

PROPOSTA DE ALGORITMO PARA INVESTIGAÇÃO DA ESPECIFICIDADE DE ANTICORPOS CONTRA ANTÍGENOS ERITROCITÁRIOS DE ALTA INCIDÊNCIA

ACT Sousa, FA Moretto, HPF Camilo, MLR Barjas-Castro

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Objetivos: Formular e validar algoritmos das diferentes etapas de investigação da especificidade de aloanticorpos dirigidos contra antígenos eritrocitários de alta incidência, baseados em informações da literatura internacional que auxiliam na definição da especificidade de anticorpos dirigidos contra antígenos de alta incidência na população, utilizando preferencialmente agentes químicos de fácil obtenção e acessíveis a laboratórios de imuno-hematologia de países em desenvolvimento. **Material e métodos:** Foram analisadas as principais publicações da literatura internacional que relatam o comportamento de antígenos eritrocitários frente a agentes químicos como DTT (Ditiotreitol) e enzimas papaína, tripsina, quimiotripsina, pronase e sialidase. Os dados foram compilados utilizando ferramenta Excel, tornando possível a construção de um fluxograma para utilização dos reagentes de forma racional. **Resultados:** Foram construídos quatro algoritmos, que orientam o fluxo de trabalho com os agentes químicos citados. A enzima papaína, sendo a mais comumente encontrada nos laboratórios de rotina de investigação imuno-hematológica, foi a enzima de primeira escolha na construção dos algoritmos. O DDT foi o segundo agente químico de escolha, também por ser de amplo acesso e permitir grande diferenciação entre os antígenos públicos. Posteriormente, enzimas mais específicas como tripsina, quimiotripsina, pronase ou sialidase foram utilizadas, sempre optando primeiramente pela enzima com maior facilidade de obtenção pelos centros de investigação. Para a validação dos algoritmos propostos foram utilizados 3 casos clínicos de anticorpos contra antígenos de alta incidência publicados em literatura internacional, bem como 4 casos de pacientes investigados pelo Laboratório de Imuno-hematologia do Hemocentro UNICAMP. As investigações foram criteriosamente analisadas e submetidas à lógica dos 4 algoritmos propostos. Esta releitura de todos os casos avaliados, seguindo a sequência dos algoritmos propostos, mostrou que seria possível uma investigação imuno-hematológica com maior agilidade e consequentemente menor consumo de reagentes. **Discussão:** As investigações da especificidade de aloanticorpos contra antígenos públicos são realizadas seguindo diversos artigos da literatura internacional, ou seja, o soro do paciente em estudo é colocado frente a hemácias de painéis tratados com DTT e com as enzimas papaína, tripsina, quimiotripsina, pronase e sialidase, de forma simultânea. A otimização dos processos laboratoriais pode contribuir para maior agilidade na resolução dos casos e uso racional de reagentes. **Conclusão:** A implementação dos algoritmos propostos e validados neste estudo mostrou ser de fácil execução na rotina laboratorial e de grande valia, permitindo o direcionamento da investigação da especificidade dos aloanticorpos contra antígenos públicos. Observou-se assim

melhor uso dos reagentes, com maior agilidade nas investigações.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.806>

CARACTERIZAÇÃO SOROLÓGICA E MOLECULAR EM AMOSTRA DE PACIENTE COM AUSÊNCIA DE DOIS ANTÍGENOS DE ALTA FREQUÊNCIA DE DIFERENTES GRUPOS SANGÜÍNEOS

MG Aravechia^a, TH Costa^a, LD Santos^a, FAA Almeida^a, FMA Coury^b, CB Bub^a, JM Kutner^a

