

# XXX

Congresso  
Nazionale

# AIBT

Associazione Italiana  
di Immunogenetica  
e Biologia dei Trapianti

# abstract book 2024



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

Napoli, 10/12 ottobre 2024  
Royal Continental Hotel

<b>Codice</b>	<b>Titolo</b>	<b>Primo autore</b>	<b>Autori con apici</b>	<b>Affiliazioni numerate</b>
<b>AIB20707-60</b>	"HLA evolutionary divergence" e risposta umorale al vaccino anti-Covid BNT162b2: risultati da uno studio osservazionale prospettico su 240 operatori sanitari	<b>Sole Tiziana</b>	<T. Sole> <sup>{1}</sup> , V. Chiavetta <sup>{1}</sup> , G. Di Maggio <sup>{2}</sup> , G. Cornacchini <sup>{2}</sup> , G. Lando <sup>{2}</sup> , A. Sulejmani <sup>{2}</sup> , M. Lavitrano <sup>{1}</sup> , S. Rossini <sup>{2}</sup> , R. Crocchiolo <sup>{2}</sup>	1.Università degli Studi Milano-Bicocca, Milano 2.ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano
<b>AIB20708-61</b>	L'uso dell'intelligenza artificiale nella valutazione della compatibilità HLA ai fini della selezione del miglior donatore di cellule staminali: creazione di un modello prototipo e sviluppi futuri	<b>Crocchiolo Roberto</b>	<R. Crocchiolo> <sup>{1}</sup> , S. Cacace <sup>{2}</sup> , G. Milone <sup>{3}</sup> , B. Sarina <sup>{4}</sup> , A. Cupri <sup>{3}</sup> , S. Leotta <sup>{3}</sup> , G. Giuffrida <sup>{3}</sup> , A. Spadaro <sup>{3}</sup> , J. Mariotti <sup>{4}</sup> , S. Bramanti <sup>{4}</sup> , A. Fumagalli <sup>{4}</sup> , M. Azzaro <sup>{3}</sup> , S. Toscano <sup>{3}</sup> , Q. Semeraro <sup>{2}</sup>	1.ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano 2.Politecnico di Milano, Milano 3.Azienda Ospedaliera Vittorio Emanuele, Catania 4.Istituto Clinico Humanitas, Rozzano
<b>AIB20747-64</b>	Impatto del genotipo KIR sull'esito clinico dei trapianti di cellule staminali emopoietiche: esperienza di un unico centro	<b>Ingrassia Francesco</b>	<F. Ingrassia> <sup>{1}</sup> , A. Pecoraro <sup>{1}</sup> , M. Blando <sup>{1}</sup> , A. Corica <sup>{1}</sup> , F. Di Paola <sup>{1}</sup> , G. Davi <sup>{1}</sup> , R. Bavetta <sup>{1}</sup> , I. Aiello <sup>{1}</sup> , F. Bruno <sup>{1}</sup> , S. Mistretta <sup>{1}</sup> , T. Traina <sup>{1}</sup> , S. Tringali <sup>{2}</sup> , R. Fedele <sup>{1}</sup> , L. Castagna <sup>{2}</sup> , V. Cappuzzo <sup>{1}</sup>	1.UOS HLA 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 2.Unità Trapianti Midollo Osseo, A.O.O.R. Villa Sofia-Cervello - Palermo
<b>AIB20778-68</b>	Alleli "uncommon" identificati con metodica NGS	<b>Perotti Laura</b>	<L. Perotti> <sup>{1}</sup> , L. Longa <sup>{1}</sup> , M. Prucca <sup>{1}</sup> , R. Bruggiafreddo <sup>{1}</sup> , B. Bruno <sup>{1}</sup> , L. Calcagno <sup>{1}</sup> , E. Bertola <sup>{1}</sup> , M. Troiano <sup>{2}</sup> , I. Avonto <sup>{1}</sup> , L. Maddalena <sup>{1}</sup> , R. Balbo <sup>{1}</sup> , F. Piovano <sup>{1}</sup> , M. Ginestri <sup>{1}</sup> , P. Manzini <sup>{1}</sup>	1.SCI Immunoematologia e Medicina Trasfusionale - AO S. Croce e Carle, Cuneo 2.U.O.C. Oncoematologia, Trapianto Emopoietico e Terapie Cellulari - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
<b>AIB20781-62</b>	Terapia con monoclonale anti-CD38 e riduzione dei livelli di anticorpi anti-HLA: una nuova ed efficace arma da integrare nei protocolli di desensibilizzazione ?	<b>Chiavetta Viola</b>	<V. Chiavetta> <sup>{1}</sup> , M. Soldarini <sup>{1}</sup> , A. Cafro <sup>{1}</sup> , P. Bertazzoni <sup>{1}</sup> , G. Lando <sup>{1}</sup> , G. Di Maggio <sup>{1}</sup> , G. Cornacchini <sup>{1}</sup> , M. Piottelli <sup>{1}</sup> , R. Cairolì <sup>{1}</sup> , S. Rossini <sup>{1}</sup> , R. Crocchiolo <sup>{1}</sup>	1.ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano
<b>AIB20783-64</b>	Correlazione tra il polimorfismo della regione 3'UTR del gene KLRC2 e la percentuale delle cellule NK che esprimono il recettore NKG2C.	<b>Falco Michela</b>	<M. Falco> <sup>{1}</sup> , R. Meazza <sup>{2}</sup> , M. Della Chiesa <sup>{3}</sup> , P. Canevali <sup>{2}</sup> , D. Pende <sup>{2}</sup> , P. Merli <sup>{4}</sup> , F. Locatelli <sup>{5}</sup> , S. Sivori <sup>{3}</sup> , C. Bottino <sup>{6}</sup>	1.Laboratorio di Immunologia Clinica e Sperimentale, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italia 2.Laboratorio di Patologia e Immunologia Sperimentale, IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova, Italia 3.Dipartimento di Medicina Sperimentale, DIMES, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia 4.Dipartimento di Onco-Ematologia e Terapia Cellulare e Genica, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia 5.Dipartimento di Onco-Ematologia e Terapia Cellulare e Genica, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù; Dipartimento di Scienza della Vita e Sanità Pubblica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma 6.Laboratorio di Immunologia Clinica e Sperimentale, IRCCS Istituto Giannina Gaslini; Dipartimento di Medicina Sperimentale, DIMES, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

**9**

**10**

**11-12**

**13**

**14**

**15-16**

Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate
AIB20784-65	Analisi della variante allelica KIR3DS1*049N	Falco Michela	<M. Falco> <sup>{1}</sup> , R. Meazza <sup>{2}</sup> , P. Canevali <sup>{2}</sup> , C. Alicata <sup>{3}</sup> , D. Pende <sup>{2}</sup> , P. Merli <sup>{4}</sup> , F. Locatelli <sup>{5}</sup> , L. Moretta <sup>{6}</sup> , C. Bottino <sup>{7}</sup>	1.Laboratorio di Immunologia Clinica e Sperimentale, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italia 2.Laboratorio di Patologia e Immunologia Sperimentale, IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova, Italia 3.Unità di Citogenomica Traslazionale, IRCCS Ospedale Bambino Gesù, Roma, Italia 4.Dipartimento di Onco-Ematologia e Terapia Cellulare e Genica, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia 5.Dipartimento di Onco-Ematologia e Terapia Cellulare e Genica, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù; Dipartimento di Scienza della Vita e Sanità Pubblica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma 6.Immunologia dei Tumori, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia 7.Laboratorio di Immunologia Clinica e Sperimentale, IRCCS Istituto Giannina Gaslini; Dipartimento di Medicina Sperimentale, DIMES, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia
AIB20785-66	STUDY OF InDel MARKERS PREVALENCE FOR CHIMAERISM ANALYSIS AMONG ITALIAN HSCT RECIPIENTS AND DONORS	Muggianu Simona Maria	<S. Muggianu> <sup>{1}</sup> , M. Caputo <sup>{1}</sup> , M. Pisa <sup>{2}</sup> , V. Oliva <sup>{2}</sup> , M. Pedata <sup>{1}</sup> , M. Celentano <sup>{1}</sup> , C. Riccardi <sup>{1}</sup> , S. Marotta <sup>{1}</sup> , I. Migliaccio <sup>{1}</sup> , A. Carobene <sup>{1}</sup> , C. Luise <sup>{1}</sup> , S. Leone <sup>{1}</sup> , L. Altomare <sup>{3}</sup> , M. Salzano <sup>{1}</sup> , C. Gallo <sup>{1}</sup> , D. Buonanno <sup>{1}</sup> , A. Picardi <sup>{4}</sup> , A. Viola <sup>{2}</sup>	1.Stem Cell Transplant Program, AORN A. Cardarelli, Naples 2.Hematology Unit, AORN A. Cardarelli, Naples 3.Transfusion Medicine Service, AORN A. Cardarelli, Naples 4.Stem Cell Transplant Program, AORN A. Cardarelli, Naples 5.Dep. Of Biomedicine and Prevention, Tor Vergata University, Rome
AIB20786-67	Human leukocyte antigen mismatch and circulating donor-specific antibodies predict long term graft loss after kidney transplantation: a retrospective study	Costa Dario	D. Costa <sup>{1}</sup> , M. Strozzi <sup>{1}</sup> , <A. Levi> <sup>{1}</sup> , G. Benincasa <sup>{2}</sup> , V. Grimaldi <sup>{1}</sup> , M. Di Donato <sup>{1}</sup> , A. Pirozzi <sup>{1}</sup> , A. Passannanti <sup>{1}</sup> , C. Fiorito <sup>{1}</sup> , G. Moccia <sup>{1}</sup> , A. Gallo <sup>{1}</sup> , A. De Maria <sup>{1}</sup> , P. De Rosa <sup>{3}</sup> , G. Valeriani <sup>{3}</sup> , M. Santangelo <sup>{4}</sup> , R. Carrano <sup>{4}</sup> , S. Pacilio <sup>{5}</sup> , F. Cacciatore <sup>{5}</sup> , C. Napoli <sup>{1}</sup>	1.Regional Reference Laboratory of Transplant Immunology - University of Campania Luigi Vanvitelli, Napoli 2.Department of Advanced Medical and Surgical Sciences - Università degli Studi della Campania, Napoli 3.General Surgery and Transplantation Unit - San Giovanni di Dio e Ruggi D'Aragona University Hospital, Salerno 4.Department of Public Health - Section of Nephrology - University of Naples Federico II, Napoli 5.Department of Translational Medical Sciences - University of Naples Federico II, Napoli
AIB20789-70	Sequenziamento mediante NGS nell'arruolamento del donatore IBMDR attraverso il campione salivare	Agolini Stefano	<S. Agolini> <sup>{1}</sup> , E. Carciere <sup>{1}</sup> , P. Ferrucci <sup>{1}</sup> , A. Zoli <sup>{1}</sup>	1.Laboratorio HLA e Registro Regionale dei Donatori di Midollo Osseo delle Marche(RRAN01) – Azienda Ospedaliero Universitaria delle Marche - Ancona
AIB20790-62	Sequenziamento con tecnologia Nanopore mediante kit NGS-Turbo: la nuova frontiera nella tipizzazione HLA?	Fiore Roberto	<R. Fiore> <sup>{1}</sup> , F. Tito <sup>{1}</sup> , G. Mansella <sup>{1}</sup> , R. Chidichimo <sup>{1}</sup> , L. Rocchi <sup>{1}</sup> , M. Berrino <sup>{1}</sup> , E. Dametto <sup>{1}</sup> , E. Garino <sup>{1}</sup> , G. Mazzola <sup>{1}</sup> , S. Deaglio <sup>{1}</sup>	1.S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, Torino

17

18

19

20

21

<b>Codice</b>	<b>Titolo</b>	<b>Primo autore</b>	<b>Autori con apici</b>	<b>Affiliazioni numerate</b>	
<b>AIB20791-63</b>	I polimorfismi dei geni MICA e NKG2D influenzano l'efficacia della terapia immunosoppressiva modificando il rischio di Rigetto Cronico Anticorpo-mediato nel Trapianto di Rene.	<b>Mocci Stefano</b>	<S. Mocci> <sup>{1}</sup> , R. Littera <sup>{2}</sup> , D. Argiolas <sup>{3}</sup> , S. Lai <sup>{2}</sup> , M. Melis <sup>{4}</sup> , C. Sanna <sup>{5}</sup> , C. Mereu <sup>{5}</sup> , M. Lorrari <sup>{5}</sup> , A. Mascia <sup>{6}</sup> , M. Miglianti <sup>{7}</sup> , B. Onali <sup>{7}</sup> , S. Rassu <sup>{2}</sup> , S. Deidda <sup>{8}</sup> , C. Manieli <sup>{9}</sup> , E. Giuressi <sup>{2}</sup> , A. Perra <sup>{6}</sup> , A. Pani <sup>{3}</sup> , S. Giglio <sup>{5}</sup>	1. Medical Genetics Unit, Department of Medical Sciences and Public Health, University of Cagliari, Italy 2. Medical Genetics, R. Binaghi Hospital, Sardegna, Italy. 3. Kidney Transplant Unit, Department of Renal Diseases, G. Brotzu Hospital, Cagliari, Italy. 4. AART-ODV (Association for the Advancement of Research on Transplantation), Cagliari, Italy. Monserrato, Italy. 5. Medical Genetics, Department of Medical Sciences and Public Health, University of Cagliari, Cagliari, Italy. 6. Oncology and Molecular Pathology Unit, Department of Biomedical Sciences, University of Cagliari, 09100, Cagliari, Italy. 7. Department of Medical Sciences and Public Health, University of Cagliari, Cagliari, Italy. 8. Pneumology Unit, R. Binaghi Hospital, ASSL Cagliari, Cagliari, Italy. 9. U.O. Anatomia Patologica, P.O. San Michele, ARNAS "G Brotzu", Cagliari, Italy.	<b>23-24</b>
<b>AIB20793-65</b>	Crossmatch in citofluorimetria nella gestione dei donatori di organo solido: 5 anni di valutazioni pre-trapianto	<b>Rosso Claudia Maria</b>	<C. Rosso> <sup>{1}</sup> , C. Caorsi <sup>{1}</sup> , G. Togliatto <sup>{1}</sup> , R. Chidichimo <sup>{1}</sup> , D. Covelli <sup>{1}</sup> , S. Tontoni <sup>{1}</sup> , A. Oda <sup>{1}</sup> , P. Magistrioni <sup>{1}</sup> , S. Deaglio <sup>{1}</sup>	1. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, AOU Città della Salute e della Scienza, Torino	<b>25</b>
<b>AIB20794-66</b>	Condizionamenti e chimerismo misto nel trapianto di CSE HLA-mismatched: risultati preliminari da una review sistematica e possibile piattaforma di trapianto combinato CSE-SOT	<b>Di Maggio Giulia</b>	<G. Di Maggio> <sup>{1}</sup> , I. Gandolfini <sup>{2}</sup> , E. Borotti <sup>{3}</sup> , U. Maggiore <sup>{2}</sup> , P. Cravedi <sup>{4}</sup> , P. Zanelli <sup>{2}</sup> , R. Crocchiolo <sup>{1}</sup>	1. ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano 2. A.O.U. Parma, Parma 3. Università degli Studi di Pavia, Pavia 4. Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York	<b>26</b>
<b>AIB20795-67</b>	Ruolo dell'HLA Evolutionary Divergence nei pazienti affetti da leucemia mieloide acuta trattati con Venetoclax ed ipometilanti: risultati preliminari da uno studio osservazionale	<b>Breda Anna</b>	<A. Breda> <sup>{1}</sup> , L. Leuzzi <sup>{2}</sup> , M. Riva <sup>{3}</sup> , L. Rizzo <sup>{3}</sup> , G. Cornacchini <sup>{3}</sup> , G. Lando <sup>{3}</sup> , G. Di Maggio <sup>{3}</sup> , A. Sulejmani <sup>{3}</sup> , E. Longhi <sup>{4}</sup> , F. Onida <sup>{2}</sup> , S. Rossini <sup>{3}</sup> , R. Crocchiolo <sup>{3}</sup>	1. Università degli Studi di Milano Statale, Milano 2. ASST Fatebenefratelli Sacco, Milano 3. ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano 4. IRCCS Policlinico di Milano, Milano	<b>27</b>
<b>AIB20798-70</b>	Effetti dell'HLA-G sulla colangite biliare primitiva: studio sulla popolazione sarda	<b>Sanna Celeste</b>	<C. Sanna> <sup>{1}</sup> , M. Miglianti <sup>{2}</sup> , S. Mocci <sup>{1}</sup> , R. Littera <sup>{3}</sup> , A. Mascia <sup>{4}</sup> , M. Serra <sup>{4}</sup> , M. Murgia <sup>{1}</sup> , C. Mereu <sup>{1}</sup> , M. Lorrari <sup>{1}</sup> , E. Zedda <sup>{1}</sup> , F. Cannas <sup>{1}</sup> , F. Marongiu <sup>{1}</sup> , E. Giuressi <sup>{3}</sup> , S. Lai <sup>{3}</sup> , S. Rassu <sup>{3}</sup> , T. Zolfino <sup>{5}</sup> , L. Chessa <sup>{6}</sup> , A. Perra <sup>{6}</sup> , S. Giglio <sup>{3}</sup>	1. Unità di Genetica Medica, Dipartimento di Scienze mediche e sanità pubblica, Università degli studi di Cagliari 2. Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli studi di Cagliari 3. Unità di Genetica Medica, Ospedale Binaghi, ASSL di Cagliari 4. Dipartimento di Scienze mediche e sanità pubblica, Università degli studi di Cagliari 5. Divisione di Gastroenterologia, ARNAS Brotzu, Cagliari 6. Sezione di Patologia, Oncologia e Patologia molecolare, Dipartimento di Scienze biomediche, Università degli studi di Cagliari	<b>28</b>

<b>Codice</b>	<b>Titolo</b>	<b>Primo autore</b>	<b>Autori con apici</b>	<b>Affiliazioni numerate</b>
<b>AIB20799-71</b>	Ruolo dell'HLA-G sull'outcome dell'HCC correlato a malattia steatosica del fegato	<b>Murgia Michela</b>	<M. Murgia> <sup>{1}</sup> , C. Sanna <sup>{1}</sup> , S. Mocchi <sup>{2}</sup> , C. Mereu <sup>{1}</sup> , M. Lorrai <sup>{1}</sup> , E. Zedda <sup>{1}</sup> , G. Tosone <sup>{1}</sup> , F. Cannas <sup>{2}</sup> , A. Mascia <sup>{3}</sup> , S. Lai <sup>{4}</sup> , E. Giuressi <sup>{4}</sup> , S. Rassu <sup>{4}</sup> , R. Littera <sup>{5}</sup> , F. Pes <sup>{6}</sup> , L. Chessa <sup>{6}</sup> , A. Perra <sup>{7}</sup> , S. Giglio <sup>{4}</sup>	1. Unità di Genetica Medica, Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università degli Studi di Cagliari, Italia 2. Unità di Genetica Medica, Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università degli Studi di Cagliari, Italia; Centro Servizi di Ateneo per la Ricerca, Università di Cagliari, Monserrato 3. Sezione di Patologia, Unità di Oncologia e Patologia Molecolare, Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Cagliari, Cagliari, Italia 4. Unità di Genetica Medica, Ospedale R. Binaghi, Unità Sanitaria Pubblica Locale e Assistenza Sociale (ASSL) di Cagliari, Italia 5. Unità di Genetica Medica, Ospedale R. Binaghi, Unità Sanitaria Pubblica Locale e Assistenza Sociale (ASSL) di Cagliari, Italia; AART-ODV, Italia 6. Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università degli Studi di Cagliari, Italia 7. Sezione di Patologia, Unità di Oncologia e Patologia Molecolare, Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Cagliari, Cagliari, Italia; AART-ODV, Italia
<b>AIB20802-56</b>	Introduzione e validazione della metodica NGS per la tipizzazione HLA: esperienza del laboratorio di immunogenetica di Bologna	<b>Manfroi Silvia</b>	<S. Manfroi> <sup>{1}</sup> , S. Capelli <sup>{1}</sup> , R. Masi <sup>{1}</sup> , S. Mattarozzi <sup>{1}</sup> , E. Matteucci <sup>{1}</sup> , A. Pallotti <sup>{1}</sup> , D. Pisapia <sup>{1}</sup> , L. Pravisano <sup>{1}</sup> , M. Comiotto <sup>{1}</sup> , A. D'Errico <sup>{2}</sup>	1. Programma Dipartimentale Immunogenetica e Biologia dei trapianti – DIAP IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico S.Orsola, Bologna 2. Dipartimento Interaziendale ad attività integrata di Anatomia Patologica - DIAP IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico S.Orsola, Bologna
<b>AIB20803-57</b>	Tipizzazione HLA mediante NGS: qualifica del sistema di automazione Biomek i7 per la preparazione delle libraries	<b>Melchiorre Tiziana</b>	T. Melchiorre <sup>{1}</sup> , L. Rocchi <sup>{1}</sup> , M. Zompa <sup>{1}</sup> , A. Giordano <sup>{1}</sup> , <R. Fiore> <sup>{1}</sup> , D. Bongioanni <sup>{1}</sup> , E. Navaretti <sup>{1}</sup> , M. Berrino <sup>{1}</sup> , E. Dametto <sup>{1}</sup> , E. Garino <sup>{1}</sup> , G. Mazzola <sup>{1}</sup> , R. Chidichimo <sup>{1}</sup> , S. Deaglio <sup>{1}</sup>	1. S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, Torino
<b>AIB20805-59</b>	Un caso di tipizzazione ambigua al locus HLA-B di un donatore IBMDR: quando NGS da solo non basta	<b>Agolini Stefano</b>	<S. Agolini> <sup>{1}</sup> , E. Carciere <sup>{1}</sup> , P. Ferrucci <sup>{1}</sup> , A. Iliescu <sup>{2}</sup> , A. Vagnini <sup>{2}</sup> , A. Zoli <sup>{1}</sup>	1. Laboratorio HLA e Registro Regionale dei Donatori di Midollo Osseo delle Marche (RRAN01) – Azienda Ospedaliero Universitaria delle Marche , Ancona 2. Settore Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, UOSD Diagnostica ad Alta Complessità -AST PU - Ospedale San Salvatore, Pesaro
<b>AIB20806-60</b>	Valutazione del chimerismo da cellule CD34+ come possibile indicatore precoce di recidiva in un caso di Leucemia Mieloide Acuta	<b>Billiani Camilla</b>	C. Billiani <sup>{1}</sup> , V. Buccino <sup>{1}</sup> , A. Mazzocchi <sup>{1}</sup> , A. Aiello <sup>{2}</sup> , M. Toma <sup>{2}</sup> , C. Carniti <sup>{3}</sup> , D. Ferrari <sup>{1}</sup> , L. Pusterla <sup>{1}</sup> , M. Zucchini <sup>{1}</sup> , F. Arienti <sup>{1}</sup> , M. Di Chio <sup>{3}</sup> , <F. Taverna> <sup>{1}</sup>	1. Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano 2. Struttura Complessa Anatomia Patologica 2 - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano 3. Divisione di Ematologia e Trapianto di Midollo - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano
<b>AIB20807-61</b>	Cinetica del DNA circolante derivante dal donatore (dd-cfDNA) nella fase precoce post trapianto di rene	<b>Mattei Mauro Leucio</b>	<M. Mattei> <sup>{1}</sup> , S. Palchetti <sup>{1}</sup> , A. Brogi <sup>{1}</sup> , S. Rossinelli <sup>{1}</sup> , M. Betti <sup>{1}</sup> , S. Iozzi <sup>{1}</sup> , M. Bartiromo <sup>{2}</sup> , F. Cutinelli <sup>{1}</sup> , L. Cirami <sup>{2}</sup> , S. Serni <sup>{3}</sup> , E. Pelo <sup>{1}</sup>	1. SODc Diagnostica Genetica AOU Careggi, Firenze 2. SOD Nefrologia Dialisi e Trapianto AOU Careggi, Firenze, Italy 3. SOD Chirurgia urologica robotica, mininvasiva e dei trapianti renali AOU Careggi, Firenze

**29-30**

**31**

**32-33**

**34**

**35-36**

**37**

<b>Codice</b>	<b>Titolo</b>	<b>Primo autore</b>	<b>Autori con apici</b>	<b>Affiliazioni numerate</b>
<b>AIB20808-62</b>	Trapianto renale da vivente da donatore identico: rivalutazione a distanza di 46 anni	<b>Pecoraro Alice</b>	<A. Pecoraro>^1, R. Bavetta^1, A. Corica^1, F. Di Paola^1, M. Blando^1, G. Davi^1, I. Aiello^1, F. Ingrassia^1, S. Mistretta^1, F. Bruno^1, T. Traina^1, R. Fedele^1, V. Cappuzzo^1	1.UOS HLA 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
<b>AIB20809-63</b>	Frequenza del locus HLA-DRB4 nei pazienti con tumore desmoide	<b>Zucchini Monica</b>	M. Zucchini^1, L. Bergamaschi^2, F. Rini^2, L. Pusterla^1, C. Billiani^1, V. Buccino^1, D. Ferrari^1, S. Redaelli^3, <F. Taverna>^1, L. Rivoltini^2, F. Arienti^1, A. Mazzocchi^1, C. Colombo^4, V. Vallacchi^2	1.Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano 2.Struttura Semplice Dipartimentale Immunologia Traslazionale - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano 3.Struttura Semplice Dipartimentale Stabulario - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano 4.Struttura Complessa Chirurgia Generale, Sarcomi - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano
<b>AIB20810-55</b>	Indice di "Discrepant typing" (KPI5) del registro IBMDR	<b>Sacchi Nicoletta</b>	<N. Sacchi>^1, C. Costa^1	1.IBMDR, E.O. Ospedali Galliera, Genova
<b>AIB20811-56</b>	Caratteristiche HLA dei potenziali donatori di midollo osseo: esperienza del laboratorio HLA di Genova	<b>GARBARINO LUCIA</b>	<L. Garbarino>^1, M. Mazzocco^1, B. Murgia^1, A. Carputo^1, C. Illengo^1, A. Gallina^1, N. Ceschini^2, G. Matarese^3, E. Longhi^4, N. Sacchi^1	1.Laboratorio di Istocompatibilità, E.O. Ospedali Galliera, Genova 2.LABORATORIO HLA SIT, OSPEDALE SANTA CHIARA, TRENTO 3.IMMUNOGENETICA TRAPIANTI, AOU FEDERICO II, NAPOLI 4.Lab Immunologia dei Trapianti, Ospedale Maggiore Policlinico, MILANO
<b>AIB20812-57</b>	Strategia di desensibilizzazione applicata ad un caso di alloimmunizzazione anti-HLA ad elevato MFI DESENSIBILIZZAZIONE APPLICATA AD UN CASO DI ALLOIMMUNIZZAZIONE ANTI-HLA AD ELEVATO MFI	<b>La Rocca Ursula</b>	<U. La Rocca>^1, P. Gesuiti^2, A. Faccini^3, W. Barberi^3, M. Shafii Bafti^2, L. Laurenti^2, R. Ricci^3, C. Cavallari^2, A. Tudisco^2, M. Salvatori^3, F. Kaiser^3, A. Iori^3, M. Perrone^2	1.Ematologia, Dipartimento di Medicina Traslazionale e di Precisione, Università Sapienza, Roma; Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia; 2.Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Università Sapienza, Roma 3.Ematologia, Dipartimento di Medicina Traslazionale e di Precisione, Università Sapienza, Roma
<b>AIB20813-58</b>	Determinazione di "HLA-loss" in due pazienti sottoposti a trapianto di cellule staminali emopoietiche da donatore HLA aploidentico.	<b>Galluccio Tiziana</b>	<T. Galluccio>^1, A. Novelli^2, E. Santinelli^3, V. Alesi^2, M. Battarra^1, G. Testa^1, A. Guagnano^1, M. Andreani^1	1.Laboratory of Immunogenetics and Transplant, Department of Oncohematology and cell and Gene Therapy, IRCCS Bambin Gesù Pediatric Hospital, Rome, Italy 2.Translational Cytogenomics Research Unit, Laboratory of Medical Genetics, Bambino Gesù Children's Hospital, IRCCS, Rome, Italy. 3.Fondazione Policlinico Universitario Campus Bio-Medico, Via Alvaro del Portillo, 200, 00128 Roma, Italy
<b>AIB20814-59</b>	HLA-DQ9 e celiachia: un antigene fuori dal coro?	<b>Abruscio Ivana</b>	I. Abruscio^1, N. Gabriele^1, G. Latella^2, A. Viscido^2, R. Azzarone^1, M. Scimitarra^1, O. Valdez^1, C. Cervelli^1, M. Tupone^1, C. Battistoni^1, A. Costanzi^1, D. Pulcinelli^1, S. Scacchi^1, S. Scipione^1, B. Spaziani^1, V. Torrelli^1, <F. Papola>^1	1.Centro Regionale di Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale, ASL1 Abruzzo 2.UOSD Gastroenterologia, epatologia e nutrizione, ASL1 Abruzzo - Università degli Studi dell'Aquila

