendo il costo per campione. L'introduzione di queste nuove tecnologie ha generato un radicale miglioramento dei processi di lavoro e della qualità della tipizzazione ad alta risoluzione, come dimostra l'identificazione di otto nuovi alleli negli ultimi quattro anni, rispetto ai soli tre riscontrati nei precedenti ventisei anni di attività del nostro laboratorio. La nostra esperienza suggerisce che la migliore strategia di tipizzazione ad alta risoluzione consista nell'utilizzo della tecnologia NGS pur mantenendo il sequenziamento Sanger come altra metodica per i campioni con risultati di bassa qualità, per risolvere i casi dubbi e confermare i nuovi alleli.



Abstract Code: AIB17150-58

Plasma cell-directed therapy and anti-HLA antibody production: results from a monocenter prospective study

M. Soldarini¹, A.M. Cafro¹, P. Bertazzoni¹, G. Lando¹, E. Sommaruga¹, G. Cornacchini¹, M.L. Pioltelli¹, A. Milano¹, R. Cairoli¹, S. Rossini¹, R. Crocchiolo¹

(1) ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

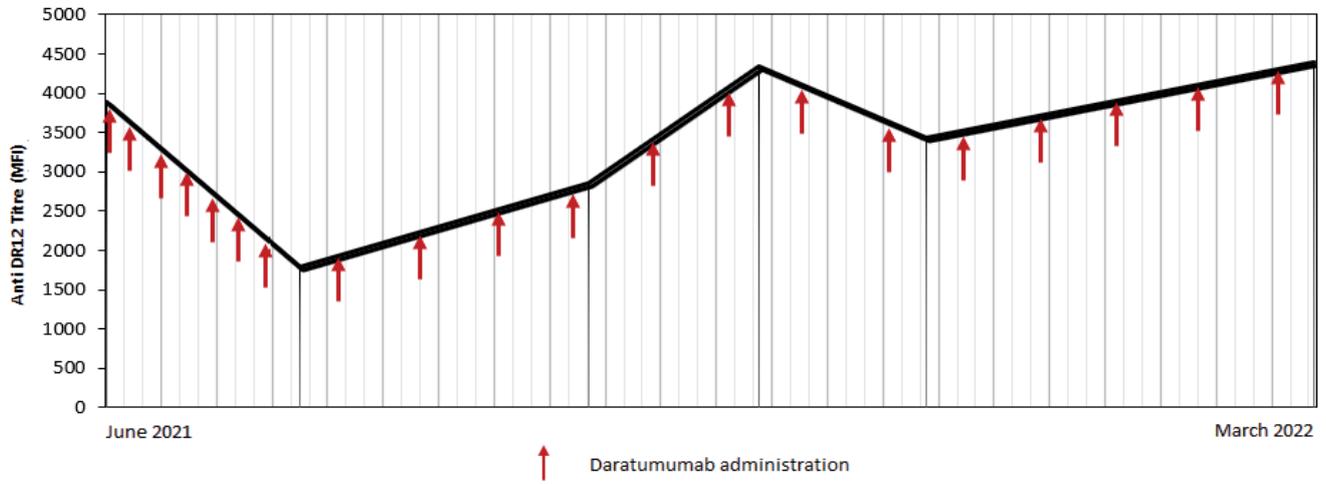
The presence of Donor Specific-Antibodies (DSAs) may be of concern in both hematopoietic stem cell (HSCT) and solid organ transplantation. Effective strategies to desensitize patients with DSAs exist, although the current desensitizing protocols are not effective with high MFI values, i.e. > 20.000, increasing the morbidity and mortality in those patients waiting for a HSCT, as an example. These patients definitely have an unmet medical need. As an Ab-producing cell type, the plasma cell (PC) represents a logical target of therapy aiming at lowering DSAs.

We here investigated the MFI variations in patients affected by multiple myeloma (MM) with anti-HLA Abs before the beginning of treatment, in order to extrapolate the effect of anti-myeloma drugs on anti-HLA Ab production. In particular, the role of a new class of drugs, the anti-CD38 monoclonal Abs, appears attractive and currently underinvestigated in this setting, despite their wide use and the demonstrated effectiveness in myeloma patients. This monocenter, prospective observational study “(My)eloma (T)herapy vs. anti-(H)LA antibodies”, MYTH) was approved by the Ethics Committee of Milano Area 3.

From June 2021, a total of 13 adult patients with recent diagnosis of MM were enrolled. One out of 13 (8%) was positive for an anti-DR12, with an initial MFI of 3890. During the treatment with Dara-VMP, a reduction of MFI was observed in the first weeks, followed by a raise up to the pre-treatment levels. No emergence of new anti-HLA Abs was observed along the follow-up. MFI kinetics mirrored the schedule of Daratumumab (anti-CD38) and Bortezomib (proteasome inhibitor), with lower MFI values observed when these drugs were administered at shorter intervals, indicating an effective, although short-term, inhibition of anti-HLA Ab production (see graphic). The patient responded to treatment and is in very good partial remission at last evaluation.

In conclusion, these data support the activity of anti-CD38 therapy on anti-HLA Ab production, suggesting the potential integration of such treatment into desensitizing protocols. Larger cohorts and more studies are warranted to investigate the role of PC-directed therapy on anti-HLA Ab synthesis in vivo, in an attempt to improve the current desensitizing protocols.





Abstract Code: AIB17151-59

Potential selection of unrelated donor based on HLA-DPB1 T-cell epitope matching using data from a single-center analysis

R. Crocchiolo¹, D. Girgenti¹, F. D'amico¹, G. Cornacchini¹, G. Lando¹, B. De Marco¹, G. Magliano¹, G. Grillo¹, S. Rossini¹

(1) ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

Avoiding a nonpermissive HLA-DPB1 TCE mismatched donor has been demonstrated to improve patient prognosis and current recommendations includes this kind of selection [1]. Nonetheless, it is unclear to which extent the TCE matching could be applied in practice, with only one previous report [2]. A recent survey from AIBT showed that the use of TCE algorithm has increased from 24% to 65% of transplant centers between 2010 and 2019 [3]. However, some centers declared that the algorithm is difficult to apply due to the few patients with at least two potential UD with an equal match grade with patients (i.e. both 10/10 or 9/10) but different DP permissiveness, for whom this selection would be applicable. We aimed at calculating this number on our searches at the ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda (Milano) between 7/2013 and 6/2019, in order to quantify this perception.

The final study sample was n=191 evaluable patients. At least two potential donors were identified and available for confirmatory typing for n=112 patients and in n=76 cases there were at least two UD with equal match grade, 10/10 or 9/10. The selection of a permissive over a nonpermissive donor would have been possible in n=22 patients, those for whom at least one DPB1-permissive UD was present over nonpermissive with equal match grade. This means that checking for TCE permissiveness is applicable in 76/191 (40%) of our patients and 22/76 (29%) of those applicable cases actually benefit from this consideration, being 22/191 (12%) of all patients.

In conclusion, we found that the selection of a DP-permissive over a nonpermissive donor is possible in 29% of patients having two or more UD with equal match grade and that a nonpermissive donor can be avoided in 71% of these patients. Due to the increasing fraction of donor HLA typings already informative for DP in the upfront search, our results probably underestimate the current situation; nonetheless, reporting data from clinical practice is valuable to inform for the positioning of DPB1 epitope matching in UD selection and to pursue the effort toward a better matching for the final goal of improving transplant outcome.

References

- [1] Dehn J, Spellman S, Hurley CK, Shaw BE, Barker JN, Burns LJ, et al. Selection of unrelated donors and cord blood units for hematopoietic cell transplantation: guidelines from the NMDP/CIBMTR. *Blood*. 2019 Sep;134(12):924–34.
- [2] Shaw BE, Robinson J, Fleischhauer K, Madrigal JA, Marsh SGE. Translating the HLA-DPB1 T-cell epitope-matching algorithm into clinical practice. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Nov;48(12):1510–2.
- [3] Crocchiolo R, Mele L, Testi M, Scollo Chiara M, Murgia B, Rossi A, et al. Use of DPB1 T-cell epitope algorithm among Italian transplant centers: A survey on behalf of Associazione Italiana di Immunogenetica e Biologia dei Trapianti. *HLA*. 2021 Aug;98(2):114–21.



Abstract Code: AIB17153-61

Differenze nelle Frequenze Alleliche dei Geni MHC classe I Polipeptide-related sequenza A (MICA) e B (MICB) fra la Popolazione Sarda e quella Caucasica/Europea

S. Lai¹, R. Littera¹, E. Giuressi¹, S. Rassu¹, C. Sanna², R. Stradoni², R. Porcella¹, F. Alba¹, S. Mocci², S. Tranquilli², A. Mascia², F. Cannas², N. Orru¹, S. Giglio²

(1) Medical Genetics Unit, R. Binaghi Hospital, Local Public Health and Social Care Unit (ASL) of Cagliari, Cagliari, Italy, (2) Medical Genetics Unit, Department of Medical Sciences and Public Health, University of Cagliari, Cagliari, Italy

Introduzione

I geni non classici MICA e MICB della regione MHC I, codificano per i ligandi del recettore NKG2D, implicato nell'attivazione delle cellule NK e delle cellule T. Sia polimorfismi genetici che l'espressione e la quantità di MICA/B solubili sono stati collegati a malattie autoimmuni, infezioni e cancro. Nel trapianto di CSE il match MICA tra donatore e paziente è stato correlato con la GVHD acuta e cronica, mentre la presenza di anticorpi anti-MICA si correlerebbe con il rigetto anticorpo-mediato nel trapianto di rene.

In questo studio abbiamo analizzato le frequenze alleliche di MICA/B in un campione di popolazione Sarda confrontandole con quelle descritte in altre popolazioni.

Materiali e metodi

Sono stati analizzati in NGS (kit AlloSeq Tx17, CareDx) 300 soggetti provenienti da tutta la Regione, per un totale di 590 alleli MICA e 598 alleli MICB, analizzati con una risoluzione a due campi.

Risultati

Abbiamo identificato 26 differenti alleli MICA e 12 alleli MICB. Gli alleli MICA presenti con maggiore frequenza, sono: *MICA*002* (18%), *MICA*001* (17%) e *MICA*008* (13%) pari al 48% del totale. Tutti gli alleli *MICA*002* trovati (n.107) sono *002:01, mentre il 69% di *MICA*008* sono*008:01 (n.51/74). Gli alleli MICB con maggiore frequenza, sono: *MICB*005* (53%), *MICB*002* (24%), *MICB*004* (11%) e



MICB*008 (10%), pari al 98% del totale. L'84% degli alleli MICB*005 sono*005:02 (n.45/53).

Conclusioni

A differenza delle frequenze MICB, le frequenze MICA, risultano significativamente diverse rispetto a quelle di altre popolazioni. Alcuni studi evidenziano che i tre alleli MICA*008, MICA*002 e MICA*004, rappresentano più del 50% del totale, e il MICA*008 viene descritto come quello più comune (25-55%). Invece, nella nostra casistica, MICA*008 non raggiunge il 15% degli alleli trovati [$P_c < 0.00001$]. Da notare che MICA*008, come altri rari alleli A5.1, potrebbe essere associato ad una maggiore espressione di sMICA, causando l'inattivazione di cellule NK ed NKT attraverso "downregulation" del recettore NKG2D.

E' probabile che la particolare distribuzione allelica del MICA nella popolazione Sarda, possa associarsi ad un aumentato rischio di rigetto nei trapianti di rene, oltre che contribuire all'alta incidenza di numerose malattie autoimmuni che si osservano nella Regione.



Abstract Code: AIB17154-62

L'Aplotipo Esteso HLA-A*02:01, B*18:01, DRB*03:01 Contrasta il Rischio di Manifestazioni Cliniche Severe da COVID-19 nei Soggetti Portatori della Variante Neanderthal (rs35044562)

S. Mocchi¹, S. Tranquilli¹, A. Mascia¹, F. Cannas¹, S. Lai², E. Giuressi², S. Cipri³, R. Stradoni¹, S. Rassu², R. Littera², S. Giglio¹

(1) Medical Genetics Unit, Department of Medical Sciences and Public Health, University of Cagliari, Cagliari, Italy, (2) Medical Genetics Unit, R. Binaghi Hospital, Local Public Health and Social Care Unit (ASL) of Cagliari, Cagliari, Italy, (3) Association GeneMos A.P.S, Reggio Calabria, Italy

Introduzione

Durante la prima e seconda ondata della pandemia da COVID-19, la Sardegna ha avuto uno dei tassi di ospedalizzazione e mortalità più bassi in Europa. Tuttavia, in contrasto con questo dato, è stata riscontrata una frequenza molto elevata della variante *rs35044562* nella popolazione Sarda. Questa variante, localizzata sul cromosoma 3 nel locus ereditato dal Neanderthal, è ritenuta essere un importante fattore di rischio per il decorso grave della malattia da SARS-CoV-2 (1).

Materiali e metodi

Abbiamo esaminato 358 pazienti, affetti da COVID-19 e 314 controlli sardi (Italia). I pazienti sono stati suddivisi seguendo la classificazione dell'OMS: 120 pazienti asintomatici, 90 paucisintomatici, 108 con decorso moderato e 40 gravemente malati. Le frequenze alleliche delle due varianti genetiche derivate dal Neanderthal, protettiva (*rs1156361*) e causativa (*rs35044562*) per il decorso della malattia, sono state calcolate nei pazienti e nei controlli. Inoltre, sono state studiate: la variante $\beta^{39} C>T$ per la β -Thalassemia (*rs11549407*), gli aplotipi *HLA*, i geni *KIR*, nonché le loro combinazioni con i ligandi *HLA* di classe I.

Risultati

Le varianti *rs35044562* e *rs1156361* derivanti dal Neanderthal hanno mostrato una distribuzione in equilibrio di Hardy-Weinberg (HWE) sia nei pazienti COVID-19 che nella popolazione di controllo ($X^2_{HWE} = 0,82$, $p = 0,37$ e $X^2_{HWE} = 0,13$, $p = 0,72$, rispettivamente). I nostri risultati hanno evidenziato che nei pazienti sardi portatori della variante ad alto rischio *rs35044562* vi è un' aumentata incidenza di malattia grave [OR 5,32 (IC 95% 2,53 - 12,01), $p < 0,0001$] (Tabella). Tuttavia, è emerso come l'effetto negativo di questa variante sia contrastato efficacemente dalla presenza dell'aplotipo esteso a tre loci, HLA-A*02:01, B*18:01, DRB*03:01, il quale nella



popolazione sarda protegge da un esito grave della malattia [OR 15,47 (IC 95% 5,8 – 41,0), $p < 0,0001$].

Tabella

Modello di associazione tra polimorfismo *rs35044562* e manifestazioni cliniche di COVID-19

Manifestazioni Cliniche	Genotipo <i>rs35044562</i>		χ^2	d.f.	<i>p</i>	OR (95% CI)	
	AA	AG + GG					
Severi (n = 40)	22	18					
vs							
Asintomatici (n = 120)	104	16	17.98	1	0.000	5.32	(2.53 - 12.01)
Pauci-sintomatici (n = 90)	80	10	18.82	1	0.000	6.55	(2.65 - 16.19)
Moderati (n = 108)	86	22	8.978	1	0.003	3.20	(1.47 - 6.97)
Asintomatici, Pauci-sintomatici, Moderati (n = 318)	270	48	21.13	1	0.000	4.60	(2.29 - 9.22)

χ^2 = Chi quadro; d.f. gradi di libertà; *p* = *p* value; OR = Odds ratio (s), CI = intervallo di confidenza

Conclusioni

Questo risultato suggerisce che l'equilibrio tra fattori immunogenetici causativi e protettivi svolge un ruolo cruciale nel decorso della malattia da COVID-19. Una migliore comprensione di questi meccanismi potrebbe rivelarsi il più grande vantaggio nella corsa allo sviluppo di farmaci e vaccini più efficienti.

1. Zeberg H, Pääbo S. The Major Genetic Risk Factor for Severe COVID-19 is Inherited From Neanderthals. **Nature** (2020).



Abstract Code: AIB17155-63

Lo Yin e lo Yang dell' HLA-G (Human Leukocyte Antigen-G) nell'Epatite Autoimmune di tipo I: L'effetto Negativo delle Molecole HLA-G Espresse dalle Plasmacellule.

A. Mascia¹, S. Lai², M. Vacca¹, L. Martorana², N. Orrù², S. Cipri³, E. Giuressi², S. Rassu², S. Mocchi¹, S. Tranquilli¹, R. Stradoni¹, R. Porcella², F. Alba², F. Cannas¹, C. Sanna¹, C. Cocco¹, R. Littera², S. Giglio¹

(1) Medical Genetics Unit, Department of Medical Sciences and Public Health, University of Cagliari, Cagliari, Italy, (2) Medical Genetics Unit, R. Binaghi Hospital, Local Public Health and Social Care Unit (ASL) of Cagliari, Cagliari, Italy, (3) GeneMos A.P.S. Association, Reggio Calabria, Italy

Introduzione

Il ruolo delle molecole HLA-G nelle patologie epatiche di natura tumorale, infettiva oltre che nel trapianto di fegato è stato ampiamente investigato e gli effetti immunomodulatori dell' HLA-G sono stati ben documentati. Tuttavia finora, non vi sono lavori che abbiano esaminato l'espressione delle molecole HLA-G nelle malattie autoimmuni del fegato, in particolare nell'epatite autoimmune (AIH). Lo studio ha l'obiettivo di colmare questo "gap".

Materiali e metodi

Abbiamo analizzato le caratteristiche genetiche e fenotipiche dell'HLA-G in 205 pazienti con AIH di tipo 1 (AIH-1) ed una popolazione di 210 controlli sani della Sardegna (Italia).

Risultati

L'analisi del locus HLA-G non ha mostrato differenze sostanziali nelle frequenze alleliche tra i pazienti e la popolazione di controllo sana. L'aplotipo HLA-G UTR-1 era il più diffuso sia nei pazienti AIH-1 che nei controlli (40,24% e 34,29%). È stato riscontrato un forte *linkage* tra l'aplotipo HLA-G UTR-1 e HLA-DRB1 * 03:01 nei pazienti con AIH-1 ma non nei controlli ($D'=0,92$ vs $D'=0,50$ rispettivamente; $P=1,3 \times 10^{-8}$). I livelli solubili di HLA-G (sHLA-G) erano significativamente più bassi nei pazienti con AIH-1 rispetto ai controlli [13,9 (11,6 – 17,4) U/mL vs 21,3 (16,5 – 27,8) U/mL; $P=0,011$]. Ventiquattro pazienti con stato infiammatorio lieve o moderato, come valutato dalla biopsia epatica, hanno mostrato livelli molto più elevati di sHLA-G rispetto ai 28 pazienti con infiammazione epatica grave [33,5 (23,6 – 44,8) U/mL vs 8,8 (6,1 – 14,5) U/mL; $P=0,003$]. Infine, l'analisi immunostochimica di 52 biopsie epatiche di pazienti affetti da AIH-1 non ha mostrato l'espressione di molecole HLA-G nel parenchima epatico. Tuttavia, una



percentuale del 69,2% (36/52) ha rivelato un'espressione diffusa di HLA-G sia nel citoplasma che nella membrana delle plasmacellule marcate con anticorpi monoclonali anti-HLA-G.

Conclusioni

Questo studio ha evidenziato l'effetto immunomodulatore positivo delle molecole HLA-G sul decorso clinico dell'AIH-1 e come questo sia strettamente correlato ai livelli plasmatici di sHLA-G. Tuttavia, lo studio apre il dibattito sul ruolo ambiguo e verosimilmente sfavorevole, delle molecole HLA-G espresse dalle plasmacellule, che sono "patognomoniche" dell'AIH-1.



