

RhD negativo, a imunoglobulina para que a mesma não produza anticorpos anti-D causando em uma próxima gestação a doença hemolítica perinatal, a imunoglobulina deve ser recebida pela gestante dentro de 72 horas após o parto ou mesmo em caso de aborto quando não é possível a determinação ABO fetal como profilaxia.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.796>

INTERFERÊNCIA DO DARATUMUMAB (DARA) NOS TESTES PRÉ-TRANSFUSIONAIS: OPTIMIZAÇÃO DO TRATAMENTO DAS HEMÁCIAS COM DITIOTREITOL (DTT) DE BAIXA CONCENTRAÇÃO PARA REDUÇÃO DO TEMPO DE EXECUÇÃO

MC Rocha, C Nucci, MA Brito, R Achkar, R Fontão-Wendel, R Fachini, S Wendel

Instituto de Hemoterapia Sírio-Libanês, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A interferência nos testes imunohematológicos em pacientes submetidos ao tratamento com Anti-CD38 (DARA) pode ocasionar atrasos e outras complicações na liberação dos hemocomponentes para a transfusão. Atualmente, para eliminar esta interferência, as hemácias são tratadas previamente aos testes, de forma eficaz, com DTT 0,2M. O tratamento exige períodos longos de incubação e, além de desnaturar as proteínas CD38, pode destruir vários outros antígenos dos grupos sanguíneos. Assim, foi validado um método mais rápido através do tratamento das hemácias com DTT de baixa concentração, adicionado durante os testes, diretamente nas colunas do gel (BioRad, Suíça). **Materiais e métodos:** Amostras de 12 pacientes com interferência da droga e contendo anticorpos das classes IgG (anti-K, -E, -D, -JKa, -Fya, -Dia) e IgM (Anti-M) foram analisadas com DTT nas concentrações 0,01M, 0,02M, 0,03M e 0,04M. Para tal, foram avaliados dois períodos diferentes de incubação a 37°C (15 e 30 minutos). Assim, 50 µl de hemácias de triagem ID-Diacell I-II-II (BioRad, Suíça) foram adicionados em micropoços de cartões LISS/Coombs (BioRad, Suíça) e, em seguida, 25 µl de cada concentração de DTT. Como controle do fator de diluição, em outro cartão, o DTT foi substituído por SST 0,9%. Após a incubação, os soros testes foram pipetados aos respectivos micropoços e uma nova incubação (duas baterias distintas de 15 e 30 minutos) a 37°C foi realizada, seguida da centrifugação por 10 minutos (1030 rpm). **Resultados:** As concentrações 0,01M e 0,02M mostraram-se eficazes em eliminar a interferência do DARA com o tempo de incubação de 30 minutos. Porém, as concentrações 0,03M e 0,04M foram capazes de inativar o CD38 com apenas 15 minutos de incubação. Todos os soros contendo anticorpos da classe IgG testados, mesmo nas diversas concentrações de DTT e diferentes períodos de incubação, mantiveram a reatividade dos anticorpos, inclusive o Anti-K. Adicionalmente, verificou-se que o DTT, em todas as concentrações, por estar em contato direto com os soros até a leitura dos testes, foi capaz de inativar os anticorpos anti-M (IgM). O tempo de processamento dos testes foi reduzido em 43% quando comparado à técnica de DTT 0,2M,

passando de 70 para 40 minutos. **Conclusão:** O uso de DTT de baixa concentração mostrou-se eficaz na eliminação da interferência do Anti-CD38 nos testes pré-transfusionais de rotina. Uma ressalva apontada foi a destruição de anticorpos da classe IgM (anti-M), entretanto, isso não é uma desvantagem, uma vez que estes anticorpos, em sua maioria, não possuem importância clínica. Em concordância com outros autores¹, a concentração ideal escolhida foi de 0,04M, pois além da inativação do CD38 nas hemácias tratadas, houve o benefício do tempo de incubação reduzido (15 minutos) e a manutenção da integridade dos antígenos do sistema KEL.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.797>