**38**

**39**

**40-41**

**42-43**

**44**

**45**

**46**

Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate
AIB20815-60	L'utilità clinica degli STR oltre il chimerismo	Cervelli Carla	<C. Cervelli>{1}, N. Gabriele{1}, V. Torrelli{1}, I. Abruscio{1}, O. Valdez{1}, R. Azzarone{1}, M. Scimitarra{1}, M. Tupone{1}, C. Battistoni{1}, S. Scacchi{1}, D. Pulcinelli{1}, S. Scipione{1}, B. Spaziani{1}, G. Calvisi{2}, F. Papola{1}	1. Centro Regionale di Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale, ASL1 Abruzzo 2.UOC Anatomia Patologica, ASL1 Abruzzo
AIB20816-61	HLA-B51 e patologie autoimmuni: oltre il Behcet?	Scimitarra Maria	<M. Scimitarra>{1}, A. Costanzi{1}, M. Gentile{2}, A. Shariat Panahi{2}, L. Vallocchia{2}, N. Gabriele{1}, M. Tupone{1}, O. Valdez{1}, C. Cervelli{1}, R. Azzarone{1}, S. Scipione{1}, S. Scacchi{1}, V. Torrelli{1}, C. Battistoni{1}, B. Spaziani{1}, D. Pulcinelli{1}, P. Cipriani{2}, F. Papola{1}	1. Centro Regionale di Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale, ASL1 Abruzzo 2. Reumatologia, dipartimento DISCAB, Università degli Studi dell'Aquila
AIB20817-62	Correlazione tra Eplet Mismatch e andamento clinico nel trapianto di rene da donatore vivente: report di una casistica pediatrica monocentrica	Bianculli Antonio Giuseppe	<A. Bianculli>{1}, P. Giustiniani{1}, M. Troiano{1}, A. Di Luzio{1}, F. Besi{1}, R. Labbadia{2}, L. Antonucci{2}, A. Cappoli{2}, I. Guzzo{2}, M. Andreani{1}	1. Laboratorio di Immunogenetica dei Trapianti, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia 2. Nefrologia, Dialisi e Clinica del Trapianto di Rene, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia
AIB20818-63	Presenza di aplotipo HLA identico in due casi di trasmissione verticale di SARS-CoV-2	Zanchi Francesca	<F. Zanchi>{1}, F. Gualandris{1}, S. Bacis{1}, F. Cressoni{1}, F. Gusmini{1}, L. Castellani{1}, L. Patanè{2}, D. Morotti{3}, G. Ghirardi{3}, N. Bianchi{3}, A. Gianatti{3}, L. Barcella{1}	1. S.C. Immunoematologia e Medicina Trasfusionale - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo 2. S.C. Ostetricia e Ginecologia - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo 3. S.C. Anatomia Patologica - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo
AIB20819-64	Il ruolo dell'HLA nel trattamento delle malattie linfoproliferative EBV correlate post trapianto di organo solido con terapia cellulare Tabelecleucel	Zanchi Francesca	<F. Zanchi>{1}, F. Gusmini{1}, S. Bacis{1}, F. Cressoni{1}, F. Gualandris{1}, L. Castellani{1}, A. Barbui{2}, M. Paganessi{2}, A. Rambaldi{2}, D. Morotti{3}, G. Ghirardi{3}, N. Bianchi{3}, A. Gianatti{3}, R. Sebastiani{4}, A. Terzi{4}, L. Barcella{1}	1. S.C. Immunoematologia e Medicina Trasfusionale - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo 2. S.C. Ematologia - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo 3. S.C. Anatomia Patologica - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo 4. S.S.D. Chirurgia dei Trapianti - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo
AIB20820-56	Analisi di espressione delle molecole HLA nel laboratorio di istocompatibilità: passato, presente o futuro?	Cantisani Rocco	<R. Cantisani>{1}, F. Toraldo{1}, V. Del Re{1}, E. Mariani{1}, G. Marotta{1}, A. Spreafico{1}	1. Dipartimento di Terapie Cellulari, Ematologia e Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena
AIB20821-57	Chimerismo: studio lineage-specifico in un paziente pediatrico con chimerismo misto stabile post trapianto HSCT	Cianflone Alessandra	<A. Cianflone>{1}, G. Maisto{2}, R. Colucci{3}, L. Auriemma{3}, M. Esposito{3}, D. Madalese{3}, F. Tambaro{4}, R. Penta de Vera d'Aragona{5}	1. UOC Ricerca Clinica e Traslazionale-UOS Laboratori di Ricerca e Biobanca, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli 2. UOSD Medicina Trasfusionale, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli 3. UOSD BaSCO, Manipolazione cellulare e Immunogenetica - A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli 4. UOC Trapianto di cellule emopoietiche e Terapia cellulari - A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli 5. napoli
AIB20822-58	Modello di approccio immunologico al trapianto combinato o simultaneo fegato-rene nel paziente fortemente immunizzato: 2 casi clinici	Giuliodori Silvia	<S. Giuliodori>{1}, M. Benecchi{1}, S. Manfroi{2}, R. Merli{1}, I. Pezzani{1}, S. Bardini{1}, G. Comai{3}, G. La Manna{3}, G. Rombolà{1}	1. SDD Immunogenetica dei Trapianti, Azienda Ospedaliero-Universitaria (AOU) di Parma 2. Immunogenetica e Biologia dei trapianti, Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna 3. Nefrologia, Dialisi e Trapianto, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna

47

48

49

50

51

52

53

54

Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate
AIB20823-59	Strategie di delisting in riceventi di trapianto di rene iperimmuni con o senza desensibilizzazione con Imlifidase: esperienza in Emilia Romagna	Giuliodori Silvia	<S. Giuliodori>{1}, M. Benecchi{1}, A. Palmisano{2}, C. Foroni{1}, S. Capriglia{1}, R. Troiano{1}, U. Maggiore{2}, G. Rombolà{1}	1.SDD Immunogenetica dei Trapianti, Azienda Ospedaliero-Universitaria (AOU) di Parma 2.U.O. di Nefrologia e Trapianto, Azienda Ospedaliero-Universitaria (AOU) di Parma
AIB20824-60	Frequenze degli alleli HLA-DQB1 nella popolazione dei pazienti con sospetta malattia celiaca: possibile ruolo dell'aplotipo DQ7.5	Fornaciari Silvia	<S. Fornaciari>{1}, C. Biagini{1}, R. Lamanna{1}, V. De Gregorio{1}, F. Galati{1}, D. Gonnella{1}, D. Mandarino{1}, M. Curcio{1}	1.Sezione Dipartimentale di Immunogenetica-Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Pisa, Italy
AIB20825-61	Studio di associazione HLA/Malattia per la tiroidite di Hashimoto e differenze di genere osservate per la frequenze alleliche e aplotipiche HLA predisponenti e protettive in una popolazione dell'Italia centrale.	Spreafico Adriano	<A. Spreafico>{1}, R. Cantisani{1}, M. Sabatini{1}, M. Sette{1}, T. Pilli{2}, A. Salvemini{2}, S. Pozzessere{1}, G. Marotta{1}, M. Castagna{2}	1.UOC Terapie Cellulari e Officina Trasfusionale, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese 2.UOC Endocrinologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese
AIB20826-62	Capacità del "crossmatch" Citofluorimetrico di rilevare la presenza di anticorpi donatore specifici, anti HLA-DQA1, rivolti verso un singolo "Verified Epitope"	De Gregorio Veronica	<V. De Gregorio>{1}, S. Fornaciari{1}, R. Lamanna{1}, C. Biagini{1}, S. Di Beo{1}, L. Felet{1}, F. Salvadori{1}, M. Curcio{1}	1.Sezione Dipartimentale di Immunogenetica-Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Pisa, Italy
AIB20827-63	Trombocitopenia neonatale alloimmune dovuta ad incompatibilità HPA ed HLA: gestione di un caso clinico	Londero Donatella	<D. Londero>{1}, C. Sindici{1}, S. Merluzzi{1}, E. Cecchini{1}, C. Cervellin{1}, I. Sandron{1}, E. Testa{1}, S. Borgobello{1}, S. Blasoni{1}, S. Carlassara{1}, G. De Cecco{1}, B. Luca{1}, E. Pesamosca{1}, G. Barillari{1}	1.Lab. Immunoematologia e Immunogenetica, Dip. Medicina Trasfusionale-ASUFC, Udine
AIB20828-64	Confronto tra diversi metodi per lo studio degli anticorpi anti HLA presso AOU - Careggi	Mattei Mauro Leucio	<M. Mattei>{1}, M. Betti{1}, S. Palchetti{1}, S. Iozzi{1}, A. Brogi{1}, B. Boschi{1}, C. Ferrari{1}, G. Marseglia{1}, T. Morgani{1}, E. Baldini{1}, E. Pelo{1}	1.SODc Diagnostica Genetica AOU Careggi, Firenze, Italia
AIB20829-65	L'immunogenetica nel trapianto di CSE: l'approccio di uno studio retrospettivo multiparametrico	Torrelli Vittoriano	V. Torrelli{1}, G. Celenza{2}, M. Falco{3}, S. Santarone{4}, D. Vaddinelli{4}, A. Natale{4}, I. Abruscio{1}, M. Tupone{1}, O. Valdez{1}, R. Azzarone{1}, C. Cervelli{1}, M. Scimitarra{1}, C. Battistoni{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 Abruzzo 2.Dipartimento scienze Cliniche Applicate e Biotecnologiche - Università degli Studi dell'Aquila 3.Laboratorio di Immunologia Clinica e Sperimentale IRCCS Istituto G.Gaslini - Genova 4.Terapia Intensiva Ematologica-Ospedale Civile Pescara
AIB20830-57	L'eterodimero HLA-DQ8 aumenta il rischio di recidiva dopo trapianto allogenico di cellule staminali e probabilmente influenza l'effetto Graft-versus-Leukemia: uno studio monocentrico su 400 pazienti.	Prezioso Carmen Tania	<C. Prezioso>{1}, G. Losi{2}, A. Pasi{1}, V. Da Prat{3}, A. Bianchessi{4}, C. Zerbi{4}, I. Defrancesco{4}, I. Sbarsi{1}, R. Cacciatore{1}, P. Bergamaschi{1}, F. Romano{5}, A. Taurino{4}, V. Zoboli{4}, L. Arcaini{2}, C. Perotti{1}, R. Caccialanza{3}, N. Polverelli{4}	1.Servizio di Immunoematologia e Trasfusione, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia 2.Dipartimento di Biologia Molecolare, Università degli Studi di Pavia; Divisione di Ematologia, Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo, Pavia 3.Clinica di Nutrizione e Dietetica, Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo, Pavia 4.Divisione di Ematologia, Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo, Pavia 5.Dipartimento di Biologia Molecolare, Università degli Studi di Pavia; Divisione di Ematologia, Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo, Pavia
AIB20831-58	Marker genetici e sierologici nella Celiachia Pediatrica: impatto delle varianti HLA-G, HLA-DQ2 e dei livelli di anti-TTG	Prezioso Carmen Tania	<C. Prezioso>{1}, A. Pasi{1}, D. Veraldi{2}, L. Raso{2}, I. Sbarsi{1}, C. Bottazzi{1}, P. Bergamaschi{1}, S. Caimmi{2}, G. Marseglia{3}	1.Servizio di Immunoematologia e Trasfusione, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia 2.Dipartimento di Pediatria, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia 3.Università degli Studi di Pavia, Pavia; Dipartimento di Pediatria, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

55

56-57

58

59

60

61

62

63

64

Codice	Titolo	Primo autore	Autori con apici	Affiliazioni numerate
AIB20832-59	DNA libero circolante derivato dal donatore: utilità clinica nella strategia di sorveglianza per il trapianto di cuore	Feccia Mariano Antonio	M. Feccia <sup>{1}</sup> , V. Dinallo <sup>{2}</sup> , <S. Bruno> <sup>{2}</sup> , S. Sinopoli <sup>{2}</sup> , G. Distefano <sup>{3}</sup> , G. Cacioli <sup>{3}</sup> , R. Adorisio <sup>{4}</sup> , A. Amodeo <sup>{5}</sup> , A. Manfreda <sup>{2}</sup> , S. Caporali <sup>{2}</sup> , I. Gabrielli <sup>{2}</sup> , E. Poggi <sup>{6}</sup>	1.UOC Cardiocirurgia e Trapianto Cuore-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini - Centro Regionale Trapianti Lazio-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini 2.Centro Regionale Trapianti Lazio-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini 3.UOC Cardiocirurgia e Trapianto Cuore-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini 4.UOC Cardiocirurgia Trapianto cardiaco pediatrico-Ospedale Pediatrico Bambino Gesù 5.UOC Cardiocirurgia Trapianto cardiaco pediatrico-Ospedale Pediatrico Bambino Gesù - Università Cattolica del Sacro Cuore Roma 6.CNR-Istituto di Farmacologia Traslazionale Roma San Camillo - Centro Regionale Trapianti Lazio-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini
AIB20833-60	Rilevanza clinica degli anticorpi HLA donatore-specifici preformati e a basso titolo nel trapianto di rene	Poggi Elvira	<E. Poggi> <sup>{1}</sup> , A. Manfreda <sup>{2}</sup> , S. Caporali <sup>{2}</sup> , S. Sinopoli <sup>{2}</sup> , V. Dinallo <sup>{2}</sup> , S. Bruno <sup>{2}</sup> , I. Gabrielli <sup>{2}</sup> , M. Feccia <sup>{3}</sup>	1.CNR-Istituto di Farmacologia Traslazionale Roma San Camillo - Centro Regionale Trapianti Lazio-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini 2.Centro Regionale Trapianti Lazio-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini 3.UOC Cardiocirurgia e Trapianto Cuore-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini -Centro Regionale Trapianti Lazio-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini

66

67

Abstract Code: AIB20707-60

## “HLA evolutionary divergence” e risposta umorale al vaccino anti-Covid BNT162b2: risultati da uno studio osservazionale prospettico su 240 operatori sanitari

T. Sole<sup>1</sup>, V. Chiavetta<sup>1</sup>, G. Di Maggio<sup>2</sup>, G. Cornacchini<sup>2</sup>, G. Lando<sup>2</sup>, A. Sulejmani<sup>2</sup>, M. Lavitrano<sup>1</sup>, S. Rossini<sup>2</sup>, R. Crocchiolo<sup>2</sup>

(1) Università degli Studi Milano-Bicocca, Milano, (2) ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

Sebbene molti studi siano stati pubblicati ad oggi sulla correlazione tra polimorfismo HLA ed infezione da SARS-CoV-2, pochi invece si sono concentrati sul ruolo che l'HLA potrebbe avere nella risposta anticorpale post-vaccino nei soggetti sani. Alcuni gruppi hanno riportato un'associazione tra l'allele HLA-A\*03:01 ed un valore elevato di anticorpi anti-Spike mentre non è stato ancora investigato il ruolo dell'HLA evolutionary divergence (HED) nei soggetti sani; un lavoro recente descrive l'associazione tra HED al locus DPB1 del donatore e risposta anticorpale nei pazienti riceventi il trapianto di CSE (Villemonteix et al., iScience 2023), suggerendo l'importanza della diversità molecolare sull'attività dei linfociti CD4+ a sostegno della risposta anticorpale post-vaccinale. L'ipotesi, infatti, è quella che una maggiore diversità molecolare, definita da un HED più elevato, possa migliorare la risposta al vaccino, sebbene gli eventuali meccanismi non siano ancora completamente delucidati.

Nel presente studio ci siamo avvalsi della tipizzazione HLA di due coorti di operatori sanitari, ben descritte in termini di risposta umorale post-vaccino a mRNA BNT162b2, per definire l'HED di classe I in ciascun individuo e confrontare i valori tra le coorti. La prima coorte, costituita da n=111 individui con valore anticorpale <5° percentile a 2 settimane dal vaccino, viene definita dei “weak responders” mentre la seconda, rappresentata da n=129 individui con valore > 95° percentile a 6 mesi post-vaccino, dei “strong responders”. Tutti i soggetti sono adulti ed impiegati nello stesso ospedale, trattasi quindi di uno studio monocentrico.

L'HED mediano (range) per i loci A, B e C è risultato essere di 1.08 (0 - 9.74), 6.09 (0 - 9.64) e 4.47 (0 - 7.60) e di 3.26 (0 - 9.91), 6.09 (0 - 9.92) e 4.12 (0 - 7.60) nei weak e strong responders, rispettivamente. Andando ad analizzare la media degli HED di classe I, i risultati indicano un valore di 6.47 e 4.32 nei weak e strong responders, rispettivamente (p-value = 0.27). È interessante notare che il confronto statistico tra i singoli HED di classe I nei due gruppi mostra un trend (p-value = 0.13) verso un HED al locus A più elevato negli strong responders, suggerendo che la divergenza evolutiva e quindi la diversità molecolare al locus A potrebbe avere un ruolo nella presentazione antigenica della proteina Spike andando nel senso dell'ipotesi suddetta e cioè che una maggiore diversità molecolare si associ ad una forte produzione anticorpale post-vaccinale. Gli HED mediani ai loci B e C non hanno invece differenze significative nei due gruppi (p-value >0.20).

Ulteriori analisi serviranno a supporto di questo riscontro, tuttavia l'HED potrebbe avere importanti implicazioni sulla stratificazione degli individui in base alla risposta post-vaccinale ed indirettamente all'efficacia del vaccino stesso.

Abstract Code: AIB20708-61

## L'uso dell'intelligenza artificiale nella valutazione della compatibilità HLA ai fini della selezione del miglior donatore di cellule staminali: creazione di un modello prototipo e sviluppi futuri

R. Crocchiolo<sup>1</sup>, S. Cacace<sup>2</sup>, G. Milone<sup>3</sup>, B. Sarina<sup>4</sup>, A. Cupri<sup>3</sup>, S. Leotta<sup>3</sup>, G. Giuffrida<sup>3</sup>, A. Spadaro<sup>3</sup>, J. Mariotti<sup>4</sup>, S. Bramanti<sup>4</sup>, A. Fumagalli<sup>4</sup>, M.P. Azzaro<sup>3</sup>, S. Toscano<sup>3</sup>, Q. Semeraro<sup>2</sup>

(1) ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano, (2) Politecnico di Milano, Milano, (3) Azienda Ospedaliera Vittorio Emanuele, Catania, (4) Istituto Clinico Humanitas, Rozzano

La selezione del miglior donatore di cellule staminali ematopoietiche (CSE) è di cruciale importanza per il successo del trapianto stesso e la compatibilità HLA tra donatore e paziente rappresenta il principale criterio di scelta, seguito da altre caratteristiche note tra le quali spicca l'età del donatore. Poiché possono co-esistere multiple opzioni di donatori possibili per lo stesso paziente, sarebbe auspicabile un supporto, il più possibile riproducibile ed affidabile, che indichi al clinico trapiantologo il miglior donatore tra le diverse opzioni disponibili. I grandi progressi dell'Intelligenza Artificiale (IA) nel campo della Medicina portano pertanto ad esplorare tale strada anche in questo ambito.

Abbiamo sviluppato un simulatore di probabilità di sopravvivenza del paziente a 2 anni (2y-OS) a seconda del tipo di donatore, con l'obiettivo di fornire una previsione di prognosi del paziente per ognuno dei donatori disponibili al momento della selezione, quindi prima del trapianto stesso. Su un dataset di n=737 trapianti, eseguiti tra gennaio 2010 e luglio 2022, sono state applicate statistiche "classiche" di regressione e di IA. Fatto salvo il trapianto di cordone che è stato escluso, tutti gli altri donatori sono stati inizialmente considerati e cioè: familiari HLA-identici, MUD 10/10 e 9/10, aploidentici.

L'età del paziente, la patologia, le comorbidità ed il tipo di donatore sono risultate significative ed indipendentemente predittive di 2y-OS, con un buon indice di concordanza (0.677); i metodi di IA (machine learning) hanno dato performances simili. Qui di seguito viene fornito un esempio di un paziente senza comorbidità e con quattro opzioni di donatori possibili, includendo anche le variabili non-HLA:

Età pz	Patologia	Donatore	Età donatore	2y-OS	L 95%CI	U 95% CI
45	LA in CR1*	Familiare HLA-identico	45	0.856	0.813	0.891
45	LA in CR1*	MUD 10/10	30	0.834	0.781	0.876
45	LA in CR1*	Aploidentico	20	0.821	0.764	0.866
45	LA in CR1*	Aploidentico	45	0.836	0.788	0.875

\*LA in CR1 = leucemia acuta in prima remissione completa.

In questo specifico caso, il donatore familiare HLA-identico di 45 anni sembra la migliore opzione per il paziente, sebbene i risultati associati agli altri donatori non siano significativamente inferiori; la scelta finale spetta comunque al clinico trapiantologo.

In conclusione, il presente modello "prototipo" si rivela promettente per la valutazione della compatibilità HLA ai fini della selezione del miglior donatore di CSE. Uno studio nazionale è attualmente in corso per implementare il simulatore aumentando la capienza del dataset.

Abstract Code: AIB20747-64

## Impatto del genotipo KIR sull'esito clinico dei trapianti di cellule staminali emopoietiche: esperienza di un unico centro

F. Ingrassia<sup>1</sup>, A. Pecoraro<sup>1</sup>, M. Blando<sup>1</sup>, A.A. Corica<sup>1</sup>, F. Di Paola<sup>1</sup>, G. Davì<sup>1</sup>, R. Bavetta<sup>1</sup>, I. Aiello<sup>1</sup>, F. Bruno<sup>1</sup>, S. Mistretta<sup>1</sup>, T. Traina<sup>1</sup>, S. Tringali<sup>2</sup>, R. Fedele<sup>1</sup>, L. Castagna<sup>2</sup>, V. Cappuzzo<sup>1</sup>

(1) UOS HLA 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, (2) Unità Trapianti Midollo Osseo, A.O.O.R. Villa Sofia-Cervello – Palermo

**Introduzione.** Il trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche (CSE) rappresenta una terapia salvavita per pazienti affetti da neoplasie ematologiche. Numerosi studi hanno evidenziato che i genotipi KIR B/x con B content  $\geq 2$  e una popolazione NK alloreattiva nel donatore sono associati ad un migliore esito clinico dei trapianti, soprattutto nei pazienti affetti da leucemia mieloide acuta (LAM).

**Pazienti e Metodi.** Questo studio ha incluso 88 pazienti che hanno ricevuto trapianti di CSE da donatori aploidentici (n = 35) e MUD (n = 53) tra il 2019 e il 2023. I geni KIR dei donatori sono stati tipizzati con il metodo PCR-SSO Luminex utilizzando il kit "KIR-SSO Genotyping test" (One Lambda Inc., Canoga Park, CA). La classificazione dei donatori in Neutral (B content  $< 2$ ), Better (B content  $\geq 2$ , *Cen-A/x*, *Tel-B/x*), e Best (*Cen-B/B*, *Tel-x/x*) è stata effettuata utilizzando il "Donor KIR B-content group calculator" ([https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/donor\\_b\\_content.html](https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/donor_b_content.html)). L'alloreattività NK in direzione GvH è stata valutata con il "KIR ligand calculator" (<https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/ligand.html>), considerando anche l'epitopo C1 degli alleli HLA-B46:01 e -B73:01, l'epitopo Bw4 dei gruppi allelici HLA-A23, -A24 o -A32, e gli alleli HLA-B13:01 e -B\*13:02 non ligandi di KIR3DL1. L'obiettivo è valutare l'impatto del Donor KIR B status e dell'alloreattività NK sull'esito clinico del trapianto.

**Risultati.** Tra i donatori aploidentici, 20 (57%) erano Best-Better e 15 (43%) Neutral. Nei MUD, 23 (43%) erano Best-Better e 30 (57%) Neutral. I dati sembrerebbero evidenziare che i pazienti LAM trapiantati da donatori con "Donor KIR B status" Best/Better hanno una sopravvivenza globale migliore a 3 anni, sia per i trapianti aploidentici che per quelli MUD (OS 67% vs. 51% p=0,15). Le caratteristiche dei pazienti LAM sono riportate nella Tabella 1. Non è stata riscontrata alcuna correlazione tra il mismatch dei ligandi KIR nella direzione GvH e l'esito clinico del trapianto aploidentico. Inoltre, non vi era differenza nell'incidenza di GvHD acuta tra i riceventi di donatori Best-Better o Neutral.

**Conclusioni.** Nonostante la piccola coorte, i dati mostrati potrebbero suggerire che la presenza di genotipi KIR B/x con B content  $\geq 2$  nei donatori può migliorare l'esito clinico dei trapianti. Questi risultati indicherebbero che la tipizzazione dei geni KIR potrebbe essere utile nella selezione del miglior donatore quando, a parità di condizioni, sono disponibili più opzioni.

**Tabella 1. Caratteristiche dei pazienti LAM trapiantati.**

Aplo + MUD	Aplo	MUD
------------	------	-----

<b>Età mediana dei pazienti</b>		56,5	55,1	55,9
<b>Età mediana dei donatori</b>		29,9	36,9	27,9
<b>Sesso D/R</b>				
	F/F	10	7	3
	F/M	5	1	4
	M/F	14	7	7
	M/M	20	9	11
<b>Sorgente</b>				
	BM	9	6	3
	PBSC	40	18	22
<b>CMV D/R</b>				
	NEG/NEG	2	1	1
	NEG/POS	14	7	7
	POS/NEG	4	3	1
	POS/POS	29	13	16
<b>Protocollo</b>				
	TBF AUC16	2	2	0
	TBF AUC20	1	1	0
	TBF MAC	13	13	0
	TBF RIC	9	8	1
	BUCy2	7	0	7
	BUFLU	13	0	13
	BUFLU AUC16	4	0	4
<b>Profilassi GvHD</b>				
	PTCY40-CSA-MMF	2	2	0
	PTCY50-CSA-MMF	4	4	0
	PTCY-CSA-MMF	18	18	0
	CSA-MTX-ATG	25	0	25
<b>DSA anti-HLA</b>				
	POSITIVE	2	1	1
	NEGATIVE	47	23	24
<b>Donor KIR B status</b>				
	Neutral	25	13	12
	Better	19	9	10
	Best	5	2	3

Abstract Code: AIB20778-68

## Alleli “uncommon” identificati con metodica NGS

L. Perotti <sup>1</sup>, L.A. Longa <sup>1</sup>, M. Prucca <sup>1</sup>, R. Bruggiafreddo <sup>1</sup>, B. Bruno <sup>1</sup>, L. Calcagno <sup>1</sup>, E. Bertola <sup>1</sup>, M. Troiano <sup>2</sup>, I. Avonto <sup>1</sup>, L. Maddalena <sup>1</sup>, R. Balbo <sup>1</sup>, F. Piovano <sup>1</sup>, M. Ginestri <sup>1</sup>, P.M. Manzini <sup>1</sup>

(1) SCI Immunoematologia e Medicina Trasfusionale - AO S. Croce e Carle, Cuneo, (2) U.O.C. Oncoematologia, Trapianto Emopoietico e Terapie Cellulari - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

**Premessa:** La metodica NGS è stata introdotta presso il nostro laboratorio a maggio 2023 e, dopo la validazione, è stata utilizzata in routine per la tipizzazione HLA dei donatori di midollo osseo, dei pazienti ematologici e dei loro familiari. La metodica NGS ci ha permesso di identificare alleli poco frequenti o “uncommon” mai osservati nel nostro laboratorio e alcuni alleli nuovi.

**Materiali e metodi:** Nel primo semestre del 2024 sono state eseguite 682 tipizzazioni HLA con metodica NGS utilizzando i kit NGSgo-MX6-1 o NGSgo-MX11-3 (GenDx) su piattaforma Illumina MiSeqDx e sono stati identificati 23 alleli rari. I 23 alleli rari sono stati allineati alle sequenze dell'allele comune (1 mismatch) e riconfermati con metodiche disponibili in laboratorio: sequenziamento Sanger (GenDx o TBG) o Luminex SSO (OneLambda). Abbiamo inoltre utilizzato i seguenti tools: IMGT HLA (<https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/about/tools/>) e Allele Frequency (<http://www.allelefrequencys.net/hla.asp>) per confermare se gli alleli osservati per la prima volta nel nostro laboratorio fossero effettivamente rari o “uncommon”.

**Risultati:** Abbiamo analizzato 682 campioni con software NGSengine ed identificato 23 alleli poco frequenti di cui 2 al locus HLA-A (A\*24:28, A\*68:35), 8 al locus HLA-B (B\*13:34, B\*15:11, B\*15:18, B\*39:24, B\*40:114, B\*44:13, B\*44:527, B\*51:65), 5 al locus HLA-C (C\*03:171, C\*04:09N, C\*07:885, C\*12:23, C\*12:143), 3 al locus HLA-DRB1 (DRB1\*04:31, DRB1\*11:277, DRB1\*13:06), 2 al locus HLA-DQB1 (DQB1\*02:146, DQB1\*05:97) e 3 al locus HLA-DPB1 (DPB1\*30:01, DPB1\*63:01 in 2 casi, DPB1\*115:01). Dei 23 alleli osservati, 8 sono stati riconfermati in SSO e 15 in SBT. Dall'analisi dei 23 alleli identificati, tutti risultavano presenti nel IPD-IMGT/HLA Database. Per quanto riguarda l'Allele Frequency Net Database, 17 alleli erano già stati descritti da altri laboratori, 5 alleli rari sono stati sottomessi (B\*13:34, B\*40:114, C\*03:171, C\*12:23, C\*12:143) e altri 6 sono in attesa di essere inseriti. È stata inoltre calcolata nella nostra casistica composta da 682 campioni (1364 alleli) la frequenza allelica (f) dell'allele HLA-DPB1\*63:01 (riscontrato in 2 casi) che è risultata essere  $f=0.0015$ , mentre la frequenza di ciascuno degli altri alleli (22) è risultata  $f=0.0007$ . La coorte analizzata ha una etnia caucasica ad eccezione di: uno solo orientale (B\*15:11) ed uno di origine mista (B\*44:527).

**Conclusioni:** L'introduzione della metodica NGS ci ha permesso di processare in breve tempo un numero elevato di campioni e di identificare alleli poco frequenti nella nostra popolazione; tuttavia, al momento dell'interrogazione dei database, abbiamo constatato come in realtà alcuni alleli fossero tutt'altro che rari in altre popolazioni (es: B\*15:18 riportato 291 volte in 171 popolazioni). Riteniamo che inserire questi dati possa comunque contribuire ad arricchire il database sulla distribuzione degli alleli rari nelle diverse popolazioni.

Abstract Code: AIB20781-62

## Terapia con monoclonale anti-CD38 e riduzione dei livelli di anticorpi anti-HLA: una nuova ed efficace arma da integrare nei protocolli di desensibilizzazione ?

V. Chiavetta<sup>1</sup>, M. Soldarini<sup>1</sup>, A.M. Cafro<sup>1</sup>, P. Bertazzoni<sup>1</sup>, G. Lando<sup>1</sup>, G. Di Maggio<sup>1</sup>, G. Cornacchini<sup>1</sup>, M. Pioltelli<sup>1</sup>, R. Cairoli<sup>1</sup>, S. Rossini<sup>1</sup>, R. Crocchiolo<sup>1</sup>

(1) ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

I protocolli di desensibilizzazione impiegati nei pazienti con rigetto d'organo anticorpo-mediato o nei riceventi di trapianto di CSE da donatore "HLA-mismatched" con DSA, presentano talvolta dei limiti nell'efficacia della riduzione degli anticorpi anti-HLA e nella durata della stessa, specialmente nei casi di anticorpi multipli e con elevato MFI. Per tale motivo è attiva la ricerca di nuovi farmaci efficaci, da aggiungere all'armamentario rappresentato attualmente da plasma-exchange o immunoassorbimento, Ig ev, anti-CD20, bortezomib ed altri immunosoppressori.

