

comerciais anti-D (ESD1 BioRad; P3X61, P3X290, PX35, PX21223 B10, RUM-1, ESD-1M–Grifols; D175, D415–Immucor®; NaTH119, LOR-15C9 Imunoscan). As fenotipagens eritrocitárias dos Sistemas Rh (C,c,E,e) e Duffy (Fya, Fyb) foram determinadas nas técnicas de Gel (DG Gel Rh Pheno e com antissoros policlonais, Grifols S.A, respectivamente). A genotipagem foi realizada por técnicas de PCR-Multiplex com primers específicos do gene RHD (exons 3, 4, 5, 6, 7 e 9), PCR- RFLP para regiões do gene FY (125G>A e -67T>C), técnicas automatizadas utilizando a plataforma Bloodchip (Kit ID CORE XT Grifols S.A.) e sequenciamento Sanger com análise dos 10 exons do gene RHD. **Resultados:** A tipagem RHD apresentou resultado discrepante entre os dois anti-D nos testes de rotina (Anti-D IgM negativo e IgG fracamente positivo). Os demais antissoros apresentaram reações sorológicas fracas e inconsistentes. Além desse achado, a presença de neutropenia leve no hemograma do doador motivou a investigação dos fenótipos dos Sistemas RH e FY: RH:-2,-3,4,5 (Ccee) e FY:-1,-2/Fy(a-b-). O PCR-multiplex detectou todos os éxons do gene RHD. As genotipagens, convencional e automatizada confirmaram o polimorfismo GATA em *homozigose* (FY*2_67C>C) na região promotora gene FY, e o sequenciamento apontou a troca de um único nucleotídeo (833G>A) no éxon 6 confirmando o alelo RHD*01W.38. **Discussão:** O fenótipo D fraco tipo 38 está envolvido na aloimunização anti-D, sua prevalência é 1,5% em indivíduos caucasianos de origem portuguesa e o genótipo GATA é relativamente comum em afrodescendentes. A amplificação dos exons RHD, a associação com o haplótipo RHCE*Ce (frequente em caucasianos) e a mutação GATA, foram fatores que determinaram a análise do DNA desse doador pela técnica do Sequenciamento, uma vez que, protocolos de genotipagem estendidos para as variantes RHD consomem tempo e são de alto custo. **Conclusão:** A identificação de indivíduos com fenótipos incomuns é importante tanto para fins transfusionais, como para caracterizar frequências populacionais onde a miscigenação é alta, ou em populações onde normalmente elas não seriam pesquisadas. A disponibilidade de técnicas de sequenciamento proporciona resultados mais acurados e rápidos uma vez que analisam regiões de exons e introns do gene RHD, onde metodologias de PCRs convencionais demorariam mais ou até mesmo, mostrariam-se inconclusivas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.1137>

EFFECTS OF PROPHYLACTIC RED BLOOD CELL (RBC) TRANSFUSION WITH EXTENDED ANTIGEN MATCHING ON ALLOIMMUNIZATION IN PATIENTS WITH SICKLE CELL DISEASE (SCD)

I Leal, TDD Santos, L Castilho

Centro de Hematologia e Hemoterapia da Unicamp (Hemocentro Unicamp), Campinas, SP, Brazil

Background and aims: As the alloimmunization remains a major complication associated with RBC transfusions in SCD patients and can be associated with Delayed Hemolytic Transfusion Reactions (DHTRs), this study was undertaken to

