

ferramentas moleculares em bancos de sangue brasileiros continua sendo limitado. Os métodos moleculares tradicionais para a caracterização de variantes RhD fraco e parcial, geralmente são demorados e trabalhosos, inviabilizando sua aplicação imediata em práticas transfusionais. E os métodos moleculares de médio e alto rendimento necessitam de um investimento financeiro substancial. Neste contexto, o ensaio de PCR multiplex SNaPshot se destaca como uma abordagem prática e acessível para a detecção de polimorfismos. Sua sensibilidade e rapidez são superiores às dos métodos convencionais, tornando-o uma solução eficiente e eficaz. **Objetivo:** Desenvolver um ensaio molecular para a detecção simultânea das variantes RHD fracas e RHD parciais mais prevalentes na população do Sudeste Brasileiro. **Métodos:** O desenvolvimento do ensaio SNaPshot envolveu etapas de padronização de PCR, extensão de eletroforese capilar, calibração e análise de fluorescência para garantir a precisão na identificação de variantes RhD. **Resultados:** Inicialmente, uma reação de PCR multiplex foi padronizada para amplificação específica dos exons 1, 4, 6, 7, 8 e 9 do gene RHD e o produto de DNA amplificado foi em seguida avaliado usando a tecnologia de análise de fragmentos SNaPshot. Nossos resultados demonstraram amplificação específica do gene RHD. Observamos uma amplificação eficiente dos exons 4, 6, 7, 8 e exons 1 e 9 utilizando duas reações de PCR multiplex com as mesmas condições de ciclagem. Após a reação SNaPshot identificamos amostras com as variantes RHD* tipo fraco 1 (c.809 T>G), RHD* tipo fraco 2 (c.1154 G>C), RHD* tipo fraco 3 (c.8C>G) e RHD* tipo fraco/parcial 4 (c.602 C>G). Além disso, a reação SNaPshot também foi capaz de identificar de forma simultânea RHD* fraco tipo 15 (c.845 G>A) e outras variantes de nucleotídeo único (SNVs) responsáveis pela classificação de variantes RhD parciais, como c.819 G>A característica das variantes DIII e DAR, c.1025 T>C presente em DAR, DIV, DBT e RHD* fraco tipo 29 e c.1136 C>T encontrado na variante DAU. Os resultados obtidos com ensaio SNaPshot desenvolvido corroborou com resultados prévios de genotipagem por PCR alelo específico. **Conclusão:** O ensaio SNaPshot desenvolvido neste estudo surge como uma ferramenta valiosa para a elucidação precisa das variantes do gene RHD e contribui para os avanços na imunohematologia. Este ensaio SNaPshot permite uma identificação eficiente e rápida de amostras de variantes RHD e no futuro pode ser implementado na rotina de imunohematologia para resolver casos com resultados sorológicos anti-D discrepantes ou inconclusivos. **Apoio financeiro:** FUNDHERP, CNPq Universal (422118/2016-8), CTC (2013/08135-2), INCTC (465539/2014-9), FAPESP (2017/26950-6).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1451>

TAXA DE ALOIMUNIZAÇÃO ERITROCITÁRIA EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