Abstract Code: AIB17159-67

Supertype HLA di Classe I ed anticorpi anti SARS-CoV2 in pazienti trapiantati di rene vaccinati

C. Cervelli ¹, M.G. Tupone ¹, V. Torrelli ¹, O. Valdez ¹, A. Panarese ², R. Azzarone ¹, C. Battistoni ¹, D. Fracassi ¹, D. Pulcinelli ¹, S. Scacchi ¹, S. Scipione ¹, B. Spaziani ¹, F. Pisani ², F. Papola ¹

(1) Centro Regionale di Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale - ASL1 Abruzzo, (2) Centro Trapianti di Organo - Dipartimento Scienze Chirurgiche e dei Trapianti di Organo Università di L'Aquila

Abbiamo analizzato i sieri di 57 pazienti trapiantati di rene presso il Centro Trapianti dell'Ospedale dell'Aquila, sottoposti a terapia immunosoppressiva standard con corticosteroidi, MMF e tacrolimus/everolimus, dopo somministrazione di due dosi di vaccino a RNA contro SarsCoV2, utilizzando il kit "Labscreen Covid Plus" (One Lambda) con l'obiettivo di verificare la risposta anticorpale post vaccino. Il kit utilizzato permette di analizzare anticorpi verso 5 frazioni antigeniche, CoV2-Spike, S1, RBD, S2, NC (Nucleocapside) e di distinguere la risposta anticorpale da vaccino, in cui non sono presenti anticorpi antiNC, da quella post-infezione in cui sono evidenti. Dei 57 pazienti studiati, il 21% (12/57) erano non responder, non sviluppavano anticorpi verso nessuna frazione antigenica, il 39% (22/57) erano low responder, con risposta anticorpale incompleta, il 40% erano responder (23/57), complessivamente il 60% dei pazienti trapiantati mostrava una risposta "inefficace" o del tutto assente. Questi dati dimostrano l'importanza di verificare sempre la risposta anticorpale, meglio se verso più frazioni antigeniche, per poter identificare pazienti low/non responder e programmare loro eventuali dosi di richiamo in base reattività specifica. Abbiamo quindi studiato gli anticorpi di 5 pazienti, prima e dopo la terza dose di vaccino ed abbiamo trovato che due pazienti, non responder dopo due dosi, non hanno prodotto anticorpi neanche dopo la terza dose; gli altri tre pazienti, tutti low responder, dopo la terza dose, hanno avuto una risposta soddisfacente verso tutte le frazioni, dimostrando che laddove i pazienti mostrano una reattività incompleta è comunque indicato somministrare un'ulteriore dose di richiamo per esaltare una risposta anticorpale inizialmente scarsa, mentre i pazienti non responder dopo due dosi non giovano affatto della somministrazione della terza dose dello stesso vaccino. Nell'ottica di verificare se c'è correlazione tra predisposizione genetica HLA e risposta al vaccino a RNA contro SarsCoV2, abbiamo, analizzato le tipizzazioni HLA di classe I dei 57 pazienti trapiantati, secondo la classificazione "HLA class I supertypes: a revised and updated classification", John Sidney et al. BMC Immunology 2008, che si basa sulle caratteristiche del sito di legame dei peptidi antigenici soprattutto nelle posizioni P2 e P9 e confrontato tra loro i pazienti responder e non responder. I pazienti con genotipo supertype "B07" (10/12-83.3%) sono statisticamente più frequenti tra i non responder, insensibili alla somministrazione del vaccino, rispetto ai responder (9/23- 39.1%) ($\chi^2=6.2088$, p-value 0.013). Queste osservazioni, malgrado condotte su un piccolo numero di pazienti, ci incoraggiano a proseguire lo studio sull'eventuale ruolo predittivo delle molecole HLA nella risposta al vaccino.



Abstract Code: AIB17160-59

Influenza degli antigeni HLA di Classe I nel tempo di negativizzazione dei tamponi molecolari da SARS-CoV2

F. Papola¹, V. Cofini², M.G. Tupone¹, V. Torrelli¹, O. Valdez³, S. Necozone², S. Melena⁴, A. Petrucci⁵, V. De Silvestri⁵, R. Azzarone¹, M. Scimitarra¹, C. Cervelli¹

(1) Centro Regionale di Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale - ASL1 Abruzzo, (2) Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università degli Studi di L'Aquila, (3) Centro Trapianti di Organo - Dipartimento Scienze Chirurgiche e dei Trapianti di Organo Università di L'Aquila, (4) Dipartimento Sanità - Servizio Assistenza Farmaceutica -Regione Abruzzo, (5) Dipartimento Sanità - Servizio Flussi Informativi e Sanità Digitale - Regione Abruzzo

La pandemia da Sars-Cov2 ha colpito tutta la popolazione mondiale con differenti quadri clinici individuali, pressoché indipendenti dall'età. È noto che gli antigeni HLA di classe I svolgono un ruolo fondamentale nella risposta immunitaria cellulo-mediata, perchè legano i peptidi antigenici endocellulari e li presentano al TCR dei linfociti CD8+ e che il sistema HLA è coinvolto nella progressione e severità del COVID19; gli studi sull'influenza degli alleli HLA nella presentazione dei peptidi virali, però, sono resi estremamente complessi dall'enorme variabilità genetica delle molecole HLA. Nel presente studio ci siamo proposti di valutare il ruolo degli antigeni HLA nella presentazione dei peptidi virali del Sars-CoV2, correlando la tipizzazione HLA ad alta risoluzione di classe I di 423/8608 (4,9%) donatori volontari di CSE del RRAQ01, non vaccinati e risultati positivi al tampone molecolare per il Sars-Cov2 nel periodo dal 11/03/2020 al 04/01/2022, con il tempo medio di negativizzazione dei rispettivi tamponi. Nello specifico, abbiamo in primo luogo "rianalizzato" le tipizzazioni dei donatori secondo la classificazione dei "Supertipi HLA" (*BMC Immunology 2008*), basata sull'evidenza che alleli HLA differenti che legano peptidi con sequenze amminoacidiche simili sono raggruppati in "Supertipi" e le abbiamo correlate con la clearance del virus intesa come tempo di negativizzazione dei tamponi molecolari. Il tempo medio di negativizzazione è stato ricavato dal numero dei giorni in cui il soggetto è risultato positivo per il Sars-Cov2; per i confronti tra supertipi HLA e gli antigeni HLA, sono stati calcolati gli intervalli di confidenza al 95% con la distribuzione di Poisson. La valutazione dei supertipi HLA ha mostrato che per il locus HLA-A i donatori con supertipo "A24" (HLA-A*23:01, A*24:02) avevano un tempo medio di negativizzazione del tampone molecolare significativamente inferiore alla media degli altri supertipi (20.11 giorni vs 22.4 giorni), mentre nessuno degli altri supertipi del locus B noti è significativamente correlabile con un minor tempo di negativizzazione. L'analisi dei singoli antigeni HLA, invece, ha mostrato che nel locus HLA-A i soggetti positivi per gli antigeni HLA-A23 e HLA-A33 mostrano un tempo di negativizzazione significativamente inferiore alla media



(rispettivamente 16.63 e 17.61 vs 22.50), nel locus B i soggetti positivi per l'HLA-B49, non classificato in nessun supertipo noto, (18.29 vs 21.92), Da quanto suddetto, si evidenzia che alcuni donatori hanno tempi di negativizzazione dei tamponi molecolari inferiori alla media ed anche al tempo medio di produzione degli anticorpi, quindi sono responder precoci rispetto all'attivazione della risposta umorale, suggerendo che la presenza di alcuni antigeni, come HLA-A23, A33, B49 siano in grado di presentare più efficientemente i peptidi virali ai TCR dei linfociti CD8+, facilitando la clearance virale e proteggendo l'individuo da esiti gravi del COVID-19.



Abstract Code: AIB17161-60

The presence of Anti-HLA antibodies, even when not directed against the donor, correlates with impaired survival after hematopoietic stem cell transplantation

A. Milano¹, G. Lando¹, G. Cornacchini¹, G. Grillo¹, S. Rossini¹, R. Crocchiolo¹

(1) ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

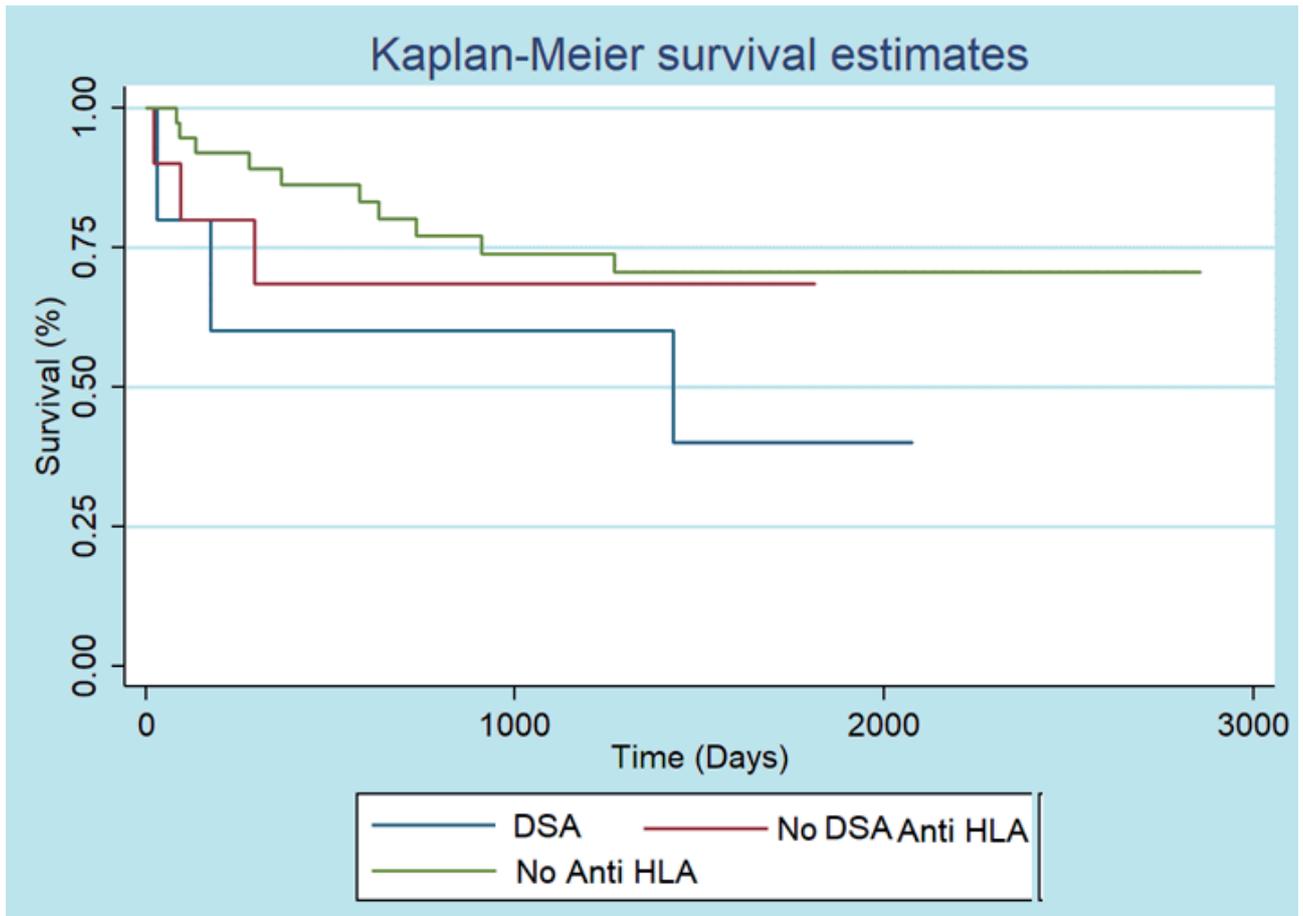
Introduction: the role of Donor Specific Anti-HLA Antibodies (DSA) in hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) has been extensively studied during the last years. Conversely, few literature exists on recipients having non donor-specific Anti-HLA Antibodies. In this study we investigated the role of Anti-HLA antibodies (DSA and non-DSA) in HSCT recipients after HLA-mismatched unrelated or haploidentical transplant at a single centre.

Materials and Methods: we retrospectively analyzed data from 53 patients with hematological malignancies who received their first HSCT from a HLA-mismatched unrelated or haploidentical donor. The patients have been classified in three groups: patients with no anti HLA antibodies, patients with non-DSA antibodies and patients with DSA. We considered Engraftment, Overall Survival (OS), Neutrophil engraftment, Platelet engraftment and GvHD grade as outcomes. The detection of Anti-HLA Antibodies was performed with Luminex for both screening and identification at the beginning of donor search and repeated one month prior to HSCT.

Results: twenty-four patients were female and 29 were male, median age was 53.5 (38.5-62) years. Among these 53 patients, 16 (30%) presented Anti-HLA Antibodies (11 females and 5 males); of these, five (31%) were positive for DSA (3 female and 2 male). Female patients had Anti-HLA Antibodies more frequently than males (69%; $p=0.024$). No significant differences were observed in neutrophil or platelet engraftment and GvHD grade. Interestingly, OS analysis shows a trend toward an intermediate outcome of the non-DSA antibody group, between the antibody-negative patients and DSA ones: 63%, 75% and 40% respectively (Fig.1). Consistently, we observed that mortality risk was 2.55-fold higher (95% CI: 0.60 – 8.44, $p=0.067$) among patients in the non-DSA antibody group vs. Anti-HLA negative patients.

Discussion: our finding suggests a detrimental impact on survival when Anti-HLA Antibodies are present, even those not directed against the donor. The observed trend in OS can be considered a starting point to highlight a significant difference between the outcome in non-DSA patients and those negative for Anti-HLA Antibodies. This should make reconsider the role of non-DSA Anti-HLA Antibodies in HSCT transplant.





Abstract Code: AIB17162-61

The role of HLA chimerism analysis on peripheral blood in post liver transplant Graft versus Host Disease: report of two clinical cases

A. Mariani¹, F. Ferla¹, M. Tripepi¹, G. Checchini¹, R. Crocchiolo¹, G. Lando¹, I. Mangoni¹, A. De Gasperi¹, S. Rossini¹, L. De Carlis¹

(1) ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

Introduction: Graft versus host disease (GvHD) is a rare but often lethal complication (mortality rate > 90%) of liver transplantation (LT); it is an alloreactive immune response whose risk factors include donor HLA homozygosity, periorgan lymphoid tissue transplanted with the graft and the immunosuppressive drug regimen. The detection of peripheral blood T-cells chimerism has been proposed as diagnostic criteria for post-LT GVHD, together with clinical features. Due to the HLA disparities between recipient and liver donor, typing of one or more HLA-disparate locus/i may be a useful tool in supporting post-LT GvHD diagnosis, since it can disclose mixed chimerism on peripheral blood.

Methods: we here report the use of HLA typing in two out of seven cases of post-LT GvHD from our hospital over 20 years. Once the diagnosis of post-LT GvHD was suspected, the chimerism status on both skin and peripheral blood was investigated through short tandem repeats (STR) analysis and typing of one known HLA-mismatched locus. Notably, the HLA laboratory was involved early in the diagnostic process and HLA typing of both patient and liver donor were retrieved from the transplant regional registry.

Results: from 1999 to 2020, seven cases of post-LT GvHD out of 2168 patients receiving LT (0,32%) were identified. The HLA typing for blood chimerism analysis was performed on patients #6 and #7. Patient #6 was a 61 year-old woman undergoing an orthotopic LT for acute-on-chronic liver failure, presenting with features of GvHD one month later. A skin biopsy was performed and a sample of this biopsy together with peripheral blood showed donor chimerism with 25-27% of cells derived from the donor (STR); a concurrent HLA typing of DQA1 revealed the presence of alleles *01 and *05 (donor, whereas the patient was *05 homozygous), thus confirming the mixed chimerism and supporting the diagnosis of GvHD. Patient #7 was a 31 years-old woman with a history of cirrhosis due to autoimmune hepatitis undergoing a split LT and a subsequent AB0-incompatible rescue liver re-transplantation. At day +52 a maculopapular skin rash occurred and a skin biopsy suggested GvHD. However, peripheral blood STR testing showed full recipient chimerism, also confirmed by typing of DQA1 showing *01 (patient, homozygous) without the allele *05 from the donor. Anyway, HLA-based chimerism analysis was consistent with STR in both patients #6 and #7.

Discussion: diagnosis of post-LT GvHD must be as early as possible, in order to set an appropriate therapy and try to improve the prognosis. We report the early involvement of the HLA laboratory in the diagnostic process of two cases of post-LT GvHD, through the analysis of peripheral blood mixed chimerism by the typing of an HLA-disparate locus, here DQA1, between recipient and donor. This example might suggest an additional role of HLA laboratory in the transplantation setting.



Abstract Code: AIB17163-62

Impatto della divergenza evolutiva del sistema HLA (HED) sull'andamento clinico di pazienti pediatrici affetti da malattie ematologiche maligne sottoposti a trapianto di cellule staminali emopoietiche da donatore non correlato

P. Crivello¹, P. Merli², M. Andreani³, L. Strocchio², R.M. Pinto², M. Algeri², F. Del Bufalo², D. Pagiara², M. Becilli², R. Carta², S. Gaspari², F. Galaverna², F. Quagliarella², G. Boz², E. Bocceri², G. Testa³, M. Troiano³, K. Fleischhauer⁴, F. Locatelli⁵

(1) Institute for Experimental Cellular Therapy, University Hospital Essen, Essen, Germany, (2) Department of Hematology/Oncology, Cell and Gene Therapy, IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italy, (3) Laboratory of Transplant Immunogenetics, Department of Hematology/Oncology, Cell and Gene Therapy, IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italy, (4) Institute for Experimental Cellular Therapy, University Hospital Essen, Essen, Germany and German Cancer Consortium, partner site Essen/Düsseldorf, Germany, (5) Department of Hematology/Oncology, Cell and Gene Therapy, IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italy and Sapienza, University of Rome, Rome, Italy

È noto come l'elevata eterogeneità genetica del sistema HLA aumenti l'efficienza della risposta immunitaria sia agli agenti patogeni che alle cellule tumorali. Come misura della diversità del sistema HLA è stato recentemente proposto come marker prognostico l'HED, ovvero la divergenza evolutiva HLA, che ha dimostrato di predire sia l'efficienza dell'immunoterapia verso i tumori solidi che un miglior andamento clinico nel trapianto di cellule staminali emopoietiche (HSCT) nei pazienti adulti. In questo studio retrospettivo abbiamo correlato i valori di HED con l'andamento clinico in un gruppo di 153 pazienti sia pediatrici che giovani adulti affetti da malattie ematologiche maligne trattati con HSCT da donatori 9-10/10 HLA-matched, non correlati. Il valore di HED è stato calcolato affinché rappresentasse la distanza genetica tra le singole coppie di alleli HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 e DPB1 per ogni paziente. Il dato rappresentato dalla mediana di ciascun singolo locus è stato successivamente utilizzato per stratificare il valore di HED come "high" o "low". In analisi univariata i pazienti hanno mostrato un incremento statisticamente significativo della sopravvivenza libera da malattia (DFS) per valori di HED definiti "high" rispetto ai "low" per i loci HLA-B e DRB1, in particolare quando questi sono stati valutati insieme (70.8% versus 53.7% p=0.004). Valori definiti "high" di HED sono stati associati anche a una più elevata sopravvivenza (OS) (82.1 versus 66.4% p=0.007) e ad una concomitante riduzione della "non-relapse-mortality" (5.1% versus 21.1% p=0.003). Inoltre, l'impatto favorevole su DFS e OS di valori "high" rispetto a "low" nella combinazione allelica HLA-B and DRB1 è stata confermata in analisi multivariata (Hazard ratio, HR:0.39



$p=0.009$ e $HR:0.45$ $p=0.007$, rispettivamente). Soltanto valori “high” di HED per il locus HLA-DPB1 sono stati associati ad una ridotta incidenza di recidiva (15.9% versus 31.1%, $p=0.03$), sebbene questi risultati non siano stati confermati in analisi multivariata tenendo conto del mismatch paziente/donatore al locus DPB1 con il metodo di matching funzionale “T-cell epitope”. Questi risultati suggeriscono che i HED in quanto “proxy” della diversità funzionale delle molecole HLA nella presentazione degli antigeni, potrebbero rappresentare un marker prognostico rilevante nell’ambito dell’HSCT. Se confermato in una coorte di pazienti più ampia, potrebbe quindi offrire indicazioni utili sui rischi associati al trapianto, con possibili implicazioni nella pratica clinica.

Acknowledgments

This study was supported by the following grants: GR-2011-02350175 from the Italian Ministry of Health to PM; DKMS-SLS-MHG-2018-01 from the Deutsche Knochenmarkspenderdatei (DKMS) to PC, Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG FL 843/1-1), Deutsche José Carreras Leukämie Stiftung (DJCLS 20R/2019) and DJCLS 11 R/2021, and the Joseph-Senker Stiftung to K.F.



Abstract Code: AIB17164-63

Trapianto di cellule staminali emopoietiche da donatore aploidentico in una paziente con anticorpi anti-HLA donatore specifici

S. Mistretta¹, R. Bavetta¹, F. Bruno¹, A.A. Corica¹, G. Davi¹, F. Ingrassia¹, A. Pecoraro¹, M. Blando¹, V. Cappuzzo¹, R. Fedele¹

(1) A.O.O.R. VILLA SOFIA-CERVELLO - PALERMO

I recenti progressi nel trapianto di cellule staminali da donatore alternativo hanno consentito di superare uno dei limiti più importanti, ovvero la disponibilità di donatori HLA identici, rendendo così possibile il trapianto di cellule staminali a quasi tutti i pazienti. I donatori aploidentici vengono sempre più presi in considerazione in assenza di donatori HLA 100% matched o se il trapianto è urgente.

È ormai consolidato che gli anticorpi anti-HLA donatore specifici (DSA), presenti nel siero del ricevente, rappresentano un'importante barriera all'attecchimento delle cellule del donatore e sono associati a un aumentato rischio di *Primary Graft Failure* (PGF): i pazienti con DSA preformati prima del trapianto hanno un rischio aumentato di 7,47 volte di PGF rispetto ai pazienti senza DSA; inoltre l'associazione tra DSA e PGF sembra non essere influenzata dal cut-off dell'MFI degli anticorpi, dalla malattia primaria, dal tipo di trapianto, dalla fonte delle CSE o dalla desensibilizzazione pre-trapianto.

