UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

Vítor Mendonça Alves

Frequência de Aloanticorpos Irregulares Antieritrocitários em Receptores de Concentrados de Hemácias Atendidos com Emergências Médicas e/ou com Doenças Agudas no Hospital de Clínicas da UFTM

Uberaba-MG
2010

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

Vítor Mendonça Alves

Frequência de Aloanticorpos Irregulares Antieritrocitários em Receptores de Concentrados de Hemácias Atendidos com Emergências Médicas e/ou com Doenças Agudas no Hospital de Clínicas da UFTM

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Patologia, área de concentração "Patologia Clínica", da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do *Título de Mestre*

Orientador: Prof. Dr. Helio Moraes de Souza

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Juliano Martins

Uberaba-MG
2010

Dedico este trabalho a todos os pacientes incluídos na pesquisa e a seus familiares ou acompanhantes, pela contribuição, paciência e boa vontade, durante todas as coletas realizadas. Sem essas pessoas, não haveria pesquisa alguma.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido tantas coisas maravilhosas em minha vida: saúde, um bom lar, uma boa família e muitas bênçãos e vitórias.

Aos meus pais, Romes e Macilda, a minha irmã Andréia e a toda minha família, pelo companheirismo, amor e compreensão.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Helio Moraes de Souza, por todo auxílio e atenção, além das várias observações e críticas construtivas, desde a elaboração do projeto até a conclusão do trabalho.

Ao meu Co-orientador, Prof. Dr. Paulo Roberto Juliano Martins, conhecido desde os tempos de graduação e que também teve uma participação muito importante no presente estudo.

Aos colaboradores Ricardo Aparecido Olivo (médico hematologista) e Marieta Queluz (bióloga), por toda a paciência e boa vontade, me auxiliando sempre, inclusive nos momentos de dificuldade. Especialmente à Marieta, pela colaboração nos exames no Laboratório de Imunohematologia do Hemocentro Regional de Uberaba - HRU, pelo auxílio na interpretação dos resultados e por tantos outros benefícios.

À Prof[a]. Dra. Sheila Soares, que em certas ocasiões colaborou com importantes sugestões.

Aos funcionários do HRU, de um modo geral, pela simpatia, amizade e cortesia.

À Dra. Luciana Cayres Schmidt, chefe do Laboratório de Imunohematologia do Hemocentro de Belo Horizonte, pela identificação dos aloanticorpos encontrados no presente trabalho.

À Prof[a]. Gislene Araújo Pereira, da UNIFAL-MG (Universidade Federal de Alfenas-MG), Graduada e Mestre em Estatística, pelo auxílio na análise estatística dos dados. À Prof[a]. de Língua Inglesa Cecília Parreira Luiz, da Central de Idiomas Modernos (CIM) da UFTM e à Dra. Fernanda Bernadelli Garcia, pelas importantes sugestões na elaboração do Abstract (Resumo em inglês).

Ao REUNI (Programa de Apoio ao Plano de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais), pela concessão da bolsa de Mestrado.

RESUMO

Os aloanticorpos irregulares antieritrocitários (sistemas Rh, Kell, Duffy, Kidd e outros), de ocorrência não esperada, possuem importância clínica por causarem hemólise, surgindo após transfusões sanguíneas ou gestações incompatíveis. A prevenção da aloimunização transfusional em pacientes cronicamente transfundidos, como os portadores de doenças oncohematológicas é conduta já instituída na prática hemoterápica, com resultados exitosos. Contudo, diversos trabalhos têm demonstrado índices significantes e preocupantes de aloimunização em pacientes cirúrgicos e/ou atendidos em emergências, receptores de concentrados de hemácias. Diante desses fatos, o presente trabalho teve como objetivos avaliar a ocorrência de aloimunização em portadores de doenças agudas e/ou atendidos em emergências médicas e cirúrgicas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC/UFTM) que receberam concentrados de hemácias, procurando correlacioná-la ao gênero dos aloimunizados, sua faixa etária, cor da pele, tipo de doença e/ou emergência médica, grupo sanguíneo, histórico transfusional, número de transfusões, histórico gestacional, número de gestações e de parceiros gestacionais e ainda avaliar o tempo para aloimunização, o título e a persistência dos aloanticorpos identificados. As amostras, obtidas a partir do segundo semestre de 2008, antes e até 15 meses após o ato transfusional, foram submetidas à Pesquisa de Anticorpos Irregulares (P.A.I.) e, quando positiva, à identificação e titulação do(s) aloanticorpo(s). Para comparar proporções foram utilizados os testes Qui-quadrado e Exato de Fisher, com valores de $p<0,05$ considerados significantes. A ocorrência de aloimunização foi 9,4% (17/181), sendo superior a de vários trabalhos. Como na literatura, os sistemas Rh e Kell foram os mais frequentes. Não foram observadas diferenças significantes entre aloimunizados e não aloimunizados quanto ao gênero, idade e cor de pele, doença de base e grupo sanguíneo. Antecedentes transfusionais foram identificados em 29,41% dos aloimunizados e 20,12% dos não aloimunizados ($p = 0.3438$). Dos 17 pacientes com aloanticorpos, 41,18% receberam até três transfusões, 41,18% de quatro a 10 e 17,65% mais de 10, enquanto nos não aloimunizados estes percentuais foram, respectivamente, 64,63%, 31,71% e 3,66%, com diferença estatística significante entre os dois grupos ($p = 0.0198$). Histórico gestacional foi constatado em 62,50% das aloimunizadas e em 92,21% das não aloimunizadas ($p = 0,0358$). Contudo, enquanto 60% das aloimunizadas referiram entre quatro e 10 gestações, 50,70% das não aloimunizadas referiram até três gestações e, 40% das aloimunizadas e 21,13% do outro grupo tiveram gestações de parceiros diferentes. As

aloimunizações foram identificadas antes do evento transfusional em dois pacientes (11,76%), quatro dias após em um (5,9%), 15 dias após em outro (5,9%), aos três meses em três (17,65%) e aos seis meses em dez (58,82%). O título mais alto foi de 1:32 (*anti-K*), com declínio em 16 indivíduos, sendo que em apenas um o título (1:2) permaneceu inalterado por 12 meses. Dos 15 aloimunizados após as transfusões no HC/UFTM, nove (60%) apresentaram PAI negativa em no máximo 15 meses. Os resultados do presente estudo reforçam a necessidade de se estender a fenotipagem para os antígenos K, E, e, C, c, também para receptores eventuais de concentrados de hemácias, que não requerem transfusões em regime de urgência, tendo em vista o aumento da expectativa de vida da população e a consequente maior ocorrência de doenças degenerativas que requererão novas transfusões de hemocomponentes.

Palavras chave: Aloimunização eritrocitária. Aloanticorpos irregulares. Doenças Agudas. Emergências Médicas. Transfusão de sangue.

ABSTRACT

Irregular Red Blood Cell (RBC) alloantibodies (Rh, Kell, Duffy, Kidd and other systems), that occur in a low frequency, are clinically important because they can produce hemolysis, appearing after blood transfusions or incompatible pregnancies. The prevention of transfusional alloimmunization in chronically transfused patients, with oncohematologic disorders and sickle cell disease, is an already established conduct in the hemoterapy practice, with good results. However, a lot of studies have demonstrated significant and preoccupant rates of alloimmunization in surgical patients and/or assisted in medical emergencies, who receive RBC. Because of this fact, the objectives of this study were to evaluate the occurence of alloimmunization in RBC receptors with acute disorders and/or assisted in medical and surgical emergencies at the Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), searching to correlate it with the gender of alloimmunized individuals, age, race, type of disease and/or medical emergency, blood type, history and number of transfusions, history and number of pregnancies and number of pregnancy partners. Besides this, evaluate time of alloimmunization, title and the persistence of the alloantibodies. Serum samples obtainned since the second semester of 2008 were submitted to RBC alloantibodies screening, before and until 15 months after transfusions and the positive results were submitted to alloantibodies identification and titulation of the alloantibodies. Proportions were compared by Chi-square Test or Fisher Exact Test, with $p<0,05$ values considered significant. The alloimmunization frequency was 9.4% (17/181), higher than a lot of studies. As in the literature, Rh and Kell were the most frequent systems. Significant differences weren´t observed between alloimmunized and non alloimmunized patients considering gender, age, race, diagnostic and blood type. Transfusional antecedents were identified in 29.41% of the alloimmunized and in 20.12% of the non alloimmunized individuals ($p=0.3438$). Of the 17 patients with alloantibodies, 41.18% received until 3 transfusions, 41.18% 4 to 10 and 17.65% more than 10, while in the non alloimmunized group these percentuals were, respectively, 64.63%, 31.71% and 3.66%, with significant statistical difference between these groups ($p=0.0198$). Gestational history was verified in 62.50% of the alloimmunized and in 92,21% of the non alloimmunized women ($p = 0.0358$). However, while 60% of the alloimmunized women had four to 10 gestations, 50.70% of the non alloimmunized had until 3 pregnancies. Besides this, 40% of the first group and 21.13% of the other group had gestations of different partners. Alloantibodies were identified before of the transfusions in two patients (11.76%), in one (5.9%) after 4 days, in another (5.9%) after 15

days, in 3 individuals (17.65%) at 3 months and in 10 (58.82%) after 6 months. The highest title was 1:32 (anti-K), with decline in 16 patients. In only one patient, the title of 1:2 remained unaltered for 12 months. The alloantibodies disappeared in a maximum of 15 months in 9 (60%) of the 15 patients who became alloimmunized after the transfusions at the Hospital de Clínicas (UFTM). The results of this study reinforce the necessity of extending the blood typing to K, C, c, E, e antigens also to the eventual receptors of RBC, who don´t request blood transfusions with urgency, considering the enhance of life expectancy of the population and the consequent higher occurrence of degenerative diseases that will require new blood transfusions.

Key words: RBC alloimmunization. Irregular alloantibodies. Acute diseases. Medical emergencies. Blood transfusions.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática de antígenos de grupos sanguíneos conforme suas funções biológicas 14
Figura 2 – Reação de Coombs Indireta 31
Figura 3 – Diacell I e II 39
Figura 4 – Anti-imunoglobulina humana 39
Figura 5 – Cartão ID-Diacell LISS/Coombs 41
Figura 6 – ID-Diacell I e II 41
Figura 7 – Distribuição de 181 pacientes internados no HC-UFTM que receberam transfusões de concentrados de hemácias, segundo o resultado da PAI 44
Figura 8 – Distribuição dos pacientes aloimunizados que receberam transfusões de concentrados de hemácias no HC-UFTM, segundo o número de aloanticorpos desenvolvidos 45
Figura 9 – Distribuição dos pacientes aloimunizados que receberam transfusões de concentrados de hemácias no HC-UFTM, segundo o tipo de aloanticorpo 46
Figura 10 – Distribuição dos pacientes aloimunizados que receberam transfusões de concentrados de hemácias no HC-UFTM, segundo o tempo para aloimunização 53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fenótipos, antígenos, anticorpos e frequências antigênicas do sistema P 27
Tabela 2 – Distribuição de 181 pacientes internados no HC-UFTM que receberam transfusões de concentrados de hemácias, segundo o gênero, faixa etária e cor 47
Tabela 3 - Distribuição de 181 pacientes internados no HC-UFTM que receberam transfusões de concentrados de hemácias, segundo o tipo de doença ou emergência médica 49
Tabela 4 - Distribuição de 181 pacientes internados no HC-UFTM que receberam transfusões de concentrados de hemácias, segundo o tipo sanguíneo 50
Tabela 5 - Distribuição de 181 pacientes internados no HC-UFTM que receberam transfusões de concentrados de hemácias, segundo o histórico transfusional e número de transfusões 51
Tabela 6 - Distribuição de 85 mulheres internadas no HC-UFTM que receberam transfusões de concentrados de hemácias, segundo histórico gestacional, número de gestações e parceiros gestacionais 52
Tabela 7 - Distribuição dos pacientes aloimunizados que receberam transfusões de concentrados de hemácias no HC-UFTM, segundo os títulos dos aloanticorpos 54

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

C.E.P. - Comitê de Ética em Pesquisa

CAD - Cirurgia do aparelho digestivo

DHRN - Doença Hemolítica do Recém-Nascido

DiaCell I e II - reagentes comerciais compostos por suspensão de hemácias a 3% (grupo O positivo) recobertas, cada uma, por vários antígenos eritrocitários diferentes, informados em tabela específica.

FAB ou FAF - Ferimento por arma branca ou ferimento por arma de fogo

FDA - Food and Drug Administration

HACD - Hemorragias agudas por causas diversas

HBH - Hemocentro de Belo Horizonte

HC/UFTM - Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

HRU - Hemocentro Regional de Uberaba-MG

ID-DiaCell I e II - reagentes comerciais compostos por suspensão de hemácias a 0,8% (grupo O positivo) recobertas, cada uma, por vários antígenos eritrocitários diferentes, informados em tabela específica.

ID-DiaPanel – painel de 11 hemácias diferentes (grupo O positivo) recobertas, cada uma, por vários antígenos eritrocitários diferentes, informados em tabela específica.

IgA - Imunoglobulina A

IgG - Imunoglobulina G

IgM - Imunoglobulina M

LISS - reagente de baixa força iônica – diminui a força iônica do meio de suspensão das hemácias, facilitando a sensibilização.

PAI - Pesquisa de Anticorpos Irregulares

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
2 JUSTIFICATIVA 32
3 HIPÓTESES 35
4 OBJETIVOS 36
5 MATERIAL E MÉTODOS 37
6 RESULTADOS 44
7 DISCUSSÃO 56
8 CONCLUSÃO 72
REFERÊNCIAS 73
APÊNDICE 79
ANEXOS 80

1 INTRODUÇÃO

Os antígenos eritrocitários são estruturas localizadas na membrana dos glóbulos vermelhos (hemácias ou eritrócitos), cuja natureza pode ser protéica, glicoprotéica ou glicolipídica. São detectados por aloanticorpos, produzidos naturalmente através de estímulos ambientais (principalmente microbianos) ou por exposição a eritrócitos estranhos (NOVARETTI, 2007). A descoberta desses antígenos foi considerada um dos avanços mais importantes nas pesquisas da área médica na primeira metade do século XX (JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005).

Tal descoberta contribuiu para melhorar significativamente a segurança transfusional, que até então era um procedimento de alto risco, devido às várias incompatibilidades existentes entre o sangue dos doadores e receptores. Desde a descoberta do sistema ABO, pelo cientista austríaco Karl Landsteiner, em 1900, foram descritos mais de 250 antígenos eritrocitários, organizados em sistemas, séries e coleções (MATTOS, 2005).

Entretanto, há outras informações controversas na literatura a respeito do número de antígenos já encontrados. Segundo alguns autores citados por Marsh e Redman (1990), em torno de 600 antígenos já são conhecidos. Para Novaretti (2007), mais de 236 antígenos foram descritos e classificados em 29 sistemas de grupos sanguíneos. E segundo Cozac (2009), um comitê sobre terminologia para antígenos de superfície eritrocitária demonstrou que mais de 245 antígenos eritrocitários já foram descobertos e organizados em 30 sistemas.

De acordo com Lorenzi (2006), os principais sistemas sanguíneos em que os antígenos eritrocitários foram organizados são: ABO, Rhesus (Rh), MNS, I, P, Lewis, Lutheran, Kell, Duffy, Kidd e Xg. No entanto, há vários outros sistemas, como Gerbich (Ge), Diego, Indian (In), Scianna (Sc), Ok, Cartwright (Yt), Cromer (Cr) e Knops (Kn) (BONIFÁCIO; NOVARETTI, 2009).

Cada um desses antígenos possui uma ou várias funções biológicas, que podem ser: estrutural, transporte, estrutural e transporte, função de receptor/adesão, enzimática ou elementos do complemento. Na Figura 1, temos uma representação esquemática de diferentes antígenos eritrocitários, de acordo com suas respectivas funções.

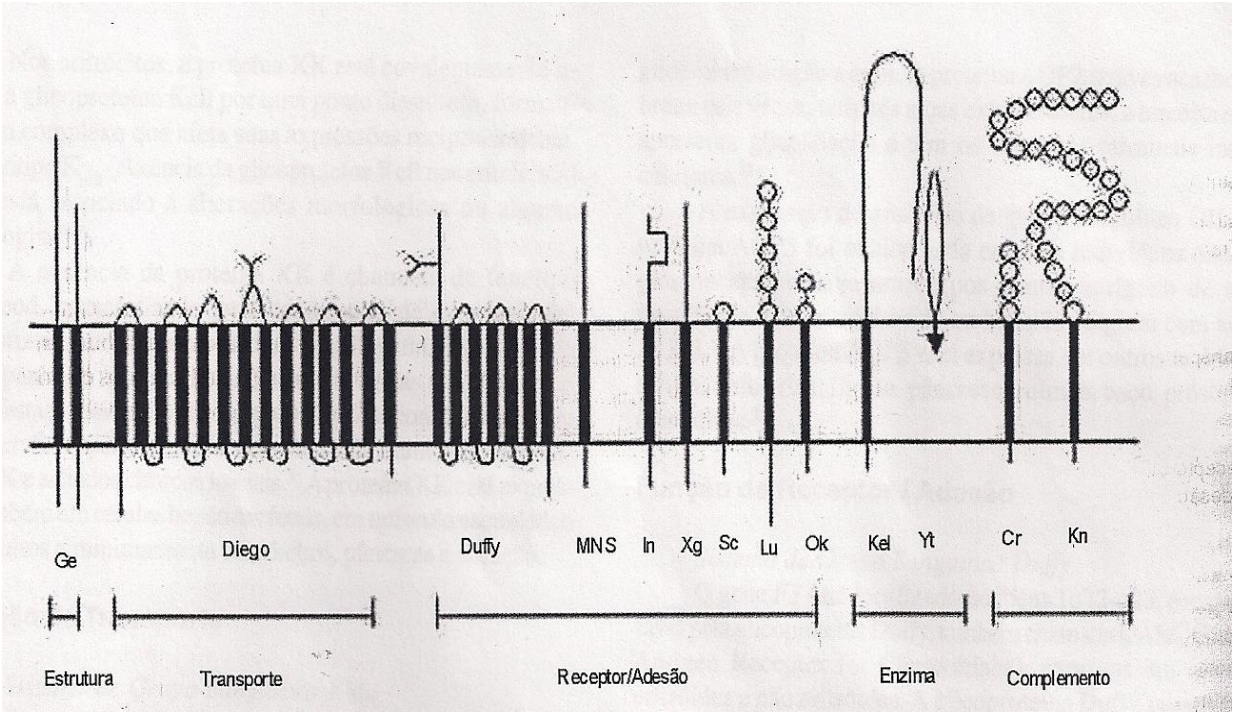


Figura 1 – Representação esquemática de antígenos de grupos sanguíneos conforme suas funções biológicas.
Fonte: BONIFÁCIO; NOVARETTI, 2009.

Os antígenos do sistema ABO, apesar de serem os mais importantes na prática de transfusões, ainda não tiveram sua função esclarecida, enquanto os antígenos Rh, também de grande importância transfusional, possuem as funções estrutural e de transporte (BONIFÁCIO; NOVARETTI, 2009).

Quando um indivíduo sofre exposição a eritrócitos alogenéicos (estranhos), com fenótipo diferente, através de transfusões sanguíneas, gestações e transplantes de órgãos/tecidos ou enxertos, por exemplo, ocorre uma aloimunização eritrocitária, que é uma resposta imune de seu organismo a esses antígenos estranhos, com produção de aloanticorpos específicos. Além da exposição antigênica, a resposta imune depende de outros fatores como imunogeniciade, dose e via de administração dos antígenos e de uma predisposição genética do próprio receptor (NOVARETTI, 2007).

O surgimento de uma aloimunização é diretamente proporcional ao poder sensibilizante do antígeno e também à probabilidade de ser exposto ao mesmo, durante uma transfusão sanguínea ou gestação. A probabilidade é dada pela prevalência do antígeno na população (GARCÍA GALA, 1994).

Certos indivíduos, ao receberem quantidades mínimas de hemácias alogenéicas, já produzem aloanticorpos antieritrocitários, sendo conhecidos como bons respondedores.

Outros, no entanto, não se tornam aloimunizados, mesmo ao serem expostos a eritrócitos estranhos sucessivamente e em alta quantidade (maus respondedores) (NOVARETTI, 2007).

Na primeira exposição ao antígeno estranho, há uma aloimunização primária, com produção de anticorpos em baixos títulos, geralmente da classe IgM (Imunoglobulina M) (LANGHI JÚNIOR; PEREIRA, J. P. M.; PEREIRA, C. M., 2007; MELO, 2007). Na aloimunização primária, os anticorpos são detectáveis semanas ou meses após a transfusão, podendo baixar a níveis indetectáveis (LANGHI JÚNIOR; PEREIRA, J. P. M.; PEREIRA, C. M., 2007).

Já a segunda exposição leva a uma reposta imune secundária, com produção de anticorpos da classe IgG (Imunoglobulina G) (LANGHI JÚNIOR; PEREIRA, J. P. M.; PEREIRA, C. M., 2007; MELO, 2007; THAKRAL, 2008). De acordo com Thakral et al. (2008), o tempo para a aloimunização secundária varia de 48 a 72 horas, atingindo seu pico máximo de sete a 10 dias após a transfusão. Outros autores, no entanto, afirmam que a aloimunização secundária pode ser mais precoce e os anticorpos já são detectáveis entre 24 a 48 horas após o segundo estímulo antigênico (LANGHI JÚNIOR; PEREIRA, J. P. M.; PEREIRA, C. M., 2007; MELO, 2007). Na resposta imune secundária ou anamnéstica, os anticorpos são produzidos em altos níveis, ocorrendo por meio de células da memória imunológica, que foram clonadas durante a aloimunização primária (LANGHI JÚNIOR; PEREIRA, J. P. M.; PEREIRA, C. M., 2007). Durante essa nova resposta imunológica, os aloanticorpos têm maior avidez pelo antígeno, requerendo doses antigênicas bem menores para que sejam produzidos (LANGHI JÚNIOR; PEREIRA, J. P. M.; PEREIRA, C. M., 2007; MELO, 2007).

A aloimunização eritrocitária secundária pode gerar complicações graves, como as reações transfusionais hemolíticas tardias (LANGHI JÚNIOR; PEREIRA, J. P. M.; PEREIRA, C. M., 2007; SANTOS, 2007; SCHONEWILLE et al., 2006; THAKRAL et al., 2008). Essas reações transfusionais são a segunda causa mais frequente de morte relacionada à transfusão (COZAC, 2009; POWERS et al., 2010).

