

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ - HEMOCE

*Detecção de Anticorpos Irregulares,
Através do Método da Eluição com a
Glicina Ácida*

Marcia Matos Bezerra

Fortaleza - Ceará

1998

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ - HEMOCE

Márcia Matos Bezerra

*Farmacêutica-Bioquímica, aluna do XII Curso de
Especialização em Hematologia e Hemoterapia.*

*Detecção de Anticorpos Irregulares,
Através do Método da Eluição com a
Glicina Ácida*

*Trabalho apresentado como requisito final ao
Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia.*

Fortaleza - Ceará

1998

ORIENTADORAS:

Dra. Francisca Vânia Barreto de Aguiar Ferreira Gomes

*Profª do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
CCS/UFC; Especialista em Hematologia e Hemoterapia.*

Dra. Vilany Franco Pereira da Silva

*Farmacêutica-Bioquímica; Chefe do Laboratório de
Imunohematologia do HEMOCE; Especialista em
Hematologia e Hemoterapia.*

*"Há duas fontes perenes de alegria
pura: o bem realizado e o dever
cumprido".*

E. Girão

Aos meus pais, os melhores que
alguém poderia ter. Estes amigos
incansáveis durante toda a minha vida.
Eles deram-me mais que a vida,
ensinaram-me a viver.

*A minha adorada irmã Magda,
presente em todos os momentos da
minha vida.*

*A Júlio, por tudo que representa
na minha vida, por compartilhar de
todos meus momentos, inspirando-me
para torná-los melhores.*

AGRADECIMENTOS

- As Dras. Francisca Vânia Barreto de Aguiar Ferreira Gomes e Vilany Franco Pereira da Silva, pela orientação dada e apoio recebido na execução deste trabalho.
- Ao Dr. José Murilo de Carvalho Martins, pelo brilhante curso, pela admirável dedicação ao aprimoramento acadêmico e profissional.
- Ao Prof. Mario Rigatto pelo excelente curso de Iniciação à Pesquisa que muito nos ajudou na análise estatística dos dados coletados.
- Aos professores do curso pelos conhecimentos transmitidos, especialmente às Dras. Alana Jocelina Montenegro de Castro, Lúcia Silla, Maria da Silva Pitombeira, Paola Torres e Rosângela Albuquerque Ribeiro.
- A Bibliotecária Norma Carvalho Linhares, pelo precioso auxílio na pesquisa bibliográfica.
- Aos funcionários do HEMOCE pela ajuda, amizade e compreensão no decorrer do curso, em especial à Stela, Jeovany, Regina Célia, Telma e Viviane.
- Aos técnicos do Laboratório de Imunohematologia, especialmente à Bernadete.
- Aos demais professores e funcionários do HEMOCE que não foram citados, mas que contribuíram direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

- À Deus, pela bondade infinita.
- Aos funcionários e amigos do Laboratório de Hemoglobina, Dras Fátima Marques Barros e Rita Marinei Vasconcelos.
- À Dra. Vilany Franco Pereira da Silva pela amizade demonstrada no decorrer do curso.
- À Sheila de Carvalho Maia, pela amizade, companhia e solidariedade manifestada.
- Ao amigo João Antunes Moreira, amigo de tantas horas vividas juntos, de tantas recordações comuns, de tantas reconciliações, de tantos impulsos afetivos... amigo para sempre.
- Aos companheiros e amigos de curso: Carlos, Gianna, Gracinha, Jean, Paula, Raquel, Sandra, Sônia, Socorro, Valéria e Wilma.

SUMÁRIO

RESUMO	11
1. INTRODUÇÃO	12
2. MATERIAL E MÉTODOS	16
3. RESULTADOS	17
4. DISCUSSÃO	21
5. CONCLUSÃO	23
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
ANEXOS	29

RESUMO

Esta pesquisa foi realizada com o objetivo de detectar através do eluato, anticorpos irregulares em testes de Coombs direto com resultados positivos e negativos.

O estudo foi feito com amostras de 90 pacientes, empregando o método do eluato, pela técnica da glicina ácida (Elu-Kit[®] II), cujo princípio se baseia em dissociar os anticorpos desejados, mediante pH baixo, para posterior identificação no painel de hemácias.