assess the effects of prophylactic RBC transfusion with extended RBC antigen matching on alloimmunization in patients with SCD. **Methods:** A 20-year retrospective study involving 179 patients with SCD transfused with RBCs matched for D, C, c, E, e, K, Fya/Fyb, Jka/Jkb and S antigens was performed. Data from medical records were evaluated, such as the number of transfusions and the results of immunohematological tests, obtained through serological and molecular techniques. According to the history of the transfusion service, the alloimmunization rate prior to the implementation of the transfusion protocol with extended phenotype matching was 47%. Unexpected antibodies to the Rh system, meaning anti-Rh antibodies in patients whose serologic phenotype was Rh positive, were investigated by molecular genotyping for RH variant alleles. **Results:** During the study period, 42 (23.5%) patients developed red cell antibodies and 137 (76.5%) did not. Among the 42 patients who alloimmunized, 13 (31%) had Rh variants, and in 8 (19%), the variant found would justify the formation of the identified Rh antibody, and 16 (38.1%) patients developed antibodies against antigens of low prevalence. **Discussion:** The provision of antigen-negative blood to patients under chronic transfusions is being recommended to decrease the risk of hemolytic transfusion reactions and to prevent new instances of alloimmunization. Our results showed that patients with SCA benefit from transfusions with extended matching, as demonstrated by the reduction in alloimmunization rates from 47% to 23.5%. We observed in this retrospective analysis that some patients who received external transfusions developed antibodies against the antigens that were being matched, which could be one of the reasons that would justify the rate of alloimmunization found. Another cause may be genotype-discordant phenotype, as some patients may have been phenotyped after recent transfusions before being genotyped. This cohort had a wide variation in exposure to red blood cell transfusions and patients who alloimmunized for Rh and low prevalence antigens were the most exposed, confirming that the number of transfusions influences the alloimmunization rate. Our findings also suggest that RH diversity in patients with SCD and the presence of specific low prevalence antigens in the donor population necessitate an alternative approach to improve RBC matching. **Conclusion:** Our results demonstrate that prophylactic extended matching of RBC antigens significantly reduces alloimmunization rates in transfused patients with SCD, providing safer transfusions and should be considered to all patients on chronic transfusions. This strategy can be even more beneficial if patients with recent transfusions are genotyped, if matching for Rh variants is performed, and if there is greater control of external transfusions.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.1138>

ANTI-D ALLOIMMUNIZATION IN SICKLE CELL DISEASE (SCD) PATIENTS WITH WEAK RHD VARIANT ALLELES

TDD Santos, B Teles, L Castilho

Centro de Hematologia e Hemoterapia da Unicamp
(Hemocentro Unicamp), Campinas, SP, Brazil

Background and aims: The risk and frequency of anti-D alloimmunization in SCD patients with weak RHD variant alleles is not well characterized. The aim of this study was to assess the risk for alloimmunization in transfused SCD patients with variant RHD alleles encoding D antigens with weak expression. **Methods:** Thirty-seven transfused SCD patients typed as weak D were enrolled in this study. Among them, 11 patients had anti-D. Serological studies were performed to assess the D antigen expression through hemmagglutination reactions in microplate, tube and gel methods. Molecular analyses were performed to identify the RHD allele encoding the D antigen by using the RHD BeadChip (Immucor) or Sanger sequencing. **Results:** Patient RBC samples showed weak-strength reactions varying from 1+ to 2+ with monoclonal anti-D by hemmagglutination. RHD variant alleles found in the patients with weak D expression included: 8 RHD*weak D type 4.0, 6 RHD*DAU0, 16 RHD*DAR, 3 RHD*DOL, 1 RHD*DAU4 and 3 RHD*DAU5. Among the 11 patients with anti-D, 7 had the RHD*DAR allele, 2 had RHD*DOL, 1 had RHD*DAU4 and 1 had the RHD*DAU5 allele. All these alleles are currently designated weak partial RHD alleles. Anti-D formed in individuals with weak partial RHD alleles DAR, DOL and DAU5 occurred after fewer D+ unit exposures, and remained detectable for longer than the other weak partial D types. Among all anti-D, 2 patients with weak partial D DAR and one patient with weak partial D DOL had clinical or laboratory evidence of poor transfused red cell survival. **Discussion:** RH diversity among patients with SCD contributes to RhD immunization but not all RHD variant alleles are prone to alloimmunization and not all anti-D developed are clinically significant. To minimize RBC transfusion of D-negative blood or genotype-matched transfusions in patients with weak D expression it is important to better understanding of who would actually make clinically significant anti-D. In this study we identified variant RHD alleles encoding weak D antigens in patients with SCD and their risk of anti-D alloimmunization. We also explored their potential clinical significance showing that patients with weak partial D DAR and weak partial D DOL develop clinically significant anti-D and may benefit from prophylactic D- RBC units or RH genotype-matched transfusions to prevent anti-D. **Conclusion:** Our findings suggest that SCD patients with weak D type 4.0 and DAU0 receiving chronic transfusions could be managed as D+ but the other currently designated weak partial RHD alleles should still be considered potentially at risk for alloimmunization.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.1139>