GS Reis, SFS Viana, TR Zatta, LCD D Dias,
MJJ Almeida, GBM Rodrigues

Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A transfusão de sangue embora muitas vezes salve vidas não é isenta de riscos. Uma das complicações mais comuns é a aloimunização eritrocitária e estima-se que em pacientes politransfundidos a taxa de aloimunização varia de 10 a 35%. O desenvolvimento de aloanticorpos com importância clínica pode resultar em reações hemolíticas ou dificuldade em disponibilizar hemácias compatíveis em futuras transfusões. O risco de desenvolvimento de aloanticorpos depende de fatores como o número e frequência de transfusões, gravidez, imunogenicidade do antígeno, resposta imune do receptor, etnia do paciente e diferença no padrão antigênico do doador e do receptor. **Material e métodos:** O estudo foi realizado no período de 18/09/2018 a 20/07/2024 e incluiu 1966 pacientes internados ou em regime ambulatorial atendidos no Hospital Universitário com indicação de transfusão de concentrado de hemácias (CH) e/ou de reserva cirúrgica de CH. Como objetivado neste estudo, estabelecemos protocolo de investigação imunohematológica para os pacientes com PAI (pesquisa de anticorpos irregulares) positiva utilizando dois painéis (LISS/Coombs e enzimático) de 11 células com uma configuração de antígenos especificamente selecionada para a identificação de anticorpos eritrocitários irregulares. **Resultados:** Um total de 115 pacientes teve PAI positiva, correspondendo a uma taxa de aloimunização de 5,90%. Considerando estes pacientes, observamos média de idade de 58 anos e mediana de 62 anos, predominância do gênero feminino com 67% (n = 77) e a tipagem sanguínea O RhD positivo em 40% (n = 46). A distribuição de cor foi respectivamente branca 57% (n = 65), parda 27% (n = 31), preta 16% (n = 18) e não declarado 1% (n = 1). A doença renal crônica foi o principal diagnóstico dos pacientes aloimunizados com frequência de 23% (n = 27); seguida das doenças oncohematológicas, 16% (n = 18) e tumores sólidos, 9% (n = 10). Identificamos 108 aloanticorpos com prevalência do aloanticorpo anti-E, 29% (n = 31), seguido de anti-K, 16% (n = 17). Desses 115 pacientes, 16% (n = 17) apresentaram associações de aloanticorpos contra antígenos de diferentes sistemas de grupos sanguíneos. Em cinco casos foram detectados aloanticorpos associados a autoanticorpos. **Conclusão:** A aloimunização pós-transfusional é a principal complicação de todas as observadas após um ou mais episódios transfusionais. É um problema clinicamente significativo e a morbidade e mortalidade da aloimunização é provavelmente subestimada.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1452>

FREQUÊNCIA DOS GRUPOS RH, RHCE, DUFFY, KELL E KIDD EM PACIENTES ATENDIDOS PELO HEMOCENTRO REGIONAL DE MARINGÁ

AAFT Martins^a, I Fernandes^a, LFR Frühauf^a,
TF Suzuki^a, J Schavaren^a, MG Quirino^a,
JMV Zacarias^b, QAL Neto^a, JEL Visentainer^a

^a Universidade Estadual de Maringá (UEM),
Maringá, PR, Brasil

^b Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA),
Marília, SP, Brasil

Objetivos: Avaliar a frequência dos antígenos de grupos sanguíneos eritrocitários do sistemas Rh, Duffy, Kell e Kidd em pacientes atendidos pelo Hemocentro Regional de Maringá.

Materiais e métodos: Foram coletadas 97 amostras de pacientes atendidos regularmente no Hemocentro Regional de Maringá, que requerem transfusão sanguínea com frequência e necessitam da genotipagem completa de antígenos eritrocitários para garantir a compatibilidade entre o receptor e o doador de sangue e evitar complicações transfusionais. O DNA foi extraído com os kits Biopur® e Qiagen® e quantificação e pureza dosada em NanoDrop 2000. A genotipagem para RHD, RHCE, FY*01 e FY*02, KEL*01 e KEL*02 e JK*01 e JK*02 foi feita com a técnica PCR-SSP (Sequência Específica de Primers) seguida de revelação em eletroforese em gel de agarose 2%. A análise de dados foi feita com Python. **Resultados:** Os pacientes foram agrupados em cinco categorias: doenças hematológicas (59 indivíduos, 60,8%) e doenças infecciosas (3 pacientes, 3%), câncer (21 pacientes, 21,6%), insuficiência renal (4 indivíduos, 4,1%) e outros (10 pacientes, 10,3%). Do total de 97 pacientes, 55 (56,7%) eram do sexo feminino e 42 (43,3%) do sexo masculino, com idade média de 41 anos. A genotipagem para RHD resultou em 87 (89,7%) indivíduos positivos e 10 (10,3%) negativos. Para o RHCE, os genótipos RHCE*/RHCE*, RHCE*/RHCE*, RHCE*/RHCE* foram encontrados em 49 (50,5%), 32 (33%) e 16 (16,5%) pacientes, respectivamente. Os genótipos RHCE*/RHCE*, RHCE*/RHCE* e RHCE*/RHCE* foram observados em 73 (75,3%), 22 (22,7%) e 2 (2%) indivíduos, respectivamente. Os alelos avaliados para o grupo sanguíneo Duffy foram FY*01 e FY*02, com os genótipos FY*01/FY*02, FY*02/FY*02 e FY*01/FY*01 e distribuição entre os pacientes foram respectivamente: 44 (46,4%), 38 (38,1%) e 15 (15,5%). Para o grupo Kell, apenas 2 genótipos foram encontrados, KEL*01/KEL*02 e KEL*02/KEL*02, visto que o Cellano (KEL*01) possui baixa frequência. Os pacientes homozigotos para KEL*02 foram predominantes na população estudada, 90 (92,8%), e os indivíduos heterozigotos englobam apenas 7 (7,2%) pacientes. Para o sistema Kidd, os três genótipos possíveis apresentaram a seguinte distribuição: JK*01/JK*01 com 37 pacientes (38,1%), JK*01/JK*02 com 35 (36,1%) e JK*02/JK*02 com 25 (25,8%) pacientes. **Discussão:** A genotipagem dos antígenos eritrocitários em 97 pacientes mostrou que a maioria dos indivíduos são RHD positivos e todos possuem o alelo KEL*02, seja homo ou heterozigoto. Apenas 7% dos pacientes possuem o alelo KEL*01. O genótipo dos sistemas Duffy e Kidd variam conforme o esperado. **Conclusão:** A frequência dos sistemas de antígenos eritrocitários estão alinhadas com o encontrado na literatura, reforçando a validade e importância do achados.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1453>

