

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>