Di seguito viene descritto un nostro caso clinico in cui, la paziente B.L. 59 anni affetta da malattia mieloproliferativa cronica ad alto rischio, non aveva donatori HLA identici né in ambito familiare né sul Registro di donatori volontari per cui è stato valutato lo studio di due figli per un trapianto da donatore aploidentico. Come previsto dalle nostre procedure, secondo le raccomandazioni della società AIBT, è stato valutato lo stato di pre-sensibilizzazione, studiando il siero con tecnologia Luminex; la paziente presentava DSA rivolti verso l'aplotipo paterno condiviso da entrambi i potenziali donatori. Come da protocollo sono stati eseguiti i crossmatch con metodiche di citotossicità complemento dipendente e citofluorimetria, entrambi con esito negativo. In assenza di altri donatori, il Centro Trapianti (CT) ha iniziato il protocollo di desensibilizzazione ed il nostro laboratorio ha eseguito un attento monitoraggio dei DSA: dopo due sedute di plasmateresi e IVIg i livelli di DSA erano azzerati e la paziente è stata trapiantata con successo.

Da questo caso emerge quanto importante sia una stretta collaborazione tra Centro Trapianti e Laboratorio HLA per la gestione dei casi più complessi, al fine di garantire la migliore assistenza ai pazienti oncoematologici, candidati a trapianto.



Abstract Code: AIB17165-64

Cross-match citometrico tetraparametrico: valutazione contemporanea IgG/IgM in urgenza

C. Cervelli ¹, O. Valdez ¹, R. Azzarone ¹, M. Scimitarra ¹, C. Battistoni ¹, D. Fracassi ¹, D. Pulcinelli ¹, S. Scacchi ¹, S. Scipione ¹, B. Spaziani ¹, F. Papola ¹

(1) Centro Regionale di Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale - ASL1 Avezzano, Sulmona, L'Aquila

Il crossmatch prospettico donatore/ricevente evidenzia la reattività del siero di un paziente nei confronti delle cellule (linfociti T e B) di un potenziale donatore, dovuta per lo più alla presenza di anticorpi anti-HLA (Ab) donatore specifici (DSA), predice il rigetto iperacuto/accelerato anticorpo mediato ed è, quindi, un indice della citotossicità delle cellule del trapianto. Attualmente, le Linee-Guida italiane AIBT per la Valutazione dell'Istocompatibilità nel Trapianto d'Organo indicano due metodiche per il cross match prospettico, la linfocitotossicità complemento-dipendente (CDC-XM) ed il cross match citofluorimetrico (FC-XM). CDC-XM evidenzia IgG che IgM (Ab fissanti il complemento) ma ha una scarsa sensibilità e specificità, poiché non evidenzia gli anticorpi non fissanti il complemento e può dar luogo a risultati falsamente positivi dovuti alla presenza, nel siero del candidato al trapianto, di anticorpi non-HLA, autoanticorpi o anticorpi monoclonali somministrati al paziente. Il cross match citofluorimetrico (FC-XM) evidenzia sia anticorpi anti-HLA fissanti e non fissanti il complemento, ha un'elevata sensibilità, può evidenziare sia IgG che IgM in base all'anticorpo secondario utilizzato, permette di stratificare il livello di "rischio immunologico" di un trapianto in funzione del grado di positività del test (channel shift). Il test citofluorimetrico FC-XM standard è triparametrico, utilizzando due fluorescenze per la marcatura dei linfociti T e B ed una fluorescenza per evidenziare l'isotipo degli anticorpi in base all'Ab secondario anti IgG/IgM utilizzato. Normalmente, in urgenza si analizzano solo gli anticorpi anti HLA di tipo IgG, unanimemente riconosciuti come estremamente dannosi per la sopravvivenza dell'organo da trapiantare mentre non c'è consenso univoco circa l'importanza clinica delle IgM ai fini del rigetto. Le IgM, in quanto fissanti il complemento, vengono evidenziate dal CDC-XM e questo è uno dei motivi per cui tale metodica ancora rappresenti, almeno in Italia, un "must" da effettuare prima del trapianto di un organo solido non salvavita, come il rene. E' noto che in alcuni centri esteri (ad es. in USA), il CDC-CX prospettico è stato sostituito, in urgenza, dal FC-XM, più sensibile e veloce e dal virtual cross match. Abbiamo elaborato, perciò, una metodica utilizzabile in urgenza, che non "aggravi" il notevole carico di lavoro ma che consenta di analizzare anche IgM in un'unica provetta e contemporaneamente alle IgG, utile nell'ottica di un'ipotetica futura dismissione del CDC-CX, in grado di garantire al paziente la massima sicurezza analitica. FC-XM IgG/IgM simultaneo ci consente di evidenziare entrambi gli isotipi di anticorpi così da non escludere dal trapianto a priori pazienti che abbiano ricevuto una trasfusione recente e si trovino entro la fase finestra dell'eventuale produzione di IgM e di segnalarle al chirurgo trapiantatore per poter personalizzare la terapia post trapianto.



Abstract Code: AIB17166-65

Studio degli anticorpi IgM anti-HLA nei pazienti in lista di attesa per trapianto di rene

O. Valdez¹, C. Cervelli¹, C. Battistoni¹, D. Fracassi¹, D. Pulcinelli¹, S. Scacchi¹, S. Scipione¹, B. Spaziani¹, A. Panarese², F. Pisani², F. Papola¹

(1) Centro Regionale di Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale - ASL1 Avezzano, Sulmona, L'Aquila, (2) Centro Trapianti di organo Dipartimento Scienze Chirurgiche e dei trapianti di organo Università di L'Aquila

Le IgG anti-HLA DSA sono dannose per il trapianto renale mentre non è chiara l'importanza clinica degli anticorpi IgM anti-HLA ai fini del rigetto. Le IgM costituiscono la prima risposta anticorpale, sono più efficienti delle IgG nell'attivazione del complemento, di conseguenza, è possibile che la presenza di Ab IgM DSA preformati nel ricevente possa influire sulla sopravvivenza dell'organo trapiantato. Scopo di questo lavoro è stato valutare la presenza di IgM in un gruppo di pazienti in lista di attesa di trapianto renale. Da giugno 2021 a luglio 2022 abbiamo testato 469 sieri pre-trapianto per gli Ab IgM anti-HLA, utilizzando la tecnologia Luminex Flexmap 3D® in 2 steps, prima utilizzando il test LABscreen e successivamente, per i positivi, il test Single Antigen (SAB) (One-Lambda). Nell'analisi dello screening Ab anti-HLA IgM, il 19% dei pazienti sono risultati positivi (91/469); in 80 dei 91 pazienti sono stati confermati gli Ab IgM anti-HLA Classe I e II con il SAB evidenziando un 2 % di falsi positivi nel LABscreen. Nel gruppo degli 80 pazienti, il 73.75% sono risultati positivi ad almeno 1 Ab anti-HLA IgM Classe I, il 20% Classe II e il 6.25% Classe I e Classe II. Gli anticorpi anti-HLA IgM (cut-off>2500 MFI) più frequenti sono risultati: Classe I: A*25(24%) ; CW*17(20%); B*57(18%); **A*80(16%); B*46(16%); B*58(15%);** A*23(14%); CW*12(13%); A*24(11%); **A*36(11%);** B*52(11%); B*37(10%); B*49(10%); A*01(9%); **A*66(9%);** B*08(9%); **B*63(9%).** Classe II: DQB1*03:01(8%); DQB1*03:02(6%); DQB1*03:03(6%); DQA1*03:02(5%); DQA1*03:03(4%); DQA1*05:03(4%); DQA1*05:05(4%); DQA1*06:01(4%); DQB1*06:01(4%); DQB1*06:09(4%); DRB1*07(4%). Confrontando la frequenza di questi anticorpi con le frequenze alleliche HLA della popolazione italiana (<http://www.allelefrequencies.net>) si nota che alcuni di essi (sottolineati) hanno una frequenza molto maggiore di quella attesa. Questi "falsi" positivi evidenziati con SAB IgM (come è noto anche per le IgG) possono essere causati dai cosiddetti anticorpi "naturali" o da epitopi neoformati post-denaturazione e non si riferiscono necessariamente a una specificità anticorpale HLA presente in vivo. La presenza di Ab IgM anti HLA DSA ad elevato MFI nel 17% dei soggetti in attesa di trapianto è un dato da considerare anche sulla base di evidenze



scientifiche che dimostrano rigetti di organi dovuti alla presenza di IgM “de-novo” nel post-trapianto. Questi anticorpi, in alcuni casi, perdurano anche per tempi lunghi senza switch isotipico. Lo studio delle IgM HLA-DSA nel pre-trapianto renale può dare maggiori informazioni sul reale stato di immunizzazione del ricevente e nel post-trapianto fornisce informazioni precoci su una eventuale attività umorale DSA ancor prima della comparsa delle IgG. La presenza di “false” positività verso antigeni rari anche se non è determinante sulla selezione del ricevente, dovrebbe portare alla predisposizione di tecniche evidenzianti solo epitopi naturalmente espressi in vivo.



Abstract Code: AIB17167-66

Incidenza di anticorpi anti-HLA e Graft Failure in pazienti ematologici trattati con trapianto HSCT da donatore aploidentico

P. Giustiniani ¹, F. Galaverna ², P. Merli ², A.G. Bianculli ¹, M. Becilli ², R. Carta ², E. Boccieri ², M. Troiano ¹, M. Battarra ¹, M. Andreani ¹, F. Locatelli ³

(1) Laboratorio di Immunogenetica dei Trapianti, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, (2) Dipartimento di Oncologia, Ematologia, Trapianto e Terapia Cellulare e Genica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, (3) Dipartimento di Oncologia, Ematologia, Trapianto e Terapia Cellulare e Genica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; Sapienza, Università di Roma

Nei pazienti affetti da patologie ematologiche trattati con trapianto di cellule staminali emopoietiche da donatore aploidentico (hHSCT), la presenza di anticorpi anti-HLA diretti contro antigeni donatore-specifici codificati dall'aplotipo HLA non condiviso (DSA) può essere associata ad una maggiore incidenza di rigetto o a primary graft failure (GF), in particolare quando i livelli di MFI risultano più alti di 5000.

Lo studio presentato è stato eseguito su un gruppo di 210 pazienti pediatrici afferenti all'Ospedale Bambino Gesù nel periodo tra maggio 2017 ad aprile 2021 e sottoposti a hHSCT: il siero pre-trapianto dei pazienti è stato studiato attraverso le metodiche Luminex Single Antigen per la ricerca di anticorpi anti-HLA IgG DSA (One Lambda, Thermo Fisher, Canoga, USA); 153 pazienti risultavano affetti da emopatie maligne (HM) e 57 da patologie ematologiche non maligne (NMD).

Lo studio ha rilevato una proporzione di anticorpi anti-HLA IgG maggiore all'interno dei pazienti affetti da NMD (68%) rispetto ai pazienti affetti da HM (37%; $p < 0.0001$). Poiché è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa nell'incidenza di GF nei due gruppi di pazienti, 16% nei pazienti con NMD rispetto al 3% osservato nei pazienti affetti da HM ($p < 0.01$), è stata eseguita anche l'analisi tra incidenza di GF e presenza di anticorpi anti HLA. In particolare, nei pazienti affetti da NMD e con GF si è evidenziata nel siero la presenza di anticorpi anti-HLA in 8 pazienti su 9 (89%), mentre nei pazienti che non hanno mostrato GF gli anticorpi anti-HLA erano presenti in 31 su 48 (64%).

Tra gli 8 pazienti con GF e presenza di anticorpi anti-HLA si è rilevata per 3 pazienti presenza di DSA pre-formati, in un caso con valori di MFI compresi tra 1000 e 5000 e in due casi con un valore di MFI superiore a 5000.



Abstract Code: AIB17168-67

Long-term persistence of mixed full donor chimerism after double cord blood transplantation. Example of tolerance in allogeneic hematopoietic cell transplantation setting

C. Saison¹, V. Mathias¹, M. Balsat², F. Barraco², R. Crocchiolo³, S. Ducastelle², C. Giannoli¹, H. Labussière-Wallet², D.A. Luscalov¹, P. Moskovtchenko¹, V. Dubois¹, M. Michallet⁴

(1) Etablissement Français du Sang, Lione, Francia, (2) Clinical Hematology Service, Hospices Civils de Lyon, Lione, Francia, (3) ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano, (4) Clinical Hematology Service, Centre Léon Bérard, Lione, Francia

Background

Double umbilical cord blood transplantation (UCBT) is recognized as an alternative source of hematopoietic donor cells for allogeneic haematopoietic cell transplantation, particularly in adult setting. In most cases, after several weeks, one unit turns immuno-dominant and thus, the second one is no longer detected.

Patients and Methods

We reported 3 cases of long-term mixed full donor chimerism associated to complete remission of haematological malignancies after double UCBT. The indications of UCBT were acute myeloid leukaemia for 2 patients and acute lymphoid leukaemia for 1 patient. AML received a reduced intensity and ALL a standard conditioning. The general characteristics of recipients and UCB are presented in Table 1. The chimerism follow-up were performed by STR and qPCR techniques with a sensitivity of 5 and 0.2% respectively. The follow-up of these patients were 14, 13 and 8 years respectively after UCBT without any episodes of relapse and at the last follow-up still a total donor mixed chimerism.

Results

Results of STR and qPCR after transplantation early revealed the presence of the two transplant units with a total donor chimerism (Table 1).

Patient 1 presented a perfectly balanced chimerism with 54 % of the majority unit. The other two patients showed an imbalance of their two UCB with 83% and 72% of their majority units respectively.

The study of total blood chimerism during their follow-up revealed a stabilization of the proportions of the two units during the first year (Figure 1).

A more in-depth study of circulating cell subsets (CD3+, CD15+ and CD19+) chimerism of patient 1 revealed a very strong initial imbalance of the two units, which ended up being balanced at two years after transplantation. In the other two patients, the respective study of CD3+ and CD33+ cells showed a stabilization of the two unit percentage around six months after transplantation.

At five years after transplantation, patient 1 had an in-depth study of circulating cells sub-populations by flow cytometry, after separation of the two units cells by specific monoclonal antibody directed against HLA mismatching antigen (HLA-A2). This analysis revealed an imbalance in the percentage of NK and monocytes. The immune-dominant unit had three times



more NK cells than the other one and this imbalance ratio increased by twenty-two for monocytes. A co-culture study of the CD4+ lymphocytes demonstrated a lack of reactivity of both unit against the other one but a normal ability to react against an allogeneic third-part cell.

Conclusions

This expected tolerance, highlighted in co-culture experience, showed rare cases of naturally induced graft tolerance. A study of tolerance markers and underlying mechanisms in these special cases of persistent mixed full donor chimerism is necessary to acquire better knowledge and to define more investigations ways for the induction of tolerance in patients receiving hematopoietic cell transplantation or organ transplantations.



Table 1. Recipients, cord blood units, engraftment and chimerism documentation

Recipients							
Recipients	Age	Age at time of the graft	Gender	Pathology	Conditioning	Blood group	HLA typing
1	35	20	female	LAL	standard	O+	A*01:01, A*68:02 ; B*27:03, B*38:01 ; C*02:02, C*12:03 ; DRB1*04:04, DRB1*14:01 ; DQB1*03:02, DQB1*06:02 ; DPB1*04:01, DPB1*04:02
2	36	22	female	LAM	reduced-intensity	O+	A*01:01, A*03:01 ; B*35:01, B*57:01 ; C*04:01, C*06:02 ; DRB1*04:03, DRB1*13:01 ; DQB1*03:02, DQB1*06:03 ; DPB1*04:01, DPB1*06:02
3	73	65	female	LAM	reduced-intensity	A+	A*30:04, A*31:01 ; B*41:06, B*57:01 ; C*17:01, C*06:02 ; DRB1*03:01, DRB1*15:01 ; DQB1*02:01, DQB1*06:02 ; DPB1*03:01, DPB1*04:01

UCB						
Recipients	UCB1 HLA typing	UCB1 blood group	UCB1 gender	UCB1 total cells numeration (X10 ⁷)	UCB1 CD34+ cells numeration (X10 ⁵)	UCB1 HLA matching
1	A*01, A*68 ; B*48, B*55 ; C*03, C*08 ; DRB1*04:04, DRB1*14:01	O+	female	1,8	0,7	4/6
2	A*01, A*03 ; B*08, B*35 ; DRB1*04:03, DRB1*13:01	A+	female	86	4,28	5/6
3	A*30:02, A*31:01 ; B*07, B*18 ; C*05, C*07 ; DRB1*03:01, DRB1*15:01	O+	male	120	28	4/6

UCB2						
Recipients	UCB2 HLA typing	UCB2 blood group	UCB2 gender	UCB2 total cells numeration (X10 ⁷)	UCB2 CD34+ cells numeration (X10 ⁵)	UCB2 HLA matching
1	A*02, A*68 ; B*27, B*44 ; C*02, C*05 ; DRB1*04:04, DRB1*14:01	O+	male	1	0,7	4/6
2	A*02, A*03 ; B*35, B*39 ; DRB1*04:03, DRB1*13:01	O+	male	114	2,96	4/6
3	A*03:01, A*30 ; B*07, B*41:01 ; DRB1*03:01, DRB1*15:01	O-	male	109	63	4/6

Engraftment informations			
Recipients	Graft duration (in years)	Time to acquire total donor chimerism (in days)	Last known UCB proportions
1	14	32	54/46
2	13	151	83/17
3	8	25	72/28

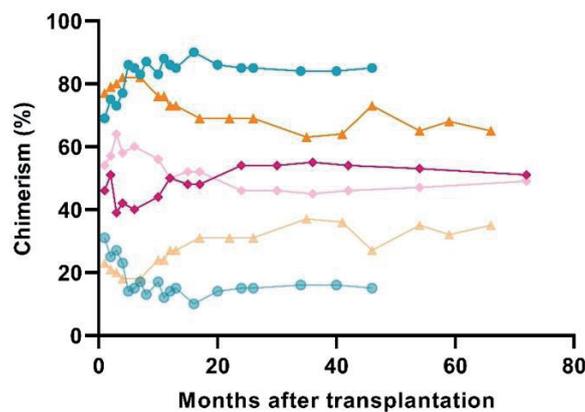


Figure 1. Whole blood chimerism follow-up of the two units in the three patients (represented respectively by diamond, round and triangle) during the first six years of the graft. Intense-coloured lines represents the majority unit and light-coloured lines the minority unit.



Abstract Code: AIB17169-68

Valutazione delle prestazioni del sequenziatore AB SeqStudio attraverso la validazione del kit Powerplex 16 HS System

G. Balza¹, L. Mele¹, R. Neri¹, M. Cagnati¹, M. Arata¹, M.G. Verri¹, T. Bensi², S. Leoncino³, F. Pollis⁴

(1) Laboratorio HLA, SC Medicina Trasfusionale, AO SS Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria, (2) Settore Citofluorimetria, SC Laboratorio Analisi, AO SS Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria, (3) Settore di raccolta aferetica, SC Medicina Trasfusionale, AO SS Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria, (4) SC Medicina Trasfusionale, AO SS Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria

Introduzione. Il monitoraggio del chimerismo è utilizzato dal clinico nel periodo post trapianto allogenico di CSE al fine di predire la ricaduta/perdita di attecchimento.

Nel nostro laboratorio l'analisi del chimerismo viene effettuata utilizzando il kit PowerPlex 16 HS System (PROMEGA) e l'analisi dei dati con sw ChimerMarker. Dall'ottobre 2021, con l'introduzione del nuovo sequenziatore AB SeqStudio, è stato necessario validare il kit in uso. Questo ha anche permesso di confrontare le prestazioni di SeqStudio con quelle di AB 3130.

Materiali e metodi. La validazione del nuovo strumento è stata così impostata:

Studio di sensibilità: sono state allestite 8 diluizioni seriali di un DNA genomico di un pz maschio a profilo STR noto. Tali campioni sono stati testati su AB 3130 con POP1 e su AB SeqStudio con POP7 per confrontarne la sensibilità.

1. *Studio di misture:* per definire la correlazione tra risultati e valori attesi con la sensibilità della metodica in uso è stato simulato uno stato chimerico fra un ricevente (femmina) e un donatore (maschio). Tali DNA sono stati portati alla concentrazione di 0,05 ng/ μ L e sono state allestite 15 misture, ognuna amplificata in 3 sedute distinte.
2. *Studio di riproducibilità:*
 - **Intra assay:** analisi del chimerismo su: PB, linea linfoide, linea mieloide e BM di 5 pz. (20 campioni, amplificati in 3 sedute distinte). Tutti gli amplificati sono stati fatti correre su AB SeqStudio. La riproducibilità intra-assay è stata valutata applicando lo scostamento medio dalla media aritmetica (S_{μ}).



- **Inter assay:** analisi del chimerismo su: PB, linea linfoide, linea mieloide e BM di 22 pz per un totale di 79 campioni. Per valutare la riproducibilità tra i 2 strumenti è stata calcolata la Variazione %.