Foi constatado que das 90 amostras em estudo, 47 (52,22%) apresentaram Coombs direto positivo, sendo identificados quatro anticorpos (8,51%), dois com especificidade Anti-D (4,25%), um com Anti-E (2,12%), e outro com Anti-Kell (2,12%).

Entre as amostras negativas, 43 (47,78%) não foi detectado nenhum anticorpo.

Observou-se, que diante dos achados laboratoriais obtidos, os resultados encontrados foram similares a literatura consultada.

1 INTRODUÇÃO

Com a descoberta do sistema de grupo sanguíneo ABO, por Landsteiner, em 1901, os avanços relativos às técnicas transfusionais se tornaram possíveis. Os desenvolvimentos significativos que incrementariam a segurança da transfusão sanguínea, só se deu após a década dos anos 30, com a reação transfusional hemolítica, e que eventualmente, resultariam na definição do mais extenso sistema de grupo sanguíneo conhecido, o sistema Rh ^(5, 10).

Durante muito tempo, as técnicas de albumina, enzimas e globulina anti-humana (AGH), foram utilizadas rotineiramente em bancos de sangue. Dentre essas, a única que foi universalizada, foi o teste da antiglobulina humana (AGH), sendo também o procedimento mais importante para detectar anticorpos incompletos, em antígenos eritrocitários ⁽¹⁰⁾.

O sistema de grupo sanguíneo Rhesus e sua associação com a Doença Hemolítica Perinatal (DHPN), tinham sido descritos alguns anos antes, sendo que o teste foi rapidamente introduzido para a investigação desta doença auto imune, caracterizada pela destruição eritrocitária durante a vida fetal. O anticorpo que mais freqüentemente causa a DHPN é o anti-Rho(D), produzido por mulheres Rh negativo ^(01, 03, 10, 22).

Em 1946, Coombs e colaboradores, descreveram o emprego da AGH para detectar a sensibilização "in vivo" de hemácias de neonatos que sofriam da DHPN. Embora o teste inicialmente fosse de grande valor na investigação da DHPN, não demorou muito para que sua versatilidade na detecção de anticorpos incompletos se tornasse evidente. Após Coombs ter descrito o teste da AGH, descobriram o primeiro anticorpo associado ao grupo sanguíneo do sistema Kell ⁽¹⁰⁾.

Entre 1946 e 1967, os sistemas de grupo sanguíneo Kell, Duffy, Diego, Cartwright, Xg, Dombrock e Colton foram descobertos em cada caso, com o uso da AGH indireta. Alguns deles através da DHPN ou provas cruzadas incompatíveis ^(22, 25, 33).

O teste da AGH pode ser de dois tipos, o teste direto e indireto, o teste Coombs indireto, também chamado de teste de antiglobulina indireta (TAI), é utilizado na pesquisa de anticorpos que sensibilizam hemácias "in vitro" ⁽²⁶⁾.

A utilização do teste da AGH indireta é realizada nos seguintes casos: a) pesquisa de anticorpos desconhecidos, utilizando-se células com antígenos conhecidos (painel), b) identificação de antígenos desconhecidos ou ignorados, utilizando-se soros contendo anticorpos conhecidos (soros-padrões) e, c) testes de compatibilidade ^(10, 26).

O teste de Coombs direto (TCD), também chamado de AGH direta, é usado para detecção de anticorpos que sensibilizam as células "in vivo", e é empregado principalmente nos seguintes casos: a) DHPN, b) Anemia Hemolítica Auto Imune (AHAI), c) sensibilização de hemácias induzidas por certas drogas (penicilina, α -metildopa, guinina, etc.) e, d) investigação de reações transfusionais ^(5, 26).

Com a evolução tecnológica, a transfusão de sangue ganhou espaço na medicina, e seu uso como não poderia deixar de ser, veio evidenciar suas complicações precoces e tardias, preocupando aqueles que lidam com mais proximidade com esse problema - os hemoterapeutas. Logo ficou claro os malefícios e os riscos da terapêutica inerentes a qualquer medida transfusional, dentre outros aqueles relacionados à introdução de antígenos estranhos, com a subsequente formação de anticorpos ^(21, 28, 29).