^a Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), São Paulo, SP, Brasil

^b Fundação Hemocentro Brasília (FHB), Brasília, DF, Brasil

Objetivo: Relatar um caso imuno-hematológico complexo, descrevendo as estratégias sorológicas e moleculares realizadas para a caracterização fenotípica de um paciente com ausência de dois antígenos de alta frequência U (MNS:-5) e Yta (YT:-1), assim como, a determinação do(s) anticorpo(s) de alta frequência presente no soro. **Materiais e métodos:** Trata-se de um trabalho descritivo em que foram utilizados dados clínicos de prontuário disponíveis no laboratório de referência de imuno-hematologia (LRI) onde foram testadas as amostras. **Resultados:** Paciente de 84 anos, com anemia sintomática, COVID-19 e abdômen agudo obstrutivo, teve a amostra encaminhada para o LRI para confirmação de anticorpo anti-U no soro e genotipagem eritrocitária. O soro do paciente foi testado com painel de hemácias comerciais e raras sendo reativo com todas as hemácias do painel em Gel-Liss/Enzima, exceto com hemácias S-s-U-/Yt(a+) demonstrando apenas a especificidade de anti-U. O teste de adsorção alogênica com hemácias de doador tratadas com ZZAP excluiu a presença de anticorpo anti-Yta no soro aloadsorvido. Para avaliar a importância clínica do anticorpo, foi realizada a técnica de MMA (Monocyte Monolayer Assay), sendo que o teste apresentou menos que 5% de atividade fagocítica dos Monócitos, além disso, o fato da classe da Imunoglobulina não pertencer a IgG1 ou IgG3 (cartão ID-Card DAT IgG1/IgG3, BioRad), indicaram que esse anticorpo não possui importância clínica. O DNA do paciente foi extraído do sangue total utilizando o Kit MagNa Pure, Roche. A genotipagem realizada pelas técnicas do BloodChip Kit ID CoreXT - Grifol, PCR-SSP e PCR-RFLP demonstrou o seguinte resultado: GYPB^{deleção}; YT^{2/2}. O fenótipo foi confirmado como U- e Yt(a-) com antissoros provenientes do SCARF. **Discussão:** Antígenos de alta frequência quando ausentes, resultam na dificuldade da busca de sangue compatível para a transfusão, assim como na disponibilidade de insumos e técnicas bem padronizadas para a investigação imuno-hematológica. Determinados antígenos de alta frequência quando ausentes na membrana eritrocitária podem afetar a expressão de antígenos de outros sistemas. Através de uma técnica semi-automatizada de genotipagem identificamos que a amostra de um paciente tinha a ausência de dois

antígenos de alta frequência U (MNS:-5) e Yta(YT:-1). Por se tratar de um caso complexo, estratégias sorológicas e moleculares foram realizadas para a caracterização fenotípica do paciente, determinação do anticorpo de alta frequência presente no soro e sua importância clínica. **Conclusão:** A técnica do BloodChip permitiu uma análise molecular mais completa, sendo possível verificar a ausência de dois antígenos de alta frequência: U e Yta, o que tornou mais difícil a busca por doador fenótipo compatível para o paciente. Painéis de hemácias e soros raros foram capazes de definir a especificidade do anti-U e excluir a presença do anti-Yta e de outros anticorpos que poderiam estar mascarados no soro. Apesar do anti-U não aparentar importância clínica, recomendamos a transfusão de concentrado de hemácias U- (MNS:-5), uma vez que esse anticorpo está implicado em reações transfusionais hemolíticas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.807>

PERFIL IMUNO-HEMATOLÓGICO DE PACIENTES COM ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE

SL Castilho, TS Frauches, CRM Manhaes, FKG Silva, ECS Pessoa, RBB Schuab, TC Susana

Hemorio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Objetivos: A Anemia Hemolítica Autoimune (AHAI) é uma doença onde é necessário a comprovação do evento autoimune. Os testes imuno-hematológicos (IH) norteiam a classificação da doença, o tratamento e o suporte hemoterápico. Objetivamos analisar o perfil IH e o desfecho transfusional de 71 pacientes com AHAI. **Material e métodos:** Foram analisados sexo, idade e o perfil IH de todos os pacientes. Os dados foram obtidos em software específico e em planilhas do laboratório de Imunogenética do HEMORIO. Em todos os casos foram realizados, Tipagem ABO/D, fenotipagem Rh+K, Teste Direto da Antiglobulina humana (TAD), Pesquisa de Anticorpos irregulares (PAI). Nos casos de panaglutinação foi investigada a presença de aloanticorpos (ALOAC) através da adsorção alogênica e/ou tratamento com Ditiotretol (DTT). As AHAI foram classificadas considerando a temperatura de detecção dos autoanticorpos (AC) séricos. **Resultados:** Dos 71, 44 (62%) eram mulheres e 27 (38%) homens. A idade dos pacientes variou de 1 a 74 anos. Em 44 (62%) casos os AC reagiam a 37°C e a AHAI classificada como AHAI por AC quentes (AHAIQ), em 6 (8,5%) os AC reagiam entre 40 a 22°C e a AHAI classificada como AHAI por AC frios (AHAIF), em 5 (7%) os AC reagiam entre 40°C e 37°C e a AHAI classificada como AHAI mista (AHAIM). Em 15 (21%) casos não havia AC circulantes: em 8 (11,3%) havia AC nas hemácias e em 5 (7%) C3d. Em 3 (4,2%) pacientes os testes IH eram negativos (NEG). Nos 44 casos de AHAIQ o TAD era positivo (POS) por IgG em 23 (52,2%) pacientes, IgG+C3d em 8 (18,18%), IgG + IgM + C3d em 5 (11,36%), IgG+IgA em 3 (6,82%), IgG+IgM em 1 (2,27%) e IgG +IgM+IgA em 1 (2,27%). A PAI em AGH em 40 casos mostrava uma panaglutinação e em 4 os AC tinham especificidade: 3 anti-e e 1 anti-D. Nos 6 casos de AHAIF o TAD era POS por C3d em 3 (50%) pacientes, 1 (16,6%) era IgG+IgM, 1 (16,6%) IgG + C3d

e 1 (16,6%) o TAD era NEG. Na PAI os AC frios reagiam com todas as células do painel. Em 3 casos o título do AC era 64, em 1 (16,66%) era 4, em 1 (16,66%) 1024 e em outro 2048. Nos 5 casos de AHAIM o TAD era POS por IgG + IgM + C3d em 2 (40%) dos casos, em 1 (20%) IgG + IgM + IgA + C3d, em 1 (20%) IgG + IgA + C3d e em 1 (20%) caso IgG + C3d. Em 31 casos (27 AHAIQ e 4 AHAIM) foi realizada a adsorção alogênica a 37°C e em 10 (32%) foram detectados ALOAC: 4 anti-S, 1 anti-M, 1 anti-D, 1 anti-E, 1 anti-Cw e 2 anti-K. Em 6 casos de AHAIF foi realizado o tratamento do soro com DTT e após o tratamento foram evidenciados ALOAC em 2 pacientes: anti-e em 1 paciente e anti-E + Jka em outro. Do total, 37 (52%) pacientes foram transfundidos com concentrado de hemácias fenotipadas (CHF) para os antígenos C, c, E, e, K e antígeno relacionado ao ALOAC. O número de CHF variou de 1 a 50 (CHF). Em 27 casos a prova cruzada foi realizada com soro adsorvido e em 1 com soro tratado com DTT. Não houve aumento do quadro hemolítico pós-transfusional. **Discussão:** A doença foi mais prevalente em mulheres. A AHAIQ foi a mais frequente. A IgG foi a imunoglobulina encontrada com maior frequência (78%) e detectada nos 3 diferentes tipos de AHAI. Em 79% dos casos os AC eram circulantes. Em 12 (17%) casos havia ALOAC associados. Estes achados são semelhantes aos encontrados na literatura. **Conclusão:** Os testes IH foram fundamentais para a classificação e tratamento da AHAI e na detecção de ALOAC. A estratégia transfusional se mostrou eficaz no suporte hemoterápico dos pacientes. Nenhum paciente apresentou agravamento da doença após transfusão.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.808>

RELATO DE CASO: INVESTIGAÇÃO IMUNO-HEMATOLÓGICA EM PACIENTE ALOIMUNIZADA DURANTE TRANSFUSÕES DE PLAQUETAS CONTRA ANTÍGENOS DOS SISTEMAS RH E JK

AC Gaspardi, RL Silva, JLC Lima, FG Fujita-Neto

Fujisan - Centro de Hemoterapia, Hematologia e Terapia Celular do Ceará LTDA, Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: Com exceção de alguns anticorpos de ocorrência natural, a maioria dos anticorpos contra antígenos de grupos sanguíneos são produzidos em resposta à exposição, por transfusão ou gestação, a um antígeno ausente na hemácia do paciente. Estes anticorpos permanecem na circulação e estão implicados em reações transfusionais hemolíticas (RTH) e na redução do número de bolsas de sangue compatíveis para futuras transfusões. Os anticorpos mais implicados em RTH são os dirigidos contra antígenos dos sistemas Rh (34%), Kidd (30%), Duffy (14%) e Kell (13%). **Objetivo:** Relatar o processo de investigação imuno-hematológica de uma paciente do sexo feminino de 84 anos sem histórico de transfusões de concentrados de hemácias. **Relato de caso:** Durante os testes pré-transfusionais para a liberação dos concentrados de hemácias solicitados, constatamos a presença de dois anticorpos irregulares com efeito de dose potencialmente hemolíticos contra antígenos dos sistemas Rh e Kidd (Anti-E e