Risultati e conclusioni. *Studio di sensibilità:* in base ai risultati ottenuti si può concludere che AB SeqStudio è più sensibile rispetto ad AB 3130: alle diluizioni 6 e 7 abbiamo una perdita di 2 alleli nel campione corso su SeqStudio vs 13 e 24 rispettivamente per quello corso su 3130. Alla diluizione 8 la perdita degli alleli nel campione corso su AB 3130 è totale, mentre su SeqStudio la perdita è di 4 alleli (Tab 1a e 1b).

Studio di misture: i valori ottenuti sono sovrapponibili ai valori attesi. Il coefficiente di correlazione (r) tra la media dei valori ottenuti, con (*) e senza calcolo degli stutter peak, e i valori attesi risulta essere $r = 0.99$ dove $-1 < r < 1$ (Grafico 1).

Studio di riproducibilità:

- **Intra assay:** l'analisi dei dati mostra come S_{μ} di ogni linea cellulare per ogni campione risulti essere $< 1\%$, valore compatibile con la variabilità intrinseca alla ripetizione del test (Tab 2).
- **Inter assay:** Il risultato della Variazione % media di chimerismo del donatore, calcolata su uno stesso campione su AB 3130 e AB SeqStudio, è $< 1\%$, valore compatibile con la variabilità intrinseca alla ripetizione del test indipendentemente dallo strumento e dal POP utilizzato e molto inferiore alla soglia di sensibilità del kit (3%) (Tab 3).

Sulla base di questi risultati è stato possibile validare e introdurre il kit Powerplex 16 HS System su AB SeqStudio, e constatare che lo strumento risulta essere più performante in termini di sensibilità rispetto ad AB 3130.



Abstract Code: AIB17170-60

Sequenziamento NGS: l'esperienza del laboratorio dell'Aquila nell'analisi dei risultati

R. Azzarone¹, O. Valdez¹, M. Scimitarra¹, C. Cervelli¹, S. Scipione¹, C. Battistoni¹, D. Fracassi¹, D. Pulcinelli¹, S. Scacchi¹, B. Spaziani¹, F. Papola¹

(1) Centro Regionale di Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale - ASL1 Avezzano, Sulmona, L'Aquila

L'introduzione del sequenziamento di seconda generazione (NGS) nell'attività del Laboratorio HLA ha apportato numerosi vantaggi dal punto di vista dei costi e dei tempi di refertazione come anche nell'accuratezza delle analisi. D'altro canto una metodologia basata sull'identificazione delle basi durante l'aggiunta del nucleotide alla catena nascente del filamento di DNA complementare può comportare alcuni errori di "chiamata" dovuti all'inserimento di un nucleotide errato come anche alla complessità del processo di assemblaggio delle sequenze di corti frammenti di DNA. I software di analisi delle sequenze NGS mostrano le combinazioni alleliche, sui vari loci tipizzati, seguendo algoritmi peculiari su cui l'operatore può intervenire ben poco. Non è infrequente che il software, elaborando i molteplici dati ottenuti, segnali la presenza di mismatch (MM) fra la sequenza ricostruita e quella della libreria allelica di riferimento. Nel nostro Laboratorio abbiamo ripetuto, con metodica Sanger, alcune sequenze sui loci HLA che presentavano, con metodica NGS, mismatch sugli esoni codificanti principali, per validare il risultato genetico e per confermare o escludere la presenza di nuovi alleli. Su un totale di oltre 1000 campioni, sono stati tipizzati in doppio con metodica NGS su piattaforma Illumina (Kit MIAFORA, Immucor) e con metodica Sanger SBT (Kit Secore, One Lambda) 22 campioni che presentavano, su uno o più loci HLA, uno o più mismatch non direttamente riconducibili a scarsa qualità della sequenza (per es. a basso coverage, a blocchi di fase o a mancanza della chiamata delle basi in alcune posizioni). I MM indagati si sono osservati soprattutto sul locus HLA-B (13/22) ed in posizioni eterozigoti in cui era preponderante la lettura di una sola base rispetto all'altra o in posizioni dove si evidenziava la presenza inaspettata di una base doppia. I mismatch sono stati confermati dalla sequenza Sanger solamente in due casi in cui abbiamo riscontrato la presenza di nuovi alleli. In prevalenza i MM rilevati sono dovuti ad un coverage insufficiente relativo ad uno solo degli alleli del locus analizzato e la qualità del sequenziamento NGS è strettamente collegata alla purezza ed alla concentrazione del DNA utilizzato. E' indubbio che la metodica NGS sia l'ideale per ottenere combinazioni alleliche senza ambiguità e per identificare i nuovi alleli sequenziandoli in tutta la lunghezza del gene ma occorre sicuramente un'analisi approfondita ed uno studio attento dei risultati con l'ausilio delle numerose potenzialità dei software NGS e di una metodica di supporto per la tipizzazione ad alta risoluzione come il sequenziamento SBT Sanger.



Abstract Code: AIB17171-61

Chimerismo Misto con outcome favorevole: Case Report

C.M. Tagliaferri¹, M. Mantia¹, C. Lievore¹, S. Zappacosta¹, E. Falisi¹, C. Borghero², F. Elice², E. Novella², I. Giaretta², A. Tosetto², F. Fiorin¹

(1) AZIENDA ULSS8 BERICA - MEDICINA TRASFUSIONALE - VICENZA, (2) AZIENDA ULSS8 BERICA - EMATOLOGIA - VICENZA

INTRODUZIONE

L'analisi del chimerismo post-trapianto si è consolidata come fondamentale elemento di valutazione e monitoraggio dell'avvenuto attecchimento del trapianto allogenico di Cellule Staminali Ematopoietiche (CSE). Questa analisi permette di valutare le condizioni di attecchimento, di rigetto o, in associazione ad altre metodiche, di recidiva di malattia, permettendo interventi terapeutici prima della presentazione delle manifestazioni cliniche. L'analisi quantitativa delle cellule del sangue rispettivamente del donatore e del ricevente si esegue con lo studio degli Short Tandem Repeats (STR), dotati di elevato polimorfismo. Normalmente, nel periodo successivo al trapianto, tutte le cellule emopoietiche devono essere di origine del donatore e questa situazione si definisce chimerismo completo (percentuale di cellule del donatore >95%).

Talvolta si possono presentare situazioni di chimerismo misto (MC), in cui coesistono emopoiesi del donatore e del ricevente. Qui riportiamo il caso di una paziente affetta da Anemia Aplastica (AA) con un MC persistente non associato a supporto trasfusionale a 10 anni dal trapianto.

MATERIALI & METODI

Lo studio del chimerismo è stato effettuato mediante STR-PCR (PowerPlex Fusion Promega-24 markers e Biotype Chimera-12markers), mentre l'estrazione del DNA è stata eseguita con estrattore Qiasymphony (kit DSP-DNA midi 400 blood).

Il chimerismo è stato effettuato su sangue intero periferico, midollare e su popolazioni selezionate in particolare di linfociti T con utilizzo di rosette SET Human Voden. La purezza delle popolazioni è stata precedentemente validata in citofluorimetria.

RISULTATI

La paziente affetta da Anemia Aplastica ha effettuato nel 2012 un trapianto allogenico da donatore familiare full matched dopo condizionamento ad intensità ridotta. Lo studio del chimerismo ha mostrato un iniziale attecchimento completo 100% donatore (intervallo +30gg-365gg) seguito da una dissociazione tra chimerismo su midollo e su linfociti T separati da sangue periferico. In particolare si è osservato: graduale perdita del chimerismo del donatore su midollo (69% a 2 anni, 49% a 3 anni, 31% a 4 anni, 14% a 6 anni, fino al 12% a 10 anni), mentre il chimerismo sui linfociti T separati si è mantenuto al di sopra del 90% fino a 5 anni dal trapianto e si è stabilizzato nel tempo al 64% a 10 anni. Sono state eseguite 6 dosi di DLI allo scopo di recuperare il chimerismo completo del donatore senza efficacia (progressiva riduzione chimerismo donatore) e senza effetti collaterali (non citopenie, non GVHD)

CONCLUSIONI

Il chimerismo misto (MC) è una condizione nota che si può presentare in pazienti trapiantati ma è inusuale una situazione in cui si mantenga il sistema immunitario del donatore (popolazione T periferica 64%) e l'emopoiesi del ricevente (midollo 12% donatore) con un outcome favorevole (assenza di citopenia e di supporto trasfusionale).



Abstract Code: AIB17172-62

La risposta umorale e cellulare al vaccino ad mRNA contro la proteina Spyke di SARS-CoV-2 è influenzata dal polimorfismo HLA

F.E. Bertinetto¹, P. Magistrone¹, G.A. Mazzola¹, C. Costa², E. Garino¹, S. Alizzi³, G. Scozzari⁴, E. Migliore⁵, C. Galassi⁵, G. Ciccone⁵, F. Arruga¹, G. Ricciardelli², A. Scarmozzino⁴, L. Angelone⁴, P. Cassoni⁶, R. Cavallo⁷, S. Deaglio³, A. Amoroso³

(1) Immunogenetica e Biologia dei Trapianti - Az. Osp. Univ. Città della Salute e della Scienza - Torino, (2) Dipartimento di Salute Pubblica e Scienze Pediatriche - Università di Torino, (3) Dipartimento di Scienze Mediche - Università di Torino, (4) Direzione Medica - Az. Osp. Univ. Città della Salute e della Scienza - Torino, (5) Epidemiologia Clinica - Az. Osp. Univ. Città della Salute e della Scienza - Torino, (6) Servizio di Patologia - Dipartimento di Scienze Mediche - Università di Torino, (7) Servizio di Microbiologia e Virologia - Az. Osp. Univ. Città della Salute e della Scienza - Torino

Introduzione La variabilità genetica dell'ospite può spiegare la diversa suscettibilità all'infezione da SARS-CoV-2 e la sua differente evoluzione. Pur essendo il sistema HLA uno dei candidati più plausibili, dai vari studi non è emerso un suo ruolo rilevante e riproducibile. Tra diverse ipotesi, c'è l'effetto confondente dei numerosi fattori (genetici e non) coinvolti. La risposta alla vaccinazione con mRNA della proteina Spyke rappresenta in questo senso un modello per evidenziare se la risposta umorale o cellulare alla vaccinazione sia influenzata da HLA.

Materiali e Metodi Una coorte di 416 individui, senza pregresso COVID-19, è stata selezionata random tra i dipendenti della Città della Salute di Torino che sono stati vaccinati con Comirnaty nei primi mesi del 2020. Per l'analisi della risposta anticorpale è stato utilizzato il kit LIAISON®, mentre per la risposta cellulare è stato impiegato il test Quantiferon (Qiagen), per 2 diversi peptidi di Spyke, Ag1 e Ag2. La tipizzazione in NGS per 6 loci HLA è stata eseguita col sistema GenDx. La predizione dei peptidi derivati da Spyke a maggior affinità con HLA ha utilizzato l'Immune Epitope Database. L'associazione tra HLA e risposta vaccinale è stata eseguita con analisi univariata e multivariata.

Risultati Solo nel 2% della coorte non è stata rilevata risposta anticorpale. Suddividendola in quintili per livelli di anticorpi, si è evidenziata una associazione tra A*03:01 e risposta con alti livelli ($p < 0,0001$) e tra A*24:02 e B*08:01 con bassa risposta ($p: 0,002$ e $p: 0,006$, rispettivamente). La presenza dell'aplotipo HLA-A*01:01-B1*08:01-C*07:01-DRB1*03:01-DQB1*02:01 conferiva un OR: 2,7 di bassa risposta umorale ($p: 0,026$). Il 45% dei vaccinati presentava una risposta cellulare contro Ag1 e il 57% contro Ag2. Confrontando responders e non responders all'analisi logistica è emerso che DRB1*15:01 conferiva un OR: 6,2 per la



risposta cellulare verso Ag1 e un OR: 5,32 per Ag2 ($p < 0,0001$ e $p: 0,0001$). In maniera similare, DRB1*13:02 predisponeva a una buona risposta cellulare verso Ag1 e Ag2 (OR: 4,04 e 2,98, $p: 0,0001$ e $0,012$, rispettivamente). Anche DPB1*13:01 era quasi 4 volte più frequente nei responders ($p: 0,00081$). DRB1*11:04 si comportava in maniera opposta, con OR: 0,49 per Ag1 e 0,56 per Ag2 ($p: 0,008$ e $0,028$, rispettivamente).

Discussione. La risposta al vaccino Comirnaty risulta influenzata dal profilo HLA. Gli alleli HLA associati con la risposta umorale sono principalmente di classe I, mentre per la risposta cellulare prevalentemente di Classe II. Tra i primi spicca A*03:01, associato in altro studio alla protezione del COVID-19 severo e a reazioni avverse alla vaccinazione. Tra i secondi DPB1*13:02, già dimostrato di protezione. L'analisi di affinità per i peptidi spyke era in linea con i risultati di associazione, fatta eccezione per A*24:02 e B*08:01, che pur presentando ad alta affinità peptidi derivati da Spyke, risultano associati ad una più bassa risposta umorale.



Abstract Code: AIB17173-63

Epitope Compatibility nel trapianto di organo solido

A.G. Bianculli ¹, L. Dello Strologo ², M. Spada ³, P. Giustiniani ¹, A. Cappoli ², R. Labbadia ², G. Spagnoletti ³, Z. Larghi Laureiro ³, T. Galluccio ¹, A. Di Luzio ¹, M. Troiano ¹, M. Andreani ¹

(1) Laboratorio di Immunogenetica dei Trapianti - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS - Roma, (2) Dipartimento di Nefrologia e Urologia, U.O. di Nefrologia e Dialisi - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS - Roma, (3) Chirurgia Epatobiliopancreatica e del Trapianto di Fegato e di Rene - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS – Roma

Il più facile accesso alle tecniche di tipizzazione molecolare HLA ad alta risoluzione ha fortemente aumentato la capacità di decodificare i pattern di riconoscimento degli anticorpi, evidenziando la presenza di veri e propri mismatch a livello di epitopi, definendo la compatibilità finale tra donatori e riceventi. La scelta di questo nuovo tipo di approccio di compatibilità è avvalorata in tutti quei casi in cui non è possibile stabilire l'eventuale presenza di anticorpi donatore specifici DSA preformati a causa del fatto che i saggi di fase solida presenti in commercio si limitano ad identificare solo gli anticorpi diretti verso le molecole HLA più comuni. Una delle analisi che ci permettono di valutare i mismatch epitopici è l'Epitope Matching che consente di stabilire *l'epitope compatibility* tra donatore e ricevente. La correlazione tra numero di Epitope Mismatch e sopravvivenza dell'organo trapiantato è dimostrata da numerosi recenti studi. Tra gennaio 2020 e luglio 2021 sono stati analizzati 26 pazienti candidati a trapianto di rene o di fegato da donatore vivente afferenti all'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma. La tipizzazione HLA dei pazienti e dei donatori eseguita ad alta risoluzione su 11 loci ha permesso di analizzare successivamente la presenza di mismatch epitopici in ciascuna coppia, utilizzando il tool Matchmaker, fornito dal software Fusion, versione 4.1 (One Lambda). Inoltre, l'analisi anticorpale anti-HLA pre-trapianto, ha mostrato che 14 dei 26 pazienti sono risultati PRA IgG negativi (54%), mentre 12 erano positivi (46%). Inoltre, 6 di loro erano PRA IgM positivi (23%) e 3 mostravano la presenza di DSA preformati, a bassa intensità di fluorescenza. L'Epitope Matching ha mostrato che il numero più alto di mismatch verificati era presente nel locus A (più di 6 in 9 pazienti) mentre il numero più basso era presente nel locus -DP (nessun mismatch in 10 pazienti). In 5 dei 26 pazienti trapiantati che hanno subito un rigetto umorale o cellulare, abbiamo osservato un aumento del numero di mismatch epitopici nei loci -A, -C e -DQ se paragonati a quelli con outcome positivo del trapianto. Sebbene i risultati non siano statisticamente significativi, probabilmente a causa del basso numero di casi studiati, è stato interessante osservare che il maggior numero di mismatch epitopici nel locus -DQ (11 vs una media di 2,2 del totale) è stato associato alla comparsa di DSA de novo in un paziente con rigetto cellulare del trapianto. In attesa che la comunità scientifica fornisca sempre più studi su tale argomento ed alla luce di queste nostre prime evidenze, i dati ottenuti suggeriscono che l'uso del software FUSION Matchmaker - Epitope Matching può rappresentare uno strumento utile al fine di suggerire il miglior donatore, poiché può affiancare l'indicazione sul minore numero di Epitope Mismatch ottenibile tra le coppie donatore-ricevente ai criteri stabiliti dalle linee guida nazionali.



Abstract Code: AIB17174-64

Utilizzo dell'anticorpo monoclonale 10C5 per lo studio dei crossmatch in pazienti in trattamento con Rituximab

M. Troiano ¹, L. Dello Strologo ², A.G. Bianculli ¹, A. Cappoli ³, R. Labbadia ³, A. Guagnano ¹, P. Giustiniani ¹, M. Andreani ¹

(1) Laboratorio di Immunogenetica dei Trapianti - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS - Roma, (2) Dipartimento di Nefrologia e Urologia, U.O. di Nefrologia e Dialisi - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS - Roma, (3) Unità di Nefrologia, dialisi e trapianto renale - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS – Roma

Un Crossmatch ai fini di trapianto di organo solido inaspettatamente positivo può essere rilevato in pazienti affetti da una malattia autoimmune, nel caso di presenza nei sieri di anticorpi anti-HLA donatore specifico preesistenti non rilevati dalle metodiche di fase solida o nel caso in cui i pazienti siano stati precedentemente trattati con protocolli di desensibilizzazione come l'anticorpo monoclonale Rituximab da meno di 1 anno. Il Rituximab è un anticorpo monoclonale anti-CD20, che induce deplezione dei linfociti B. Questo farmaco viene impiegato in molti protocolli nel controllo delle AMR del trapianto di organi solidi e di CSE, così come per altre applicazioni cliniche ematologiche e oncologiche.

Il case report presentato coinvolge lo studio di una coppia madre-figlio candidata a trapianto di rene da donatore vivente afferente il centro trapianti Bambino Gesù di Roma. Il ricevente era stato sottoposto a trapianto di CSE dallo stesso donatore nel giugno 2021 e sottoposto a terapia immunosoppressiva con Rituximab a dicembre 2021. Nel marzo 2022 è stato eseguito lo studio per donazione di rene da vivente presso il laboratorio di Immunogenetica dei Trapianti OPBG. I sieri del ricevente sono risultati essere negativi per anticorpi circolanti anti-HLA con metodica Luminex Single Antigen, mentre il Crossmatch citotossico CDC-XM e il Crossmatch citofluorimetrico FC-XM mostravano una forte positività a carico dei linfociti B. Al fine di annullare la positività riscontrata causata verosimilmente dall'assunzione di Rituximab da parte del paziente, sono stati ripetuti i Crossmatch nel mese di aprile e di luglio 2022 seguendo i protocolli pubblicati da Velazquez et al., 2020. I sieri del ricevente sono stati trattati con l'anticorpo monoclonale murino 10C5 (Abnova) per 15 minuti, RT con una diluizione 1:5. 10C5 lega il frammento F(ab)2 del Rituximab, occupando i siti di legame del farmaco disponibili che sono responsabili della falsa positività dei Crossmatch. I sieri del paziente così trattati, hanno mostrato risultati negativi ai Crossmatch di aprile e luglio 2022. In parallelo, negli stessi studi, sono stati testati gli stessi sieri del paziente non trattati con moAb 10C5, i quali continuavano a mostrare una forte positività a carico dei linfociti B in entrambi i crossmatch. Al fine di dimostrare che l'anticorpo monoclonale 10C5 non interferisse in maniera aspecifica con il risultato dei Crossmatch, è stato usato come controllo un siero trattato con 10C5 in cui erano presenti degli anti-HLA donatore specifici (DSA) diretti contro antigeni HLA della stessa cellula utilizzata per i Crossmatch. A conferma della utilità del monoclonale per il nostro scopo, è stato dimostrato che 10C5 non interferisce con gli anti-HLA DSA eventualmente presenti nei sieri, essendo questo siero trattato risultato positivo ad entrambi i Crossmatch CDC-XM e FC-XM.



Abstract Code: AIB17175-65

Reazioni cutanee severe avverse ai farmaci e HLA

F.E. Bertinetto ¹, R. Verrua ², S. Deaglio ³, P. Magistrone ¹, G.A. Mazzola ¹, M. Berrino ¹, E. Garino ¹, F. Arruga ¹, A.C. Faini ⁴, G.M. Brach Del Prever ⁴, M. Stella ², A. Amoroso ³

(1) SC Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, Città della Salute e della Scienza, Torino, (2) SC Centro Grandi Ustionati, Città della Salute e della Scienza, Torino, (3) SC Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, Città della Salute e della Scienza, Torino. Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Torino, Torino, (4) Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Torino, Torino

Tra le reazioni cutanee severe avverse ai farmaci (Severe Cutaneous Adverse Drug Reactions - SCARs) si riscontrano alcune patologie come la sindrome di Stevens-Johnson (SJS), la necrosi epidermica tossica (TEN), la reazione da farmaco con eosinofilia e sintomi sistemici (Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms - DRESS) e la pustolosi esantematica generalizzata (Acute Generalized Exanthematous Pustulosis – AGEP). Alcuni specifici alleli del Sistema HLA (Human Leukocyte Antigens) sono noti come biomarkers per l'ipersensibilità a farmaci come Abacavir, Carbamazepine e Allopurinolo e sono quindi correlabili allo sviluppo di queste patologie.