O efeito adverso mais severo é aquele que resulta em hemólise do sangue transfundido devido a anticorpos pré-formados no plasma do receptor. A reação transfusional hemolítica imediata, com destruição intravascular das hemácias pode levar à morte ^(16, 18).

Pacientes que recebem transfusão de sangue e/ou componentes podem desenvolver anticorpos contra inúmeros antígenos eritrocitários e, meses ou até mesmo anos após as transfusões, podem apresentar reações transfusionais hemolíticas tardias com destruição extravascular das hemácias, devido a anticorpos não detectados em testes pré-transfusionais ^(16, 18).

Outro problema de importância relevante ligado a agressão de eritrócitos por anticorpos séricos está relacionado à AHAI em que o indivíduo por mecanismo diversos, passa formar anticorpos contra seus próprios antígenos. Atualmente acredita-se que isso ocorra porque existe uma falha do mecanismo regulador da resposta imunológica ^(02, 17, 30).

Desta maneira, fazem-se necessários desenvolvimentos profundos na área da identificação de anticorpos de grupos sanguíneos, tornando-se inevitável uma compreensão mais extensa da natureza da reação antígeno/anticorpo^(06, 11, 12, 27).

A manutenção da estrutura da ligação existente entre o antígeno e o anticorpo e a reversibilidade dessa associação depende da inferação de diferentes tipos de forças fracas, não covalentes, tais como: ligações iônicas, ligações hidrofóbicas, pontes de hidrogênio e força de vanderwaals, bem como da complementariedade conformacional do antígeno e anticorpo^(27, 31, 32).

Os anticorpos aderidos aos glóbulos vermelhos podem ser removidos através de um processo denominado eluição, sendo a identidade dos mesmos, mais precisamente as suas especificidades antigênicas, determinados de maneira análoga ao teste indireto do AGH no soro, contra um painel de hemácias⁽¹⁶⁾.

Eluição é a técnica de liberação das moléculas de um anticorpo dos glóbulos vermelhos onde eles estão fixados. O meio que contém os anticorpos removido é chamado de eluato^(06, 32, 34).

Os estudos envolvendo a eluição de anticorpos são extremamente valiosos nos casos de anemia hemolítica mediada imunologicamente, detecção de aloanticorpos induzidos por transfusão sanguínea ou drogas em estágio precoce, anterior ao seu aparecimento no soro, DHRN, ou em quaisquer outras situações onde o teste da AGH for positivo^(06, 12, 32).

A repetição de eluições deve ser efetuada com amostras de pacientes politransfundidos, somente quando houver evidência clínica de hemólise, ou quando uma reação transfusional for relacionada^(11, 12, 27).

É importante salientar que uma mudança significativa nos resultados do teste de AGH direto, ou o aparecimento de reatividade inesperada durante o teste do soro, devem requerer a realização e teste do eluato^(12, 19, 31).

Não existe uma técnica de eluição que seja eficaz em todos os casos, há diversas técnicas distintas para a dissociação de anticorpos. Com isso, os laboratórios devem escolher um procedimento de rotina de sua preferência, levando-se em conta as conveniências operacionais e disponibilidade de material.

O estudo realizado teve como objetivo detectar através do eluato, anticorpos irregulares em amostras que apresentavam ao teste de Coombs direto, resultados positivos e negativos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas amostras de sangue de 90 pacientes, enviados pelo Hospital Universitário da UFC da cidade de Fortaleza-Ce, no período compreendido entre setembro a dezembro de 1997. A população em estudo era de ambos os sexos, com idade variando de neonatos até 90 anos.

Os pacientes foram identificados e registrados em fichas individuais, alguns dados foram obtidos através de levantamentos retrospectivos em seus prontuários (história de transfusão, tipo, patologia envolvida, medicamento utilizado).

A técnica utilizada para a eluição foi a da glicina ácida (Elu-Kit[®] II), fabricado pelo laboratório Gamma Biologicals, Texas EUA.