ALOIMUNIZAÇÃO ANTI-KELL EM PACIENTE POLITRANSFUNDIDA: IDENTIFICAÇÃO DA ETIOLOGIA E SUA ASSOCIAÇÃO COM INFECÇÕES BACTERIANAS

KT Pires, VA Brum, F Akil, BS Monteiro

Grupo GSH, Brasil

Objetivo: Identificação da etiologia de aloimunização para antígeno Kell em paciente politransfundida. **Material e métodos:** Realizados testes pré transfusionais em paciente politransfundida. A partir da identificação de pesquisa de anticorpos irregulares positivo, realizado estudo imunohematológico complementar que evidenciou aloimunização anti-K. Realizada revisão da fenotipagem de todos os hemocomponentes transfundidos. **Resultados:** Paciente sexo feminino, 17 anos, tem durante a internação diagnóstico de Leucemia Linfocítica Aguda. Nos primeiros 15 dias de internação apresentou demanda transfusional de 8 bolsas de concentrado de hemácias e 12 bolsas de plaquetas por aférese. Desde o primeiro atendimento hemoterápico foi realizada a fenotipagem estendida e as transfusões obedeceram a sistema Rh e Kell, e irradiação. Evoluiu com neutropenia febril, rash cutâneo, e instabilidade hemodinâmica. Em 17/10/22 apresentou hemocultura positiva para *Streptococcus galoliticus* sp. Em 22/10/2022 evidenciamos PAI positivo, TAD negativo e AC negativo. Realizado estudo imunohematológico com identificação de anti-Kell. A fenotipagem dos doadores de todos os hemocomponentes recebidos foi repetida e todos eram de fato Kell negativo, assim como a paciente. Paciente sem histórico transfusional ou gestacional prévios. Fez uso de antibioticoterapia com Cefepime por 48 horas, suspenso por farmacodermia e iniciado Meropenem. Após 10 dias de antibioticoterapia, nova hemocultura negativa. Em 01/11/22, testes pré transfusionais com PAI negativo, e anti-Kell não detectado. **Discussão:** Excluindo os anticorpos ABO e Rh, o anticorpo anti-Kell é o mais comumente encontrado. Geralmente é produzido em resposta a exposição transfusional ou gestacional prévia. A paciente em questão não tinha histórico gestacional e todos os hemocomponentes recebidos foram Kell negativos. Geralmente o anti-Kell é da classe IgG. Anti-Kell de ocorrência natural são raros e geralmente da classe IgM, e associados a infecções, podendo desaparecer após a resolução do quadro infeccioso. Existem na literatura relatos de anti-Kell natural associados a *Escherichia coli* e outras bactérias Gram negativas. A paciente em questão, teve hemocultura positiva para um *Streptococcus galoliticus*, na ocasião da positividade do PAI e da identificação de especificidade anti-Kell. Ao término da antibioticoterapia, com hemocultura negativa, apresentou PAI negativo e anti-Kell indetectável. O *Streptococcus galoliticus* é uma bactéria coco Gram-positivo e faz parte do grupo dos *Streptococcus bovis* (*Streptococcus*) e *Streptococcus infantarius*. É importante causa de bacteremia, apesar de não termos encontrado descrição em literatura da sua associação com a produção de anti-Kell natural, a evolução do caso nos faz acreditar fortemente na possibilidade dessa associação. **Conclusão:** A possibilidade de que componentes bacterianos podem desempenhar um papel na produção de anticorpos de ocorrência natural direcionados contra antígenos de hemácias não ABO deve ser levada em consideração em frente a ocorrência de anticorpos eritrocitários em pacientes sem histórico transfusional e gestacional prévios.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.1140>