

e compatibilidade transfusional. A análise de interações gênicas por meio da STRING evidenciou conexões funcionais e estruturais entre sistemas sanguíneos distintos, envolvendo processos de glicosilação e integridade de membrana. Os resultados reforçam o potencial de análises *in silico* para orientar pesquisas futuras, otimizar diagnósticos, prevenir reações transfusionais e compreender variações fenotípicas em diferentes populações.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105624>

ID – 2443

ASSESSMENT OF THE CLINICAL SIGNIFICANCE OF COMMON RH VARIANTS IN TRANSFUSED SICKLE CELL DISEASE PATIENTS

TD dos Santos, LL Castilho

Hemocentro Unicamp, Campinas, SP, Brazil

Introduction: Variants in the RH genes—arising from single nucleotide variants (SNVs), small insertions or deletions, or hybrid gene rearrangements—can alter antigen expression, leading to weak, partial, or altered Rh phenotypes. Such variants may not be reliably detected by routine serologic methods, particularly in transfused patients or in populations with high genetic diversity such as the patients with SCD. Clinically, the presence of RH variants has significant implications but the full clinical impact of alloimmunization associated with RH variants in these patients remains unclear as not all patients with RH variants form alloantibodies and not all alloantibodies are implicated in hemolytic transfusion reactions. **Objectives:** We aimed to assess the risk of alloimmunization and the clinical significance of the produced antibodies in transfused patients with SCD carrying the most common RHD and RHCE variants. **Material and methods:** We selected 37 patients with the most common RHD and RHCE variants found in this population, who were receiving chronic or episodic transfusions and had a history of ≥ 15 RBC transfusions. (4 with RHD*DAU0, 6 with RHD*weak partial D 4.0, 2 with RHD*DIlla, 4 with RHD*DAR, 4 with RHCE*ceAR 3 with RHCE*ce48C, 3 with RHCE*ceEK, 2 with RHCE*ceMO, 4 with RHCE*ce733G and 5 with RHCE*ce48C,733G. All patients were being transfused with Rh and K matched RBC units. RH genotyping was performed on all patients using the RHD and RHCE BeadChips array (Werfen) and Sanger sequencing. Antibody screening and identification with autologous control were conducted using the gel test. Direct antiglobulin test (DAT), adsorption with autologous RBCs, and crossmatching with allogeneic partial e-antigen from donors carrying the same alleles were also performed when possible. To assess the clinical relevance of the alloantibodies produced we compared the patient's total Hb or HbA and HbS percentages at time of antibody detection with pretransfusion values and clinical suspicion of anemia and hemolysis. **Results:** Among the 37 SCD patients with RH variant alleles, 16 developed Rh alloantibodies. Among them, 5 developed anti-D (3 with RHD*DAR, 1 with RHD*DIlla and 1 with RHD*partial weak D 4.0) and 11 developed anti-e (3 with RHCE*ceAR, 2 with

RHCE*ceEK, 1 with RHCE*ceMO 2 with RHCE*ce733G and 3 with RHCE*ce48C, 733G). . Four patients developed autoantibodies (2 anti-D (RHD*DAU0) and 2 anti-e (RHCE*ce48C). When we assessed the clinical effect of the alloantibodies produced, we observed a decrease in the Hb levels at time of antibody detection in 10 patients (3 with RHD*DAR, 1 with RHD*DIlla, 3 with RHCE*ceAR, 2 with RHCE*ceEK, 1 with RHCE*ceMO). No clinical suspicion of anemia was observed in the patients who developed alloantibodies associated with RHD*weak partial D 4.0, RHCE*ce733G and RHCE*ce48C,733G and they did not experience or report signs and symptoms of a transfusion reaction. **Discussion and conclusion:** Our findings demonstrate that the specific RH variants an individual inherits may have varying clinical effects. Some variants are associated with the production of autoantibodies, while others lead to the formation of alloantibodies with or without clinical significance. This is particularly important for transfusion recommendations in SCD patients, given the scarcity of RBC units with RH variants for allele-matched transfusions. To our knowledge, this is the first study to demonstrate the clinical significance of the most common RH variants found in SCD patients.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105625>