Inicialmente foi preparado o eluato segundo a técnica utilizada, que consiste na solução de lavagem concentrada, solução de eluição, e solução tampão, tendo como finalidade respectivamente: retirar todas as globulinas livres das hemácias, promover a eluição dos anticorpos, e restaurar o pH do eluato, dentro do que requer o teste, entre 6,4 a 7,6. Ao final do preparo este deve estar na tonalidade azul, indicando a restauração do pH. Em seguida, o eluato foi passado no painel de hemácias (constando de 10 suspensões de hemácias fenotipadas, para os principais sistemas de grupos sanguíneos, e uma de hemácias de cordão; a elas se acrescenta um autocontrole), levado à estufa (37°C), e a centrífuga, onde finalmente foi feita a leitura através de um antigrama, que relaciona a constituição antigênica das hemácias, e orienta na identificação do anticorpo.

As cartelas utilizadas foram as de Liss-Coombs 37°C, contendo gel-antiglobulina.

O estudo foi realizado no Laboratório de Imunohematologia do Hemoce, na cidade de Fortaleza-Ce.

Os aparelhos utilizados para o estudo foram: Centrífuga (ID-centrífuga 12 SII, Micro Typing System) 1030 rpm; Centrífuga (Clay ADAMS[®], Sero-fuge[®] 2002), 3.200 rpm e Estufa (ID- Incubator 37 SI, DiaMed ID, Micro Typing System).

Para fins de significância estatística foi fixado o erro α em 5%.

3 RESULTADOS

Foram analisados 90 amostras de sangue de pacientes após o teste de Coombs direto, onde 47 (52,22%) apresentaram resultados positivos, e 43 (47,78%) resultados negativos. (Tabela I).

Observou-se que entre a população de amostras positivas estudadas, as patologias mais encontradas e de maior significado clínico para o estudo em questão, foram em ordem de frequência: AHAI (26,66%), LES (10,64%) e DHPN (4,26%). (Tabela II).

A tabela III ilustra a distribuição pelo sexo nas amostras positivas, onde 10 (21,28%) pertenciam ao sexo masculino, e 37 (78,72%) ao sexo feminino.

A pesquisa demonstrou que dos casos positivos, apenas quatro anticorpos irregulares foram encontrados: 2 Anti-D (4,26%), 1 anti-E (2,13%) e 1 Anti-Kell (2,13%). Nas amostras restantes, observou-se que em 33 (70,21%) os anticorpos não foram identificados. Constatou-se portanto que se tratava de um auto anticorpo, pois a grande maioria ou, em alguns casos todas as hemácias do painel aglutinaram. Algumas amostras 10 (21,27%) não apresentaram reação com o painel de hemácias. (Tabela IV e Gráfico 1).

A tabela V mostra as características gerais das amostras estudadas, relacionando o sexo dos pacientes com a positividade e negatividade ao teste de Coombs direto, com o painel de hemácias e com os anticorpos encontrados.

A faixa etária dos pacientes variam bastante, desde zero a 90 anos, sendo encontrado as seguintes medidas de tendência central: Média - 19,38, Mediana - 34,5 e Moda - 40.

Em todas as amostras positivas observou-se que o anticorpo envolvido na reação era na sua grande maioria do tipo IgG. Apenas algumas amostras foram reagentes com o soro de Coombs monoespecífico (IgG, IgA, IgM, C₃C, C₃d e Ctl).

Entre as amostras com Coombs direto negativo, 43 (47,78%), não foram detectados nenhum anticorpo, não indicando necessariamente a ausência de recobrimento por globulinas.

TABELA I

Distribuição das amostras quanto ao Teste de Coombs.

RESULTADOS DOS TESTES	NÚMERO DE AMOSTRAS	%
POSITIVOS	47	52,22
NEGATIVOS	43	47,78
TOTAL	90	100,00

TABELA II

Distribuição das amostras com Coombs Direto Positivo quanto as patologias/dados clínicos.

PATOLOGIAS/ DADOS CLÍNICOS	NÚMERO DE PACIENTES	%
AHAI	13	27,66
Anemia	13	27,66
LES	5	10,64
Palidez	4	8,52
Febre	3	6,39
Icterícia	2	4,26
DHPN	2	4,26
LLC	1	2,12
MM	1	2,12
Insuficiência Renal	1	2,12
Pancitopenia	1	2,12
Hepatopatia	1	2,12
TOTAL	47	100,00

AHAI: Anemia Hemolítica Auto Imune
 DHPN: Doença Hemolítica Perinatal

LES: Lupus Eriematoso Sistêmico
 LLC: Leucemia Linfóide Crônica

MM: Mieloma Múltiplo

TABELA III

Distribuição das amostras com Coombs Direto Positivo, segundo o sexo

SEXO	NÚMERO DE AMOSTRAS	%
MASCULINO	10	21,28
FEMININO	37	78,72
TOTAL	47	100,00

TABELA IV

Distribuição das amostras com Coombs Direto Positivo, segundo o anticorpo identificado.