INCIDÊNCIA DA FENOTIPAGEM DO SISTEMA RH E DO ANTÍGENO KELL NOS PACIENTES RHD VARIANTES ATENDIDAS NO HOSPITAL MUNICIPAL VILA SANTA CATARINA

FAA Almeida, SL Santos, CAB Silva,
CY Nakazawa, A Bousso, DN Pavão, TAO Paula

Hospital Municipal Vila Santa Catarina, Sociedade Beneficente Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

Objetivo: : Determinar a incidência da fenotipagem do sistema Rh e do antígeno Kell em pacientes RhD variantes atendidas no Hospital Municipal Vila Santa Catarina (HMVSC). **Materiais e métodos:** : De junho de 2015 à junho de 2024, a fenotipagem do sistema Rh e do antígeno Kell foi realizada manualmente usando o cartão de gel aglutinação (Grifols, Barcelona, BCN, Espanha) em 35 pacientes que apresentaram tipagem RhD discrepante entre os soros monoclonais utilizados e/ou reatividade igual ou menor que 2+ pelas metodologias tubo (clones: MS-26, MS-201; Fresenius Kabe, Itapetecica da Serra, SP, Brasil) e gel (clones: P3x290, P3x35, Px61 e P3x21223B10; Grifols, Barcelona, BCN, Espanha). Todos os testes sorológicos foram realizados de acordo com as instruções dos fabricantes. **Resultados:** : Durante este período evidenciamos 35 pacientes RhD variantes que possuem as seguintes frequências e fenótipos Rh pela nomenclatura de Wiener: 74,3% (26/35) R0r, 20% (7/35) R1r, 2,8% (1/35) R2r e 2,8% (1/35) R1Rz. Todos os pacientes apresentaram a ausência do antígeno Kell. **Discussão:** A expressão variante do antígeno RhD tem sido objeto de numerosos estudos devido à sua significativa importância na medicina transfusional. Essas pesquisas têm contribuído para um melhor gerenciamento dos hemocomponentes RhD negativos, o uso mais eficiente da profilaxia com imunoglobulina anti-D, a redução da aloimunização e o aumento da segurança transfusional. No nosso estudo, identificamos o haplótipo Ror como o mais prevalente associado à expressão variante do antígeno RhD. Um estudo recente realizado no Brasil revelou que os doadores RhD variantes com fenótipo Ror apresentaram, por testes moleculares, o alelo RHD*DAR. Este alelo é classificado como RhD parcial, exigindo que pacientes portadores desse alelo recebam concentrados de hemácias RhD negativas. O fenótipo R1r foi observado em 20% dos nossos pacientes, e de acordo com a literatura, este fenótipo está associado ao alelo RHD fraco tipo 1 em 95% dos casos dos indivíduos portadores de RhD variante. O alelo RHD fraco tipo 1 é classificado como RhD fraco, e portadores deste alelo não necessitam receber concentrados de hemácias RhD negativas. O fenótipo R2r está associado ao alelo RHD fraco tipo 2, que em geral, não causa aloimunização nos portadores e elimina a necessidade de profilaxia anti-D nas gestantes. Por outro lado, o fenótipo R1Rz não é comumente encontrado na literatura em associação com algum alelo RHD variante. **Conclusão:** Nosso estudo permite concluir que a análise dos haplótipos do sistema Rh, em conjunto com a variação na expressão do antígeno RhD, pode inferir se o alelo do gene RHD codifica uma expressão parcial ou fraca do antígeno. Como os testes sorológicos não conseguem categorizar adequadamente as variantes de expressão do antígeno RhD, é recomendável, na ausência de ensaios moleculares, optar por hemocomponentes RhD negativos. Essa abordagem assegura a segurança transfusional e previne a aloimunização.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1454>