

DIFICULDADES NA DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA ANTÍGENOS COMPOSTOS NA ROTINA PRÉ-TRANSFUSIONAL

RA Cardoso^a, AC Silva^b, MJ Vieira^a,
SG Oliveira^a, GRM Silva^b, MM Yoshisaki^b,
SL Bonifacio^a, V Rocha^a, AM Junior^a,
CL Dinardo^a

^a Fundação Pró Sangue Hemocentro de São Paulo,
São Paulo, SP, Brasil

^b Fundação Faculdade de Medicina, São Paulo, SP,
Brasil

Introdução: Os testes pré-transfusionais de acordo com legislação vigente representam um papel importantíssimo na segurança transfusional, no entanto, a eficácia desses testes depende da qualificação dos profissionais que os executam, bem como da qualidade dos reagentes utilizados. A membrana eritrocitária é composta de pelo menos 378 antígenos eritrocitários. Os reagentes comerciais utilizados para PAI devem contemplar os antígenos mais imunogênicos e que podem induzir a formação de aloanticorpos clinicamente significativos. O sistema RH é um sistema altamente polimórfico, contendo 56 antígenos, incluindo antígenos compostos e o antígeno f (RH6) é um exemplo, expresso quando hemácias possuem c (RH4) e e (RH5) no mesmo haplotipo (cis). O objetivo deste trabalho consiste em um alerta para a fabricação das hemácias de triagem, descrevendo o relato de um caso em que a PAI apresentou resultado negativo devido a configuração antigênica do kit comercial e PC maior apresentou resultado incompatível (grau de aglutinação: 4+), devido à presença de anticorpos anti-f. **Material e métodos:** A PAI foi realizada utilizando a metodologia de aglutinação em coluna automatizada (Gel teste, Erytra/Eflexis®, Grifols), reagentes de hemácias e cartões DG LISS/Coombs. Para a identificação de anticorpos irregulares, foram utilizados o Identisera Diana/Extend e Diana P/EXTend P. A prova de compatibilidade maior foi executada utilizando a mesma metodologia (gel teste-LISS/Coombs). **Resultados e conclusão:** Paciente E.R.A., PAI realizada na agência transfusional utilizando hemácias Serascan fenótipos R₁R₁, R₂R₂e R₁R₂Di(a+) demonstrou resultado negativo. Ao realizar provas de compatibilidade com duas unidades de glóbulos os resultados demonstraram incompatibilidade com as duas bolsas. Testes adicionais foram realizados incluindo hemácias com e sem tratamento enzimático. Os resultados demonstraram positividade em LISS/Coombs somente com a célula rr. Os anticorpos foram potencializados com a utilização de hemácias tratadas com enzima papaína. Fenótipo do paciente D+C-E+c+e- (R₂R₂). A identificação dos anticorpos irregulares demonstrou a presença de anticorpos com especificidade anti-f em LISS/Coombs e em enzima além do anti-f, foram detectados aloanticorpos adicionais com especificidade anti-e. Os anticorpos anti-f, pertencem ao Sistema RH e podem estar envolvidos em reações transfusionais. Esses anticorpos podem ser comumente encontrados, no entanto, os diagramas das hemácias comerciais podem não contemplar essa descrição do antígeno f, dificultando a identificação do anticorpo, embora possam inferir a fenotipagem de acordo com a presença dos antígenos c(RH4) e e(RH5) no



mesmo haplotipo (cis). Dessa forma concluímos que analisar o fenótipo das hemácias comerciais utilizadas na rotina de PAI é de extrema importância e ressalta a necessidade em incluir na fabricação dos kits de triagem de anticorpos irregulares, hemácias fenótipo f+; a fim de evitar falsos resultados negativos de PAI e possíveis reações transfusionais.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.538>

DISTRIBUIÇÃO ALÉLICA DOS ANTÍGENOS DE NEUTRÓFILOS HUMANOS EM DOADORES DE SANGUE DAS REGIÕES NORTE, NORDESTE E SUDESTE DO BRASIL