1.1 SISTEMA ABO

O sistema ABO foi descoberto por Karl Landsteiner em 1900, ao reagir suas próprias amostras de sangue com a de vários colegas. Durante as reações, foram utilizadas amostras de

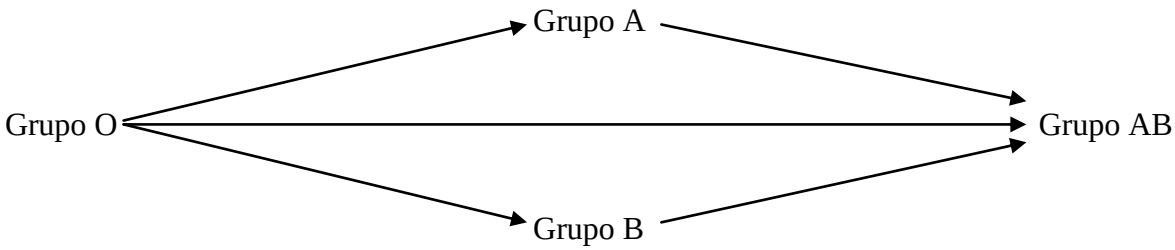
soro juntamente com suspensões de hemácias de cada pessoa. Ao observar a presença de aglutinação apenas em algumas misturas, o cientista classificou as amostras em diferentes grupos (A, B e O), reconhecendo que a presença ou falta de apenas dois antígenos (A e B) era suficiente para explicar os tres grupos. Além disso, previu que um quarto grupo poderia existir, o que foi confirmado em 1902, pela descoberta do tipo sanguíneo AB, por seus pupilos von Decastello e Sturli. Landsteiner também demonstrou que o soro de cada indivíduo continha anticorpos específicos contra os antígenos que estavam ausentes nas suas próprias hemácias (VENGELEN-TYLER et al., 1996).

O sistema ABO, dentro das práticas transfusionais, é considerado o mais importante, sendo que os incidentes transfusionais mais graves decorrem de transfusões ABO incompatíveis, podendo tais incidentes levar ao óbito, em alguns casos. A causa mais frequente de morte por transfusões ABO incompatíveis é a instalação do hemocomponente para o paciente errado (COZAC, 2007).

Dentro do sistema, também podem ocorrer incompatibilidades materno-fetais, com surgimento da DHRN (Doença Hemolítica do Recém-Nascido) (MELO, 2007). A DHRN surge por uma sensibilização materna contra antígenos eritrocitários do feto (herdados do pai e ausentes na mãe), com a produção de anticorpos IgG, os quais atravessam a placenta e se fixam às hemácias fetais, destruindo-as. Os sinais clínicos são variáveis, podendo ocorrer desde um achado laboratorial até a morte fetal intrauterina (NETO, 1998). Entretanto, tal enfermidade, dentro do sistema ABO, não possui significância clínica, na maioria dos casos (COZAC, 2007; NETO, 1998; RUIZ et al., 2008). Além disso, anormalidades hematológicas são detectadas somente quando o sangue de um recém-nascido aparentemente normal é sorologicamente testado (RUIZ et al., 2008).

Devido à presença regular de anticorpos naturais hemolíticos no sistema ABO, é regra fundamental não transfundir hemácias contendo antígenos que possam ser reconhecidos pelos anticorpos do receptor. Assim, de acordo com essa norma, pode-se estabelecer as seguintes regras de doações no sistema ABO:

1-Transfusões de isogrupos (doador e receptor do mesmo grupo sanguíneo ABO) sempre que for possível;
2-Transfusões de heterogrupos (doador e receptor de grupos sanguíneos diferentes) devem respeitar o seguinte esquema:



Fonte: MELO; SANTOS, 1996.

O sistema ABO é o único onde a fenotipagem consiste da prova reversa (pesquisa do anticorpo no soro ou plasma), além da prova direta (pesquisa antigênica na superfície da hemácia). Isso é feito porque deve haver, necessariamente, aglutinina (s), na ausência do(s) antígeno (s) correspondente (s). Para que o fenótipo possa ser interpretado, é obrigatória a utilização de ambas as provas (COZAC, 2007).

Na população geral, o tipo sanguíneo O é o de maior frequência, ocorrendo em 49% dos doadores de sangue da região da cidade de São Paulo (COZAC, 2007).

Os anticorpos desse sistema ocorrem naturalmente, sendo detectados no soro após três a seis meses de vida, não estando presentes ao nascimento (NETO, 1998). O que provoca o surgimento desses anticorpos são estímulos passivos, particularmente da flora intestinal bacteriana, pois as bactérias possuem em suas membranas substâncias que são idênticas aos antígenos ABO (MELO; SANTOS, 1996a; RUIZ et al., 2008). Tais substâncias são açúcares semelhantes aos carboidratos dos antígenos A e B (RUIZ et al., 2008). Indivíduos dos grupos A ou B normalmente produzem apenas anticorpos da classe IgM, enquanto as pessoas do grupo O produzem IgM e IgG naturais (NETO, 1998).

Os anticorpos ABO também podem ser imunes, surgindo por meio de estímulos em duas vias: heteroimunização (substâncias de origem animal ou bacteriana) e aloimunização (gravidez ou transfusão sanguínea incompatível), sendo que tais anticorpos, na sua maioria, são da classe IgG. Entretanto, a classificação dos anticorpos pertencentes a esse sistema em "naturais" ou "imunes" não deve ser restringida à classe do anticorpo, pois não há dados que possam comprovar que todos os anticorpos naturais são exclusivamente IgM ou que todos os imunes são da classe IgG. Em ambos os casos, pode haver misturas de anticorpos de ambas classes, com IgA (Imunoglobulina A) aparecendo em menor quantidade (MELO; SANTOS, 1996a).

Aglutininas IgA não são capazes de realizar fixação de complemento, ao contrário das aglutininas IgM e IgG, que provocam hemólise intravascular em caso de transfusões incompatíveis. Os anticorpos ABO naturais reagem melhor em baixas temperaturas (4ºC), enquanto os imunes reagem de 4ºC a 37ºC (MELO; SANTOS, 1996a).

Indivíduos de todos os grupos (A, B, AB e O) normalmente possuem o antígeno H, que é um precursor dos antígenos A e B. No entanto, há pessoas com deficiência do antígeno H, sendo genericamente conhecidas como Bombay. Tais indivíduos são divididos em dois grupos, sendo que o primeiro é representado por pessoas que não expressam o antígeno H, por terem genótipo hh. Como consequência, não apresentam os antígenos ABO na membrana eritrocitária. No entanto, se tais indivíduos forem secretores (genótipo SeSe ou Sese), o fenótipo ABO pode ser determinado por meio da identificação das enzimas A e/ou B, responsáveis pela produção dos antígenos A e B. São conhecidos como H null ou H nulo. Já o segundo grupo é formado pelos indivíduos com genótipo hh-sese, que não expressam antígenos ABH nem nos eritrócitos, nem em outras células ou secreções biológicas. São chamados de Bombay clássicos. Em ambos os grupos pode haver a presença do anticorpo anti-H. Nos indivíduos não secretores (sese), tal anticorpo ocorre como aglutininas frias, sem importância transfusional. Já nos indivíduos secretores (SeSe ou Sese), o anticorpo é ativo a 37ºC, possui efeito hemolisante e é muito perigoso em transfusões (MELO; SANTOS, 1996a). Como a ocorrência do alelo H é muito alta na população, os indivíduos com genótipo hh são raros (LORENZI, 2006).

1.2 SISTEMA RHESUS (RH)

O sistema Rh, do ponto de vista transfusional, é o segundo em importância clínica (após o ABO) e o primeiro em complexidade (NETO, 1998). Atualmente, 48 antígenos já foram relatados dentro do sistema, descoberto em 1939, por Levine e Stetson, que encontraram um anticorpo no soro de uma mulher cujo feto teve DHRN. Essa mulher, posteriormente, desenvolveu reação hemolítica após ser transfundida com sangue de seu marido. Os autores sugeriram que o anticorpo encontrado fora produzido pela mulher contra um antígeno fetal de origem paterna (CASTILHO, 2007). Segundo Vengelen-Tyler et al. (1996), tratava-se do primeiro relato de um anticorpo dirigido contra o antígeno D.

Posteriormente, verificou-se que tal anticorpo aglutinava 80% das hemácias dos doadores ABO compatíveis (CASTILHO, 2007).

Em 1940, Landsteiner e Wiener, ao injetarem sangue de macaco do gênero *Rhesus* em coelhos e porcos observaram que tais cobaias produziam anticorpos específicos contra as hemácias do primata. Os cientistas observaram que esses anticorpos aglutinavam aproximadamente 85% das hemácias dos doadores de sangue caucasianos de Nova Iorque (CASTILHO, 2007; VENGELEN-TYLER et al., 1996). Tais indivíduos foram então classificados como Rh (Rhesus) positivos, enquanto as pessoas cujas hemácias não sofreram aglutinação pelo anticorpo foram classificadas como Rh negativas (CASTILHO, 2007).

Naquela época, acreditou-se que o anticorpo descoberto por Landsteiner e Wiener seria o mesmo descrito anteriormente por Levine e Stetson, em 1939. Todavia, em 1942, Fisk e Ford observaram que não se tratava do mesmo anticorpo. Como o nome "Rh" (em homenagem ao macaco *Rhesus*) já aparecia em milhares de publicações, ele não pôde ser mudado (CASTILHO, 2007).

Com o objetivo de explicar a alta complexidade do sistema Rh, duas nomenclaturas diferentes foram descritas: a teoria de Fisher-Race, de três *loci* (C, D, E), os quais estão intimamente ligados e de Wiener (Rh-hr), que se refere à presença de vários alelos em um único *locus*. A primeira nomenclatura (linguagem CDE) tem sido utilizada de modo bastante amplo na interpretação da maioria das reações sorológicas e na comunicação dos resultados. No entanto, para a comunicação dos fenótipos, particularmente em conversação, a segunda nomenclatura é utilizada. Há ainda uma terceira nomenclatura, proposta por Rosenfeld e colaboradores, que foi baseada apenas em observações sorológicas, onde se adotou um número para cada antígeno, de acordo com a sua ordem de descoberta ou inclusão dentro do sistema Rh (CASTILHO, 2007).

O principal antígeno do sistema é o antígeno D, devido ao seu alto grau de imunogenicidade. Os indivíduos que o possuem são classificados com Rh positivos, enquanto os Rh negativos não contêm o antígeno. Outros quatro antígenos também são muito importantes: C, c, E, e (CASTILHO, 2007; NETO, 1998). Esses quatro antígenos, além do próprio antígeno D, são geralmente os responsáveis por 98% a 99% dos casos clínicos envolvendo o sistema Rh (NETO, 1998).

O antígeno D é codificado pelo gene RHD, em indivíduos Rh positivos, sendo que na ausência do gene, não haverá a produção do respectivo antígeno. Já o gene RHCE é o responsável pela codificação dos antígenos C ou c, juntamente com E ou e. Há variações dentro do antígeno D, como o fenótipo Du (D fraco), onde antígeno tem a sua expressão

diminuída ou enfraquecida (MELO; SANTOS, 1996b; NETO, 1998). Somente técnicas mais complexas, como tratamento enzimático das hemácias e Teste de Coombs Indireto (descrito adiante) são capazes de detectar o antígeno D fraco (NETO, 1998). Na prática transfusional, as hemácias Du devem ser obrigatoriamente classificadas como Rh positivas (CASTILHO, 2007; NETO, 1998).

Outra variação envolvendo o antígeno D é o D parcial. O antígeno D normalmente se apresenta como um mosaico de nove subunidades ou epítopos (epD1 a epD9). A maioria das hemácias Rh positivas apresentam todos esses epítopos antigênicos. No entanto, em alguns dos indivíduos Rh positivos, há a falta de uma ou outra dessas subunidades, o que leva à produção de anticorpos anti-D específicos contra as subunidades ausentes (CASTILHO, 2007; MELO; SANTOS, 1996b). Desse modo, indivíduos com fenótipo D parcial devem obrigatoriamente receber sangue Rh negativo. Como a identificação desses pacientes por meio de técnicas sorológicas é difícil, os pacientes com antígeno D parcial são identificados somente após terem sido aloimunizados, sendo que as técnicas de análise molecular são mais eficientes na detecção do antígeno. As diferentes categorias de D parcial são DII, DIII, DIV, DV, DVI, DVII, DFR, DBT e DHAR, que se diferenciam umas das outras segundo a presença ou ausência de um ou mais epítopos antigênicos (CASTILHO, 2007).

Existem ainda os raros fenótipos Rh null e Rh mod. No primeiro caso, ocorre a ausência de expressão dos antígenos Rh na membrana das hemácias, enquanto nos indivíduos Rh mod os antígenos do sistema são fracamente expressos na membrana dos eritrócitos. Pessoas com fenótipo Rh null apresentam uma anemia crônica, cujo grau é variável, juntamente com esferocitose, fragilidade osmótica anormal e elevação da permeabilidade a cátions (CASTILHO, 2007).

Há variantes dos antígenos C e c, de origem genética, como C^{w} (C Willis) que, apesar de raro, pode ocasionar reações hemolíticas transfusionais ou DHRN (MELO; SANTOS, 1996b).

Praticamente todos os anticorpos anti-Rh ocorrem devido a uma aloimunização por transfusão sanguínea ou por gestação, sendo as transfusões sanguíneas a forma mais comum de sensibilização (MELO; SANTOS, 1996b). Apesar disso, o anti-E, em alguns casos, pode ocorrer naturalmente. Em sua maioria, os anticorpos do sistema pertencem à classe IgG (IgG1 ou IgG3) (MELO; SANTOS, 1996b; NETO, 1998). No entanto, alguns anticorpos da classe IgM podem ocorrer de modo transitório no início da aloimunização (MELO; SANTOS, 1996b). Em torno de 80% dos indivíduos Rh negativo que recebem transfusões de

aproximadamente 200ml de sangue contendo o antígeno D produzem anticorpos anti-D (COZAC, 2009; MELO; SANTOS, 1996b; NETO, 1998).

Aloimunização contra os antígenos E, e, C, c também são encontradas em indivíduos politransfundidos, porém com menor frequência (MELO; SANTOS, 1996b). Isso ocorre porque o antígeno D é o que possui maior imunogenicidade (capacidade de desencadear uma resposta imune) (NETO, 1998). Os anticorpos Rh de maior frequencia, nos indivíduos aloimunizados, em ordem decrescente, são: anti-D, anti-c, anti-E, anti-C e anti-e, com associações anti-D + anti-C e anti-c + anti-E sendo frequentes (CASTILHO, 2007).

Com a instituição rotineira de profilaxia utilizando anti-D em mulheres Rh negativas, após gestações de fetos Rh positivos, tem-se observado uma redução do número de aloimunizações maternas contra o antígeno D (COZAC, 2009; GARCÍA GALA et al., 1994; MELO; SANTOS, 1996b). No entanto, isso não reduziu os índices de aloimunizações envolvendo os antígenos C, c, E, e (MELLO; SANTOS, 1996b; MONTEIRO et al., 1996).

Um fato interessante dentro do sistema é que em torno de 15 a 20% da população não produz anticorpos anti-D, mesmo sendo exposta sucessivamente ao antígeno (COZAC, 2009; NETO, 1998). Tais indivíduos são conhecidos como não respondedores (COZAC, 2009). Todavia, devido à alta imunogenicidade do antígeno D, todos os pacientes Rh negativos não devem receber sangue Rh positivo, exceto em casos de emergências com grandes hemorragias, na ausência de unidades Rh negativas disponíveis (NETO, 1998). Acredita-se que a ausência de resposta ao antígeno D seja uma característica genética, apesar de tal hipótese ainda não ter sido confirmada (COZAC, 2009).

A transfusão de sangue compatível para o antígeno D (além dos antígenos ABO) já é uma prática habitual há muito tempo (GARCÍA GALA et al., 1994). Porém, como previamente demonstrado, há vários outros antígenos eritrocitários, pertencentes a diversos sistemas sanguíneos. Citaremos agora outros sistemas de importância clínica.

1.3 SISTEMA KELL

O sistema Kell, assim como o Rh, também é complexo, sendo composto por mais de 20 antígenos já descritos (BORDIN; MOREIRA JÚNIOR, 1996; MARSH; REDMAN, 1990; NETO, 1998). O primeiro antígeno a ser descrito foi o K (Kell ou K1), seguido pelo antígeno k (Cellano ou K2), três anos depois (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007).

O nome do sistema surgiu de um indivíduo onde foi encontrado o primeiro anticorpo (anti-K1 ou anti-Kell) (MARSH; REDMAN, 1990). Esse anticorpo foi descrito em 1946 por Coombs e colaboradores que, ao utilizarem o Teste de Coombs Direto (descrito adiante), observaram que as hemácias de um recém-nascido estavam sensibilizadas por anticorpos maternos (anti-Kell) (BORDIN; MOREIRA JÚNIOR, 1996).

Os antígenos do sistema Kell são expressos principalmente na membrana das hemácias, mas também podem ser encontrados no cérebro, coração, órgãos linfóides, músculo esquelético, testículos, pâncreas e células progenitoras mielóides. Tais antígenos podem apresentar pares opostos ou serem independentes, os quais não possuem pares conhecidos. Os antígenos com pares conhecidos são K (K1) e k (K2); Kp^a (K3), Kp^b (K4) e Kp^c (K21); Js^a (K6) e Js^b (K7); K11 e K17; K24 e K14. Já os antígenos cujos pares não são conhecidos são denominados para-Kell. Há ainda o antígeno Kx, que também tem sido estudado em conjunto com o sistema Kell, apesar de não ser considerado oficialmente um membro do sistema (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007).

Os antígenos pertencentes ao sistema são também classificados como antígenos de alta e baixa incidência populacional, sendo que os de alta incidência ocorrem em mais de 90% das pessoas, enquanto os de baixa incidência exibem especificidade étnica. O antígeno K, por exemplo, é encontrado em 9% dos indivíduos caucasianos e em 2% dos negros. O antígeno Jsa (K6), no entanto, é encontrado em 20% da população negra e em menos de 0,01% dos caucasianos (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007).

O antígeno K é considerado o antígeno eritrocitário mais imunogênico, após o antígeno D (sistema Rh). Os anticorpos anti-K (anti-Kell), produzidos por indivíduos que não contêm o antígeno, pertencem à classe IgG (subclasse IgG1), reagem a 37ºC e fixam complemento (BORDIN; MOREIRA JÚNIOR, 1996; MARSH; REDMAN, 1990; NETO, 1998). Além do anti-K, outros anticorpos do sistema podem causar reações transfusionais graves, além de anemia fetal e DHRN (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007).

Com a instituição rotineira da prevenção da DHRN por anticorpos anti-D, tem-se observado um aumento da frequência de casos de DHRN por anti-K (BORDIN; MOREIRA JÚNIOR, 1996). Atualmente, estima-se que 10% dos casos de anemia fetal e neonatal são provocados pelo anticorpo. Como a expressão dos antígenos Kell é feita precocemente durante a eritropoese, na DHRN por anticorpos Kell a anemia pode ser grave, apresentando-se mais como uma supressão da eritropoese do que por destruição imune das hemácias fetais (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007).

A probabilidade de um indivíduo K- (Kell negativo) ser sensibilizado após receber uma unidade de sangue K+ (Kell positivo) é de aproximadamente 10%. Acredita-se que o antígeno K seja em torno de seis vezes menos imunogênico que o antígeno D, de 2,5 a 3 vezes mais imunogênico que os antígenos c e E (sistema Rh) e 20 vezes mais imunogênico em comparação aos demais antígenos eritrocitários (BORDIN; MOREIRA JÚNIOR, 1996).

Nas práticas transfusionais, devido à baixa frequência de hemácias K positivas na população, não há grandes problemas na identificação de unidades sanguíneas compatíveis (K negativas), em indivíduos que já desenvolveram anti-K. O mesmo ocorre em relação a outros antígenos, como K3 (Kp^a) e K6 (Js^a), que também são de baixa frequência. No entanto, há casos raros, em que certos indivíduos produzem anticorpos dirigidos contra antígenos de alta frequência, como K2 (k), K4 (Kp^b) ou K7 (Js^b). Nessas situações, as unidades compatíveis são encontradas apenas em familiares ou em grupos raciais distintos (NETO, 1998).

1.4 SISTEMA DUFFY

O sistema Duffy tem sido alvo de pesquisas, devido a sua importância fisiológica e transfusional (JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005). Sua descrição ocorreu graças à descoberta do anticorpo anti-Fy^a (anti-Duffy a) em 1950, por Cutbush e colaboradores, que encontraram uma aglutinina no soro de um indivíduo hemofílico politransfundido. O anticorpo recebeu o nome em homenagem ao paciente em questão (Sr. Duffy) (CASTILHO, L. M., 1996; JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005). Tal anticorpo reagiu com 64,9% de 205 amostras sanguíneas testadas, provenientes de indivíduos não aparentados na população inglesa (JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005). No ano seguinte (1951), Ikin e colaboradores descreveram o anticorpo anti-Fy^b (anti-Duffy b) (CASTILHO, L. M., 1996; JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005). E em 1955, Sanger e colaboradores observaram que o fenótipo Fy (a-b-) era o mais frequente em afroamericanos, representando provavelmente um produto de alelo silencioso (FY) (JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005).

Em 1975, descobriu-se que os antígenos desse sistema atuam como receptores de merozoítas do *Plasmodium vivax* e *Plasmodium knowlesi*, responsáveis pela malária no homem e também em primatas, observando-se que os eritrócitos Fy (a-b-) eram resistentes à

invasão por *P. knowlesi* cultivados *in vitro*. Em 1989, os mesmos resultados foram confirmados com o *P. vivax* (JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005).

Posteriormente, outros antígenos foram descritos dentro do sistema, além de Fy^a e Fy^b, como Fy3, Fy4, Fy5 e Fy6, graças à descoberta dos respectivos anticorpos (CASTILHO, L. M., 1996; JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005). O antígeno Fy3 foi descrito em 1971 e os antígenos Fy4 e Fy5 em 1973, enquanto o Fy6 foi adicionado ao sistema em 1987, após ter sido detectado por um anticorpo monoclonal murino (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007).