USO DE TÉCNICAS SOROLÓGICAS COMPLEMENTARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE FENÓTIPO RARO PARA-BOMBAY

GF Devides, FSA Silva, F Latini, AJP Cortez, CP Arnoni, TAP Vendrame

Associação Benficiente de Coleta de Sangue (COLSAN), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O sistema ABO é o sistema mais importante na prática transfusional. A expressão dos antígenos A e B nas hemácias são determinadas pelo gene ABO, enquanto a expressão do antígeno H é determinado pela ação da enzima FUT1 (gene H). A expressão dos antígenos ABO e H não estão apenas na membrana, podendo ser encontrados em células, secreções e fluidos como saliva, urina e leite. Mutação em um ou ambos os genes podem levar a fenótipos raros como Bombay e para-bombay. O fenótipo bombay é caracterizado sorologicamente pela perda total da atividade das transferases A, B, H e pela presença do anti-H natural no plasma reativo à 37°C, já o fenótipo para-bombay apresenta quantidades mínimas dos antígenos A e B nos eritrócitos e pouco ou nenhum antígeno H, podendo ser observados discrepâncias nos testes imunohematológicos, sendo necessário realizar testes sorológicos complementares para elucidação do caso. **Relato de caso:** Um indivíduo saudável apresentou-se para uma doação voluntária e durante a realização dos testes Imunohematológicos automatizados de rotina, utilizando o equipamento NEO da Immucor®, apresentou direta de O e reversa em B, caracterizando uma discrepância ABO. A tipagem ABO foi realizada por diferentes metodologias sendo elas tipagem ABO em Gel Grifols® e tubo Fresenius®, porém o resultado se manteve discrepante. Não foram observadas reatividades nos testes utilizando Lectina anti-A1 e anti-H Fresenius®. Teste complementar de absorção e eluição com soro comercial Anti-A1 Fresenius® revelou uma fraca expressão do antígeno A na hemácia do doador, o doador possuía o fenótipo secretor Le(a-b+), sendo assim o teste de inibição de antígenos ABH na saliva foi realizado evidenciando também a presença do antígeno solúvel A nas secreções e a ausência dos antígenos B e H. A genotipagem para os genes ABO e H foi realizada pelo método de sequenciamento apresentando os seguintes resultados ABO*1.01/A1.01 e FUT1*02.W.01 respectivamente, confirmando se tratar de um doador raro Ah (para-bombay). **Conclusão:** Em casos de discrepâncias ABO, a utilização de

técnicas sorológicas complementares é importante para elucidação dos caso e liberação da tipagem corretamente.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.798>

ANTICORPO CONTRA ANTÍGENO DE ALTA FREQUÊNCIA, ANTI-KNA: RELATO DE CASO

TAP Vendrame, FSA Silva, GF Devides,
AJP Cortez, F Latini, CP Arnoni

Associação Beneficente de Coleta de Sangue
(COLSAN), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O sistema de grupos sanguíneos Knops consiste em quatro antígenos de baixa prevalência (Kn_b, Mc_Cb, S₁₃ e Vil) e seis antígenos de alta prevalência (Sl_a, KCAM, K_{na}, Mc_Ca, Y_{ka} e Sl₃). Anticorpos para antígenos Knops geralmente não são clinicamente significativos, mas são comuns em pacientes. A identificação e exclusão dos anticorpos são difíceis, pois a maioria dos painéis comerciais não possuem a informação da fenotipagem para os antígenos do sistema Knops, sendo necessário utilizar ferramentas sorológicas adicionais e testes de Biologia Molecular. **Relato de caso:** Paciente LGJ, 82 anos, sexo feminino, diagnóstico de doença pulmonar obstrutiva crônica, com histórico de gestação foi encaminhada ao Laboratório de referência de imunohematologia para identificação de anticorpos irregulares e com solicitação de 02 concentrados de hemácias. A paciente foi tipada como O RhD positivo, a pesquisa de anticorpos irregulares em gel Liss/Coombs (Grifols) demonstrou o mesmo padrão de reatividade (2+) em todas as hemácias da triagem e painel testados (total de 18 hemácias), exceto em 2 hemácias. Nos testes adicionais realizados com hemácias tratada com papaína, tripsina, quimotripsina e DTT não foram observados reatividade. Os testes de antiglobulina direta (TAD) e autocontrole (AC) foram positivos (2+), com eluato negativo e o fenótipo estendido demonstrou que a paciente era negativa para os antígenos E, K, S. Foram realizados testes adicionais de alo adsorção os quais descartaram a presença de anti-E -K,-S e confirmaram a presença de anticorpo contra antígeno de alta frequência. Foi realizada titulação com hemácia R1r K- S- e o anticorpo a ser identificado apresentou título 16. Através da genotipagem eritrocitária foi realizada a investigação do gene do sistema Knops e a técnica de sequenciamento demonstrou que a paciente apresentava o genótipo KN*02/KN*02 tendo como fenótipo deduzido Kn(a-). **Conclusão:** Apesar da presença do anti-K_{na} a paciente recebeu 02 concentrados de hemácias Kn (a+) sem intercorrências, pois o aloanticorpo não apresenta importância clínica.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.799>