ANTICORPO	FREQUÊNCIA	%
ANTI-D	2	4,26
ANTI-E	1	2,13
ANTI-KELL	1	2,13
NÃO IDENTIFICADO	33	70,21
AMOSTRAS NEGATIVAS	10	21,27
TOTAL	47	100,00

TABELA V

Distribuição das amostras no painel de hemácias, segundo os sexos dos pacientes.

SEXO	Nº DE PACIENTES	TESTE DE AGH DIRETO		PAINEL DE HC		ANTICORPOS		
		+	-	Reag.	Não Reag.	Anti-D	Anti-E	Anti-Kell
MASCULINO	35 (100%)	1 (2,86)	34 (97,14%)	1 (2,86)	34 (97,14%)	-	-	1
FEMININO	55 (100%)	3 (5,46%)	52 (94,54%)	3 (5,46%)	52 (94,54%)	2	1	-
TOTAL	90	4	86	4	86	2	1	1

AGH: Antiglobulina Humana

HC: Hemácias

REAG: Reagente

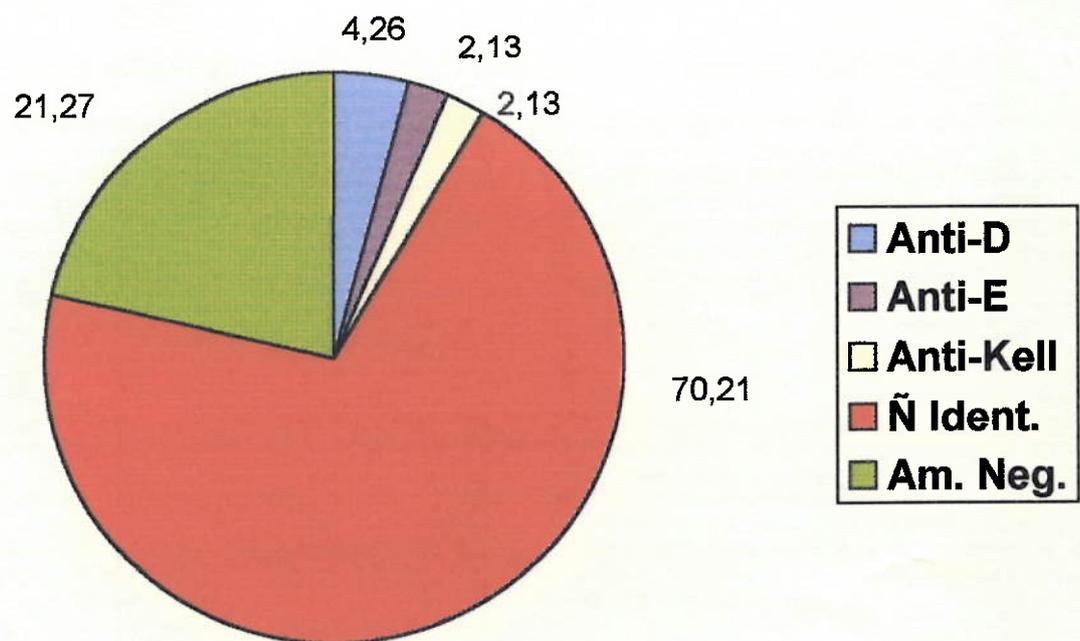


FIGURA 1

Distribuição das amostras positivas, segundo a especificidade do anticorpo encontrado.

4 DISCUSSÃO

Todo ato de transfusão implica em colocar antígenos do doador na presença do sistema imunitário do receptor, sejam esses antígenos levados pelas membranas celulares ou pelas proteínas plasmáticas do sangue da unidade transfundida. Este fato ocasiona um duplo risco: imediato e tardio. Visando amenizá-los, é que se faz necessário identificar a especificidade do anticorpo, para saber se são clinicamente significantes ou não ⁽¹⁶⁾.

