

técnicas sorológicas complementares é importante para elucidação dos casos 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 (Knb, McCb, S13 e Vil) e seis antígenos de alta prevalência (Sla, KCAM, Kna, McCa, Yka 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-Knaa 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 Fya e Fyb, 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 Fyb apenas nas hemácias, mas não em outros tecidos. Para a definição correta dos fenótipos Fya e Fyb, 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 Fya e Fyb, 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 10µL. Em cada reação foram adicionados 5µL de TaqPath™ ProAmp™ Master Mix (2X), 0,5 µL de TaqMan® SNP Genotyping Assay (20X), 3,5 µL de água nucleasse free e 1µL 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 Fyb 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/