

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

**INCIDÊNCIA DOS PRINCIPAIS ANTÍGENOS
ERITROCITÁRIOS NOS DOADORES DE SANGUE DO
HEMOCE**

KALINA LÍGIA SILVA OLIVEIRA

FORTALEZA - CEARÁ

1996

KALINA LIGIA SILVA OLIVEIRA

TRABALHO: Incidencia dos Principais Antigenos Eritrocitarios nos Doadores de Sangue do HEMOCE.

NOTA: DEZ

COMENTARIOS:

Salvo um ou outro erro de correcao do trabalho, nao ha comentarios a fazer.

Comentar, sim, a excelencia do portugues, quer nos aspectos gramaticais, quer na linguagem.

O tema escolhido e tecnicamente muito importante, foi muito bem esquematizado e sua apresentacao e perfeita.

Os resultados encontrados se correlacionam, como citado, muito bem com os da literatura.

A discussao esta perfeita

Perfeita a conclusao.

O resumo em ingles e exemplar.

Otima bibliografia.

PARABENS !!!

KALINA LÍGIA SILVA OLIVEIRA

**INCIDÊNCIA DOS PRINCIPAIS ANTÍGENOS
ERITROCITÁRIOS NOS DOADORES DE SANGUE DO
HEMOCE**

**TRABALHO APRESENTADO COMO
REQUISITO FINAL DO CURSO DE
ESPECIALIZAÇÃO EM HEMATOLOGIA
E HEMOTERAPIA**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FORTALEZA - CEARÁ**

1996

**À DEUS, PRESENTE EM TODAS
AS ETAPAS DA MINHA VIDA.**

**AOS MEUS PAIS, INCENTIVO
CONSTANTE E APOIO NAS
HORAS DIFÍCEIS**

AGRADECIMENTOS

- A Dra. Vilany Franco, pela orientação, amizade, e ajuda na realização deste trabalho.

- Ao Professor Mário Rigatto pelo excelente Curso de Iniciação à Pesquisa que muito nos ajudou na análise estatística dos dados coletados.

- Aos Drs. Murilo Martins e Vânia F. Gomes pelo brilhante curso.

- Ao Dr. Ormando Rodrigues Campos pela orientação e disposição que contribuíram para realização deste trabalho.

- Aos funcionários do setor Fracionamento pela boa vontade e ajuda na obtenção de amostras para realização do trabalho.

- Aos funcionários do setor de Imunohematologia que também contribuíram na realização deste trabalho.

- E a todos que fazem o HEMOCE e que contribuem direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	07
2. REVISÃO DA LITERATURA	09
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
4. RESULTADOS	26
5. DISCUSSÃO	30
6. CONCLUSÃO	32
7. SUMMARY	33
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

INCIDÊNCIA DOS PRINCIPAIS ANTÍGENOS ERITROCITÁRIOS NOS DOADORES DE SANGUE DO HEMOCE. *

KALINA LÍGIA DA SILVA OLIVEIRA.**

RESUMO. 10

O estudo de amostras de populações humanas, visando a estimativa das freqüências dos genes que determinam os grupos sangüíneos eritrocitários, tem importância, notável em Antropologia, física, genética de populações e Medicina Legal. No caso específico dos grupos sangüíneos que possuem grandes antigenicidade, este estudo tem ainda grande valor para a imunohematologia, pois fornece indicações em termos probabilísticos das possibilidades de encontro de sangues compatíveis para fins de transfusão.

O presente trabalho teve como objetivo a pesquisa dos principais antígenos eritrocitários que não são classificados em nosso meio (dos doadores de sangue do HEMOCE), atendidos no período de 20.09.95 à 20.11.95. Foram estudados 150 doadores e de cada doador foi realizada a pesquisa dos seguintes antígenos eritrocitários, enquadrados nos principais sistemas sangüíneos:

Sistema Rh

D(Rh') C (rh'); c (hr'); E (rh); e (hr''); C^w;

Sistemas Lewis

Le^a, Le^b

Sistema Duffy

Fy^a, Fy^b

Sistema Kidd

Jk^a, Jk^b

Sistema MNSs

M; N; S; s

Sistema Kell

k, K, Kp^a, Kp^b

A pesquisa de cada antígeno citado foi realizada utilizando técnicas padronizadas pelo Laboratório GAMA (EUA) e seguidas rigorosamente todas as

especificações do referido fabricante; técnicas estas usadas como rotina nos centros imunohematológicos mais avançados.

Foi realizada a análise percentual de cada antígeno pesquisado e comparado os resultados com a Literatura, verificou-se, assim, que os valores percentuais de cada antígeno não apresentam variações significativas de uma região para outra. ✓

* Trabalho Realizado no Centro De Hematologia e Hemoterapia Do Ceará (HEMOCE)

** Farmacêutica Bioquímica aluna do X curso de especialização em Hematologia e Hemoterapia.

1. INTRODUÇÃO

10
2 A importância dos sistemas de grupos sanguíneos principalmente aqueles cujos antígenos são mais imunogênicos tem sido reforçado por vários autores, no que diz respeito às transfusões sanguíneas.]

O ideal seria se fazer a fenotipagem do doador com relação a todos os seus antígenos eritrocitários, pois só assim teríamos a consciência plena de que o ato transfusional ocorreria com o mínimo de aloimunizações.

Em nosso meio a Fenotipagem dos doadores é realizada de forma não automatizada e desta maneira fica difícil se obter o perfil de todos os seus antígenos eritrocitários; sabemos que o sistema ABO é o responsável pelos acidentes transfusionais mais severos e por isso temos que dá prioridades ao mesmo; mas é importante, também, avaliarmos o doador com relação a todos os antígenos do sistema Rh, e também dos outros sistemas sanguíneos que foram pesquisados neste trabalho; Quanto ao sistema Rh, realizamos em nosso meio a classificação do doador com relação apenas ao antígeno D por ser considerado o mais imunogênico nas transfusões, entretanto sabemos que quando se trata de doadores de sangue seria imprescindível a utilização dos soros anti CDE. Deve ser usados também os soros anti-C e anti-E para que se possa considerar o doador negativo para o sistema RH, embora os receptores para transfusão sejam designados de negativos ou positivos somente em relação ao antígeno D. A grande maioria dos indivíduos D negativos são de fenotipo cde /cde. De acordo com o que foi exposto um indivíduo C ou E positivo, e D negativo, pode ser considerado Rh negativo como receptor em transfusão, mas positivo como doador, a razão disto, obviamente, é evitar uma imunização para os antígenos C e/ou E em pacientes receptores c de/ cde.⁽³⁸⁾

3 O verdadeiro doador Rh negativo deve ser CDE negativo, sendo que esta classificação não é realizada como rotina em nosso meio, e é surpreendente verificar que foram poucos os trabalhos que analisaram o sistema Rh com o auxílio dos cinco anti-soros.