Sabe-se que os anticorpos são de dois tipos: a) os que reagem em meio proteico e a 37°C, são IgG e imunes, atravessam a barreira placentária e causam DHPN e b) os que reagem a frio, não atravessam a barreira placentária, e não causam portanto a DHPN. O que diferencia o comportamento dos dois provavelmente seja a diferença do tamanho molecular ^(14,16).

A prova de AGH do tipo direta positiva, é de grande valor, e confirma a presença de anticorpos, porém a positividade desta prova não deve ser tomado como diagnóstico conclusivo de AHAI, e tão pouco a negatividade da prova exclue este diagnóstico. Por outro lado, uma prova de AGH negativa não indica necessariamente a ausência de recobrimento por globulinas, pois os reativos poliespecíficos e anti-IgG detectam aproximadamente 500 moléculas de IgG por hemácia ⁽¹⁷⁾.

Nesse estudo foi utilizado o método do eluato pela glicina ácida (Elu-Kit® II) na tentativa de detectar, identificar e especificar o anticorpo através do painel de hemácias. Este método é simples, rápido e viável na rotina dos laboratórios e bancos de sangue ^(08, 09, 15).

Em virtude da falha do Coombs direto positivo, de diagnosticar e predizer a evolução da DHPN, por incompatibilidade ABO, foi que se introduziu o teste do eluato, pois muitas crianças com Coombs direto negativo tem o seu anticorpo demonstrável através desse teste ^(15, 20, 24, 35).

Analizando-se os resultados obtidos, as seguintes patologias observadas com auto-anticorpo e clinicamente significante foram: AHAI e LES, e justifica portanto a presença de auto-anticorpos detectados durante a prova, que por sua vez justifica a aglutinação em todas, ou em quase todas as hemácias do painel. No entanto, devido a

múltiplos fatores responsáveis pela presença de auto-anticorpo, esta hipótese sozinha fica comprometida.

Outra patologia de grande significado clínico encontrada foi a DHPN, sendo causada mais frequentemente pelo anticorpo Anti-D, que por sua vez foi detectado pelo teste, e que por si só já firma o diagnóstico. Entretanto, há necessidade de avaliar a dinâmica do processo hemolítico para que sejam tomadas medidas capazes de assegurar o bom desenvolvimento do concepto, e assegurando-se a manutenção de sua vida ⁽¹³⁾.

Os anticorpos encontrados com especificidade Anti-D e Anti-E são produzidos contra antígenos do sistema Rh-Hr. O terceiro anticorpo encontrado, o Anti-Kell, faz parte de outro sistema de grupo sanguíneo, e em ordem de imunogenicidade só tem potência inferior ao antígeno D ⁽⁰⁴⁾.

O sistema de grupo sanguíneo Kell constitui uma interessante combinação de antígenos de baixa e alta frequência, e o gene que controla a expressão desse antígeno está ligado ao cromossomo X (feminino). Portanto, sendo o paciente portador do Anti-Kell pertencente ao sexo masculino, justifica então a hipótese de que esses anticorpos foram produzidos por estímulos antigênicos, através de transfusões sanguíneas ^(04, 23).

A sensibilização por transfusão terapêutica, se não pode ser evitada, pode ser reduzida pelo uso racional da Hemoterapia. Que se use a transfusão sanguínea, como medida terapêutica, mas que seus riscos sejam ponderados e tenha-se como premissa que um paciente só deve ser transfundido se o risco de não transfundi-lo, for maior do que o de fazê-lo.

A pesquisa realizada se não conclusiva, não invalida a hipótese de que em amostras com Coombs direto negativo seja encontrado algum anticorpo, e levanta um questionamento para que novos estudos sejam realizados em nosso meio, com maiores números de amostras, com o objetivo de detectar e identificar o mais precocemente possível anticorpos eritrocitários, visando cada vez mais garantir a segurança da transfusão.

5 CONCLUSÃO

O estudo realizado mostrou a eficiência do teste do eluato em amostras com Coombs direto positivo. Nas amostras com Coombs direto negativo, o eluato não apresentou positividade, entretanto, a hipótese de que seja encontrado algum anticorpo, não deve ser descartada.