A Jala, E Moritz, JO Martins, AK Chiba, JO Bordin

Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP,
Brasil

Introdução: O Brasil apresenta uma população de 213 milhões de habitantes, com uma composição étnica oriunda de indígenas, africanos e europeus. A investigação da distribuição dos alelos dos antígenos de neutrófilos humanos (HNA) em regiões representativas torna-se uma importante ferramenta para se avaliar os riscos de aloimunização em uma população tão miscigenada. **Objetivo:** Investigar a distribuição dos alelos HNA em doadores de sangue das regiões norte, nordeste e sudeste do Brasil, que apresentam uma ancestralidade indígena, negróide e caucasiana, respectivamente. **Casística e métodos:** Trata-se de um estudo transversal, envolvendo amostras de doadores de sangue do norte do país (Pará, 50 amostras); nordeste (Alagoas, 50 amostras); e sudeste (São Paulo, 300 amostras). A genotipagem dos sistemas HNA-1 e HNA-4; HNA-3 e HNA-5 foi realizada através de PCR-SSP e PCR-RFLP respectivamente. **Resultados:** Entre os sistemas analisados os que apresentaram uma diferença estatística significativa entre as regiões estudadas foram HNA-1 e HNA-5. Os alelos FCGR3B*01 e *02 apresentaram uma distribuição inversa na região norte (0,554 e 0,376) quando comparado com as regiões sudeste e nordeste do país (0,315 e 0,637; e 0,336 e 0,572, respectivamente. $p < 0,0001$ em ambas as comparações). A presença do alelo FCGR3B*03, mais frequente em negróides, foi marcante na região nordeste do país (0,090 vs. 0,048 ($p=0,0002$) e 0,069 ($p=0,0459$) nas regiões sudeste e norte, respectivamente. O alelo FCGR3B*null foi identificado apenas na região norte do país (0,029). Observou-se uma grande diferença na frequência alélica do sistema HNA-5 nas regiões sudeste e nordeste: ITGAL*01 (0,711 e 0,397, respectivamente. $p < 0,0001$) e ITGAL*02 (0,289 e 0,602, respectivamente. $p < 0,0001$). Os sistemas HNA - 3 e 4 não apresentaram diferença significativa entre as regiões brasileiras. **Conclusão:** A proporção dos alelos FCGR3B*01 e *02 na região norte se assemelha àquela descrita em populações indígenas (Brasil e Argentina) e países asiáticos, evidenciando a influência indígena na região. A maior frequência do alelo FCGR3B*03 na região nordeste é comparável à descrita em africanos. A presença do alelo FCGR3B*null apenas na região norte assemelha-se à descrita em tailandeses. Os resultados da região sudeste se aproximam aos observados em caucasianos. A distribuição dos alelos do sistema HNA-5 estão invertidas em comparação



às populações estudadas. Pode se assemelhar à população africana, entretanto não há dados disponíveis na literatura.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.539>

DIVERSIDADE DE VARIANTES RHD EM PACIENTES D-POSITIVO QUE DESENVOLVERAM ANTI-D

CP Armoni, TAP Vendrame, FS Silva, AJP Cortez, F Latini

Associação Benéfica de Coleta de Sangue (Colsan), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O sistema Rh é altamente polimórfico e contempla um grande número de variantes. Dentre as variantes da proteína RhD, os D parciais resultam de diferentes mecanismos genéticos que levam a alterações de aminoácidos. Diferentemente do D fraco, estas alterações ocorrem em regiões extracelulares e alteram, silenciam ou criam novos epitopos. Hemácias com fenótipo D parcial são em geral tipadas como D positivo, mas o indivíduo pode produzir anti-D quando estimulado por transfusão ou gestação. **Objetivos:** Avaliar a diversidade de variantes RhD em pacientes classificados como D-positivo que desenvolveram anti-D. **Materiais e métodos:** Um total de 27 amostras recebidas no laboratório de imunohematologia da Colsan classificadas como D-positivo apresentando anti-D no soro foram encaminhadas ao laboratório de biologia molecular da mesma instituição. Foi realizada a extração de DNA e protocolos moleculares de PCR-RFLP, PCR multiplex e sequenciamento para identificação da variante. **Resultados:** Das 27 amostras enviadas 7 não apresentaram alteração genética relacionada a variante RhD, enquanto que em 20 foram detectados alelos RHD alterados. As variantes mais frequentes foram DIVa (5) e DAR1.2 (5). As variantes DAU5, DIIIc e DIIla foram detectadas em 2 amostras cada, enquanto que DAU3, DNB, DOL4 e DIII tipo 9 foram identificadas em 1 amostra cada. **Conclusão:** Das amostras investigadas, 26% não apresentavam a proteína RhD alterada sugerindo a presença de autoanti-D. Com este estudo observamos 9 diferentes tipos de D parcial relacionados a aloimunização anti-D, sendo a maioria deles mais frequente em indivíduos de origem africana. Com exceção do DAR1.2, as variantes encontradas possuem densidade antigênica similar a proteína D normal o que impede a identificação na rotina sorológica colaborando para a aloimunização.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.540>