Na prática transfusional, Fy^a e Fy^b são considerados os principais antígenos do sistema, encontrando-se desenvolvidos ao nascimento e sendo detectados em embriões com seis a sete semanas de gestação. O antígeno Fy^a possui alta frequência em indivíduos asiáticos, aproximando-se de 100% em algumas populações. Já em negros afro-americanos e africanos, sua frequência é relativamente baixa (por volta de 10 a 20%) (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007).

A imunogenicidade dos antígenos Duffy é moderada e os anticorpos dificilmente são detectados, por baixarem seus títulos rapidamente (CASTILHO, L. M., 1996). Contudo, esses anticorpos normalmente provocam reações hemolíticas pós-transfusionais severas, imediatas e, com maior frequência, tardias, podendo também levar à DHRN (CASTILHO, L. M., 1996; JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005; NETO, 1998).

O anticorpo anti-Fy^a possui uma frequência aproximadamente três vezes inferior a do anti-K (JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005; NOVARETTI, 2007). Já o anti-Fy^b é cerca de 20 vezes menos frequente na população do que o anti-Fy^a, ocorrendo geralmente associado a outros anticorpos (JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005). O anti-Fy^a, que em geral não é raro na população, também pode ocorrer em associação com outros anticorpos. De acordo com alguns estudos, verificou-se que o anticorpo, na maioria das vezes, é do tipo IgG1 e que 50% deles possuem capacidade de fixação do sistema complemento. O mesmo ocorre com o anti-Fy^b. O anti-Fy^a já foi descrito como causador de reações hemolíticas imediatas e tardias e de vários casos de doença hemolítica perinatal moderada ou até mesmo fatal. E há relatos de anti-Fy^b envolvido em reação transfusional hemolítica fatal, reação transfusional tardia, doença hemolítica perinatal e anemia hemolítica autoimune (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007).

1.5 SISTEMA KIDD

Os antígenos pertencentes a esse sistema foram descobertos entre 1951 e 1953, sendo Jk^a (Kidd a) e Jk^b (Kidd b) os principais. Ao contrário dos antígenos de outros sistemas, são exclusivamente eritrocitários, não sendo encontrados em nenhum outro tecido. Assim como os antígenos Duffy, os antígenos Kidd possuem moderada imunogenicidade (MELO; SANTOS, 1996c).

Em 1951, um novo anticorpo havia sido detectado no soro de uma mulher cujo filho desenvolveu DHRN. As denominações Kidd e Jk surgiram, respectivamente, do nome da mãe e das iniciais da criança. Dois anos após, em 1953, foi identificado o anticorpo anti-Jk^b, em uma paciente que desenvolveu reação hemolítica pós-transfusional (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007).

Como no sistema Duffy, os anticorpos anti-Jk^a (anti-Kidd a) e anti-Jk^b (anti-Kidd b) normalmente não se encontram em altos títulos, tendendo a diminuir sua concentração com grande facilidade. Por esses motivos, também são dificilmente detectados (MELO; SANTOS, 1996c; NETO, 1998). Além disso, na maioria dos casos, surgem associados a outros anticorpos (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007; MELO; SANTOS, 1996c). Entretanto, possuem grande importância clínica, podendo causar reações hemolíticas pós-transfusionais e DHRN (MELO; SANTOS, 1996c; NETO, 1998). A DHRN, no sistema Kidd, é pouco frequente e não muito severa (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007; MELO; SANTOS, 1996c).

O anti-Jk^a possui maior frequência na população do que o anti-Jk^b. Normalmente, são anticorpos imunes, da classe IgG, podendo ocorrer associações de IgG e IgM. Possuem alta capacidade de fixação do sistema complemento, induzindo hemólise *in vivo* e *in vitro* e apresentando uma resposta anamnéstica rápida e intensa, além de estarem envolvidos em um terço de todos os casos de reações hemolíticas transfusionais tardias, as quais são geralmente graves. Quando um paciente desenvolve algum anticorpo Kidd, a localização de unidades compatíveis não é difícil, já que cerca de 25% dos doadores caucasianos são negativos para cada antígeno. No entanto, como os anticorpos desse sistema normalmente surgem associados a outros anticorpos, encontrar bolsas compatíveis, em geral, não é uma tarefa fácil. Há ainda no sistema Kidd o aloanticorpo anti-Jk3, o qual é produzido apenas por indivíduos Jk (a- b-) e pode ser encontrado de forma isolada ou associado a anti-Jk^a e/ou anti-Jk^b (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007).

1.6 SISTEMA LEWIS

Os antígenos Lewis não são especificamente eritrocitários, sendo produzidos no epitélio intestinal e liberados como antígenos solúveis no plasma (e outros fluidos). Posteriormente, são adsorvidos à membrana eritrocitária (NETO, 1998). Estão normalmente expressos nas hemácias, linfócitos e plaquetas, além de outros tecidos como intestinos (delgado e grosso), músculo esquelético, córtex renal, glândula supradrenal, mucosa gástrica e pâncreas (COZAC, 2007).

Os anticorpos do sistema são geralmente naturais, da classe IgM (COZAC, 2007; MELO; SANTOS, 1996a; NETO, 1998). Por esse motivo, não podem atravessar a barreira placentária e causar DHRN. Além disso, as hemácias fetais não expressam os antígenos Lewis (COZAC, 2007; MELO; SANTOS, 1996a). Raramente são ativos a 37ºC e portanto não causam hemólise (NETO, 1998). No entanto, quando ativos a essa temperatura, são capazes de fixar e ativar o complemento, provocando hemólises severas (MELO; SANTOS, 1996a; SERRANO, 1990).

1.7 SISTEMA P

O sistema P foi descoberto por Landsteiner e Levine em 1927, que injetaram hemácias humanas em coelhos e isolaram, posteriormente, um anticorpo classificado como anti-P. Em 1951, Levine e Colbs descreveram o anticorpo atualmente denominado anti-P P1 P^k, que por sua vez reagia contra um antígeno de alta frequência encontrado em pessoas P+ e P-. Esses indivíduos passaram a ser denominados P nulo. Desse modo, os antígenos do sistema foram reclassificados da seguinte forma: o fenótipo P+ tornou-se P1; o P- tornou-se P2 e o P nulo passou a ser p.

Nesse sistema, cinco fenótipos são definidos por três antígenos (P1, P e P^k), os quais são reconhecidos por anticorpos naturais (Tabela 1).

Tabela 1 – Fenótipos, antígenos, anticorpos e frequências antigênicas do sistema P.

Fenótipos	**Antígenos**	**Anticorpos**	**Frequências**	
			Brancos	**Negros**
P1	P P1	-	79%	94%
P2	P	anti-P1	21%	6%
p	-	anti-P P1 P^k	Raro	Raro
$P1^k$	P1 P^k	anti-P	Muito raro	Muito raro
$P2^k$	P^k	anti-P P1	Raríssimo	Raríssimo

Fonte: CASTILHO, S. L., 1996.

Indivíduos dos fenótipos P1 e P2 possuem uma pequena quantidade do antígeno P^k em suas hemácias. Portanto, não produzem anti-P^k. Já os indivíduos com fenótipo p (silencioso) desenvolvem os anticorpos anti-P, anti-P1 e anti-P^k (anti-P P1 P^k), por não possuírem nenhum dos antígenos (P1, P e P^k).

O anticorpo anti-P1 é provavelmente o anticorpo natural mais comum fora do sistema ABO, sendo da classe IgM e ocorrendo em baixos títulos. Na maioria dos casos, não tem importância transfusional. Porém, quando há infestações por vermes, pode reagir a 37ºC, apresentando caráter hemolítico. O anti-P é encontrado em todos os indivíduos dos fenótipos p e P^k e possui amplitude térmica, ou seja, pode reagir a temperatura ambiente e a 37ºC, tendo atividade hemolítica e apresentando, portanto, um alto risco em transfusões (CASTILHO, S. L., 1996).

1.8 SISTEMA MNS

O sistema MNS é o segundo mais complexo, após o Rh. Contém 40 antígenos, porém apenas cinco são os mais importantes: M, N, S, s e U (NETO, 1998). Os antígenos M e N foram descobertos por Landsteiner e Levine, em 1927, a partir da imunização de coelhos com hemácias humanas. O antígeno S foi descrito em 1947 e o s em 1951. Wiener, em 1953, relatou a existência do antígeno U, o qual acabou sendo incluído no sistema, já que foi observado que todas as hemácias U negativas também eram S e s negativas (CASTILHO, S. L., 1996).

Os anticorpos anti-M e anti-N são geralmente naturais, da classe IgM, reagindo a 4ºC (CASTILHO, S. L., 1996; FABRON JÚNIOR; BALEOTTI JÚNIOR, 2007; NETO, 1998). Portanto, não possuem importância clínica, na maioria dos casos. Porém, há relatos de reações

transfusionais causadas por anti-M reativos a 37ºC (CASTILHO, S. L., 1996; SERRANO, 1990). Desse modo, alguns anti-M que reagem a 37ºC ou na fase da antiglobulina humana, nas provas de compatibilidade, devem ser considerados como anticorpos de significância clínica (FABRON JÚNIOR; BALEOTTI JÚNIOR, 2007). Alguns anti-N imunes já foram encontrados em reações hemolíticas tardias (CASTILHO, S. L., 1996; FABRON JÚNIOR; BALEOTTI JÚNIOR, 2007). Além disso, casos de DHRN e casos graves de doença hemolítica perinatal por anticorpos anti-M da classe IgG já foram relatados (CASTILHO, S. L., 1996).

Os anticorpos anti-S, anti-s e anti-U normalmente possuem significância clínica, por serem da classe IgG e imunes. Podem causar reações hemolíticas ou DHRN (CASTILHO, S. L., 1996; FABRON JÚNIOR; BALEOTTI JÚNIOR, 2007; NETO, 1998). Apresentam temperatura ótima de reação a 37ºC, sendo mais bem detectados nos testes que utilizam a antiglobulina humana (FABRON JÚNIOR; BALEOTTI JÚNIOR, 2007). Em indivíduos que produzem anti-U, as unidades compatíveis são raramente identificadas, pois não há doadores U negativos na raça branca e apenas 1% dos negros não contêm o antígeno (NETO, 1998).

1.9 SISTEMA LUTHERAN

O sistema sanguíneo Lutheran foi descrito pela primeira vez em 1945, compreendendo 20 diferentes antígenos de estrutura glicoprotéica. Seus aloanticorpos raramente possuem significância clínica, pois reações hemolíticas severas não têm sido documentadas na literatura. Apenas alguns exemplos de anti-Lu^b (anti Lutheran b) provocando uma destruição limitada de hemácias *in vivo* já foram encontrados e somente quatro casos de doença hemolítica do recém nascido foram descritos. No entanto, em todos os casos, a hemólise foi branda, pois os antígenos do sistema são fracamente expressos na membrana do feto e do recém nascido (YAHALOM et al., 2002).

1.10 SISTEMA DIEGO

O sistema Diego foi descrito por Layrisse e colaboradores, em 1955, através da descoberta do anticorpo anti-Di^a (anti-Diego a) em uma mulher venezuelana, cujo recém-nascido apresentou um quadro de doença hemolítica (COZAC, 2004; SILVA; JORGE; HIRTSCH, 2004). Já o antígeno Di^b foi descrito somente 11 anos mais tarde (FABRON JÚNIOR; BALEOTTI JÚNIOR, 2007). O sistema é formado principalmente por dois pares de antígenos independentes (Di^a/Di^b e Wr^a/Wr^b) e por outros 17 antígenos de menor expressão (COZAC, 2004; FABRON JÚNIOR; BALEOTTI JÚNIOR, 2007; SILVA; JORGE; HIRTSCH, 2004).

O antígeno Di^a (Diego a) possui uma baixa incidência entre caucasianos (apenas 0,01%), sendo mais frequente em índios americanos (36%), japoneses (12%), coreanos (6,4-14,5%) e chineses (5%) (COZAC, 2004; SILVA; JORGE; HIRTSCH, 2004). O anticorpo correspondente (anti-Di^a), produzido por pacientes que não possuem o antígeno, é da classe IgG e está normalmente envolvido em reações transfusionais e doenças hemolíticas perinatais, incluindo alguns casos severos, no último exemplo (SILVA; JORGE; HIRTSCH, 2004).

O anticorpo anti-Di^b (anti-Diego b) foi identificado em 1996 por Thompson, no soro de duas mexicanas multíparas com histórico transfusional. Tal descoberta possibilitou a identificação do respectivo antígeno (Di^b), que ocorre de forma universal em brancos e negros. O anticorpo anti-Di^b encontra-se relacionado a reações transfusionais tardias e DHRN brandas (COZAC, 2004).

Tanto o anti-Di^a quanto o anti-Di^b são imunes (classe IgG), sendo que ambos, ocasionalmente, fixam complemento. Podem ocorrer misturados a outros aloanticorpos ou isoladamente (FABRON JÚNIOR; BALEOTTI JÚNIOR, 2007).

O antígeno Wr^a possui baixa incidência, sendo descrito por Holmam em 1953. O anticorpo correspondente (anti-Wr^a) pode provocar reações transfusionais imediatas e tardias graves e DHRN (COZAC, 2004). Entretanto, a rara presença do antígeno Wr^a na população diminui a importância do aloanticorpo, cuja incidência, entretanto, é maior em mulheres com várias gestações e em pacientes com anemia hemolítica autoimune (FABRON JÚNIOR; BALEOTTI JÚNIOR, 2007). Já o anticorpo anti-Wr^b é pouco frequente, pois o fenótipo Wr^b negativo é raro na população (COZAC, 2004). No entanto, há na literatura vários relatos de ocorrência de autoanticorpos Wr^b (FABRON JÚNIOR; BALEOTTI JÚNIOR, 2007).

1.11 REAÇÃO DE COOMBS OU TESTE DA ANTIGLOBULINA

A Reação de Coombs (ou Teste da Antiglobulina) foi introduzida por meio de um estudo sobre anemias hemolíticas em 1945, com a finalidade de detectar tanto autoanticorpos quanto aloanticorpos antieritrocitários.

Quando um soro contendo anticorpos da classe IgG é colocado em contato com hemácias que contêm o antígeno correspondente, estas retêm as moléculas de IgG em sua superfície, tornando-se sensibilizadas. Juntando-se um soro anti-IgG a essas hemácias recobertas por esse tipo de imunoglobulina, elas se aglutinam. O soro anti-IgG, também conhecido como soro de Coombs, é obtido de coelhos sensibilizados com soro humano total ou frações protéicas.

O fenômeno descrito é a base do Teste ou Reação de Coombs, que é utilizada, por exemplo, para pesquisar a existência de anticorpos que circulam em gestantes sensibilizadas, em indivíduos aloimunizados contra diferentes antígenos eritrocitários, em pacientes com Anemia Hemolítica Autoimune (AHAI) ou ainda em recém-nascidos cujas hemácias possam estar sensibilizadas por anticorpos originários de suas mães. Quando são pesquisados anticorpos fixados diretamente à hemácia, o teste é denominado Coombs Direto. E no caso de pesquisa de anticorpos no soro, temos a Reação de Coombs Indireta, onde o soro do paciente é incubado com eritrócitos normais, os quais são posteriormente são lavados e, por fim, testados com o soro de Coombs (LORENZI, 2006). Na figura 2, temos um esquema da Reação de Coombs Indireta.

O Teste de Coombs permitiu uma importante melhora na segurança transfusional e possibilitou a descoberta de diversos antígenos eritrocitários (COZAC, 2009).

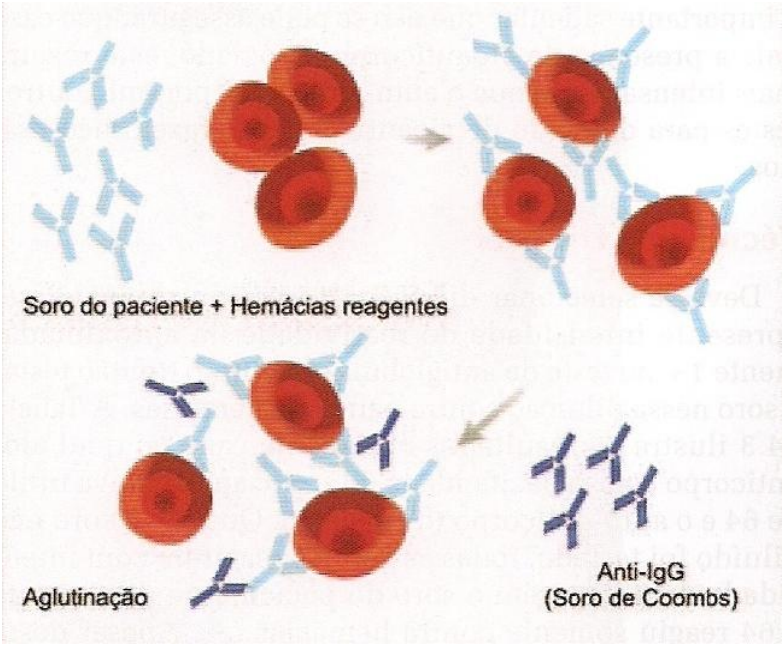


Figura 2 – Reação de Coombs Indireta.
Fonte: LANGHI JÚNIOR; OLIVATO, 2007.

1.12 TIPOS DE ANTICORPOS ANTIERITROCITÁRIOS

Os anticorpos antieritrocitários são divididos em regulares e irregulares. Os primeiros são de ocorrência esperada, desenvolvendo-se geralmente de forma natural após o nascimento. Como exemplos, podem ser citados: anti-A, anti-B e anti-AB, todos do sistema ABO (BAPTISTA-GONZÁLEZ et al., 1991; RUIZ et al., 2008).

Todavia, os anticorpos irregulares (objetivo do presente estudo), são de ocorrência não esperada na população, dividindo-se em naturais e imunes. Pertencem a todos os outros sistemas sanguíneos, fora do ABO (BAPTISTA-GONZÁLEZ et al., 1991).

2 JUSTIFICATIVA

Como demonstrado, alguns aloanticorpos irregulares antieritrocitários, produzidos em decorrência de uma aloimunização, geralmente não possuem importância clínica, por reagirem a baixas temperaturas. Eles podem apenas diminuir a eficácia da transfusão, não causando sinais clínicos de destruição eritrocitária (NOVARETTI, 2007). Como exemplos, podem ser citados anti-M e anti-N, do sistema MNS e a maioria dos aloanticorpos dos sistemas I, P e Lewis (CASTILHO, S. L., 1996; NETO, 1998; SERRANO, 1990). Tais aloanticorpos são de ocorrência natural (BAPTISTA-GONZÁLEZ et al., 1991; CASTILHO, S. L., 1996; GARCÍA GALA et al., 1994; NETO, 1998). Por reagirem a baixas temperaturas, na maioria dos casos, também são conhecidos como anticorpos frios (SERRANO, 1990).

No entanto, os aloanticorpos irregulares imunes (sistemas: Rh, Kell, Duffy, Kidd, Diego e outros), que surgem devido a transfusões sanguíneas ou gestações incompatíveis, possuem grande importância clinica, reagindo a 37ºC e causando hemólise dos eritrócitos estranhos (BORDIN; MOREIRA JÚNIOR, 1996; CASTILHO, L. M., 1996; LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007; MELO; SANTOS, 1996b; MELO; SANTOS, 1996c; NETO, 1998; NOVARETTI, 2007). Por reagirem a altas temperaturas, são também denominados anticorpos quentes (SERRANO, 1990).

Vários estudos têm demonstrado frequências variáveis de aloimunização eritrocitária em indivíduos cronicamente transfundidos (AMEEN et al., 2003; AYGUN et al., 2002; BLUMBERG et al., 1983; BLUMBERG et al., 1984; CASTRO et al., 2002; COLES; KLEIN; HOLLAND, 1981; COZAC, 2009; FLUIT; KUNST; DRENTHE-SCHONK, 1990; GARCÍA GALA et al., 1994; MARTINS et al., 2008; NATUKUNDA et al., 2010b; SCHONEWILLE; HAAK; VAN ZIJL; 1999; SINGER et al., 2000; SCHONEWILLE; VAN DE WATERING; BRAND, 2006).

A fenotipagem para determinados antígenos, como C, c, E, e (sistema Rh) e K (sistema Kell), por exemplo, tem sido bastante recomendada para a redução dos índices de sensibilização nesse grupo de pacientes, aumentando a eficácia da transfusão e a segurança transfusional (CASTRO et al., 2002; COZAC, 2009; FLUIT; KUNST; DRENTHE-SCHONK, 1990; GARCÍA GALA et al., 1994; MARTINS et al., 2008; SCHONEWILLE; VAN DE WATERING; BRAND, 2006; SINGER et al., 2000). Tal procedimento vem sendo realizado regularmente no Hemocentro Regional de Uberaba-MG (HRU) desde 1996, para

portadores de doenças que requerem transfusões crônicas, tais como: hemopatias malignas e hemoglobinopatias (MARTINS et al., 2008).

Com o aumento da expectativa de vida da população nos últimos anos, observa-se, proporcionalmente, o aumento de doenças crônico-degenerativas e de cirurgias que requerem transfusões sanguíneas. Consequentemente, vem-se observando uma maior frequência de aloanticorpos irregulares antieritrocitários nesses pacientes (REDMAN; REGAN; CONTRERAS, 1996; SANTOS et al., 2007; SCHONEWILLE; VAN DE WATERING; BRAND, 2006; SERRANO, 1990). Isso resulta, muitas vezes, em dificuldades na identificação de sangue compatível e mesmo em reações hemolíticas tardias (SANTOS et al., 2007; THAKRAL, 2008).

Todavia, a fenotipagem pré-transfusional, na maioria dos serviços, geralmente privilegia as hemopatias crônicas. Além disso, o número de estudos sobre aloimunização que incluem portadores de doenças agudas e/ou atendidos em emergências médicas, em comparação ao número de trabalhos realizados apenas em portadores de doenças crônicas, é pequeno (GARCÍA GALA et al., 1994; NATUKUNDA et al., 2010a; REDMAN; REGAN; CONTRERAS, 1996; SANTOS et al., 2007; SERRANO, 1990; THAKRAL et al., 2008; WALKER; LIN; HARTRICK, 1989); e trabalhos prospectivos que incluem exclusivamente esses indivíduos, como no presente estudo, são raros (REDMAN; REGAN; CONTRERAS, 1996; SANTOS et al., 2007).