Em relação aos outros sistemas sanguíneos analisados neste trabalho, todos merecem importância e uma vez que não são determinados como rotina, o

risco de que ocorra imunizações, principalmente em pacientes politransfundidos, se torna maior.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os antígenos são substâncias capazes de induzir à formação de um anticorpo e de se combinar com ele. Apresentam duas características importantes que são: o poder imunogênico (capacidade de formação) de anticorpos correspondentes) e especificidade, que exprime o grau de afinidade entre o antígeno e o anticorpo.

Em imunohematologia eritrocitária as respostas imunitárias são via de regra, do tipo citotóxico que equivalem a ação direta dos anticorpos sobre as células portadoras dos antígenos correspondentes.

Os antígenos eritrocitários pertencem a categoria dos aloantígenos, que são os antígenos que diferenciam os indivíduos de uma mesma espécie.

Geralmente os antígenos são macromoléculas de natureza protéica com peso molecular superior a 1.000. Os polissacarídeos, os lipídios e mesmo os ácidos nucleicos podem ser antigênicos.

Os antígenos de grupos sanguíneos eritrocitários são glicoproteínas, ou glicolipídios e lipoproteínas da membrana globular.

A especificidade de um antígeno é sua propriedade de ser reconhecido pelo anticorpo produzido contra ele e não por outro. Assim o antígeno A (sistema ABO), só é reconhecido pelo anticorpo anti-A.

Todas as técnicas de determinação dos grupos sanguíneos são baseadas nesta propriedade fundamental.

Chamamos determinante antigênico, a região da superfície do antígeno que entra em combinação com o anticorpo. Assim, no caso dos grupos sanguíneos ABO, H, Lewis, e P a especificidade está ligada aos açúcares terminais, acoplados a moléculas complexas, outras especificidades são protéicas (antígenos do sistema Rhesus).

Existem antígenos que são os produtos primários da ação gênica (antígenos protéicos). Ex.: Sistema MnSs e Rhesus. Em outros a especificidade é determinada pela fixação de açúcares sobre uma substância precursora da membrana (lipídios ou glicoproteínas) é assim para os antígenos dos sistemas ABO, Hh, e Lewis. Essas especificidades não são produtos primários dos genes

ABO, H ou Lewis mas o resultado da atividade específica de enzimas, as glicosiltransferases que são produtos primários desses genes.

A transmissão hereditária dos grupos sanguíneos obedece às regras habituais da genética mendeliana o número de cromossomos por célula é de 46,22 pares autossomos e um par de cromossomos sexuais.

A grande maioria dos antígenos de grupos sanguíneos está condicionada por genes autossômicos ⁽³⁰⁾.

Dentre os vários sistemas de grupos sanguíneos, os sistemas ABO e Rh são aqueles que merecem prioridade máxima em estudos populacionais, pois são sistemas que possuem grande antigenicidade sendo responsáveis pela maioria das reações transfusionais verificadas em nosso meio. Apesar disto, não podemos deixar de dá importância aos outros sistemas que são causas também de acidentes transfusionais.

SISTEMA RHESUS (Rh)

1. Histórico

Em 1939, Levine e Stetson publicaram a primeira descrição de doença hemolítica do recém-nascido, embora não tivessem determinado o anticorpo causador.

O fato deste anticorpo e de outros a ele relacionados terem sido imputados como causadores de doença hemolítica do recém-nascido e de reações transfusionais, fez do sistema Rh um sistema quase tão importante, em imunohematologia, quanto o sistema ABO. Mesmo após 40 anos de estudos este sistema é ainda mal compreendido devido a uma nomenclatura imprecisa, ao grande número de antígenos e dados bioquímicos incompletos.

Considera-se que os antígenos do sistema Rh são necessários à função e integridade da membrana eritrocitária; os antígenos D, C, c, E, e, são os que têm importância clínica.

2. Genética

A mensagem genética do sistema Rh encontra-se em um locus situado no braço curto do cromossomo 1. Ao contrário do sistema ABO (onde os antígenos estão expressos em todas as células do organismo), a mensagem dos genes Rh até o momento, só foi demonstrado sobre as hemácias ⁽⁰³⁾.

3 - Fenótipos e genótipos Rhesus:

Na rotina dos laboratórios de Imunohematologia mais avançados utilizam-se os cinco anti-soros (anti-D, anti-C, anti-c, anti-E, anti-e) com os quais é possível se determinar o fenótipo dos indivíduos.

4 - Poder imunogênico.

Os Antígenos C, c, E, e, são menos imunogênicos que o D, no que se refere à capacidade de provocar resposta imune.

Depois do antígeno D, o mais potente é o c, seguido pelo E, sendo este último muitas vezes de ocorrência natural.

5 - Anticorpos Rhesus.

A maioria resultam de imunização por incompatibilidade materno-fetal ou transfusão, reagem em meio protéico ou enzimático e ainda pelo teste com antiglobulina humana.

Os anticorpos formados podem ser detectados muitos anos após a imunização. Quando há uma diminuição no título de anticorpos e o indivíduo é exposto novamente ao mesmo antígeno, ocorre uma resposta secundária rápida, com aumento da titulometria. São geralmente imunoglobulinas IgG, não fixadoras de complemento. Quando a reação antígeno-anticorpo ocorre "in vivo" o quadro clínico é de hemólise extravascular, com presença de anemia tardia e icterícia. A exceção do anti-D no sistema Rh é freqüente a presença de anticorpos contra antígenos compostos (Ex.: anti-CD, anti-CDE, anti-Ce) ⁽³⁰⁾.

SISTEMA KELL

✓ 1. Histórico.

Em 1946, logo após o advento do teste de antiglobulina humana, Coombs, Mourant e Race descreveram um anticorpo detectado no soro de uma mulher a Sra. Kell a qual parecia ser responsável pela DHRN de seu filho. A partir daí sugeriram muitos outros antígenos pertencentes ao sistema Kell. ⁽³⁰⁾

✓ São conhecidos, hoje 24 antígenos do sistema, estes são distribuídos em 4 e, possivelmente, 5 Conjuntos antitéticos, com antígenos de baixa frequência opondo-se a antígenos de alta frequência ⁽¹¹⁾.

✓ 2. Genética.

Os fenótipos Kell refletem os resultados da interação entre os produtores de dois genes independentes. Um gene é autossômico e seu cromossoma portador é ainda desconhecido. O outro gene é ligado ao X e está localizado no braço curto deste cromossomo. Todos os antígenos do sistema Kell são codificados pelo gene autossômico, à exceção do antígeno K_x que é carregado pelo cromossoma X. A ausência da proteína K_x, está associada a alterações clínicas que constituem a síndrome de Mc Leod ⁽⁰²⁾.