Il rapporto costi-benefici nella prescrizione di farmaci guidata su base genetica è stata valutata negli USA, ma solo in pochi paesi europei e del Sud Est asiatico. In questo studio 24 pazienti con SCARs sono stati tipizzati per HLA e sottoposti a consulenza genetica con la creazione di un report per raccogliere informazioni relative agli effetti nocivi e avversi risultanti dall'utilizzo di questi farmaci.

Il laboratorio di Immunogenetica e Biologia dei Trapianti di Torino nel 2020 ha iniziato una collaborazione con il Centro Grandi Ustionati, unità di riferimento del progetto GRESIF (Severe Systemic Hypersensitivity Reactions to a Drug), per lo studio e la tipizzazione HLA di pazienti con gravi reazioni cutanee SCARs.

Per l'attivazione della procedura, è stato preparato un consenso informato per la processazione di dati genetici. I campioni di sangue dei pazienti sono stati prelevati in EDTA; il DNA estratto è stato analizzato con tecnologia NGS (Next Generation Sequencing) con i kit della ditta GenDx su piattaforma MiSeq Illumina.

Dal 2020 al 2022 sono stati tipizzati 24 pazienti con le seguenti caratteristiche: patologia: 13 TEN, 8 SJS, 2 DRESS e 1 AGEP; genere: 12 maschi, 12 femmine; età media: 65.1 ± 18.6 ; origine etnica: 20 caucasici, 3 africani, 1 asiatico. Non è stata rilevata nessuna differenza statisticamente significativa tra l'età media dei maschi (61.5 ± 17.4 anni) e delle femmine (68.6 ± 19.7 anni) e nessuna differenza nella frequenza del genere (50% maschi, 50% femmine). I farmaci implicati sono stati identificati in base alle linee guida: allopurinolo, antibiotici e carbamazepina sono stati quelli riscontrati più frequentemente. Questi risultati preliminari mostrano che 7 pazienti che hanno ricevuto come terapia farmacologica l'allopurinolo presentano tutti l'allele HLA-B*58:01.



Uno screening di tipizzazione degli alleli HLA rappresenta un importante significato per prevenire le SCARs indotte da farmaci. Ulteriori indagini su una casistica più estesa verranno effettuate per esplorare la variabilità etnica nella tipizzazione HLA e nei diversi farmaci e classi di farmaci; inoltre si dovranno valutare l'incidenza e le conseguenze a lungo termine nei pazienti con ipersensibilità ai farmaci.



Abstract Code: AIB17176-66

Caratterizzazione genetica ad elevata processività di pazienti caucasici affetti da artrite reumatoide o psoriasica resistenti ai farmaci

P. Tesolin¹, F.E. Bertinetto², E. Garino², F. Arruga², A. Sonaglia³, S. Cappellani⁴, M.P. Concas⁴, A. Morgan⁴, N.M. Ferrero², A. Zabotti³, P. Gasparini⁵, A. Amoroso², L. Quartuccio³, G. Giroto⁵

(1) Dipartimento Universitario Clinico di Scienze Mediche Chirurgiche e della Salute, Università di Trieste, Trieste, (2) SC Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, Torino, (3) Divisione di Reumatologia, Dipartimento di Area Medica (DAME), ASUFC, Università di Udine, Udine, (4) IRCCS materno infantile Burlo Garofolo, Trieste, (5) Dipartimento Universitario Clinico di Scienze Mediche Chirurgiche e della Salute, Università di Trieste. IRCCS materno infantile Burlo Garofolo, Trieste.

L'artrite reumatoide e l'artrite psoriasica (AR e AP) sono disordini infiammatori reumatici caratterizzati da un'etiologia multifattoriale. Ad oggi, il contributo genetico allo sviluppo della patologia, la severità e la risposta ai farmaci non sono chiaramente definiti e, nonostante lo sviluppo di nuove terapie mirate, circa il 10% dei pazienti mostra ancora una debole risposta al trattamento farmacologico. In questo studio è stata caratterizzata una coorte selezionata di 11 pazienti non responsivi con lo scopo di definire il contributo genetico alla resistenza ai farmaci. Un attento esame clinico dei pazienti è stato accompagnato a numerosi esami genetici, inclusi la tipizzazione HLA, SNPs array e Whole Exome Sequencing (WES). Dalla dettagliata caratterizzazione genetica è emerso che tutti i soggetti presentano un fenotipo HLA molto raro contenente alleli associati allo sviluppo di AR (come HLA-DRB1*04, DRB1*10:01 e DRB1*01). Inoltre, 6 pazienti sono portatori anche di alleli associati al rischio di AP (come HLA-B*27:02 e B*38:01). Le analisi WES e SNPs array hanno rilevato 23 varianti potenzialmente dannose in 18 nuovi geni candidati associati alla resistenza ai farmaci in pazienti con AR/AP. Otto pazienti risultano portatori di varianti probabilmente patogenetiche in geni comuni (*CYP21A2*, *DVL1*, *PRKDC*, *ORAI1*, *UGT2B17*, *MSR1*). Inoltre, singole varianti potenzialmente dannose sono state identificate in 12 ulteriori geni candidati (*WNT10A*, *ABCB7*, *SERPING1*, *GNRHR*, *NCAPD3*, *CLCF1*, *HACE1*, *NCAPD2*, *ESR1*, *SAMHD1*, *CYP27A1*, *CCDC88C*). Questo approccio multistep, da estendere ad una casistica più numerosa, ha evidenziato nuovi geni candidati per AR/AP e correlazioni genotipo-fenotipo potenzialmente utili ai clinici per una migliore strategia terapeutica.



Abstract Code: AIB17177-67

Lo studio degli anticorpi non-HLA può essere utile dopo trapianto di cuore e polmone?

C. Caorsi¹, C.M. Rosso¹, I. Carelli¹, R. Chidichimo¹, D. Covelli¹, A. Oda¹, S. Tontoni¹, P. Magistrone¹, M. Mansouri¹, M. Boffini², M. Sorbini¹, S. Deaglio¹, M. Rinaldi², A. Amoroso¹

(1) Struttura Complessa di Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, (2) Struttura Complessa di Cardiocirurgia, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino

Mentre lo studio nei riceventi di trapianto degli anticorpi contro le molecole HLA incompatibili del donatore (DSA) riveste rilevanza clinica, quello degli anticorpi contro molecole non-HLA (NHLA) rimane da definire. La loro produzione (sia allo, sia autoanticorpi) può essere causata da diversi meccanismi: *clearance* delle vescicole extracellulari, cross-reattività tra antigeni *self* ed esogeni, attivazione del riconoscimento HLA ristretto di antigeni minori di istocompatibilità.

Per questo studio sono stati arruolati 48 pazienti, 18 trapiantati di cuore (C) e 30 di polmone (P) nel periodo 2019-2021. I pazienti sono stati monitorati per la presenza di DSA, del DNA libero circolante di derivazione del donatore (ddCfDNA) e per la presenza di anticorpi contro molecole non-HLA specifiche (S) per C e P (AT1R, ENO, TubA, Coll I-V, CD36, MYO, HNRNPK, LG3) e contro ulteriori 24 molecole non specifiche (NS).

La presenza di anticorpi di DSA è stata rilevata nel 27% dei riceventi di P e mai in quelli di C. Gli anticorpi non-HLA erano presenti nel 70% dei riceventi P (50% S e solo 20% NS) e nel 89% dei riceventi C (56% S e solo 33% NS). Gli anticorpi non-HLA erano rivolti sia contro molecole S, AT1R (21%), Coll I-V (25%), ENO (10%), TubA (6%), HNRNPK (4%), LG3 (2%) sia contro NS (71%), nel 33% dei casi erano compresenti.

A 1 e 2 anni sono funzionanti 43 (89%) e 41 (85%) trapianti, rispettivamente. I riceventi di trapianto sono stati suddivisi in 3 gruppi: A) senza anticorpi (17% P e 11% C); B) con anticorpi HLA, (10% P e 0% C); c) con anticorpi NHLA (70% P e 89% C). La frequenza di ddCfDNA è risultata ridotta nel gruppo A) rispetto agli altri 2 (67%, 100% e 97%, rispettivamente, p: .0013); mentre è rimasta invariata nei 3 gruppi l'incidenza di rigetto (60%, 75% e 77%) e quella dei fallimenti (12%, 33% e 13%). Nei riceventi con concomitanti anticorpi DSA e NHLA, la frequenza di fallimento aumentava a 40% (p: n.s.).

I risultati di questo studio, seppur preliminari, sembrano suggerire una potenziale utilità del monitoraggio degli anticorpi NHLA dopo trapianto di C e di P.



Abstract Code: AIB17178-68

"MATCH AT HOME": tracciabilità e automazione del processo di analisi

C.M. Tagliaferri¹, M. Mantia¹, C. Lievore¹, S. Zappacosta¹, E. Falisi¹, F. Vicentini¹, S. Fortuna¹, F. Fiorin¹

(1) AZIENDA ULSS8 BERICA - MEDICINA TRASFUSIONALE - VICENZA

INTRODUZIONE

Il progetto "Match at Home" nasce da una collaborazione fra associazioni ed enti istituzionali per il reclutamento da casa con un auto-prelievo salivare di aspiranti donatori di midollo osseo.

Il nostro Laboratorio di Immunogenetica si avvale di piattaforme informatiche che consentono la gestione del donatore dall'iscrizione all'inserimento dei dati genetici in IBMDR, a garanzia della tracciabilità dell'intero percorso. Inoltre si utilizzano processi analitici e di automazione in grado di permettere un maggiore controllo dei test e un minor rischio di errore.

MATERIALI & METODI

Una volta conferito il giudizio di idoneità al candidato, viene autorizzato l'invio a casa del kit per l'auto-prelievo del campione salivare. Il codice identificativo del kit saliva (sia esso attribuito dalla piattaforma ADMO o dal laboratorio CD IBMDR) viene utilizzato quale barcode nell'accettazione informatica del campione sul gestionale del laboratorio: ciò consente di evitare una successiva etichettatura manuale e garantire così un'identificazione univoca sull'intero percorso di processazione.

L'inserimento dell'automazione nel processo analitico: caricamento del campione salivare direttamente nell'estrattore automatico, invio dei dati al gestionale (link codice a barre- codice univoco di accettazione-codice IBMDR) e quindi al Luminex per la rilevazione dei risultati di tipizzazione HLA con metodica PCR-SSO, offre la possibilità di tracciare il percorso del campione dall'accettazione al risultato genetico inserito in IBMDR

RISULTATI

Presso il nostro CDVI01 sono attualmente 30 i candidati attivati in IBMDR mediante il progetto "matchathome", con un tempo che intercorre dall'attivazione in piattaforma alla restituzione del kit molto variabile (da 10 giorni a 120 giorni), ma questo dipende sia dalla compliance del candidato che dalla complessa gestione procedurale che coinvolge aspetti associativi, medici e tecnici.

Sicuramente l'adozione del codice kit saliva come codice univoco nel percorso di arruolamento del donatore garantisce il mantenimento della tracciabilità nell'intero processo, con riduzione del rischio di errori nella sua decodifica o nella eventuale ri-etichettatura manuale

Inoltre l'uso di procedure automatiche, come l'estrazione DNA e/o la rilevazione con tecnologia Luminex oltre all'interfacciamento del sistema di analisi con il Registro IBMDR-web fornisce innegabili vantaggi in termini di standardizzazione e riproducibilità.

CONCLUSIONI

Questa nuova strategia di arruolamento on-line, sicuramente efficace durante le restrizioni legate al periodo pandemico, è una alternativa che presenta alcune criticità nelle tempistiche di arruolamento dell'aspirante donatore ed è da utilizzare parallelamente alle altre opzioni già in uso presso le varie realtà dei CD italiani. Tuttavia l'utilizzo di piattaforme informatiche dedicate e di procedure prevalentemente automatizzate sono garanzia di controllo e tracciabilità.



Abstract Code: AIB17179-69

Progetto Match At Home: innovazione nel reclutamento presso il CD CN01

L. Perotti¹, A. Testa¹, L.A. Longa¹, I. Avonto¹, L. Maddalena¹, B. Bruno¹, L. Calcagno¹, M. Prucca¹, F. Piovano¹, R. Balbo¹

(1) Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale (SIMT) - AO S. Croce e Carle - Cuneo

Introduzione: durante la pandemia da COVID-19, a seguito della sospensione degli eventi di reclutamento *outdoor* dei donatori di midollo osseo (DMO), il Centro Nazionale Trapianti, il Centro Nazionale Sangue, l'IBMDR e l'ADMO hanno ideato e realizzato il progetto *Match At Home (MAH)*, reclutamento da casa con auto prelievo salivare. Al progetto-pilota hanno aderito inizialmente 4 Registri Regionali (RR): Piemonte, Liguria, Emilia Romagna e Friuli Venezia Giulia; poi è stato esteso ai Centri Donatori (CD) interessati. Il nostro CD CN01 si è reso disponibile alla nuova modalità, supportato dal RR e dall'ADMO Piemonte. Lo scopo del lavoro è stato quello di valutare l'impatto del progetto *MAH* sulle nuove iscrizioni di DMO, in rapporto al triennio precedente, non tenendo conto dell'attività svolta dai poli di reclutamento, che è proseguita secondo la modalità classica.

Materiali e metodi: sono state esaminate le iscrizioni del I semestre 2022, comparandole allo stesso periodo dell'ultimo triennio 2019-2021. È stato inoltre analizzato l'impatto del nuovo progetto sull'organizzazione del personale e sul laboratorio HLA.

Risultati: nei primi 6 mesi del 2022, presso il CD CN01 sono stati arruolati 149 DMO, nello stesso periodo del 2019 i nuovi iscritti sono stati 88, nel 2020, anno coincidente con la pandemia, sono stati 65, e nel 2021, 231. Dei 149 reclutamenti del I semestre 2022, 56 derivano dal progetto *MAH* (38%) mentre i restanti 93 sono secondari ad accessi presso il SIMT CD CN01. Confrontando l'attività con i dati dello stesso periodo del 2019, l'incremento è stato di 61 nuovi DMO (69%). Non è stato possibile eseguire un confronto diretto con gli anni 2020-2021 a causa dei limiti imposti dalla pandemia, ma confrontando nell'insieme il biennio, si ha una media di circa 148 reclutamenti/anno. Quindi il calo del reclutamento ospedaliero nel 2022 è stato colmato dal progetto *MAH*.

L'impatto del progetto *MAH* ha richiesto una riorganizzazione dei flussi di lavoro del CD: maggior disponibilità del medico per svolgere colloqui online; necessità di interfacciarsi con l'ADMO per la verifica dell'invio e/o della restituzione dei kit salivari; incremento dell'attività amministrativa per la gestione delle diverse fasi della preiscrizione; necessità di introdurre in laboratorio una nuova metodica per l'estrazione del DNA da saliva.

Conclusioni: valutando le ricadute in termini numerici dell'implementazione all'arruolamento dei DMO, il *MAH* ha permesso di uguagliare i dati del biennio precedente in cui era stata fatta una massiva sensibilizzazione sui donatori di sangue presso il SIMT dell'Ospedale di Cuneo. Pertanto, pur ribadendo la disponibilità "al dono" dei donatori di sangue, è fondamentale avviare progetti che permettano di raggiungere anche coloro che sono esterni al Trasfusionale. Da qui l'importanza di proseguire con eventi in piazza come "*Match It Now*" e nuovi progetti come "*Match At Home*", che consentano di reclutare i donatori direttamente a domicilio.



Abstract Code: AIB17180-61

L'algoritmo PIRCHE (Predicted Indirectly Recognizable HLA Epitopes) come possibile fattore di rischio di AMR post-trapianto cardiaco: case report.

F. Giorgio¹, F. Romanelli¹, G. Mongelli¹, M. Margiotta¹, R. Marzella¹, M.V. Monteleone¹, N. Menolascina¹, F. Bellini¹, D. Mininni¹, G. Fischetti², L. Giovannico², T. Bottio², A.D. Milano²

(1) UOSD Tipizzazione Tessutale e Immunologia dei Trapianti-AOUC Policlinico di Bari, (2) UOC Cardiochirurgia-AOUC Policlinico di Bari

Uomo 35 anni affetto da cardiomiopatia dilatativa primitiva con multipli episodi di scompenso si ricovera ad agosto 2021 per nuovo episodio di scompenso cardiaco complicato da edema polmonare presso l'UOC Cardiochirurgia del Policlinico Bari e dopo valutazione del caso si opta per iscrizione in lista attiva trapianto cardiaco. A settembre 2021 viene trapiantato da donatore HLA-A*02 matching; anticorpi anti-HLA e crossmatch CDC negativi. Viene dimesso in condizioni cliniche stabili dopo due biopsie endomiocardiche negative. A gennaio 2022, manifesta ortopnea e oliguria e si riscontrano versamento pleurico massivo, disfunzione biventricolare all'ecocardiogramma e rigetto acuto alla biopsia endomiocardica. La valutazione anticorpale anti-HLA (Luminex S. A. I /II classe IgG e IgM One Lambda) con PRA I classe 93% e II classe 3% ha evidenziato IgG e IgM DSA.

IgG: A*25(MFI 6100), B*35 (MFI 3640), B*18 (MFI 1700), DR*51 (MFI 6350)

IgM: A*25(MFI 3235), B*18 (MFI 1720), DR*51 (MFI 4300)

C1q Luminex positivo per B*18 e B*35

Viene avviata terapia immunosoppressiva con Metilprednisolone e vengono introdotte Timoglobuline.

Il riscontro di diffuse aree di fibrosi miocardica alla biopsia, severa disfunzione biventricolare ed insufficienza tricuspidalica massiva rende necessario nuovo inserimento in lista trapianti, supportato dalla riduzione del PRA I classe (41% a marzo 2022 e 33% ad aprile 2022). Il paziente decede per complicanze infettivologiche nell'attesa del ri-trapianto. A posteriori, visto il rigetto anticorpo mediato (AMR) causato da DSA I classe, raramente descritto in letteratura, è stato interrogato l'algoritmo PIRCHE (Predicted Indirectly Recognizable HLA Epitopes), capace di predire l'alloreattività indiretta fra donatore e ricevente, evidenziando uno score PIRCHE-II : 54. L'elevato score rappresenta un reale fattore di rischio di AMR post-trapianto?

Sicuramente è necessaria l'applicazione dell'algoritmo a casistiche più ampie con maggiori approfondimenti per considerare l'inclusione dell'algoritmo come criterio di selezione del donatore. Resta comunque confermato che è indispensabile un precoce e corretto monitoraggio sierologico post-trapianto per l'individuazione di DSA *de-novo*.



Abstract Code: AIB17181-62

Identificazione di fattori di rischio genetici sesso-dipendenti per lo sviluppo di neoplasie ematologiche

S. Nappo ¹, D. Madalese ¹, R. Casalino ¹, G. Maisto ¹, L. Auriemma ¹, M. Toriello ¹, F. Topo ¹, F.P. Tambaro ², G. Menna ³, R. Penta De Vera D'aragona ¹

(1) UOSD BaSCO, Manipolazione cellulare e Immunogenetica – A.O.R.N. Santobono-Pausilipon - Napoli, (2) S.C. Trapianto di Cellule Ematopoietiche e Terapie Cellulari – A.O.R.N. Santobono-Pausilipon - Napoli, (3) S.C. Oncoematologia Pediatrica – A.O.R.N. Santobono-Pausilipon - Napoli

Le patologie oncoematologiche sono causate dalla proliferazione incontrollata di cellule staminali ematopoietiche. Il rischio di sviluppare una neoplasia ematologica è maggiore in presenza di alcune condizioni, tra cui il sesso: i maschi hanno maggiori probabilità rispetto alle femmine.

L'AORN Santobono-Pausilipon dispone di una Banca di Cellule Staminali Emopoietiche Cordionali (Ba.S.C.O.) sulle quali viene effettuata la tipizzazione dei loci HLA-A, B, C e DRB1 ad alta risoluzione.

La distribuzione degli alleli HLA su 335 unità bancate è stata valutata per verificare un'eventuale differenza tra maschi e femmine. Dalle analisi sono emersi diversi alleli la cui frequenza nei maschi è due volte o più superiore rispetto alle femmine. La loro frequenza è stata confrontata con la popolazione italiana e con 102 pazienti del Dipartimento di Oncologia, Ematologia e Terapie Cellulari affetti da neoplasie ematologiche (LMA, LLA, LH, LNH). Due di questi alleli, HLA-B*07:05 e HLA-C*15:05, risultano essere più frequenti nei pazienti rispetto alla popolazione italiana (1,8% vs 0,4% e 1,8% vs 0,5% rispettivamente); questi sono in completo *linkage disequilibrium* e l'aplotipo che ne deriva è 20 volte più frequente rispetto alla popolazione italiana (1,8% vs 0,09%).

