

registrados 607 pacientes com pesquisas de anticorpos irregulares positivas (P.A.I) e foram realizados testes para identificação de anticorpos irregulares. Dentre essas 607 amostras, 11 pacientes apresentaram a formação de anticorpo para Anti-Dia, uma incidência de 1,8% entre nossos pacientes. **Discussão:** O sistema de grupo sanguíneo Diego (ISBT 010) consiste em 23 antígenos transportados em uma glicoproteína de membrana multipassagem chamada banda 3 (também conhecida como AE1; SLC4A1; CD233). Os domínios transmembranares da banda 3 funcionam como transportador de ânions eritrocitários, enquanto a longa região amino-terminal da proteína é crítica para manter a integridade da forma eritrocitária por meio de sua interação com o citoesqueleto. Dentre os 23 antígenos, o par antitético de antígenos Dia e Dibsão os mais conhecidos. O antígeno Dib é de alta prevalência em todas as populações. O antígeno Dia, que difere por um aminoácido na glicoproteína AE1 do Dib, é raro entre caucasianos (0,01%), mas tem maior frequência entre índios americanos (36%) e asiáticos (10%). O Dia foi descrito em 1955, em um caso proveniente da Venezuela: uma mulher de origem indígena, com sobrenome Diego, cujo recém-nascido apresentou doença hemolítica perinatal (DHPN), e as hemácias paternas reagiam fortemente com o soro materno contendo o anti-Dia. Indivíduos Dia negativos podem sensibilizar-se quando expostos por gestação ou transfusão ao antígeno Dia presente nas hemácias, desenvolvendo um aloanticorpo anti-Dia e raros casos de ocorrência natural do anticorpo foram relatados. O anticorpo anti-Dia é da classe IgG (IgG1 ou IgG3), capaz de atravessar barreira placentária e causar DHPN grave; menos frequentemente podem causar reações transfusionais hemolíticas tardias de moderada a grave intensidade. **Conclusão:** Nos países com predomínio de população caucasiana, os painéis de identificação de anticorpos não trazem células Dia positiva (+), mas nos países asiáticos e/ou com predomínio de miscigenação indígena, os painéis trazem sempre, pelo menos, uma célula Dia+ para auxiliar na identificação do anti-Dia. O trabalho mostra que em nosso serviço temos 3,6% de doadores Dia+ positivos, taxa compatível com a frequência do antígeno Dia observada em estudos realizados em diversos estados brasileiros (3%–40%), portanto, ao transfundirmos esses concentrados de hemácias nos pacientes que são Dia negativo pode ocorrer aloimunização. O sistema Diego possui baixa imunogenicidade e a fenotipagem rotineira de pacientes e doadores não é recomendada, mas devemos ter atenção na aquisição de painéis de identificação para presença de pelo menos uma célula Dia+ e realizar a fenotipagem de alguns doadores para termos um banco de dados suficiente para atender os pacientes aloimunizados com bolsas Dia negativas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.777>

DOADOR DE SANGUE DE SEXO FEMININO COM FENÓTIPO RHD FRACO TIPO 38 - RELATO DE CASO

ST Alves^a, SC Sales^a, SR Fernandes^a,
JS Nascimento^a, ECF Alves^a, AR Silva^b,
KVD Cruz^b, JSR Oliveira^a

^a Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP, Brasil

^b Bio-Rad Laboratórios Brasil, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O antígeno D que pertence ao sistema de grupo sanguíneo Rh (ISBT 004) apresenta uma grande variação na expressão fenotípica, qualitativamente e quantitativamente, desde um D normal com quantidade de sítios antigênicos por hemácias entre 10.000 a 25.000, até proteína D em quantidades mínimas, abaixo do limiar de detecção por testes sorológicos de aproximadamente 500 sítios. São os D fracos, e atualmente se conhece mais de 150 tipos de D fracos. Há também D parciais em que ocorre perda de epítomos do antígeno D, muitos tipos D parciais são devidos a alelos híbridos RHD-CE-D que codificam para proteínas RhD sem aminoácidos de especificidade RhD em certas partes da proteína. D fracos e D parciais são tipos de D variantes, ambos podem produzir anticorpos anti-D, com menor frequência nos D fracos. Quando um doador D variante for classificado como D negativo pode aloimunizar o receptor da transfusão, se este for RhD negativo. **Relato do caso:** Uma amostra de doador de sangue total de sexo feminino deu entrada no Setor de Imunohematologia de Doadores do Banco de Sangue Santa Marcelina em julho/2019, ao ser processada em testes automatizados pelo Equipamento IH-500a apresentou uma reação negativa no cartão “Diaclon ABO/D + Prova Reversa” com o anti-D monoclonal DVI- [linhagens celulares LHM59/20 (LDM3) + 175-2]. Ao ser realizado o teste de confirmação de D fraco através do cartão para Teste Indireto da Antiglobulina Humana (AGH) com o reagente ID-DiaClon Anti-D (linhagem celular ESD1) apresentou uma reação positiva de fraca intensidade (1+/4+), repetida e confirmada. Em casos de baixa intensidade, o equipamento sinaliza a necessidade de exames complementares por suspeita de “D variante”. A amostra foi encaminhada para laboratório de apoio ao cliente (LAC) da Bio-rad que realizou a genotipagem pela técnica d PCR-RFLP encontrando o genótipo RHD*1W.38. No cartão de fenotipagem RH/Kell resultou em: Ccee, K-. **Discussão:** Os D fracos correspondem a mutações genéticas no gene RHD que acarretam substituição de aminoácidos nas porções intracelulares ou transmembranares da proteína RhD, diminuindo a quantidade expressa por células. O Gene RHD é o mais polimórfico dos genes de grupo sanguíneo, com mais de 500 alelos descritos até o momento e mais de 150 tipos de D fracos sendo que os tipos 1, 2, 3 e 4.0 representam 90% dos fenótipos de D fraco. O RhD tipo 38 é resultado de uma mutação missense que causa a troca do nucleotídeo Guanina pela Adenina na posição 833 (833G>A) no éxon 6, causando uma substituição do aminoácido Glicina pelo Aspartado na posição 278 (Gly278Asp) localizado na parte transmembrana da proteína. Este alelo RHD mostra expressão reduzida do antígeno D na superfície das hemácias, 60 a 80 sítios por células, e pode ser erroneamente ser classificado como D negativo pelo padrão de métodos sorológicos. Sua frequência varia em diferentes populações, embora o RHD*fraco tipo 38 seja considerado um alelo muito raro, é comum na população portuguesa, e estudos mostram que também é relativamente frequente entre brasileiros (prevalência de 2,6%), provavelmente pela colonização portuguesa. **Conclusão:** Com pelo menos 56 antígenos, o grupo sanguíneo Rh é um dos mais complexos. Merece atenção especial a fenotipagem do

antígeno D, em doadores devemos usar reagentes sensíveis que possam detectar os D variantes que podem levar a aloimunização do receptor, reagentes monoclonais e com misturas de clones aumentam a sensibilidade do teste, detectando quantidades mínimas de antígeno D, métodos automatizados auxiliam nessas leituras, que podem ser complementadas por genotipagem. Esses doadores devem ser classificados como D positivos, e quando pacientes ou gestantes como D negativo, recebendo inclusive profilaxia para evitar aloimunização pelo antígeno D fetal.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.778>

ESTRATÉGIAS PARA A CAPTAÇÃO DE DOADORES DE SANGUE DIEGO B NEGATIVOS

JG Bohatzuk

Hemocentro Regional de Guarapuava, Guarapuava, PR, Brasil

Introdução: O sistema de grupo sanguíneo Diego descoberto em 1953 é composto principalmente por dois antígenos Diegoa e Diegob distribuídos na população na forma de heterozigose Di (a+b+), de homozigose do antígeno B Di(b+b+) e de homozigose do antígeno A Di (a+a+) sendo este último também conhecido como sangue Diego B negativo que, por sua raridade, pode até dar a falsa impressão de um breve tópico teórico de um livro de hematologia, o que não é verdade. Em 2012, por exemplo, um jovem indígena do sul da Bahia exatamente com esta situação teve uma desagradável espera de dois meses até que fossem localizados, naquele estado e no de São Paulo, doadores de sangue compatíveis com o seu para que a cirurgia cardíaca da qual necessitava tivesse bom êxito. Mas, o que se fazer em situações emergenciais sem possibilidade de espera? Como e onde identificar com antecedência doadores Diegobnegativos para prevenir tais episódios? É o que o presente artigo pretende debater. **Metodologia:** Alguns serviços de hemoterapia empiricamente pesquisam o antígeno Diegoa nas hemácias de doadores utilizando anticorpos anti-Diegoa do plasma de doadores alogunizados pelo antígeno, o que é louvável, pois o reagente comercial é de custo elevado e a legislação nem mesmo exige a triagem do antígeno em doadores e pacientes. Uma limitação do teste ‘in house’ é que não revela a condição de heterozigose ou homozigose dos antígenos, algo que somente a genotipagem pode dar. Se levarmos em conta os resultados de um estudo de 2015 realizado em Guarapuava (PR) para validar a técnica in house lá utilizada, onde foram genotipadas 24 amostras de doadores Dia+, das quais 22 resultaram em heterozigose Di (a+b+) e 2 em homozigose Di (a+a+), sendo estas provenientes de doadores indígenas, podemos concluir que a heterozigose é a condição prevalente nos indivíduos Dia+ aleatórios e que, com base na elevada incidência do antígeno Di dentro das comunidades indígenas como entre os kaingang por exemplo onde este chega a 60%, as probabilidades de se localizar indivíduos Di (a+a+) são estatisticamente maiores neste do que em qualquer outro grupo. **Conclusão:** Analisando as prevalências do antígeno Dia para doadores de sangue de diferentes pontos do país como: 4,7% no Centro-

Oeste do Paraná, 7% no Ceará e 10% no Pará percebemos que são muito superiores aos índices de 0,01% ou 0,1% descritos na literatura oficial e que o antígeno está distribuído de forma desigual, porém não ausente, entre a população brasileira. O caso de 2012 da Bahia nos alerta para um olhar mais atento quanto à necessidade de identificar doadores de sangue Diego B negativos para uma possível convocação. Neste sentido, os serviços de hemoterapia que pesquisam o antígeno Dia, sem que o saibam ou desejem, já percorreram 50% deste caminho e a população onde o antígeno está mais presente deve ser a sua bússola orientadora.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.779>

PADRONIZAÇÃO DE ENSAIO MULTIPLEX PARA IDENTIFICAÇÃO DAS VARIANTES D-FRACO TIPO 3, 11, 38, 2 E 5 NA POPULAÇÃO BRASILEIRA

TCS Silva^a, MR Dezan^b, CL Dinardo^{a,b}, BR Cruz^a, S Sanches^c, D Langhi^{a,c}, JO Bordin^a

^a Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Fundação Pró-Sangue, São Paulo, SP, Brasil

^c Imunolab, Brasil

Objetivos: Padronizar duas técnicas de PCR multiplex alelo específico (MAS-PCR) que classifiquem ao mesmo tempo os indivíduos CDe como D fraco tipo 3, 11 ou 38 e os indivíduos cDe como D fraco tipo 2 ou 5. **Material e métodos:** Amostras de 15 indivíduos previamente fenotipados como D-fraco e genotipados por sequenciamento de Sanger, provenientes do banco de amostras da Fundação Pró Sangue – Hemocentro de São Paulo, que apresentavam alelos D-fraco tipo 2, 3, 5, 11 e 38 foram selecionados para padronização. As amostras D-fraco tipo 2 ou 5 eram CDe e amostras D-fraco tipo 3, 11 ou 38 eram cDe. O desempenho do MAS-PCR foi avaliado em comparação com o método de Sanger, caso os resultados obtidos fossem semelhantes entre as técnicas, o teste MAS-PCR seria aprovado. **Resultados:** Todas as 15 amostras apresentaram os genótipos concordantes com os resultados do sequenciamento de Sanger realizado previamente e puderam ser identificadas entre as variantes de RHD testadas. Um controle interno (IC) sem mutações RH e uma amostra em branco foram testados no ensaio MAS-PCR proposto. A precisão do teste foi considerada 100%. **Discussão:** O método de PCR alelo específico (AS-PCR), o teste mais utilizado para genotipagem, permite a identificação de uma variante por vez, enquanto o ensaio de MAS-PCR permite a identificação de mutações simultâneas em uma só reação e mostrou-se bastante eficiente. Com isso, poderíamos ter mais agilidade, economia de material genético e redução de custos. Além disso, para a identificação de mutações RH, o conhecimento dos fenótipos RhCE ajuda a definir qual MAS-PCR usar como estratégia. Se CDe utilizamos MAS-PCR para D-fraco tipo 11, 38 ou 3, enquanto para cDe podemos usar o teste que distingue entre D-fraco tipo 2 ou 5 MAS-PCR. Por fim, o teste MAS-PCR poderia ser utilizado em populações mestiças como a brasileira, pois inclui as principais mutações frequentemente encontradas