✓ 3. Antígenos.

Os Antígenos do Sistema Kell são bem desenvolvidos e muito potentes ao nascimento, considerando-se o Kell (K) como o segundo mais potente, depois do D. Em relação a este sistema as reações do antígeno-anticorpo não são afetados pelo tratamento enzimático das hemácias. As hemácias estocadas podem apresentar diminuição de potência do antígeno Kell (K). K e Kp^a algumas vezes mostram efeito de dosagem. Todas as hemácias normais tem também o antígeno Ku.

A maioria dos antígenos Kell é de alta e baixa frequência.

✓ 4. Anticorpos.

Os Anticorpos do sistema Kell resultam, via de regra, de uma Alo-imunização transfusional ou Materno-fetal. São de classe I g G, geralmente IgG₁ e revelados pela reação de coombs indireto. Na maioria das vezes são de especificidade anti-K devido ao poder imunogênico e a frequência deste antígeno. Cerca de 5% dos indivíduos Kell negativos desenvolvem anti-Kell quando transfundidos com apenas uma unidade de sangue Kell positivo.

Os anticorpos anti-k (Anti-cellano) são muito raros, já que somente 0,2% da população não possuem antígeno cellano. Os anticorpos contra os demais antígenos do Sistema Kell são também muito raros por que estes antígenos são de alta ou baixa frequência, tornando mínimas as chances de imunização.

✓ 5. Aspectos de Importância Clínica.

Os anticorpos do sistema Kell são geralmente potentes e podem causar graves reações hemolíticas por transfusão incompatível. Por essa razão, as pessoas imunizadas contra algum antígeno do sistema Kell devem ser transfundidas somente com sangue negativo para aquele antígeno. Fica assim constatado mais uma vez a importância da realização de fenotipagem para todos os antígenos que possam causar problemas para a saúde do paciente que vai ser transfundido; Apesar disto ainda há dificuldade de serem encontrados os sangues negativos para antígenos de alta frequência, o que constitui mais um sério problema nas transfusões. ⁽³⁰⁾

✓ SISTEMA DUFFY

1. Histórico

Em 1950, Cutbesh, Mollison e Parkin descobriram um anticorpo imune no soro de um homem chamado Duffy. Devido ao nome do paciente, este anticorpo recebeu o nome de anti-Fy^a e seu antígeno corresponde de Fy^a. Um ano mais tarde, Ikin, Mourant e outros descrevem o anticorpo anti-Fy^b. Recentemente, surgiram outros anticorpos do sistema Duffy ⁽¹¹⁾.

2. Genética.

O Sistema Duffy apresenta três genes alelos possíveis que são responsáveis pelos quatro fenótipos mais comuns do sistema Duffy. São eles Fy^a , Fy^b e Fy (Fy).

Os genes Fy^a e Fy^b são alelos codominantes e o gene Fy parece ser um amorfo.

Verificam-se grandes diferenças de frequências dos fenótipos do sistema Duffy em vários grupos raciais. A maioria da população negra é Fy ($a-b-$), fenótipo muito raro nos brancos. ⁽³³⁾

3. Antígenos.

Os Antígenos do sistema Duffy tem sido encontrados somente nas hemácias humanas. Fy^a e Fy^b parecem bem desenvolvidos ao nascimento.

Na raça branca, exceto os casos excepcionais de indivíduos que não apresentam os antígenos Fy^a e Fy^b , o sistema Duffy apresenta três fenótipos. O fenótipo "silencioso" Fy ($a-b-$) excepcional na raça branca, é freqüente na raça negra. ⁽¹¹⁾

4. Anticorpos

Anti Fy^a e Anti Fy^b .

Embora o antígeno Fy^a esteja presente em grande parte dos indivíduos brancos e na maioria dos negros, a produção de Anti- Fy^a é relativamente rara. Quase todos os anticorpos anti- Fy^a que foram descritos são de natureza imune, do tipo IgG e requerem soro anti-Globulina humana para serem detectados.

O anticorpo anti- Fy^b é ainda mais raro do que anti- Fy^a .

5. Aspecto de importância clínica

Mesmo que os antígenos do sistema Duffy não pareçam ser potentes, anti- Fy^a é encontrado às vezes no laboratório. Quando houver suspeita de anticorpos do sistema Duffy, deve-se usar soro fresco, ou soro com complemento adicionado, sendo que as habilidades de alguns destes anticorpos, fixando complemento, ajudam em sua identificação pelo teste de coombs indireto.

✓ 6. Transfusões.

Os indivíduos imunizados para os antígenos Fy^a e, ou Fy^b devem ser transfundidos com sangue negativo em relação a eles. Os sangue Duffy negativo são encontrados facilmente nas populações negras. Anti- Fy^a e Anti- Fy^b podem causar graves reações hemolíticas transfusionais. ⁽³⁰⁾

✓ SISTEMA KIDD

✓ 1. Histórico

O sistema Kidd foi descoberto em 1951 pela presença de um anticorpo no soro de uma mulher (Sra. Kidd), cujo filho apresentou doença hemolítica do recém-nascido, o nome do recém-nascido era John Kidd. Por essa razão o novo anticorpo foi chamado de anti JK^a e o antígeno, JK^a . Em 1953, Plaut e outras comunicaram o alelo correspondente, Jk^b ⁽²⁷⁾.

✓ 2. Genética.

A genética do sistema Kidd é simples. Os genes Jk^a , Jk^b e Jk são alelos que se excluem após meiose. O Jk parece amorfo.

Há evidência de que o gene responsável pela expressão do sistema Kidd se localiza no cromossomo 7.

O Fenótipo Jk (a- b-) é raríssimo nas raças brancas e negras. Tal Fenótipo somente foi descrito em indivíduos de origem oriental. No Brasil encontraram-se cinco indivíduos JK (a- b-) entre 88 indivíduos de Mato Grosso. ⁽³⁶⁾

✓ 3. Antígenos.

Os Antígenos do Sistema Kidd podem ser encontrado nas hemácias e estão ausentes nos Neutrófilos, Linfócitos, Monócitos e Plaquetas.

Encontraram-se bem desenvolvidos ao nascimento. A homozigose para o Jk^a , determina um efeito de dose quando as células são testadas com o soro anti- JK^a . Os antígenos deste sistema não são suprimidos pelo tratamento das hemácias

em enzimas proteolíticas. Ao contrário, o Jk^a tem suas reações exacerbadas por estas técnicas.

✓ 4. Anticorpos.

Os Anticorpos do sistema Kidd são de natureza imune, isto é, resultantes de transfusões ou gestações, os de ocorrência natural são muito raros.