Ciò che caratterizza i due alleli HLA sono delle varianti a singolo nucleotide (SNPs), alcune delle quali già associate, mediante studi di GWAS, ad elevati livelli di globuli bianchi. Due delle varianti (una piuttosto rara negli Europei, MAF: 0.00042), non sono mai state riportate in letteratura. Esse ricadono in un sito promotore ed in particolare all'interno di un'isola CpG a monte del gene Pou5f1(OCT4), primo marcatore di cellule staminali pluripotenti ad essere rilevato nelle blastocisti umane e la cui regolazione risulta differente nelle cellule germinali femminili e maschili.

L'espressione aberrante del gene nei tessuti adulti è associata a tumorigenesi e la sua regolazione differenziale tra i sessi potrebbe fornire una spiegazione alla maggiore incidenza delle neoplasie ematologiche nei maschi rispetto alle femmine. L'ipotesi da verificare è che l'alterazione dello stato di metilazione dovuta alla presenza degli SNPs possa essere associata all'attivazione di una via patogenetica divergente nel sesso maschile.



Abstract Code: AIB17182-63

Valore diagnostico degli anticorpi HLA Donatore Specifico (DSA) nello studio familiare del Trapianto di Cellule Staminali Emopoietiche (TCSE)

M. Margiotta¹, F. Giorgio¹, G. Mongelli¹, S. De Franceschi¹, A. Spinelli¹, E. Colucci¹, A. Marinelli¹, D. Mininni¹

(1) UOSD Tipizzazione Tessutale e Immunologia dei Trapianti- AOUC Policlinico di Bari

La ricerca di anticorpi anti HLA donatore specifici (DSA) è fondamentale per la scelta del donatore nei trapianti di organi solidi e tale prassi si sta consolidando anche nel trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE) mismatched, confermando le evidenze sull'associazione tra la presenza di DSA e il fallimento precoce del trapianto (PGF). Secondo le linee guida EBMT (2018) è raccomandato, specialmente nel trapianto con donatore aploidentico, lo studio pre trapianto degli anticorpi anti HLA con metodica Luminex al fine di scegliere il miglior donatore disponibile e/o di valutare l'eventuale terapia desensibilizzante.

A conferma dei dati riportati in bibliografia, il nostro laboratorio, ha effettuato uno studio retrospettivo su 6 pazienti ematologici trapiantati da donatore aploidentico (2015-2019) con mancato attecchimento delle CSE. In tali pazienti sono stati riscontrati anticorpi anti-HLA DSA, con valori di MFI superiori a 5000.

La piattaforma Luminex che utilizza il kit LABScreen Single Antigen-ExPlex (One Lambda) dispone di un ampio pannello di anticorpi HLA che comprende varie specificità alleliche di uno stesso anticorpo differentemente distribuite nella popolazione italiana e nello specifico molto presenti nella popolazione pugliese. L'associazione delle biglie originali LABScreen Single Antigen con quelle del kit ExPlex riconosce un totale di 151 alleli di Classe I e 119 di Classe II ben documentati. L'utilizzo di tale kit assume grande rilevanza nella valutazione delle coppie ematologiche, candidate al TCSE da donatore aploidentico, poiché sono caratterizzate da tipizzazione HLA ad alta risoluzione.

Nell'ultimo anno, in 3 pazienti candidati al trapianto aploidentico, abbiamo identificato, solo con l'uso del kit LABScreen Single Antigen-ExPlex, la presenza di anticorpi DSA IgG, B*38:02, B*41:02, C*07:02, con valori di MFI superiori a 5000.

Secondo le linee guida dell'EBMT tali pazienti sono stati sottoposti a terapie di desensibilizzazione pre trapianto con cicli di aferesi, Rituximab e IVG e monitorati per il controllo della riduzione dei livelli di MFI degli anticorpi DSA. Inoltre è stato effettuato uno stretto follow-up post trapianto (controlli settimanali) fino alla prima valutazione dell'avvenuto attecchimento del TCSE attraverso valutazione del chimerismo sia su sangue midollare che periferico.

I pazienti considerati hanno negativizzato i DSA individuati, mantenendo tale condizione anche dopo il TCSE, con un attecchimento del 100% già al trentesimo giorno.

Nell'ambito di uno studio familiare il riscontro di anti-HLA DSA, con valori di MFI molto elevati e difficilmente trattabili con le terapie desensibilizzanti, ha indirizzato l'ematologo verso una ricerca forzata di donatori volontari non correlati (MUD).

L'applicazione di un kit completo risulta pertanto importante per lo studio e la gestione dei DSA nei trapianti, soprattutto quando gli anticorpi DSA sono individuati con specificità allelica.



Abstract Code: AIB17183-64

Caratterizzazione fenotipica di sottopopolazioni NK KIR+ utilizzando l'anticorpo monoclonale HP-DM1, in grado di riconoscere selettivamente KIR2DL1 e di bloccare l'interazione specifica con HLA-C

R. Meazza¹, M. Falco², P. Canevali¹, F. Loiacono¹, N. Colomar-Carando¹, A. Muntasell³, A. Rea⁴, M.C. Mingari¹, F. Locatelli⁵, L. Moretta⁵, M. Lopez-Botet³, D. Pende¹

(1) IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova, (2) IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, (3) Hospital del Mar Medical Research Institute (IMIM), Barcellona, Spagna, (4) Universitat Pompeu Fabra, Barcellona, Spagna, (5) IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

L'identificazione fenotipica delle diverse sottopopolazioni di cellule NK consente una caratterizzazione più approfondita del repertorio e della funzione dei KIR. Dato l'elevato polimorfismo e l'alto grado di omologia tra le varie sequenze dei geni *KIR*, pochi anticorpi monoclonali (mAbs) sono in grado di riconoscere specificamente un singolo KIR. L'analisi della reattività dell'anticorpo monoclonale HP-DM1 su cellule trasfettate e l'identificazione dell'epitopo hanno dimostrato che HP-DM1 è esclusivamente KIR2DL1-specifico. Infatti, è in grado di riconoscere tutti gli allotipi identificati fino ad oggi, tranne KIR2DL1*022 e *020, e di reagire anche con KIR2DS1*013. Mediante citofluorimetria abbiamo analizzato la capacità del mAb HP-DM1 di identificare con precisione le cellule NK KIR2DL1⁺ in donatori sani con genotipo *KIR* noto. Il mAb HP-DM1 è stato utilizzato in combinazione con i mAb EB6 o 11PB6 (anti-KIR2DL1/S1 e anti-KIR2DL3*005), 143211 (anti-KIR2DL1/S5) e HP-MA4 (anti-KIR2DL1/S1/S3/S5), consentendo l'identificazione accurata di diverse sottopopolazioni di cellule NK KIR⁺. Queste valutazioni fenotipiche sono risultate utili per analizzare il pattern di espressione di vari KIR2D nelle cellule NK di individui KIR2DL3*005⁺, in particolare se è presente KIR2DS1. Il mAb HP-DM1 ha notevolmente perfezionato l'analisi fenotipica delle cellule NK di donatori caratterizzati da *KIR2DS5*, sia nella regione centromerica che telomerica. Saggi funzionali con cellule NK KIR2DL1⁺/S1⁺/S5⁺ hanno confermato che solo HP-DM1 reagisce esclusivamente con KIR2DL1. Infine, abbiamo dimostrato che il mAb HP-DM1 è in grado di bloccare l'interazione tra KIR2DL1 e il suo ligando, rappresentato da molecole HLA-C con epitopo C2. Complessivamente, i dati confermano che HP-DM1 è un reagente utile per la caratterizzazione precisa di diverse sottopopolazioni di cellule NK KIR⁺.



Abstract Code: AIB17184-65

L'escape immunologico perfetto: un'analisi molecolare

B. Boschi ¹, G. Marseglia ¹, G. Rombolà ¹, A. Gozzini ², S. Iozzi ¹, M. Falco ³, F. Papola ⁴, I. Giotti ¹, E. Pelo ¹

(1) Immunogenetica, SOD Diagnostica Genetica, AOU Careggi, Firenze, (2) SOD Terapie Cellulari e Medicina Trasfusionale, AOU Careggi, Firenze, (3) Laboratorio Immunologia Clinica e Sperimentale, Istituto G. Gaslini, Genova, (4) Centro Regionale Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale, PO L'Aquila

Paziente: femmina, 47a, LMA, NPM1 e FLT3 mutati, cariotipo normale (46,XX), 85% blasti nel sangue periferico, candidata a TMO MUD. La **tipizzazione HLA** su sangue periferico alla diagnosi (S#1) e al test di conferma, a completa remissione molecolare e citofluorimetrica (S#2), è discrepante (*Tabella#1*). S#1: presenta omozigosi in tutti i HLA I classe ABC e non classici EFGH, MICA, MICB (non riportati). S#2: presenta eterozigosi su tutti loci di I cl ABC e non classici.

	Tipizzazione NGS	
	S#1	S#2
HLA-A*	03:01:01	03:01:01,11:01:01
HLA-B*	44:27:01	40:01:02,44:27:01
HLA-C*	07:04:01	03:04:01,07:04:01
DRB1*	01:01:01	01:01:01,16:01:01
DRB5*	02:02:01	
DQB1*	05:01:01	05:01:01,05:02:01
DQA1*	01:01:01	01:01:01,01:02:02
DPB1*	04:01:01	
DPA1*	01:03:01	

Tabella #1: Tipizzazione NGS S#1, S#2. Non riportati loci I classe non classici.

Analisi profilo allelico (21 marcatori STR) conferma che i campioni sono riferibili allo stesso soggetto. Tipizzazione su tampone salivare conferma eterozigosi I classe. Si ipotizza perdita eterozigosi loci I classe in blasti leucemici. TMO da CBU, match 10/10 HR, no DSA. Mancato attecchimento. Decesso a +27 per complicanze settiche. Per conferma perdita di eterozigosi di loci HLA I cl, si esegue **analisi SNP array** su S#1 e S#2. S#1 presenta riarrangiamento cromosomico a mosaico in 6p, senza variazioni del numero di copie (CNV). In particolare, sono presenti 2 popolazioni cellulari mutate entrambe con un'ampia regione di perdita di eterozigosi (CN-LOH, *CopyNeutral-Loss of Heterozygosity*) di circa 32.7 Mb da 6p25.3 a 6p21.32, comprensiva dell'intera regione HLA di I classe. L'analisi delle frequenze alleliche (BAF) evidenzia che, una delle due popolazioni cellulari, conserva un assetto eterozigote di circa 20 Mb da 6p21.32 a 6p21.12 comprensivo dei loci di II Classe. Sul Sample#2 si evidenzia assetto eterozigote per tutto il cromosoma 6 [*immagine SNP array S#1 e #2*]. L'analisi conferma possibile escape immunologico di blasti leucemici vs. LT per



perdita di eterozigotità dei geni I classe. Si effettua **analisi KIR** per verificare se la perdita di un allotipo HLA comporta una potenziale riduzione della inibizione sulla attività citolitica NK. In *tabella #2* profilo KIR ricevente e ligandi HLA

KIRs presenti	Ligando KIR, HLA normale	educato	Ligando KIR, HLA mutato	Inibizione NK
2DL3	C1/C1; C*03,*07:04	SI'	C1/C1; C*07:04	SI'
3DL1	Bw4/w6; B*44,*40	SI'	Bw4/w4; B*44	SI'
3DL2	A*03,*11	SI'	A*03	SI'
2DS4 delta	A*03,*11	ND	A*03	ND

Tabella #2: Reattività/educazione KIR-ligandi HLA, in genotipo normale e mutato

La paziente presenta un genotipo A/A (cenA/telA), positivo per recettori inibitori KIR 2DL3, 3DL1 e 3DL2 e un solo recettore attivatorio 2DS4 in forma tronca delta. Le cellule NK sono educate per la presenza dei rispettivi ligandi HLA: C*03,*07:04 (C1/C1, ligando 2DL3), B*44 (Bw4, ligando 3DL1) e A*03,*11 (ligando 3DL2). La perdita di allotipo con fenotipo HLA omozigote A*03, B*44 (Bw4), C*07:04 non comporta riduzione della potenziale attività inibitoria delle cellule mutate sulla sorveglianza NK.



Abstract Code: AIB17185-66

Confronto tra due prodotti per la ricerca di anticorpi anti-HLA: un'analisi statistica

S. Iozzi ¹, D. Ciappi ¹, G. Rombolà ¹, M. Betti ¹, S. Palchetti ¹, C. Ferrari ¹, C. Ceccarelli ¹, E. Pelo ¹

(1) Immunogenetica, SOD Diagnostica Genetica, AOU Careggi, Firenze

Introduzione Studio di comparazione tra due diversi prodotti, One-Lambda (OL in uso) e Immucor (IC, di recente introduzione), per l'identificazione di anticorpi anti HLA. Si effettua confronto in termini di correlazione, bias di differenza di misurazione, definizione di cut-off clinici di positività e permissività omogenei. **Materiali e metodi** Analisi di 35 sieri, a reattività nota e di consenso (CQ ISS-CNT), fortemente positivi (PRA>50%), I e II classe con tecniche standardizzate. I valori grezzi di misurazione (raw data) sono riportati su file excel e allineati per biglie con stesse specificità alleliche dei due prodotti. L'analisi statistica è effettuata con: 1. correlazione di Pearson e retta di regressione lineare, per la correlazione tra le tecniche (correlation); 2. Plot di Bland-Altman per il bias di differenza di misurazione (agreement); 3. Curve di ROC, per definizione di cut-off omogenei. **Risultati** Per MFI>1000, sono state identificate in totale 1171 specificità di I classe positive per OL e 1018 per IC (di cui 879 per entrambi); per la II classe 654 per OL e 572 IC (di cui 549 per entrambi). **Coefficiente correlazione di Pearson** I cl $r=0.93$, II cl $r=0.96$: si dimostra un'ottima correlazione. **Regressione lineare** (confidenza al 95%) I cl: $y=0,746x-167$ (DS 0,006; 47); II cl: $y=0,869x+51$ (DS 0.005; 46).



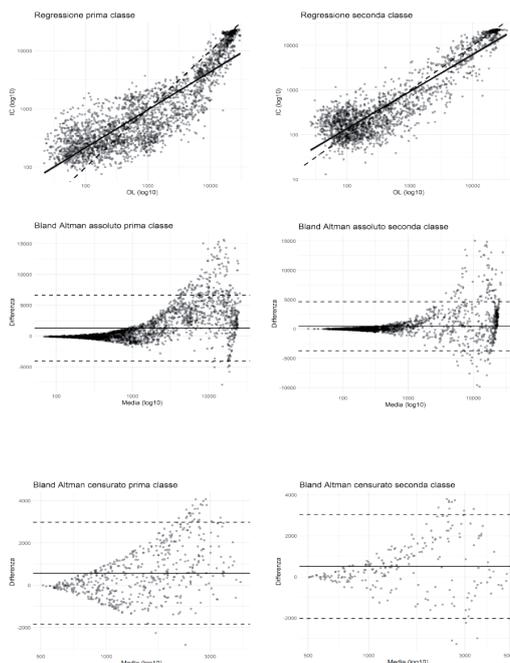


Fig.1: retta regressione lineare (intervallo di confidenza al 95%)

Dal coefficiente angolare delle rette si può notare come OL misuri valori più alti di IC in termini di MFI.

Fig.2: Plot Bland/Altman, differenza vs media misurazione

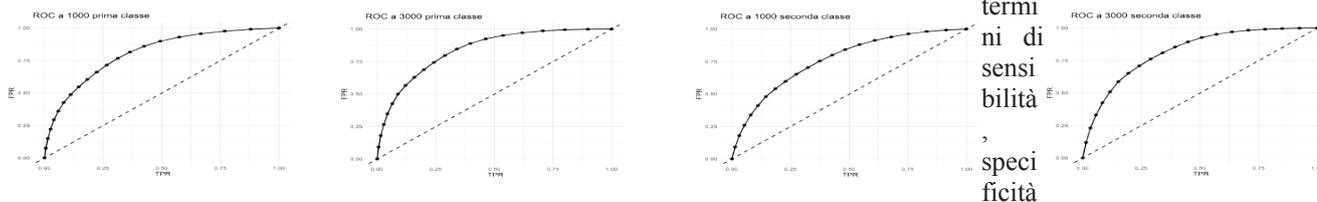
La differenza media di misurazione (bias) è stimata con Plot Bland/Altman:

Media differenza MFI OL-IC: I cl=1282 (DS 2680), II cl=466 (DS 2088)

Fig.3: Plot Bland/Altman per valori di MFI tra 500 e 5000

Restringendo l'analisi alle sole biglie con valori di MFI a cavallo dei cut-off, si conferma il forte bias di misurazione con ampia dispersione.

Fig.4: Le curve di ROC permettono di confermare la forte correlazione tra i due prodotti (AUC = area sotto la curva) e di definire il valori di MFI che massimizzano il fit dei cut-off in



termini di sensibilità e specificità

e accuratezza.

	OL	IC	sens	spec	acc
I cl	1000	500	89%	73%	80%
	1000	750	81%	86%	84%
	3000	1500	91%	84%	84%
II cl	1000	2000	85%	92%	86%
	1000	750	89%	96%	94%
	1000	1000	84%	98%	94%
	3000	1000	97%	95%	95%
	3000	1500	94%	97%	97%

Tab.1: valori di MFI IC per miglior fit cut-off positività e permissività OL (MFI 1000 e 3000).

Discussione Il coefficiente di Pearson e la regressione lineare indicano ottima correlazione tra i due prodotti, che misurano la stessa variabile nel siero. Il coefficiente angolare e il test di Bland-Altman indicano un bias di misurazione con valori MFI più alti per OL. Le curve di ROC permettono di definire i valori di cut off di IC che meglio fittano con i valori di positività e permissività di OL.



Abstract Code: AIB17186-67

Genotipizzazione dei loci HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-H, MICA, MICB e analisi delle frequenze alleliche nella popolazione dei Donatori di Midollo Osseo afferenti al Registro Regionale del Friuli Venezia Giulia

C. Sindici¹, D. Londero¹, M. Candolini¹, C. Cervellin¹, E. Russian¹, G. Barillari¹

(1) Dip. Med. Trasfusionale, ASUFC Udine

Introduzione La compatibilità HLA donatore/ricevente è senza dubbio il criterio principale di selezione del donatore per i pazienti ematologici che necessitano di un trapianto di CSE. E' noto altresì che il 40% dei pazienti sviluppa GvHD, pur avendo ricevuto cellule HLA full match. E' stato quindi suggerito un possibile ruolo degli antigeni HLA "non classici" e di quelli noti come HLA-like. Nel presente studio sono stati sequenziati con metodica NGS i campioni di DNA dei nuovi donatori iscritti al Registro Regionale Donatori Midollo Osseo del FVG e ne è stata calcolata la frequenza allelica.

Materiali e Metodi A partire da marzo 2022, 255 campioni di nuovi donatori sono stati tipizzati con metodica NGS (AlloSeq Tx 17, CareDx), estendendo l'analisi a 17 loci dell'MHC, compresi i loci HLA-E, -F, -G, -H, MICA e MICB.

Risultati Dei 255 donatori sono state calcolate le frequenze di 510 alleli secondo la nomenclatura HLA a due campi. L'HLA-F risulta il meno polimorfico con 3 soli alleli: *01:01 (85%), *01:03 (14%), *01:04 (1%); l'HLA-E presenta 5 alleli: *01:01 (61%), *01:03 (37%), *01:06 (1%), *01:11 (0,4%) e *01:09 (0,2%); l'HLA-G presenta 5 alleli: *01:01 (72%), *01:04 (11%), *01:06 (8%), *01:03 (7%), *01:05N (2%); l'HLA-H risulta il più polimorfico tra gli HLA non classici con 12 alleli: *01:01 (30%), *02:01 (17%), *02:04 (11%), *01:02 (9%), *02:07 (8%), *02:05 (6%), *02:03 (4%), *02:09 (4%), *01:03 (3%), *02:02 (3%), *02:12 (3%), *02:08 (0,2%), 4 alleli non determinabili. Tra gli HLA-like, il MICA si conferma il più polimorfico con 21 alleli: *008:01 (21%), *002:01 (17%), *009:01 (12%), *004:01 (9%), *018:01 (7%), *008:04 (6%), *010:01 (4%), *011:01 (3%), *017:01 (3%), *007:01 (3%), *016:01 (2%), *001 (2%), *009:02 (2%), *027:01 (2%), *012:01 (2%), *019:01 (2%), *006 (0,6%), *049:01 (0,4%), *008:13 (0,2%), *012:03 (0,2%), *015:01 (0,2%). Il MICB presenta 16 alleli: *005:02 (38%), *002:01 (27%), *004:01 (11%), *008:01 (7%), *003:01 (4%), *005:03 (3%), *005:06 (2%), *028 (2%), *013:01 (2%), *005:01 (1%), *014:01 (0,4%), *025:01 (0,4%), *010 (0,2%), *012 (0,2%), *024:01 (0,2%).