Il Daratumumab, un anticorpo monoclonale anti-CD38 impiegato nel trattamento del mieloma multiplo (MM) è promettente in questo senso perché ha come target la plasmacellula, tipo cellulare deputato alla sintesi anticorpale. In un precedente lavoro avevamo indagato, nell'ambito di uno studio osservazionale prospettico denominato MyTH ("(My)eloma (T)herapy vc. Anti-(H)LA antibodies"), l'andamento dei livelli di MFI in pazienti affetti da MM ed era stata osservata una correlazione tra la cinetica di somministrazione del Daratumumab ed i livelli di MFI in un paziente con anti-DR12 (MFI baseline di 3890), supportando l'efficacia dell'anticorpo anti-CD38 nel diminuire la sintesi anticorpale. Presentiamo qui i dati di follow-up dello stesso paziente, a più di 3 anni dall'inizio della terapia.

Mentre nel breve termine la presenza dell'anticorpo anti-DR12 seguiva un andamento parallelo alla tempistica di somministrazione del Daratumumab, con un'iniziale riduzione seguita da un ritorno a valori baseline dopo allungamento degli intervalli di terapia, a medio e lungo termine è sopraggiunta una negativizzazione, persistente anche all'ultimo controllo di inizio luglio 2024, durante la terapia di mantenimento attualmente in corso. Il paziente, avendo risposto alla terapia, mantiene a tutt'oggi uno stato di remissione completa (nCR) di MM.

In conclusione, i nostri dati supportano l'attività dell'anticorpo monoclonale anti-CD38 nel ridurre fino a negativizzare la presenza di anticorpi anti-HLA, mostrandosi uno strumento utile che potrebbe essere aggiunto ai farmaci impiegati nei protocolli desensibilizzanti attuali. Sebbene non si possa escludere un effetto cumulativo legato anche agli altri farmaci anti-mieloma (schema dVMP), i nostri dati sono coerenti con la letteratura clinica dove emerge sempre più l'efficacia dei farmaci diretti contro la plasmacellula in questo contesto. Conferme da protocolli clinici sono auspicabili, integrando le schedule dei farmaci con i dosaggi anticorpali al fine di misurare ed ottimizzare l'efficacia della desensibilizzazione.

Abstract Code: AIB20783-64

## Correlazione tra il polimorfismo della regione 3'UTR del gene *KLRC2* e la percentuale delle cellule NK che esprimono il recettore *NKG2C*.

M. Falco<sup>1</sup>, R. Meazza<sup>2</sup>, M. Della Chiesa<sup>3</sup>, P. Canevali<sup>2</sup>, D. Pende<sup>2</sup>, P. Merli<sup>4</sup>, F. Locatelli<sup>5</sup>, S. Sivori<sup>3</sup>, C. Bottino<sup>6</sup>

(1) Laboratorio di Immunologia Clinica e Sperimentale, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italia, (2) Laboratorio di Patologia e Immunologia Sperimentale, IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova, Italia, (3) Dipartimento di Medicina Sperimentale, DIMES, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia, (4) Dipartimento di Onco-Ematologia e Terapia Cellulare e Genica, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia, (5) Dipartimento di Onco-Ematologia e Terapia Cellulare e Genica, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù; Dipartimento di Scienza della Vita e Sanità Pubblica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, (6) Laboratorio di Immunologia Clinica e Sperimentale, IRCCS Istituto Giannina Gaslini; Dipartimento di Medicina Sperimentale, DIMES, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

*NKG2C* appartiene alla famiglia delle lectine e forma insieme a *CD94* un recettore eterodimerico presente sulla superficie di una frazione di cellule NK e linfociti T. L'espressione di *NKG2C* è variabile da individuo a individuo ed aumenta a seguito di infezione da hCMV. Questo recettore, una volta riconosciuta la molecola HLA-I non classica HLA-E sulla cellula bersaglio, trasduce un segnale attivatorio grazie alla sua associazione con la molecola *DAP12*. *NKG2C* è codificato dal gene *KLRC2* localizzato sul cromosoma 12. *KLRC2* è assente nel 19-21% degli aplotipi (~4% degli individui) ed è stato a lungo considerato monomorfo. Recentemente sono stati descritti 8 SNPs nel gene *KLRC2*, 5 dei quali sono presenti nella regione 3'UTR (c\*20A>G, c\*105 A>G, c\*285 G>A, c\*401 A>G e c\*419 T>C).

In questo studio abbiamo analizzato, in una coorte composta da 153 individui sani, non consanguinei e *KLRC2* positivi, il numero delle copie del gene (mediante un approccio di PCR con oligonucleotidi sequenza specifici) e il polimorfismo presente nelle regioni 3'UTR (sequenza Sanger di una PCR che include la regione d'interesse). Di 135 soggetti abbiamo inoltre valutato la percentuale delle cellule NK, derivate dal sangue periferico, che esprimeva il recettore *NKG2C* (analisi mediate citofluorimetria).

L'analisi dei 54 donatori caratterizzati da una copia di *KLRC2* (wt/del) ha permesso di evidenziare la presenza di 3 regioni 3'UTR: AAGAT (c\*20A, c\*105A, c\*285G, c\*401A e c\*419T; N=30), GAAGT (N.=16) e GGGGC (N.=8); confermando il forte linkage disequilibrium presente tra gli SNPs di questa regione. Inserendo nell'analisi anche i donatori con due copie di *KLRC2* (wt/wt; N.=99), la frequenza delle 3 regioni AAGAT, GAAGT e GGGGC è stata del 45,4%, 20,3% e 16,7 % rispettivamente (nel 17,6% degli aplotipi mancava il gene *KLRC2*). Correlando i dati ottenuti con l'analisi citofluorimetrica abbiamo trovato una forte correlazione tra il numero di copie del gene *KLRC2* e la percentuale di cellule NK *NKG2C*<sup>pos</sup> (\*\*\*) p=0,0002; mediana individui wt/del = 6, N.=46 vs mediana donatori wt/wt = 18, N.=89). Analizzando gli SNPs presenti nella regione 3'UTR abbiamo dimostrato che gli individui caratterizzati dal polimorfismo 3'UTR GGGGC (ossia i donatori GGGGC/GGGGC, GGGGC/AAGAT, GGGGC/GAAGT e quelli GGGGC/del) sono quelli che hanno una maggiore frequenza di cellule *NKG2C*<sup>pos</sup> (\*\* p=0,0023; mediana individui GGGGC<sup>pos</sup>=21, N.=42 vs mediana donatori GGGGC<sup>neg</sup>=10, N.=93).

Lo studio proseguirà analizzando se l'analisi del polimorfismo 3'UTR di *KLRC2* può essere utilizzato come biomarcatore per migliorare la selezione del donatore aploidentico di cellule staminali. A questo scopo verrà messa in relazione la presenza delle 3 regioni 3'UTR del donatore con la presenza/assenza di infezione da hCMV post-trapianto nei pazienti. Interessante sarà anche valutare il ruolo di tale polimorfismo in relazione alla ricaduta. Una buona espressione di HLA-E è stata infatti descritta sulla maggioranza delle cellule leucemiche.

Abstract Code: AIB20784-65

## Analisi della variante allelica *KIR3DS1\*049N*

M. Falco<sup>1</sup>, R. Meazza<sup>2</sup>, P. Canevali<sup>2</sup>, C. Alicata<sup>3</sup>, D. Pende<sup>2</sup>, P. Merli<sup>4</sup>, F. Locatelli<sup>5</sup>, L. Moretta<sup>6</sup>, C. Bottino<sup>7</sup>

(1) Laboratorio di Immunologia Clinica e Sperimentale, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italia, (2) Laboratorio di Patologia e Immunologia Sperimentale, IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova, Italia, (3) Unità di Citogenomica Traslazionale, IRCCS Ospedale Bambino Gesù, Roma, Italia, (4) Dipartimento di Onco-Ematologia e Terapia Cellulare e Genica, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia, (5) Dipartimento di Onco-Ematologia e Terapia Cellulare e Genica, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù; Dipartimento di Scienza della Vita e Sanità Pubblica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, (6) Immunologia dei Tumori, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia, (7) Laboratorio di Immunologia Clinica e Sperimentale, IRCCS Istituto Giannina Gaslini; Dipartimento di Medicina Sperimentale, DIMES, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

La famiglia dei geni *KIR* include 13 geni e 2 pseudogeni. Il locus *KIR* è caratterizzato da un elevato livello di variabilità determinato sia dalla diversità aplotipica (ossia dalla presenza/assenza di determinati geni *KIR*) che dal polimorfismo allelico (oltre 2.200 alleli *KIR* sono al momento presenti sul sito IPD-KIR). Molti dei polimorfismi allelici hanno un impatto sulla funzione del recettore per il quale codificano e possono causare la prematura interruzione della proteina (alleli Null), la ritenzione del recettore all'interno della cellula, una maggiore/minore affinità per il ligando o capacità di trasduzione del segnale.

In questo studio abbiamo analizzato, in una coorte di 341 individui sani, non consanguinei e di origine italiana, la presenza di *KIR3DS1\*049N*, un allele null caratterizzato da una mutazione complessa (delezione e sostituzione) nell'esone 4 che causa la formazione di un codone di STOP e conseguentemente un'interruzione prematura della proteina. Lo studio dell'allele *KIR3DS1\*049N* è stato eseguito i) determinando la presenza/assenza di tutti i geni *KIR* (utilizzando un kit commerciale basato su un approccio di PCR con oligonucleotidi sequenza specifici; SSP-PCR), ii) individuando gli individui *KIR3DS1\*049N*<sup>pos</sup> (SSP-PCR home made), iii) analizzando l'espressione del recettore *KIR3DS1* nei soggetti *KIR3DS1*<sup>pos</sup> (mediante citofluorimetria).

Come atteso tutti gli individui della coorte erano positivi per il locus *KIR3DL1/S1*, un gene che si trova nella regione telomerica degli aplotipi *KIR*. *KIR3DL1/S1* è infatti l'unico locus *KIR* che ha sia alleli che codificano per recettori inibitori (*KIR3DL1*, presenti nelle regioni telomeriche di tipo A) che alleli che codificano per recettori attivatori (*KIR3DS1*, presenti nelle regioni telomeriche di tipo B). In particolare, nella coorte analizzata, ~59% dei donatori erano *KIR3DL1*<sup>pos</sup>/*3DS1*<sup>neg</sup> (N.=200), ~37% *KIR3DL1*<sup>pos</sup>/*3DS1*<sup>pos</sup> (N.=126), mentre solo ~4% erano *KIR3DL1*<sup>neg</sup>/*3DS1*<sup>pos</sup> (N.=15). L'analisi degli individui *KIR3DS1*<sup>pos</sup> ha permesso di identificare in cinque individui, tutti con genotipo *KIR3DL1*<sup>pos</sup>/*3DS1*<sup>pos</sup>, l'allele null *KIR3DS1\*049N*. Questo dato è stato rafforzato dall'analisi citofluorimetrica delle cellule NK derivate da sangue periferico dei donatori *KIR3DS1*<sup>pos</sup> che ha confermato la mancanza di questo recettore attivatorio solamente nei 5 individui *KIR3DS1\*049N*<sup>pos</sup>. La frequenza degli individui *KIR3DS1\*049N*<sup>pos</sup> era quindi di ~1,5%, percentuale che saliva a ~3,6% se si consideravano solo i soggetti con almeno una copia di *KIR3DS1*. Inoltre, dal momento che i donatori inclusi nella coorte erano genitori di pazienti tipizzati per il repertorio *KIR*, abbiamo effettuato la segregazione familiare degli aplotipi *KIR*. Questa analisi, informativa in 4 famiglie su 5, ha indicato che l'aplotipo *KIR3DS1\*049N*<sup>pos</sup> comprendeva una regione centromerica di tipo A (ossia *KIR3DL3-2DL3-2DP1-2DL1-3DP1*delta) e una regione telomerica di tipo B1 (ossia *KIR2DL4-3DS1-2DL5A-2DS5-2DS1-3DL2*).

Abstract Code: AIB20785-66

## STUDY OF InDel MARKERS PREVALENCE FOR CHIMAERISM ANALYSIS AMONG ITALIAN HSCT RECIPIENTS AND DONORS

S.M. Muggianu <sup>1</sup>, M. Caputo <sup>1</sup>, M. Pisa <sup>2</sup>, V. Oliva <sup>2</sup>, M. Pedata <sup>1</sup>, M. Celentano <sup>1</sup>, C. Riccardi <sup>1</sup>, S. Marotta <sup>1</sup>, I. Migliaccio <sup>1</sup>, A. Carobene <sup>1</sup>, C. Luise <sup>1</sup>, S. Leone <sup>1</sup>, L. Altomare <sup>3</sup>, M. Salzano <sup>1</sup>, C. Gallo <sup>1</sup>, D. Buonanno <sup>1</sup>, A. Picardi <sup>4</sup>, A. Viola <sup>2</sup>

(1) Stem Cell Transplant Program, AORN A. Cardarelli, Naples, (2) Hematology Unit, AORN A. Cardarelli, Naples, (3) Transfusion Medicine Service, AORN A. Cardarelli, Naples, (4) Stem Cell Transplant Program, AORN A. Cardarelli, Naples\_Dep. Of Biomedicine and Prevention, Tor Vergata University, Rome

**BACKGROUND** Chimerism evaluation is a routine test performed after Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) for donor's engraftment monitoring and early relapse's. In this study, an insertion/deletion (InDel) chimerism assay by Real Time PCR was examined on 126 recipients and 99 donors in order to identify the prevalence and informativity of InDel Markers in Italian population

**METHODS** We retrospectively analyzed the InDel genotype of 126 HSCT Italian recipients and 99 Italian donors treated at AORN Cardarelli Transplant Program in Naples, between July 2019 to date. Among the recipients' group, 54% were males and 46% females, with a median age of 46 years (20-70), 72% affected by high risk Acute Leukemia. Half of patients received HSCT from HLA-identical sibling, 21% from haploidentical and 39% from unrelated donors. Among the donors, 64% were males and 36% females, with a median age of 39 years (21-68)

The recipients and donors DNA were isolated from whole peripheral blood samples using a commercial kit, at baseline. DNA was genotyped by qPCR using KMRtype Genotyping kit (GenDx), which includes 39 InDel polymorphisms placed over 17 chromosomes, to determine informativity of markers, consisting of a specific marker's presence in only one of the individuals of the recipient-donor pair. Analysis was performed using KMRengine Software. We defined as prevalent Italian informative markers those which occurred >15% of individuals

**RESULTS** In the Italian population, assessed at AORN Cardarelli Transplant Program, the median presence of markers and informative markers resulted 22 (15-29) and 5 (1-11) for recipients and 21 (12-28) and 4 (1-12) for donors, respectively. Our preliminary data shows that KMR42 and KMR55 seem to be the markers with the higher prevalence both in recipients (90% and 91%) and donors (92% for both), while KMR41 and KMR57 are the least represented. In the recipients' subset, the most informative markers are KMR10 (21%), KMR16 (23%), KMR43 (21%) and the least representative are KMR29 (3%) and KMR57 (4%). On the contrary, markers KMR17 (24%) and KMR47 (22%) are the most informative in donors while KMR29 (3%) and KMR49 (3%) are the least represented. According to diagnosis, we identified KMR48 as informative marker only in AL setting (24%). On the other hand, KMR40 and KMR42 are the most informative markers in the other disease group such as Lymphoma (27%), and Myeloproliferative Disorders (52%) while KMR57 is never informative in this subset. KMR42 and 55 were confirmed to be the most present in all subgroups analyzed

**CONCLUSIONS** InDel genotype allows accurate and cost-effective chimerism monitoring, both of essence in routine clinical diagnostics. Our preliminary data suggest a specific presence of KMR10, KMR16 and KMR43, as informative markers in recipients' group. In the same group, markers KMR029 and KMR049 are never informatives. By the other hand, KMR048 seems to be an informative characteristic marker of the Italian AL subset

Abstract Code: AIB20786-67

## Human leukocyte antigen mismatch and circulating donor-specific antibodies predict long term graft loss after kidney transplantation: a retrospective study

D. Costa<sup>1</sup>, M. Strozziro<sup>1</sup>, A. Levi<sup>1</sup>, G. Benincasa<sup>2</sup>, V. Grimaldi<sup>1</sup>, M. Di Donato<sup>1</sup>, A.V.A. Pirozzi<sup>1</sup>, A. Passannanti<sup>1</sup>, C. Fiorito<sup>1</sup>, G. Moccia<sup>1</sup>, A. Gallo<sup>1</sup>, A. De Maria<sup>1</sup>, P. De Rosa<sup>3</sup>, G. Valeriani<sup>3</sup>, M. Santangelo<sup>4</sup>, R. Carrano<sup>4</sup>, S. Pacilio<sup>5</sup>, F. Cacciatore<sup>5</sup>, C. Napoli<sup>1</sup>

(1) Regional Reference Laboratory of Transplant Immunology - University of Campania Luigi Vanvitelli, Napoli, (2) Department of Advanced Medical and Surgical Sciences - Università degli Studi della Campania, Napoli, (3) General Surgery and Transplantation Unit - San Giovanni di Dio e Ruggi D'Aragona University Hospital, Salerno, (4) Department of Public Health - Section of Nephrology - University of Naples Federico II, Napoli, (5) Department of Translational Medical Sciences - University of Naples Federico II, Napoli

**INTRODUCTION:** Donor-specific antibodies (DSAs) are established biomarkers predicting antibody-mediated rejection, as the leading cause of graft loss after kidney transplantation. Furthermore, human leukocyte antigen (HLA) matching offers a more precise assessment of donor-recipient HLA compatibility and may prevent more effectively sensitization against allograft tissue. Indeed, increased number of HLA mismatches (MM) is significantly associated with a higher risk of immunological rejection, *de novo* DSA development, and graft failure.

**PATIENTS AND METHODS:** This retrospective study includes kidney patients transplanted at the two Kidney Centre of Campania Region (Naples and Salerno) between 2000 and 2023. We enrolled 167 patients for follow-up study by anti-HLA antibody detection.

**RESULTS:** We found that pre- and post-transplantation HLA antibodies were significantly associated with *de novo* DSA development (pre-transplant HLA Class I antibodies  $p=0.039$ , pre-transplant HLA Class II antibodies  $p=0.011$ , post-transplant HLA Class I antibodies  $p<0.01$  and post-transplant HLA Class II antibodies  $p<0.01$ ). In addition, HLA MM at locus A (*hazard ratio (HR)*, 2.44; *95% confidence interval (CI)*: 1.15-5.16;  $p=0.01$ ) and DSA Class I (*HR*, 10.24; *95% CI*: 1.44-72.62;  $p=0.02$ ) appeared to be significant predictors of poorer graft survival.

**CONCLUSIONS:** Our study showed both MM HLA at locus A and *de novo* DSA class I development appears to be significantly deleterious for the long-term graft survival. In addition, a significative incidence of pre- and post-transplantation antibodies on DSA development have been demonstrated. These results indicate the need to implement more effective desensitization strategies aimed to mitigating the deleterious effects of pre- and post-transplantation HLA antibodies on graft survival long term outcome.

Abstract Code: AIB20789-70

## Sequenziamento mediante NGS nell'arruolamento del donatore IBMDR attraverso il campione salivare

S. Agolini<sup>1</sup>, E. Carciere<sup>1</sup>, P. Ferrucci<sup>1</sup>, A. Zoli<sup>1</sup>

(1) Laboratorio HLA e Registro Regionale dei Donatori di Midollo Osseo delle Marche(RRAN01)  
– Azienda Ospedaliero Universitaria delle Marche - Ancona

**Introduzione:** la tipizzazione HLA ad alta risoluzione allelica è indispensabile per inserire in ricerca nuovi donatori nel registro IBMDR. Grazie alla migliore definizione genetica del donatore alla iscrizione con il metodo NGS, i donatori italiani sono divenuti più richiesti anche dai Centri Trapianto esteri. Le campagne di arruolamento delle associazioni del terzo settore organizzano eventi prediligendo il prelievo salivare al prelievo di sangue. Il campione biologico salivare in molti casi crea problemi al momento della lavorazione e presenta parametri diversi rispetto al sangue.

**Materiali e metodi:** da agosto 2023 a giugno 2024 sono stati studiati n. 410 nuovi donatori: 94 salive e 316 sangue da donatori IBMDR raccolti durante eventi outdoor e indoor. Tutti i DNA dei campioni sono stati estratti con strumento MagCore Plus utilizzando lo stesso kit (Whole blood kit) facendo attenzione per la saliva a selezionare una quantità di eluato finale di 100 mcl, invece dei 200 mcl selezionati per sangue. Ciascun campione è stato studiato con metodo NGS su piattaforma Illumina MiniSeq, utilizzando kit Miafora MFlex6 (ditta Werfen) per lo studio in alta risoluzione di 6 loci (A\*,B\*,C\*,DRB1\*,DQB1\*,DPB1\*). Nel periodo osservato sono state eseguite 21 sedute NGS: 10 con DNA da campioni biologici diversi (sangue +saliva), 3 solo con DNA estratto da saliva e 8 solo con DNA da sangue.

**Risultati:** in tutte le sedute NGS abbiamo inserito DNA salivare con una concentrazione molto bassa ma buona purezza ottenendo un risultato attendibile, risultato però ottenuto solo nelle sedute in cui avevamo inserito solo DNA salivare. Con la metodica di estrazione abbiamo cercato di ottenere meno eluato, ma una migliore qualità del DNA estratto definendo come parametri accettabili per la saliva, una purezza di 1,50 - 2,00 e una concentrazione da 1,5 ng/μL. Nelle 10 sedute di NGS eseguite con campioni biologici diversi, il 50% delle salive ha avuto un risultato insufficiente con necessità di eseguire ulteriori test, nelle 3 sedute eseguite solo con materiale salivare solo il 10% dei campioni è stato sottoposto a ulteriori indagini per ottenere il risultato, lo stesso risultato (10%) emergeva anche nelle 8 sedute fatte solo con DNA da sangue.

**Conclusioni:** l'utilizzo del prelievo salivare al reclutamento di nuovi donatori IBMDR agevola le attività outdoor dei sanitari volontari delle associazioni del terzo settore, perché non necessita di personale medico dei Centri Donatori in perenne sofferenza. Il prelievo salivare deve però essere eseguito correttamente da personale addestrato e poi lavorato con attenzione in laboratorio perché altrimenti rischia di essere una spesa eccessiva per il SSN. La nostra esperienza ci ha fatto concludere che eseguire sedute NGS con solo campioni salivari ottimizza il risultato ottenuto, evidenziando come sia indispensabile una programmazione e collaborazione attiva con le associazioni per una corretta organizzazione delle sedute di NGS.

Abstract Code: AIB20790-62

## Sequenziamento con tecnologia Nanopore mediante kit NGS-Turbo: la nuova frontiera nella tipizzazione HLA?

R. Fiore<sup>1</sup>, F. Tito<sup>1</sup>, G. Mansella<sup>1</sup>, R. Chidichimo<sup>1</sup>, L. Rocchi<sup>1</sup>, M. Berrino<sup>1</sup>, E. Dametto<sup>1</sup>, E. Garino<sup>1</sup>, G.A. Mazzola<sup>1</sup>, S. Deaglio<sup>1</sup>

(1) S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, Torino

*Introduzione:* Il sequenziamento HLA mediante tecnologia Nanopore fornisce tipizzazioni in alta risoluzione, in tempi relativamente brevi. Queste caratteristiche lo rendono potenzialmente interessante nella pratica di laboratorio per la tipizzazione del donatore d'organo che per la prima volta potrebbe essere ad alta risoluzione, fornendo informazioni più complete in tempi compatibili per l'allocazione.

*Obiettivi:* Lo scopo del lavoro è stato la valutazione di un nuovo kit per la tipizzazione con tecnologia Nanopore (NGS-Turbo, GenDx).

*Materiali e metodi:* Il kit si basa su una *long read* NGS che prevede una procedura di preparazione della library senza frammentazione, risultante in *full-length intact amplicons*. Sono stati effettuati 12 test, su campioni precedentemente tipizzati in NGS, utilizzando il sequenziatore MinION (Oxford Nanopore Technologies) al fine di convalidare il kit e valutarne una possibile introduzione nella pratica di laboratorio. L'analisi è stata effettuata con il software NGSengine-Turbo (GenDx). I parametri di qualità valutati sono stati: *mapped reads/total reads*, *median read depth*, *max noise*, *delta signal to noise*, *estimated second allele*.

*Risultati e discussione:* Escluso il tempo di estrazione del DNA, la tipizzazione risulta disponibile dopo 3 ore e 30 minuti. Successivamente occorre 1 ora per il lavaggio e la manutenzione finale della *flowcell*. Dei 12 campioni uno non ha fornito risultati attendibili per problemi legati alla *flowcell* ed è quindi stato escluso dalla valutazione. Per gli altri 11 campioni analizzati i risultati ottenuti sono stati concordanti al 100% rispetto ai precedenti in NGS e non è stata necessaria alcuna modifica sul software da parte dell'operatore. I parametri di qualità ottenuti hanno permesso di determinare i criteri di accettabilità ai quali riferirsi nella routine di laboratorio.

*Conclusioni:* La tipizzazione HLA con tecnologia Nanopore è efficace e fornisce risultati concordanti con il sequenziamento ad alta risoluzione con la tecnologia NGS attualmente in uso nel laboratorio. In base ai risultati ottenuti si introdurrà questa metodica per la tipizzazione dei pazienti in attesa di trapianto di rene da vivente e dei loro donatori e di eventuali urgenze. Sfruttando queste tipizzazioni verrà completata la formazione del personale tecnico e dirigente. La complessità di esecuzione è maggiore rispetto alla RT-PCR per cui, una volta che il personale tecnico risulti formato, il laboratorio deve prevedere un adeguato mantenimento delle competenze.

In conclusione la tecnologia Nanopore permette di ottenere una tipizzazione HLA in alta risoluzione sotto le 4 ore per una più accurata valutazione delle eventuali positività ottenute nei crossmatch e di epitopi del donatore potenzialmente immunogeni. I tempi di esecuzione del test rimangono lievemente alti per prevedere l'introduzione routinaria nella tipizzazione del donatore d'organo durante l'osservazione.

Abstract Code: AIB20791-63

## I polimorfismi dei geni MICA e NKG2D influenzano l'efficacia della terapia immunosoppressiva modificando il rischio di Rigetto Cronico Anticorpo-mediato nel Trapianto di Rene.

S. Mocchi<sup>1</sup>, R. Littera<sup>2</sup>, D. Argiolas<sup>3</sup>, S. Lai<sup>2</sup>, M. Melis<sup>4</sup>, C. Sanna<sup>5</sup>, C. Mereu<sup>5</sup>, M. Lorrari<sup>5</sup>, A. Mascia<sup>6</sup>, M. Miglianti<sup>7</sup>, B. Onali<sup>7</sup>, S. Rassu<sup>2</sup>, S. Deidda<sup>8</sup>, C. Manieli<sup>9</sup>, E. Giuressi<sup>2</sup>, A. Perra<sup>6</sup>, A. Pani<sup>3</sup>, S. Giglio<sup>5</sup>

(1) Medical Genetics Unit, Department of Medical Sciences and Public Health, University of Cagliari, Italy, (2) Medical Genetics, R. Binaghi Hospital, Sardegna, Italy., (3) Kidney Transplant Unit, Department of Renal Diseases, G. Brotzu Hospital, Cagliari, Italy., (4) AART-ODV (Association for the Advancement of Research on Transplantation), Cagliari, Italy. Monserrato, Italy., (5) Medical Genetics, Department of Medical Sciences and Public Health, University of Cagliari, Cagliari, Italy., (6) Oncology and Molecular Pathology Unit, Department of Biomedical Sciences, University of Cagliari, 09100, Cagliari, Italy., (7) Department of Medical Sciences and Public Health, University of Cagliari, Cagliari, Italy., (8) Pneumology Unit, R. Binaghi Hospital, ASSL Cagliari, Cagliari, Italy., (9) U.O. Anatomia Patologica, P.O. San Michele, ARNAS "G Brotzu", Cagliari, Italy.

### I polimorfismi dei geni MICA e NKG2D influenzano l'efficacia della terapia immunosoppressiva modificando il rischio di Rigetto Cronico Anticorpo-mediato nel Trapianto di Rene.

**Introduzione:** Il rigetto cronico del rene è una delle principali complicazioni che possono insorgere dopo un trapianto. Generalmente, la compatibilità tra il sistema HLA del donatore e quello del ricevente è considerata il fattore genetico più importante per ridurre il rischio di rigetto. Recentemente, alcuni studi scientifici hanno dimostrato che oltre al sistema *HLA* di classe I e II, anche altre variabili genetiche, come il gene *MICA* della classe I del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC), possono influenzare l'esito del trapianto. Tuttavia, il ruolo del principale recettore del MICA, *NKG2D*, non è ancora stato completamente chiarito.

**Scopo:** L'obiettivo del nostro studio è stato quello di indagare la correlazione tra la compatibilità allelica del *MICA*, tra ricevente e donatore, e il genotipo *NKG2D* in relazione al rischio di rigetto cronico, oltre ai loro potenziali effetti clinici e alle implicazioni per la terapia immunosoppressiva di mantenimento dell'organo.

**Materiali e Metodi:** Tra i 524 pazienti sottoposti a trapianto, 148 sono risultati idonei ed inclusi nello studio. È stata effettuata la tipizzazione del gene *MICA* e i due polimorfismi funzionali del gene *NKG2D* (*rs1049174* C>G e *rs2255336* G>A) sia nei pazienti trapiantati che in 168 controlli di popolazione.