DOADORES DE SANGUE COM TIPAGEM DIRETA RHD NEGATIVOS E COM PESQUISA DE D FRACO POSITIVA NOS ÚLTIMOS 5 ANOS NO HEMOCENTRO REGIONAL DE SANTA MARIA

SC Corrêa^{a,b}, FZ Lima^c, MT Guedes^{a,b}, RC Siqueira^{a,b}, MG Santos^{a,b}, KLV Perdigão^{a,b}, JB Müller^{b,c}, PG Schimites^{b,c}

^a Universidade Franciscana (UFN), Santa Maria, RS, Brasil

^b Hemocentro Regional de Santa Maria (HEMOSM), Santa Maria, RS, Brasil

^c Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil

Objetivos: Apurar o número de doadores de sangue do Hemocentro Regional de Santa Maria (HEMOSM) com tipagem direta RhD(-) e pesquisa de D fraco (Df) positiva no período de agosto/2016 a julho/2021. **Material e métodos:** Foi realizada uma pesquisa observacional retrospectiva, dos últimos 5 anos, através da coleta de dados do Sistema HEMOVIDA (Sistema Nacional de Gerenciamento em Serviços de Hemoterapia) referentes ao HEMOSM. As amostras de sangue de doadores, tipados como RhD(-), utilizadas para a pesquisa de Df foram coletadas em tubos com anticoagulante EDTA e posteriormente centrifugadas para separação do concentrado de hemácias, empregado para a produção de uma suspensão de hemácias. A técnica empregada para a pesquisa de Df foi a aglutinação-centrifugação. Uma alíquota da suspensão de hemácias RhD(-) foi incubada com soro Anti-D a 37°C por 15 minutos em cartão-gel contendo anticorpos monoclonais antiglobulina humana (AGH). Após a incubação o cartão foi centrifugado a 1000 rpm por 10 minutos. Para este ensaio, caso a pesquisa de Df seja positiva, deve ser realizado controle através do teste de Coombs direto da suspensão das hemácias, que caso seja negativa implica na validação do resultado de D fraco positivo (teste de Coombs positivo invalida o resultado da pesquisa de D fraco nesta metodologia). **Resultados:** No período de 5 anos o HEMOSM recebeu doação de 7495 doadores RhD negativos, no entanto para 21 destes doadores a pesquisa de D fraco foi positiva, sendo 9 A (-) Df+, 7 O (-) Df+, 4 B (-) Df+ e apenas 1 AB (-) Df+. **Discussão:** Independentemente de apenas 0,28% dos doadores RhD(-) apresentarem baixa expressão e/ou mutações para o antígeno D, a presença deste antígeno, mesmo que pouco expresso na membrana dos eritrócitos, é capaz de sensibilizar receptores RhD(-) Df(-), ou seja, tornar estes pacientes sensibilizados ao antígeno D (através da produção de anticorpos anti-D). Por este motivo, doadores de sangue RhD(-) Df+ são considerados doadores RhD+, enquanto que pacientes RhD(-) Df- são considerados receptores RhD(-), devendo transfundir apenas hemácias RhD(-) Df(-). Além do antígeno D, outros antígenos do Sistema Rh são pesquisados para que a ocorrência de sensibilização a antígenos não próprios não aconteça, pois, este evento pode implicar na incompatibilidade sanguínea em futuras pesquisas, especialmente para pacientes politransfundidos, mais susceptíveis à sensibilização a antígenos eritrocitários. **Conclusão:** A técnica de aglutinação-centrifugação, com emprego de soro Anti-D, na pesquisa de D fraco não diferencia doadores com mutações no antígeno D daqueles que apresentam pouca expressão do antígeno, no entanto, o ensaio é capaz de impedir a sensibilização de receptores ao antígeno D (variantes ou com baixa expressão), sendo esta a maior aplicação e importância dessa pesquisa.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.541>