ABSTRACT

The aim of this study was to detect irregular antibodies in direct Coombs test with positive and negative results. The study was developed using samples of 90 patients, applying the eluato method with glicin-acid technique (Elu-Kit[®] II), which principle is based in the dissociation of the antibodies expected, under low pH values, for further, identification. It was observed that among the 90 samples, 47 (52,22%) presented a positive direct Coombs. In this amount 4 antibodies (8,51%) were identified, two with specificity anti-D (4,25%), one anti-E (2,12%) and another with anti-Kell (2,12%). In the negative samples 43 (47,78%), no antibody was detected. Therefore, we can conclude based on our results that they are similar to those presented in the literature.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. BUCK, S.A. Doença hemolítica do recém-nascido. In: PITTIGLIO, D.H., CALHOUN, L., POLESKY, H.F. Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão. 2.ed. Philadelphia: F.A. Davis, 1992. cap. 19, p. 327-328.
02. BORDIN, J.O., SOUZA-PINTO, J.C., KERBAUY, J. Measurement of red blood cell antibodies in auto-immune hemolytic anemia. Braz. J. Med. Biol. Res., v. 24, p. 896-899, 1991.
03. CONNOR, K.L. Osistema de grupo sanguíneo Rh. In: PITTIGLIO, D.H., CALHOUN, L., POLESKY, H.F. Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão. 2.ed. Philadelphia: F.A. Davis, 1992. cap. 6, p. 109.
04. CALHOUN, L. Outros sistemas importantes de grupo sanguíneo. In: PITTIGLIO, D.H., CALHOUN, L., POLESKY, H.F. Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão. 2.ed. Philadelphia: F.A. Davis, 1992. cap. 8, p. 152-153.
05. CORRONS, J.L.V. Hematologia clínica. 3.ed. Madrid: Mosby-Doyma, 1995. 614p. cap. 10, p. 195-197.
06. DOMEN, R.E., GRATTAN, J. Efficacy of performing red-cell antibody elutions in patients with a positive direct antiglobulin test. Vox Sang., v. 51, p. 324-326, 1986.
07. DACIE, J.V., LEWIS, S.M. Hematologia prática. Barcelona: Toray, 1970. 536p. cap. 8, p. 194-195.
08. DESJARDIJS, L. The spectrum of ABO hemolytic disease of the newborn infant. J. Pediatr., v. 95, p. 447-449, 1979.
09. FENG, C.S. The elution technique. A simple and efficient method for eluting ABO antibodies. Transfusion, v. 25, p. 433-434, 1985.

10. GREEN, R.E.B. O teste da globulina anti-humana. In: PITTIGLIO, D.H., CALHOUN, L., POLESKY, H.F. Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão. 2.ed. Philadelphia: F.A. Davis, 1992. cap. 4, p. 67.
11. HOWARD, P.L. Principles of antibody elution. Transfusion, v. 21, p. 477-482, 1981.
12. JUDD, J.W. Elution techniques. In: SUMMERS, S.H., ROLIH, S.D., WELLAND, D.L. (Eds). A handbook of serologic techniques for use in investigate immunohematology.
13. JUNQUEIRA, P.C. Doença hemolítica perinatal. São Paulo: Andrei, 1991. 148p. p. 56-58.
14. _____. Manual prático de transfusão sanguínea. São Paulo: Andrei, 1988. 309p. p. 151.
15. LOCKYER, W.J. ABO haemolytic disease of the newborn: laboratory prediction and post-natal diagnosis. Med. Lab. Sci., v. 39, p. 287-295, 1982.
16. LIMA, L.M.A. Curso de Imunohematologia. São Paulo: UNESP, 1992. P. 205-209.
17. MOLLISON, P.L. Red cell auto antibodies, polyagglutination and monospecific agglutination. In: Blood Transfusion in Clinical Medicine. 7.ed. Oxford: Blackwell, 1983. Cap. 10, p.382-413.
18. MELO, L., SANTOS, J.A. Imunohematologia eritrocitária. Belo Horizonte: IEA, 1996. 260p. cap.11, p. 225.
19. MELO, L., SANTOS, J.A. Imunohematologia eritrocitária. Belo Horizonte: IEA, 1996. 245p. cap.2, p.39-48.
21. NAKAMURA, R.M., TUCKER, E.S. Os anticorpos como reagentes. In: HENRY, J.B. Diagnósticos clínicos e conduta terapêutica por exames laboratoriais. 16.ed. São Paulo: Manole, 1983. v. 2, cap. 35, p. 1291-1322.