**Risultati:** Come evidenziato dai precedenti studi, i *mismatch* allelici *MICA* tra ricevente e donatore determinano un aumento del rischio di rigetto cronico ( $X^2=6,95$ ; Log-rank=0,031). Inoltre, anche il genotipo *NKG2D rs1049174* [GG] da solo è associato a un rischio significativamente maggiore di rigetto cronico

( $X^2=13,44$ ; Log-rank=0,001). L'effetto combinato tra la compatibilità ricevente-donatore degli alleli MICA e la presenza del genotipo *rs1049174* [GG] ha determinato il rischio più elevato di rigetto ( $X^2=23,21$ ; Log-rank <0,001). Infine, i nostri risultati hanno suggerito che i pazienti con i genotipi *rs1049179* [GG] e *rs2255336* [AA] sembrano avere una risposta alla terapia immunosoppressiva con inibitori di mTOR meno efficace rispetto agli inibitori della calcineurina (*rs1049179* [GG]; P=0,035; e *rs2255336* [AA]; P=0,002).

**Conclusioni:** La compatibilità degli alleli *MICA* tra ricevente e donatore e la presenza di determinati polimorfismi del gene *NKG2D*, nonché le loro combinazioni, possono influenzare in maniera significativa l'esito del trapianto di rene. fornendo approfondimenti per trattamenti personalizzati e migliorando la sopravvivenza dell'innesto. Questo può fornire indicazioni preziose per sviluppare trattamenti personalizzati e migliorare la sopravvivenza dell'organo.

Abstract Code: AIB20793-65

## Crossmatch in citofluorimetria nella gestione dei donatori di organo solido: 5 anni di valutazioni pre-trapianto

C.M. Rosso<sup>1</sup>, C. Caorsi<sup>1</sup>, G.M. Togliatto<sup>1</sup>, R. Chidichimo<sup>1</sup>, D. Covelli<sup>1</sup>, S. Tontoni<sup>1</sup>, A. Oda<sup>1</sup>, P. Magistroni<sup>1</sup>, S. Deaglio<sup>1</sup>

(1) Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, AOU Città della Salute e della Scienza, Torino

Le prove crociate di compatibilità tra donatore e ricevente eseguite con citometria a flusso (FCXM) mostrano maggiore sensibilità e rapidità di esecuzione rispetto a quelle condotte con citotossicità mediata dal complemento (CDCXM). Il FCXM rappresenta attualmente il metodo più riproducibile disponibile per la selezione del paziente immunologicamente idoneo a ricevere l'organo da un potenziale donatore. Il Servizio di Immunogenetica e Biologia dei Trapianti di Torino ha adottato il FCXM nella gestione dei donatori deceduti in regime di reperibilità dal 1/1/2019. Inizialmente è stata utilizzata la metodica standard a tre colori su piastra (protocollo Halifax), che prevede due test distinti per identificare la presenza di anticorpi anti-HLA di classe IgG e IgM. Successivamente, è stata implementata una colorazione fluorescente aggiuntiva per identificare IgG e IgM nella stessa reazione, velocizzando notevolmente l'allestimento della piastra e dimezzando la quantità di cellule del donatore necessarie. Infine, è stato introdotto l'uso di un dispensatore automatico (Myra) per cellule, sieri ed anticorpi, che riduce il rischio di errore e permette, tramite l'utilizzo di codici a barre identificativi dei campioni, l'automazione parziale della metodica FCXM. Fino al 1/6/2024 sono stati eseguiti oltre 7900 test su coppie donatore-ricevente con l'analisi di oltre 9200 sieri (84% per trapianto di rene, 8% per trapianti addominali e 8% per trapianti toracici), esitati in 2200 primi trapianti. Su 1331 trapianti di rene eseguiti, 160 (12%) riceventi sono stati giudicati idonei al trapianto seppure con FCXM positivo: 70 avevano positività solo per IgM ma non presentavano eventi immunizzanti recenti, mentre 90 mostravano debole positività sui linfociti B: la maggioranza (67 pazienti, 75%) aveva una storia negativa di studio siero per la presenza di anticorpi anti-HLA e pertanto è stata confermata l'idoneità immunologica al trapianto. I restanti 23 pazienti (25%) erano iperimmuni con deboli positività su sieri storici: per loro è stato condiviso con il Centro Trapianti di riferimento un rischio immunologico aumentato. Dei 630 trapianti di fegato eseguiti, 143 (23%) avevano FCXM positivo, 45 solo per IgM. 31% dei pazienti aveva anticorpi specifici per il donatore (DSA). I trapianti di cuore eseguiti dal 2019 sono 137, di cui 29 (21%) con FCXM positivo, 13 solo per IgM. Dei restanti 16 pazienti, 2 avevano DSA ma sono stati trapiantati perché in urgenza clinica, mentre gli altri non avevano anticorpi anti-HLA o DSA. Per il trapianto di polmone, su 102 primi trapianti, 11 (11%) sono stati effettuati con FCXM positivo, di cui 5 solo per IgM, 5 senza anticorpi anti-HLA e 1 con DSA ma in urgenza clinica. Le prime e ancora limitate analisi di sopravvivenza del trapianto e del paziente non mostrano differenze significative tra pazienti trapiantati con FCXM negativo o debolmente positivo sui linfociti B. La valutazione della produzione di anticorpi anti-HLA è in corso.

Abstract Code: AIB20794-66

## Condizionamenti e chimerismo misto nel trapianto di CSE HLA-mismatched: risultati preliminari da una review sistematica e possibile piattaforma di trapianto combinato CSE-SOT

G. Di Maggio <sup>1</sup>, I. Gandolfini <sup>2</sup>, E. Borotti <sup>3</sup>, U. Maggiore <sup>2</sup>, P. Cravedi <sup>4</sup>, P. Zanelli <sup>2</sup>, R. Crocchiolo <sup>1</sup>

(1) ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano, (2) A.O.U. Parma, Parma, (3) Università degli Studi di Pavia, Pavia, (4) Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York

Il chimerismo misto ematopoietico (MC) è concettualmente alla base della tolleranza immunologica centrale dopo trapianto d'organo solido (SOT) in quanto la coesistenza tra due sistemi immunitari, quello del paziente e del donatore, favorisce l'immunosoppressione dopo SOT e la conseguente riduzione o addirittura sospensione dell'immunosoppressione (IS), quest'ultima dannosa a medio e lungo termine ma indispensabile per la prevenzione del rigetto. Purtroppo il MC è difficile da ottenere nel contesto HLA-mismatched ed è per questo che non viene attualmente perseguito, al di fuori di alcuni protocolli di trapianto combinato CSE-SOT dallo stesso donatore vivente, HLA-identico o aploidentico.

L'obiettivo del presente studio è quello di investigare, attraverso una revisione della letteratura in ambito di CSE, le caratteristiche dei condizionamenti impiegati nel trapianto di CSE HLA-mismatched (aplo, CBU, mMUD) che si associano maggiormente a MC ed un basso rischio di GvHD acuta, elemento quest'ultimo fondamentale per poter concepire un protocollo di trapianto combinato.

Riportiamo qui i risultati preliminari di una review sistematica su 19 dei 62 articoli analizzati finora, sia in ambito adulto che pediatrico e con patologie maligne e non maligne, riguardanti un totale di 3,099 pazienti trapiantati. Otto studi (42%) riportano MC, permanente o transitorio, definito qui come almeno il 5% di presenza del ricevente ad uno dei controlli post-trapianto di CSE. I condizionamenti maggiormente associati a MC sono a base di fludarabina (Flu), ciclofosfamide (Cy) e irradiazione corporea totale (TBI) alla dose di 200 o 400 cGy. L'incidenza di GvHD acuta grado II-IV riportata è compresa tra 3 e 34%, tuttavia andando a selezionare gli unici tre lavori con GvHD acuta  $\leq 15\%$  si osserva che 2/3 contengono ATG nel regime preparativo.

I dati preliminari di questa revisione sistematica confermano l'attività nonmieloablative della combinazione Flu-Cy-TBI e l'efficace prevenzione della GvHD acuta da parte dell'ATG, suggerendo il loro impiego in un ipotetico protocollo di trapianto combinato CSE-SOT dal medesimo donatore HLA-mismatched.

Molto lavoro resta da fare in termini di fattibilità e disegno di un possibile studio clinico ponderando i rischi ed i benefici, tuttavia questo potrebbe rappresentare un primo passo per dare un'opportunità di (ri-)trapianto ai pazienti iperimmunizzati o a pazienti candidati a SOT che siano a rischio di complicanze gravi da IS prolungata

Abstract Code: AIB20795-67

## **Ruolo dell'HLA Evolutionary Divergence nei pazienti affetti da leucemia mieloide acuta trattati con Venetoclax ed ipometilanti: risultati preliminari da uno studio osservazionale**

A. Breda<sup>1</sup>, L. Leuzzi<sup>2</sup>, M. Riva<sup>3</sup>, L. Rizzo<sup>3</sup>, G. Cornacchini<sup>3</sup>, G. Lando<sup>3</sup>, G. Di Maggio<sup>3</sup>, A. Sulejmani<sup>3</sup>, E. Longhi<sup>4</sup>, F. Onida<sup>2</sup>, S. Rossini<sup>3</sup>, R. Crocchiolo<sup>3</sup>

(1) Università degli Studi di Milano Statale, Milano, (2) ASST Fatebenefratelli Sacco, Milano, (3) ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano, (4) IRCCS Policlinico di Milano, Milano

Uno dei regimi di terapia attualmente più efficace nei pazienti affetti da leucemia mieloide acuta (LMA) "unfit" per chemioterapia intensiva è quello basato sull'associazione tra ipometilanti e venetoclax (VI) che, possedendo un'azione immunostimolante, potrebbe potenziare i propri effetti in presenza di un immunopeptidoma leucemico più ampio. Basandosi su questa ipotesi, è stato avviato uno studio pilota per esaminare l'eventuale presenza di un'associazione tra valori più elevati di HLA evolutionary divergence (HED) e migliore risposta alla terapia nei pazienti affetti da LMA trattati con VI.

Tra febbraio 2021 e aprile 2024 sono stati arruolati retrospettivamente e prospettivamente pazienti adulti con diagnosi di LMA de novo e secondaria, non precedentemente trattati. Sono qui presentati i dati relativi ai primi 15 pazienti esaminati, di cui è stata effettuata la tipizzazione HLA di classe I a due campi ed è stato calcolato l'HED (formula di Grantham) ottenendo i valori di HED per il locus A, B e C e la media dei tre HED di classe I. Per ognuno di questi parametri i pazienti sono stati suddivisi in due gruppi: HED alto (HA) e HED basso (HB), rispettivamente al di sopra ed al di sotto del valore mediano.

Tra i 15 pazienti analizzati, le caratteristiche cliniche e demografiche erano in linea con quelle della letteratura e sostanzialmente paragonabili tra i due gruppi HA e HB. Per quanto riguarda i valori di HED, le mediane sono risultate: 9,56 [6,19-10,53], HED-A; 8,10 [5,63-9,80], HED-B; 4,48 [2,40-6,49], HED-C; 6,79 [5,68-8,39], media degli HLA di classe I. Il follow-up mediano di tutti i pazienti è stato di 9,23 mesi [4,93-24,97]. La percentuale di risposta completa al termine del follow up è stata del 66,7%; l'OS e il PFS a 1 anno sono risultati rispettivamente del 67,0% e 57,5%. È stato interessante notare una OS e PFS significativamente superiori nel gruppo HA rispetto al gruppo HB per l'HED-B (p-value 0,02 per entrambi).

I risultati preliminari, da verificare su una numerosità campionaria più ampia, sono promettenti per l'OS relativamente all'HED-B, dato avvalorato dal fatto che il locus B è anche quello per cui si sono ottenuti i risultati migliori negli altri studi sui tumori solidi. I nostri dati potrebbero supportare un ruolo centrale dell'immunopeptidoma leucemico nella risposta a terapie con azione immunostimolante, anche al di fuori del contesto del trapianto di CSE. Si tratta del primo studio che indaga il ruolo predittivo dell'HED nei pazienti con LMA trattati con VI e se i risultati verranno confermati, potrebbero portare alla valutazione dell'HED-B in fase diagnostica al fine di guidare la scelta di trattamento nei pazienti "unfit" per chemioterapia intensiva.

Abstract Code: AIB20798-70

## Effetti dell'HLA-G sulla colangite biliare primitiva: studio sulla popolazione sarda

C. Sanna<sup>1</sup>, M. Miglianti<sup>2</sup>, S. Mocci<sup>1</sup>, R. Littera<sup>3</sup>, A. Mascia<sup>4</sup>, M. Serra<sup>4</sup>, M. Murgia<sup>1</sup>, C. Mereu<sup>1</sup>, M. Lorrai<sup>1</sup>, E. Zedda<sup>1</sup>, F. Cannas<sup>1</sup>, F. Marongiu<sup>1</sup>, E. Giuressi<sup>3</sup>, S. Lai<sup>3</sup>, S. Rassu<sup>3</sup>, T. Zolfino<sup>5</sup>, L. Chessa<sup>6</sup>, A. Perra<sup>6</sup>, S. Giglio<sup>3</sup>

(1) Unità di Genetica Medica, Dipartimento di Scienze mediche e sanità pubblica, Università degli studi di Cagliari, (2) Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli studi di Cagliari, (3) Unità di Genetica Medica, Ospedale Binaghi, ASSL di Cagliari, (4) Dipartimento di Scienze mediche e sanità pubblica, Università degli studi di Cagliari, (5) Divisione di Gastroenterologia, ARNAS Brotzu, Cagliari, (6) Sezione di Patologia, Oncologia e Patologia molecolare, Dipartimento di Scienze biomediche, Università degli studi di Cagliari

**Introduzione:** La colangite biliare primitiva (PBC) è una rara malattia epatica colestatica autoimmune. A causa dell'eziologia multifattoriale, le variabili ambientali si combinano con il rischio immunogenetico ed epigenetico per contribuire allo sviluppo della malattia. Le molecole HLA-G e i loro recettori costituiscono un potente sistema tollerogenico i cui livelli di espressione sono stati correlati con lo sviluppo di varie malattie autoimmunitarie ma finora nessuno studio ha focalizzato l'attenzione sul loro possibile ruolo nella risposta alla terapia per la PBC.

**Obiettivo:** In questo lavoro, abbiamo investigato il ruolo dell'HLA-G solubile (sHLA-G), degli alleli *HLA-G* e degli aplotipi 3'UTR per valutarne il potenziale impatto sull'esordio e sulla risposta alla terapia nei pazienti sardi con PBC. La Sardegna offre un'ottima opportunità di ricerca grazie al suo profilo genetico, viene considerata un "isolato genetico" a causa dei suoi tratti omogenei. Con variabili limitate, un piccolo campione di pazienti risulta sufficiente per ottenere risultati significativi, particolarmente cruciali per le malattie rare come la PBC.

**Materiali e metodi:** Una corte di 166 pazienti sardi affetti da PBC è stata confrontata con due gruppi: 180 individui sani e 205 pazienti affetti da un'altra patologia autoimmune epatica, l'epatite autoimmune di tipo 1 (AIH-1). Sono stati analizzati gli alleli HLA-G e gli aplotipi 3'UTR dei pazienti e i controlli. Inoltre, sono stati misurati i livelli plasmatici di sHLA-G, che sono stati messi in correlazione con i diversi aplotipi HLA-G 3'UTR coinvolti nell'espressione dell'HLA-G.

**Risultati:** I nostri dati hanno mostrato come l'aplotipo descritto come UTR-1 risulti significativamente più frequente nei pazienti con PBC, rispetto alla popolazione di controllo: 160/332 (48.2 %) vs 123/360 (34.3 %) rispettivamente; OR = 1.79 (95 % CI 1.32 – 2.44);  $p < 0.0001$ ;  $pc = 0.0008$ . Inoltre, è stata evidenziata una stretta correlazione dei livelli di sHLA-G, sia con la risposta alla terapia (di prima linea,) sia con la gravità della malattia (valutata mediante i livelli di ALP e gamma-GT e il grado di fibrosi epatica all'ultimo follow-up). Infatti, i livelli di sHLA-G nei pazienti con una risposta inadeguata risultavano essere significativamente più bassi rispetto ai pazienti con una buona risposta alla terapia. [25.58 (0.0 – 60.9) U/ml vs 15.53 (6.29 – 24.77) rispettivamente;  $p = 0.010$ ].

**Conclusioni:** Il nostro studio evidenzia che nella PBC, gli aplotipi HLA-G, regolando i livelli di sHLA-G, siano capaci di influenzare l'insorgenza della malattia, la risposta alla terapia e pertanto la progressione della malattia.

Abstract Code: AIB20799-71

## Ruolo dell'HLA-G sull'outcome dell'HCC correlato a malattia steatosica del fegato

M. Murgia<sup>1</sup>, C. Sanna<sup>1</sup>, S. Mocci<sup>2</sup>, C. Mereu<sup>1</sup>, M. Lorrain<sup>1</sup>, E. Zedda<sup>1</sup>, G. Tosone<sup>1</sup>, F. Cannas<sup>2</sup>, A. Mascia<sup>3</sup>, S. Lai<sup>4</sup>, E. Giuressi<sup>4</sup>, S. Rassa<sup>4</sup>, R. Littera<sup>5</sup>, F. Pes<sup>6</sup>, L. Chessa<sup>6</sup>, A. Perra<sup>7</sup>, S.R. Giglio<sup>4</sup>

(1) Unità di Genetica Medica, Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università degli Studi di Cagliari, Italia, (2) Unità di Genetica Medica, Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università degli Studi di Cagliari, Italia; Centro Servizi di Ateneo per la Ricerca, Università di Cagliari, Monserrato, (3) Sezione di Patologia, Unità di Oncologia e Patologia Molecolare, Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Cagliari, Cagliari, Italia, (4) Unità di Genetica Medica, Ospedale R. Binaghi, Unità Sanitaria Pubblica Locale e Assistenza Sociale (ASSL) di Cagliari, Italia, (5) Unità di Genetica Medica, Ospedale R. Binaghi, Unità Sanitaria Pubblica Locale e Assistenza Sociale (ASSL) di Cagliari, Italia; AART-ODV, Italia, (6) Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università degli Studi di Cagliari, Italia, (7) Sezione di Patologia, Unità di Oncologia e Patologia Molecolare, Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Cagliari, Cagliari, Italia; AART-ODV, Italia

**Introduzione.** L'epatocarcinoma (hepatocellular carcinoma; HCC) è il settimo tumore più comune al mondo e rappresenta la terza causa di mortalità correlata al cancro. Di recente è stato registrato un aumento dell'incidenza dell'HCC correlato a malattia steatosica del fegato (Steatotic Liver Disease; SLD). L'osservazione che in alcune neoplasie maligne alterazioni funzionali e di espressione delle molecole *HLA-G* (antigene leucocitario umano G) e dei loro recettori generino un ambiente tollerogenico nei confronti delle cellule tumorali, suggerisce un ruolo per queste molecole anche nell'immuno escape delle cellule di HCC. Dati recenti mostrano che nell'HCC insorto su epatite virale cronica, la capacità tollerogenica dell'*HLA-G* è associata a una prognosi sfavorevole a causa dell'inibizione delle cellule del sistema immunitario che favorirebbe la progressione del tumore. Questo meccanismo non è mai stato studiato nell'HCC associato a SLD.

**Obiettivo.** Questo studio si propone di analizzare la correlazione tra genetiche di *HLA-G* e insorgenza, progressione e prognosi dell'HCC associato a SLD

**Materiali e Metodi.** Una coorte di 116 pazienti affetti da HCC, dei quali 21 con diagnosi di SLD, e 140 controlli sani è stata analizzata per valutare le varianti genetiche di *HLA-G* e correlarle con i dati anatomopatologici clinici.

**Risultati.** L'analisi del locus di *HLA-G* non ha rivelato differenze significative nelle frequenze tra pazienti e controlli sani ( $P > 0.05$ ). L'aplotipo esteso maggiormente rappresentato è risultato l'*HLA-G\*01:01:01:01/UTR-1* [21.1% (49/232) nei pazienti, 27.5% (77/280) nei controlli]. Da notare che le curve di sopravvivenza risultavano significativamente differenti in base agli aplotipi estesi *HLA-G*. In particolare, i pazienti con il genotipo *HLA-G\*01:01:01/UTR-1* in omozigosi mostravano

una minore sopravvivenza rispetto ai pazienti con lo stesso genotipo in eterozigosi o con altri aplotipi estesi (Log-rank test,  $p = 0.014$ ). Lo stesso risultato è stato confermato anche per i pazienti con HCC correlato a SLD (Log-rank test,  $p = 0.008$ ).

**Conclusioni.** La presenza del genotipo *HLA-G*\*01:01:01/UTR-1, sembrerebbe correlarsi con una prognosi sfavorevole e una minore sopravvivenza. Pertanto, differenze nel locus *HLA-G*, regolando il grado di espressione delle molecole, potrebbero influenzare sia lo sviluppo dell'HCC sia la sopravvivenza dei pazienti. Studi su casistiche più ampie sono necessari per confermare l'utilizzo del genotipo *HLA-G* quale potenziale marcatore prognostico e terapeutico per l'HCC.

**Parole chiave:** Epatocarcinoma, HLA-G, polimorfismo 3'UTR.

Abstract Code: AIB20802-56

## Introduzione e validazione della metodica NGS per la tipizzazione HLA: esperienza del laboratorio di immunogenetica di Bologna

S. Manfroi<sup>1</sup>, S. Capelli<sup>1</sup>, R. Masi<sup>1</sup>, S. Mattarozzi<sup>1</sup>, E. Matteucci<sup>1</sup>, A. Pallotti<sup>1</sup>, D. Pisapia<sup>1</sup>, L. Pravisano<sup>1</sup>, M. Comiotto<sup>1</sup>, A. D'errico<sup>2</sup>

(1) Programma Dipartimentale Immunogenetica e Biologia dei trapianti – DIAP IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico S.Orsola, Bologna, (2) Dipartimento Interaziendale ad attività integrata di Anatomia Patologica - DIAP IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico S.Orsola, Bologna

Da più di 20 anni presso il nostro laboratorio la tipizzazione HLA in alta risoluzione (HR) per il trapianto di cellule staminali emopoietiche (CSE) si è avvalsa del sequenziamento SBT Sanger: si è ampliato il numero di loci tipizzati, dagli esoni codificanti principali si è esteso anche ad altri esoni, si è passati da uno strumento mono-capillare ad altri più performanti. Tuttavia il metodo Sanger mantiene sempre dei limiti: più passaggi per ottenere una tipizzazione univoca e risolvere le ambiguità causate da posizioni eterozigoti, l'impossibilità di sequenziare l'intero gene e di tipizzare molti campioni in breve tempo. Nel tempo si è aggiunta la richiesta di tipizzare in HR senza ambiguità sia i pazienti sia i donatori del Registro IBMDR. Per soddisfare queste necessità è stata introdotta la tecnologia NGS convalidata secondo gli Standard EFI (E4.10): organizzazione del laboratorio, formazione del personale, gestione della qualità, qualificazione di strumentazione e metodica, definizione dei criteri di accettabilità, interpretazione e tracciabilità fino alla refertazione. Il DNA di 190 campioni (91/190 saliva, 99/190 sangue periferico), estratto con sistema automatico basato sulla tecnologia delle biglie magnetiche (QIAasymphony SP), è stato tipizzato con metodica NGS per i loci HLA-A, B, C, DRB1, DRB3/4/5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1 con kit AllType FASTplex NGS 11 Loci su piattaforma Illumina (MiSeq). I campioni analizzati comprendevano 12 controlli di qualità (CQ), 103 donatori di CSE, 33 attivazioni MUD, 42 TCF di donatori familiari e MUD. Le tipizzazioni NGS sono state eseguite da 4 operatori differenti. I parametri applicati per l'assegnazione allelica sono: Q30  $\geq$  80%, sequence passing filter  $>$  80%, coverage  $>$ 100, Read Depth  $>$ 100, background  $<$  20%, assenza di mismatches o ambiguità di fase negli esoni chiave. L'analisi dei dati ha mostrato una concordanza del 100% con le tipizzazioni eseguite con altra metodica: per tutti i 190 campioni era disponibile il consensus in HR per i loci HLA A, B, C, DRB1 e DQB1; per 12 campioni per i loci HLA DPA1 e DRB3/4/5, per 55 campioni per il locus DPB1 e per 32 per il locus DQA1. E' stato verificato il corretto trasferimento dei risultati di tipizzazione dallo strumento al software di analisi TSV e l'esportazione dei risultati assegnati e validati da TSV al LIS. L'NGS si è dimostrata affidabile per ottenere tipizzazioni senza ambiguità grazie all'analisi approfondita ed attenta con le numerose potenzialità del software TVS. Il processo sarà monitorato (C1.3) per i parametri di qualità ed i criteri di accettabilità; il mantenimento della formazione di tutti gli operatori, l'organizzazione e l'ottimizzazione dei flussi di lavoro sono elementi di attenzione per ridurre l'impatto delle criticità insite nella metodica (variabilità operatore-dipendente, tempi lunghi, passaggi manuali). L'automazione potrebbe essere di aiuto per migliorare la processività, la tracciabilità e la gestione di campioni e reagenti.

Abstract Code: AIB20803-57

## Tipizzazione HLA mediante NGS: qualifica del sistema di automazione Biomek i7 per la preparazione delle libraries

T. Melchiorre<sup>1</sup>, L. Rocchi<sup>1</sup>, M. Zompa<sup>1</sup>, A. Giordano<sup>1</sup>, R. Fiore<sup>1</sup>, D. Bongioanni<sup>1</sup>, E. Navaretti<sup>1</sup>, M. Berrino<sup>1</sup>, E. Dametto<sup>1</sup>, E. Garino<sup>1</sup>, G.A. Mazzola<sup>1</sup>, R. Chidichimo<sup>1</sup>, S. Deaglio<sup>1</sup>

(1) S. C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, Torino

Introduzione: il laboratorio di Immunogenetica e Biologia dei Trapianti di Torino utilizza dal 2017 la metodica NGS per la tipizzazione dei geni HLA. A marzo 2023 è stato introdotto e validato il sistema di automazione Biomek 4000 (Beckman Coulter) per la preparazione dei campioni e l'amplificazione dei geni HLA (FASE 1).

Obiettivi: dopo la FASE 1, il laboratorio ha iniziato a lavorare sulla validazione del sistema di automazione Biomek i7 (Beckman Coulter) per la preparazione del pool della libreria finale (frammentazione, ligazione, clean up, indexing, clean up) (FASE 2), allo scopo di incrementare la processività, introdurre la tracciabilità dei campioni e permettere all'operatore di dedicarsi ad altre attività di laboratorio durante il funzionamento dello strumento.

Materiali e metodi: sono state allestite 14 mandate da 95 campioni ciascuna (NGSgo® Library Full Kit Library Preparation and Indexing Kit For Illumina, GenDx) durante le quali il tecnico ha controllato che lo strumento eseguisse correttamente l'intero processo. Alla fine di ogni mandata è stata effettuata la misurazione della concentrazione della library mediante Qubit (Thermo Fischer), come controllo della buona riuscita del processo.

Risultati e discussione: le prime 5 sedute hanno richiesto l'intervento dello specialist per il fallimento, in 2 mandate, nella ricompattazione della piastra da processare (fase non inclusa nella procedura di preparazione library, ma fondamentale per garantire la continuità nell'automazione tra la FASE 1 e la FASE 2) e in 3 mandate nella preparazione della library a causa di crash strumentali o dispensazione non corretta dei volumi. Le successive 9 mandate consecutive sono state completate correttamente dallo strumento dall'inizio alla fine del processo. Le library ottenute sono

state caricate su MiSeq (Illumina) e analizzate con il software NGSengine (GenDx), fornendo risultati comparabili a quelli ottenuti con la preparazione manuale delle library. L'automazione è stata introdotta nella routine di laboratorio e al 31 luglio 2024 sono state effettuate 33 mandate per un totale di 3380 campioni senza fallimenti.

Conclusioni: Biomek i7 ha permesso al laboratorio di ottenere una completa tracciabilità del processo e una riduzione notevole del tempo operatore: l'esecuzione della FASE 2 in manuale prevedeva la contemporanea presenza di due tecnici per 4 ore, mentre in automazione è sufficiente per allestire la workstation un solo tecnico per 1 ora, che risulta poi libero di svolgere altre attività sino al termine della FASE 2 (circa 4 ore). Questo ha comportato una ottimizzazione delle risorse. Un ulteriore vantaggio è rappresentato dal fatto che la formazione dei tecnici risulta più semplice rispetto a quella necessaria per l'esecuzione manuale e quindi aumenta il numero di tecnici in grado di svolgere tale attività. La validazione e successiva introduzione dell'automazione rappresenta quindi un notevole passo avanti nei laboratori ad alta processività.

Abstract Code: AIB20805-59

## Un caso di tipizzazione ambigua al locus HLA-B di un donatore IBMDR: quando NGS da solo non basta

S. Agolini<sup>1</sup>, E. Carciro<sup>1</sup>, P. Ferrucci<sup>1</sup>, A.Z. Iliescu<sup>2</sup>, A. Vagnini<sup>2</sup>, A. Zoli<sup>1</sup>

(1) Laboratorio HLA e Registro Regionale dei Donatori di Midollo Osseo delle Marche (RRAN01) – Azienda Ospedaliero Universitaria delle Marche, Ancona, (2) Settore Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, UOSD Diagnostica ad Alta Complessità -AST PU -Ospedale San Salvatore, Pesaro

**Introduzione:** Il laboratorio HLA dell’Azienda Ospedaliero Universitaria delle Marche ha introdotto nel 2022 lo studio HLA ad alta definizione allelica con Next Generation Sequencing (NGS) utilizzando la piattaforma Illumina (MiniSeq), per lo studio dei donatori di midollo osseo related e unrelated e per i pazienti oncoematologici. L’utilizzo di questa tecnologia ha consentito un netto miglioramento nell’attività, ottimizzando l’organizzazione e i costi. Nonostante NGS permetta di studiare meglio sia gli esoni che gli introni, esistono ambiguità che non si possono risolvere solo attraverso NGS, come riscontrato durante lo studio di un donatore IBMDR (Italian Bone Marrow Donor Registry) delle Marche.