ID - 302

AVALIAÇÃO IMUNO-HEMATOLÓGICA DE VARIANTES RHD EM AMOSTRAS COM AGLUTINAÇÃO FRACA: EXPERIÊNCIA DE UM SERVIÇO PRIVADO NO INTERIOR PAULISTA

MP Carlin, ICG Branco, MDJ Rodrigues, JDJ Santos, TFC da Silva, AND Andrade, JS Carrascosa, CHR Kruzich, CADA Kruzich, CA Joussef

Hospital Unimed Piracicaba, Piracicaba, SP, Brasil

Introdução: O antígeno RhD é altamente polimórfico e de grande relevância clínica na prática transfusional. A hemaglutinação fraca pode ocultar variantes capazes de induzir aloimunização em pacientes transfundidos ou gestantes. **Objetivos:** Estimar a prevalência de variantes RhD na população atendida, comparar a reatividade dos reagentes utilizados na rotina e propor protocolo de triagem imuno-hematológica que dispense genotipagem. **Material e métodos:** Estudo observacional e transversal realizado na Agência Transfusional do Hospital Unimed Piracicaba entre abril e agosto de 2024. Foram incluídos pacientes com solicitação transfusional e gestantes. A tipagem RhD foi realizada por método convencional em tubo, com dois reagentes monoclonais (Anti-D IgM e Anti-D Blend IgG+IgM). Amostras com discrepância entre os reagentes, aglutinação fraca (< 2+) ou positividade na pesquisa de D fraco foram genotipadas por PCR multiplex. **Resultados:** Foram realizadas 2.283 tipagens RhD. Destas, 270 (11,8 %) apresentaram resultado RhD negativo, enquanto 2.013 (88,2 %) foram classificadas como RhD positivas. Não houve discrepância entre os reagentes monoclonais. Três casos (0,13% do total RhD positivos)

apresentaram aglutinação < 2+ e foram submetidos ao estudo molecular. A genotipagem identificou duas variantes D fraco (tipos 1 e 3) e um genótipo RHD*1 com pseudogene negativo (fenótipo deduzido RhD positivo). **Discussão e conclusão:** As variantes D fraco tipo 1 e 3 representam formas de expressão quantitativamente reduzida do antígeno D, sem alteração de epítomos principais. Portanto, não são consideradas imunogênicas em situações transfusionais ou gestacionais. A aglutinação sorológica fraca observada no caso com genótipo RhD*1, sem mutações associadas a expressão parcial, pode ser atribuída à densidade antigênica diminuída - fenômeno descrito na literatura, especialmente em recém-nascidos e indivíduos imunocomprometidos. Embora o presente estudo não tenha identificado variantes RhD associadas a risco de aloimunização, não se descarta a possibilidade de expressão parcial do antígeno D em amostras com reatividade fraca. O reconhecimento dessas situações é essencial, uma vez que fenótipos RhD parciais podem levar a formação de aloanticorpos anti-D quando tratados como RhD positivos. A baixa frequência de tipagens com aglutinação < 2+ reforça a viabilidade de protocolos baseados na intensidade de reação, sobretudo em serviços com limitações para genotipagem molecular. Diretrizes nacionais e internacionais recomendam que, na ausência de confirmação por biologia molecular, indivíduos com expressão reduzida do antígeno D sejam tratados como RhD negativos para fins transfusionais e obstétricos. A avaliação da intensidade de aglutinação é um critério seguro e custo-efetivo para triagem de possíveis variantes RhD. A conduta de considerar como RhD negativos os pacientes e gestantes com aglutinação < 2+, contribui para a prevenção da aloimunização. No entanto, recomenda-se que cada serviço de hemoterapia analise sua realidade local, considerando perfil populacional, demanda transfusional e disponibilidade de hemocomponentes RhD negativos, a fim de adotar conduta segura sem comprometer a sustentabilidade do estoque e a assistência prestada.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105626>

ID – 2558

CARACTERIZAÇÃO DOS POLIMORFISMOS QUE RESULTAM EM ALELOS RHD VARIANTES EM UMA COORTE DE INDIVÍDUOS COM FORTE REATIVIDADE SOROLÓGICA NA TIPAGEM RHD