Conclusioni L'informazione sulle frequenze alleliche nella popolazione sana di donatori è necessaria per mapparne la distribuzione. Questo studio preliminare sarà esteso ai pazienti ematologici al fine di ottenere ulteriori informazioni sulla compatibilità pre-trapianto.



Abstract Code: AIB17187-68

Analisi della Mediana di Fluorescenza attraverso un algoritmo ad "hoc" per l'interpretazione del CrossMatch Citofluorimetrico

V. De Gregorio¹, S. Fornaciari¹, S. Di Beo¹, R. Lamanna¹, C. Biagini¹, D. Mandarino¹, M. Curcio¹

(1) SOD Immunogenetica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, PISA

Introduzione

Il crossmatch citofluorimetrico (FC-XM) costituisce un esame molto utile nel campo dell'Istocompatibilità e Biologia dei Trapianti; tale metodica consente di stratificare il livello di "rischio immunologico" di un trapianto in funzione del grado di positività del test (*channel shift*).

Lo scopo del lavoro è stato quello di creare un "tool", utilizzando un algoritmo creato ad "hoc" su un foglio di calcolo Excel, in grado di facilitare ed aiutare l'operatore nella fase di interpretazione del risultato di FC-XM.

Materiali e Metodi

In breve, è stato dapprima allestito il pool di controllo negativo (CNEG) adoperando 6 sieri, privi di anticorpi anti-HLA, appartenenti a donatori maschi di gruppo AB, mai trasfusi. Il CNEG è stato testato con più di 50 differenti cellule al fine di individuare i valori di *cut-off* per l'interpretazione delle sedute di FC-XM. In accordo con il consensus scientifico, sono stati utilizzati, come *cut-off*, 2DS (Deviazione Standard) per i linfociti T e 3DS per i B.

Il foglio di calcolo Excel è stato strutturato in modo da inserire per ogni test FC-XM la Mediana di Fluorescenza (MF) dei due replicati del CNEG; la stessa operazione è prevista per il campione test (CTEST). Il foglio calcola automaticamente per T e B, attraverso un apposito algoritmo, la Media delle MF (MMF) dei due replicati del CNEG e del CTEST.

Allo scopo di oggettivare i valori di tolleranza seduta specifica attorno ai *cut-off*, nell'algoritmo è stata introdotta la "**Deviazione Standard intra seduta**" del CNEG (DSis CNEG) che definisce i valori della zona grigia che necessitano di una valutazione da parte dell'operatore.

Risultati

Brevemente, il foglio confronta MMF del CTEST con MMF del CNEG e consente di estrapolare i valori di *median channel shift* (MCS) di T e B. L'algoritmo confronta i valori di MCS con i *cut-off* tenendo conto delle soglie di tolleranza e discrimina automaticamente tra crossmatch **positivo, negativo o dubbio**. Nello specifico gli scenari possibili sono riportati nella tabella sotto:



	Scenari Possibili	Risultato
FC-XM_T	$MCS > (2DS + DS_{is} \text{ CNEG}_T)$	POSITIVO
	$MCS < (2DS - DS_{is} \text{ CNEG}_T)$	NEGATIVO
	$(2DS - DS_{is} \text{ CNEG}_T) \leq MCS \leq (2DS + DS_{is} \text{ CNEG}_T)$	DUBBIO
FC-XM_B	$MCS > (3DS + DS_{is} \text{ CNEG}_B)$	POSITIVO
	$MCS < (3DS - DS_{is} \text{ CNEG}_B)$	NEGATIVO
	$(3DS - DS_{is} \text{ CNEG}_B) \leq MCS \leq (3DS + DS_{is} \text{ CNEG}_B)$	DUBBIO

DUBBIO richiesto intervento da parte dell'operatore

Conclusioni

L'utilizzo di un algoritmo nella fase di analisi dei dati di FC-XM si è dimostrato estremamente utile nel velocizzare ed ottimizzare l'interpretazione dei risultati. Inoltre, l'introduzione della "*Deviazione Standard intra seduta*" del CNEG consente di delineare, in maniera oggettiva, una zona grigia, seduta specifica, il cui esatto significato viene definito da parte dell'operatore attraverso un'analisi comparativa degli studi di siero disponibili.



Abstract Code: AIB17188-69

Analisi degli anticorpi anti-HLA-attraverso tecnologia x-MAP: due KIT a confronto

R. Lamanna¹, S. Fornaciari¹, V. De Gregorio¹, C. Biagini¹, L. Felet¹, D. Gonnella¹, B. Luchetti¹, M. Curcio¹

(1) SOD Immunogenetica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Pisa

Introduzione

L'introduzione di tecniche in fase solida ha notevolmente influenzato l'approccio clinico allo studio degli anticorpi anti-HLA. Nello studio di pre-sensibilizzazione verso gli antigeni (Ag) HLA, la tecnologia x-MAP (*Luminex*), di tipo semi-quantitativo, ha difatti sostituito la citotossicità complemento-dipendente (CDC). Particolare importanza assume l'identificazione degli anticorpi anti-HLA donatore specifici (DSA), la cui presenza nel siero del ricevente aumenta il rischio di sviluppo di rigetto anticorpo-mediato, soprattutto se questi ultimi si sviluppano a seguito del trapianto. Nei laboratori di Istocompatibilità e Biologia dei Trapianti sono largamente utilizzati due principali KIT: *Lifecodes (Immucor)* e *LabScreen (One Lambda)*. L'obiettivo del nostro studio è stato quello di comparare i valori di Intensità di Fluorescenza Media (MFI) fra i due kit e di valutare la presenza di un'eventuale correlazione.

Materiali e Metodi

Lo studio è stato eseguito testando in parallelo i 2 kit (n. tot. campioni 13) per la ricerca di anticorpi anti-HLA di tipo IgG di classe I e II. I valori di MFI sono stati calcolati utilizzando specifici software: *Match It* per Immucor e *Fusion* per One Lambda, stabilendo come *cut-off* di positività valori di MFI ≥ 1000 . I valori normalizzati di MFI ottenuti per ciascun kit sono stati analizzati per la classe I e per la classe II e le singole specificità alleliche sono state valutate per stabilirne riproducibilità e variabilità.

Risultati

I valori di MFI ottenuti con il kit One Lambda risultano superiori rispetto a quelli ottenuti con il kit Immucor: in media 2.4 volte per la classe I (HLA-A*:2,35; -B*:2,54; -C*:2,18) e 1.5 volte per la classe II (HLA-DPA1*:0,8; -DPB1*:0,9; -DRB5*:1,1; -DRB1*:1,3; -DRB3*:1,4; -DQB1*:2,3; -DQA1*:2,8). I valori di MFI non seguono una distribuzione normale ($p < 0.01$ Kolmogorov-Smirnov) e di conseguenza abbiamo utilizzato per le analisi statistiche il *Mann-Whitney U-test* e l'indice di correlazione *di Kendall*. La distribuzione dei valori di MFI tra i 2 kit, sia per la I che per la II classe, è risultata statisticamente differente (*Mann-Whitney U-test* $p < 0.01$). Allo stesso modo l'Indice di Kendall ha mostrato una moderata correlazione dei valori di MFI ($T=0.7$).

Discussione e Conclusioni

Nessuna differenza statisticamente significativa è stata evidenziata tra i due kit nel test di screening. Per il test d'identificazione di classe I e II la maggiore variabilità, in termini di MFI, risulta a carico degli antigeni di



classe I e dei loci HLA-DQ per la II classe. L'analisi sui singoli loci e sulle singole specificità alleliche ha confermato i risultati ottenuti su quelli aggregati (loci HLA-A, -B ed HLA-DR -DQ -DP).

In conclusione, i due KIT risultano difficilmente correlabili sulla base dei valori di MFI verosimilmente per una serie di variabili tra le quali: composizione del pannello delle biglie, densità degli antigeni adesi, protocolli di esecuzione del test.



Abstract Code: AIB17189-70

L'esperienza del laboratorio di Immunogenetica dell'AOUPisana nella tipizzazione HLA mediante Next Generation Sequencing: varianti e nuovi alleli

C. Biagini¹, R. Lamanna¹, S. Fornaciari¹, V. De Gregorio¹, F. Galati¹, F. Salvadori¹, B. Luchetti¹, M. Curcio¹

(1) SOD Immunogenetica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Pisa

Introduzione

La SOD Immunogenetica dell'AOUPisana ha introdotto nel settembre 2020 la tecnologia Next Generation Sequencing (NGS) mediante piattaforma Illumina e dal 2021 è entrata in *routine* per la tipizzazione tissutale ad alta risoluzione dei donatori di midollo osseo da iscrivere nel registro IBMDR (Italian Bone Marrow Donor Registry). L'utilizzo di questa tecnologia consente di analizzare in maniera completa sia gli esoni che gli introni senza necessità di ulteriori approfondimenti.

Materiali e metodi

Sono stati analizzati un totale di n. 480 campioni raccolti nel periodo 07/06/2021-31/08/2022. Il materiale genetico è stato ottenuto da sangue venoso periferico ed estratto mediante procedura semiautomatica che sfrutta la tecnologia delle biglie magnetiche. Per ciascun campione sono stati caratterizzati in alta risoluzione i loci HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 e DPB1. La metodica utilizzata sfrutta il principio della tecnologia *hybrid capture enrichment* che ha introdotto come novità la chimica di "*tagmentazione*" al fine di snellire il protocollo di preparazione della libreria attraverso l'unione della fase di "*frammentazione*" del DNA e della fase di "*ligazione*" degli adattatori in un'unica reazione. La *library* ottenuta è stata sequenziata mediante MiSeqDx Illumina.

Risultati

Complessivamente la valutazione della performance della metodica e della tecnologia è stata soddisfacente. In particolare, nel:

- 70% dei campioni analizzati la tipizzazione è stata assegnata in alta risoluzione senza necessità di ripetizioni;
- 30% dei campioni si è verificato il fallimento di sequenziamento in almeno uno dei loci. I casi di fallimento sono stati rianalizzati e risolti mediante la metodica SBT (Sequence Based Typing).

Inoltre, sono state evidenziate, in riferimento alle frequenze alleliche della popolazione Caucasica, 9 (1,87%) varianti alleliche non comuni:



*HLA-A*01:329, HLA-A*03:213, HLA-B*51:193, HLA-DRB1*11:39, HLA-DQB1*06:187, HLA-DPBI*1082:01, HLA-DPBI*124:01, HLA-DPBI*463:01, HLA-DPBI*1326:01.*

Le suddette varianti alleliche della classe I si differenziano in n.2 casi sull'esone 2 e in n.1 caso sull'esone 5; per la classe II in n.2 casi sull'esone 2, in n.2 casi sull'esone 3 ed in n.2 casi sull'esone 4.

In un caso la metodica NGS ha evidenziato una nuova variante allelica, a carico del locus *HLA-DPBI*, che è stata confermata successivamente mediante SBT.

Conclusioni

La metodica NGS si è dimostrata versatile ed estremamente robusta nella routine di laboratorio. In particolare se applicata ad un numero elevato di campioni si ottimizzano i costi e le risorse umane. Per sedute inferiori a 24 campioni la metodica si è dimostrata meno prestante. Nei casi di fallimento di uno dei loci analizzati, l'SBT si è confermata una metodica estremamente utile sia in termini di costi che di accuratezza del risultato.



Abstract Code: AIB17190-62

Caratterizzazione dell'epitopo riconosciuto dall'anticorpo monoclonale anti-KIR2DL1 HP-DM1.

M. Falco ¹, R. Meazza ², C. Alicata ³, P. Canevali ², A. Muntasell ⁴, C. Bottino ⁵, L. Moretta ³, D. Pende ², M. Lopez-Botet ⁴

(1) IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italia, (2) IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova, Italia, (3) IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia, (4) Hospital del Mar Medical Research Institute (IMIM), Barcellona, Spagna, (5) DIMES, Università di Genova, Italia

I geni *KIR* codificano per una famiglia di recettori che regolano la funzione delle cellule NK. Numerosi studi hanno dimostrato che il polimorfismo *KIR* influenza l'espressione, l'affinità con il ligando e l'efficienza della trasduzione del segnale. Inoltre la variabilità *KIR*, in combinazione con quella dei geni *HLA* di classe I, condiziona l'educazione delle cellule NK. Nonostante ciò, solo una precisa analisi fenotipica permette di determinare le dimensioni delle diverse sottopopolazioni NK *KIR*^{pos}. In questo contesto, l'uso di reagenti che riconoscono un numero limitato di recettori *KIR* è essenziale. In questo studio abbiamo caratterizzato la specificità di un anticorpo monoclonale anti-*KIR* denominato HP-DM1. Analizzando la sua reattività su cellule HEK-293T transfettate con plasmidi codificanti diversi recettori *KIR*, abbiamo dimostrato che HP-DM1 reagisce esclusivamente con le molecole *KIR2DL1*. Inoltre, utilizzando la tecnica della mutagenesi sito-specifica, abbiamo dimostrato che M44, S67, R68 e T70 sono i quattro aminoacidi rilevanti per il legame di questo anticorpo. Questi dati hanno dimostrato che HP-DM1 si lega a un epitopo conformazionale che include M44, il residuo critico per il riconoscimento delle molecole HLA-C K80. L'identificazione dei residui importanti nel riconoscimento HP-DM1/*KIR2DL1* ci ha permesso: i) di estendere la reattività di questo anticorpo a tutti gli allotipi di *KIR2DL1* identificati finora, ad eccezione di *KIR2DL1**022 e, molto probabilmente, di *KIR2DL1**020, ii) di prevedere che non riconosca nessun altro recettore *KIR* con l'unica eccezione di *KIR2DS1**013.



Abstract Code: AIB17193-65

Divergenza evolutiva del sistema HLA e risposta anticorpale al vaccino anti-Covid BNT162b2

M. Traverso ¹, P. Crivello ², A.M. Gallina ¹, N. Sacchi ¹, F. Scaglione ³, A. Pani ³, S. Rossini ⁴, R. Crocchiolo ⁴

(1) Registro Italiano dei Donatori di Midollo Osseo, EO Ospedali Galliera, Genova, Italia, (2) Institute for Experimental Cellular Therapy, University Hospital Essen, Essen, Germany, (3) Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologiche, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano, Italia, (4) Servizio di Immunoematologia e Medicina TrASFusionale, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano, Italia

INTRODUZIONE

Il sistema HLA, negli ultimi anni, è stato oggetto di molti studi nell'ambito dell'infezione Covid-19. Benché sia noto che il polimorfismo del sistema HLA impatti sul numero e sull'affinità dei peptidi della proteina Spike presentati al sistema immunitario, non è ancora chiara la correlazione tra severità dell'infezione Covid-19 e determinati alleli HLA, né tantomeno l'impatto sull'efficacia vaccinale. Scopo di questo studio è investigare un'eventuale correlazione tra la divergenza evolutiva nel sistema HLA (HLA evolutionary divergence, HED) e la risposta anticorpale post-vaccino, testando l'ipotesi che un basso indice HED sia associato a una risposta anticorpale più bassa.

METODI

L'indice HED misura la divergenza tra i due alleli di ciascun locus HLA di un individuo confrontando la sequenza amino acidica di ciascun allele e le caratteristiche fisico-chimiche di ciascun residuo polimorfico usando la metrica Grantham. L'HED è stato calcolato per i loci A, B, C, e DRB1, su n=111 individui sottoposti al vaccino ad RNA messaggero BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) in confronto con una popolazione di riferimento di circa 4,000 donatori sani di CSE da registro IBMDR, come riportato da Sacchi et al. (HLA 2019). Il campione in studio è stato selezionato sulla base del titolo anticorpale relativamente basso (<5% percentile) misurato 2 settimane dopo la seconda dose vaccinale, su un totale di n=2,569 vaccinati presso l'ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda di Milano tra il 27/12/19 ed il 18/2/20. La tipizzazione è stata eseguita a 4-digits sui loci A, B, C e DRB1 in modo da essere confrontabile con la popolazione di riferimento. Lo studio è stato approvato dal CE Milano Area 3 e dall'ISS (progetto RENAISSANCE).

RISULTATI

Due modelli ANOVA (uno che tiene conto dei soggetti omozigoti e l'altro no) sono stati utilizzati per investigare sulla possibile differenza dell'HED nei due gruppi. L'analisi è stata eseguita sia su ogni singolo locus sia sull'HED medio calcolato su tutti i loci.

Il modello più attendibile è risultato essere quello che tiene conto dei soggetti omozigoti e covariate quali sesso ed età (R-square > 0.5), tuttavia i risultati non evidenziano differenze



statisticamente significative (p -value > 0.4) tra il campione in studio e il campione di controllo (HED medio 7.33 vs 7.22).

CONCLUSIONI

I dati attuali suggeriscono una simile distribuzione degli indici HED tra popolazione con bassa risposta anticorpale e la popolazione di riferimento. Il confronto con un gruppo di individui con alta risposta anticorpale, attualmente in corso, potrebbe rivelare un'associazione tra questi indici e un'alta risposta al vaccino.



Abstract Code: AIB17194-66

Anticorpi anti-recettori dell'angiotensina di tipo II e dell'endothelina-1 di tipo A nel trapianto di rene pediatrico

M. Vadori¹, E. Cuciz¹, S. Negrisolò², A. Carraro², E. Vianello³, J. Igeno San Miguel³, E. Poggi⁴, A. Manfreda⁴, R. Labbadia⁵, V. Sioli⁶, E. Longhi⁶, T.M. De Feo⁶, M. Spada⁷, M. Andreani⁸, E. Benetti³, L. Dello Strologo⁵, E. Cozzi¹

(1) UOSD Immunologia dei Trapianti, Dipartimento di Scienze Cardio-Toraco-Vascolari e Sanità Pubblica, Università di Padova, (2) Laboratorio di Immunopatologia e Biologia Molecolare del Rene, DIDAS Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedale Università Padova, (3) UOC Nefrologia Pediatrica, DIDAS Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedale Università Padova, (4) CNR-IFT Roma San Camillo-Centro Regionale Trapianti Lazio-Laboratorio di Tipizzazione Tissutale e Immunologia dei Trapianti, Ospedale San Camillo, Roma, (5) UOC Follow up trapianto Renale. Ospedale pediatrico Bambino Gesù. Roma, (6) UOC Trapianti Lombardia/NITp, Fondazione IRCCS CA' Granda Ospedale Policlinico di Milan, (7) Chirurgia Epatobiliopancreatica e del Trapianto di Fegato e di Rene, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, (8) UOS Laboratorio di Immunogenetica dei Trapianti, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

Introduzione: Gli anticorpi non-HLA sono stati studiati come possibili cause di rigetto anticorpo mediato (AMR). Esistono evidenze che la presenza di anticorpi diretti contro il recettore di tipo 1 dell'angiotensina II (AT1R) è correlata con il declino della funzionalità d'organo dopo trapianto; al contrario, l'impatto degli anticorpi diretti contro il recettore di tipo A dell'endothelina-1 (ETAR) non è del tutto chiarito. Questo progetto ha lo scopo di valutare, nel trapianto di rene pediatrico, l'impatto dell'associazione di questi due anticorpi sull'AMR e sull'esito del trapianto.

Metodi: In una coorte di pazienti pediatrici trapiantati di rene presso i centri trapianti di Padova e del Bambino Gesù di Roma (n>100), sono stati monitorati gli anticorpi anti-ETAR e anti-AT1R prima e dopo il trapianto per almeno 2 anni. L'analisi istologica è stata eseguita su biopsie di protocollo a 6, 12 e 24 mesi dopo il trapianto. La presenza di possibile rigetto d'organo è stata valutata seguendo la classificazione Banff del 2018. Sono inoltre state valutate mediante analisi immunoistochimica, l'espressione dei recettori AT1R, ETAR e delle molecole di adesione VCAM e ICAM nel tessuto renale.

Risultati: Ad oggi, sono stati arruolati in questo studio 141 pazienti pediatrici trapiantati di rene e sono stati analizzati 470 sieri. Il 50,0% e il 43,8% di questa coorte pediatrica ha rispettivamente anticorpi anti-ETAR e anti-AT1R preformati. Per tutto il periodo di follow-up, il 37,5% e il 43,8% erano negativi rispettivamente per gli anti-AT1R e anti-ETAR. Gli anticorpi anti-ETAR risultavano



significativamente associati agli anticorpi anti-AT1R, anche se si è evidenziato un sottogruppo di pazienti (4,8%) con solo anti-ETAR Ab. La comparsa de novo di entrambi gli anticorpi è stata rilevata nel 7,5% dei pazienti pediatrici.