**Materiali e metodi:** l’estrazione di DNA veniva eseguita con il kit MagCore Whole Blood (Diatech). I metodi utilizzati dal laboratorio di Ancona per lo studio genomico sono stati: NGS con kit MFlex6 -Werfen, SSO con kit Lifecodes- Werfen, SSP BR(bassa risoluzione) con kit Histotype- Bag e SSP AR(alta risoluzione) con Kit Olerup- CareDx. Il laboratorio di Pesaro utilizzava per lo studio genomico il metodo SBT(Sequence Based Typing) con kit AlleleSEQR-GenDx e SSP BR con Kit Olerup- CareDx. Per l’interpretazione dei risultati venivano utilizzati i software di analisi dedicati: in Ancona per NGS Miafora, per SSO Luminex Match it, per SSP BR HistoMatch e per SSP AR Helmborg SCORE. A Pesaro per SSP BR e AR Helmborg SCORE software e per SBT SBT Engine software (GenDx).

**Risultati:** nel laboratorio di Ancona veniva eseguita la tipizzazione all’arruolamento nel registro IBMDR di un donatore caucasico delle Marche. Lo studio in NGS evidenziava la presenza di ambiguità al locus B con la seguente combinazione allelica: B\*45:01, \*49:01 oppure B\*44:18, 50:01. Per risolvere le ambiguità presenti, veniva eseguita una BR con SSO e SSP e poi AR con SSP (B\*44 e B\*49), ma il dubbio rimaneva irrisolto. Veniva inviato il DNA del donatore al laboratorio di Pesaro che procedeva a sequenziamento diretto degli esoni 1-5, applicando il GSSP B31+, ma permanevano le stesse ambiguità. L’allineamento degli esoni 2-3-4 con Sequence Alignment Tool del IPD -IMGT/ HLA database 3.57.0, mostrava sequenze omologhe (combinazioni cis/trans) all’interno degli esoni di entrambe le combinazioni alleliche. Analizzando tutti i dati ottenuti in SSP con Helmborg SCORE e integrandoli con il risultato del SBT, finalmente è stata risolta l’ambiguità, con il risultato finale HLA-B\*45:01, \*49:01.

**Conclusioni:** questo caso evidenzia come, nonostante l’inserimento nel laboratorio HLA di un metodo ad alta definizione allelica, per risolvere ambiguità che coinvolgono combinazioni omologhe cis/trans, rimane fondamentale il mantenimento in uso di metodiche alternative, con livelli di risoluzione diversi. Grazie alla collaborazione con il laboratorio HLA dell’ospedale San Salvatore di Pesaro, abbiamo ottenuto un risultato univoco con successivo inserimento del donatore nel database.

Abstract Code: AIB20806-60

## Valutazione del chimerismo da cellule CD34+ come possibile indicatore precoce di recidiva in un caso di Leucemia Mieloide Acuta

C. Billiani <sup>1</sup>, V. Buccino <sup>1</sup>, A. Mazzocchi <sup>1</sup>, A. Aiello <sup>2</sup>, M. Toma <sup>2</sup>, C. Carniti <sup>3</sup>, D. Ferrari <sup>1</sup>, L. Pusterla <sup>1</sup>, M. Zucchini <sup>1</sup>, F. Arienti <sup>1</sup>, M.C. Di Chio <sup>3</sup>, F. Taverna <sup>1</sup>

(1) Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano, (2) Struttura Complessa Anatomia Patologica 2 - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano, (3) Divisione di Ematologia e Trapianto di Midollo - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano

L'analisi del chimerismo (CHM) è un strumento utile per il monitoraggio dei pazienti sottoposti a trapianto di cellule staminali ematopoietiche (CSE) ed è di supporto al clinico nel valutare eventuali trattamenti terapeutici prima della comparsa di manifestazioni cliniche di recidiva. Lo studio del CHM viene eseguito generalmente su sangue periferico (SP), sangue midollare (SM) e sottopopolazioni linfocitarie, principalmente CD3<sup>+</sup>. Tuttavia, dati riportati in letteratura suggeriscono la valutazione del CHM da cellule CD34<sup>+</sup> come indicatore precoce di recidiva in pazienti affetti da leucemia mieloide acuta (AML) o sindrome mielodisplastica (MDS).

Riportiamo il caso di una paziente (pz) affetta da AML con anomalie citogenetiche associate a mielodisplasia, sottoposta a trapianto di CSE da donatore maschio non familiare con compatibilità HLA 10 loci su 10 a giugno del 2021. Per comorbidità è stato eseguito un condizionamento non mieloablativo (Flu/TBI2Gy) e profilassi della GVHD con ATG, micofenolato e ciclosporina.

Durante il follow up sono state eseguite l'analisi del CHM, mediante analisi di Short Tandem Repeat (STR) con kit PowerPlex Fusion System (Promega), e la ricerca di malattia misurabile residua (MRD), mediante citofluorimetria a flusso (BD FACSCanto II) con un pannello a 8 colori basato sulle caratteristiche immunofenotipiche della malattia (LAIP: CD34+ CD117+ CD33-/ + HLADR- CD38 eterogeneo).

L'analisi del CHM su SP e SM ha evidenziato un valore  $\geq 97\%$  di cellule di donatore (chimerismo full donor) dall'inizio del monitoraggio (1-35 mesi), mentre la percentuale osservata su sottopopolazione linfocitaria CD3<sup>+</sup> da SP presentava un CHM misto fino al mese (m) 32 (93.2% +9m, 88.6% +12m, 94.9% +19m, 96.8% +22m, 96.7% +32m, 98.4% +35m). Lo studio della MRD, dopo un iniziale periodo di negativizzazione, ha identificato su SM un clone aberrante (0.06% dei leucociti +30m) che si è gradualmente espanso nei

successivi 5 mesi (1% +35m), suggerendo una recidiva molecolare di malattia. Tale ipotesi è stata confermata dal dato di chimerismo ottenuto su cellule CD34<sup>+</sup> isolate da SM a +32m (%donatore = 83.3%) e dall'analisi FISH che ha evidenziato un numero di cellule con corredo cromosomico femminile (pz) crescente (0.005% +32m, 0.01% +33m, 0.02% +35m). La pz quindi, pur essendo ancora in remissione ematologica (blasti <5%), presenta un progressivo incremento della popolazione di blasti atipici che l'analisi del CHM condotta in routine non ha permesso di evidenziare.

I nostri dati suggeriscono che l'analisi con metodo STR del CHM post-trapianto eseguita su sottopopolazione cellulare selezionata sulla base della patologia può rilevare la presenza di recidiva più precocemente rispetto alle analisi eseguite in routine.

Abstract Code: AIB20807-61

## Cinetica del DNA circolante derivante dal donatore (dd-cfDNA) nella fase precoce post trapianto di rene

M.L. Mattei<sup>1</sup>, S. Palchetti<sup>1</sup>, A. Brogi<sup>1</sup>, S. Rossinelli<sup>1</sup>, M. Betti<sup>1</sup>, S. Iozzi<sup>1</sup>, M. Bartiromo<sup>2</sup>, F. Cutinelli<sup>1</sup>, L. Cirami<sup>2</sup>, S. Serni<sup>3</sup>, E. Pelo<sup>1</sup>

(1) SODc Diagnostica Genetica AOU Careggi, Firenze, (2) SOD Nefrologia Dialisi e Trapianto AOU Careggi, Firenze, Italy, (3) SOD Chirurgia urologica robotica, mininvasiva e dei trapianti renali AOU Careggi, Firenze

Recenti studi hanno proposto il dosaggio della frazione plasmatica del DNA libero circolante derivato da donatore (%dd-cfDNA), rilevabile nel plasma di riceventi di trapianto, come marcatore precoce non invasivo del danno d'organo. Infatti la morte cellulare, che può essere dovuta a varie cause tra cui il rigetto dell'organo, comporta l'aumento della %dd-cfDNA. Per questo è stato suggerito il monitoraggio della %dd-cfDNA come biomarcatore precoce del rischio di rigetto: valori bassi suggeriscono l'assenza di lesioni e quindi un basso rischio di rigetto, la persistenza di elevati valori viceversa la presenza di danno d'organo e quindi potrebbe influenzare la decisione di un'eventuale biopsia.

Sono stati raccolti campioni di 12 riceventi di rene ed è stata quantificata la %dd-cfDNA in prelievi seriali dal giorno 3 post-trapianto, mediante next generation sequencing (NGS, Devyser AcceptcfDNA), contemporaneamente alla ricerca dei DSA mediante test Luminex single-antigen I e II classe (Immucor). I riceventi hanno mostrato diverse cinetiche della %dd-cfDNA. Sei pazienti hanno mostrato una cinetica esponenziale, paragonabile ai dati di letteratura per un trapianto stabile, con diminuzione della %dd-cfDNA, dopo un picco iniziale (media di 0,7% (SD 0,1) al giorno 10) e una buona funzionalità renale. Non sono stati identificati DSA.

Sei pazienti hanno presentato una cinetica particolare, di cui presentiamo tre casi. Il primo, dopo un iniziale miglioramento di eGFR e creatinina, ha presentato un peggioramento della funzionalità renale con trombocitopenia. Il valore %dd-cfDNA il giorno 2 era del 9,8%, poi è sceso allo 0,6% al giorno 36 e allo 0,1% al giorno 124. La biopsia ha mostrato evidenza di microangiopatia trombotica, in assenza di rigetto. Non sono stati identificati DSA.

Un secondo paziente ha presentato un aumento della %dd-cfDNA al giorno 10 (7,4%) e un peggioramento dei marcatori della funzionalità renale, seguito da un calo fino al 2,3% al giorno 17. È stata esclusa infezione del tratto urinario. L'analisi Luminex ha mostrato una MFI incrementata del DSA DR7 pretrapianto. La biopsia ha mostrato evidenza di infiammazioni microvascolari, in assenza di rigetto.

Un terzo paziente ha presentato un buon recupero della funzionalità renale, ma un leggero aumento della %dd-cfDNA al giorno 11 (2,7%) con picco del valore di PCR e leucocitosi. Gli esami infettivi hanno evidenziato un'infezione da *k.pneumoniae*, poi risolta. Il giorno 36 la %dd-cfDNA era pari a 0,3%.

In conclusione una cinetica anomala della %dd-cfDNA nei casi riportati ha suggerito la presenza di danno clinico o subclinico all'organo trapiantato, in linea con i dati di letteratura. In una fase successiva l'integrazione di questo biomarcatore nei protocolli di follow-up post trapianto permetterà di effettuare una stratificazione del rischio di rigetto per i pazienti meno a rischio, ai fini di prolungare potenzialmente la sopravvivenza a lungo termine del rene e indirizzare le scelte terapeutiche.

Abstract Code: AIB20808-62

## Trapianto renale da vivente da donatore identico: rivalutazione a distanza di 46 anni

A. Pecoraro<sup>1</sup>, R. Bavetta<sup>1</sup>, A.A. Corica<sup>1</sup>, F. Di Paola<sup>1</sup>, M. Blando<sup>1</sup>, G. Davì<sup>1</sup>, I. Aiello<sup>1</sup>, F. Ingrassia<sup>1</sup>, S. Mistretta<sup>1</sup>, F. Bruno<sup>1</sup>, T. Traina<sup>1</sup>, R. Fedele<sup>1</sup>, V. Cappuzzo<sup>1</sup>

(1) UOS HLA 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

**Introduzione.** Il trapianto di rene è la terapia di elezione per i pazienti affetti da insufficienza renale cronica terminale, sia per i vantaggi in termini di sopravvivenza, sia di qualità di vita in quanto consente di condurre una vita normale, svincolata dall'obbligo della dialisi. Nell'ambito del trapianto da vivente, uno dei principali vantaggi che contribuisce alla superiorità in termini di risultati, rispetto al trapianto da donatore deceduto, è il periodo ridotto che intercorre tra il prelievo e il trapianto dell'organo che consente una più rapida ripresa funzionale ed influisce positivamente sulla durata del trapianto. Ulteriori vantaggi sono la programmabilità dell'intervento e la possibilità di esecuzione prima dell'inizio della terapia dialitica (trapianto preemptive).

**Caso clinico.** Il ricevente di rene descritto C.E. n. 20-02-1946 è stato valutato tra novembre e dicembre del 1976 per determinare l'istocompatibilità con tutti i membri familiari. In breve: 1) tutti i membri familiari erano ABO compatibili; 2) il typing HLA ha mostrato identità con la sorella C.C. n.15-04-1941; 3) nel siero non erano stati riscontrati anticorpi linfocitotossici diretti contro gli altri componenti della famiglia. Più in dettaglio, in merito al typing, lo studio familiare aveva evidenziato i seguenti aplotipi: Padre *ab*, Madre *cd*, il ricevente e una sorella *bc*, un fratello *ad*, una sorella *ac* dove *a*= A2, B12, Cw5; *b*=A11, B12 Cw5; *c*=A2, B18; *d*=Aw30-31, B12. Il trapianto renale è avvenuto il 21 giugno 1977 a New York con esito positivo, successive dimissioni il 5 luglio e ritorno in Italia nel settembre successivo. Nel giugno 2024, il paziente, in buone condizioni cliniche, viene rivalutato in merito alla possibilità di sospendere la ciclosporina come immunosoppressore. La valutazione anticorpale è stata eseguita presso il nostro Laboratorio ed a quel punto è stato ritenuto opportuno eseguire il typing HLA sulla coppia donatore/ricevente mediante NGS, ottenendo il seguente risultato per entrambi i membri della coppia: A\*02:01:01, \*11:01:01; B\*18:01:01, \*44:02:01; C\*05:01:01, \*07:01:01; DRB1\*03:01, \*11:03; DRB3\*02:02; DQA1\*05:01:01, \*05:05:01; DQB1\*02:01:01, \*03:01P; DPA1\*01:03:01, -; DPB1\*02:01, -. Lo studio del siero del paziente ha evidenziato anticorpi verso DP28 (4374 MFI). La genotipizzazione dei KIR ha mostrato un genotipo B/x per entrambi: AA/BB il ricevente e BB/AB il donatore. Il paziente attualmente esegue in trattamento di blanda immunosoppressione.

**Conclusioni.** Il caso clinico descritto conferma che l'alta compatibilità genetica è un fattore prognostico favorevole per l'esito del trapianto. A tal proposito emerge come la conoscenza del genotipo KIR potrebbe essere un altro utile parametro che influenza positivamente l'esito del trapianto e dunque potrebbe rientrare tra gli esami di routine anche per i trapianti di organi solidi.

Abstract Code: AIB20809-63

## Frequenza del locus HLA- DRB4 nei pazienti con tumore desmoide

M. Zucchini<sup>1</sup>, L. Bergamaschi<sup>2</sup>, F. Rini<sup>2</sup>, L. Pusterla<sup>1</sup>, C. Billiani<sup>1</sup>, V. Buccino<sup>1</sup>, D. Ferrari<sup>1</sup>, S. Redaelli<sup>3</sup>, F. Taverna<sup>1</sup>, L. Rivoltini<sup>2</sup>, F. Arienti<sup>1</sup>, A. Mazzocchi<sup>1</sup>, C. Colombo<sup>4</sup>, V. Vallacchi<sup>2</sup>

(1) Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano, (2) Struttura Semplice Dipartimentale Immunologia Traslazionale - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano, (3) Struttura Semplice Dipartimentale Stabulario - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano, (4) Struttura Complessa Chirurgia Generale, Sarcomi - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano

Il tumore desmoide (TD) è un raro sarcoma dei tessuti molli, caratterizzato da una crescita di tipo infiltrativo senza capacità metastatica, ma con una marcata tendenza alle recidive locali dopo chirurgia. L'incidenza stimata è di circa 3-5 casi su 1 milione all'anno. Il decorso clinico osservato nei pazienti (pz) con TD posti in sorveglianza attiva è eterogeneo essendo caratterizzato da una forma stabile di malattia (*stable disease*, SD, 50%), da progressione (PROG, 30%) o da regressione (REG, 20%).

Per identificare fattori prognostici utili per la stratificazione dei pazienti, è stata effettuata l'analisi del profilo trascrizionale di biopsie tumorali diagnostiche da 12 pz con TD utilizzando il kit nCounter PanCancer Immune Profiling Panel basato su tecnologia Nanostring. Questa analisi ha quantificato nel tessuto tumorale l'espressione di 770 geni principalmente coinvolti nella proliferazione cellulare e nella risposta immunitaria innata e adattativa. In base al decorso clinico, i pz sono stati suddivisi nei gruppi PROG (N=5) e REG (N=7). L'analisi ha evidenziato una maggiore espressione del gene HLA-DRB4 nel gruppo di pz REG. Per approfondire questo dato è stata effettuata la tipizzazione dei loci HLA-DRB1 e HLA-DRB3/4/5 nel sangue periferico di 56 pz affetti da TD (maschi 12/56, 21% e femmine 44/56, 79%). La tipizzazione HLA in alta risoluzione è stata effettuata con metodica NGS su piattaforma iSeq 100 (Illumina) con kit NGSgo-AmpX v2 HLA-DRB1 e NGSgo-AmpX v2 HLA-DRB3/4/5 (GenDX).

Dei 56 pz, 23 pz (41%) sono risultati DRB4+ (2 pz DRB4\*01:03:01:02N sono stati considerati DRB4- per allinearsi all'iniziale osservazione basata sull'espressione del gene). La comparazione con le frequenze nella popolazione caucasica è stata possibile considerando la positività a DRB4\*01 che nel nostro campione coincide con la presenza del locus DRB4. I pz con TD hanno presentato una maggiore percentuale di DRB4\*01+ rispetto alla popolazione caucasica (41% vs 28%).

Per valutare un'eventuale associazione tra DRB4+ e andamento della malattia, i 56 pz con TD sono stati così suddivisi: 19/56 (34%) nel gruppo PROG, 14/56 (25%) nel gruppo REG, 22/56 (39%) nel gruppo SD e 1/56 non valutabile per assenza di informazioni sul follow-up. La frequenza del locus DRB4 è risultata maggiore nei pz REG (9/14, 64%) rispetto ai PROG (9/19, 47%), suggerendo un possibile coinvolgimento del DRB4 nel decorso della malattia.

Inoltre, nei pz con TD è stata osservata anche una maggiore incidenza di patologie autoimmuni (AI) rispetto alla popolazione generale. L'analisi combinata dei fattori (DRB4 e AI) ha evidenziato differenze tra i gruppi REG e PROG: la combinazione DRB4+/AI- rilevata nel 50% (7/14) dei casi REG e nel 26% (5/19) dei casi PROG.

In conclusione, questi dati suggeriscono un potenziale ruolo del locus DRB4 nel decorso della malattia nei pz con TD. Studi in corso sull'immunità cellulare potrebbero fornire nuove evidenze sul ruolo di HLA-DRB4 nella risposta anti-tumore.

Abstract Code: AIB20810-55

## Indice di "Discrepant typing" (KPI5) del registro IBMDR

N. Sacchi<sup>1</sup>, C. Costa<sup>1</sup>

(1) IBMDR, E.O. Ospedali Galliera, Genova

### Introduzione

La WMDA (World Marrow Donor Association) definisce alcuni indicatori (Key Performance Index, KPI) per monitorare le prestazioni dei registri. Questi KPI rappresentano la valutazione di alcune attività cruciali dei registri e si basano sui dati che gli stessi dichiarano. Fra questi il KPI5 è finalizzato a valutare le discrepanze nella tipizzazione riscontrate fra registri diversi nel momento in cui viene ripetuto l'HLA da altro laboratorio per tipizzazione di verifica (VT) sia di donatori adulti che di unità di sangue cordonale (SCO). L'obiettivo di KPI 5 è di monitorare la qualità delle tipizzazioni e identificare possibili margini di miglioramento.

### Materiale e metodi

Le segnalazioni di tipizzazione non congruente vengono raccolte dai registri nazionali ogni qualvolta l'HLA con il quale il donatore è listato nei database della ricerca non risulta confermato al VT. I singoli registri verificano con i laboratori del Centro Trapianti (CT) e del Centro Donatori (CD) coinvolti la causa e l'eventuale imputabilità dell'errore e se questo è ascrivibile al CD lo segnalano al WMDA. Il KPI 5 è calcolato come rapporto fra il numero di VT con un errore imputabile al CD, rispetto al totale dei test eseguiti.

Nella presente comunicazione prendiamo in considerazione le segnalazioni fatte da IBMDR a WMDA relativamente alle discrepanze riscontrate nei donatori adulti.

### Risultati

Nel 2023 sono stati ri-testati al VT 1537 campioni da donatore adulto IBMDR. Fra questi 21 hanno evidenziato tipizzazioni discrepanti rispetto a quelle con cui i donatori erano listati. Ad una analisi retrospettiva ne sono state risolte 17, di cui 15 imputabili ai CD IBMDR e 2 al laboratorio di riferimento del CT. Fra le 15 imputabili ai CD, 14 sono dovute ad errori di tipizzazione o digitazione e in una vi è stato uno scambio completo di campione (Tabella 1). Di queste 14 tipizzazioni, 8 riguardano un errore di assegnazione di un allele al locus A, 2 al B, 2 al C e 2 al DRB1. Tali riscontri hanno determinato per IBMDR un KPI 5 pari a 0,91. Il valore WMDA di riferimento corrisponde a 0.25 (mediana 0.06), pertanto i dati italiani (ION 7450) risultano fra i più alti a livello mondiale (Fig. 1).

### Discussione

Analizzando le 17 discrepanze risolte, l'88% risulta imputabile ai laboratori di riferimento dei CD, quasi il doppio rispetto al dato globale riportato da WMDA (45%). I donatori coinvolti sono stati tutti reclutati dal 2007 al 2020, con una tipizzazione assegnata dal CD, non eseguita con NGS (probabilmente in SSO e/o SBT). In particolare, ad una analisi retrospettiva, 5 errori (4 al locus A e 1 al locus DRB1) sono dovuti a mancata risoluzione delle ambiguità con assegnazione a priori dell'allele più frequente. E' auspicabile che l'implementazione nei laboratori HLA italiani di tecniche all'avanguardia come NGS, ormai ampiamente in uso, limitino fortemente la ricorrenza di questi errori.

HLA Discrepancies in unrelated donors	
Discrepancy information by CT/VT request for adult donors	
Number of CT/VT requests where CT/VT results were received during 2023	1537
Number of CT/VT requests where CT/VT results were received with discrepancies during 2023	21
Number of CT/VT requests with completely resolved discrepancies during 2023	17
Number of CT/VT requests with registry errors during 2023	14
Number of CT/VT requests with transplant center (TC) errors during 2023	2
Number of CT/VT requests with sample switch errors during 2023	1
Number of CT/VT requests with unresolved discrepancies during 2023	4

Tabella 1

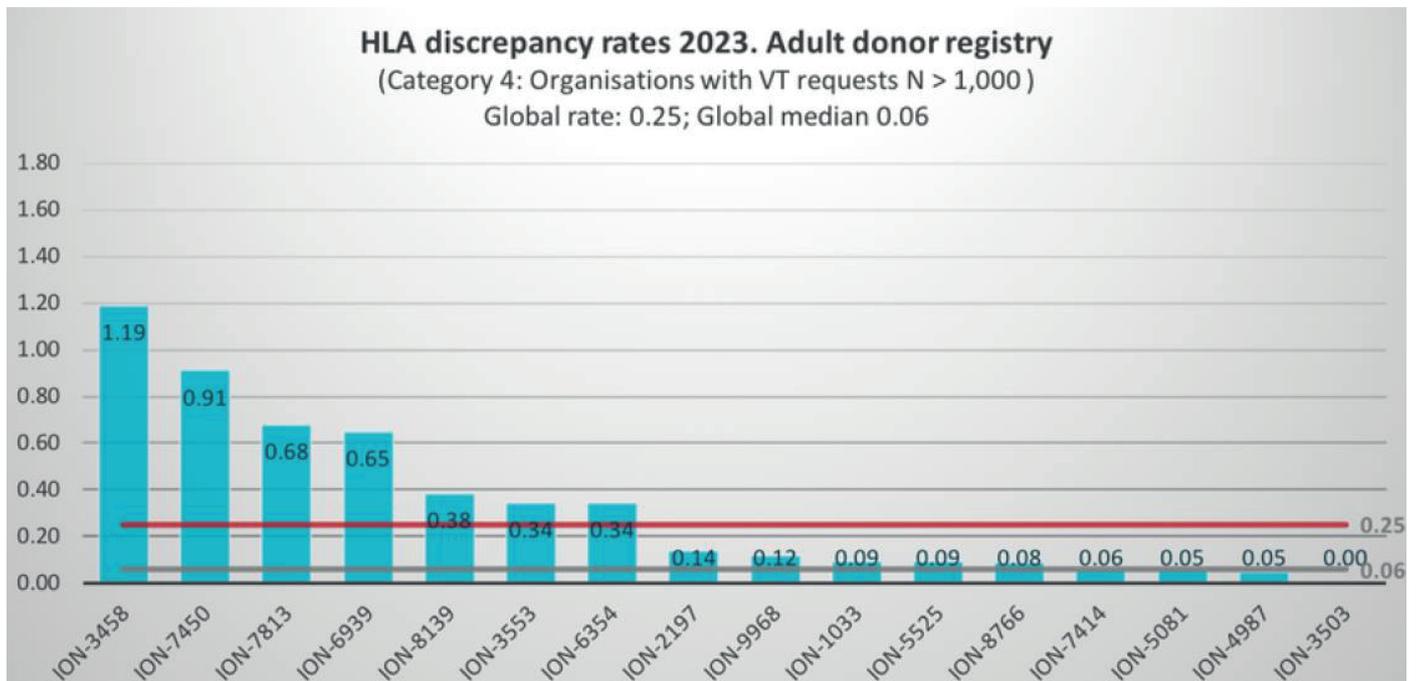


Figura 1

Abstract Code: AIB20811-56

## Caratteristiche HLA dei potenziali donatori di midollo osseo: esperienza del laboratorio HLA di Genova

L. Garbarino <sup>1</sup>, M. Mazzocco <sup>1</sup>, B. Murgia <sup>1</sup>, A. Carputo <sup>1</sup>, C. Illengo <sup>1</sup>, A. Gallina <sup>1</sup>, N. Ceschini <sup>2</sup>, G. Matarese <sup>3</sup>, E. Longhi <sup>4</sup>, N. Sacchi <sup>1</sup>

(1) Laboratorio di Istocompatibilità, E.O. Ospedali Galliera, Genova, (2) LABORATORIO HLA SIT, OSPEDALE SANTA CHIARA, TRENTO, (3) IMMUNOGENETICA TRAPIANTI, AOU FEDERICO II, NAPOLI, (4) Lab Immunologia dei Trapianti, Ospedale Maggiore Policlinico, MILANO

### Introduzione

I geni HLA sono altamente polimorfici e strutturalmente complessi e la frequenza dei relativi alleli, aplotipi, fenotipi, varia ampiamente tra le popolazioni umane.

In questo studio riportiamo quanto riscontrato in circa 2.000 donatori italiani di midollo osseo, iscritti al registro nazionale (IBMDR) e tipizzati in NGS per gli alleli HLA A, B, C, DRB1, DQB.

### Materiale e metodi

La nostra analisi ha preso in considerazione i candidati donatori iscritti nel corso del 2023 pari a 2035 soggetti.

Fra questi 398 (19,5%) sono afferenti al registro Ligure e i restanti provenienti da altre regioni su delega dei rispettivi registri regionali e centri donatori: Trentino 735 (36%), Lombardia 659 (32%) e Campania 243 (12%). La tipizzazione è stata eseguita con kit GenDX NGSgo su MiSeq Illumina, singoli loci. Per evitare bias, gli alleli con mutazioni sinonime all'interno o all'esterno degli esoni rilevanti sono stati incorporati con i corrispondenti alleli a due campi e gli alleli che differiscono per mutazioni non sinonime al di fuori degli esoni rilevanti sono stati accorpati e identificati con la lettera "g" ("gruppo") aggiunta al primo allele possibile. I dati sulla frequenza allelica sono stati ottenuti mediante conteggio manuale; le frequenze dei fenotipi sono state calcolate utilizzando l'algoritmo di massimizzazione delle aspettative (EM).

### Risultati

Sono stati osservati un totale di 50 alleli al locus HLA-A, 94 al B, 42 al C, 55 al DRB1, 20 al DQB che rappresentano rispettivamente lo 0,59%, 0,93%, 0,49%, 1,4%, 0,76% degli alleli noti a ciascun locus (IPD-IMGT/HLA Database Release 3.57, 07/2024). Il locus con il numero maggiore di alleli riscontrati è stato HLA-B ma il maggior polimorfismo rispetto agli alleli noti è stato rilevato al DRB1. Sono stati anche identificati quattro alleli NEW, di cui due al locus B e uno rispettivamente al C e al DQB.

Nella tabella 1 sono riportati il numero di alleli riscontrati, l'allele più frequente e il numero di alleli NEW per i loci analizzati. Sullo stesso campione sono anche state calcolate le frequenze aplotipiche e fenotipiche. L'aplotipo più frequente si conferma essere A\*01:01~B\*08:01~C\*07:01~DRB1\*03:01~DQB\*02:01(3.1%).

Su 2035 soggetti sono stati riscontrati 1995 fenotipi di cui 1960 (98%) unici all'interno del campione analizzato e 1656 unici rispetto al database nazionale. I 5 fenotipi più frequenti (FF > 0,00074) sono riportati in tabella 2.

### Conclusioni

Le frequenze riscontrate nel nostro studio sono sovrapponibili a quelle dello studio italiano. E' interessante riscontrare che l'84% dei fenotipi del nostro campione risultano unici anche rispetto al database nazionale.

Questo conferma che è ancora utile il reclutamento sul territorio italiano, poiché con elevata probabilità vengono immessi nel registro IBMDR fenotipi non ancora presenti.