Além disso, as investigações sobre aloimunização eritrocitária são realizadas, na maioria dos casos, apenas antes de um novo evento transfusional e não após um tempo estabelecido após a exposição antigênica. Como consequência, muitos aloanticorpos podem não ser descobertos, porque não há novas indicações transfusionais ou porque a maioria deles desaparece (SCHONEWILLE et al., 2006). Entretanto, no caso de uma transfusão futura, devido à memória imunológica, poderá ocorrer uma aloimunização secundária, bem mais rápida que a anterior (LANGHI JÚNIOR; PEREIRA, J. P. M.; PEREIRA, C. M., 2007; MELO, 2007; THAKRAL, 2008). E como previamente citado, a aloimunização secundária pode resultar em reação hemolítica tardia (LANGHI JÚNIOR; PEREIRA, J. P. M.; PEREIRA, C. M., 2007; SANTOS et al., 2007; THAKRAL, 2008).

Por fim, de 2005 a 2007, os aloanticorpos irregulares antieritrocitários foram relacionados à maioria das reações transfusionais hemolíticas fatais relatadas ao FDA (Food and Drug Administration), sendo a segunda principal causa de morte relacionada à transfusão (COZAC, 2009; POWERS et al., 2010).

Tais fatos motivaram a realização do trabalho, com a finalidade de verificar os índices

de sensibilização eritrocitária em pacientes portadores de doenças agudas e/ou atendidos em emergências médicas, que poderão ser candidatos a transfusões futuras, em decorrência da doença de base ou de processos crônico-degenerativos frequentes com o avançar da idade.

3 HIPÓTESES

As hipóteses levantadas para o presente estudo são:

1. A frequência de aloimunização eritrocitária em indivíduos portadores de doenças agudas e/ou atendidos em emergências médicas receptores de concentrados de hemácias é significante.
2. A maioria dos aloanticorpos produzidos por indivíduos portadores de doenças agudas e/ou atendidos em emergências médicas receptores de concentrados de hemácias possui significância clínica.
3. Há uma correlação entre aloimunização eritrocitária e alguma(s) das seguintes características: gênero, cor da pele, faixa etária, tipo sanguíneo, diagnóstico, histórico transfusional, número de transfusões recebidas, histórico gestacional, número de gestações e diferentes parceiros gestacionais.

4 OBJETIVOS

O objetivo geral do presente estudo foi pesquisar, identificar e avaliar a frequência de aloanticorpos irregulares antieritrocitários em portadores de doenças agudas (eventos hemorrágicos agudos relacionados a intercorrências diversas, como: hemorragia digestiva por úlcera gástrica ou duodenal, por neoplasias gástrica ou intestinal, miomatose uterina, perda pós-operatória, cirurgias etc.) e/ou atendidos em emergências médicas (ferimento por arma branca ou por arma de fogo, trauma, politrauma etc.) no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC-UFTM), que receberam transfusões de concentrados de hemácias.

Como objetivos específicos:

1. Distribuir as frequências dos indivíduos aloimunizados e não aloimunizados dentro das seguintes categorias: gênero, cor, faixa etária, tipo sanguíneo, tipo de doença aguda ou emergência médica que levou à indicação de transfusões, histórico transfusional, número de transfusões recebidas no HC-UFTM, histórico gestacional e número de gestações (no caso das mulheres).

2. No caso das mulheres aloimunizadas com histórico gestacional, verificar se as gestações foram do mesmo parceiro ou de parceiros diferentes.

3. Observar o tempo de surgimento dos aloanticorpos em cada paciente aloimunizado e o tempo de persistência dos mesmos, verificando também o título desses aloanticorpos a cada coleta.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras sanguíneas de indivíduos portadores de doenças agudas (eventos hemorrágicos agudos relacionados a intercorrências diversas, como: hemorragia digestiva por úlcera gástrica ou duodenal, por neoplasias gástrica ou intestinal, miomatose uterina, perda pós-operatória, cirurgias etc.) e/ou atendidos em emergências médicas (ferimento por arma branca ou por arma de fogo, politraumatismo etc.) no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC-UFTM), que receberam transfusões de concentrados de hemácias.

Os pacientes foram agrupados quanto ao tipo de doença e/ou emergência médica que determinou a sua internação e consequente transfusão em: Trauma 1 (politrauma), Trauma 2 (artroplastia, amputações), FAB ou FAF (ferimento por arma branca ou ferimento por arma de fogo), CAD (cirurgia do aparelho digestivo) e HACD (hemorragias agudas por causas diversas – úlceras gástricas, duodenais, parasitoses intestinais, epistaxe volumosa e outras). A fonte para se identificar o diagnóstico foram os prontuários dos próprios pacientes, disponíveis no HC-UFTM.

As coletas foram feitas por meio de punção venosa, após a obtenção da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice). Caso o sujeito não estivesse em condições de ser esclarecido e assinar o termo, isso foi feito por algum parente ou responsável pelo mesmo, autorizando a realização do procedimento.

O trabalho foi submetido e aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da UFTM (número de protocolo 1138) e da Fundação HEMOMINAS (número de registro 246).

As amostras obtidas foram centrifugadas, separando-se o soro dos elementos figurados do sangue. O soro foi então submetido ao Teste PAI (Pesquisa de Anticorpos Irregulares – Técnica 1) ou Teste de Coombs Indireto, realizado na técnica em tubo, com os reagentes DiaCell I e II (Laboratório DiaMed Latino America, de Lagoa Santa – MG) e os resultados positivos submetidos à identificação do(s) aloanticorpo(s) (Técnica 2), pela técnica ID-DiaPanel (Laboratório DiaMed Latino America, de Lagoa Santa – MG). Posteriormente, foi feita a titulação do(s) aloanticorpo(s) encontrado(s) (Técnica 3).

Técnica 1 - Pesquisa de Anticorpos Irregulares

Reagentes: DiaCell I e II* - DiaMed ®

Procedimento:

1) Rotular dois tubos de ensaio (I e II);
2) Acrescentar duas gotas ou 100 microlitros do soro a testar, em cada tubo;
3) Acrescentar uma gota (50 microlitros) do reagente DiaCell I* no tubo I e uma gota (50 microlitros) do reagente DiaCell II* no tubo II;
4) Homogeneizar;
5) Deixar de repouso por cinco minutos em temperatura de 18 a 25ºC;
6) Centrifugar por 10 a 15 segundos a 2000 RPM e realizar leitura;
7) Acrescentar quatro gotas ou 200 microlitros de LISS** em cada tubo;
8) Incubar em banho-maria por 15 minutos;
9) Centrifugar por 10 a 15 segundos a 2000 RPM e realizar nova leitura;
10) Lavar por três vezes com solução salina, centrifugando por um minuto a 4000 RPM em cada lavagem e, após a última lavagem, secar a boca dos tubos;
11) Acrescentar em cada tubo uma gota de anti-imunoglobulina humana+ ;
12) Centrifugar por 10 a 15 segundos a 2000 RPM, fazer a terceira leitura (macro e microscópica) e anotar os resultados. Em caso de aglutinação, a PAI foi considerada positiva, caso contrario foi negativa. Os graus de aglutinação das hemácias foram interpretados através de anotação por cruzes, variando de 1+ a 4+.

* DiaCell I e II (Figura 3): reagentes comerciais compostos por suspensão de hemácias a 5%, do grupo O positivo, constituídas, cada uma, por vários antígenos eritrocitários diferentes, informados em tabela específica (Anexo A).

** LISS: reagente de baixa força iônica – diminui a força iônica do meio de suspensão das hemácias, facilitando a sensibilização.

+ Anti-imunoglobulina humana (Figura 4): soro comercial, composto por anti-IgG (preparado em coelhos) e anti-C3d monoclonal. Possui a capacidade de provocar a aglutinação das hemácias, caso estejam recobertas por moléculas de IgG.

Figura 3 – Diacell I e II
Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG

Figura 4 – Anti-imunoglobulina humana
Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG

Técnica 2 - Identificação de Anticorpos Irregulares (IAI)

Reagentes: ID-DiaPanel cells - DiaMed-ID®

Procedimento:

Processo semelhante à Pesquisa de Anticorpos Irregulares, utilizando-se, porém, um painel de 11 hemácias diferentes, cada uma constituída por um diferente conjunto de antígenos. Durante a realização da leitura, os tubos foram comparados com o padrão fenotípico constante da tabela que acompanha os eritrócitos reagentes (Anexo B), para que fosse encontrada uma combinação de resultados que determinasse a possível especificidade do(s) aloanticorpo(s).

Técnica 3 - Titulação dos Aloanticorpos Identificados

Reagentes: DiaCell I e II - DiaMed-ID®

Procedimento:

1) Rotular 13 tubos de ensaio;
2) Acrescentar 100 microlitros do soro a ser titulado nos dois primeiros tubos;
3) Acrescentar 100 microlitros de soro fisiológico, a partir do 2º até o 13º tubo;
4) Retirar 100 microlitros do 2º tubo, transferindo para o 3º tubo e homogeneizar. Em seguida, retirar 100 microlitros do 3º tubo, transferindo para o 4º tubo e assim sucessivamente, deixando o último tubo na reserva. A diluição do tubo número 12 é de 1: 2048;
5) Acrescentar, em cada um dos 12 tubos, 50 microlitros de hemácias DiaCell I, DiaCell II ou DiaCell I + II (dependendo da presença de aglutinação observada na PAI);
6) Homogeneizar;
7) Deixar de repouso por cinco minutos em temperatura de 18 a 25ºC;
8) Centrifugar por 10 a 15 segundos a 2000 RPM e realizar leitura;
9) Acrescentar quatro gotas ou 200 microlitros de LISS em cada tubo;
10) Incubar em banho-maria por 15 minutos;
11) Centrifugar por 10 a 15 segundos a 2000 RPM e realizar a segunda leitura;
12) Lavar por três vezes com solução salina, centrifugando por um minuto a 4000 RPM em cada lavagem e, após a última lavagem, secar a boca dos tubos;
13) Acrescentar em cada tubo uma gota (50 microlitros) de anti-imunoglobulina humana;
14) Centrifugar, fazer a terceira leitura (macro e microscópica) e anotar os resultados.

Para a confirmação da presença de aloanticorpos antieritrocitários reativos na fase de anti-imunoglobulina humana, em amostras com resultado positivo na técnica em tubo, tanto a PAI como a titulação foram novamente realizadas, utilizando a técnica em Cartão ID-LISS/Coombs (Laboratório DiaMed Latino America, Lagoa Santa – MG) (Figura 5), com os reagentes ID-Diacell I e II (Laboratório DiaMed Latino America, Lagoa Santa – MG) (Figura 6), de acordo com Técnicas 4 e 5 descritas adiante.

Figura 5 – Cartão ID-Diacell LISS/Coombs
Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG

Figura 6 – ID-Diacell I e II
Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG

Técnica 4 – Pesquisa de Anticorpos Irregulares (Cartão ID-LISS/Coombs)

Reagentes ID-DiaCell I e II - DiaMed-ID®

Procedimento:

1) Rotular dois microtubos do Cartão ID-LISS/Coombs (I e II);
2) Acrescentar uma gota (50 microlitros) do reagente ID-DiaCell I* no microtubo I e uma gota (50 microlitros) do reagente ID-DiaCell II* no microtubo II;
3) Acrescentar 25 microlitros do soro a testar em cada um dos microtubos;
4) Incubar a 37ºC por 15 minutos;
5) Centrifugar por 10 minutos a 1030 RPM;
6) Fazer leitura e anotar os resultados. Em caso de aglutinação, a PAI foi considerada positiva, caso contrário, foi negativa. Os graus de aglutinação das hemácias foram interpretados através de anotação por cruzes, variando de 1+ a 4+.

* ID-DiaCell I e II: reagentes comerciais compostos por suspensão de hemácias a 0,8%, do grupo O positivo, constituídas, cada uma, por vários antígenos eritrocitários diferentes, informados em tabela específica (Anexo C).

Obs.: A técnica não requer a adição do soro anti-imunoglobulina humana, pois o Cartão ID-LISS/Coombs já contém o referido soro suspenso no gel.

Técnica 5 - Titulação dos Anticorpos Identificados (Cartão ID-LISS/Coombs)

Reagentes: ID-DiaCell I e II - DiaMed-ID®

Procedimento:

1) Rotular 13 tubos de ensaio;
2) Acrescentar 100 microlitros do soro a ser titulado nos dois primeiros tubos;
3) Acrescentar 100 microlitros de soro fisiológico, a partir do 2º até o 13º tubo;
4) Retirar 100 microlitros do 2º tubo, transferindo para o 3º tubo e homogeneizar. Em seguida, retirar 100 microlitros do 3º tubo, transferindo para o 4º tubo e assim sucessivamente, deixando o último tubo na reserva. A diluição do tubo número 12 é de 1: 2048;
5) Rotular 12 microtubos do Cartão ID-LISS/Coombs;
6) Acrescentar, em cada um dos 12 microtubos, 50 microlitros de hemácias ID-DiaCell I, ID-DiaCell II ou ID-DiaCell I + II (dependendo da presença de aglutinação observada na PAI);
7) Acrescentar no primeiro microtubo 25 microlitros do soro diluído em 1:1. Em seguida, acrescentar no segundo microtubo 25 microlitros do soro diluído em 1:2 e assim sucessivamente, até acrescentar, no último microtubo, 25 microlitros do soro diluído em 1:2048;
8) Incubar a 37ºC por 15 minutos;
9) Centrifugar por 10 minutos a 1030 RPM;
10) Fazer leitura e anotar os resultados.

O teste PAI (Pesquisa de Anticorpos Irregulares) ou Teste de Coombs Indireto, bem como a titulação dos aloanticorpos, foram realizados no Laboratório de Imunohematologia do Hemocentro Regional de Uberaba-MG (HRU)/Fundação HEMOMINAS, enquanto a IAI

(Identificação de Anticorpos Irregulares) foi feita pelo Laboratório de Imunohematologia do Hemocentro de Belo Horizonte.

Em um banco de dados foram registradas as seguintes informações: iniciais e RG hospitalar do paciente, gênero, idade, cor da pele, tipo sanguíneo, tipo de doença aguda ou emergência médica, histórico transfusional e número de transfusões, histórico gestacional, número de gestações e número de parceiros gestacionais (no caso das mulheres), resultado da PAI e aloanticorpo(s) encontrado(s).

A pesquisa foi repetida mensalmente, por até seis meses após as transfusões e aqueles com resultados positivos foram novamente avaliados a cada três ou seis meses, para o acompanhamento da elevação ou queda do(s) título(s) do(s) aloanticorpo(s) encontrado(s), sendo que o número de coletas de cada indivíduo foi de no máximo sete.

A inclusão dos pacientes no estudo foi feita em duas etapas, sendo a primeira de julho a dezembro de 2008 e a segunda de julho a setembro de 2009. A primeira coleta de todos os indivíduos foi realizada pelo Serviço de Prova Cruzada do HRU, pouco antes das transfusões realizadas no HC-UFTM. As coletas subsequentes obedeceram duas sistemáticas diferentes. Os pacientes cujas primeiras amostras foram obtidas entre julho e dezembro de 2008 foram convocados a comparecer ao HRU, procurando coincidir tal comparecimento ao agendamento de seu retorno aos ambulatórios do HC-UFTM e o período de coleta se estendeu até junho/2009. Neste grupo, o intervalo de tempo entre a transfusão e a segunda coleta variou de um a seis meses, pois alguns pacientes levaram mais tempo para serem localizados e/ou retornarem à consulta, geralmente por residirem em cidades distantes de Uberaba. Já naqueles da segunda etapa (julho a setembro/2009), a segunda coleta foi feita, sempre que possível, antes de sua alta hospitalar e/ou agendados, no caso de alta precoce. As coletas posteriores foram também agendadas, preferencialmente no dia de seus retornos subsequentes aos ambulatórios do HC-UFTM, sendo que o intervalo entre a(s) transfusão (ões) e a primeira coleta subsequente variou de poucos dias a seis meses.

Para os objetivos específicos 1 e 2, a análise estatística foi feita por meio do software R, com o Teste Qui-quadrado e, quando este não era adequado, o Teste Exato de Fisher. O objetivo 3 foi analisado somente a partir de uma análise descritiva. O nível de significância para os testes realizados foi de 5% (MOORE, 2000). Os resultados foram posteriormente comparados aos relatos da literatura.

6 RESULTADOS

No período de julho de 2008 a março de 2010 foram coletadas amostras sanguíneas de 181 pacientes portadores de doenças agudas e/ou atendidos em emergências médicas internados no Hospital de Clínicas da UFTM (HC-UFTM), que receberam transfusões de concentrados de hemácias. Desse total, 17 (9,4%) apresentaram Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI) positiva (Figura 7).

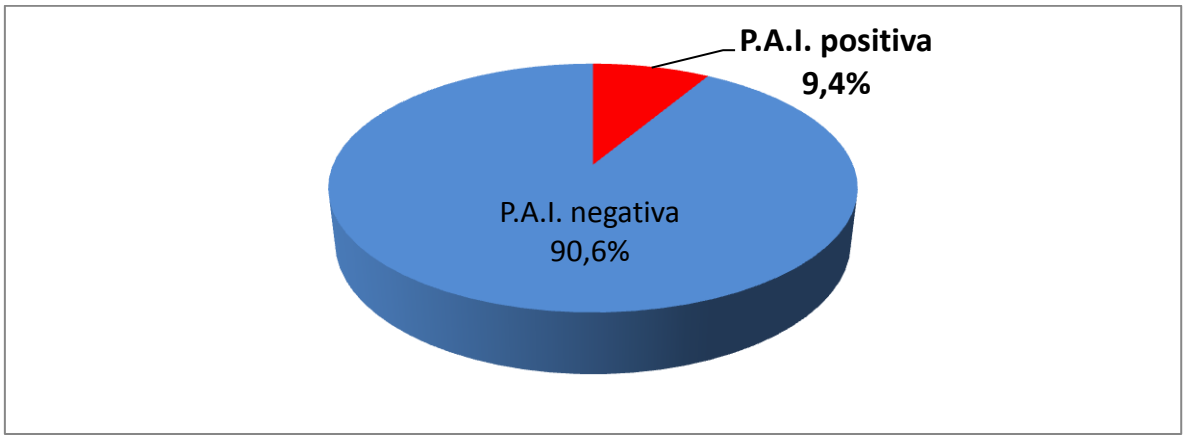


Figura 7 - Distribuição de 181 pacientes internados no HC-UFTM que receberam transfusões de concentrados de hemácias, segundo o resultado da PAI; Uberaba, 2008 a 2010.
Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG.

Entretanto, dos 17 indivíduos aloimunizados, dois (11,76%) apresentaram PAI positiva antes da primeira transfusão no hospital, enquanto 15 (88,24%) desenvolveram aloanticorpos após as transfusões.

Dentre os aloimunizados, 13 (76,47%) apresentaram aloanticorpos isolados e quatro (23,53%) desenvolveram mais de um aloanticorpo (Figura 8).

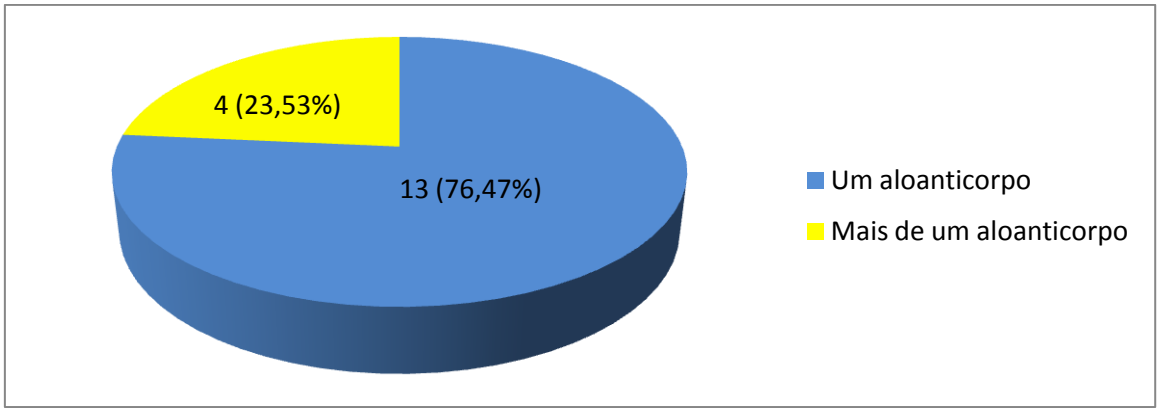


Figura 8 – Distribuição dos pacientes aloimunizados que receberam transfusões de concentrados de hemácias no HC-UFTM, segundo o número de aloanticorpos desenvolvidos; Uberaba, 2008 a 2010.
Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG.

Quanto aos tipos dos aloanticorpos encontrados, seis pacientes (35,29%) desenvolveram anti-K, sendo quatro (23,53%) de forma isolada e dois (11,76%) associados a outros anticorpos. Aloanticorpos do sistema Rh foram encontrados também em seis indivíduos (35,29%), sendo três isoladamente (17,65%) e três (17,65%) associados a outros anticorpos deste e/ou de outros sistemas. Seis pacientes (35,29%) apresentaram aloanticorpos frios não identificados (isoladamente) (Figura 9).