22. ORTHO diagnostics: antígenos e anticorpos de grupos sanguíneos aplicados à doença hemolítica do recém-nascido. 3.ed. São Paulo: Johnson and Johnson, 1978, p. 6, 53-66.
23. ORTHO diagnostics: antígenos e anticorpos de grupos sanguíneos aplicados testes de compatibilidade. 3.ed. São Paulo: Johnson and Johnson, 1978, p. 47-67.
24. PROCIANOY, R.S. Early diagnosis of ABO haemolytic disease of the newborn. Eur. J. Pediatr., v. 146, p. 390-393, 1987.
25. PITTIGLIO, D.H. Sistemas de grupo sanguíneo mistos. In: : PITTIGLIO, D.H., CALHOUN, L., POLESKY, H.F. Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão. 2.ed. Philadelphia: F.A. Davis, 1984. cap. 9, p. 205-211.
26. PELLIZZA, S.M., BERTHIER, M.E.O., GONZAGA, A.L. Manual de imunohematologia. Rio de Janeiro: Centro de Hematologia Santa Catarina, 1977. v.1, cap. 3, p. 20-22.
27. RUBIN, H. Antibody elution from red blood cells. J. Clin Pathol., v. 16, p. 70-73, 1963.
28. ROESEL, C.E. Imunologia. São Paulo: Mc Graw Hill, 1981. cap. 4, p. 97-145.
29. ROITT, I.M. Imunologia, 4.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1983. cap. 6, p. 123-151.
30. STEANE, S. Red blood cell auto antibodies. In: PITTIGLIO, D.H. Modern blood banking and transfusion practices. 2. Ed. Philadelphia: F.A. Davis, 1984. cap. 19, p. 423-445.
31. STEC, N. SHIREY, R.S., SMITH, B., KICKLER, T.S., NESS, P.M. The efficacy of performing red cell elution studies in the pre-transfusion testing of patients with positive direct antiglobulin tests. Transfusion., v. 26, p. 225-22, 1986.
32. SOUTH, S.F., REA, A.E., TREGELLAS, W.W. Na evaluation of 11 red cell elution procedures. Transfusion., v. 26, p. 167-170, 1986.

33. TECHNICAL manual, 7.ed. Washington: American Association of Blood Banks, 1977.
34. VOS, G.H., KELSSAL, G.A. A new elution technique for the preparation of specific immune anti-Rh serum. Br. J. Haematol., v. 2, p. 342, 1956.
35. WHYTE, J., GRAHAN, H. Prediction of the severity of ABO Haemolytic Disease of the newborn by cond blood tests. Acta. Paediatr. Scand., v. 70, p. 217-222, 1981.

ANEXOS

Rh-hr	Spender Donor	Rh-hr	Kell												Duffy	Kidd	Lewis	P	MNS			Luth.	Xg	Spez. Antigene special types	Resultat/Result/Résultat		Bemerkungen Remarks			
			D	C	E	c	e	C ^a	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b					Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a				Jk ^b	Le ^a		Le ^b	M	N
1	C ⁺ CD. ee	R ₁ R ₁	615570	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+			
2	CCD. ee	R ₁ R ₁	613763	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+			
3	ccD. EE	R ₂ R ₂	713025	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0			
4	Ccddee	r'r	215563	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+			
5	ccddEe	r'r	215561	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+			
6	ccddee	rr	115588	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+			
7	ccddee	rr	115580	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+			
8	ccD. ee	R _{0r}	315581	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+			
9	ccddeee	rr	113078	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+			
10	ccD. EE	R ₂ R ₂	715586	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+			
11	ccddeee	rr	2565363	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+			
Patient																														

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:

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 MNS, Duffy et Xg, si les hématies sont traitées aux enzymes protéolytiques.

S = stark/strong/fort
 W = schwach/weak/fable
 nt = nicht getestet/not tested/pas testé

Name/name/nom _____	Blutgruppe + Antigene Bloodgroup + antigens Groupe de sang + antigènes	Interpretation Interpretation Interprétation	Untersuchungsdatum Examined on Date de l'analyse
---------------------	--	--	--