O aparecimento destes anticorpos é comum em indivíduos imunizados pelos antígenos Kidd. São geralmente encontrados em associação com outros anticorpos. Embora raros exemplos sejam capazes de aglutinar hemácias suspensas em salina, a maioria deles é melhor detectada pelo teste de coombs indireto.

Uma característica sorológica importante desses anticorpos é sua habilidade de ligar complemento, sendo portanto, detectado pelo teste indireto de coombs com soro de largo espectro com antibelaglobulinas. Embora raramente ocorra hemólise in vitro no meio salino, a detecção do complemento ligado as hemácias é extremamente importante na identificação dos anticorpos do sistema Kidd. Por essa razão deve-se sempre usar nos testes soro fresco ou adicionar complemento humano.

✓ 5. Aspecto de importância clínica.

Tendo em vista o grande perigo que se representam os anticorpos do sistema Kidd (são hemolíticos) e por serem muitas vezes acompanhados de outros anticorpos é essencial que o laboratório do bando de sangue seja capaz de detectá-los e identificá-los. Quando um indivíduo tem anticorpos múltiplos, muitas vezes é difícil o reconhecimento de anticorpos do sistema Kidd.

✓ 6. Transfusões

Ambos os anticorpos anti Jk^a e anti Jk^b são capazes de causar graves reações transfusionais.

Estes, especialmente o anti Jk^a, são dependentes da presença de complemento ao qual se ligam in vivo, podendo ocorrer rápida destruição das células sanguíneas.

As vezes, a concentração dos anticorpos do sistema Kidd cai rapidamente in vivo depois do último estímulo e especialmente após reação transfusional. Pode acontecer que a quantidade não seja suficiente a ser detectada, resultando em falso-negativos nos testes de compatibilidade.

A produção rápida destes anticorpos, depois de estímulo secundário é comum e pode causar graves reações hemolíticas e retardadas. ⁽³⁰⁾

SISTEMA MNSsU

1. Histórico

O sistema MNSsU foi o segundo a ser descoberto. Os antígenos M e N o foram por Landsteiner e Levine, em 1927, por meio de imunização de coelhos com hemácias humanas.

Em 1947, Waslh e Montgomery deram a conhecer novo antígeno S, posteriormente anexado a este sistema, pois ficou evidenciado que a ele estava intimamente relacionado. Atualmente, conhece-se grande número de antígenos do sistema MNSsU.

2. Genética

Acredita-se que os genes que codificam para os antígenos deste sistema estejam localizados no cromossoma 2 ou 4.

O sistema MNSs clássico é baseado na existência de quatro haplotipos (conjunto de genes de uma grande unidade genética), formados por dois pseudo-alelos (elemento da unidade genética): M, N, S, s que produzem seus antígenos respectivos, de modo semelhante ao complexo CDE / cde do sistema Rhesus.

Os genes M e N se excluem logo após a meiose; são alelos codominantes que produzem os antígenos M e N. Os genes S e s são codominantes e produzem os antígenos S e s. Os genes S e s são pseudo-alelos de M e N.

Com relação ao sistema MNSs, o genótipo de um indivíduo pode ser de deduzido pelo fenótipo obtido em testes laboratórios com auxílio de soros específicos anti-M, anti-N, anti-S, anti-s. ⁽¹¹⁾

3. Antígenos.

Os antígenos deste sistema são encontrados nas hemácias humanas. O antígeno U, além de presente nas hemácias, pode ser demonstrado nos neutrófilos. Os antígenos M e N parecem ser glicoproteínas e são destruídos por enzimas proteolíticas. O antígeno S é parcialmente danificado por tratamento semelhante. Os antígenos M, N, S, s e U aparecem bem desenvolvidos ao nascimento. Os antígenos M e N também se encontram em céls. Vermelhas alguns macacos.

Os antígenos M e N mostram efeitos de dosagem ao reagirem com os soros anti-M e anti-N. Assim anti-M reage mais fortemente com células MM do que com as MN. O mesmo acontece em relação ao antígeno N. Efeitos de dosagem semelhantes podem ser observados com os antígenos S e s. Sugeriu-se que o antígeno N possa ser a substância precursora do antígeno M.

A incidência do antígeno U parece ser quase universal. Há referência a raros casos de sangue U negativos e sempre em indivíduos de raça negra. Todos as hemácias U negativas encontradas são também S(-) s(-) e chamadas S^us^u. Contudo nem todas as células S(-) s(-) são U(-).

Os antígenos M, N, S, s, U podem estar associados com os antígenos Rh como é visto pelas reações das células Rh-Null do tipo supressor com os anticorpos do sistema MNSsU.

4. Anticorpos.

Os anticorpos anti-M e anti-N são via de regra naturais e irregulares. São da classe IgM (às vezes IgG) ativos a baixas temperaturas (sobretudo a 4°C) e em p^h acidificados de 6,5.

Estes anticorpos mostram acentuado efeito de dose. Alo-anticorpos da classe IgG e ativos a 37°C, são pouco freqüentes, são principalmente anti-s.

A maioria dos reagentes comerciais utilizados na detecção dos antígenos M e N é produzida por imunização em coelhos. Os extratos de sementes de vicea Graminea contém uma lectina com atividade anti-N, muito utilizada na rotina laboratorial. ⁽¹¹⁾

5. Aspecto de Importância clínica.

Os anticorpos do sistema MNSsU são raramente encontrados na rotina laboratorial de bando de sangue, sendo que o anti-M é o mais comum. As reações dos testes de laboratório podem ser reforçadas, fixando-se o p^h do meio em 6,0.

Em virtude dos anticorpos anti-M e anti-N serem ativos em baixas temperaturas, merecem atenção especial aqueles pacientes portadores destes anticorpos em vigência de cirurgia sob hipotermia.

Indivíduos que fazem diálise em máquinas esterilizadas com formaldeído podem formar "anti-N like", que parece não ter importância transfusional mas pode ser responsável pela rejeição de rins transplantados.

6. Transfusões.

A incompatibilidade dos anticorpos com os antígenos MNSsV é apontada como causa de reações transfusionais inclusive algumas graves. Quando estes anticorpos estão presentes ou há imunização primária, o sangue a ser transfundido deve ser negativo para o antígeno correspondente ao anticorpo encontrado. ⁽³⁰⁾

SISTEMA LEWIS

1. Histórico.

O sistema Lewis apresenta particularidade única entre todos os sistemas de grupos, pelo fato de seus antígenos não estarem inteiramente interligados aos glóbulos vermelhos, mas sim a eles adsorvidos.

Os fatores ou substâncias Le^a e Le^b foram descobertos em épocas diferentes, e a princípio pensou-se que fossem dois antígenos distintos condicionados por um par de genes alelos (Le^a e Le^b). Essa concepção foi abandonada e agora sabemos que estes fatores representam especificidades controladas pelo gene Le , seu alelo Le e outros genes.