Conclusioni: Questo studio dimostra che gli anticorpi anti-ETAR sono presenti nella metà dei pazienti pediatrici sottoposti a trapianto renale. In questa coorte, la presenza di anticorpi anti-ETAR si associa in molti casi agli anti-AT1R. Questi studi potranno determinare se questi pazienti pediatrici con anticorpi non-HLA pre-trapianto sono a più alto rischio di rigetto e quindi di perdita prematura dell'organo trapiantato.



Abstract Code: AIB17195-67

Dati preliminari sulla permissività DPB1 correlata nel trapianto di CSE da donatore aploidentico

S. Giuliadori¹, M. Benecchi¹, A. Rinaldi², R. Troiano¹, J. Manduca¹, S. Bonomini², L. Prezioso², D. Vallisa³, M. Soli⁴, P. Zanelli¹

(1) SSD Immunogenetica dei Trapianti, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, (2) U.O. Ematologia e Centro trapianti midollo osseo (CTMO), Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, (3) U.O. Ematologia e Centro Trapianti, Azienda USL di Piacenza; U.O. Ematologia e Centro trapianti midollo osseo (CTMO), Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, (4) U.O. Immunoematologia e TrASFusionale, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma

Il grado di compatibilità HLA e la permissività di eventuali mismatch sono tra i principali fattori nella selezione del donatore nel trapianto di cellule staminali ematopoietiche (CSE) e correlano con l'outcome del trapianto. La presenza di mismatches HLA comporta lo sviluppo di una risposta alloimmune, che deriva dall'alloreattività delle cellule T del donatore. Nel caso di mismatch permissivi la limitata alloreattività permette di mantenere un equilibrio tra GVHD e GVL, offrendo una buona tollerabilità e buona efficacia nel controllo della malattia. I mismatches non permissivi invece presentano un maggior livello di alloreattività e correlano con un maggior rischio di sviluppare GVHD (GVH direction) o graft failure (HVG direction). A questo proposito è ormai evidente, per i trapianti MUD HLA identici, come un ruolo fondamentale sia svolto dal locus DPB1, mentre non sono ancora disponibili casistiche estese nel caso di trapianti da donatore aploidentico. Nel seguente studio abbiamo valutato 73 pazienti con patologie ematologiche sottoposti, nel periodo da gennaio 2018 a giugno 2022, a trapianto di CSE da donatore MUD (n = 31) o da donatore aploidentico (T cell replete HSCT- HAPLO TCR n = 14 e T cell deplete HSCT- HAPLO TCD n = 28). Per quanto riguarda l'overall survival, rispettivamente il 47%, il 46% ed il 75% dei pazienti viventi (MUD, HAPLO TCR, HAPLO TCD) presentano mismatch permissivi. Nel gruppo di pazienti sottoposti a trapianto da donatore MUD il 22% ed il 9% rispettivamente ha sviluppato GVHD acuta o cronica apparentemente senza relazione con la presenza di mismatch non permissivo GVH. Le recidive di malattia invece sono state evidenziate nell'84% dei casi in pazienti con HLA DPB1 matched. Nei pazienti sottoposti a trapianto allogenico aploidentico abbiamo osservato invece che la presenza di mismatches non permissivo in senso GVH si associa allo sviluppo di maggiore tossicità trapianto relata ed un conseguente rischio di mortalità più elevato. Infatti dei 5 pazienti (11%) che presentavano tali mismatch 3 sono deceduti per TRM e 2 hanno sviluppato manifestazioni infiammatorie cutanee GVHD like post attecchimento. I pazienti che hanno sviluppato GVHD cronica in questo gruppo (11%) presentano mismatch permissivo, una buona risposta alla terapia impostata ed un basso tasso di recidiva di malattia. Collateralmente abbiamo osservato una relazione tra mismatch HLA DPB1 e riattivazione CMV, a fronte di diversa profilassi (trattati e no con letermovir): 8 (10%) pazienti hanno avuto riattivazione virale e di questi 7 (90%) presentavano mismatch DPB1. Nonostante l'esiguità del numero di pazienti analizzati al momento, questi dati offrono un'importante



punto di partenza per poter valutare il ruolo della permissività del locus HLA DPB1 soprattutto nel setting del trapianto allogenico da donatore aploidentico, permettendo di poter ottimizzare la scelta del donatore e modificare l'outcome post trapianto.



Abstract Code: AIB17196-68

Non è tutto oro quel che luccica. Anticorpi anti-HLA: elevati MFI e FC-XM negativo

S. Giuliadori ¹, M. Benecchi ¹, C. Labate ¹, E. Magni ¹, J. Parrotta ¹, P. Zanelli ¹

(1) SSD Immunogenetica dei Trapianti, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma

Nella fase di validazione del cross-match in citofluorimetria (FC-XM), per valutare la sensibilità e specificità del metodo, sono stati effettuati FC-XM con sieri a specificità note e valori di MFI definiti mediante tecnologia in fase solida su piattaforma Luminex[®] (Single Antigen Class I and II, OneLambda) e cellule appositamente selezionate.

Il test eseguito tra un siero con anticorpi di classe I con MFI <800 e di classe II diretti contro gli antigeni DQ4, DQ7, DQ8 e DQ9 (valori medi di MFI rispettivamente: 5798, 23490, 22243 e 22500) e una cellula solo DQ8 positiva, è risultato negativo sui linfociti T ma inaspettatamente negativo anche sui linfociti B. In seguito a questo risultato il FC-XM è stato ripetuto con la medesima cellula e con altre due cellule solo DQ7 o DQ9 positive. L'unico FC-XM positivo sui linfociti B è stato ottenuto con la cellula DQ7 positiva (MCS pari a 1042 canali).

La specificità DQ7 nel siero in esame rappresenta un vero DSA comparso a 3 anni dal trapianto con donatore DQ7 positivo (Donatore: DR11, DR13; DQ7 / Ricevente: DR7, DR13; DQ2, DQ6).

Questo risultato dimostra ancora una volta che le metodiche in fase solida, in particolare quelle dirette contro singoli antigeni HLA, notoriamente molto sensibili, non sono altrettanto specifiche. La reattività per tutto il gruppo sierologico DQ3 e per DQ4 osservata è attribuibile con ogni probabilità, per il pannello di microsfere utilizzato (lotto 013), alla presenza dell'epitopo 52PL3 condiviso da tutte le specificità DQ rilevate nel siero. Questa reattività crociata impedisce di identificare correttamente il singolo DSA effettivamente presente che viene invece, come atteso, precisamente rilevato dalla positività del FC-XM. Questo risultato deve indurre una riflessione sull'attribuzione delle reali specificità anticorpali presenti nei sieri dei pazienti, in particolare quelli in lista d'attesa, che possono essere esclusi da un possibile trapianto sulla base di un cross-match virtuale falsamente positivo. Dal momento che, come riportato da molti autori, un FC-XM negativo anche in presenza di DSA, si associa ad un basso rischio di rigetto anticorpo-mediato, potremmo forse rivedere i criteri di esclusione basati sulla sola positività al virtual cross-match.



Abstract Code: AIB17197-69

Anticorpi contro antigeni naturali: strategie di analisi in fase solida a confronto

V. Sgobba¹, R. Merli¹, R. Troiano¹, J. Manduca¹, E. Russello¹, P. Zanelli¹

(1) S.S.D. IMMUNOGENETICA DEI TRAPIANTI, A.O.U. PARMA

L'esistenza di anticorpi cosiddetti "naturali" diretti contro antigeni ambientali e cross-reattivi con epitopi HLA è nota da tempo. Tali anticorpi probabilmente legati a cross-reattività con microrganismi, proteine ingerite o allergeni sono definiti "naturali" in quanto descritti in maschi non trasfusi ed in letteratura esistono opinioni contrastanti circa la rilevanza di questi anticorpi nel trapianto, anche se la maggioranza dei dati sembra indicare un'assenza di effetto. Questa popolazione anticorpale ha assunto rilevanza in seguito all'utilizzo in particolare delle microsfere dirette contro singoli antigeni HLA utilizzate con tecnologia Luminex: durante la procedura di legame degli antigeni (Ag) HLA ricombinanti con le microsfere, possono venire esposti siti critici antigenici contro cui questi anticorpi sono diretti dando origine a reazioni false positive, anche a fronte di uno screening negativo. E' importante riconoscere questo tipo di reazioni al fine di non precludere un trapianto in assenza di veri anticorpi o riconoscere una reazione di rigetto anticorpo mediato. Nei sieri di due pazienti studiati mediante Luminex Single Antigen (LabScreen Single Antigen, One Lambda) si è osservata una pan-reattività al locus DR, comprensiva di anticorpi diretti contro Ag *self*. Gli stessi sieri studiati mediante Reflex Beads (One Lambda - fornite dalla ditta produttrice in quanto non ancora in commercio) hanno dimostrato la scomparsa della pan-reattività DR. Dal momento che le Reflex Beads sono coattate con Ag HLA nativi, l'assenza di reattività potrebbe dimostrare come gli anticorpi presenti nei sieri in esame siano diretti contro Ag HLA denaturati (positivi LabScreen Single Antigen). Analogo risultato (scomparsa della pan reattività DR) è stato osservato analizzando i due campioni con microsfere di II classe di un'altra casa produttrice (LIFECODES SABs, Immucor). Dai risultati ottenuti si evince che le microsfere Single Antigen (LabScreen SABs - One Lambda) presentano sulla superficie sia molecole native che denaturate in percentuali diverse, mentre le LIFECODES SABs sono coattate con sole molecole native o al più con molecole native in percentuale nettamente superiore rispetto a quelle denaturate. Viste le differenti caratteristiche dei kit commerciali disponibili sul mercato (le Reflex beads non sono ancora disponibili nel nostro paese) sarebbe opportuno valutare i risultati non coerenti con la clinica, o con importante componente *self*, in cui si sospetta la presenza di anticorpi naturali, con entrambe le tipologie di biglie. Saranno necessari studi in parallelo su numeri elevati di campioni per comprendere la reale consistenza del problema e la sua incidenza sull'attribuzione delle specificità anticorpali nei pazienti in lista d'attesa di trapianto o trapiantati.



Abstract Code: AIB17198-70

Il ruolo degli RSA (Recipient Specific Antibodies) nell'outcome trapiantologico. Analisi di un gruppo di donatori familiari selezionati per pazienti sottoposti a trapianto aploidentico.

R. Cacciatore¹, A. Pasi¹, P. Bergamaschi¹, G. Giorgiani², D. Caldera³, P. Comoli², A.A. Colombo³, I. Sbarsi¹, L. Chiesa¹, D. Troletti⁴, E. Cornella¹, M. Hoffmann³, M.C. Monti¹, A. Leone¹, C. Perotti⁴, P. Bernasconi³, L. Arcaini⁵, M. Zecca²

(1) Laboratorio di Immunogenetica, Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia., (2) Dipartimento di Ematologia-Oncoematologia Pediatrica e Cell Factory, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia., (3) UOS Centro Trapianti - UOC Ematologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia., (4) Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia., (5) UOC Ematologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia.

Il trapianto di cellule staminali ematopoietiche (TCSE) rappresenta una procedura terapeutica efficace per il trattamento di pazienti (R) con patologie onco-ematologiche. Il miglioramento dei protocolli trapiantologici ha portato a risultati sempre più soddisfacenti nel campo dei trapianti da donatore (D) aploidentico. Recentemente è emersa l'ipotesi che, oltre ai DSA (anticorpi donatore specifici), anche gli RSA (anticorpi ricevente specifici) possano svolgere un ruolo importante nell'esito del trapianto, soprattutto in relazione ad eventi avversi quali la GvHD. Al fine di valutare il ruolo degli RSA sull'*outcome* trapiantologico, sono state analizzate 51 coppie D/R (41 adulti e 10 pediatriche; età media: 48 anni, range: 2-72) sottoposte ad aplo-TCSE (2016 -2022). I donatori sono stati testati per la ricerca di Ab-HLA mediante tecnologia Luminex e utilizzando come cut-off di positività un MFI =1000. 23 (46%) erano Ab-HLA +. 8/23 (35%) presentano RSA e 15/23 (65%) erano RSA- ($p=0.05$). La aGvHD si è manifestata nel 37% dei R (18/48 valutabili) mentre la cGvHD nel 25% (10/40 valutabili). Il 100% dei riceventi RSA+ (8/8) ha manifestato GvHD acuta o cronica, vs il 40% dei riceventi RSA- ($p<0.01$). Il 75% dei riceventi RSA + ha sviluppato aGvHD vs 30% dei riceventi RSA- ($p=0.04$, OR=6.69). Il 67% dei riceventi RSA+ ha sviluppato cGvHD vs 18% di riceventi RSA- ($p=0.025$ e OR=8.63). Analisi multivariate hanno confermato la relazione tra RSA e GvHD cronica e acuta ($p=0.008$ e $p=0.01$), come già descritto in pochi lavori della letteratura. È interessante notare che l'unico MFI basso (959) è stato rilevato in un trapianto figlio vs padre con aGvHD di grado lieve mentre altri 3 casi, con MFI: 17772, 24542 e 16227, presentavano rispettivamente: aGvHD-III e cGvHD, aGvHD-II, aGvHD-III e cGvHD. Questi dati sembrano suggerire che il livello di MFI possa correlare con incidenza e gravità della GvHD, sebbene il dato sia da confermare in coorti più numerose. Inoltre, tutti i riceventi erano DSA-, suggerendo che proprio gli RSA siano i protagonisti di un *milieu* immunologico nella coppia D/R che potrebbe condurre allo sviluppo di GvHD. È quindi ipotizzabile che l'immunizzazione del donatore possa essere coinvolta nell'allorreattività B-mediata nei confronti del ricevente, portando principalmente allo sviluppo di cGvHD, ma anche ad una aGvHD.



Abstract Code: AIB17199-71

Case report, update 2022: analisi di chimerismo quantitativo post-trapianto di CSE in una paziente affetta da NKTCL

A. Oggioni ¹, L. Musolino ¹, E. Sironi ¹, A. Galli ¹, L. Santoleri ¹, B.A. Mazzi ¹

(1) Laboratorio di Istocompatibilità e Immunogenetica, HLA e Chimerismi, Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, IRCCS Ospedale San Raffele - Milano

Il linfoma nasale extranodale a cellule NK/T (NKTCL) è una neoplasia maligna rara. In genere, origina dal naso, dai seni paranasali, dalle orbite o dalle vie aeree superiori; si presenta come una massa nel naso, con emorragie nasali, ostruzione del naso, perforazione del palato e lesioni distruttive delle vie aeree medio-facciali e/o superiori. Negli stadi avanzati, che comportano una prognosi sfavorevole, la malattia può diffondersi ad altri organi. Si tratta di un Linfoma non Hodgkin EBV-related diagnosticato in una paziente nel giugno 2018 presso il nostro Istituto il cui case report è stato pubblicato recentemente (Lazzari L, Farina F, Lupo Stanghellini MT et. al. 2021).

Riassumendo, la paziente è stata sottoposta a cicli di chemioterapia e successiva radioterapia con ottenimento di remissione completa. A distanza di un anno ha fatto seguito una recidiva a livello del SNC e a seguire nella fossa nasale destra: il trattamento combinato chemioterapia, steroide e Pembrolizumab ha permesso di ottenere una seconda remissione completa. L'indicazione a trapianto allogenico di CSE è stata quindi discussa collegialmente e a luglio 2020 la paziente è stata trapiantata da donatore MUD match 10/10, 11/12 con un mismatch DPB1 considerato permissivo (DPB1 TCE Algorithm v2.0).

Il chimerismo post-trapianto è stato effettuato fin da subito su sangue midollare e periferico come di consueto, e in aggiunta su liquor in occasione di rachicentesi terapeutiche ed esplorative.

L'analisi quantitativa relativa viene eseguita in routine mediante Real-Time PCR in 50 ng di DNA, in triplicato e su due marcatori informativi.

Le caratteristiche dei liquor in esame hanno portato necessariamente a delle modifiche nella procedura operativa, già validate in passato in altre occasioni particolari: PCR in 6.25 ng e replicati in triplo/doppio/singolo sempre su due marcatori informativi host.

Nella maggioranza dei casi i risultati sono stati clinicamente informativi, mentre in un caso non è stato possibile quantificare la percentuale host a causa delle caratteristiche subottimali del materiale in esame: campioni anno 2022 riportati in tabella

Prelievo	DNA ng/uL	Materiale	PCR	% host
25/01/2022	6.4	PB	50 ng	undetermined
25/01/2022	61.2	BM	50 ng	0.3%
21/06/2022	30.2	PB	50 ng	0.0%
14/07/2022	5.7	Liquor, 16 nucleated cells/uL	6.25 ng	6.4%
03/08/2022	2.5	Liquor, 7 nucleated cells/uL	6.25 ng	materiale inadeguato, fallimento del gene di controllo per quantificazione relativa: si segnala presenza di host verosimilmente in tracce e/o percentuali molto basse
01/09/2022	2.1	Liquor, 10 nucleated cells/uL	6.25 ng	7.9%

Tutto ciò evidenzia come l'analisi di chimerismo mediante RT-PCR si riveli uno strumento versatile ed applicabile anche su matrici biologiche peculiari ma ostiche; tuttavia tecniche che utilizzano quantità inferiori di DNA non pagando in sensibilità (es. NGS) sono candidate ideali per dare dei risultati clinicamente utili.



Abstract Code: AIB17200-54

INTRODUZIONE DEL CROSSMATCH VIRTUALE PER IL TRAPIANTO DI RENE IN AREA NITp

N. Angela¹, L. Crespiatico¹, V. Sioli¹, V. Caporale¹, A. Comino¹, F. Drago¹, A. Espadas De Arias¹, M. Ramondetta¹, D. Bertola¹, C. Brambilla¹, N. Cagni¹, L. Chidichimo¹, M. Grassi¹, A. Innocente¹, M. Macchiagodena¹, B. Speringo¹, E. Soccio¹, N. Suvajac¹, M. Tivelli¹, E. Longhi¹

(1) Laboratorio Immunologia dei Trapianti - UOC Trapianti Lombardia-NITp - Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano

La necessità di eseguire un crossmatch (XM) reale per tutte le coppie donatore ricevente era dettata dai limiti, in termini di specificità e sensibilità, delle metodiche per la rilevazione e identificazione degli anticorpi anti HLA, per lo più basate su CDC ed ELISA. L'introduzione dei test in fase solida basati sulla tecnologia Luminex xMAP che consentono di studiare la reattività del siero del paziente rispetto a singoli antigeni o alleli HLA, di poter correlare la reattività raggruppata per epitopi e, parallelamente, la possibilità di eseguire la tipizzazione HLA completa in tempi compatibili con quelli dell'allocazione degli organi in urgenza, ha stimolato molti laboratori ad imboccare la strada del crossmatch virtuale (vXM).

Nel laboratorio di riferimento del NITp negli ultimi anni è stato avviato un progressivo cambiamento delle metodiche e delle policy a supporto dell'allocazione degli organi in urgenza da donatore deceduto: fino al 2017 il donatore veniva tipizzato ai soli loci HLA-A,B,DRB1,DQB1 e lo studio dei pazienti in lista d'attesa eseguito per il 90% in CDC, mentre oggi la tipizzazione del donatore è completa per tutti i loci HLA di classe I e II ed il profilo immunologico dei pazienti relativamente agli anticorpi anti HLA viene studiato completamente con tecnologia Luminex xMAP.

Da un'analisi retrospettiva sui crossmatches eseguiti dal laboratorio su pazienti candidati al trapianto di rene da donatore deceduto, in circa il 2.5% di casi si era ottenuta una positività inattesa in pazienti con PRA Luminex 0%: il trattamento del siero con DTT ha negativizzato tutti questi XM, dimostrando la presenza di anticorpi di classe IgM non anti HLA che interferiva con il risultato del XM.

Sulla base di queste premesse, confortati dai risultati disponibili in letteratura in merito al vXM e supportati dalle ultime versioni degli Standards EFI, a Dicembre 2021 abbiamo proposto ai Centri Trapianto Rene di area NITp un cambiamento della policy del XM pretrapianto che è stata applicata a partire da Gennaio 2022.

La nuova policy prevede il vXM per tutti i pazienti al primo trapianto e studiati su almeno due sieri, il più recente dei quali non più vecchio di tre mesi, con vPRA 0%. In questi casi il XM reale viene omesso e viene studiato in Luminex un siero basale al trapianto.

Da Gennaio a Luglio 2022 sono stati eseguiti presso il nostro laboratorio 2277 XM per trapianto di rene, di cui 1191 in modalità esclusivamente virtuale. Questa attività ha portato a 444 trapianti di rene.

Nei sieri basali al trapianto studiati dopo vXM negativo non sono state riscontrate positività inattese.



Da questi dati, che sicuramente meritano di essere ulteriormente confermati da una casistica più elevata, concludiamo che la metodica del vXM applicata a pazienti non immunizzati, al primo trapianto e studiati su almeno due sieri è sicura e permette di ridurre i tempi di valutazione della coppia donatore/paziente da parte dei Centri Trapianto e di ischemia fredda dell'organo.



XXVIII
Congresso
Nazionale
AIBT
Associazione Italiana
di Immunogenetica
e Biologia dei Trapianti

 **PLANNING**