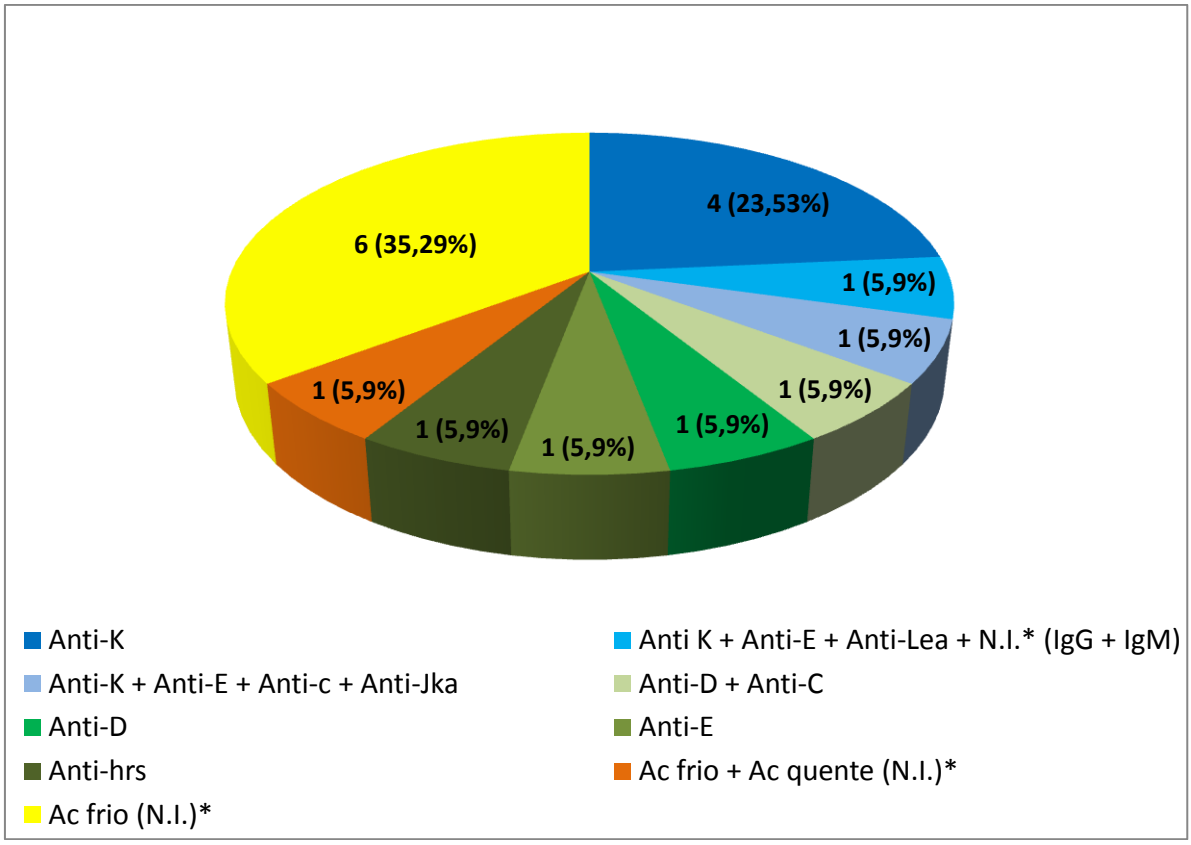


Figura 9 – Distribuição dos pacientes aloimunizados que receberam transfusões de concentrados de hemácias no HC-UFTM, segundo o tipo de aloanticorpo encontrado; Uberaba 2008 a 2010.
*N.I. (Não identificados)
Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG.

Os 181 pacientes estudados (17 aloimunizados e 164 não aloimunizados) foram analisados agrupadamente quanto ao gênero, faixa etária e cor da pele; ao tipo de doença e/ou emergência médica; ao tipo sanguíneo; ao histórico transfusional e número de transfusões; ao histórico gestacional, número de gestações e ocorrência ou não de diferentes parceiros gestacionais; ao tempo para aloimunização e quanto ao título dos aloanticorpos encontrados.

6.1 GÊNERO, FAIXA ETÁRIA E COR DA PELE DOS PACIENTES

Quanto ao sexo, 96 (53,04%) indivíduos eram do gênero masculino e 85 (46,96%) do feminino. Dentre os aloimunizados, nove (52,94%) eram homens e oito (47,06%) eram mulheres, enquanto dos não aloimunizados os percentuais foram de 53,05% e 46,95%, respectivamente, não sendo observada diferença estatisticamente significante entre os gêneros (Teste Qui-quadrado; p = 0.9932) (Tabela 2).

Analisando a faixa etária dos pacientes estudados, 77 (42,54%) tinham entre 18 e 49 anos, 69 (38,12%) entre 50 a 69 anos e 35 (19,34%) tinham idade igual ou superior a 70 anos. Dentre os aloimunizados, 47,06% tinham entre 50 a 69 anos, enquanto 42,68% dos não aloimunizados tinham entre 18 a 49 anos. Apesar da maior concentração dos aloimunizados na faixa etária intermediária (50 a 69 anos), não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos (Teste Qui-quadrado; p = 0.6195) (Tabela 2).

Quanto à cor da pele dos pacientes avaliados, 104 (57, 46%) eram da cor branca, 57 (31,49%) da cor parda e 20 (11,05%) da cor negra. Dos aloimunizados, oito (47,06%) eram brancos, oito (47,06%) eram pardos e um (5,88%) da cor negra, enquanto nos não aloimunizados estes percentuais foram de 58,54%, 29,89% e 11,59%, respectivamente. Não foi observada diferença estatisticamente significante entre os dois grupos (Teste Qui-quadrado; p = 0.3246) (Tabela 2).

Tabela 2 - Distribuição de 181 pacientes internados no HC-UFTM que receberam transfusões de concentrados de hemácias, segundo gênero, faixa etária e cor da pele; Uberaba, 2008 a 2010.

Gênero	**Aloimunizados**	**Não aloimunizados**	**Valor de p**
Masculino	09 (52,94%)	87 (53,05%)	
Feminino	08 (47,06%)	77 (46,95%)	
Total	**17 (100,00%)**	**164 (100,00%)**	χ^2 = 7.160E-05; p = 0.9932
Faixa etária			
18 a 49 anos	07 (41,18%)	70 (42,68%)	
50 a 69 anos	08 (47,06%)	61 (37,19%)	
≥ 70 anos	02 (11,76%)	33 (20,12%)	
Total	**17 (100,00%)**	**164 (100,00%)**	χ^2 = 0.9577; p = 0.6195
Cor da pele			
Brancos	08 (47,06%)	96 (58,54%)	
Pardos	08 (47,06%)	49 (29,89%)	
Negros	01 (5,88%)	19 (11,59%)	
Total	**17 (100,00%)**	**164 (100,00%)**	χ^2 = 2.250; p = 0.3246

Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG.

χ^2 - Teste Qui-quadrado

6.2 TIPO DE DOENÇA OU EMERGÊNCIA MÉDICA

Verificando o tipo de doença dos indivíduos estudados, observamos que 47 (25,97%) foram internados com Trauma 1 (politrauma), oito (4,42%) com Trauma 2 (artroplastia ou amputações), seis (3,31%) com FAB ou FAF (ferimento por arma branca ou ferimento por arma de fogo), 20 (11,05%) com doenças oncológicas, 22 (12,15%) para cirurgia cardíaca, 14 (7,73%) para CAD (cirurgia do aparelho digestivo), 16 (8,84%) com HACD (hemorragias agudas por causas diversas), 16 (8,84%) com doenças ginecológicas ou obstetrícia e 32 (17,68%) com outras doenças e/ou intercorrências médicas.

Dentre os aloimunizados, três (17,65%) sofreram politrauma, três (17,65%) eram portadores de doenças oncológicas, três (17,65%) apresentaram hemorragias agudas por causas diversas, dois (11,76%) foram submetidos à cirurgia cardíaca, dois (11,76%) à cirurgia do aparelho digestivo, um (5,88%) à artroplastia de quadril e um (5,88%) sofreu ferimento por arma branca. Dos não aloimunizados, a maior parte (26,83%) sofreu politrauma, enquanto apenas 3,05% apresentaram ferimento por arma branca ou por arma de fogo. Ao compararmos aloimunizados e não aloimunizados, não foi observada diferença estatisticamente significante (Teste Exato de Fisher; $p = 0.4869$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Distribuição de 181 pacientes internados no HC-UFTM que receberam transfusões de concentrados de hemácias, segundo o tipo de doença ou emergência médica; Uberaba, 2008 a 2010.

Tipo de doença ou emergência médica	**Aloimunizados**	**Não aloimunizados**	**Valor de p**
Trauma 1*	03 (17,65%)	44 (26,83%)	
Trauma 2**	01 (5,88%)	07 (4,27%)	
FAB ou FAF+	01 (5,88%)	05 (3,05%)	
Doenças Oncológicas	03 (17,65%)	17 (10,37%)	
Cirurgia Cardíaca	02 (11,76%)	20 (12,19%)	
CAD++	02 (11,76%)	12 (7,32%)	
HACD§	03 (17,65%)	13 (7,93%)	
Ginecologia e Obstetrícia	00 (0,00%)	16 (9,76%)	
Outras	02 (11,76%)	30 (18,29%)	
Total	**17 (100,00%)**	**164 (100,00%)**	Teste Exato de Fisher; p = 0.4869

Fonte: Hospital de Clínicas da UFTM.
*Trauma 1: Politrauma.
**Trauma 2: Artroplastia, Amputações.
+FAB ou FAF: Ferimento por arma branca ou ferimento por arma de fogo
++CAD: Cirurgia do aparelho digestivo
§HACD: Hemorragias agudas por causas diversas (úlceras gástricas, duodenais, parasitoses intestinais, epistaxe volumosa e outras)

6.3 TIPO SANGUÍNEO

Quanto ao tipo sanguíneo, 69 pacientes (38,12%) eram O positivo, 12 (6,63%) O negativo, 55 (30,39%) A positivo, 13 (7,18%) A negativo, 20 (11,05%) B positivo, quatro (2,21%) B negativo e oito (4,42%) eram AB positivo.

Dentre os aloimunizados, o mais frequente foi o O positivo, em seis pacientes (35,29%), seguido pelo A positivo, em cinco pacientes (29,41%). Dos não aloimunizados, os tipos sanguíneos mais frequentes também foram o O positivo (38,41%) e A positivo (30,49%), não havendo diferença estatisticamente significante entre os dois grupos de pacientes (Teste Exato de Fisher; p = 0.4235) (Tabela 4).

Tabela 4 - Distribuição de 181 pacientes internados no HC-UFTM que receberam transfusões de concentrados de hemácias, segundo o tipo sanguíneo; Uberaba, 2008 a 2010.

Tipo sanguíneo	**Aloimunizados**	**Não aloimunizados**	**Valor de p**
O positivo	06 (35,29%)	63 (38,41%)	
O negativo	03 (17,65%)	09 (5,49%)	
A positivo	05 (29,41%)	50 (30,49%)	
A negativo	00 (0,00%)	13 (7,93%)	
B positivo	03 (17,65%)	17 (10,37%)	
B negativo	00 (0,00%)	04 (2,44%)	
AB positivo	00 (0,00%)	08 (4,88%)	
AB negativo	00 (0,00%)	00 (0,00%)	
Total	**17 (100,00%)**	**164 (100,00%)**	Teste Exato de Fisher; p = 0.4235

Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG.

6.4 HISTÓRICO TRANSFUSIONAL E NÚMERO DE TRANSFUSÕES NO HC-UFTM

Do total de pacientes estudados, 38 (20,99%) tinham histórico transfusional, enquanto 139 (76,80%) não haviam recebido transfusões previamente. Em quatro indivíduos (2,21%), não foi possível obter essa informação.

Dentre os aloimunizados, 11 (64,71%) não haviam recebido transfusões prévias, cinco (29,41%) receberam transfusões de concentrados de hemácias antes de serem internados no HC-UFTM e um paciente (5,88%) não soube informar. Dos não aloimunizados, 20,12% tinham antecedente transfusional, não havendo diferença estatisticamente significante entre os dois grupos (Teste Qui-quadrado; p = 0.3438).

Quanto ao número de transfusões de concentrados de hemácias no HC-UFTM, 113 pacientes (62,43%) receberam de uma a três transfusões, 59 (32,60%) de quatro a 10 e nove (4,97%) receberam mais de 10 transfusões.

Dos aloimunizados, sete (41,18%) receberam até três transfusões, sete (41,18%) receberam de quatro a 10 e três (17,65%) receberam mais de 10 transfusões. Dentre os não aloimunizados, estes percentuais foram, respectivamente, 64,63%, 31,71% e 3,66%. Comparando aloimunizados e não aloimunizados, observamos uma diferença estatisticamente significante (Teste Qui-quadrado; p = 0.0198) (Tabela 5).

Tabela 5 - Distribuição de 181 pacientes internados no HC-UFTM que receberam transfusões de concentrados de hemácias, segundo histórico transfusional e número de transfusões. Uberaba, 2008 a 2010.

Histórico transfusional	**Aloimunizados**	**Não aloimunizados**	**Valor de p**
Sim	05 (29,41%)	33 (20,12%)	
Não	11 (64,71%)	128 (78,05%)	
Não identificado	01 (5,88%)	03 (1,83%)	
Total	**17 (100,00%)**	**164 (100,00%)**	χ^2 = 2.135; p = 0.3438
Número de transfusões			
1 a 3	07 (41,18%)	106 (64,63%)	
4 a 10	07 (41,18%)	52 (31,71%)	
> 10	03 (17,65%)	06 (3,66%)	
Total	**17 (100,00%)**	**164 (100,00%)**	χ^2 = 7.843; p = 0.0198

Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG.
χ^2 - Teste Qui-quadrado

6.5 HISTÓRICO GESTACIONAL, NÚMERO DE GESTAÇÕES E DIFERENTES PARCEIROS GESTACIONAIS

Das 85 mulheres estudadas, 76 (89,41%) tiveram histórico gestacional e nove (10,59%) não tiveram gestações.

Das aloimunizadas, cinco (62,50%) apresentaram histórico gestacional, enquanto três (37,50%) não tiveram gestações. Dentre as não aloimunizadas, a grande maioria (92,21%) teve antecedentes gestacionais, enquanto apenas 7,79% não referiram gestações prévias. Ao compararmos aloimunizadas e não aloimunizadas, houve uma diferença estatisticamente significante (Teste Exato de Fisher; p = 0,0358).

Quanto ao número de gestações das mulheres com histórico gestacional, 38 (50,00%) tiveram de uma a três gestações, 36 (47,37%) tiveram de quatro a 10 e duas (2,63%) tiveram mais de 10 gestações.

Dentre as aloimunizadas, duas (40%) tiveram até três gestações e três (60%) tiveram de quatro a 10 gestações. Das não aloimunizadas, 36 (50,70%) tiveram até três gestações, 33 (46,48%) de quatro a 10 e duas (2,82%) tiveram mais de 10 gestações. Não foi observada

diferença estatisticamente significante entre aloimunizadas e não aloimunizadas (Teste Exato de Fisher; p = 0.7123).

Dentre as 76 mulheres com histórico gestacional, 59 (77,63%) tiveram gestações do mesmo parceiro e 17 (9,39%) de parceiros diferentes.

Duas aloimunizadas (40%) tiveram gestações de parceiros diferentes, enquanto nas não aloimunizadas esse percentual foi de apenas 21,13%. No entanto, ao compararmos os dois grupos, não encontramos diferença estatisticamente significante (Teste Exato de Fisher; p = 0.3102) (Tabela 6).

Tabela 6 - Distribuição de 85 mulheres internadas no HC-UFTM que receberam transfusões de concentrados de hemácias, segundo histórico gestacional, número de gestações e parceiros gestacionais; Uberaba, 2008 a 2010.

Histórico gestacional	**Aloimunizadas**	**Não aloimunizadas**	**Valor de p**
Sim	05 (62,50%)	71 (92,21%)	
Não	03 (37,50%)	06 (07,79%)	
Total	**08 (100,00%)**	**77 (100,00%)**	Teste Exato de Fisher; p = 0.0358
Número de gestações			
1 a 3	02 (40,00%)	36 (50,70%)	
4 a 10	03 (60,00%)	33 (46,48%)	
> 10	00 (0,00%)	02 (2,82%)	
Total	**05 (100,00%)**	**71 (100,00%)**	Teste Exato de Fisher; p = 0.7123
Parceiros gestacionais			
Mesmo parceiro	03 (60,00%)	56 (78,87%)	
Parceiros diferentes	02 (40,00%)	15 (21,13%)	
Total	**05 (100,00%)**	**71 (100,00%)**	Teste Exato de Fisher; p = 0.3102

Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG.

6.6 TEMPO PARA ALOIMUNIZAÇÃO

Verificando o tempo para aloimunização, dois pacientes (11,76%) já apresentavam a Pesquisa de Aloanticorpos Irregulares (PAI) positiva antes da primeira transfusão no HC-UFTM. Um paciente (5,9%) teve seu aloanticorpo identificado em quatro dias após a

transfusão; um (5,9%) aos 15 dias; em três indivíduos (17,65%) a aloimunização foi detectada aos três meses e em dez pacientes (58,82%), aos seis meses após a transfusão (Figura 10).

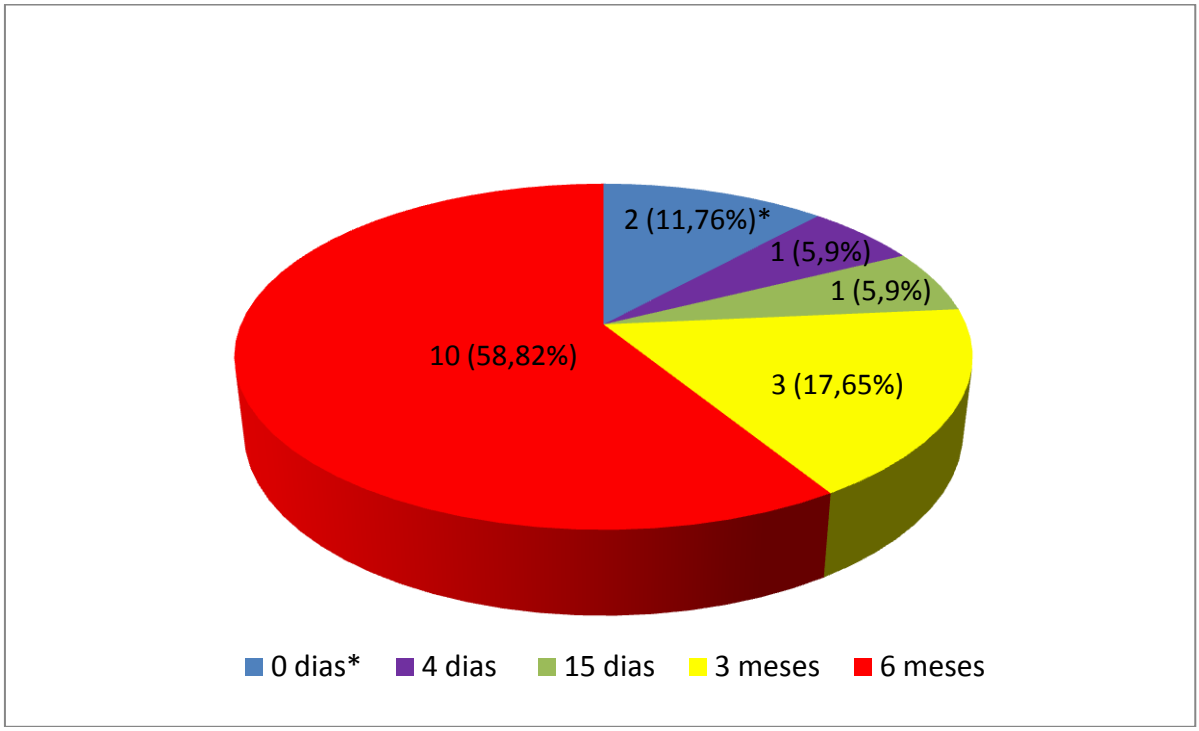


Figura 10 – Distribuição dos pacientes aloimunizados que receberam transfusões de concentrados de hemácias no HC-UFTM, segundo o tempo para aloimunização; Uberaba, 2008 a 2010.
Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG.
***** P.A.I. positiva antes da primeira transfusão.

6.7 TÍTULOS DOS ALOANTICORPOS

A Tabela 7 explicita o comportamento sorológico dos 17 pacientes aloimunizados. O título mais alto encontrado foi de 1:32 (anti-K – paciente 5), ocorrendo queda em 16 indivíduos. Dentre os 15 pacientes que desenvolveram aloanticorpos após as transfusões no HC-UFTM, verificou-se que em nove (60%) deles a PAI se tornou negativa em no máximo 15 meses. Não houve declínio apenas no paciente 12, onde o título de 1:2 se manteve inalterado por 12 meses.

Em dois indivíduos (7 e 10), a titulação foi realizada uma única vez, pois os mesmos vieram a óbito após a última coleta. Foi observado pelo Serviço de Prova Cruzada do Hemocentro Regional de Uberaba (HRU) que os pacientes 8 e 9 já possuíam aloanticorpos

antes da primeira transfusão no HC-UFTM. O paciente 9, no entanto, não pode ser titulado, pois permaneceu isolado no C.T.I. (Centro de Terapia Intensiva) do HC-UFTM, onde o acesso é restrito, vindo a óbito sete dias após sua última transfusão. O paciente 11 também permaneceu isolado no C.T.I., apresentando P.A.I. positiva 15 dias após a primeira transfusão. Seis meses depois, foi localizado e convocado para o HRU, sendo realizada a primeira titulação (Tabela 7).

Tabela 7 - Distribuição dos pacientes aloimunizados que receberam transfusões de concentrados de hemácias no HC-UFTM, segundo os títulos dos aloanticorpos; Uberaba, 2008 a 2010.

Paciente	**Antes das transfusões**	**4 dias**	**15 dias**	**3 meses**	**6 meses**	**9 meses**	**12 meses**	**15 meses**
1	Neg.	**	**	Anti-D (1:4)	Anti-D (1:4)	Anti-D (1:2)	Anti-D (1:1)	Neg.
2	Neg.	**	**	Anti-K (1:8)	**	Anti-K (1:8)	Anti-K (1:1)	Neg.
3	Neg.	**	**	Neg.	Anti-K (1:4)	Anti-K (1:1)	Neg.	
4	Neg.	**	**	Neg.	Ac frio (N.I.)* (1:2)	Ac frio (N.I.)* (1:1)	Neg.	
5	Neg.	**	**	**	Anti-K (1:32)	Anti-K (1:2)	Neg.	
6	Neg.	**	**	**	Anti-K, Anti-E, Anti-Le[a] + N.I.* (1:16)	Anti-K, Anti-E, Anti-Le[a] + N.I.* (1:4)	Anti-K, Anti-E, Anti-Le[a] + N.I.* (1:2)	Anti-K, Anti-E, Anti-Le[a] + N.I.* (1:2)
7***	Neg.	**	**	Anti-hrs (1:2)				
8	Anti-K, Anti-E, Anti-c, Anti-Jk[a] (não titulados)	Anti-K, Anti-E, Anti-c, Anti-Jk[a] (1:2)	**	Anti-K, Anti-E, Anti-c, Anti-Jk[a] (1:1)	Neg.			
9***	Anti-D, Anti-C (não titulados)							

Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG.
***N.I.: Não identificado (s)**
****Não pesquisado**
*****Óbito após última coleta**

Tabela 7 (continuação) - Distribuição dos pacientes aloimunizados que receberam transfusões de concentrado de hemácias no HC-UFTM, segundo os títulos dos aloanticorpos; Uberaba, 2008 a 2010.

