

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 aloimunizados 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

em nosso país. Com base nos resultados e na estratégia utilizada pelo grupo, foi desenvolvida uma estratégia de investigação para encontrar doadores de sangue D-fraco e D-parcial. Na literatura foram encontradas algumas estratégias que investigam casos semelhantes em uma mesma população, no entanto, os casos demoram mais para serem resolvidos, assim como mais recursos e dinheiro devem ser gastos. **Conclusão:** Nosso objetivo era padronizar a técnica de MAS-PCR e garantir que nossos resultados fossem consistentes com uma genotipagem prévia realizada por sequenciamento de Sanger. Um total de 15 amostras foram testadas e todas apresentaram compatibilidade entre as técnicas. Assim, a técnica MAS-PCR mostra-se confiável para ser realizada para solucionar esses casos de forma rápida e eficiente.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.780>

DOENÇA HEMOLÍTICA DO RECÉM-NASCIDO POR ANTICORPOS MATERNOS COM ALELOS RHD*DAR ASSOCIADO AO RHCE*CEAR: UM RELATO DE CASO

VL Brandão, D Zorzetti, SAB Mateus, ECF Alves, MSS Almeida, JSR Oliveira, ST Alves

Hospital Santa Marcelina (HSM), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Relato de caso clínico de doença hemolítica do recém-nascido (DHRN) provocado por anticorpos maternos relacionados a variantes do sistema Rh. **Relato:** Recém-nascido (RN) a termo, filho de mãe multipara (G5P4A1), evoluiu com hiperbilirrubinemia (bilirrubina total - BT: 10,54 mg/dL, às custas de bilirrubina indireta) no 2º dia de vida. Foi submetido a fototerapia por 1,5 dias e recebeu alta com 3 dias de vida. Mãe procurou atendimento médico no 5º dia de vida, com RN apresentando icterícia na Zona IV de Kramer (BT: 37,4 mg/dL, indireta 36,99mg/dL). Internado em unidade de terapia intensiva, solicitada exsanguíneotransfusão e prescrito imunoglobulina. Encaminhada para Agência Transfusional, amostras do sangue do RN e da mãe para estudos imunohematológicos: RN: O RhD positivo, Fenotipagem c+ C-e+ E- K -, Teste da Antiglobulina Direto (TAD) positivo. A Identificação de Anticorpos Irregulares (IAI) com produto do eluato foi positiva, com identificação de aloanticorpo(s) de especificidade indeterminada. Devido urgência, preparou-se um sangue total reconstituído com concentrado de hemácias O Negativo recente, filtrado com Plasma AB, irradiado, prova de compatibilidade negativa para exsanguíneo. Mãe: O RhD positivo, TAD: negativo, Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI): positiva com IAI inconclusiva. Encaminhada amostra da mãe para laboratório externo de apoio, que testou o soro materno com um painel de fenótipos raros e não reagiu com 1 hemácia Hr-/hrs, fenotiparam as hemácias maternas com 2 soro anti-hrs com resultado negativo, foi realizado procedimento de adsorção seletiva para remover esses prováveis anticorpos e detectou-se a presença de anti-D e anti-C. Os resultados iniciais sugerem presença de fenótipo RhD e RhCE variantes com presença de aloanticorpos anti-D, anti-C, anti-Hr e anti-hrs. Posteriormente, a análise molecular revelou RHD*09.01 ,

fenótipo deduzido: DAR e variante RHCE: RHCE*ceAR , fenótipo deduzido: C-, c+ parcial, E-, e+ parcial, Cw-, V+, VS-, hrs-, hrB+. **Discussão:** A DHRN ocorre pela destruição das hemácias do recém-nascido por ação dos anticorpos maternos. A apresentação clínica consiste em anemia, hiperbilirrubinemia e comprometimento orgânico. É causada principalmente por incompatibilidade do sistema ABO e Rh. Uma pequena fração ocorre por outros grupos sanguíneos como o sistema Kell, Duffy, MNS, P e Diego. O sistema Rh é o mais polimórfico e imunogênico de todos os sistemas de grupos sanguíneos e seus anticorpos possuem grande relevância clínica por estarem envolvidos nas reações de aloimunização. Os genes RHD e o RHCE , altamente homólogos, codificam ao menos 56 antígenos, sendo os 5 principais: D, C/c e E/e. O antígeno D é o mais importante clinicamente pela sua imunogenicidade e é composto por múltiplos epítomos. Os rearranjos dos genes RHD e RHCE podem levar a ausência de um ou mais epítomos, gerando hemácias D parciais. Indivíduos com antígeno D parcial podem produzir anti-D contra aqueles epítomos ausentes quando expostos à proteína RhD completa. Existem vários alelos variantes de RHD e RHCE ; Os alelos alterados podem levar a fraca expressão de antígenos (fenótipo fraco) ou a perda de epítomos imunogênicos (fenótipo parcial). Estima-se que 0,2 a 1% da população possui hemácias com fraca expressão de antígeno RhD, principalmente pelas variantes DAR. É frequente a associação do alelo RHD*DAR com a variante RHCE*ceAR. **Conclusão:** Considerando a importância clínica das variantes do sistema Rh, especialmente no contexto da gestação e assistência perinatal, ressalta-se a necessidade do estabelecimento de estratégias como fenotipagem e testagem molecular, a fim de reduzir o risco aloimunização, contribuindo para uma medicina transfusional mais segura.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.781>

MANEJO DE PACIENTE COM RHCE VARIANTE CE[733G] ALOIMUNIZADA E COM INDICAÇÃO TRANSFUSIONAL – RELATO DE CASO

MMA Duarte, M Krasilchik, ECF Alves, SAB Mateus, MSS Almeida, JSR Oliveira, ST Alves

Hospital Santa Marcelina (HSM), São Paulo, SP, Brasil

Objetivos: Relato de caso clínico ocorrido no hospital Santa Marcelina (HSM) de RhCE variante no ano de 2021. **Material e métodos:** Estudo observacional transversal retrospectivo pautado em revisão de prontuário. **Relato:** Paciente, feminina, 55 anos, diagnóstico de Adenocarcinoma papilífero de ovário de Setembro de 2020, interna no HSM em Fevereiro de 2021 aos cuidados da ginecologia oncológica por episódio de hematuria. Foi avaliada necessidade transfusional de concentrado de hemácias (CH) sendo realizados os primeiros testes imunohematológicos com pesquisa de anticorpos irregulares (P.A.I) negativa e constatado o tipo sanguíneo B RhD positivo. No mês de Agosto a paciente encontrava-se em programação cirúrgica para abordagem de tumor abdominal, com necessidade de reserva de CH. No entanto, nos novos testes pré transfusionais foi encontrado uma P.A.I positiva e não foi