PADRONIZAÇÃO DE ENSAIO DE GENOTIPAGEM DO GRUPO SANGUÍNEO DUFFY POR PCR EM TEMPO REAL

ALA Mafra, TF Silva, FMA Coury, AEN Lima,
GGs Rodrigues, PF Araújo, WR Mesquita,
LA Coelho, ECA Pinheiro, DFM Mühlbeier

Fundação Hemocentro de Brasília (FHB), Brasília,
DF, Brasil

Introdução: O sistema de grupo sanguíneo Duffy apresenta significado clínico e os anticorpos formados contra seus antígenos estão envolvidos em reações hemolíticas transfusionais e em casos de doença hemolítica do feto e do recém nascido. Os principais antígenos desse sistema são os antígenos Fy_a e Fy_b, codificados pelos alelos co-dominantes FY*A (FY*01) e FY*B (FY*02), que diferem por um único polimorfismo de nucleotídeo, c.125G>A. Os fenótipos expressos podem ser: Fy(a+b-), Fy(a-b+), Fy(a+b+) e Fy(a-b-). O fenótipo Fy(a-b-) surge da homozigose para um alelo FY*B portador de uma mutação pontual c.-67T > C na região 5' não traduzida. Essa mutação dá origem ao alelo FY*BES (FY*02N.01), que prejudica a atividade do promotor em células eritróides ao interromper um sítio de ligação para o fator de transcrição eritróide GATA. Essa mutação impede a expressão do antígeno Fy_b apenas nas hemácias, mas não em outros tecidos. Para a definição correta dos fenótipos Fy_a e Fy_b, a partir da caracterização alélica dos genótipos FY*A e FY*B, a presença da mutação c.-67T>C deve sempre ser investigada. **Objetivo:** Padronizar a genotipagem para os alelos FY*A e FY*B e da mutação c.-67T>C por método de PCR em tempo real e elucidar a interpretação dos resultados em amostras de doadores de sangue da Fundação Hemocentro de Brasília. **Materiais e métodos:** Foram selecionadas para o estudo amostras de doadores de sangue previamente fenotipados para os antígenos Fy_a e Fy_b, sendo 10 amostras de cada perfil fenotípico: Fy(a+b-), Fy(a-b+), Fy(a+b+) e Fy(a-b-). O DNA genômico foi extraído utilizando o Kit Biopur, conforme instruções do fabricante. Para a genotipagem, os primers e as sondas foram adquiridos em ensaios customizados, da Thermo Fisher Scientific, rs12075 e rs2814778, os quais detectam os polimorfismos de único nucleotídeo, Duffy (c.125 A>G) e GATA (c.-67T>C), respectivamente. As sondas foram marcadas pelos fluoróforos FAM e VIC para cada alelo. As reações em tempo real foram realizadas usando o QuantStudio™5 Real-Time PCR System, em volume de 10 µL. Em cada reação foram adicionados 5 µL de TaqPath™ ProAmp™ Master Mix (2X), 0,5 µL de TaqMan® SNP Genotyping Assay (20X), 3,5 µL de água nucleasse free e 1 µL de DNA genômico 20ng/µL. As condições de ciclagem para as duas reações foram 40 ciclos de pré-leitura (ruído basal) 60°C por 30 segundo; desnaturação inicial/ativação da enzima 95°C por 5 minutos; desnaturação 95°C por 15 minutos; anelamento/extensão 60°C por 60 segundos e pós-leitura 60°C por 30 segundos. **Resultados e discussão:** O resultado de genotipagem do alelo FY*A em homozigose apresentou 100% de concordância com o fenótipo previamente cadastrado, enquanto que, a genotipagem do alelo FY*B, em homozigose ou heterozigose, apresentou resultados discrepantes com o fenótipo. Os resultados da genotipagem da mutação c.-67T>C, que caracteriza o alelo FY*BES, demonstrou que em todas as amostras, as quais apresentaram discrepância com o fenótipo, havia a presença da mutação c.-67T>C. A ocorrência dessa mutação interrompe a transcrição do alelo FY*B, e a não expressão do antígeno Fy_b nas hemácias, causando a discrepância entre genótipo e fenótipo. Ao ser analisado os dois ensaios em conjunto 06 genótipos puderam ser encontrados: 1. FY*A/FY*A; 2. FY*B/FY*B; 3. FY*A/FY*B; 4. FY*A/