Paciente	**Antes das transfusões**	**4 dias**	**15 dias**	**3 meses**	**6 meses**	**9 meses**	**12 meses**	**15 meses**
10***	Neg.	Ac frio, Ac quente (N.I.)* (1:4)						
11	Neg.	Neg.	Anti-E (não titulado)	**	Anti-E (1:16)	**	Anti-E (1:4)	**
12	Neg.	**	**	**	Anti-K (1:2)	Anti-K (1:2)	Anti-K (1:2)	**
13	Neg.	**	Neg.	Neg.	Ac frio (N.I.)* (1:1)	Neg.		
14	Neg.	**	Neg.	Neg.	Ac frio (N.I.)* (1:2)	Neg.		
15	Neg.	**	Neg.	Neg.	Ac frio (N.I.)* (1:2)	**	Neg.	
16	Neg.	**	**	**	Ac frio (N.I.)* (1:2)	Neg.		
17	Neg.	**	**	Neg.	Ac frio (N.I.)* (1:2)	**	**	**

Fonte: Hemocentro Regional de Uberaba-MG.
***N.I.: Não identificado (s)**
****Não pesquisado**
*****Óbito após última coleta**

7 DISCUSSÃO

A aloimunização contra antígenos eritrocitários é um problema cada vez mais comum em receptores de concentrados de hemácias, inclusive nos pacientes transfundidos de forma não crônica. Como grande parte desses aloanticorpos possui significância clínica, há um interesse cada vez maior em pesquisar índices de aloimunização eritrocitária também nesses indivíduos, que podem receber novas transfusões no futuro, como consequência de cirurgias ou de processos crônico-degenerativos frequentes com o crescente aumento da expectativa de vida da população (REDMAN; REGAN; CONTRERAS, 1996; SANTOS et al., 2007).

No presente estudo, ao realizarmos o teste PAI (Pesquisa de Anticorpos Irregulares) em 181 receptores de concentrado de hemácias, portadores de doenças agudas e/ou atendidos em emergências médicas, encontramos, no total, 17 pacientes aloimunizados (9,4%).

Porém, dentre os aloimunizados, dois (11,76%) apresentaram P.A.I. positiva antes da primeira transfusão no Hospital de Clínicas da UFTM (HC-UFTM), enquanto quinze indivíduos (88,24%) desenvolveram aloanticorpos somente após as transfusões no HC-UFTM. Podemos dizer, desse modo, que a verdadeira frequência de indivíduos com aloimunização primária ou que sofreram uma reativação (aloimunização secundária) em nosso estudo foi de 8,29%, excluindo assim os dois pacientes que mantinham níveis de anticorpos desenvolvidos em aloimunizações pregressas.

Destes últimos, um (paciente 8 – Tabela 7) era do gênero feminino, com 55 anos de idade, cor parda e tipo sanguíneo O positivo. Apresentou histórico de nove gestações, todas do mesmo parceiro. Além disso, teve duas transfusões prévias, sendo a primeira há três anos e a segunda três meses antes, sendo que esta também ocorreu no HC-UFTM. Nesta segunda transfusão, a PAI pré-transfusional realizada pelo Serviço de Prova Cruzada do Hemocentro Regional de Uberaba (HRU) foi positiva, sendo identificados os aloanticorpos anti-K + anti-E + anti-c + anti-Jk^a. Posteriormente, em seu último episódio transfusional, ao ser submetida à cirurgia oncológica, recebeu três bolsas de concentrados de hemácias, com a PAI pré-transfusional sendo novamente positiva, sendo identificados os mesmos aloanticorpos. Quatro dias depois, foi feita a primeira titulação, com título de 1:2. Após seis meses, verificou-se que a PAI se tornou negativa, tanto em tubo como em cartão LISS/Coombs.

O segundo (paciente 9 – Tabela 7), era do gênero masculino, com 59 anos de idade, cor branca e tipo sanguíneo O negativo, com diagnóstico de angiodisplasia de cólon, hepatopatia alcoólica aguda e enterorragia franca. Apresentou os aloanticorpos anti-D + anti-

C, ambos antes das transfusões no HC-UFTM. Quanto ao histórico transfusional, não foi possível obter informações em decorrência das condições clínicas do paciente. Além disso, os familiares que o acompanhavam não souberam prestar tal informação. O paciente permaneceu isolado no C.T.I. (Centro de Terapia Intensiva) do HC-UFTM, recebendo quatro bolsas de concentrados de hemácias, tendo evoluído para o óbito no sétimo dia de internação, sem titulação dos aloanticorpos. Como previamente citado, associações do tipo anti-D + anti-C (como no paciente avaliado) são frequentes em indivíduos aloimunizados (CASTILHO, 2007).

No presente estudo, há um fator muito importante que merece ser citado. Dos 164 indivíduos com PAI negativa, 36 (21,95%) vieram a óbito, abandonaram a pesquisa ou não foram mais localizados logo após a primeira ou segunda coleta, sendo que o tempo decorrido entre a transfusão e a última coleta, nesses pacientes, foi de no máximo três meses. Considerando os estudos de Cozac (2009), mostrando que o tempo médio para que a aloimunização ocorra, após a transfusão de concentrado de hemácias, é em torno de três a quatro meses e o de Schonewille et al. (2006), de que a maioria dos anticorpos se desenvolve por volta de três a seis meses após a transfusão, não podemos eliminar a possibilidade de que algum destes 36 pacientes não se tornou ou tornaria aloimunizado. Além disso, há vários fatores que podem contribuir para falha na detecção dos anticorpos, como baixo título do anticorpo em questão e ausência de expressão de antígenos de baixa incidência nas células de triagem (COZAC, 2009).

O percentual de aloimunizados em nosso trabalho é similar a encontrada por Redman, Regan e Contreras (1996) que estudaram 452 pacientes cirúrgicos transfundidos. Eles encontraram um índice de 8,4% de aloimunização, ao considerarem apenas os indivíduos que desenvolveram aloanticorpos após as transfusões. Contudo, os nossos índices de aloimunização são bastante superiores aos encontrados por Santos et al. (2007), que encontraram um índice de apenas 2,1% de aloimunizados, ao realizarem um estudo prospectivo em 5690 pacientes com doenças agudas e atendidos em emergências médicas. Nesse trabalho, os pacientes com PAI positiva antes das transfusões também foram excluídos. No entanto, todos os indivíduos foram pesquisados apenas durante o período de internação, tempo geralmente insuficiente para o desenvolvimento destes aloanticorpos (COZAC, 2009; SCHONEWILLE et al., 2006).

A frequência de indivíduos com PAI positiva neste estudo também é superior a dos trabalhos de Thakral et al. (2008), que encontraram um índice de 3,4% de aloimunizados (em 531 pacientes pesquisados), em um hospital do norte da Índia, e de Natukunda et al. (2010a),

que verificaram um índice de 6,1% de aloimunização (em 214 indivíduos estudados), em um hospital de Uganda. Porém, nesses dois estudos, também foram incluídos pacientes com doenças crônicas, como AIDS, leucemias, talassemias, hemofilia e anemia aplástica, por exemplo. Sabe-se que pacientes com doenças e/ou condições que levam à imunodeficiência, como AIDS e quimioterapia interferem na resposta imune a estímulos antigênicos, como ficou demonstrado em um estudo de Cozac (2009), que não encontrou nenhum caso de aloimunização eritrocitária em pacientes politransfundidos portadores de Leucemia Linfóide Aguda. Além disso, Boctor et al. (2003) observaram em seu trabalho que, de um total de oito pacientes com AIDS que receberam em média 6,25 unidades de bolsas D positivas, nenhum produziu aloanticorpos anti-D ou qualquer outro tipo de aloanticorpo.

Nossa frequência também é bastante superior à encontrada por Walker, Lin e Hartrick (1989), que encontraram um percentual de apenas 0,8% de aloimunizados, em um estudo de 18 anos, envolvendo mais de 320.000 indivíduos. Porém, 4% dos indivíduos estudados eram doadores e, segundo os autores, se eles fossem excluídos, o índice seria de aproximadamente 1%. Contudo, não fica claro neste estudo os momentos e números das coletas, o que possivelmente tenha influenciado no baixo percentual de aloimunização.

A frequência de aloimunizados no presente estudo também é superior à encontrada por Tormey, Fisk e Stack (2008), que realizaram um estudo retrospectivo, em uma população de mais de 18.000 militares veteranos dos Estados Unidos, encontrando um índice de apenas 2,4%, estudo para o qual são pertinentes as mesmas observações feitas em relação ao estudo anterior.

Em nosso trabalho, verificamos que o anti-K foi identificado em seis (35,29%) dos aloimunizados, sendo 23,54% de forma isolada e em 11,76% (dois casos) associado a outros aloanticorpos. Anticorpos dirigidos contra antígenos do sistema Rh também foram encontrados em seis (35,29%) dos pacientes com PAI positiva. Outros estudos demonstraram que os anticorpos de maior frequência foram do sistema Rh, incluindo um trabalho anterior do nosso grupo no Hemocentro Regional de Uberaba (MARTINS et al., 2008). Trata-se de um estudo retrospectivo, realizado em indivíduos cronicamente transfundidos, onde 57,66% dos aloanticorpos encontrados eram do referido sistema.

Santos et al. (2007) encontraram o anti-E (sistema Rh) como o mais frequente (19,23%). No estudo de Redman, Regan e Contreras (1996), o mesmo aloanticorpo foi encontrado em 42,1% dos pacientes, de forma isolada. Nesses dois últimos estudos, o anti-K foi observado em 9,23% e em 13,16% dos aloimunizados, respectivamente. Thakral et al. (2008), encontraram anticorpos Rh em 67% dos aloimunizados e Natukunda et al. (2010a) em

53,85% dos pacientes com PAI positiva. Entretanto, Tormey, Fisk e Stack (2008), assim como no presente estudo, também encontraram o anti-K como o mais frequente (22,7%), seguido pelo anti-E (19,2%). Cozac (2009), em um trabalho realizado apenas em cronicamente transfundidos, verificou que o anti-E foi o mais frequente (20,53%), seguido pelo anti-K (16,91%).

No presente estudo, o total de aloanticorpos frios (cuja especificidade não foi determinada) foi significante (41,18% dos aloimunizados), ocorrendo de forma isolada em seis indivíduos (35,29%) e associado a um aloanticorpo quente (também não identificado) em um paciente (5,9% dos aloimunizados). Tal frequência é superior a de outros trabalhos da literatura. Thakral et al. (2008), verificaram esse índice em 16,7% dos pacientes, enquanto no estudo retrospectivo de Tormey, Fisk e Stack (2008), a frequência desses aloanticorpos foi de 21,1%. Anticorpos anti-M foram encontrados em 12,31% dos aloimunizados no trabalho de Santos et al. (2007). Já no estudo de Redman, Regan e Contreras (1996), apenas um paciente (2,63% dos aloimunizados) desenvolveu um aloanticorpo frio (anti-Le^b). Cozac (2009) encontrou em seu trabalho um percentual de 3,14% de aloanticorpos MNS e 0,24% do sistema Lewis. Entretanto, a autora afirmou que tais aloanticorpos tinham importância clínica, pois causaram reação transfusional hemolítica ou baixo incremento transfusional, ou ainda apresentaram amplitude térmica. Convém lembrar que, no presente estudo, os aloanticorpos frios encontrados de forma isolada reagiram apenas em temperatura ambiente, não sendo observada qualquer aglutinação a 37ºC ou na fase de adição de anti-imunoglobulina humana, podendo-se concluir, dessa forma, que não possuíam significância clínica.

Dentre os aloanticorpos encontrados em nosso trabalho, uma importante observação deve ser feita. No paciente 10 (Tabela 7), cujos aloanticorpos não foram identificados, ao realizarmos a PAI em tubo verificamos resultados positivos à temperatura ambiente e na última fase da pesquisa (após adição de anti-imunoglobulina humana). Como previamente demonstrado, há alguns aloanticorpos com amplitude térmica (sistema MNS e Lewis, por exemplo), ou seja, que podem reagir em baixas e altas temperaturas, possuindo significância clínica (CASTILHO, S. L., 1996; COZAC, 2009; MELO; SANTOS, 1996c). Desse modo, no paciente em questão, há a possibilidade de que ele tenha desenvolvido apenas um único tipo de aloanticorpo, que reagiu à temperatura ambiente e também a 37ºC, ao invés de ter produzido dois aloanticorpos (frio + quente).

Do total de indivíduos que apresentaram PAI positiva, 23,53% desenvolveram mais de um aloanticorpo. Tal resultado é semelhante aos estudos de Redman, Regan e Contreras (1996) e Tormey, Fisk e Stack (2008), que observaram esse resultado em 26,32% e 21,1% dos

pacientes aloimunizados, respectivamente. Nosso resultado é similar inclusive ao de nosso estudo anterior (MARTINS et al., 2008), onde 20,81% dos aloimunizados apresentaram mais de um aloanticorpo. Santos et al. (2007), no entanto, verificaram tal ocorrência em apenas 10,83% dos pacientes e no trabalho de Natukunda et al. (2010a), isso ocorreu somente em um paciente (9,1% dos aloimunizados). Entretanto, Cozac (2009) encontrou um índice bastante expressivo de pacientes com mais de um aloanticorpo (65,34%).

Verificamos em nosso trabalho que um dos aloimunizados apresentou o aloanticorpo anti-Jk^a associado a anti-K, anti-E e anti-c, confirmando os relatos de alguns autores, os quais afirmam que os anticorpos do sistema Kidd, em geral, surgem associados a outros anticorpos (LANGHI JÚNIOR; NETO; CARVALHO, 2007; MELO; SANTOS, 1996c).

No presente estudo, observou-se que um dos aloimunizados (paciente 6 - Tabela 8) desenvolveu os aloanticorpos anti-E + anti-K + anti-Le^a, além de outro não identificado, das classes IgG e IgM. O paciente tinha 62 anos de idade, cor parda e tipo sanguíneo O positivo. Foi submetido a cirurgia por fratura subtrocanteriana e recebeu três transfusões de concentrados de hemácias no HC/UFTM. Os aloanticorpos foram detectados somente aos seis meses, quando foi possível fazer a primeira coleta pós-transfusional, uma vez que o paciente residia em outra cidade (distante de Uberaba), o que dificultou o seu retorno ao hospital. O indivíduo não tinha histórico transfusional, sugerindo tratar-se de uma aloimunização primária. Na literatura, há um relato de caso semelhante, em que uma garota de 12 anos, ao receber uma única transfusão, desenvolveu três aloanticorpos diferentes (anti-c + anti-E + anti-Jk^b), os quais foram detectados um ano depois, antes de uma cirurgia para correção de escoliose. Durante a cirurgia, realizou-se a transfusão de seis concentrados de hemácias, todas negativas para os antígenos c, E e Jk^b. Para os autores, o surgimento de vários aloanticorpos pode ocorrer, mesmo após uma única transfusão, embora isso seja incomum (MAKROO et al., 2010).

Em um dos pacientes aloimunizados encontramos o aloanticorpo anti-hrs. Trata-se de um anticorpo raro na população, pertencente ao sistema Rh. O seu antígeno correspondente (hrs) é, na verdade, uma variante do antígeno e. O aloanticorpo anti-hrs é normalmente encontrado no soro de indivíduos e positivos, reagindo mais intensamente com hemácias E-e+ do que com hemácias E+ e-. Por esse motivo, anticorpos que se comportam como anti-e no soro de pacientes e+ hrs- são frequentemente definidos como anti-hrs, mesmo que as hemácias contendo o respectivo antígeno não estejam disponíveis nos testes imunohematológicos (DANIELS, 2002).

Dentre os aloimunizados no presente estudo, um resultado chama bastante a atenção, requerendo uma melhor investigação. Observou-se que a paciente 1 (Tabela 7) desenvolveu anti-D, detectado somente três meses após as transfusões, quando a primeira coleta pós-transfusional foi realizada. Portanto, há a possibilidade de o tempo real para aloimunização ter sido menor. A PAI pré-transfusional, feita pelo Serviço de Prova Cruzada do HRU, foi negativa. A paciente tinha 50 anos de idade, cor branca, sangue O negativo, portadora de miomatose uterina e recebeu duas bolsas de concentrados de hemácias, ambas O negativas, ou seja, que não continham o antígeno D. Não desenvolveu nenhuma reação hemolítica pós-transfusional detectável. Entretanto, não foi possível verificar se houve ou não incremento da hemoglobina pós-transfusional. Apesar de não ter recebido transfusões prévias, tinha antecedentes obstétricos de três gestações (de dois parceiros diferentes), sendo que uma dessas gestações resultou em aborto. Seu filho caçula, nascido há 27 anos, é do tipo O positivo. Quanto aos doadores das bolsas, um era do sexo masculino, 20 anos de idade, cor negra, cadastrado no HRU desde 2006. Até a data das transfusões da paciente em questão, já havia feito sete doações. O outro era do sexo feminino, 31 anos de idade, cor branca, cadastrada em 2008. Sua primeira doação foi para a paciente avaliada. Ambos eram do tipo sanguíneo O negativo, sendo negativa inclusive a pesquisa de antígeno Du (D fraco).

Uma provável explicação para o surgimento do anti-D é que o antígeno Du (D fraco) pode, em alguns casos, não ser detectado na fenotipagem rotineira de doadores, sendo necessárias técnicas de adsorção e eluição ou até mesmo técnicas de biologia molecular para a detecção do antígeno (LEITE et al., 2010; PETILLO et al., 2008). Isso ocorre porque há ocasiões em que os anticorpos anti-D monoclonais, utilizados na pesquisa do antígeno Du, podem ser de baixa afinidade. Além disso, pode haver dificuldades na obtenção de anti-D policlonais de boa qualidade. Tais fatores contribuem para discrepâncias entre os resultados de fenotipagem RhD, não havendo a detecção de antígenos D fraco de baixa densidade antigênica (BARROS et al., 2006). E além do antígeno Du, caracterizado por uma expressão enfraquecida do antígeno D, há ainda o antígeno Del, cuja expressão na membrana das hemácias é ainda mais fraca do que o Du. O antígeno Del, assim como o Du, pode requerer, para a sua detecção, técnicas de adsorção e eluição ou mesmo técnicas moleculares (PETILLO et al., 2008). Devido a todos esses fatores, alguns doadores podem ser classificados erroneamente como Rh negativos, quando na verdade são Rh positivos, podendo surgir uma aloimunização anti-D em pacientes Rh negativos transfundidos com essas hemácias. Assim, no caso do presente estudo, algum dos doadores (ou ambos) poderia ser portador do antígeno Del ou até mesmo do antígeno Du, que não foram detectados na

fenotipagem realizada pelo Laboratório de Imunohematologia do Hemocentro de Belo Horizonte (HBH). Consequentemente, alguma das bolsas (ou ambas) podem ter estimulado a produção do anticorpo anti-D. Como a paciente teve um filho Rh positivo há 27 anos, pode ter ocorrido uma aloimunização primária em decorrência dessa gestação, com posterior desparecimento do anticorpo, o qual posteriormente ressurgiu decorrente de uma resposta anamnéstica estimulada pelas transfusões no HC/UFTM. Sabe-se que nesses casos (aloimunização secundária), o anticorpo é produzido em altos níveis (títulos altos) (LANGHI JÚNIOR; PEREIRA, J. P. M.; PEREIRA, C. M., 2007). O título encontrado na paciente, entretanto, foi de apenas 1:8, provavelmente devido à expressão enfraquecida dos antígenos Du ou Del, estimulando assim uma produção de anticorpos em menor quantidade (COZAC, 2010 – Comunicação pessoal).

Outra explicação para o surgimento do anti-D é que as transfusões no Hospital de Clínicas podem ter reestimulado o sistema imune da paciente, mesmo considerando a hipótese de as bolsas transfundidas não conterem o antígeno Du ou Del. Tal reestímulo pode ocorrer mesmo em casos de transfusão de bolsas que não contenham o antígeno para o qual houve uma sensibilização prévia, sendo que nesses casos há uma nova produção de anticorpos específicos contra o antígeno, porém em baixos títulos (CASTILHO, S. L., 2010; COZAC, 2010 – Comunicação pessoal).

Outro resultado interessante deve ser destacado. Observamos que as pacientes 3 e 12 (Tabela 7), ambas em idade fértil, desenvolveram anti-K após as transfusões no HC-UFTM. Segundo o guia para o uso de hemocomponentes (Ministério da Saúde, 2008), receptores do sexo feminino em idade fértil com Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI) negativa não devem receber bolsas que contenham o antígeno K1 ou K. As pacientes 3 e 12, no entanto, sofreram politrauma, necessitando de várias transfusões com urgência. Elas receberam, respectivamente, seis e 11 concentrados de hemácias, todas fenotipadas apenas para os antígenos ABO e D, já que no HRU as hemácias doadas são submetidas à fenotipagem para outros antígenos (como K) somente a partir da sexta doação de cada indivíduo. E tais bolsas são destinadas, de modo prioritário, aos pacientes cronicamente transfundidos (portadores de hemoglobinopatias e leucemias, por exemplo), onde há um risco bem maior de aloimunização eritrocitária e reações hemolíticas pós-transfusionais, devido ao alto número de transfusões que tais pacientes requerem e, geralmente, por períodos bastante prolongados.

7.1 GÊNERO, FAIXA ETÁRIA, COR DA PELE DOS PACIENTES E ALOIMUNIZAÇÃO

Dentre os indivíduos aloimunizados em nosso trabalho, verificou-se uma discreta predominância do gênero masculino (52,09%). Entretanto, no estudo de Redman, Regan e Contreras (1996), houve predominância das mulheres (58%). Santos et al. (2007), verificaram equilíbrio total entre os dois gêneros, enquanto Thakral et al. (2008), assim como no presente estudo, observaram predominância de homens (56%). Em nosso trabalho realizado previamente no Hemocentro Regional de Uberaba (MARTINS et al., 2008), em indivíduos cronicamente transfundidos, verificamos que, dentre os aloimunizados, a grande maioria era mulheres (72,83%), provavelmente devido a uma sensibilização por gestações prévias.