2. Genética

O gene Le quando presente em homozigose ou heterozigose (LeLe ou Lele), age sobre um substrato transformando-o num fator Le^a. Este substrato é a mesma substância precursora que, sob a ação do gene H é transformada em substância H. A substância Le^a está presente no plasma e nas secreções e subsequente nas hemácias. O fenótipo destas pessoas é escrito Le (a+b-). O gene alelo le é considerado amorfo. No genótipo homozigoto Lele, nenhuma substância Le^a é produzida e o fenótipo é Le (a-b-).

A produção do fator Le^b, além de ser dependente da presença de pelo menos em gene Le, é dependente também da presença do gene H do sistema ABO e do gene Se (que determina a presença das substâncias ABH nas secreções). Pensa-se que Le^a é transformado em Le^b na presença de pelo menos um gene H e um gene Se.

A Conversão do fator Le^a em Le^b não é sempre completa. As pessoas portadoras de Le^b trazem alguma substância Le^a nas secreções, porém no plasma, ela é geralmente em quantidade insuficiente para ser absorvida às hemácias. Portanto as hemácias desses indivíduos podem ser classificados como Le (a-b+). ou em casos raros Le (a+b+).⁽³⁰⁾

3. Antígenos

No recém-nascido, os antígenos Lewis são evidenciáveis nas secreções, e só podem ser determinados com segurança nas hemácias, após 2 a 3 anos de idade, sendo que o antígeno Le^a aparece mais rapidamente que o Le^b.

Os indivíduos A₁ possuem menor quantidade de antígenos Lewis do que o A₂, que por sua vez os tem em menor quantidade que os indivíduos do grupo 0. Isto parece refletir a competição em relação à substância precursora. Os antígenos Lewis devem ser pesquisados em sangue de estocagem recente, pois a estocagem prolongada enfraquece as reações (aglutinação), provavelmente em consequência da eluição da substância fixada.⁽¹¹⁾

✓ 4. Anticorpos

Os anticorpos do sistema Lewis, são geralmente anticorpos naturais e aparecem portanto nas pessoas cujo respectivo antígeno está ausente.

Os anticorpos mais comuns do sistema Lewis são anti Le^a e anti Le^b , que foram descritos respectivamente por Mourant em 1946 e Anderson em 1948.

Estes anticorpos podem ser achados separadamente como na maioria das vezes ou juntos, nos indivíduos $Le(a-b-)$ anti- Le^a e anti- Le^b pode ser formado pelos indivíduos $Le(a+b-)$ ao passo que anti- Le^a não o pode por indivíduos $Le(a-b+)$ parece ser explicado pelo fato de o antígeno Le^a não ser desconhecido a estes últimos tanto que aparece em suas secreções. Certos autores acham que o antígeno Le^b é formado a partir de Le^a o que expressaria por que os indivíduos $Le(a-b+)$ mas formam anti- Le^a .⁽³⁰⁾

✓ 5. Aspecto de importância clínica.

O encontro de anticorpos para o sistema Lewis não é incomum nos laboratórios de imuno-hematologia. Tanto anti- Le^a quanto anti- Le^b podem causar reações transfusionais. Como anticorpos líticos, são responsáveis por graves crises hemolíticas.

Não importa, se um ou ambos anticorpos estejam presentes; devemos utilizar somente sangue $Le(a-b-)$. Entretanto, outras alternativas podem ser úteis em caso de necessidade de transfusões:

- Estando os antígenos do sistemas Lewis presentes no plasma, pode-se lançar mão da neutralização dos anticorpos contidos no soro do paciente antes da transfusão⁽¹³⁾; Assim a transfusão incompatível pode ser feita e as hemácias transfundidas geralmente sobrevivem por tempo normal, embora o anticorpo com o tempo possa reaparecer.

- A transfusão de hemácias incompatíveis, quanto ao sistema Lewis, parece não ser prática muito arriscada, pois os antígenos destas eluem-se com grande facilidade no plasma do paciente, tornando menos grave as reações de hemácias que possam ocorrer.

Esses dois fenômenos tornam admissível o uso de sangue Lewis, incompatível para transfusões. Tal decisão contudo é tomada somente pela não

disponibilidade de sangue Le(a-b-) ou no caso de dificuldade de sua obtenção e evidentemente de acordo com o quadro clínico do paciente. Esta prática é comum em alguns hospitais e pode eliminar grande desperdício ou consumo de tempo na procura de sangue compatível, em caso de urgência. Deve-se mencionar que ela não deve ser feita em casos de anticorpos líticos.⁽³⁰⁾

✓ 3. MATERIAL E MÉTODOS

✓ Foram estudados 150 doadores que se apresentaram no Hemoce no período de 20 de setembro a 30 de novembro de 1995, todos após terem sido triados por equipe médica e considerados aptos à doação.

O estudo foi realizado no laboratório de Imunohematologia, as amostras de sangue foram coletadas diretamente das bolsas de doação depois das mesmas terem suas sorologias confirmadas como negativas. As amostras foram tomadas aleatoriamente, ou seja não havia nenhum critério de escolha para as mesmas. Logo após a realização dos testes era feito um apanhado dos dados pessoais do doador diretamente da ficha de doação, dados estes referentes apenas a idade, sexo, e cor da pele.

✓ Da amostra de sangue retirada da bolsa era preparada uma suspensão de hemácias à 4% com salina fisiológica, concentração esta indicada pelo fabricante dos reagentes utilizados; em seguida era distribuída uma gota de suspensão em vinte tubos de ensaio para a pesquisa dos vinte antígenos distribuídos nos principais sistemas de grupos sanguíneos objeto de estudo deste trabalho. Cada antígeno a ser pesquisado obedecia a uma técnica diferente, já padronizada e seguida rigorosamente todas as especificações do fabricante.

✓ Para os antígenos do sistema Rhesus pesquisados que foram os seguintes: C; c; E; e; C^W obedecemos a seguinte técnica:

- Adicionamos 1 gota de anti-soro da marca GAMA que queremos pesquisar, no caso 1 gota anti-C ou anti-c, anti-E, anti-e, anti-C^W em cada tubo de ensaio que como já foi falado continha 1 gota, da suspensão de hemácias.

- Misturamos bem o anti-soro que queremos determinar com a suspensão de hemácias, virando o tubo lentamente de um lado para o outro de 1 a 2 minutos.

- Em seguida centrifugamos durante 15 segundos a 3,400 rpm.

- Retiramos os tubos com cuidado da centrifuga e resuspendemos gentilmente o botão de hemácias, examinando a presença ou não de aglutinação. A presença de aglutinação indica que naquele sangue contém o antígeno que

procuramos. Os resultados negativos, antes de indicar a ausência do antígeno procurado foram incubados a 37°C durante 15 minutos, em seguida centrifugado e verificado mais uma vez a presença ou não de aglutinação, a partir daí podemos garantir a ausência ou presença do antígeno procurado.

✓ Para os antígenos do sistema Duffy Fy^a , Fy^b . Para os antígenos do sistema Kell K, k, Kp^a , Kp^b , Para os antígenos do sistema Kidd, JK^a Jk^b , e para os antígenos "S" e "s" do sistema MNSs; obedecemos a seguinte técnica.

- Adicionamos 1 gota do anti-soro específico para cada antígeno que queremos determinar em cada tubo de ensaio que já contém 1 gota de suspensão de hemácias.

- Misturamos bem, e em seguida incubamos a 37°C durante 30 minutos.

- Em seguida lavamos esta mistura três vezes com salina fisiológica, decantando depois de cada lavagem e resuspendendo o botão de hemácias. Depois da última lavagem e da decantação o tubo de ensaio é mantido de "boca para baixo" e é então completamente enxugado; deixando escorrer toda a umidade.

- É então adicionadas 3 gotas de soro anti-globulina humana poliespecífico também do laboratório GAMA, misturando-se bem.

- Em seguida centrifugamos durante 15 segundos a 3.400 rpm, resuspendemos o botão de hemácias gentilmente e é então verificado a presença ou não de aglutinação, e assim podemos concluir pela presença ou não do antígeno pesquisado.

Para os antígenos Le^a e Le^b do sistema Lewis obedecemos a seguinte técnica:

- Adicionamos 1 gota de cada anti-soro que se quer determinar no tubo de ensaio que já contém a suspensão de hemácias;

- Misturamos bem e deixamos incubados a temperatura ambiente (23°C) por 10 minutos.

- Centrifugamos por 15 segundos a 3,400 rpm, resuspendemos o botão de hemácia e verificamos a presença ou não de aglutinação, concluindo-se assim pela presença ou ausência do antígeno pesquisado.

✓ Para os antígenos M e N do sistema MNSs obedecemos a seguinte técnica:

- Adicionamos 1 gota de cada anti-soro que se quer determinar nos tubos de ensaio que já contém a suspensão de hemácias.
- Misturamos bem e incubamos à temperatura ambiente (23°) por 15 minutos.
- Centrifugamos por 15 segundos a 3,400 rpm resuspendemos o botão de hemácias e verificamos a presença ou não de aglutinação, concluindo-se assim pela presença ou ausência do antígeno pesquisado.

✓ **Materiais e Equipamentos Utilizados**

- Tubos de ensaio
- Salina fisiológica
- Pipetadores automáticos
- Pipetas pasteur
- Centrífugas
- Banho-maria
- Estantes para tubos de ensaios
- Anti-soros: Anti-C / Anti-c / Anti-E / Anti-e / Anti-C^W / Anti-Fy^a / Anti-Fy^b / Anti-Le^a / Anti-Le^b / Anti-k / Anti-K / Anti-Kp^a / Anti-Kp^b / Anti-M / Anti-N / Anti-S / Anti-s / Anti-JK^a e Anti-JK^b todos provenientes de GAMA Biologicals, Inc.

4. RESULTADOS

Estudamos 150 doadores, com idade variando de 18 a 57 anos, predomínio de brancos e pardos, sobre negros (Tabelas 8, 9 e 10).

Os resultados oriundos da análise dos 150 doadores, no que diz respeito a distribuição de frequências dos principais sistemas de grupos sanguíneos, estudados, que foram o objeto de pesquisa deste trabalho, estão distribuídos nas tabelas de 1 a 6.

Na tabela 1, estão relacionados os principais fenótipos do sistema Rhesus e suas frequências na população em estudo.

Nas tabelas subsequentes, temos a distribuição fenotípica e suas frequências nos sistemas; Duffy, Kidd, Lewis, MNSs e Kell respectivamente.

Tabela - 1 - Frequência dos fenótipos do sistema Rh em uma amostra de 150 doadores de sangue do HEMOCE

FENOTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
cCDee	31,6
CCDee	20,0
CcDEe	10,6
ccDEe	12,6
ccDEE	2,6
ccDee	2,5
ccee	20,1
TOTAL	100,0

Tabela - 2 - Frequência dos Fenótipos do sistema Duffy em uma amostra de 150 doadores de sangue do HEMOCE

FENOTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
Fy (a+ b+)	42,0
Fy (a- b+)	29,0
Fy (a- b-)	4,0
Fy (a+ b-)	25,0
TOTAL	100,0

Tabela - 3 - Frequência dos Fenótipos do Sistema Kidd em uma amostra de 150 doadores de sangue do HEMOCE

FENOTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
JK (a+ b+)	52,0
JK (a- b+)	20,0
JK (a+ b-)	28,0
JK (a- b-)	0
TOTAL	100,0

Tabela - 4 - Frequência dos Fenótipos do Sistema Lewis em uma amostra de 150 doadores de sangue do HEMOCE

FENOTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
Le (a+ b+)	0
Le (a- b+)	72,0
Le (a+ b-)	18,0
Le (a- b-)	10,0
TOTAL	100,0

Tabela - 5 - Frequência dos Fenótipos do Sistema MNSs em uma amostra de 150 doadores de sangue do HEMOCE

FENOTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
(M+ N-)	35,0
(M - N+)	19,0
(M+ N+)	46,0
(M- N-)	0
TOTAL	100,0

FENOTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
S+ s+	38,0
S+ s-	8,0
S- s+	54,0
S- s-	0
TOTAL	100,0

Tabela - 6 - Frequência dos Fenótipos do Sistema Kell em uma amostra de 150 doadores de sangue do HEMOCE

FENOTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
Kp (a+ b+)	1,0
Kp (a- b-)	0
Kp (a+ b-)	0
Kp (a- b+)	99,0
TOTAL	100,0

FENOTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
K- k+	93,0
K+ k+	7,0
K+ k-	4,0
TOTAL	100,0

104 → ?

Tabela - 8 - Distribuição dos doadores segundo o sexo ✓

SEXO	Nº DE DOADORES	%
Masculino	137	91,90
feminino	13	8,10
TOTAL	150	100,0 ✓

Tabela - 9 - Distribuição dos doadores segundo a idade

IDADE (ANOS)	Nº DE DOADORES	%
18 ---- 25	45	29,64
25 ---- 32	51	33,55
32 ---- 39	27	18,57
39 ---- 46	15	10,10
46 ---- 57	12	8,14
TOTAL	150	100,0 ✓

Tabela - 10 - Distribuição dos doadores segundo a cor da pele

COR	Nº DE DOADORES	%
Branco	46	30,90
Pardo	94	62,50 ✓
Negro	10	6,50
TOTAL	150	100,0 ✓

109,4 9

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O estudo dos grupos e sistemas sangüíneos, suas implicações médico-legais, clínicas e antropológicas tem ocupado inúmeros pesquisadores ao longo dos anos desde que Karl Landsteiner descobriu os antígenos eritrocitários no início do século, possibilitando que mais de 300 antígenos eritrocitários sejam hoje conhecidos e estudados em relação a suas características químicas, genéticas e imunológicas.⁽¹⁴⁾

Como já foi comentado no decorrer do trabalho seria muito importante a classificação dos doadores de sangue não só com relação ao sistema, ABO e Antígeno D do Sistema Rh, classificação esta de rotina no nosso Hemocentro, mas também dos outros sistemas sangüíneos eritrocitários que também são causas de acidentes transfusionais.

Nosso estudo procurou calcular a prevalência dos principais antígenos eritrocitários que não fazem parte da rotina imunohematológica do nosso hemocentro, mas que são considerados importantes para segurança do ato transfusional; pesquisamos um total de vinte antígenos que estão enquadrados nos seguintes sistemas sangüíneos:

Sistema Rh

Antígenos Pesquisados: C / c / E / e / C^w

Sistema DuFFy

Antígenos Pesquisados: Fy^a / Fy^b

Sistema Lewis

Antígenos Pesquisados: Le^a / Le^b

Sistema Kidd:

Antígenos Pesquisados: Jk^a / Jk^b

Sistema Kell

Antígenos Pesquisados: k / K / Kp^a / Kp^b

Sistema MNSs

Antígenos Pesquisados: M / N / S / s

Os resultados das freqüências de cada antígeno pesquisado na amostra estudada foi comparada com os resultados encontrados na literatura; de acordo

com Pelliza, S. M; Berthier, M; E. O. Gonzaga, a população em geral apresenta os seguintes Fenótipos do sistema Rh: 34% CcDee; 17,8% CCDee; 13,5% CeDee; 11,7% ccDee; 2,3 ccDEE; 2,1 ccDee, e 15,0% ccee, relacionamos com nossos resultados que de acordo com a tabela 1 encontramos percentagens que se aproximam daquelas encontradas na literatura, levando em conta o número de amostras.

De acordo com a literatura estudada encontramos as seguintes frequências dos fenotipos do sistema Duffy em Brancos: 17,0 Fy(a+ b-); 49,0 Fy(a+ b+); 34,0 Fy(a- b+); raros indivíduos apresentam a ausência dos dois antígenos do sistema Duffy⁽³³⁾. Em se tratando de indivíduos negros estas percentagens são alteradas; mas como não estabelecemos critérios de escolha da nossa amostra não podemos relacionar a frequência de negros com os fenótipos do sistema Duffy, lembramos que de acordo com a tabela 10 tivemos um predomínio de brancos e pardos em relação aos negros; comparando estas frequências observadas na literatura consultada com nossos resultados (ver tab. 2) notamos que as mesmas se aproximam da literatura.

As frequências dos fenótipos do sistema, Kidd que encontramos na literatura consultada são as seguintes: 28,0 Jk (a+ b-); 49,0 Jk (a+ b+); 23,0 Jk (a- b+); 0 Jk (a- b-)⁽³⁰⁾, comparando estes valores com os encontrados na nossa amostra (tab. 3), estes se aproximam dos encontrados na literatura. Esta correlação entre os valores encontrados na literatura consultada^(2, 9, 11, 30) e os que observamos na nossa amostra se aproximam em todos os outros sistemas estudados, sistema Lewis (tab. 4); sistema MNSs (tab 5); sistema Kell (tab. 6).

CONCLUSÃO

A Fenotipagem dos principais antígenos eritrocitários tem uma importância fundamental para a medicina transfusional, pois uma vez que conhecemos o perfil antigênico dos doadores, se torna^m mais difícil os processos de aloimunizações e o encontro de sangues incompatíveis.

Sabendo que atualmente em nosso Hemocentro não temos condições para fenotipar o doador com relação aos antígenos pesquisados neste trabalho, nos alivia o fato de que as frequências fenotípicas dos mesmos não apresentaram variações significativas de uma região para outra e de que estes valores dos respectivos fenótipos já são conhecidos mundialmente.

INCIDENCE OF THE MAIN ERYTHROCYTE ANTIGENS IN HEMOCE's* BLOOD DONORS

Kalina Lígia da Silva Oliveira**

SUMMARY

The study of samples from human populations aiming at the estimate of the frequencies of the genes that determine the erythrocytic blood groups, is of paramount importance in anthropology, physics, populational genetic and forensic medicine. In the specific case of blood groups with great antigenicity, this study is still of great value to immunohematology, for it supplies probabilistic indications of the possibilities of finding compatible blood types for the purpose of transfusions.

This work's goal was the research of the main erythrocytic antigens in blood donors of HEMOCE, who were seen during the period from 09 / 20 / 95 to 11 / 20 / 95. One hundred and fifty donors studied, each one being checked for the following antigens, which fit within the main blood systems:

Rh System

D(Rh⁺) C (rh⁺); c (hr⁺); E (rh); e (hr⁺); C^w;

Lewis System

Le^a, Le^b

Duffy System

Fy^a, Fy^b

Kidd System

Jk^a, Jk^b

MNSs System

M; N; S; s

Kell System

k, K, Kp^a, Kp^b

The research for each of the above mentioned antigens was done through the utilization of standard techniques of the GAMMA LABORATORY

(USA), meticulously following all manufacturer's specifications. Such techniques are a routine in the most advanced immunohematologic centers worldwide.

A percentile evaluation was made of each antigens, the results of which were compared to those in the literature. Thus, it was found that no significant variations exist between the values of one region as compared to those of another.

* Work done in CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ (HEMATOLOGY AND HEMOTHERAPY CENTER OF CEARÁ)

** Pharmaceutical Biochemist who attended the 10th Specialization Course on Hematology and Hemotherapy.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALLEN, F. H. Jr., LEWIS, S. J. and Fudenberg, H.: Studies of Anti Kp^b, a new anti body in the Kell blood group system. Vox Sang. 3:1, 1958.
02. ALLEN, F. H. Jr., and ROSENFELD, R. E.: Notation for the Kell blood system. Transfusion 1: 305, 1961
03. BBEIGUELMAN, D. Farmacogenética e sistemas sanguíneos eritrocitários. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1983.
04. COOMBS, R. R. A.; MOURANT, A. E.; RACE, R. R. A new test for the detection of weak and "incomplete" Rh agglutinins. BR. J. Exp. Pathol. 26: 256-66, 1945.
05. ALOISE R. GILBELETTT and JEANNE Chase.: Js^a, A new Red. Cell Antigen found in negroes; Evidence for an eleventh group system. Brit. J. Haemat 5: 319, 1959.
06. GUINSBURG. SALDANHA, S. Revista Brasileira Genética. 5: 175-186, 1982.
07. IKIN, E. W; MOURANT. A. E.. PETTENKOFER, H. And Blumenthal, G.: Discovery, of the expected Haemagglutinin, Anti-Fy^b. Nature 168: 1077, 1951.
08. JUNQUEIRA, P. C. WEISSMAN, J. Palatnik M. Ciência e Cultura 36: 774-775, 1984.
09. JUNQUEIRA, P. C., WISHART, P. J. Grupos sanguíneos em pretos do Rio de Janeiro. Arquivos Brasileiros de Medicina, 12:427-434.

10. LUIS Edmundo Venturelli e MARIA Helena Baena de Moraes. Frequências Gênicas dos Sistemas ABO, MNSs e Rh em caucasóides e negróides da cidade de Campinas, SP. Rev, Brasil. Genética 1: 179-185, 1986.
11. LIMA, Lise Mary Alves de Curso de Imunohematologia, Botucatu S.P.: Faculdade de Medicina UNESP, 1992.
12. MOLLISON, P. L. Factors determining the relative clinical importance of different blood group antibodies. BR. Med. BULL, 15(2): 92-98, 1959.
13. MOLLISON, P. L; POLLEY, M. J. and Crome, P.: Temporary suppression of Lewis blood - group antibodies to permit incompatible transfusion, Lancet, 909, 1963.
14. MOLLISON, P. L. Other red cell antigens. in blood transfusion in clinical medicine. Oxford, Black Well Scientific, 9:402-439, 1983.
15. MOURANT, A. E; KOPEL, A. C. And Domaniewska - Sobczak, K. The Distribution- Of Human blood groups and other polymorphisms, Oxford University Press, Lond, 1976.
16. MARCOS, Palatnik, NACI S. M. Laranjeira, MARIA, L. M. S. Simões and Juciara B. Loureiro. Distribution of the Lewis and secretor traits in Rio de Janeiro, Brasil,. Rev, Brasil Genét. 11: 187-192 (1988).
17. MOLLISON, P. L. ABO, Lewis, Ii and Pgroups. blood transfusion in clinical medicine Oxford, Black well scientific Publication 7: 267-327, 1987.
18. MARIN. Rojas, R. A.; SOLANO, E. M.; ESPINOZA, M.; SÁENZ, E.; WILLIS, S.; CHACON, G. Distribución de Fenótipos y Genótipos del sistema ABO en la población de Costa Rica. Revista Costarricense de Ciencias Médicas. Issen - 0253-2948.

19. NATIVA N. Salaru and PAULO A. Otto Rev. Bras.. Genet. 12:625-643, 1989.
20. NUNES, Moreira, J. A. Análise Estatística dos Grupos Sanguíneos em Fortaleza. Rev. Bras. Biol. 23:355-360, 1963.
21. NEVES, M. L. J. Grupos sanguíneos ABO e Rh. Estatística em 2354 doadores de sangue. Fortaleza: UFC, 1987. 29p. Monografia (Especializada em Hematologia e Hemoterapia).
22. NED Tijdschr Geneeskde; Prevention of Immunization against Erythrocyte Antigens C, E and K cause D Ley blood transfusion. 138(22): 116-118, 1994.
23. OLIVEIRA, A. M. P.; OLIVEIRA, V. F. C. P. Distribuição dos grupos sanguíneos ABO e Rh no Estado da Paraíba. CCS. UFPb. Vol. 5 nº 2 Abr. / Mai. / Jun. / 83.
24. OLIVEIRA, M. C. V. C.; OLIVEIRA A. M. ; SALAZANO, F. M. ABO and Rh gene frequencies in the metropolitan region of Recife, state of Pernambuco, Brasil Revista Brasileira Genética, 2: 375-380, 1983.
25. OGATA, M.; NASONO, I.; IWASAKI, M.; KUBO, S.; SUYAMA, H.; NARITA, K.; TSUKAZARI, T; MUTA, I. Two familial cases of dissociation of saliva Le^a Levels and Erythrocyte Lewis Types. Hum. Hered. 5: 307 - 308, 1988.
26. ORIPL, R., Lependu, J., MOLLICONE, R. Genetics of ABOM H, Lewism, X and related antigens Vox Sang. 3: 161-171, 1986.
27. PLAUT, G., IKIN, E, Mourant, A E.; SANGER, R. and RACE, R. R.: A new blood group antibody anti-Jk^b nature 171: 431, 1953.

28. PINKERTON, F. J.; MERMOD, L. E.; LILES, B. A.; JACK, J. A. and NOADES, J.: The Phenotype Jk (a- b-) in the Kidd blood Group system. *Vox sang* 4:155, 1959.
29. PALATNIR, M., Sá e BENEVIDES, M. J. F.; SALAZANO Human Biology 41: 83-96. 1969.
30. PELIZZA, S. M.; BERTHIER, M. E. O., GONZAGA, A. L. Sistema Kidd. Manual de Imunohematologia básica. Rio de Janeiro, centro de hematologia de Santa Catarina, 13: 91-94, 1977.
31. PALATINIK, M., Silva, V. F. ABH - Lewis blood groups in captive Rhesus Monkeys. *Brasil. J. Genet.* 4: 679 - 684, 1986.
32. ROY, R. B. & LOTTO, W. N. Delayed Hemolytic Reaction Caused By anti-c not Detectable Before Transfusion. *Transfusion* 2> 342-343, 1962.
33. SANGER, R.; RACE, R. R. and JACK, J.: The Duffy blood groups of New York negroes, the Phenotype Fy (a- b-) BR. *J. Haematol.* 1:370, 1955.
34. SALMON, C. H.; CARTRON, J. P. and ROUGER, P. the Humana blood groups. Masson Publishing USA. Inc, New York 172, 1984.
35. SANGER, R.; RACE, R. R. and JACK, J. The Ss and S^a blood groups genes in american negroes, *vox sang* 5:73, 1955.
36. SILVER, R. T., HABER, J. M. and KELLNER, A.: Evidence for a New Allele in the Kidd blood Group system in Indians of Mato Grosso, Brazil, *Nature* 186: 481, 1960.
37. STEVENS, W. L.: Estimation of blood-groups Gene Frequencies. *Ann. Eug.* 8: 362-735, 1938.

38. SHIREY, R. S.; EDWARDS R. E.; NESS, P. M.: The risk of alloimmunization to c (Rh₄) in R₁R₁ Patients who present with anti-E. ✓
39. WALSH, R. J. and Montgomery, C.: A new Human Isoagglutinin Subdividing The Mn Blood Groups. Nature 160-504, 1947. ✓