Locus	A	B	C	DRB1	DQB
<b>numero alleli</b>	50	94	42	55	20
<b>alleli new</b>	0	2	1	0	1
<b>allele più frequente</b>	0201g	5101g	0401g	0701g	0301g

Tabella 1

A1	A2	B1	B2	C1	C2	DRB11	DRB12	DQB1	DQB2	Frequenza
0101g	0101g	0801g	0801g	0701g	0701g	0301g	0301g	0201g	0201g	0,002006104
0101g	3001g	0801g	1302g	0602g	0701g	0301g	0701g	0201g	0201g	0,000835995
0101g	0301g	0702g	0801g	0701g	0702g	0301g	1501g	0201g	0602g	0,000741904
0101g	2902g	0801g	4403g	0701g	1601g	0301g	0701g	0201g	0201g	0,000740883
0101g	0201g	0801g	1801g	0701g	0701g	0301g	1104g	0201g	0301g	0,000697194

Tabella 2

Abstract Code: AIB20812-57

## Strategia di desensibilizzazione applicata ad un caso di alloimmunizzazione anti-HLA ad elevato MFI

### DESENSIBILIZZAZIONE APPLICATA AD UN CASO DI ALLOIMMUNIZZAZIONE ANTI-HLA AD ELEVATO MFI

U. La Rocca<sup>1</sup>, P. Gesuiti<sup>2</sup>, A.L. Faccini<sup>3</sup>, W. Barberi<sup>3</sup>, M. Shafii Bafti<sup>2</sup>, L. Laurenti<sup>2</sup>, R. Ricci<sup>3</sup>, C. Cavallari<sup>2</sup>, A. Tudisco<sup>2</sup>, M. Salvatori<sup>3</sup>, F. Kaiser<sup>3</sup>, A.P. Iori<sup>3</sup>, M.P. Perrone<sup>2</sup>

(1) Ematologia, Dipartimento di Medicina Traslazionale e di Precisione, Università Sapienza, Roma; Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia; (2) Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Università Sapienza, Roma, (3) Ematologia, Dipartimento di Medicina Traslazionale e di Precisione, Università Sapienza, Roma

**INTRODUZIONE** Nel trapianto di cellule staminali ematopoietiche (TCSE), dato il rischio di *graft failure*(GF)/*poor graft function*(PGF), l'identificazione di anticorpi anti-HLA donatore specifici (DSA) rappresenta una controindicazione a procedere con lo stesso donatore (D), indicando la necessità di un D alternativo o di desensibilizzazione anticorpale (DA). Le linee guida EBMT evidenziano come per valori di mean fluorescence intensity (MFI)>5000 la probabilità di sviluppare GF aumenti. D'altro canto, molte esperienze evidenziano come per MFI>20.000, le DA potrebbero non avere successo. Viene di seguito presentato l'approccio DA applicato ad un caso di alloimmunizzazione con MFI >20.000. **CASE REPORT** Una donna di 59 anni con diagnosi di leucemia mieloide acuta (LMA) FLT3-NPM+, candidata a TCSE aploidentico, mostrava un ampio spettro di anticorpi anti-HLA ed i seguenti DSA: A\*02:01 (MFI20.347), DRB1\*16:01 (MFI20.559); DQB1\*05:02 (MFI1.658). Non disponendo di D alternativi, è stata utilizzata una DA con rituximab (375 mg/m<sup>2</sup>, g -21); 5 plasmaferesi (gg -15, -14, -8, -1 e 0); immunoglobuline endovena (IVIG) nei gg -11 e -7 (800 mg/Kg); infusione di 3 unità di piastrine HLA per l'assorbimento dei DSA (gg -1 e 0). Il monitoraggio dei DSA, eseguito con metodo *beads-based immunoassay*, tecnologia Luminex (Lifecodes single antigen-LSA I e II-Immucor) ha mostrato una lenta diminuzione, con i seguenti valori al momento dell'infusione: A\*02:01 (MFI1442); DRB1\*16:01 (MFI3550); DQB1\*05:02 (MFI169). Al g+14 post-TCSE, la valutazione anticorpale mostrava esito negativo, confermato 4 mesi dopo. L'attecchimento in neutrofili e piastrine è stato ottenuto, rispettivamente, nei gg +23 e +60, in assenza di rebound anticorpale. Sei mesi post-TCSE, la paziente ha manifestato una riattivazione del CMV, trattato con valganciclovir e immunoglobuline antivirali, con negativizzazione 7 mesi post-TCSE. Nel follow up post-trapianto, all'esame emocromocitometrico, è emerso un quadro di citopenia con fabbisogno trasfusionale, trattato con un agonista del recettore della trombopoietina (TPO-RA). La paziente, 8 mesi post-TCSE, è in buone condizioni generali, in remissione molecolare, con chimerismo completo, e non necessita di supporto trasfusionale. **CONCLUSIONE** Nonostante la DA, in caso di MFI >20 000, vi è un elevato rischio di GF e PGF, elevata *non relapse mortality* e ridotta *overall survival*. Il caso descritto mostra sicurezza ed efficacia dei trattamenti impiegati anche per DSA elevati. Il quadro di citopenia osservato rappresenta, probabilmente, la conseguenza della riattivazione virale e relativi trattamenti, ma non possiamo escludere un impatto dei DSA. La disponibilità di protocolli di DA rappresenta un'importante opportunità in caso di urgenza trapiantologica ed indisponibilità di D alternativi. In tal senso, la collaborazione tra trapiantologi, trasfusionisti, e specialisti in immunogenetica è essenziale per bilanciare il rischio immunologico e l'urgenza trapiantologica.

**Abstract Code: AIB20813-58****Determinazione di "HLA-loss" in due pazienti sottoposti a trapianto di cellule staminali emopoietiche da donatore HLA aploidentico.**

La perdita di eterozigosi (LOH) è un evento genetico che si verifica in circa il 30% dei casi di recidiva dopo trapianto di cellule staminali aploidentiche. In questo studio presentiamo i dati relativi a due pazienti, tipizzati nel nostro laboratorio, che hanno mostrato una LOH sul cromosoma 6. Nel primo caso (C#1) si tratta di un maschio adulto di 66 anni, con un esordio di Leucemia Mieloide Acuta nel 2015 e sottoposto a trapianto nel 2016 dalla figlia aploidentica (C#2). Dopo 4 anni dal trapianto abbiamo registrato la presenza di una recidiva di malattia, con un chimerismo misto del 70% di cellule del donatore e 30% del ricevente. La Tabella 1 mostra le differenze della tipizzazione HLA eseguita su sangue periferico del paziente nella fase pre-trapianto rispetto al post-trapianto, eseguita su midollo osseo dopo 5 anni dal trapianto, in una fase di recidiva di malattia (C#3).

Tabella 1 - Tipizzazione HLA pre- e post-trapianto del paziente 1 in NGS			
	<b>C#1 - Pre-TMO</b>	<b>C#2 - Donatore</b>	<b>C#3 - Post-TMO</b>
HLA-A*	<b>01:01</b> , 03:01	03:01, 24:563	03:01, 24:563
HLA-B*	14:02, <b>15:17</b>	14:02, 51:01	14:02, 51:01
HLA-C*	<b>07:01P</b> , 08:02	08:02, 16:02	08:02, 16:02
DRB1*	11:04, 13:02	11:04, 13:02	11:04, 13:02
DQB1*	01:02P, 05:01P	01:02P, 05:01P	01:02P, 05:01P

Per confermare la perdita dell'eterozigotità, è stata eseguita anche un'analisi SNP-array sui campioni C#1, C#2 C#3. La valutazione dei marcatori polimorfici SNP nel campione C#3 (in fase di recidiva) ha confermato un profilo misto con il 70% di cellule del donatore e di cellule del ricevente 30% ricevente. Inoltre, il braccio corto del cromosoma 6, nella regione 6pter → 6p12.2 ha mostrato un profilo di frequenza allelica peculiare, compatibile con LOH. La regione 6p24.3→6p21.33 (hg38:10 Mb-31.6 Mb), dove sono localizzati i loci HLA, ha mostrato la perdita selettiva degli alleli che il ricevente non condivideva con il donatore. E' stato analizzato l'assetto dei recettori KIR per valutare se la perdita selettiva degli alleli HLA potesse causare una riduzione della potenziale attività di sorveglianza delle cellule NK diretta verso le cellule mutate. Dal momento che gli epitopi HLA classe I, ligandi dei recettori KIR, risultano uguali tra donatore e paziente, la reattività NK viene mantenuta. Inoltre, sono stati valutati gli anticorpi anti HLA, risultati negativi. Tali analisi hanno confermato un escape immunologico dei blasti leucemici con perdita dell'espressione dei geni di HLA di classe I. La seconda paziente, femmina di 55 anni, candidata a TMO dal fratello aploidentico presentava un chimerismo misto con il 18% di cellule del donatore e 82% di cellule del ricevente sull'aspirato midollare. Anche in questo caso, la tipizzazione HLA eseguita su DNA pre-trapianto del paziente (M#1), è risultata discrepante rispetto al paziente in una fase post-trapianto, come mostrato nella Tabella 2.

Tabella 2 - Tipizzazione HLA pre- e post-trapianto del paziente 2 in NGS			
	<b>M#1 - Pre-TMO</b>	<b>M#2 - Donatore</b>	<b>M#3 - Post-TMO</b>
HLA-A*	24:02:01, <b>69:01:01</b>	24:02:01, 30:01:01	24:02:01, 30:01:01
HLA-B*	40:01:02, <b>58:01:01</b>	40:01:02, 50:01	40:01:02, 50:01
HLA-C*	<b>03:02:02</b> , 03:04:01	03:04:01, 06:02:01	03:04:01, 06:02:01
DRB1*	<b>11:01:01</b> , 13:02:01	03:01, 13:02:01	03:01, 13:02:01
DQB1*	<b>03:01:01</b> , 06:04:01	02:01, 06:04:01	02:01, 06:04:01

Per confermare l'LOH dei loci HLA I e II classe, abbiamo eseguito anche in questo caso l'analisi con SNP array sui campioni biologici M#1 e M#3 del paziente e sul campione di sangue periferico del donatore M#2. Nella regione 6pter -> 6p21.31 abbiamo evidenziato un profilo di frequenza allelica compatibile LOH. In particolare, la regione 6p22.3 -> 6p21.31 (hg38:23.6 Mb-34 Mb), in cui mappano i loci HLA, ha mostrato la perdita selettiva degli alleli che il ricevente non condivide con il donatore.

Abstract Code: AIB20814-59

## HLA-DQ9 e celiachia: un antigene fuori dal coro?

I. Abruscio<sup>1</sup>, N. Gabriele<sup>1</sup>, G. Latella<sup>2</sup>, A. Viscido<sup>2</sup>, R. Azzarone<sup>1</sup>, M. Scimitarra<sup>1</sup>, O. Valdez<sup>1</sup>, C. Cervelli<sup>1</sup>, M.G. Tupone<sup>1</sup>, C. Battistoni<sup>1</sup>, A. Costanzi<sup>1</sup>, D. Pulcinelli<sup>1</sup>, S. Scacchi<sup>1</sup>, S. Scipione<sup>1</sup>, B. Spaziani<sup>1</sup>, V. Torrelli<sup>1</sup>, F. Papola<sup>1</sup>

(1) Centro Regionale di Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale, ASL1 Abruzzo, (2) UOSD Gastroenterologia, epatologia e nutrizione, ASL1 Abruzzo - Università degli Studi dell'Aquila

È generalmente accettato che la malattia celiaca sia causata dal riconoscimento anomalo dei peptidi derivati dal glutine da parte dei linfociti T della mucosa intestinale. Circa il 90% dei pazienti sono portatori dell'antigene HLA-DQ2 mentre la restante parte è portatrice di DQ8. Finora sono stati identificati tre diversi peptidi derivati dal glutine che vengono riconosciuti dai linfociti T isolati dalle biopsie intestinali di celiaci. Due di questi peptidi derivano dalla gliadina (gda09:198-232 e gdb2:134-153) e il terzo dalla glutenina (glt04:707-742). I frammenti della gliadina 198-232 e della glutenina 707-742 vengono riconosciuti nel contesto dell'antigene DQ8 associato alla malattia, mentre l'epitopo della gliadina 134-153 è limitato a DQ2. La molecola HLA-DQ8 è altamente omologa alla molecola DQ9 (DQA1\*0301/B1\*0303). Queste due molecole condividono una catena  $\alpha$  identica (DQA1\*0301) e hanno catene  $\beta$  quasi identiche poiché differiscono solo in un residuo amminoacidico in posizione  $\beta$ 57. In particolare, DQ8 presenta un'alanina in posizione  $\beta$ 57, mentre HLA-DQ9 presenta un'aspartato. L'assenza di aspartato in posizione  $\beta$ 57 è considerata una caratteristica funzionale particolarmente importante della molecola HLA-DQ8 associata alla celiachia. Questa differenza porta alla perdita di un ponte salino tra arginina  $\alpha$ 76 e aspartato  $\beta$ 57 di DQ8 e quindi a una preferenza di caricamento di peptidi carichi negativamente in P9 nel solco di legame peptidico di DQ8, ma non di DQ9. L'antigene DQ9 è presente nella popolazione caucasica con una frequenza compresa tra il 4% e il 6% ed alcuni autori hanno affermato che DQ9 non è associato alla predisposizione della celiachia. In Cina, l'aplotipo HLA-DQ9 è più frequente (13% - 21%), ed è stato descritto come un fattore di suscettibilità alla celiachia. In uno studio di Hongling Wang et al. del 2015, è stato dimostrato che 2 pazienti su 9, che presentavano l'antigene DQ9, sono risultati sierologicamente positivi e con atrofia dei villi e iperplasia criptica alla biopsia intestinale. Quindi l'effetto del DQ9 è ancora controverso. Per la valutazione dell'effettivo ruolo del DQB1\*03:03 nella eventuale predisposizione alla celiachia abbiamo valutato 6 pazienti, negativi per DQ2 e DQ8 e positivi per DQ9. Su tutti i pazienti è stata effettuata la ricerca degli anticorpi anti-transglutaminasi tissutale, anti-endomisio che sono risultati negativi e dosaggio delle IgA risultate normali. Solo su 2 pazienti è stata effettuata anche una biopsia duodenale risultata negativa. Questi dati suggeriscono che il DQ9 non sembra essere coinvolto nella predisposizione alla malattia celiaca nei caucasici, ma uno studio approfondito a livello nazionale con maggiore numero di casi sarebbe necessario per considerare clinicamente irrilevante questo allele nella predisposizione alla celiachia.

Abstract Code: AIB20815-60

## L'utilità clinica degli STR oltre il chimerismo

C. Cervelli<sup>1</sup>, N. Gabriele<sup>1</sup>, V. Torrelli<sup>1</sup>, I. Abruscio<sup>1</sup>, O. Valdez<sup>1</sup>, R. Azzarone<sup>1</sup>, M. Scimitarra<sup>1</sup>, M.G. Tupone<sup>1</sup>, C. Battistoni<sup>1</sup>, S. Scacchi<sup>1</sup>, D. Pulcinelli<sup>1</sup>, S. Scipione<sup>1</sup>, B. Spaziani<sup>1</sup>, G. Calvisi<sup>2</sup>, F. Papola<sup>1</sup>

(1) Centro Regionale di Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale, ASL1 Abruzzo, (2) UOC Anatomia Patologica, ASL1 Abruzzo

La percentuale di errori che possono essere riscontrati in anatomia patologica è compresa in un range che va dallo 0.08% al 5,3% per la maggior parte dei casi (fino al 62%) avvenuti nella fase preanalitica. Come fare ad assicurare l'appartenenza del referto istologico al suo paziente, soprattutto in presenza di neoplasia? Attraverso l'utilizzo degli STR (Short Tandem Repeats) è possibile verificare l'appartenenza del campione istologico al proprio paziente. Due casi sono stati portati alla nostra attenzione. 1° caso: donna, 65 anni, convinta che le fosse stata praticata erroneamente una mastectomia a causa di un errore nella diagnosi istologica di una biopsia. La donna voleva una conferma della sua convinzione non volendosi sottoporre a terapia per la malattia neoplastica. Si presenta presso il nostro laboratorio portando con se i vetrini su cui era stata fatta diagnosi di neoplasia. Dopo colloquio esplicativo delle analisi da eseguire, alla donna è stato effettuato uno swab buccale, estratto il DNA con kit MAGPLUSII (ABanalitica) ed effettuata l'analisi degli STR utilizzando il kit Powerplex Fusion Promega e sequenziamento su SEQStudio Genetic Analyzer con polimero POP1. I prodotti allelici degli STR sono stati analizzati mediante software ChimerMarker ver. 3.1.8. Il materiale deparaffinato presente sui vetrini istologici, raschiato con un bisturi, è stato sottoposto a predigestione con proteinasi K o.n. a 56°C. Il confronto dei due risultati ha confermato l'appartenenza dei campioni alla stessa persona (probabilità>99.99999%) e quindi la paziente si è convinta a sottoporsi al trattamento chemioterapico necessario. 2° Caso: l'anatomopatologo ci ha fatto richiesta di verifica di due serie di vetrini di cui una proveniente da biopsia prostatica ed una da prostata campionata dopo resezione chirurgica. Il problema si poneva in quanto nella biopsia era stata evidenziata una neoplasia non confermata dall'analisi del tessuto prostatico. Il DNA estratto dai vetrini ed analizzato con analoga procedura utilizzata per il caso precedentemente discusso, ha confermato l'appartenenza allo stesso individuo delle due serie di vetrini (probabilità>99.99999%). Questo ha portato l'anatomopatologo ad effettuare ulteriori campionamenti analitici della prostata individuando la neoplasia in altre sezioni istologiche del campione prostatico inizialmente non valutate e correttamente riscontrata nel primo campione bioptico. L'applicazione degli STR, normalmente utilizzati dal laboratorio di istocompatibilità per la valutazione del chimerismo post trapianto, controllata annualmente attraverso proficiency testing nazionali e certificata da enti accreditanti (EFI e/o ASHI) si è dimostrata utilissima anche per l'identificazione personale in ambiti diversi da quello forense, supportando applicazioni cliniche di differenti tipologie, sempre a tutela della salute del paziente.

Abstract Code: AIB20816-61

## HLA-B51 e patologie autoimmuni: oltre il Behcet?

M. Scimitarra<sup>1</sup>, A. Costanzi<sup>1</sup>, M. Gentile<sup>2</sup>, A. Shariat Panahi<sup>2</sup>, L. Vallocchia<sup>2</sup>, N. Gabriele<sup>1</sup>, M.G. Tupone<sup>1</sup>, O. Valdez<sup>1</sup>, C. Cervelli<sup>1</sup>, R. Azzarone<sup>1</sup>, S. Scipione<sup>1</sup>, S. Scacchi<sup>1</sup>, V. Torrelli<sup>1</sup>, C. Battistoni<sup>1</sup>, B. Spaziani<sup>1</sup>, D. Pulcinelli<sup>1</sup>, P. Cipriani<sup>2</sup>, F. Papola<sup>1</sup>

(1) Centro Regionale di Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale, ASL1 Abruzzo, (2) Reumatologia, dipartimento DISCAB, Università degli Studi dell'Aquila

L'artrite psoriasica (PsA) è un'artropatia infiammatoria cronica che coinvolge in modo variabile le articolazioni sinoviali, le entesi, i tendini e le sedi assiali e si sviluppa in circa il 30% dei pazienti con psoriasi cutanea e/o con coinvolgimento ungueale. È una patologia notevolmente eterogenea nella sua presentazione, nel decorso e nei risultati di imaging. Come nella psoriasi, una particolare predisposizione familiare è stata osservata anche nei pazienti con PsA, i cui familiari hanno una probabilità 30-40 volte più elevata rispetto alla popolazione generale di ammalarsi di PsA. Questa tendenza è stata chiarita mediante studi di immunogenetica, dai quali si evidenzia che la psoriasi è significativamente associata agli antigeni HLA-Cw6 o DR7. La PsA di tipo periferico è invece associata all'HLA B38 e B39, e quella spondilitica al B27. Per quanto riguarda il locus HLA-B, antigeni predisponenti, sia pure con rischio minore, sono anche il B\*07, B\*57 e B\*58. Alla luce di quanto suddetto si evidenzia l'importanza dello studio dell'HLA per un corretto inquadramento diagnostico della PsA. Nel periodo che va dal 2000 a luglio 2024 il Centro di Tipizzazione Tissutale dell'Aquila ha effettuato, in collaborazione con il servizio di Immunoreumatologia della ASL1, la Tipizzazione dei loci HLA-B e C con metodica Luminex SSO-LR o PCR-SSP-LR di 87 pazienti con diagnosi per PsA e trattati terapeuticamente. Analizzando i referti di tipizzazione degli 87 pazienti è stata osservata la presenza dell'allele B\*51 in 21 (24.13%) pazienti, privi delle classiche manifestazioni della S. di Behcet (vasculite cronica multisistemica recidivante con infiammazione delle mucose e uveite). Le manifestazioni cliniche riferite dai 21 pazienti comprendevano: 19(90,4%) la malattia assiale, 14(66.6%) artrite periferica ed entesite, 5(23.8%) la dattilite, 6(28.5%) interessamento ungueale, 1(4.7%) coinvolgimento intestinale. Di questi 21 pazienti, 7 non presentavano manifestazioni Psoriasiche cutanee; di questi 7 pazienti, 4 non avevano il Cw6. Sulla base di quanto suddetto, considerato che la percentuale dei pazienti portatori di HLA-B\*51 senza sintomatologia della sindrome di Behcet ma con manifestazioni associabili a quelli dell'artrite psoriasica è rilevante, sembra emergere una nuova associazione tra HLA-B\*51 ed una "nuova" patologia autoimmune di tipo artritico. È comunque auspicabile effettuare indagini su un numero maggiore di pazienti per verificare il dato emerso in questo studio.

Abstract Code: AIB20817-62

## Correlazione tra Eplet Mismatch e andamento clinico nel trapianto di rene da donatore vivente: report di una casistica pediatrica monocentrica

A.G. Bianculli<sup>1</sup>, P. Giustiniani<sup>1</sup>, M. Troiano<sup>1</sup>, A. Di Luzio<sup>1</sup>, F. Besi<sup>1</sup>, R. Labbadia<sup>2</sup>, L. Antonucci<sup>2</sup>, A. Cappoli<sup>2</sup>, I. Guzzo<sup>2</sup>, M. Andreani<sup>1</sup>

(1) Laboratorio di Immunogenetica dei Trapianti, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia,  
(2) Nefrologia, Dialisi e Clinica del Trapianto di Rene, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia

La tipizzazione HLA mediante sequenziamento genico e le analisi bioinformatiche hanno notevolmente migliorato la capacità di caratterizzare gli epitopi HLA, consentendo un matching donatore-ricevente più preciso e personalizzato. Pertanto, la definizione dell'eplets mismatch tra donatore e ricevente potrebbe divenire essenziale per consentire la scelta del miglior donatore, nelle fasi pre- e post-trapianto, ottimizzando, le miglior strategie di immunosoppressione. La complessità delle interazioni epitopo-anticorpo ed epitopo-recettore T, richiede un approccio multifattoriale, con un'attenzione particolare alla dinamica immunitaria post-trapianto e alla variabilità individuale. Presso l'Ospedale Bambino Gesù di Roma è stata condotta un'analisi di eplets mismatch (EM) di 46 coppie trapiantate di rene da donatore vivente tra il 2017 e il 2024. Le coppie sono state tipizzate HLA con metodica NGS 11 loci Alltype S5 (One Lambda - Thermo Fisher Scientific) e analizzate con il tool *Matchmaker* incluso nel software Fusion 4.6 della stessa ditta. Sono successivamente stati distinti vari gruppi: 1) pazienti che hanno e non hanno sviluppato De Novo DSA (entro un anno dal trapianto e dopo un anno) 2) pazienti che hanno avuto segni di rigetto umorale e/o cellulare 3) quelli senza segni di rigetto e senza sviluppo di DSA. Per ognuno di questi gruppi è stata calcolata la mediana degli EM complessiva di tutti i loci e paragonata tra loro. Tale analisi non ha mostrato sostanziali differenze nel numero di EM tra i diversi gruppi in studio. È stata poi eseguita la stessa analisi tra i pazienti che avevano sviluppato dnDSA considerando soltanto i loci eventualmente coinvolti nella loro insorgenza. L'analisi ha mostrato che in 10/16 con dnDSA, il numero di EM risultava raddoppiato rispetto alla mediana del gruppo di riferimento. Interessante, in 2 pazienti dnDSA positivi, il numero di EM ab verified era pari a 0, indicando che la diversità antigenica potesse essere riconducibile a EM non verificati (**Tab.1**). Successivamente, abbiamo concentrato le nostre osservazioni sui pazienti con rigetto: 5/46 umorale, 5/46 cellulare, 10/46 cellulari borderline, paragonando la mediana degli EM per ogni singolo locus (e non del totale delle classi come in precedenza) con quella delle coppie senza rigetto e senza sviluppo di DSA. Tale analisi ha mostrato che nelle coppie con rigetto i valori di mediana di EM per singolo locus fossero raddoppiati o triplicati rispetto al gruppo di riferimento (**Tab.2**). Benché questo risultato sia interessante, sarà cruciale identificare in futuro quali siano gli eplets con caratteristiche maggiormente immunogeniche di altri, come in parte già evidenziato in Letteratura (Kardol-Hoefnagel T et. al, 2024). In conclusione, benché in un gruppo limitato di pazienti trapiantati da donatore vivente, il nostro studio contribuisce a definire l'importanza di EM a livello di singolo locus nel trapianto di rene, contribuendo ad ottimizzare le strategie terapeutiche.

Abstract Code: AIB20818-63

## Presenza di aplotipo HLA identico in due casi di trasmissione verticale di SARS-CoV-2

F. Zanchi<sup>1</sup>, F. Gualandris<sup>1</sup>, S. Bacis<sup>1</sup>, F. Cressoni<sup>1</sup>, F. Gusmini<sup>1</sup>, L. Castellani<sup>1</sup>, L. Patanè<sup>2</sup>, D. Morotti<sup>3</sup>, G. Ghirardi<sup>3</sup>, N. Bianchi<sup>3</sup>, A. Gianatti<sup>3</sup>, L. Barcella<sup>1</sup>

(1) S.C. Immunoematologia e Medicina Trasfusionale - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo, (2) S.C. Ostetricia e Ginecologia - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo, (3) S.C. Anatomia Patologica - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo

A febbraio 2020 la provincia di Bergamo si è trovata nell'epicentro della pandemia da SARS-CoV-2 e le donne in stato di gravidanza della bergamasca non sono state risparmiate dall'infezione.

Lo stato di gravidanza è risultato essere un fattore di rischio per lo sviluppo di COVID-19 severo; in particolare, studi su donne gravide asiatiche, nere e ispaniche hanno documentato tassi di viremia più elevati e un'incidenza di parto pretermine attorno al 15%.

Tra marzo e aprile 2020, presso il reparto di Medicina Materno-Fetale dell'Ospedale Papa Giovanni XXIII di Bergamo, sono state ricoverate due donne al terzo trimestre di gravidanza per COVID-19 sintomatico.

In entrambi i casi è stata dimostrata la trasmissione verticale di SARS-CoV-2; studi immunoistologici e molecolari sulla placenta hanno documentato la presenza di intervillosite istiocitaria cronica e necrosi del sinciziotrofoblasto come potenziale meccanismo alla base della trasmissione transplacentare del virus.

La prima donna, di origini albanesi, è stata ricoverata alla 37+6 settimana gestazionale e ha successivamente partorito un neonato di sesso maschile risultato positivo a SARS-CoV-2 immediatamente dopo la nascita, a 24 ore e a 7 giorni di vita. La seconda donna, di origini indiane, è stata ricoverata alla 35+1 settimana gestazionale e ha partorito un neonato di sesso femminile, positivo a SARS-CoV-2 a 7 giorni di vita. Entrambi i neonati sono stati posti in isolamento immediatamente dopo il parto per cui si è concluso per una trasmissione verticale dell'infezione da SARS-CoV-2.

Poiché è stato ipotizzato un ruolo del sistema HLA nella trasmissione verticale di alcune infezioni virali, abbiamo voluto indagare tale ipotesi effettuando la tipizzazione HLA nei due casi precedentemente descritti.

Per la tipizzazione abbiamo utilizzato i kit GenDx AllType NGS (GenDx, The Netherlands) e piattaforma Illumina MiSeq (Illumina, USA). È stato effettuato il sequenziamento genico completo per HLA-A -B -C e parziale per HLA-DRB1 -DQB1 -DPB1. Tutti i dati sono stati analizzati con NGSengine versione 2.25.0.25342 (GenDx, The Netherlands) utilizzando la versione IPDIMGT/HLA 3.48.0.

Le tipizzazioni ottenute hanno evidenziato la presenza nelle due donne dell'aplotipo A\*24:02:01-B\*35:03:01-C\*12:03:01-DRB1\*15:02P-DQB1\*06:01P la cui frequenza in letteratura è dello 0,04% nella popolazione indiana mentre è raro in quella albanese.

In letteratura sono stati descritti pochi casi di trasmissione verticale di SARS-CoV-2 e non è noto se esistano fattori di suscettibilità che possano favorire tale modalità di trasmissione. Con il nostro lavoro abbiamo identificato l'aplotipo A\*24:02:01-B\*35:03:01-C\*12:03:01-DRB1\*15:02P-DQB1\*06:01P come possibile fattore di suscettibilità all'infezione da SARS-CoV-2 e alla sua trasmissione materno-fetale.

Abstract Code: AIB20819-64

## Il ruolo dell'HLA nel trattamento delle malattie linfoproliferative EBV correlate post trapianto di organo solido con terapia cellulare Tabelecleucel

F. Zanchi<sup>1</sup>, F. Gusmini<sup>1</sup>, S. Bacis<sup>1</sup>, F. Cressoni<sup>1</sup>, F. Gualandris<sup>1</sup>, L. Castellani<sup>1</sup>, A.M. Barbui<sup>2</sup>, M. Paganessi<sup>2</sup>, A. Rambaldi<sup>2</sup>, D. Morotti<sup>3</sup>, G. Ghirardi<sup>3</sup>, N. Bianchi<sup>3</sup>, A. Gianatti<sup>3</sup>, R. Sebastiani<sup>4</sup>, A. Terzi<sup>4</sup>, L. Barcella<sup>1</sup>

(1) S.C. Immunoematologia e Medicina Trasfusionale - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo, (2) S.C. Ematologia - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo, (3) S.C. Anatomia Patologica - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo, (4) S.S.D. Chirurgia dei Trapianti - ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo

Le malattie linfoproliferative EBV correlate insorte post trapianto di organo solido (PTLD) rappresentano un gruppo raro di disturbi linfoproliferativi che possono essere trattati efficacemente con Rituximab in monoterapia o in combinazione alla chemioterapia. I pazienti refrattari hanno spesso una prognosi severa con elevata mortalità.

Recentemente è stato pubblicato uno studio clinico (ALLELE TRIAL) in cui pazienti con PTLD EBV correlate resistenti/ricaduti dopo Rituximab sono stati trattati efficacemente con un prodotto di terapia cellulare basata sull'utilizzo di linfociti T allogenici educati anti-EBV (Tabelecleucel).