MDG Messias, TH Costa, MFM Sirianni,
LD Santos, EP Bastos, MG Aravechia, CB Bub,
JM Kutner

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP,
Brasil

Introdução: O antígeno RhD (RH:1) é o mais importante dentro do sistema RH (004), podendo levar a aloimunização por transfusão sanguínea ou gestação. As hemácias da maioria das pessoas tipadas como D-positivas apresentam aglutinação de 4+ com anti-Ds comerciais. Porém, existe uma

grande variabilidade de reatividades com clones de anti-Ds que indicam a presença de variantes no gene RHD, seja pela fraca reatividade ou devido a discrepâncias entre os resultados com esses antissoros. Intensidades de aglutinação (< 2+) indicam variantes D Fraco ou D Parcial, já as intensidades de (3+), podem gerar dúvidas entre D positivo ou variante RHD. **Objetivos:** O objetivo desse trabalho foi identificar os polimorfismos mais frequentes do gene RHD em uma coorte de indivíduos que apresentaram reatividade de (3+) na tipagem RhD. **Material e métodos:** Um total de 29 amostras de pacientes e doadores com aglutinação (3+/3+ ou 3+/4+) foram testados pela técnica do Gel (DG Gel ABO/Rh(2D), Grifols) e com painel de anti-Ds IgM e/ou IgG Monoclonais (Clones MS 201, MS-26, ESD1, D175+D415, NaTH119+LOR-15C9) em Gel e tubo. A Citometria de Fluxo (DxFlex, Beckman Coulter) permitiu a análise da densidade antigênica dessas amostras. As amostras foram fenotipadas para os antígenos C,c,E,e (DG Gel Rh Pheno+Kell, Grifols). A análise molecular foi realizada por PCR-Multiplex e PCR-RFLP para identificar mutações nos éxons 3 a 9 do gene RHD e uma amostra foi analisada pelo Sequenciamento de Sanger. **Resultados:** Das 29 amostras, 16 (55,17%) apresentaram o alelo RHCE*ce e 13 (44,82%) o alelo RHCE*Ce. O clone MS-26 do painel de anti-D mostrou reatividade reduzida ($\leq 2+$) em 86,2% das amostras, outros clones apresentaram reatividades entre 3+/4+ em 100% das amostras. A densidade antigênica variou de 2.018 a 20.355 antígenos/hemácia. A genotipagem por PCR multiplex/PCR-RFLP identificou até o momento variantes alélicas em 75,86% das amostras das quais as mais frequentes foram (n = 7) RHD*DAR/RH*D; (n = 1) RHD*DAR/RH*DAU; (n = 1) RHD*DAU/RH*DAU; (n = 1) RHD*DAU/RH*D; (n = 1) RH*DAR3.1/DIII.6; (n=9) RHD variantes foram identificadas pelas técnicas de PCR-multiplex e (n = 7) demonstraram RH*D normal para os SNVS analisados. **Discussão e conclusão:** A escolha de uma bolsa de sangue para a prova de compatibilidade em pacientes com forte aglutinação (>3+) na tipagem RhD, pode induzir a transfusão de sangue RHD+, quando na verdade vimos uma alta frequência de alelos RHD*DAR e RHD*DAU presentes nessas amostras que reforça a transfusão de sangue RHD-. As amostras RHD variantes necessitam do Sequenciamento para a caracterização do Cluster a qual pertencem, assim como, amostras com haplótipos em heterozigose. No nosso estudo, um único paciente com variante de RHD, recebeu transfusões de sangue RHD+ e não desenvolveu anti-D, e uma paciente puérpera com genótipo RH*DAR3.1/DIII.06 e teve indicação de receber a imunoglobulina anti-D profilática. Em doadores, a presença de Variantes RHD não chega ser um problema, apenas indica que a tipagem deve ser considerada como RHD+. Esse estudo mostra a importância de elaborarmos protocolos dirigidos para a investigação molecular em pacientes com fortes aglutinações nos testes sorológicos e assim, proporcionar o manejo transfusional mais adequado para prevenir a aloimunização nesses pacientes, gerenciamento do estoque de sangue RHD- e a administração da Imunoglobulina profilática em gestantes com fenótipo D parcial.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105627>