Observamos no presente estudo que a taxa de aloimunização entre homens e mulheres foi praticamente a mesma, respectivamente 9,37% e 9,41%. Porém, Santos et al. (2007) demonstraram que a taxa de aloimunização foi de 3,6% das mulheres, enquanto nos homens o índice foi de apenas 1,49%, com diferença estatística significante ($p < 0,0001$). Os autores, entretanto, não explicam o motivo de tal diferença, afirmando apenas que o risco de aloimunização pode ser influenciado pelo gênero do receptor, certamente se referindo ao risco gestacional.

Quanto à faixa etária dos indivíduos com PAI positiva, observamos que a maior ocorrência de aloimunização foi entre os 50 e 69 anos, seguida pelos mais jovens (18 a 49 anos). Os nossos resultados são discordantes dos encontrados por Tormey, Fisk e Stack (2008), em um estudo sobre aloimunização em militares veteranos, ao observarem que nenhum dos indivíduos mais jovens (nascidos após 1970) produziu aloanticorpos. Contudo, no trabalho de Thakral et al. (2008), a maioria dos aloimunizados (72,22%) tinham até 49 anos. Convém citar que esse trabalho incluiu vários indivíduos com doenças crônicas, como anemia aplástica, leucemias e talassemias, por exemplo, e que, portanto, começam a receber transfusões mais precocemente e em grande quantidade, tornando-se aloimunizados mais precocemente em suas vidas. Redman, Regan e Contreras (1996) observaram que apenas 10,53% dos aloimunizados tinham idade inferior a 50 anos, destacando, contudo, que a maioria dos pacientes incluídos na pesquisa tinha mais de 65 anos.

Apesar do baixo índice de aloimunizados em idade avançada ($\geq$ 70 anos), o nosso estudo mostra que, do total de aloimunizados, a maioria (58,82%) tinha idade igual ou superior a 50 anos, índice bastante similar aos controles (57,31%), contrariando o conceito de que de que pacientes mais jovens são melhores respondedores, ou seja, produzem

aloanticorpos com mais facilidade, em resposta a transfusões de concentrados de hemácias, em comparação aos mais velhos (REDMAN; REGAN; CONTRERAS, 1996).

Em nosso trabalho, verificamos que, do total de aloimunizados, apenas um indivíduo (5,88%) era da cor negra. Isso está de acordo com o trabalho de Tormey, Fisk e Stack (2008), nos Estados Unidos, onde a maioria dos aloimunizados (78,8%) eram brancos (hispânicos e não hispânicos), enquanto apenas 10,2% eram afro-americanos. Ademais, em nosso trabalho, dentre os não aloimunizados, os negros representaram somente 11,59%.

Em síntese, no presente estudo, idade, gênero e cor da pele parecem não ter influenciado na taxa de aloimunização.

7.2 TIPO DE DOENÇA OU EMERGÊNCIA MÉDICA E ALOIMUNIZAÇÃO

Dentre os aloimunizados em nossa pesquisa, verificamos, de um modo geral, um equilíbrio entre diferentes tipos de diagnósticos, sendo os mais prevalentes: fraturas e politrauma, doenças oncológicas e hemorragias agudas por causas diversas, em 17,65% cada. Contudo, não foi possível estabelecer correlação direta entre a doença de base e índice de aloimunização e nem diferença de comportamento em relação ao grupo controle. No estudo de Santos et al. (2007), o diagnóstico dos pacientes não foi demonstrado, embora os autores afirmem que foram incluídos apenas indivíduos com doenças agudas e atendidos em emergências médicas. Já no trabalho de Redman, Regan e Contreras (1996), apenas pacientes submetidos a cirurgias foram estudados.

O fato de pacientes oncológicos (tumores sólidos) estarem entre os aloimunizados em nosso estudo chama muito a atenção, já que tais indivíduos normalmente se tornam imunossuprimidos, devido à própria doença de base associada à quimioterapia. Entretanto, Bauer et al. (2007), demonstraram que doenças oncológicas são um importante fator de risco para a aloimunização eritrocitária, juntamente com diabetes mellitus e transplante de células hematopoiéticas periféricas. Os autores também afirmaram que o número de transfusões recebidas não estava relacionado a esses achados. Porém, no caso dos tumores sólidos, acreditam que um mecanismo responsável pelo maior risco de aloimunização seria o estado aumentado de ativação imune desses pacientes. Contudo, afirmam que os achados desse trabalho requerem confirmação por estudos futuros, além de uma melhor investigação dos possíveis mecanismos envolvidos.

Já as doenças oncohematológicas, de um modo geral, parecem estar relacionadas a menor índice ou ausência de sensibilização, como as leucemias (linfóide e mielóide), linfomas e mieloma múltiplo (COZAC, 2009).

Em síntese, não parece haver diferença significante no índice de aloimunização de pacientes agudamente transfundidos, como politraumatizados, submetidos a cirurgias etc., condições nas quais geralmente inexiste comprometimento prévio do sistema imunológico.

7.3 TIPO SANGUÍNEO E ALOIMUNIZAÇÃO

Quanto ao grupo sanguíneo ABO, não observamos qualquer correlação entre aloimunização e os diferentes tipos sanguíneos, apresentando estes os mesmos percentuais do grupo controle, à semelhança do trabalho de Santos et al. (2007).

7.4 HISTÓRICO TRANSFUSIONAL, NÚMERO DE TRANSFUSÕES NO HC-UFTM E ALOIMUNIZAÇÃO

Dentre os pacientes com PAI positiva em nosso trabalho, observamos que 29,41% apresentaram histórico transfusional. Tal resultado é semelhante ao do estudo de Redman, Regan e Contreras (1996), onde 31,58% dos indivíduos aloimunizados haviam recebido transfusões previamente. No estudo prospectivo de Santos et al. (2007), não há informações a esse respeito.

No presente estudo, apesar de não haver diferença estatisticamente significante, o percentual de aloimunizados com antecedentes transfusionais foi superior à frequência de não aloimunizados com transfusões prévias (29,41% e 20,12%). Dentre os indivíduos do primeiro grupo (pacientes 8, 10, 14, 15 e 17 – Tabela 7), observou-se que em todos eles os anticorpos foram detectados em até seis meses após as transfusões no HC-UFTM. A paciente oito, como previamente demonstrado, já havia sido aloimunizada previamente, apresentando histórico transfusional e gestacional. Quanto aos pacientes 14, 15 e 17, provavelmente se tornaram aloimunizados após as transfusões no hospital, mesmo tendo recebido transfusões anteriores, já que os aloanticorpos foram identificados somente aos seis meses e todas as PAIs realizadas

anteriormente foram negativas. O paciente 10 apresenta outros antecedentes que serão discutidos em conjunto oportunamente.

Em nosso estudo, excluindo os indivíduos aloimunizados que já estavam sensibilizados antes da primeira transfusão no HC-UFTM, observamos que a grande maioria (80%) recebeu entre uma e 10 transfusões de concentrado de hemácias, com uma média de 3,17 transfusões por paciente, o que está de acordo com a literatura. Santos et al. (2007) observaram em seu trabalho que os pacientes aloimunizados receberam uma média de 4,68 unidades transfundidas. No estudo de Redman, Regan e Contreras (1996), os indivíduos que desenvolveram aloanticorpos receberam uma média de três unidades de concentrados de hemácias. E em nosso estudo anterior (MARTINS et al., 2008), verificamos que 70,73% dos indivíduos produziram aloanticorpos até a décima transfusão, com uma média de 5,7 transfusões por paciente.

Esses resultados mostram que a maioria dos pacientes que desenvolvem aloanticorpos irregulares são bons respondedores, ou seja, tornam-se aloimunizados rapidamente, com um baixo número de transfusões recebidas.

Por outro lado, ao compararmos aloimunizados e não aloimunizados, observamos que a proporção de aloimunizados que receberam mais de 10 transfusões foi significantemente superior à dos não aloimunizados que receberam mais de dez bolsas ($p = 0,0198$). Tal resultado mostra que a presença de aloimunização, em nosso estudo, teve correlação com o número de transfusões recebidas. Isso está de acordo com Natukunda et al. (2010a), que verificaram que a taxa de aloimunização foi significantemente associada com o número de unidades recebidas e com o número de episódios transfusionais ($p = 0,01$), ou seja, o risco de aloimunização aumentou com o número de transfusões.

Além disso, como previamente citado, o surgimento de uma aloimunização é diretamente proporcional à probabilidade de ser exposto ao antígeno eritrocitário durante a transfusão sanguínea (GARCÍA GALA et al., 1994). Tal probabilidade certamente aumenta com o número de transfusões recebidas.

7.5 HISTÓRICO GESTACIONAL, NÚMERO DE GESTAÇÕES, DIFERENTES PARCEIROS GESTACIONAIS E ALOIMUNIZAÇÃO

Dentre as mulheres aloimunizadas em nosso estudo, observa-se que a maioria (62,5%) tinha histórico gestacional e que todas elas tiveram até 10 gestações. Tais resultados estão de acordo com Redman, Regan e Contreras (1996), que verificaram, em seu estudo, que 68,18% das mulheres aloimunizadas tinham gestações prévias, todas com menos de 10 gestações. Porém, enquanto em nosso trabalho 40% tiveram até três gestações e 60% mais de três, no estudo de Redman, Regan e Contreras (1996) 86,67% tiveram até três e apenas 13,33% mais de três gestações prévias. Santos et al. (2007) encontraram uma frequência bem superior de mulheres aloimunizadas com histórico gestacional (93,33%). Já no estudo de Thakral et al. (2008), apenas 37,5% das mulheres que produziram aloanticorpos tiveram gestações anteriores. O número dessas gestações, no entanto, não foi informado em nenhum desses dois últimos estudos.

Porém, em nosso trabalho, um fato chama bastante a atenção. Enquanto 62,5% das aloimunizadas afirmaram histórico gestacional, este fato era referido por 92,21% das não aloimunizadas, com diferença estatística significante ($p = 0,036$). Tal resultado é exatamente o oposto do que se esperava, pois as gestações são uma importante causa de aloimunização nas mulheres (BAPTISTA-GONZÁLEZ et al., 1991; BORDIN; MOREIRA JÚNIOR, 1996; MARTINS et al., 2008; CASTILHO, L. M., 1996; CASTILHO, S. L., 1996; MELLO; SANTOS, 1996a; MELLO; SANTOS, 1996b; MELLO; SANTOS, 1996c; NOVARETTI, 2007; SILVA; JORGE; HIRTSCH, 2004; WINTERS et al., 2001).

O resultado encontrado foi provavelmente devido à pequena amostra de pacientes aloimunizadas, quando comparada às não aloimunizadas, pois se ao invés de cinco e três aloimunizadas com e sem histórico transfusional, respectivamente, tivéssemos seis e duas, a significância estatística desapareceria ($p = 0,16$). Portanto, consideramos este resultado casual e, apesar da diferença estatisticamente significante, acreditamos que careça de consistência prática.

Por outro lado, apesar de não haver diferença estatisticamente significante, observamos que 60% das pacientes que desenvolveram aloanticorpos tiveram mais de três gestações, enquanto 50,7% das não aloimunizadas referiram até três gestações. Segundo Lorenzi (2006) e Neto (1998), quanto maior o número de gestações, maior o risco de aloimunização materno-fetal. Além disso, embora também sem diferença estatística,

verificamos diferentes parceiros gestacionais em 40% das aloimunizadas e em apenas 21,13% das não aloimunizadas. Acreditamos que tal fator aumenta a probabilidade de aloimunização materno-fetal, devido ao perfil genético diferente de cada indivíduo.

7.6 TEMPO PARA ALOIMUNIZAÇÃO

Verificamos que o tempo para produção de aloanticorpos em nossa pesquisa variou de quatro dias a seis meses. Em 10 pacientes (58,82%), o tempo decorrido entre a primeira transfusão de concentrados de hemácias e a identificação da aloimunização foi de seis meses, em três indivíduos (17,65%), de três meses e em 11,8% de no máximo 15 dias. No entanto, há a possibilidade do tempo real para aloimunização ter sido menor, já que em alguns desses pacientes as pesquisas de aloanticorpos não puderam ser realizadas em todos os momentos predeterminados e em quatro deles a primeira coleta foi feita apenas aos seis meses. Isto se deveria a vários motivos, como moradia dos pacientes em outras cidades e dificuldades de localização e transporte, além de demora na marcação de novas consultas médicas no Hospital de Clínicas da UFTM.

Estes nossos resultados estão de acordo com Schonewille et al. (2006), que ao realizarem um estudo amplo e retrospectivo, em 19 hospitais da Holanda, observaram que a maioria dos aloanticorpos se desenvolveram em até seis meses após as transfusões. No trabalho de Redman, Regan e Contreras (1996), o tempo para aloimunização variou de duas semanas a seis meses, sendo semelhante ao nosso estudo. Contudo, apenas 5,26% dos indivíduos levaram seis meses para produzirem aloanticorpos, enquanto a maior parte (21,05%) respondeu em apenas um mês.

Nesse mesmo estudo, 15,79% dos pacientes se tornaram aloimunizados em duas semanas. Provavelmente, segundo os autores, isso ocorreu devido ao histórico transfusional e/ou gestacional de tais indivíduos, tratando-se, portanto, de resposta a uma aloimunização prévia. Contudo, não informaram se houve ou não reação hemolítica detectável nesses pacientes.

No presente estudo, encontramos um indivíduo do sexo masculino que recebeu duas transfusões e desenvolveu aloanticorpos quatro dias após as transfusões no HC-UFTM (paciente 10 – Tabela 7). O paciente produziu dois aloanticorpos: um frio e outro quente (não identificados) ou, possivelmente, desenvolveu um aloanticorpo frio com amplitude térmica,

ou seja, que pode reagir em baixas e altas temperaturas, como previamente referido (CASTILHO, S. L., 1996; COZAC, 2009; MELO; SANTOS, 1996c). Apresentou dois episódios transfusionais prévios, em outros hospitais, sendo o primeiro quatro meses antes e o segundo 10 dias antes das transfusões no HC-UFTM. Foi observado que houve incremento da hemoglobina pós-transfusional, concluindo-se, portanto, que não desenvolveu reação hemolítica.

Algumas observações suscitam deste caso. Verificou-se que a PAI pré-transfusional, no Serviço de Prova Cruzada do HRU, realizada em cartão ID-LISS/Coombs, foi negativa. Ao realizarmos a PAI pela técnica em tubo quatro dias após as transfusões, a mesma foi positiva; contudo, a repetição da pesquisa em cartão para confirmação resultou-se novamente negativa. Além disso, a pesquisa realizada pelo Laboratório de Imunohematologia do HBH, também em cartão LISS, foi negativa. Uma possível explicação para as discrepâncias de resultados observadas nas duas técnicas é que as hemácias do DiaCell (utilizadas na técnica em tubo), em determinados casos, podem conter alguns antígenos que não estão expressos nas hemácias do ID-DiaCell (utilizadas na técnica em cartão) ou vice-versa, havendo desse modo a detecção de anticorpos apenas por uma das técnicas. Outra hipótese pode ser a diferença na quantidade de soro requerida por cada um dos métodos. Enquanto na PAI em tubo se utiliza 100 microlitros do soro a ser testado, a P.A.I. em cartão requer apenas 25 microlitros. Como consequência, embora a técnica em cartão seja comumente mais sensível, pode ocorrer a positividade apenas na técnica em tubo, já que nesse caso uma maior quantidade de soro é empregada (CASTILHO, S. L., 2010 – Comunicação pessoal). Além disso, segundo Melo (2007), é importante considerar que não há nenhum método de pesquisa de anticorpos capaz de detectar todos os anticorpos clinicamente significantes, podendo-se concluir, dessa forma, que cada método possui suas limitações.

No caso do paciente em questão, torna-se difícil afirmar se a aloimunização ocorreu no hospital ou se houve uma reativação de uma sensibilização ocorrida em alguma das transfusões anteriores à sua internação no HC/UFTM. No entanto, como previamente referido, nos casos de reativação (resposta imune secundária) os anticorpos produzidos geralmente se encontram em altos títulos altos (LANGHI JÚNIOR, D. M.; PEREIRA, J. P. M.; PEREIRA, C. M.). Isso não ocorreu com o paciente 10, cujo título encontrado foi de apenas 1:4 e, como a primeira transfusão prévia ocorreu quatro meses e a segunda 10 dias antes das transfusões no Hospital de Clínicas, é pouco provável que tenha ocorrido uma reativação, pois de acordo com os resultados do presente estudo e de outros da literatura,

dificilmente um aloanticorpo pode desaparecer em tão pouco tempo após as transfusões (SCHONEWILLE et al. 2006; SCHONEWILLE; HAAK; VAN ZIJL, 2000).

Em nosso trabalho, verificamos que outro indivíduo (paciente 11 - Tabela 7), se tornou aloimunizado em 15 dias após sua primeira transfusão, apresentando anti-E. O paciente era do gênero masculino, tinha 58 anos de idade, cor branca, tipo sangúineo B positivo e recebeu cinco transfusões no HC/UFTM. Contudo, não tinha histórico transfusional. Caso semelhante foi encontrado por Redman, Regan e Contreras (1996), onde um dos pacientes, também do gênero masculino, sem histórico transfusional, com 43 anos de idade e submetido a cirurgia (não especificada), recebeu o mesmo número de transfusões do nosso paciente avaliado (cinco) e desenvolveu o mesmo anticorpo após duas semanas. Os autores sugeriram que o anticorpo pode ter sido de ocorrência natural. Como já relatado, há determinados casos em que o anti-E pode ocorrer naturalmente (MELO; SANTOS, 1996b; NETO, 1998).

Todavia, casos de aloimunização precoce já têm sido descritos na literatura. No estudo de Santos et al. (2007), o tempo para produção de aloanticorpos variou de três a 97 dias, sendo 20,88 dias o tempo médio. Convém citar que, neste trabalho, as coletas foram realizadas apenas durante o período de internação dos indivíduos. Os autores não explicam o motivo de vários indivíduos terem desenvolvido seus aloanticorpos tão precocemente. Porém, foi constatado nesse estudo que 93,33% das mulheres aloimunizadas tinham histórico gestacional, o que provavelmente pode ter influenciado nesses resultados. Schonewille et al. (2006) observaram que 16,8% dos pacientes se tornaram aloimunizados em até 14 dias após as transfusões e 2,3% produziram aloanticorpos em no máximo três dias. Os autores afirmaram que tais achados sugerem uma resposta imune secundária. Contudo, não demonstraram, dentre os aloimunizados, o número de indivíduos com ou sem antecedentes transfusionais, apesar de terem informado no estudo que levantaram o histórico transfusional dos pacientes pesquisados.

Ainda nesse mesmo trabalho, dentre os aloanticorpos que surgiram nas duas primeiras semanas, constatou-se que a maior parte (42,8%) era anti-E. Tal resultado está de acordo com nosso trabalho, onde um (50%) dos dois indivíduos aloimunizados precocemente desenvolveu o aloanticorpo em questão.

7.7 TÍTULOS DOS ALOANTICORPOS

No presente estudo, verifica-se que em 16 aloimunizados houve queda dos títulos dos aloanticorpos encontrados, sendo 1:32 o título mais alto (paciente 5 – Tabela 7). Não foi observado declínio apenas no paciente 12, onde o título de 1:2 se manteve inalterado por 12 meses. Dentre os 15 pacientes que desenvolveram aloanticorpos após as transfusões no HC-UFTM, verificou-se que em nove (60%) a PAI se tornou negativa em no máximo 15 meses. Schonewille, Haak e Van Zijl (2000), em um estudo amplo e retrospectivo, em um período de 20 anos, em um hospital da Holanda, observaram que, ao longo do tempo, houve uma queda na porcentagem de anticorpos detectáveis, após sua primeira detecção. No entanto, o tempo de persistência da maioria dos anticorpos foi bastante longo, pois aproximadamente 25% de todos os anticorpos encontrados ainda eram detectáveis após 192 meses, apesar de não informarem os títulos dos anticorpos. Afirmaram que anticorpos de baixos títulos (como no presente estudo) se tornaram indetectáveis mais rapidamente, em comparação aos de altos títulos.

Schonewille et al. (2006), assim como no estudo previamente citado (SCHONEWILLE; HAAK; VAN ZIJL, 2000), demonstraram que vários aloanticorpos ainda estavam presentes por mais de cinco anos após sua detecção. Dentre tais aloanticorpos, a maior parte (45%) era anti-K. No presente trabalho, dos três indivíduos com maior persistência de aloimunização (pacientes 6, 11 e 12 – Tabela 7), verificamos que o anti-K estava presente em dois (66,67%) (pacientes 6 e 12).

Sabe-se que certas características individuais podem determinar a queda do titulo do anticorpo após aloimunização. Segundo alguns autores citados por Cozac (2009), a persistência de aloanticorpos encontra-se relacionada, por exemplo, à ocorrência da aloimunização na fase inicial da idade adulta. No entanto, como demonstrado em nosso estudo, a maioria dos pacientes aloimunizados (58,82%) tinha 50 anos ou mais. Além disso, alguns estudos relacionados a vacinas demonstraram que o envelhecimento enfraquece a resposta de linfócitos T e B naive a patógenos, encurtando assim a duração da proteção imunitária, o que deve refletir também na persistência dos aloanticorpos formados (COZAC, 2009).

8 CONCLUSÃO

O presente estudo, realizado em indivíduos com doenças agudas e/ou atendidos em emergências médicas, receptores de transfusões de concentrados de hemácias, mostra uma frequência considerável de aloimunizados (8,29%), sendo este um índice superior ao de vários outros trabalhos da literatura. A maioria os aloimunizados apresentou aloanticorpos de significância clínica (sistemas Rh e Kell), em plena concordância com a literatura e confirmando assim as nossas hipóteses de alta ocorrência de aloimunização por aloanticorpos de significância em receptores eventuais de concentrados de hemácias.

Observamos que a aloimunização está correlacionada ao número de transfusões de concentrados de hemácias, confirmando também a hipótese de que quanto maior o número de bolsas transfundidas, maior o risco de aloimunização.

A recomendação do Ministério da Saúde do emprego de concentrados de hemácias fenotipadas (Rh, Kell, Duffy, Kidd e outros sistemas) para pacientes em regime de transfusões crônicas, deixa a descoberto os receptores eventuais, muitos dos quais, o aumento da expectativa de vida da população e concomitante maior ocorrência de doenças crônico-degenerativas poderão expor tais pacientes aos riscos de reações hemolíticas graves.