Riportiamo l'esperienza del primo paziente trattato presso l'ASST Papa Giovanni XXIII con particolare riferimento ai criteri di scelta del lotto di Tabelecleucel: paziente affetto da distrofia congenita di Becker che è stato sottoposto a trapianto di cuore all'età di 22 anni e che ha sviluppato una PTLD monomorfa aggressiva EBV correlata (linfoma diffuso a grandi cellule B) a 9 anni dal trapianto. Il paziente è stato trattato con 4 dosi di Rituximab in monoterapia con progressione della malattia. La terapia cellulare con Tabelecleucel è stata richiesta per uso compassionevole dati la fragilità clinica del paziente e i rischi di mortalità legati all'uso di chemioterapia.

L'informazione necessaria per la scelta del lotto di Tabelecleucel è la determinazione dell'origine della malattia linfoproliferativa. È stato quindi effettuato il sequenziamento genico completo per i geni HLA-A -B -C e parziale per HLA-DRB1 -DQB1 -DPB1 a partire da DNA estratto da sangue periferico del paziente utilizzando i kit GenDx AllType NGS e piattaforma Illumina MiSeq e i dati sono stati analizzati con NGSengine. È stata eseguita la tipizzazione HLA-A in bassa risoluzione a partire da DNA estratto da un campione bioptico della massa ileale tumorale del paziente utilizzando i kit Olerup-SSP e i dati sono stati analizzati con SCORE. Le due tipizzazioni sono state confrontate tra di loro e con la tipizzazione HLA del donatore di cuore ottenuta dal Centro Donatori, potendo così dimostrare l'origine paziente-correlata della PTLD. Questa informazione e la tipizzazione HLA stessa sono stati fondamentali per la scelta del lotto di cellule T allogeniche Tabelecleucel. La conoscenza del profilo HLA ha infatti permesso di scegliere un lotto di Tabelecleucel che contenesse cellule T in grado di riconoscere i peptidi EBV correlati presentati dalla specifica molecola HLA presente sulla superficie delle cellule tumorali. Tramite il legame specifico è attesa un'attività citotossica selettiva nei confronti della malattia, in assenza di significativa GVHD. Il tempo necessario per determinare l'origine della malattia è stato di soli 10 giorni, congruo con le tempistiche di cura in considerazione dell'aggressività della malattia linfoproliferativa. Il paziente ha ricevuto tre cicli di terapia con Tabelecleucel ottenendo la remissione completa della malattia.

Abstract Code: AIB20820-56

## Analisi di espressione delle molecole HLA nel laboratorio di istocompatibilità: passato, presente o futuro?

R. Cantisani <sup>1</sup>, F. Toraldo <sup>1</sup>, V. Del Re <sup>1</sup>, E. Mariani <sup>1</sup>, G. Marotta <sup>1</sup>, A. Spreafico <sup>1</sup>

(1) Dipartimento di Terapie Cellulari, Ematologia e Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena

L'incremento di tecnologie e l'introduzione della NGS (next generation sequencing) per la tipizzazione delle molecole HLA ha avuto negli ultimi anni una importante evoluzione che ha permesso di superare i limiti dei metodi tradizionali per ottenere dati ad elevata risoluzione a costi contenuti. Parallelamente sono stati sviluppati algoritmi che permettono di analizzare gli alleli HLA come stringhe molecolari distinte in modo da identificare i siti di riconoscimento degli anticorpi anti-HLA (epitopi) in configurazioni denominate eplet. Ciò ha permesso di portare numerosi vantaggi nella selezione del donatore in campo trapiantologico.

Tuttavia mancano studi che vanno ad indagare se la variazione di espressione delle molecole HLA possa o meno avere delle ripercussioni cliniche o implicazioni nella diagnostica *in vitro*. Attualmente non sono presenti piattaforme che permettono di valutare questo parametro e di combinarlo con le informazioni derivate dalle tipizzazioni molecolari. La possibilità di studiare l'espressione dei vari alleli HLA e correlarla a determinate evoluzioni cliniche potrebbe aprire nuovi scenari nel laboratorio di istocompatibilità.

Presso il laboratorio di Immunogenetica dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Senese abbiamo analizzato il livello di espressione delle molecole HLA tramite piattaforma citofluorimetrica. La metodologia è stata messa a punto utilizzando un anticorpo coniugato specifico per le molecole HLA-ABC al fine di valutare i livelli di espressione delle molecole HLA di classe I sulle piastrine dei donatori di sangue (n=139) e sulle principali popolazioni cellulari del sangue periferico. I risultati ottenuti, sebbene preliminari, hanno mostrato una grande variabilità di espressione delle molecole HLA tra i donatori ed una relazione tra espressione ed allotipo HLA. La possibilità di utilizzare concentrati piastrinici ad espressione HLA nota potrebbe aprire nuove opportunità per la gestione dei pazienti refrattari alla trasfusione piastrinica. In aggiunta è stato interessante notare che uno degli alleli maggiormente frequente nei donatori ad alta espressione, HLA-B\*15:01, sembrerebbe essere protettivo nei soggetti asintomatici all'infezione da SARS-CoV-2 (Augusto et al.,2023) facendo emergere una possibile relazione tra piastrine, livello di espressione delle molecole HLA e suscettibilità all'infezione.

Lo studio di espressione degli antigeni HLA potrebbe quindi essere al centro di numerosi meccanismi biologici ed avere molteplici applicazioni cliniche e diagnostiche non ancora esplorate. La differenza di espressione delle molecole HLA tra gli individui potrebbe infatti essere cruciale nei meccanismi di rigetto di reattività anticorpale. Tuttavia la mancanza di metodiche *ad hoc* e di tools informatici ne limita l'applicabilità ponendo un punto di domanda sulla possibilità di sviluppo nei laboratori di Immunogenetica.

Abstract Code: AIB20821-57

## Chimerismo: studio lineage-specifico in un paziente pediatrico con chimerismo misto stabile post trapianto HSCT

A. Cianflone<sup>1</sup>, G. Maisto<sup>2</sup>, R. Colucci<sup>3</sup>, L. Auriemma<sup>3</sup>, M. Esposito<sup>3</sup>, D. Madalese<sup>3</sup>, F.P. Tambaro<sup>4</sup>, R. Penta De Vera D'aragona<sup>5</sup>

(1) UOC Ricerca Clinica e Traslazionale-UOS Laboratori di Ricerca e Biobanca, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli, (2) UOSD Medicina Trasfusionale, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli, (3) UOSD BaSCO, Manipolazione cellulare e Immunogenetica – A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli, (4) UOC Trapianto di cellule emopoietiche e Terapia cellulari – A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli, (5) napoli

Lo studio delle neoplasie ematologiche post-trapianto si concentra sulla determinazione della Malattia Minima Misurabile (MRD) e del chimerismo, ossia la percentuale di cellule del donatore rispetto a quelle del ricevente. La presenza di un chimerismo misto (MC), che indica la coesistenza di cellule del donatore e del ricevente, è associata a un rischio maggiore di recidiva della malattia. Tuttavia, in pazienti con chimerismo misto e MRD negativa, si può osservare una condizione clinica stabile e compatibile con una remissione prolungata.

In questo report clinico, abbiamo analizzato i livelli di chimerismo lineage-specifico post trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (allo-HSCT) in un paziente pediatrico (età e sesso) affetto da Leucemia Linfoblastica Acuta B Ph+ (LLA B Ph+). Il paziente, sottoposto a trapianto da donatore MUD 10/10, ha mostrato una progressiva riduzione del chimerismo fino al 30% a 19 mesi dal trapianto con una persistente MRD negativa. A partire da questo punto temporale, il chimerismo è stato studiato a livello lineage-specifico su sangue periferico (SP) e midollo osseo (MO) a +525gg (T1), +588gg (T2) e +622gg (T3) dal trapianto. Le popolazioni cellulari sono state purificate tramite il sistema BD FACSMelody™ Cell Sorter, includendo linfociti B-precursori (CD19pos, CD10pos, CD45pos), linfociti B-maturi (CD19pos, CD10neg, CD45pos), linfociti T (CD3pos, CD45pos), cellule mieloidi (CD3neg, CD19neg, CD56neg, CD45pos) e cellule NK (CD3neg, CD56pos, CD45pos). Il grado di purezza delle cellule ottenute è stato del 98%-99%.

I valori di chimerismo, determinati tramite Short Tandem Repeats (PowerPlex Fusion a 24 loci; Promega) e analizzati con il sequenziatore AB3500 (Applied Biosystems), sono stati i seguenti: 29% nel SP e 34% nel MO a T1; 29% nel SP e 35% nel MO a T2; 29% nel SP e 34% nel MO a T3. L'analisi lineage-specifica ha rilevato i seguenti valori:

Linfociti B-precursori: T1 = n.d.% (SP), 11% (MO); T2 = n.d.% (SP), 10% (MO); T3 = n.d.% (SP), 12% (MO);

Linfociti B-maturi: T1 = 13% (SP), 11,3% (MO); T2 = 13% (SP), 7% (MO); T3 = 6% (SP), 8% (MO);

Linfociti T: T1 = 22% (SP), n.d.% (MO); T2 = 23% (SP), 23% (MO); T3 = 19% (SP), 23% (MO);

Cellule NK: T1 = 53% (SP), 35% (MO); T2 = 46% (SP), 35% (MO); T3 = 42% (SP), 40% (MO);

Cellule mieloidi: T1 = 26% (SP), 39% (MO); T2 = 40% (SP), 28% (MO); T3 = 22% (SP), 41% (MO).

L'analisi ha mostrato che i linfociti B e le cellule NK presentavano rispettivamente valori inferiori (Media =  $11 \pm 4\%$ ) e superiori (Media =  $47,00 \pm 5,56\%$ ) rispetto al chimerismo complessivo rilevato in SP (29%) e MO (35 $\pm$ 2.3%). La percentuale di chimerismo nelle cellule NK doppia rispetto al campione intero, suggerisce una selezione preferenziale delle NK durante l'attecchimento, il basso chimerismo nei linfociti B potrebbe indicare un ruolo protettivo delle NK nella sorveglianza immunologica, con implicazioni prognostiche potenzialmente favorevoli in un paziente attualmente libero da malattia.

Abstract Code: AIB20822-58

## Modello di approccio immunologico al trapianto combinato o simultaneo fegato-rene nel paziente fortemente immunizzato: 2 casi clinici

S. Giuliadori<sup>1</sup>, M. Benecchi<sup>1</sup>, S. Manfroi<sup>2</sup>, R. Merli<sup>1</sup>, I. Pezzani<sup>1</sup>, S. Bardini<sup>1</sup>, G. Comai<sup>3</sup>, G. La Manna<sup>3</sup>, G. Rombolà<sup>1</sup>

(1) SDD Immunogenetica dei Trapianti, Azienda Ospedaliero-Universitaria (AOU) di Parma, (2) Immunogenetica e Biologia dei trapianti, Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna, (3) Nefrologia, Dialisi e Trapianto, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna

**INTRODUZIONE** In trapianto combinato, fegato svolge ruolo di protezione immunologica, sul rene, inizialmente per clearance anticorpi HLA specifici (DSA). Alcuni aspetti sono controversi, in particolare: specificità di assorbimento, per cui preferibile trapianto simultaneo da stesso donatore, rispetto a sequenziale rene-dopo-fegato da diverso donatore, livello anticorpale accettabile e preferenziale rimozione DSA I cl vs II cl. Si presentano due casi clinici, come modelli approccio del team multidisciplinare clinico e immunologico per trapianto combinato fegato-rene in pazienti fortemente immunizzati nella nostra regione

**PROFILO IMMUNOLOGICO** Caso 1: 46a, F, trapianto urgente combinato per malattia policistica. Ab immunodominante A2 (Luminex SAB MFI>25.000), estesa immunizzazione a titolo alto alleli CREG (A28, B17, A9) e basso alleli con epitopi condivisi. (cPRA>99%). cPRA II cl neg. Delisting: alleli A2 CREG: C1q positivi e non riduzione MFI in diluizione 1:16. Caso 2: 20 a, F, perdita precedente trapianto combinato per non aderenza a terapia. Trapianto combinato urgente salvavita. Ab DQ7, DQ8, DQ9, DQA1\*05 (mismatch ripetuti): MFI>30000; DQ6, DQA1\*04 MFI>25000, DQ5>10000, negativo DQA1\*02-DQ2 self (cPRA>99%). I cl neg. **TRAPIANTI** Caso 1: DSA vs donor A2 (+A24). CDC e FCXM forti positivi. Si procede con trapianto fegato. Rene in perfusione meccanica ipotermica. Si rivaluta siero 6 ore dopo perfusione fegato. Negativizzazione A2 e tutti alleli con epitopi condivisi, CDC e FCXM neg. Si procede con trapianto rene simultaneo (24h ischemia fredda). Immunosoppressione standard. Ripresa funzionale immediata. Follow-up precoce e 6 mesi: DSA neg, no rigetto, normale funzione rene e fegato. Caso 2: DSA vs donor: DQ8, DQ5. Non accettato simultaneo (rMM DQ8, alto MFI). Trapianto fegato in urgenza salvavita. Rivalutazione dopo 1 settimana per trapianto prioritario rene dopo fegato: DQ7,8,9, DQA1\*05, DQA1\*04, MFI>25000, C1q pos: proibiti per rene. DQ6 (MFI<5000), DQ5 (neg) e DQ2: permissivi (cPRA 63%).

**CONCLUSIONI** Caso 1 DSA I cl anche alto MFI e XM positivo non controindicazione trapianto simultaneo. Uso perfusione meccanica permette lunghi tempi ischemia. Rivalutazione sei ore dopo perfusione fegato, se FCXM negativo: procedere con trapianto rene, senza desensibilizzazione o eccesso immunosoppressione (impatto su sopravvivenza paziente). Caso 2 DSA II cl, in particolare mismatch ripetuti e DQ ad alto titolo, sono assorbiti poco da fegato. Procedere con delisting fino ad ottenere cPRA accettabile per urgenza clinica. DSA mismatch ripetuti, C1q positivi e no riduzione MFI in diluizione: proibiti per simultaneo. C1q negativi e dil 1:16 MFI<3000, accettabili, previa rivalutazione dopo perfusione fegato con FCXM. **MODELLO TX COMBINATO FEGATO-RENE** i. team multidisciplinare ii. valutazione e delisting iniziale (DSA permissivi per simultaneo, cPRA) iii. perfusione meccanica rene iv. rivalutare dopo perfusione fegato per rene simultaneo (FCXM).

Abstract Code: AIB20823-59

## Strategie di delisting in riceventi di trapianto di rene iperimmuni con o senza desensibilizzazione con Imlifidase: esperienza in Emilia Romagna

S. Giuliadori <sup>1</sup>, M. Benecchi <sup>1</sup>, A. Palmisano <sup>2</sup>, C. Foroni <sup>1</sup>, S. Capriglia <sup>1</sup>, R. Troiano <sup>1</sup>, U. Maggiore <sup>2</sup>, G. Rombolà <sup>1</sup>

(1) SDD Immunogenetica dei Trapianti, Azienda Ospedaliero-Universitaria (AOU) di Parma, (2) U.O. di Nefrologia e Trapianto, Azienda Ospedaliero- Universitaria (AOU) di Parma

**INTRODUZIONE** Oltre l'80% dei pazienti del Programma Nazionale Iperimmuni (PNI) presenta un cPRA>98% e risulta quindi di difficile trapiantabilità. Per questi candidati si deve procedere con ampliamento dei DSA permissivi (delisting) e possibile desensibilizzazione (in particolare uso Imlifidase). Si presenta la strategia di delisting elaborata in Regione Emilia-Romagna. La strategia si compone di due fasi successive: Fase 1. Per trapianto da donatore con FC-XM negativo senza desensibilizzazione; Fase 2. trapianto da donatore con FC-XM negativo dopo desensibilizzazione. In entrambe le fasi obiettivo è ridurre il cPRA al di sotto di 98%, calcolato sullo storico dei donatori d'organo della regione Emilia Romagna. **METODOLOGIA** Il delisting è rivolto a pazienti con cPRA>98% e tempo di attesa in lista >4 anni (tempo medio attesa) e viene valutato sui sierici degli ultimi 3 anni. Condizioni di non-delisting per DSA: MFI>10000 (HLA-C, DP>20000), C1q positivi, mismatch di precedenti trapianti. Si preferisce non delistare DSA al locus DQ (persistenti dopo trapianto). Fase 1 (senza desensibilizzazione): permissivi DSA MFI<5000 (C, DP<10000); se cPRA<98% si procede al trapianto con FC-XM negativo; sono accettabili donatori con al massimo 2 DSA delistati e con MFI cumulativo<10000; se cPRA non scende sotto al 98% si passa alla Fase 2. Fase 2 (desensibilizzazione con Imlifidase): Delisting dei DSA con MFI<10000 (C, DP<20000) che scende sotto 3000 in diluizione 1:16 (C, DP<5000); accettabili donatori con massimo 2 DSA e MFI cumulativo<15000. Si effettua FC-XM: se negativo si procede al trapianto senza Imlifidase, se positivo si somministra dose di Imlifidase e si procede al trapianto se il FC-XM dopo 4-6 ore si negativizza. **RISULTATI** Mostriamo 3 esempi di delisting in 2 step. I valori di cPRA% pre-delisting/post-delisting fase1/post-delisting fase2 sono: 99.48/96.40/93.39 per il Caso 1, 98.94/97.58/96.66 per il Caso 2 e 99.98/99.79/99.52 per il Caso 3. Nel Caso 1 ci si potrebbe fermare alla Fase 1, nel Caso 2 meglio passare alla Fase 2, nel Caso 3 il delisting non determina una sostanziale riduzione del cPRA, che resta >98%. **CONCLUSIONI** L'obiettivo del delisting è raggiungere un cPRA<98%, per aumentare la probabilità di identificare un donatore con FC-XM negativo. Non sono delistabili DSA con MFI>10000 e/o C1q positivo e/o ripetizioni di mismatch con precedenti trapianti; C1q ha un elevato valore predittivo negativo di CDC-XM (non più effettuato in regione) di oltre 98%; possibilmente meglio non delistare DSA anti-DQ in quanto persistono post-trapianto e sono di maggior rischio immunologico. **Razionale fase 1:** FC-XM negativo in > 50% candidati con DSA MFI uguale 5000. **Razionale fase 2:** diluizione 1:16 permette di escludere DSA con MFI sottostimato per effetto saturazione in test Luminex e miglior correlazione con plasmaferesi in caso di rebound anticorpale dopo trapianto con desensibilizzazione Imlifidase.

Abstract Code: AIB20824-60

## Frequenze degli alleli HLA-DQB1 nella popolazione dei pazienti con sospetta malattia celiaca: possibile ruolo dell'aplotipo DQ7.5

S. Fornaciari<sup>1</sup>, C. Biagini<sup>1</sup>, R. Lamanna<sup>1</sup>, V. De Gregorio<sup>1</sup>, F. Galati<sup>1</sup>, D. Gonnella<sup>1</sup>, D. Mandarino<sup>1</sup>, M. Curcio<sup>1</sup>

(1) Sezione Dipartimentale di Immunogenetica-Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Pisa, Italy

La determinazione dei loci HLA-DQB1 e DQA1 è utilizzata in ambito clinico per il suo significato predittivo. Alcuni autori (*Tinto et al., 2015; Maimaris et al., 2024*) hanno ipotizzato un possibile ruolo dell'eterodimero DQB1\*03:01/DQA1\*05:05 (DQ7.5) nella malattia celiaca. Allo scopo di indagare l'eventuale ruolo dell'aplotipo DQ7.5 abbiamo analizzato una popolazione di 647 pazienti con sospetta malattia celiaca. Su questa popolazione abbiamo effettuato un'analisi demografica e delle frequenze alleliche dei loci HLA-DQB1/DQA1 (tabella sotto).

Pop. Totale			
	N.Paz	M	F
Eta' > 18 anni	453 (70%)	131 (29%)	322 (71%)
Eta' ≤ 18 anni	194 (30%)	87 (45%)	107 (55%)
<b>Tot.</b>	<b>647</b>		

Frequenze Alleliche Stratificate per età e sesso									
	Pop. Totale			Eta' > 18 anni			Eta' ≤ 18 anni		
	N.Paz	DQ2-/DQ8 -	DQ2+/DQ8+	N.Paz	DQ2-/DQ8 -	DQ2+/DQ8+	N.Paz	DQ2-/DQ8 -	DQ2+/DQ8+
M	218 (34%)	69 (31%)	149 (68%)	131(29%)	42 (32%)	89 (68%)	87 (45%)	27 (31%)	60 (69%)
F	429 (66%)	163 (38%)	266 (62%)	322 (71%)	139 (43%)	183 (57%)	107 (55%)	24 (22%)	83 (78%)
M+F	647	232 (36%)	415 (64%)	<b>453</b>	181 (40%)	272 (60%)	<b>194</b>	51 (26%)	143 (74%)

**Pop. Totale** = popolazione totale con richiesta di screening per sospetta malattia celiaca; **M** = sesso maschile; **F** = sesso femminile.

Nella popolazione con età >18aa il sesso femminile è risultato quello maggiormente rappresentativo ( $p < 0.01$ ). A questo punto abbiamo valutato le frequenze degli alleli DQ2 e/o DQ8 nella popolazione totale (Pop. Totale) ed in quella stratificata per età (Eta' > 18 anni; Eta' ≤ 18 anni). Come atteso, in tutti i sottogruppi analizzati è stata osservata una maggioranza di pazienti portatori di alleli DQ2 e/o DQ8 (pop.Tot. 64%, con Età>18aa 60%, con Età≤18aa 74%). Inoltre, nella popolazione dei pazienti con età ≤ 18aa la presenza degli alleli DQ2 e/o DQ8 è risultata maggiormente presente nel sesso femminile rispetto a quella con età>18aa, 78% vs 57% ( $p > 0.05$ ).

Il confronto delle frequenze alleliche della popolazione totale con sospetta celiachia vs la popolazione generale (<http://allelefrequencies.net/>) ha messo in evidenza un aumento delle frequenze dell'allele DQ2 e/o DQ8, rispettivamente 33% vs 18% e 6% vs 5%. Al contrario, la frequenza del DQ7 è risultata inferiore a quella della popolazione generale, 24% vs 35%. Questo risultato porterebbe a pensare che non ci sia correlazione tra DQ7 e predisposizione alla malattia celiaca. Tuttavia, questo dato è viziato dal fatto che in questo gruppo sono presenti i maggiori alleli predisponenti alla malattia celiaca (DQ2/DQ8), che quindi potrebbero interferire con le frequenze degli altri alleli. Pertanto, la popolazione totale dei pazienti con sospetta malattia celiaca è stata suddivisa in due sottogruppi: popolazione DQ2+ e/o DQ8+ e popolazione DQ2- e/o DQ8-. Confrontando le frequenze alleliche della sottopopolazione dei pazienti DQ2- e/o DQ8- vs quelle della popolazione generale abbiamo riscontrato un aumento delle frequenze degli alleli DQB1\*05 (33% vs 20%), DQB1\*06 (23% vs 15%) e DQB1\*03:03 (6% vs 4%); al contrario, l'allele DQ\*03:01 è risultato essere equamente distribuito (36% vs 35%). In aggiunta, la frequenza dell'aplotipo DQB1\*03:01-DQA1\*05:05 è risultato essere del 34%.

Pertanto, sulla base dei dati ottenuti, non ci sono elementi sufficienti che ci inducono a sospettare che l'allele DQB1\*03:01 possa essere coinvolto nella predisposizione allo sviluppo della malattia celiaca. Inoltre, corre l'obbligo ricordare che nella nostra popolazione (pazienti del centro Italia) l'allele DQB1\*03:01 è il più frequente e questo rende molto difficile fare delle analisi di associazione in popolazioni non omogenee e su una malattia come la celiachia a carattere multifattoriale.

Abstract Code: AIB20825-61

## Studio di associazione HLA/Malattia per la tiroidite di Hashimoto e differenze di genere osservate per le frequenze alleliche e aplotipiche HLA predisponenti e protettive in una popolazione dell'Italia centrale.

A. Spreafico<sup>1</sup>, R. Cantisani<sup>1</sup>, M. Sabatini<sup>1</sup>, M. Sette<sup>1</sup>, T. Pilli<sup>2</sup>, A. Salvemini<sup>2</sup>, S. Pozzessere<sup>1</sup>, G. Marotta<sup>1</sup>, M.G. Castagna<sup>2</sup>

(1) UOC Terapie Cellulari e Officina Trasfusionale, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, (2) UOC Endocrinologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese

Le malattie autoimmuni della tiroide (AITD), come la tiroidite di Hashimoto (HT) e la malattia di Basedow (BD), sono caratterizzate dall'infiltrazione linfocitaria della tiroide e dalla produzione di anticorpi contro gli antigeni tiroidei. La patogenesi delle AITD non è del tutto chiara, diversi fattori (ambientali, ormonali, genetici e virali) sembrano infatti concorrere determinando la disregolazione e la perdita della tolleranza del sistema immunitario e causando infine il danno tissutale responsabile della malattia. Per quanto riguarda la componente genetica causale della malattia, determinate associazioni con le AITD sono state riscontrate per alcuni geni polimorfici del sistema HLA. In particolare, studi compiuti su diverse popolazioni concordano sugli effetti predisponenti causati dagli alleli HLA-DRB1\*03 e HLA-DRB1\*04. Questi studi tuttavia presentano divergenze riguardo al ruolo predisponente o protettivo di questi e altri alleli a seconda dell'etnia, della nazionalità e della numerosità della popolazione studiata. Non è stato inoltre quasi mai indagato se la frequenza di alleli o aplotipi HLA predisponenti per le AITD sia anche associata al sesso. E' inoltre sempre più evidente che gli studi HLA/malattia nelle AITD debbano essere compiuti su popolazioni HT e BD distinte per via delle loro differenti caratteristiche eziopatogenetiche. A questo riguardo abbiamo voluto indagare se la distribuzione degli alleli e aplotipi HLA predisponenti riportata in letteratura corrispondesse o meno a quello della popolazione dei pazienti con HT provenienti dall'area di Siena. I pazienti in studio sono stati quindi distinti per sesso e selezionati per la presenza di HT. Le frequenze HLA dei pazienti con HT, 59 maschi (M) e 175 femmine (F), sono state confrontate con quelle di popolazioni di controllo di donatori di midollo (400 M e 400 F). I risultati ottenuti confermano la presenza di un'associazione predisponente per HLA-DRB1\*03 più forte nei maschi rispetto alle femmine (DRB1\*03 M: OR 2.12,  $p$  0.002; F: OR 1.5,  $p$  0.05) e protettiva per HLA DRB1\*07 solo nei maschi (DRB1\*07 M: OR 0.36,  $p$  0.030, F: OR 0.89,  $p$  NS). Nessuna associazione significativa è stata invece riscontrata per l'allele DRB1\*04. Lo studio di comparazione aplotipico ha confermato un'associazione predisponente con l'aplotipo DQ2.5, presente anche in altre malattie autoimmuni associate ad HT come la malattia celiaca. E' stata inoltre osservata una variazione significativa della frequenza dell'aplotipo DQ2.5 nella sua forma in cis o trans a seconda del genere dei pazienti e dell'associazione con altri aplotipi (DQ2.5/DQ7.5 M: OR 4.14,  $p$  0.023 ; DQ2.5 in trans F: OR 5.19,  $p$  0.0025). I dati ottenuti, pur confermando un impatto relativamente modesto della sola componente HLA nell'insorgenza di HT, suggeriscono che le modalità di trasmissione di combinazioni geniche HLA predisponenti o protettive possano differire anche sostanzialmente in base al genere.

Abstract Code: AIB20826-62

## Capacità del “crossmatch” Citofluorimetrico di rilevare la presenza di anticorpi donatore specifici, anti HLA-DQA1, rivolti verso un singolo “Verified Epitope”

V. De Gregorio<sup>1</sup>, S. Fornaciari<sup>1</sup>, R. Lamanna<sup>1</sup>, C. Biagini<sup>1</sup>, S. Di Beo<sup>1</sup>, L. Felet<sup>1</sup>, F. Salvadori<sup>1</sup>, M. Curcio<sup>1</sup>

(1) Sezione Dipartimentale di Immunogenetica-Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Pisa, Italy

L'introduzione del crossmatch citofluorimetrico (FC-XM) nell'ambito dell'Istocompatibilità e Biologia dei Trapianti si è rilevata importante per la stratificazione del rischio immunologico dei pazienti in lista d'attesa per trapianto di organo solido. Si tratta di una metodica con una sensibilità maggiore rispetto al crossmatch in citotossicità complemento-mediata (CDC-XM) ma inferiore alla metodica xMAP (Luminex).

Lo scopo del lavoro è stato quello di valutare la capacità della metodica FC-XM di rilevare singole specificità anticorpali anti HLA-DQA1 evidenziate mediante tecnologia Luminex e rivolte verso singoli epitopi. Nello specifico, riportiamo a titolo di esempio due coppie donatore/ricevente (coppia “A” e coppia “B”) per le quali sono stati effettuati studio del siero Luminex e FC-XM:

**coppia A:** ricevente con singolo DSA anti DQA1\*05:01 (MFI=8343); FC-XM risultato negativo sui linfociti T e B

**coppia B:** ricevente con multi-DSA, anti- DQA1\*05:01 (MFI=19530), DR52 (MFI=10838), DR17 (MFI=8239) e DQB1\*02:01 (MFI=10299); FC-XM risultato negativo sui linfociti T e positivo sui linfociti B.

Nella prima coppia analizzata, coppia A, abbiamo selezionato un ricevente con soli DSA anti HLA-DQA1\*05:01 con MFI al limite del cut-off di sensibilità dell'FC-XM (5000-8000 MFI). Premesso che alcuni autori (Zajacova M. et al., 2018) hanno dimostrato una buona espressione degli alleli DQA1\*05 sui linfociti B, è verosimile ipotizzare che la mancata positività dell'FC-XM nella coppia A potrebbe essere riconducibile alla sensibilità della metodica. Sulla base della tipizzazione molecolare del locus HLA-DQA1 del donatore è stato possibile anche escludere l'eventuale presenza di alleli “Null”. L'analisi degli epitopi ha evidenziato che il DSA anti- DQA1\*05:01 presenta una singola specificità anticorpale caratterizzata dall'epitopo 40GR (MFI=8343), epitopo verificato ed ad elevata esposizione.

Per quanto riguarda invece la coppia B, l'anticorpo reattivo anti-DQA1\*05:01 è stato identificato come 61FT (MFI=19530), anche tale epitopo risulta verificato e con elevata esposizione. Inoltre, lo stesso epitopo, 61FT, è condiviso con il DSA anti DQB1\*02:01 facendo supporre un effetto sinergico che potrebbe giustificare la positività rilevata mediante FC-XM. In aggiunta, nel siero del ricevente della coppia B sono anche presenti DSA anti DR17 e anti DR52 che riconoscono l'epitopo 31F (epitopo verificato e con esposizione intermedia).

In conclusione, i nostri dati dimostrano che la presenza di un solo epitopo reattivo, sebbene altamente esposto e con MFI>8000, risulta non sufficiente a positivizzare l'FC-XM per la presenza di anticorpi anti HLA-DQA1. Al contrario, la presenza di due epitopi (61FT+31F) condivisi da più alleli HLA di seconda classe, DR17, DR52, DQA1\*05:01 e DQB1\*02:01, si rivela sufficiente a positivizzare l'FC-XM, risultato verosimilmente riconducibile ad un effetto sinergico e non competitivo del legame epitopo anticorpo.

Abstract Code: AIB20827-63

## Trombocitopenia neonatale alloimmune dovuta ad incompatibilità HPA ed HLA: gestione di un caso clinico

D. Londero<sup>1</sup>, C. Sindici<sup>1</sup>, S. Merluzzi<sup>1</sup>, E. Cecchini<sup>1</sup>, C. Cervellin<sup>1</sup>, I. Sandron<sup>1</sup>, E. Testa<sup>1</sup>, S. Borgobello<sup>1</sup>, S. Blasoni<sup>1</sup>, S. Carlassara<sup>1</sup>, G. De Cecco<sup>1</sup>, B. Luca<sup>1</sup>, E. Pesamosca<sup>1</sup>, G. Barillari<sup>1</sup>

(1) Lab. Immunoematologia e Immunogenetica, Dip. Medicina Trasfusionale-ASUFC, Udine

**Introduzione** La trombocitopenia alloimmune feto-neonatale (FNAITP) è una rara patologia immunomediata associata ad elevata morbilità e mortalità. La sua incidenza è di 0.5–1.5/1,000 nati, la causa l'incompatibilità materno-fetale verso gli antigeni piastrinici (HPA). Sono noti 37 HPA distribuiti su 6 glicoproteine di membrana; l'80% dei casi di FNAITP è dovuto alla presenza di alloanticorpi anti-HPA-1a, l'8-15% ad anti-HPA-5b, il 4% ad anti-HPA-15b e l'1-4% ad anti-HPA 1b. Sono inoltre stati descritti casi di gravide con anticorpi anti-HLA ad alta concentrazione in termini di MFI e ad ampio spettro a livello epitopico che potrebbero essere causa/concausa di FNAITP. Viene riportato il caso di un neonato con diagnosi iniziale di FNAITP per la presenza alla nascita di piastrinopenia severa ( $8 \times 10^3/l$ ), petecchie ed ematomi, cui è seguito corretto inquadramento diagnostico e conseguente supporto trasfusionale PLT compatibile.

**Materiali e Metodi** Neonato a termine con sintomi di FNAITP in prima giornata; madre primipara con un aborto in anamnesi. Vengono eseguiti i seguenti test: ricerca Ab anti-HPA (PakPlus; Pak-Lx-Werfen) e anti-HLA (LABScreen single antigen-One Lambda) su campione materno; tipizzazione molecolare HPA ed HLA su campioni materno, paterno e neonatale (EryQ HPA-BAG; AlloSeq Tx-CareDX), con particolare ricerca dell'allele *DRB3\*01:01*, riconosciuto come indicatore di alloimmunizzazione anti-HPA-1a. Si allestiscono cross-match tra campione materno e PLT da aferesi e/o da pool piastrinico, con donatori random o HPA/HLA matched.

**Risultati** La ricerca degli Ab anti-HPA sul campione materno, non rilevata da test di screening con metodica ELISA, è risultata positiva per Ab anti-HPA 1b mediante tecnologia Luminex; la ricerca di Ab anti-HLA di classe I è risultata positiva per il 28% di specificità anticorpali (MFI=14050-1030), compreso l'anti-A\*66:01, allele mismatch tra madre e neonato. La tipizzazione HPA ha evidenziato la sola incompatibilità per l'antigene HPA-1 (madre HPA-1aa, padre HPA-1bb e neonato HPA-1ab). La severa trombocitopenia alla nascita ha richiesto terapia trasfusionale piastrinica, gestita inizialmente con 2 unità di aferesi ABO compatibili, con differente incremento post-trasfusionale; è stata quindi introdotto il cross-match piastrinico tra siero materno e le unità di PLT da trasfondere (4), che ha migliorato il CCI, per poi utilizzare unità di aferesi di donatori HPA/HLA compatibili, anche queste testate con crossmatch, che sono risultate le più efficaci per l'incremento post-trasfusionale. Il neonato ha ricevuto un totale di 13 trasfusioni nei primi 30 giorni di vita, per stabilizzarsi nei 10 giorni successivi.

**Conclusioni** La possibilità di utilizzare diversi metodi diagnostici in tempi rapidi e la disponibilità di donatori tipizzati ha consentito di fornire supporto trasfusionale corretto in un raro caso di trombocitopenia neonatale alloimmune da anticorpi anti-HPA 1b, la cui presenza e importanza poteva essere sottostimata.

Abstract Code: AIB20828-64

## Confronto tra diversi metodi per lo studio degli anticorpi anti HLA presso AOU - Careggi

M.L. Mattei<sup>1</sup>, M. Betti<sup>1</sup>, S. Palchetti<sup>1</sup>, S. Iozzi<sup>1</sup>, A. Brogi<sup>1</sup>, B. Boschi<sup>1</sup>, C. Ferrari<sup>1</sup>, G. Marseglia<sup>1</sup>, T. Morgani<sup>1</sup>, E. Baldini<sup>1</sup>, E. Pelo<sup>1</sup>

(1) SODc Diagnostica Genetica AOU Careggi, Firenze, Italia

Nello studio dei pazienti candidati a trapianto d'organo solido in fase pre e post trapianto è essenziale la corretta identificazione delle specificità degli anticorpi anti HLA. In fase pre- trapianto la presenza di Ab anti HLA aumenta la difficoltà di individuare un donatore compatibile, prolungando il tempo d'attesa in lista trapianto, mentre in fase post- trapianto il monitoraggio è necessario per la rivelazione tempestiva di anticorpi anti-HLA donatore-specifici (DSA), responsabili dell'aumentato rischio di rigetto anticorpo mediato. Per tale ragione nel corso degli anni la comunità scientifica si è posta il problema sia di armonizzare l'attività dei vari laboratori sia di validare nuove strumentazioni e metodiche nel tentativo di migliorare la capacità interpretativa del singolo laboratorio. Lo scopo del presente studio è stato quello di confrontare i dati ottenuti dall'utilizzo di due Kit commerciali per l'identificazione degli anticorpi anti HLA, uno basato su single antigen chip array system (BAG Diagnostics, HISTO SPOT® HLA AB), l'altro su Luminex single antigen bead (Immucor, LIFECODES LSA Single Antigen). Sono stati raccolti 6 sieri provenienti dai controlli di qualità del Centro Nazionale Trapianti (CNT) e 52 sieri di pazienti reali (pazienti iscritti in lista trapianto rene, cuore e polmone), ottenendo un totale di 49 campioni di classe I e 42 campioni di classe II. Le specificità confrontate poiché a comune tra le due metodiche sono 86 per la classe I e 74 per la classe II. Dai dati ottenuti è stato possibile realizzare una tabella di contingenza e calcolare il Kappa di Cohen ottenendo un valore di 0,8. Attraverso la regressione Passing Bablok è stato possibile confrontare i valori di MFI (Mean Fluorescence Intensity) e di MCI (Mean Color Intensity), ottenendo classe I  $R=0.74$ ;  $R^2=0.55$  e classe II  $R=0.88$ ;  $R^2=0.78$ . Il passo successivo è stato quello di procedere alla realizzazione di curve di reattività sia per la classe I che per la classe II diluendo a diverso grado il controllo Pos di HISTO SPOT® ed analizzando i campioni ottenuti con entrambi i kit. Il presente studio ha permesso di evidenziare una significativa correlazione tra le diverse tecniche sia attraverso l'elaborazione della tabella di regressione che con il Kappa di Cohen attestato allo 0,8. Dalle tabelle di regressione Passing Bablok è stato possibile rilevare la presenza di una buona correlazione tra il MFI e MCI (classe I  $R=0.74$ ;  $R^2=0.55$  e classe II  $R=0.88$ ;  $R^2=0.78$ ). I valori ottenuti dai grafici di reattività hanno evidenziato la possibilità di estrapolare un fattore di conversione tra MCI e MFI al fine di confrontare al meglio i diversi valori di intensità. Attraverso questo studio è stato possibile testare un metodo alternativo alla metodologia Luminex per lo studio degli anticorpi anti HLA evidenziando la possibilità di utilizzo come utile strumento di confronto. Ulteriori studi sono necessario per incrementare la significatività dei dati ottenuti.

Abstract Code: AIB20829-65

## L'immunogenetica nel trapianto di CSE: l'approccio di uno studio retrospettivo multiparametrico

V. Torrelli<sup>1</sup>, G. Celenza<sup>2</sup>, M. Falco<sup>3</sup>, S. Santarone<sup>4</sup>, D. Vaddinelli<sup>4</sup>, A. Natale<sup>4</sup>, I. Abruscio<sup>1</sup>, M.G. Tupone<sup>1</sup>, O. Valdez<sup>1</sup>, R. Azzarone<sup>1</sup>, C. Cervelli<sup>1</sup>, M. Scimitarra<sup>1</sup>, C. Battistoni<sup>1</sup>, D. Pulcinelli<sup>1</sup>, S. Scacchi<sup>1</sup>, S. Scipione<sup>1</sup>, B. Spaziani<sup>1</sup>, F. Papola<sup>1</sup>

(1) Centro Regionale di Immunoematologia e Tipizzazione Tissutale, ASL1 Abruzzo, (2) Dipartimento scienze Cliniche Applicate e Biotecnologiche - Università degli Studi dell'Aquila, (3) Laboratorio di Immunologia Clinica e Sperimentale IRCCS Istituto G.Gaslini - Genova, (4) Terapia Intensiva Ematologica-Ospedale Civile Pescara

Il trapianto di cellule staminali emopoietiche (CSE) rimane spesso l'unica strategia curativa per diverse patologie ematologiche benigne e maligne. La difficoltà per ricorrere a questa terapia è quella di trovare un donatore idoneo. Nell'ambito familiare troviamo solo il 25% di donatori compatibili e nella banca dati internazionale, che include oltre 45 milioni di donatori, si riesce a trovare il donatore solo per il 65% dei pazienti. In questo contesto, la possibilità di utilizzare un donatore familiare HLA-aploidentico è indispensabile per un largo numero di pazienti. Non è ancora certa la rilevanza dell'analisi dei KIR in questo tipo di trapianto che raggruppa setting trapiantologici differenti (deplezione ex vivo di linfociti T e B o utilizzo di Ciclofosfamide post-trapianto, PT-Cy). Abbiamo quindi dato il via ad uno studio che mira a studiare l'impatto dei KIR nel trapianto aploidentico con riceventi trattati con PT-Cy come profilassi contro la GvHD andando ad analizzare i dati relativi al tipo di genotipo KIR, regioni centromeriche e telomeriche, valore B-content, alloreattività NK, presenza/assenza di KIR attivatori in relazione i dati clinici di TRM, aGvHD, rigetto primario, infezioni virali, recidiva, overall survival e cGvHD. È inoltre stata effettuata la valutazione del B-leader e del DPβ. Ad oggi sono stati analizzati 33 donatori (24 uomini e 9 donne) aploidentici per riceventi affetti da patologie neoplastiche tutti provenienti dal Centro Trapianti di CSE del Presidio Ospedaliero di Pescara. Le tipizzazioni HLA sono state effettuate con SBT o NGS, quelle relative ai KIR con PCR-SSO. Lo studio delle caratteristiche dei KIR, B-Leader e DPβ sono eseguite tramite i calcolatori dell'IMGT. Le analisi statistiche sono state realizzate tramite il software MedCalc attraverso uno studio regressivo logistico. Il dato emergente altamente significativo correla la probabilità di sviluppare GvHD cronica e l'età del donatore: un'età superiore a 56 anni è associata allo sviluppo di cGvHD con una ROC di 0,817 e un intervallo di confidenza che varia tra 0,65 e 0,92. La maggiore età del donatore porterebbe all'esposizione a vari agenti infettivi, stimolando le cellule immunitarie, le quali, inserite in un contesto HLA diverso, pur non sviluppando GvHD acuta per l'azione della PTCy, a fine terapia possono riattivarsi determinando cGvHD. È stato inoltre osservato che a 1100 giorni dal trapianto il 75% dei pazienti che ricevono un trapianto da un donatore NK alloreattivo sopravvive contro il 25% dei non alloreattivi. Questo dato, pur non raggiungendo una significatività statistica (probabilmente dovuta al numero limitato di coppie donatore/ricevente analizzate al momento) suggerisce che l'analisi dei geni KIR potrebbe essere rilevante nella scelta del donatore in contesto questo setting trapiantologico. Un ampliamento della coorte, coinvolgendo più centri trapianto, è necessario per valutare l'effetto dei parametri che abbiamo preso in esame.

Abstract Code: AIB20830-57

## L'eterodimero HLA-DQ8 aumenta il rischio di recidiva dopo trapianto allogenico di cellule staminali e probabilmente influenza l'effetto Graft-versus-Leukemia: uno studio monocentrico su 400 pazienti.

C.T. Prezioso<sup>1</sup>, G. Losi<sup>2</sup>, A. Pasi<sup>1</sup>, V. Da Prat<sup>3</sup>, A. Bianchessi<sup>4</sup>, C. Zerbi<sup>4</sup>, I. Defrancesco<sup>4</sup>, I. Sbarsi<sup>1</sup>, R. Cacciatore<sup>1</sup>, P. Bergamaschi<sup>1</sup>, F. Romano<sup>5</sup>, A. Taurino<sup>4</sup>, V. Zoboli<sup>4</sup>, L. Arcaini<sup>2</sup>, C. Perotti<sup>1</sup>, R. Caccialanza<sup>3</sup>, N. Polverelli<sup>4</sup>

(1) Servizio di Immunoematologia e Trasfusione, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, (2) Dipartimento di Biologia Molecolare, Università degli Studi di Pavia; Divisione di Ematologia, Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo, Pavia, (3) Clinica di Nutrizione e Dietetica, Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo, Pavia, (4) Divisione di Ematologia, Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo, Pavia, (5) Dipartimento di Biologia Molecolare, Università degli Studi di Pavia; Divisione di Ematologia, Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo, Pavia

HLA-DQ8 è un eterodimero associato alla malattia celiaca. Recentemente, la regione genetica HLA-DQ è stata studiata nel contesto del trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (HSCT) e si è scoperto essere associata a un aumento dell'incidenza cumulativa di recidiva (CIR) e a una ridotta sopravvivenza libera da malattia (DFS). Tuttavia, il ruolo preciso delle diverse varianti di HLA-DQ del donatore non è stato ancora determinato.

Abbiamo condotto uno studio monocentrico, retrospettivo, includendo 400 pz adulti che hanno ricevuto un HSCT per malattie ematologiche (2013-2024). Abbiamo valutato la presenza dell'aplotipo HLA-DQA1\*03, DQB1\*03:02 nelle cellule dei donatori. Il follow-up mediano dalla data del trapianto era di 23,3 mesi (range 0,2-131,5). Il 9,5% dei pazienti è stato trapiantato da un donatore DQ8+ mentre il 90,5% da un donatore DQ8-. I pazienti DQ8+ avevano caratteristiche simili in termini di età mediana al trapianto (51 vs 54 anni), sesso (52,6% vs 55,9%), categoria HCT-CI (HCT-CI alto 42,1% vs 38,4%) e indice di rischio di malattia (DRSS alto/molto alto: 78,4% vs 69,3%), indicazione primaria per il trapianto (leucemie acute 47,7% vs 62,7%). Il valore di TCI (total conditioning intensity) era alto nell'84,2% vs 83,6%, la piattaforma PTCy è stata utilizzata nel 31,6% vs 25,7%, la fonte di staminali era il sangue periferico nell'81,6% vs 87,3%, il donatore era MRD nel 28,9% vs 21,5%, rispettivamente.

I pz trapiantati da donatori HLA-DQ8+ avevano una maggiore incidenza di recidiva rispetto ai pazienti trapiantati da altri aplogruppi DQ. Infatti, le CIR a 1, 2 e 5 anni erano rispettivamente 21,6% (CI95%: 10,2-35,8) vs 10,3% (CI95%: 7,4-13,8), 29,7% (CI95%: 16,1-44,6) vs 13,8% (CI95%: 10,4-17,7) e 33,2% (CI95%: 18,6-48,6) vs 16,2% (CI95%: 12,4-20,4) (p=0,002). Per quanto riguarda gli esiti secondari, il gruppo DQ8+ ha mostrato una minore incidenza di aGVHD (CI a 100 giorni 26,7% vs 43,1%, p=0,056), e un'incidenza significativamente minore di cGVHD (1 anno 23,0% vs 38,3%, p=0,023). Non sono state osservate differenze statisticamente significative in termini di NRM (CI a 1 anno 16,2% vs 21,3%, p=0,545), DFS (1 anno 62,2% vs 68,4%, p=0,590), OS (61,7% vs 71,7%, p=0,228) e GRFS (48,8% vs 55,0%, p=0,197) nelle coorti DQ8+ e DQ8-, rispettivamente. Nell'analisi multivariata, dopo l'aggiustamento per i fattori sopra menzionati, DQ8 ha confermato il suo ruolo negativo sul rischio di recidiva (HR 3,10, CI 95%: 1,65-5,82, p<0,001); al contrario, la sua presenza si è rivelata protettiva contro la cGVHD (HR 0,52, CI 95%: 0,27-0,99, p=0,047).

La presenza di HLA-DQ8 sembra conferire un maggiore rischio di recidiva e una minore incidenza di GVHD dopo il trapianto. I nostri risultati suggeriscono che l'espressione di HLA-DQ8 influenzi lo sviluppo dell'allorreattività promuovendo una risposta tollerogena, che potrebbe ridurre l'effetto GVL. Se questa informazione potrà guidare la selezione dei donatori, dovrà essere confermata prospetticamente.

Abstract Code: AIB20831-58

## Marker genetici e sierologici nella Celiachia Pediatrica: impatto delle varianti HLA-G, HLA-DQ2 e dei livelli di anti-TTG

C.T. Prezioso<sup>1</sup>, A. Pasi<sup>1</sup>, D. Veraldi<sup>2</sup>, L. Raso<sup>2</sup>, I. Sbarsi<sup>1</sup>, C. Bottazzi<sup>1</sup>, P. Bergamaschi<sup>1</sup>, S. Caimmi<sup>2</sup>, G.L. Marseglia<sup>3</sup>

(1) Servizio di Immunoematologia e Trasfusione, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, (2) Dipartimento di Pediatria, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, (3) Università degli Studi di Pavia, Pavia; Dipartimento di Pediatria, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

La celiachia è una malattia autoimmune cronica in cui l'ingestione di glutine provoca una risposta immunitaria che danneggia la mucosa intestinale, portando a sintomi gastrointestinali e malassorbimento. La classificazione istologica di Marsh è uno strumento fondamentale per valutare la gravità del danno intestinale, suddividendo i pazienti in stadi che vanno da Marsh 0 (assenza di lesioni) a Marsh 4 (atrofia totale dei villi intestinali). L'obiettivo dello studio è stato indagare l'associazione tra fattori genetici, marker sierologici e classificazione istologica di Marsh in 290 pazienti pediatriche, 100 maschi e 190 femmine (range di età: 8-216 mesi). In particolare, sono stati analizzati i livelli di anticorpi anti-transglutaminasi tissutale (TTG), la presenza di varianti genetiche HLA-G ins/del 14 pb (INS/DEL e INS/INS rispetto a DEL/DEL), e la positività per gli eterodimeri HLA-DQ2.

Utilizzando una regressione logistica multinomiale, i dati sono stati analizzati per determinare la probabilità di trovarsi in uno stadio conclamato della classificazione istologica di Marsh (1-3c) rispetto allo stadio 0. I risultati mostrano che livelli elevati di anticorpi anti-TTG (>10X) sono associati a una maggiore probabilità di essere in stadi conclamati (Marsh 3a-3c) rispetto a stadio 0, con p-value < 0.001 in tutti i confronti. Questo conferma il ruolo del titolo di anti-TTG come importante indicatore della gravità della malattia celiaca.

Le varianti genetiche HLA-G ins/del 14 pb hanno mostrato un'associazione significativa con la gravità della malattia. I soggetti con la variante INS/DEL hanno una probabilità ridotta di trovarsi in stadi conclamati rispetto ai soggetti con DEL/DEL, mentre i soggetti con INS/INS hanno una probabilità significativamente aumentata di trovarsi in stadi più gravi. Questo suggerisce che HLA-G, una molecola immunomodulante nota per il suo ruolo nella tolleranza immunitaria, potrebbe influenzare l'esito della risposta immunitaria nei pazienti celiaci. Le varianti HLA-G, infatti, possono modulare la risposta immunitaria intestinale, contribuendo a ridurre o aumentare il danno tissutale. Allo stesso modo, la presenza di eterodimeri HLA-DQ2 è risultata essere un forte predittore di una maggiore gravità istologica ( $p < 0.001$ ). La combinazione di questi fattori genetici con i marker sierologici ha mostrato un effetto cumulativo nella stratificazione dei pazienti in base alla severità della malattia.

In conclusione, i risultati di questo studio avvalorano l'importanza di considerare fattori genetici e sierologici nel predire la gravità della malattia celiaca. Se i dati saranno confermati da uno studio prospettico, l'uso combinato di HLA-G ins/del 14 pb, HLA-DQ2 e livelli di anti-TTG potrebbe migliorare la capacità di stratificare i pazienti in base alla severità del danno intestinale, fornendo indicazioni preziose al clinico per ridurre l'esecuzione di EGDS/biopsie nei pazienti pediatriche.

Abstract Code: AIB20832-59

## DNA libero circolante derivato dal donatore: utilità clinica nella strategia di sorveglianza per il trapianto di cuore

M.A. Feccia<sup>1</sup>, V. Dinallo<sup>2</sup>, S.M. Bruno<sup>2</sup>, S. Sinopoli<sup>2</sup>, G. Distefano<sup>3</sup>, G. Cacioli<sup>3</sup>, R. Adorisio<sup>4</sup>, A. Amodeo<sup>5</sup>, A. Manfreda<sup>2</sup>, S. Caporali<sup>2</sup>, I. Gabrielli<sup>2</sup>, E. Poggi<sup>6</sup>

(1) UOC Cardiocirurgia e Trapianto Cuore-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini - Centro Regionale Trapianti Lazio-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini, (2) Centro Regionale Trapianti Lazio-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini, (3) UOC Cardiocirurgia e Trapianto Cuore-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini, (4) UOC Cardiocirurgia Trapianto cardiaco pediatrico-Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, (5) UOC Cardiocirurgia Trapianto cardiaco pediatrico-Ospedale Pediatrico Bambino Gesù - Università Cattolica del Sacro Cuore Roma, (6) CNR-Istituto di Farmacologia Traslazionale Roma San Camillo - Centro Regionale Trapianti Lazio-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini

**Introduzione.** Il trapianto cardiaco rappresenta il gold standard nel trattamento dell'insufficienza cardiaca avanzata. Il rigetto acuto e la vasculopatia dell'allotrapianto cardiaco determinano disfunzione del trapianto, compromissione emodinamica, insufficienza cronica del trapianto e mortalità: un'accurata e tempestiva diagnosi risulta, pertanto, fondamentale.

Gli attuali standard di riferimento per la diagnosi di rigetto/lesione, con diversi livelli di sensibilità e invasività, sono rappresentati da biopsia endomiocardica (EMB), ecocardiografica, TC cardiaca, angiografia, anticorpi HLA donatore-specifici (DSA).

Il dd-cfDNA è un nuovo sensibile biomarcatore in grado di rilevare il DNA derivato dal donatore rilasciato nel sangue del ricevente, utile per una diagnosi precoce di rigetto/lesione cardiaca.

Lo scopo di questo studio pilota è stato quello di valutare l'utilità del dd-cfDNA per rilevare precocemente la lesione miocardica acuta in pazienti adulti e pediatrici in tempi diversi dal trapianto (de novo, 1-5-10 anni) strettamente correlata all'aspetto clinico.

**Metodi.** Dieci pazienti sono stati analizzati con EMB, test ecocardiografico, DSA, misurazione del livello di farmaci immunosoppressori, CTScan cardiaco e valutazione della frazione dd-cfDNA.

**Risultati.** Otto pazienti sono risultati negativi al dd-cfDNA (<0,2%), in accordo con EMB, ecocardiografico e DSA mentre due pazienti sono risultati positivi (0,33 e 12,19%). Il paziente con bassa % dd-cfDNA è risultato negativo per EMB ed ecocardiografia con basso titolo DSA mentre il paziente con alta % dd-cfDNA ha mostrato un alto titolo DSA (MFI 15354) ed EMB positivo con aspetto ecocardiografico di strain e disfunzione diastolica.

**Conclusione.** Il forte legame tra risultati di laboratorio e valutazione clinica diventa cruciale per personalizzare la strategia terapeutica. Lo studio preliminare conferma la correlazione tra alti livelli di dd-cfDNA e profili EMB, Echo, DSA, CAV. I risultati possono guidare i medici a identificare precocemente i trapianti di cuore ad alto rischio e ad applicare diverse strategie di monitoraggio della terapia per preservare la funzionalità cardiaca del Graft. Ulteriori studi dovranno confermare questa evidenza.

Abstract Code: AIB20833-60

## Rilevanza clinica degli anticorpi HLA donatore-specifici preformati e a basso titolo nel trapianto di rene

E. Poggi<sup>1</sup>, A. Manfreda<sup>2</sup>, S. Caporali<sup>2</sup>, S. Sinopoli<sup>2</sup>, V. Dinallo<sup>2</sup>, S.M. Bruno<sup>2</sup>, I. Gabrielli<sup>2</sup>, M.A. Feccia<sup>3</sup>

(1) CNR-Istituto di Farmacologia Traslazionale Roma San Camillo - Centro Regionale Trapianti Lazio-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini, (2) Centro Regionale Trapianti Lazio-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini, (3) UOC Cardiochirurgia e Trapianto Cuore-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini -Centro Regionale Trapianti Lazio-Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini

**Introduzione.** Nei pazienti candidati al trapianto di rene la presenza di anticorpi HLA citotossici preformati e specifici per le molecole HLA non condivise del potenziale donatore (anticorpi donatore-specifici -DSA), rappresentano una controindicazione assoluta al trapianto di rene.

Le nuove tecniche citofluorimetriche oggi utilizzate per l'identificazione e la caratterizzazione di anticorpi HLA, come il test Luminex-Single Antigen Beads, sono molto sensibili e consentono il rilevamento di DSA anche a bassi valori di intensità media di fluorescenza (MFI).

Per i programmi nazionali di trapianto di rene il cutoff dei DSA "accettabili" considerato è stato fissato ad un valore di  $MFI \leq 3000$ .

Nella regione Lazio, in accordo con i 5 Centri di trapianto di rene afferenti, il cutoff dei DSA accettabili è stato fissato ad un valore di  $MFI \leq 5000$  per molecole HLA-A/B/DR/DQB e di  $MFI \leq 7000$  per molecole HLA-C/DPA/DPB/DQA.

**Metodi.** È stato analizzato l'esito del trapianto (follow-up  $34,2 \pm 19,8$  mesi) di 207 pazienti pre-sensibilizzati (%FlowPRA classe I =  $43 \pm 35$ ; %FlowPRA classe II =  $35 \pm 38$ ), trapiantati di rene presso i 5 centri trapianto della regione Lazio, tra maggio 2007 e giugno 2020 sulla base di risultati negativi sia al CDC-XM che al FC-XM. Sette pazienti sono stati esclusi dallo studio a causa della mancata ripresa funzionale del trapianto (4 pazienti) o del decesso per cause non immunologiche (3 pazienti). 103 pazienti (53,4%) non presentavano DSA HLA preformati; i restanti 90 (46,6%) pazienti avevano DSA "accettabili". DSA HLA di classe I erano presenti in 53 pazienti e otto di questi mostravano DSA contro più molecole HLA del donatore; DSA HLA di classe II erano presenti in 22 pazienti e tre di questi mostravano DSA anti-DPB/DQA con  $MFI \leq 7000$ . I restanti quindici pazienti presentavano sia DSA HLA di classe I che di classe II.

**Risultati.** Analizzando l'esito del trapianto dei 193 pazienti con trapianto funzionante, non è stata evidenziata alcuna differenza significativa di rigetto/perdita del graft tra pazienti DSA positivi e pazienti DSA negativi (rigetto: 10,4% vs. 6,5%,  $P = ns$ ; perdita del trapianto: 12,5% vs. 10,9%,  $P = ns$ ). In particolare, dei 90 pazienti DSA positivi, 5 (5,5%) hanno avuto un rigetto umorale senza perdita funzionale; due (2,2%) hanno avuto un rigetto cellulare e uno di questi ha perso la funzione d'organo. Otto pazienti DSA positivi sono andati incontro al fallimento del trapianto non correlato a DSA preformati.

**Conclusione.** I risultati di questo studio mostrano che i DSA preformati con bassi valori di intensità di fluorescenza media non rappresentano una controindicazione al trapianto di rene. Una valutazione accurata della "forza" dei DSA rilevati da Luminex può consentire, pertanto, di trapiantare pazienti con anticorpi HLA clinicamente "irrilevanti".

**XXX**

**Congresso  
Nazionale**

**AIBT**

Associazione Italiana  
di Immunogenetica  
e Biologia dei Trapianti

 **PLANNING**