Diante desses fatos, propomos a ampliação da fenotipagem eritrocitária para os antígenos dos sistemas Kell e Rh (E, e, C, c), para todos os indivíduos com cirurgias programadas e/ou com eventos clínicos para os quais as transfusões de sangue não caracterizam emergência. Tal medida certamente contribuirá para reduzir os índices de aloimunização eritrocitária também nestes receptores eventuais de concentrados de hemácias e, consequentemente, diminuirá o risco de reações transfusionais hemolíticas e/ou de transfusões ineficazes, com reflexos positivos na segurança transfusional e na qualidade da hemoterapia brasileira.

REFERÊNCIAS

AMEEN, R. et al. RBC alloimmunization and autoimmunization among transfusion-dependent Arab thalassemia patients. **Transfusion**, v. 43, p. 1604-10, 2003.

AYGUN, B. et al. Clinical significance of RBC alloantibodies and autoantibodies in sickle cell patients who received transfusions. **Transfusion**, v. 42, p. 37-43, 2002.

BAPTISTA-GONZÁLEZ, H. A. et al. Anticuerpos irregulares antieritrocitarios fuera del sistema ABO en el periodo perínatal. **Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.,** México, DF, v. 48, n. 11, p. 814-19, 1991.

BARROS, C. et al. Avaliação de reagentes anti-D na detecção dos antígenos D fraco e D parcial. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 28, n. 4, p. 269-74, 2006.

BAUER, M. P. et al. Clinical predictors of alloimmunization after red blood cell transfusion. **Transfusion**, v. 47, p. 2066-71, 2007.

BLUMBERG, N. et al. Immune response to chronic red blood cell transfusion. **Vox Sanguinis**, v. 44, p. 212-17, 1983.

BLUMBERG, N. et al. Should chronic transfusions be matched for antigens other than ABO and Rh (D)? **Vox Sanguinis**, v. 47, p. 205-08, 1984.

BOCTOR et al. Absence of D-alloimmmunization in AIDS patients receiving D-mismatched RBCs. **Transfusion**, v. 43, p. 173-76, 2003.

BONIFÁCIO, S. L.; NOVARETTI, M. C. Z. Funções biológicas dos antígenos eritrocitários. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 31, n. 2, p. 104-11, 2009.

BORDIN, J. O.; MOREIRA JÚNIOR, G. Sistemas Kell e Kx. In: **STD**: imunohematologia eritrocitária. Belo Horizonte: IEA Editora/SBHH, 1996. p. 137-43.

CASTILHO, L. Sistema de grupo sanguíneo Rh. In: BORDIN J. O.; LANGHI JÚNIOR, D. M.; COVAS, D. T. **Hemoterapia:** Fundamentos e Prática. São Paulo: Atheneu, 2007. p. 138-144.

CASTILHO, L. M. Sistema Duffy. In: **STD**: imunohematologia eritrocitária. Belo Horizonte: IEA Editora/SBHH, 1996. p. 153-57.

CASTILHO, S. L. Sistema MNS. In: **STD**: imunohematologia eritrocitária. Belo Horizonte: IEA Editora/SBHH, 1996. p. 173-79.

CASTRO, O. et al. Predicting the effect of transfusing only phenotype-matched RBCs to patients with sickle cell disease: theoretical and practical implications. **Transfusion**, v. 42, p. 684-690, 2002.

COLES, S. M.; KLEIN, H. G.; HOLLAND P. V. Alloimmunization in two multitransfused patient populations. **Transfusion**, v. 21 (4), p. 462-66, 1981.

COZAC, A. P. C. N. C. **Estudo do polimorfismo do sistema sanguíneo Diego em populações de brancos, asiáticos, negros, índios e doadores de sangue da região de Ribeirão Preto.** 2004. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, Departamento de Clínica Médica, Ribeirão Preto, SP. Orientador: Dimas Tadeu Covas.

COZAC, A. P. C. N. C. **Estudo do potencial antigênico relativo dos antígenos de grupos sanguíneos menores em pacientes sob esquema transfusional**. 2009. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, Departamento de Clínica Médica, Ribeirão Preto, SP. Orientador: Dimas Tadeu Covas.

COZAC, A. P. C. N. C. Sistema de grupo sanguíneo ABO. In: BORDIN J. O.; LANGHI JÚNIOR, D. M.; COVAS, D. T. **Hemoterapia:** Fundamentos e Prática. São Paulo: Atheneu, 2007. p. 126-36.

DANIELS G. **Human Blood Groups.** Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=dfN4WyQGHoQC&pg=PA226&lpg=PA226&dq=anti-hrs&source=bl&ots=y44Akr0IKV&sig=moag_Sz3P9YmEuaeLmPrhRZdc-w&hl=pt-BR&ei=L5WeTLr1FMH78AaXr9TrDw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=5&ved=0CDIQ6AEwBA#v=onepage&q=anti-hrs&f=false>. Acesso em: 19/07/2010.

FABRON JÚNIOR, A.; BALEOTTI JÚNIOR, W. Outros sistemas de grupos sanguíneos. In: BORDIN J. O.; LANGHI JÚNIOR, D. M.; COVAS, D. T. **Hemoterapia:** Fundamentos e Prática. São Paulo: Atheneu, 2007. p. 161-69.

FERREIRA, A. M.; PIASSSI, F. C. C.; SCHMIDT, L. C. **Manual de imunohematologia**: testes pré-transfusionais do paciente: técnica: tubo/gel. Belo Horizonte: Fundação HEMOMINAS, 2010.

FLUIT, C. R. M.; KUNST, V. A. J.; DRENTHE-SCHONK, A. M. Incidence of red cell antibodies after multiple blood transfusion. **Transfusion**, v. 30, p. 532-35, 1990.

GARCÍA GALA, J. M. et al. Aloinmunización en pacientes politransfundidos. Utilidad de seleccionar hematíes compatibles para antígenos diferentes al ABO y D. **Sangre,** v. 39, n. 6, p. 417-21, 1994.

Guia para o uso de hemocomponentes. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Brasilia-DF, 2008.

JENS, E.; PAGLIARINI, T.; NOVARETTI, M. C. Z. Sistema de grupo sangüíneo Duffy: biologia e prática transfusional. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**., Rio de Janeiro, v. 27, n. 2, p. 110-19, 2005.

LANGHI JÚNIOR, D. M.; NETO, E. B.; CARVALHO, J. C. M. Sistemas de grupos sanguíneos Duffy, Kell e Kidd. In: BORDIN J. O.; LANGHI JÚNIOR, D. M.; COVAS, D. T. **Hemoterapia:** Fundamentos e Prática. São Paulo: Atheneu, 2007. p. 147-59.

LANGHI JÚNIOR, D. M.; OLIVATO, M. C. A. Transfusão em anemia hemolítica auto-imune. In: BORDIN J. O.; LANGHI JÚNIOR, D. M.; COVAS, D. T. **Hemoterapia:** Fundamentos e Prática. São Paulo: Atheneu, 2007. p. 401-15.

LANGHI JÚNIOR, D. M.; PEREIRA, J. P. M.; PEREIRA, C. M. Reações transfusionais hemolíticas. In: BORDIN J. O.; LANGHI JÚNIOR, D. M.; COVAS, D. T. **Hemoterapia:** Fundamentos e Prática. São Paulo: Atheneu, 2007. p. 438-44.

LEITE E. R. M. et al. Frequência do antígeno "D" de baixa expressão em doadores Rh negativos C+ ou E+ do Hemonúcleo Regional de Araraquara – UNESP. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 32, supl. 4, p. 320, 2010.

LORENZI, T. F. et al. **Manual de Hematologia:** propedêutica e clínica. 4. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2006.

MAKROO, R. N. et al. Multiple alloantibodies detected following a single transfusion episode in a 12 year old: A case report. **Transfusion**, v. 50, n. 25, p. 141-A, 2010

MARSH, W. L.; REDMAN, C. M. The Kell blood group system: a review. **Transfusion**, v. 30, p. 158-67, 1990.

MARTINS, P. R. J. et al. Frequência de anticorpos antieritrocitários irregulares em politransfundidos no Hemocentro Regional de Uberaba-MG, de 1997 a 2005. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 30, n. 4, p. 272-76, 2008.

MATTOS, L. C. Duffy: um sistema de grupos sanguíneos com considerável complexidade. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**., Rio de Janeiro, v. 27, n. 2, p. 79-80, 2005.

MELO, L. de; SANTOS, J. A. dos. Sistemas ABO, Hh e Lewis. In: **STD**: imunohematologia eritrocitária. Belo Horizonte: IEA Editora/SBHH, 1996. p. 90-103.

MELO, L. de; SANTOS, J. A. dos. Sistema Rh. In: **STD**: imunohematologia eritrocitária. Belo Horizonte: IEA Editora/SBHH, 1996. p. 120-28.

MELO, L. de; SANTOS, J. A. dos. Sistema Kidd. In: **STD**: imunohematologia eritrocitária. Belo Horizonte: IEA Editora/SBHH, 1996. p. 162-65.

MELO, L. de. Testes de Compatibilidade Sanguínea. In: BORDIN J. O.; LANGHI JÚNIOR, D. M.; COVAS, D. T. **Hemoterapia:** Fundamentos e Prática. São Paulo: Atheneu, 2007. p. 172-75.

MONTEIRO, M. A. G. et al. Aspectos Imunohematológicos, Genéticos e Clínicos da Aloimunização por Anticorpo Anti-c – Relato de dois casos. **Pediatria (São Paulo)**, v. 18, n. 2, p. 95-98, 1996.

MOORE, D. S. **A estatística básica e sua prática.** Rio de Janeiro: LTC Editora, 2000. 482 páginas.

NATUKUNDA, B. et al. Prevalence and specificities of red blood cell alloantibodies in transfused Ugandans with different diseases. **Vox Sanguinis**, v. 98, p. 167-71, 2010.

NATUKUNDA, B. et al. Red blood cell alloimmminization in sickle cell patients in Uganda. **Transfusion**, v. 50, p. 20-25, 2010.

NETO, S. W. Hemoterapia. In: VERRASTRO, T.; LORENZI, T. F.; NETO, S. W. **Hematologia e Hemoterapia:** fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica. São Paulo: Editora Atheneu, 1998. p. 237-53.

NOVARETTI, M. C. Z. Investigação Laboratorial em Pacientes com Anticorpos Eritrocitários. In: BORDIN, J. O.; LANGHI JÚNIOR, D. M.; COVAS, D. T. **Hemoterapia: Fundamentos e Prática.** São Paulo: Editora Atheneu, 2007. p. 186-89.

PETILLO, M. L.et al. **Caracterização sorológica e molecular do fenótipo Dfraco e Del em doadores de sangue brasileiros.** Disponível em: <http://www.chsp.org.br/arquivos/Caracterizacao%20Sorologica%20e%20Morfologia.pdf> Acesso em: 09/11/2010.

POWERS, A. et al. Identification and evaluation of false-negative antibody screens. **Transfusion**, v. 50, 617-21, 2010.

REDMAN, M.; REGAN, F.; CONTRERAS, M. A prospective study of the incidence of red cell alloimmunization following transfusion. **Vox Sang**, v. 71, p. 216-20, 1996.

RUIZ, L. G. P. et al. Detecção dos anticorpos regulares ABO maternos em recém-nascidos pelo método de tipagem sanguínea reversa estendida até fase de antiglobulina humana. **RBAC**, v. 40, n. 4, p. 301-03, 2008.

SANTOS, F. W. R. et al. Post-transfusion red alloimmunization in patients with acute disorders and medical emergencies. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**., Rio de Janeiro, v. 29, n. 4, p. 369-72, 2007.

SCHONEWILLE, H. et al. Red blood cell alloantibodies after transfusion: factors influencing incidence and specificity. **Transfusion**, v. 46, p. 250-56, 2006.

SCHONEWILLE, H.; HAAK, H. L.; VAN ZIJL, A. M. Alloimmunization after blood transfusion in patients with hematologic and oncologic diseases. **Transfusion**, v. 39, p. 763-71, 1999.

SCHONEWILLE, H.; HAAK, H. L.; VAN ZIJL, A. M. RBC antibody persistence. **Transfusion**, v. 40, 1127-31, 2000.

SCHONEWILLE, H.; VAN DE WATERING, L. M. G.; BRAND, A. Additional red blood cell alloantibodies after blood transfusions in a nonhematologic alloimmunized patient cohort: is it time to take precautionary measures? **Transfusion**, v. 46, p. 630-35, 2006.

SERRANO, J. Incidencia y caracterización de anticuerpos eritrocitários en un banco de sangre hospitalario. **Sangre**, v. 35(5), p. 363-68, 1990.

SILVA, C. R. G.; JORGE, A. O. C.; HIRTSCH, I. M. V. Aloanticorpo anti-Diego (a) em gestante. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 26(4), 285-87, 2004.

SINGER S. T. et al. Alloimmunization and erythrocyte autoimmunization in transfusion-dependent thalassemia patients of predominantly Asian descent. **Blood**, v. 96, n. 10, p. 3369-73, 2000.

THAKRAL B. et al. Red cell alloimmunization in a transfused patient population: a study from a tertiary care hospital in north India. **Hematology**, v. 13, p. 313-18, 2008.

TORMEY C. A.; FISK, J.; STACK, G. Red blood cell alloantibody frequency, specificity, and properties in a population of male military veterans. **Transfusion**, v. 48, p. 2069-76, 2008.

VENGELEN-TYLER, V. et al. **Technical manual** – 12. ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1996.

WALKER, R. H.; LIN, DONG-TSAMN; HARTRICK, M. B. Alloimmunization following blood transfusion. **Arch Pathol Lab Med**, v.113, p. 254-61, 1989.

WINTERS et al. RBC alloantibody specificity and antigen potency in Olmsted County, Minnesota. **Transfusion**, v. 41, p. 1413-20, 2001.

YAHALOM, V. et al. The rare Lu:-6 phenotype in Israel and the clinical significance of anti-Lu6. **Transfusion**, v. 42, p. 247-50, 2002.

APÊNDICE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HEMOCENTRO REGIONAL DE UBERABA-MG/FUNDAÇÃO HEMOMINAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO

Viemos através deste, solicitar sua contribuição para a realização do projeto de pesquisa intitulado **"Frequência de aloanticorpos irregulares antieritrocitários em receptores com doenças agudas e atendidos em emergências médicas"**, realizado pelo Serviço de Hematologia e Hemoterapia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, HRU/Fundação Hemominas.

Ressaltamos que o nosso estudo se propõe a aumentar a segurança das transfusões sanguíneas, evitando problemas futuros em pacientes com doenças agudas e atendidos em emergências médicas, caso recebam novas transfusões.

Ao concordar com a proposta, você deverá ser submetido(a) a novas coletas de sangue para a repetição de testes que nos permitirão detectar a presença de aloanticorpos irregulares antieritrocitários.

Declaramos que o único desconforto será a simples punção venosa para a coleta da amostra, sem riscos maiores e, de forma alguma, haverá perda da confidencialidade e identificação individual.

Você poderá fazer todas as perguntas que julgar necessárias para o entendimento da pesquisa, além de ter acesso aos resultados dos exames realizados. Poderá também, se quiser, abandonar a pesquisa a qualquer momento, por livre e espontânea vontade, sem qualquer interferência na continuidade do tratamento no Hospital de Clínicas. Sua participação é totalmente voluntária.

Eu,_____, declaro que li e entendi as informações relativas a este estudo. Concordo em participar voluntariamente da pesquisa.

Assinatura_____

Responsável pela entrevista: _____

Assinatura_____

_____, _____/ _____/ 20_____.

ANEXO A – DiaCell I+II – Tabela de antígenos

DiaMed

Pesquisa de anticorpos
Antibody screening
Detección de anticuerpos

DiaCell I+II

Tabela de antígenos — Antigen-Table — Tabla de antígenos

	Rh-hr	Doador Donor Donante		Rh-hr						Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luth.		Di.	Antígenos especiais Special types Tipos especiales	Método/Method
				D	C	E	c	e	C^w	K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	P_1	M	N	S	s	Lu^a	Lu^b	Di^a		
I	CcD.ee	R_1r	048-2702	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0		
II	ccD.Ee	R_2r	1187728	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+		
																													Autocontrole Autocontrol	

As hemácias **DiaCell I+II** (exceto as indicadas como «antígenos especiais») são:

DiaCell cells **I+II** (except as indicated under «special types») are:

DiaCell cells **I+II** (excepto las indicadas como «tipos especiales») son:

As colunas coloridas indicam os antígenos que são destruídos pelo tratamento com enzimas proteolíticas.

Shaded columns indicate antigens destroyed or diminished in reactivity by enzyme treatment.

Las columnas sombreadas indican los antígenos destruídos o con reactividad disminuida por tratamiento con enzimas.

Set I+II 45222.18.1

LOT I 16112.18.1
II 16122.18.1

2008.04.28

positivo/positive (+)

PP_1 P^k (Tj^a)
U

negativo/negative (0)

V^w (Verweyst)
Wr^a (Wright)

s = forte/strong/fuerte
w = fraco/weak/débil
nt = não testado
not tested
no analizado

Nome/name/nombre	Grupo sanguíneo + antígenos Bloodgroup + antigens	Interpretação Interpretation Interpretación	Data do teste Examined on Examinado el

B109792 10.07 12.03.08

DiaMed Latino América S.A

ANEXO B – ID-DiaPanel

DiaMed-ID
Micro Typing System

Set ID-DiaPanel 4516.51.01 / ID-DiaPanel P 4517.51.01

Antigen-Tabelle / Antigen-Table / Table d'antigènes
Antikörper-Identifizierung / Antibody identification / Identification d'anticorps

Ch.-B: 0617.51.10 - Verw. bis:
lot no.: 0627.51.10 Exp. date: 17.08.98
no. lot: 0536.51.10 - Exp. le:
0546.51.10
V.I.P. Software Ch.-B./lot no./no. lot: P06

ID-DiaPanel
ID-DiaPanel-P

	Rh-hr	Spender Donor Donneur		Rh-hr						Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luth.		Xg		Spez. Antigene special types antigènes part.		Resultat/Result/Résultat			Bemerkungen Remarks Remarques
				D	C	E	c	e	C^w	K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	P_1	M	N	S	s	Lu^a	Lu^b	Xg^a	♀♂			LISS/ Coombs	Enzym Enzyme	4°C	
1	$C^wCD.ee$	$R_1{}^wR_1$	615356	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	M		1	+	o		
2	CCD.ee	R_1R_1	615915	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	M	Bg^a+	2	+	+		
3	ccD.EE	R_2R_2	715918	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	M		3	+	+		
4	Ccddee	r'r	215935	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	M		4	+	+		
5	ccddEe	r''r	215211	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	M	Bg^a+	5	+	+		
6	ccddee	rr	115917	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	M		6	+	+		
7	ccddee	rr	115920	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	M		7	+	o		
8	ccD.ee	R_{or}	315780	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	M		8	+	o		
9	ccddee	rr	115692	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	M		9	+	+		
10	CCD.ee	R_1R_1	615412	+	+	0	0	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	M		10	+	o		
11	CcD.ee	R_1r	415913	+	+	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	M		11	+	+		
																																	Ac	Pos	Pos		
	Patient																														Eigenkontrolle negative control					

IAI

ID-DiaPanel-Zellen 1–11 (wenn unter der Rubrik «spezielle Antigene» nicht anders vermerkt) sind:
ID-DiaPanel cells **1–11** (except as indicated under «special types») are:
Les hématies **ID-DiaPanel 1–11** (exceptées celles qui sont indiquées sous «antigènes particuliers») sont:

positif/positive (+)
PP_1 P^k (Tj^a)
Di^b
I
U
Vel

negatif/negative (0)
V^w (Verweyst)
Wr^a (Wright)
Di^a

Die farbig gekennzeichneten Antigene können im Enzymtest unterdrückt oder zerstört werden.
Shaded columns indicate antigens destroyed or diminished in reactivity by enzyme treatment.
La réaction peut être inhibée avec les anticorps des systèmes MNSs, Duffy et Xg, si les hématies sont traitées aux enzymes protéolytiques.

s = stark/strong/fort
w = schwach/weak/faible
nt = nicht getestet / not tested / pas testé

Name/name/nom Adélia Gonçalves
RG 29 535
203-1

Blutgruppe + Antigene
Bloodgroup + antigens
Groupe de sang + antigènes
B+

Interpretation
Interpretation
Interprétation
Inconclusiva

Untersuchungsdatum
Examined on
Date de l'analyse
19/08/98

B004115 03.98 09.06.98/09.05

ANEXO C – ID-DiaCell I e II – Tabela de antígenos

DiaMed-ID
Micro Typing System

Pesquisa de anticorpos (combinada com prova reversa)
Antibody screening (combined with reverse grouping)
Detección de anticuerpos (combinada con prueba reversa)

ID-DiaCell I+II

Tabela de antígenos — Antigen-Table — Tabla de antígenos

	Rh-hr	Doador / Donor / Donante	Rh-hr						Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luth.		Di.	Antígenos especiais / Special types / Tipos especiales
			D	C	E	c	e	C^w	K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	P_1	M	N	S	s	Lu^a	Lu^b	Di^a	
I	CCD.ee	R_1R_1 023-0310	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	nt	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	
II	ccD.Ee	R_2r 073-0510	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	
																													Autocontrole / Autocontrol

Resultado / Result		
LISS/ Coombs	Enzima / Enzyme	4°C

As hemácias **ID-DiaCell I+II** (exceto as indicadas como «antígenos especiais») são:

ID-DiaCell cells **I+II** (except as indicated under «special types») are:

ID-DiaCell cells **I+II** (excepto las indicadas como «tipos especiales») son:

positivo/positive (+)

PP_1 P^k (Tj^a)
U

negativo/negative (0)

V^w (Verweyst)
Wr^a (Wright)

As colunas coloridas indicam os antígenos que são destruídos pelo tratamento com enzimas proteolíticas.

Shaded columns indicate antigens destroyed or diminished in reactivity by enzyme treatment.

Las columnas sombreadas indican los antígenos destruídos o con reactividad disminuida por tratamiento con enzimas.

s = forte/strong/fuerte
w = fraco/weak/débil
nt = não testado / not tested / no analizado

Set I+II 45151.07.1

LOT I 06111.07.1
II 06121.07.1

2005.12.12

Nome/name/nombre	Grupo sanguíneo + antígenos / Bloodgroup + antigens	Interpretação / Interpretation / Interpretación	Data do teste / Examined on / Examinado el

B003613 05.05 17.10.05

DiaMed Latino América S.A

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo