

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

**INCIDÊNCIA DOS ANTÍGENOS ERITROCITÁRIOS
EM DOADORES DO PROGRAMA DE
FENOTIPAGEM DO HEMOCE.**

MARIA DAS GRAÇAS RAMALHO LEITE

**FORTALEZA – CEARÁ
1998**

MARIA DAS GRAÇAS RAMALHO LEITE

**INCIDÊNCIA DOS ANTÍGENOS ERITROCITÁRIOS
EM DOADORES DO PROGRAMA DE FENOTIPAGEM
DO HEMOCE.**

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

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FORTALEZA – CEARÁ
1998**

**INCIDÊNCIA DOS ANTÍGENOS ERITROCITÁRIOS
EM DOADORES DO PROGRAMA DE FENOTIPAGEM
DO HEMOCE.**

MARIA DAS GRAÇAS RAMALHO LEITE

**ORIENTADORAS: VILANY FRANCO PEREIRA DA SILVA
LUCIANA MARIA DE BARROS CARLOS**

**FORTALEZA – CEARÁ
1998**

À DEUS, FONTE DE EQUILÍBRIO,
SABEDORIA E AMOR, PRESENTE EM
TODAS AS ETAPAS DA MINHA VIDA.

AOS MEUS PAIS LUIZ E
SOCORRO, POR ME ENSINAREM O
CAMINHO DA VERDADE E
HONESTIDADE.

AO MEU NAMORADO MARK
PELO ESTÍMULO, INCENTIVO E
COMPANHERISMO.

AGRADECIMENTOS

- ◆ A Dra Vilany Franco e Dra. Luciana pela orientação e ajuda na realização deste trabalho.
- ◆ Aos Drs. Murilo Martins e Vânia Barreto A. F. Gomes pelo brilhante curso.
- ◆ Ao Dr. Mário Riggatto pelo excelente curso de Iniciação à Pesquisa que muito nos ajudou na análise estatística dos dados coletados.
- ◆ Ao Dr. Ormando Rodrigues Campos pela presença e disposição.
- ◆ Aos funcionários da coleta, serviço social e imunohematologia que contribuíram de maneira relevante para a realização desta pesquisa.
- ◆ Aos professores do curso pelos conhecimentos e experiências transmitidos.
- ◆ A Célia, Viviane, Telma e Nazaré pela ajuda prestada.
- ◆ A bibliotecária Norma (Centro de Ciências da Saúde), pela revisão das referências bibliográficas.
- ◆ Ao professor e amigo Jesper pela sua ajuda e disponibilidade.
- ◆ Aos meus companheiros de curso pelo apoio e amizade.
- ◆ E a todos que fazem o Hemoce e que contribuíram diretamente ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

INCIDÊNCIA DOS ANTÍGENOS ERITROCITÁRIOS EM DOADORES DO PROGRAMA DE FENOTIPAGEM DO HEMOCE.*

MARIA DAS GRAÇAS RAMALHO LEITE.**

RESUMO

Uma análise dos principais antígenos dos sistemas Rh, Kell, Kidd, MNSs foi realizada em 180 doadores de sangue que aderiram ao programa de fenotipagem (PROFEN), do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará - HEMOCE. O estudo foi realizado durante três meses no período de 15 de outubro de 1997 a 15 de janeiro de 1998. A cada mês foram selecionados 60 doadores correspondendo a 2% do número mensal. O trabalho teve como objetivo a detecção de fenótipos raros, com a finalidade prática de estabelecer um arquivo de doadores fenotipados, disponíveis para doação em situações específicas. A frequência dos fenótipos encontrados foram: Sistema Rh: CcDee (32,0%), CCDee (19,0%), CcDEe (11,0%), ccDee (14,0%), ccDEe (8,3%), ccdee (9,4%), CCDEe (2,2%), ccDEE (3,0%), Ccdee (1,1%). Sistema Kell: K+(6,0%), K- (94,0%). Sistema Duffy: Fy(a+b+) (32,8%), Fy(a-b+) (33,3%), Fy(a+b-) (29,5%), Fy(a-b-) (4,4%). Sistema Kidd: Jk(a+b+) (49,0%), Jk(a-b+) (21,0%), Jk(a+b-) (30,0%), Jk(a-b-) (0%). Sistema MNSs: (M+N-) (32,0%),

(M+N+) (51,0%), (M-N+) (17,0%), (M-N-) (0%), (S+s-) (8,9%), (S+s+) (39,4%), (S-s+) (51,1%), (S-s-) (0,6%). A pesquisa dos antígenos foi realizada utilizando técnicas padronizadas por gel centrifugação, seguindo rigorosamente as especificações do fabricante. Os valores percentuais de cada antígeno, quando comparados com a literatura brasileira, não apresentaram variações significativas de uma região para outra.

*Trabalho Realizado no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE)

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

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	08
2. REVISÃO DE LITERATURA	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	29
4. RESULTADOS	34
5. DISCUSSÃO	41
6. CONCLUSÃO	44
7. SUMMARY	45
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
9. ANEXO	54

1. INTRODUÇÃO

Os grandes centros, responsáveis pela coleta e transfusão de sangue, têm dado relevante importância à fenotipagem de antígenos de significância clínica em seus doadores.

A disponibilidade de fenótipos raros tem sido alvo de estudo de entidades que avançam rumo ao progresso para atender a demanda em todo o país. As regiões que centralizam solicitações frequentes, têm sentido a necessidade de utilizar meios para garantir um fornecimento seguro de sangue com fenótipos raros e não frequentes (tipo bombay). A fenotipagem é sem dúvida a garantia do conhecimento dos antígenos presentes e ausentes no sangue do doador, a fim de proporcionar uma minimização de toda a problemática decorrente da aloimunização.

Atualmente no Brasil, existem serviços prestados por Hemocentros e instituições como a Cruz Vermelha, que utilizam entre as estratégias, o armazenamento de bolsas de sangue congeladas a fim de proporcionar um atendimento numa demanda de bolsas raras.

O HEMOCE, Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará, no intuito de acompanhar o desenvolvimento e a evolução rumo a um atendimento rápido e seguro, desenvolve a partir desta pesquisa, o Programa de Fenotipagem – PROFEN. O objetivo deste estudo é a identificação de fenótipos pouco

comuns, com a finalidade de estabelecer um arquivo de doadores fenotipados. Os doadores identificados com fenótipos raros, presentes em pequena percentagem da população, serão contactados quanto à necessidade de uma possível doação.

Os principais beneficiados com este programa são os pacientes politransfundidos imunizados, portadores de anemia congênita ou crônica e aqueles em tratamento de leucemias ou outras doenças malignas.

Rotineiramente, todos os doadores de sangue são fenotipados para o sistema ABO e Rh, sendo este último pesquisado apenas o antígeno “D” por ser o mais imunogênico.^(36,50) O ideal seria a identificação em relação a todos os antígenos eritrocitários pois só assim estaríamos reduzindo uma possível aloimunização nos receptores de sangue. Em nosso centro não se utiliza automação em grande escala devido o alto custo desta técnica, com isso a obtenção do perfil de todos esses antígenos se torna inviável.

No presente estudo foram escolhidos alguns antígenos devido ao fato dos mesmos provocarem, com maior incidência, riscos acidentais nas transfusões.

Os antígenos estudados foram:

Sistema Rh – D, C, E, c, e.

Sistema Kell – K.

Sistema Duffy – Fy^a, Fy^b.

Sistema Kidd – Jk^a, Jk^b.

Sistema MNSs – M, N, S, s.

Segundo a literatura, os antígenos mais imunogênicos entre os citados anteriormente em ordem decrescente são: D, Kell, E, c, Fy^a, Jk^a, S e s.

Nesta pesquisa procurou-se trabalhar com um pequeno número de antígenos a serem identificados, selecionando apenas os que são capazes de induzir a formação de anticorpos de importância clínica. Essa importância pode ser explicada pela capacidade que os anticorpos têm de promover a destruição celular “in vivo” (intra ou extravascular), a possibilidade de atravessar a barreira placentária, além da frequência e imunogenicidade do antígeno correspondente.

Os anticorpos clinicamente significantes geralmente reagem a 37°C e causam na maioria das vezes reação transfusional hemolítica. Os mais frequentemente encontrados são os anticorpos do sistema de grupos sanguíneos ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy, SSu. Os demais, sem importância clínica, geralmente ativos em temperaturas abaixo de 25°C não causam destruição celular “in vivo”. Os mais frequentes são os MN, P, Lewis, Lutheran e Writh. A inclusão dos antígenos M e N nesta pesquisa, se deve ao fato dos mesmos participarem do Sistema MNSs.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Os antígenos de grupos sanguíneos são produtos genéticos situados sobre a membrana eritrocitária, como estruturas reativas de natureza bioquímica.⁽²⁸⁾ São substâncias capazes de evocar uma resposta imune quando introduzido num hospedeiro imunocompetente e podendo reagir com o anticorpo produzido por esta resposta. A estrutura e o entrosamento estereoquímico com o anticorpo são essenciais para sua especificidade. Um antígeno pode ter vários epítomos ou determinantes antigênicos, cada qual capaz de responder com um anticorpo específico.⁽⁵⁾

A habilidade de um antígeno para estimular uma resposta imune é chamada imunogenicidade. Estas características primárias são afetadas pelo tamanho e forma dos antígenos e o número e localização de determinantes sobre a membrana das hemácias.^(25,52)

Os antígenos eritrocitários pertencem a categoria dos aloantígenos que são os que diferenciam os indivíduos de uma mesma espécie. Geralmente são macromoléculas de natureza proteica com peso molecular superior a 1000. São glicoproteínas ou glicolipídeos e lipoproteínas da membrana globular.

A transmissão hereditária dos antígenos de grupos sanguíneos obedecem às regras habituais da genética Mendeliana. O número de cromossomos por células é de 46,22 pares autossomos e um par de

cromossomos sexuais. A grande maioria está combinada por genes autossômicos. ⁽⁴⁰⁾

Pelo conhecimento acerca da função dos antígenos, começou-se a dar maior atenção aos mesmos em relação a transfusão sangüínea. Esta, teve início em 1900 quando Karl Landsteiner descobriu os grupos sangüíneos ABO, e identificando seus antígenos e anticorpos estabeleceu a compatibilidade entre os sangues dos indivíduos de espécie humana. ^(23,44)

Sem dúvida alguma, a ciência obteve grande avanço ao identificar este grupo. Porém a imunização a antígenos estranhos, as reações hemolíticas e a possibilidade de adquirir doenças infecciosas através da transfusão sangüínea, levaram médicos e pesquisadores a fazer avaliações mais críticas da prática transfusional. Graças a esse envolvimento, foram descobertos outros sistemas que apesar de não possuírem antígenos tão imunogênicos quanto o Sistema ABO (o qual são responsáveis por uma hemólise severa com destruição intravascular das hemácias), também podem provocar reações severas imediatas ou tardias (com destruição extravascular das hemácias, devido anticorpos não detectados em testes pré-transfusionais).

É observado que cerca de 90% das pessoas Rh- que recebem uma unidade de hemácias D+ desenvolvem o anti-D, este pode ser induzido por até 0,5 ou 0,04 ml de hemácias, quando ministradas por injeções repetidas. ^(6,21) Isso é explicado pelo fato que quando o indivíduo é exposto a antígenos

eritrocitários que não lhes são próprios, seu organismo é capaz de rejeitá-los, sendo que a produção de anticorpos é parte do processo de rejeição. Na realidade, a primeira exposição ao antígeno pode levar a uma aloimunização primária com produção de baixos níveis de anticorpos, geralmente da classe IgM. Uma segunda exposição induz uma resposta com produção de altos níveis de anticorpos.

Com o advento da fenotipagem eritrocitária passou-se a determinar a presença ou ausência dos antígenos na membrana das hemácias. A sua identificação tornou-se acima de tudo, uma investigação adicional diante de uma reação hemolítica. Nesse processo se faz a detecção de antígenos dos principais sistemas de grupos sanguíneos, na amostra pré-transfusional do paciente e do doador. Na amostra pós-transfusional pesquisa-se o anticorpo tornando-se um indicativo de uma reação hemolítica.

A fenotipagem para o sistema ABO é indiscutivelmente essencial para uma transfusão, bem como a determinação do antígeno “D” do sistema Rh. Este sistema, depois do ABO, é o mais complexo dos grupos sanguíneos, devido a imunogenicidade e polimorfismo de seus antígenos. Porém os outros sistemas: Kell, Duffy, Kidd e MNSs não poderiam deixar de ser objeto de estudo, já que os mesmos também são causas de acidentes transfusionais.

SISTEMA RHESUS (Rh)

1. Histórico

Em 1939, Lenine e Stetson postularam que o responsável por um caso de DHPN era um anticorpo materno que passou para a circulação fetal, resultando em destruição dos eritrócitos fetais.⁽⁴¹⁾ Eles demonstraram que o anticorpo independia dos sistemas ABO, já então conhecidos na época. Em 1940 Landsteiner e Wiener produzem por imunização de coelhos com hemácias de macacos rhesus, soro contendo anticorpos capazes de aglutinar cerca de 85% das hemácias humanas.⁽²⁹⁾ Em 1941 Wiener e Levine publicam um trabalho sobre DHPN causada pelo anti Rh (anti D). Em 1943, foram observados outros anticorpos em indivíduos politransfundidos e em múltiparas. Foram definidos os antígenos rh' (C) e rh'' (E) como antígenos associados ao Rh. ^(8,18,25,30,52)

Mesmo após 40 anos de estudo, esse sistema ainda é bastante complexo, devido a uma nomenclatura imprecisa e ao grande número de antígenos e dados bioquímicos incompletos. ⁽²⁴⁾

Pelo fato dos anticorpos produzidos por esse sistema estarem relacionados com DHPN e de reações transfusionais, fez do sistema Rh o segundo mais importante em imunohematologia. Os antígenos desse sistema que fazem parte de um grupo de importância clínica são: D, C, c, E, e. Esses antígenos são necessários à função e integridade da membrana eritrocitária.

A terminologia segundo a ISBT apresenta como símbolo: RH e como número: 004.⁽⁴⁵⁾

2. Genética

A mensagem genética do sistema Rh foi demonstrada sobre as hemácias, ao contrário do sistema ABO, onde os antígenos estão expressos em todas as células do organismo. A mensagem genética do sistema Rh situa-se em um locus situado no braço curto do cromossomo 1 (1p 36-34) e se transmitem inseparáveis ou em forma de haplótipo.^(27,52)

3. Fenótipo e Genótipo

O fenótipo é detectado através da utilização de antisoros específicos contra o antígeno que se quer determinar. Com a técnica por gel centrifugação, o fenótipo é determinado apenas usando a suspensão de hemácias. Estas reagem com os anticorpos monoclonais já contidos nas cartelas. Já o genótipo é designado pelos dois cromossomos que o compõe. Em 1991, Colin et al⁽³⁾ demonstraram através de análise do DNA genômico de difentes fenótipos Rh que, indivíduos D+ possuem os genes RHD (que codifica o polipeptídeo D) e RHCE (que codifica o polipeptídeo C/c e E/e).⁽²⁾

4. Poder imunogênico

Os antígenos Rh são altamente imunogênicos, sendo D o mais potente. Em ordem decrescente de imunogenicidade temos: $D > c > E > C > e$.⁽³²⁾ O polipeptídeo D (31,9 KD) é diferente dos polipeptídeos C/c e E/e (33,1 KD). Embora C/c e E/e sejam muito parecidos, C/c, D e E/e parecem ter 3 proteínas distintas. A proteína D, difere das proteínas Cc e Ee em 36 aminoácidos e essa grande diferença justifica o fato do antígeno D ser tão imunogênico para os indivíduos que não o possuem.^(17,27)

5. Anticorpos

A maioria dos anticorpos resultam de imunização por incompatibilidade materno-fetal ou transfusão, excessão feita por alguns exemplos de anti-E e anti-C^w que ocorrem sem estímulo conhecido. Em nosso meio a maioria da população, 80% possui o antígeno “c”, apenas 20% dos doadores carecem deste antígeno. Fenótipos encontrados com c- são considerados raros. Os pacientes “c-“ que tenham desenvolvido o anti-c são portanto receptores de tal fenótipo.⁽²¹⁾

6. Antígenos incomuns e alelos raros

O “C^w” foi descoberto no início da pesquisa do Rh. É um alelo no locus C/c. C^w é encontrado em 2% dos caucasianos, sendo raro em negros. O

anti-C^w pode ser identificado em indivíduos sem exposição conhecida a eritrócitos estranhos, bem como após transfusão ou gravidez. Devido a baixa incidência deste antígeno, o sangue C^w negativo é facilmente disponível.

7. Antígenos mais comumente encontrados.

A frequência dos fenótipos do sistema Rh encontrado em nosso meio está relacionado em percentagem, excetuando-se o antígeno D da seguinte maneira: e(98%), c(86%), C(64%), E(34%). ^(35,53) No presente estudo classificou-se como fenótipos raros aqueles doadores que apresentaram ausência de antígenos em baixa percentagem da população.

8. Principais características dos antígenos e anticorpos do sistema Rh.

Os antígenos “C” e “E” são potencializados com a papaína. Seus anticorpos pertencem tanto a classe IgM como IgG e não fixam complemento. O aloanticorpo pode provocar desde uma reação transfusional leve a severa, podendo ser uma reação imediata ou retardada apresentando hemoglobinúria. Quanto a DHPN apresenta-se leve. Quanto ao antígeno “c”, a maioria dos seus anticorpos são IgG e apenas alguns são IgM. Também são potencializados com a papaína. Os aloanticorpos além de apresentarem as características anteriores, podem provocar DHPN severa. Os anticorpos do antígeno “e” podem raramente apresentar DHPN ou quando ocorre apresenta uma leve reação. ^(45,51)

SISTEMA KELL

1. Histórico

A sua descoberta originou-se do encontro de um anticorpo detectado no soro de uma mulher: a Sra. Kellacher. Este, parecia ser responsável pela DHPN de seu filho. Isso ocorreu em 1946 descrito por Mouran e Race logo após o advento do teste de antiglobulina humana. Hoje são conhecidos 25 antígenos desse sistema, valendo ressaltar: K, k, Kp^a, Kp^b, Js^a, Js^b, Ku. ^(24,39) A terminologia segundo a ISBT apresenta como símbolo KEL e como número: 006. ⁽⁴⁵⁾

2. Genética

O complexo gênico KEL, situado no cromossomo 7 q33 tem aproximadamente 21,5 Kb com uma sequência codificante organizada em 19 exons que variam em tamanho de 63 a 288 bp.

O gene autossômico codifica muitos antígenos e é análogo ao Rh, com excessão do antígeno Kx que é carregado pelo cromossomo X. A ausência da proteína Kx está associado a alterações clínicas que constituem a síndrome de Mc Leod. ^(1,7)

3. Antígenos

Os antígenos do grupo sanguíneo Kell, com a exceção do Kx somente são encontrados nos eritrócitos. Os antígenos estão bem desenvolvidos ao nascimento, o que contribui para a gravidade da DHPN. Os antígenos não são desnaturados por enzimas de rotina de banco de sangue. Porém, são destruídos quando a tripsina e quimiotripsina são usados em conjunto. O antígeno K merece destaque nesse sistema devido seu alto poder imunogênico ficando em segundo lugar logo após o antígeno D. A maioria da população não possui “K” e quando a mesma é transfundida com unidades K⁺, a propabilidade de produzir anti-K pode ser alta. Felizmente a frequência do antígeno K é baixa. A chance de receber uma unidade K⁺ é pequena e se Anti-K se desenvolver, unidades compatíveis são facilmente encontradas. ⁽³²⁾

4. Anticorpos

O anti-K é o mais comum anticorpo do sistema Kell observado no banco de sangue. Dois em cada três anticorpos detectados são anti-K. Seu antígeno pode ter baixa frequência (9%), mas é muito imunogênico. Os anticorpos do sistema Kell responsáveis por aloimunização transfusional ou materno-fetal são da classe IgG, geralmente IgG₁ e revelado pela reação de Coombs indireto. ^(34.)

5. Aspectos de importância clínica

A maioria dos anticorpos do sistema Kell pertencem a classe IgG, são reativos a 37°C e aproximadamente 20% ativam complemento. Se ativam complemento até C₉ podem causar hemólise intravascular (infrequente), se ativam até C_{3b} podem causar hemólise extravascular. Como os antígenos Kell se desenvolvem precocemente no feto e a maioria dos anticorpos deste sistema são da classe IgG (tendo, portanto, a capacidade de atravessar a barreira placentária), a DHPN por anticorpos Kell, principalmente anti-K, pode levar a hemólise grave no feto. É observado que o anti-K de ocorrência natural, está associado com infecções por *Escherichia coli* e pelo bacilo da tuberculose. Em geral o anticorpo desaparece depois que o paciente se recupera. (7,34.)

SISTEMA DUFFY

1. Histórico

Este sistema foi descoberto em 1950 por Cutbush, Mollison e Parkin que detectaram um anticorpo descrito num paciente hemofílico politransfundido, Mr. Duffy. Esse anticorpo foi chamado anti-Fy^a. Um ano depois um antígeno antitético Fy^b foi descrito por Ikin e Mourant. Uma grande descoberta foi a observação do fenótipo Fy(a- b-) encontrado na maioria dos negros e ausente em brancos. (37)

A terminologia deste sistema segundo a ISBT apresenta como símbolo FY e como número: 008. ⁽⁴⁵⁾

2. Genética

O locus Duffy, mapeado no cromossomo 1q 22-23 é composto de dois alelos comuns em caucasianos, Fy^a e Fy^b . Estes codificam respectivamente para a produção dos antígenos Fy^a e Fy^b . ⁽¹¹⁾

3. Antígenos

Os antígenos Fy^a e Fy^b são alelos codominantes herdados de acordo com o modelo Mendeliano. Encontram-se bem desenvolvidos ao nascimento, podendo ser detectados nas hemácias dos embriões entre a 6^a e 7^a semana de gestação. Os antígenos Fy^a e Fy^b já foram detectados em outros tecidos ou órgãos, além das hemácias. Esses antígenos não estão presentes em linfócitos, monócitos, granulócitos ou plaquetas.

Os antígenos do sistema Duffy são glicoproteínas que apresentam diferentes sensibilidades às enzimas proteolíticas. São desnaturados ou removidos pela quimiotripsina, papaína e bromelina, não sendo porém, afetados pela tripsina. ⁽²⁴⁾

4. Anticorpos

Os anticorpos anti-Duffy resultam de aloimunização transfusional ou materno-fetal. São anticorpos imunes, via de regra da classe IgG detectados pela reação de Coombs indireto. O anti Fy^a ocorre três vezes menos frequentemente que o anti-K. O anti Fy^b é muito mais raro e em geral ocorre em combinação com outros anticorpos. (20,24)

5. Aspectos de importância clínica

Os anticorpos anti-Fy^a e anti- Fy^b são clinicamente significantes na transfusão. Podem causar graves reações hemolíticas. Um paciente imunizado com estes anticorpos deverá ser transfundido com sangue negativo para o antígeno correspondente. Um ponto importante desse sistema está relacionado com a associação deste com a invasão das hemácias pelo parasita *Plasmodium vivax* da malária. Negros com fenótipo Fy(a- b-) são resistentes à infecção por este parasita. (15,37,46)

SISTEMA KIDD

1. Histórico

O Sistema Kidd, é o mais simples dos sistemas. Seu primeiro antígeno, Jk^a foi definido em 1951 através de um anticorpo no soro da Sra.

Kidd, cujo filho apresentava doença hemolítica peri-natal. Seu antígeno antitético, Jk^b foi descoberto dois anos após por Plaut e colaboradores. O fenótipo nulo, $Jk(a-b)$ (fenótipo raro) foi descrito por Pinkerton e colaboradores em 1959. ^(9,40,43) Neste sistema são conhecidos três antígenos: Jk^a , Jk^b , Jk . A terminologia segundo a ISBT apresenta como símbolo: JK e como número: 009. ^(45,54)

2. Genética

O modelo genético do modelo Kidd parece simples: os genes Jk^a e Jk^b são alelos responsáveis pela produção dos antígenos Jk^a/Jk^3 e Jk^b/Jk^3 respectivamente. ⁽¹¹⁾ Há evidências de que o gene responsável pela expressão do sistema Kidd se localiza no cromossomo 7. ^(9,34)

Um terceiro alelo chamado Jk , foi postulado como um gene silencioso responsável pelo fenótipo $Jk(a-b-)$ do tipo recessivo. Este fenótipo é o mais resistente a lise pela uréia. Um outro fenótipo $Jk(a-b-)$ mais raro, menos resistente a lise pela uréia e incapaz de produzir anti- Jk^3 , é produzido pelo inibidor $In(Jk)$ que não é herdado no mesmo locus Kidd e é transmitido de maneira dominante. Este, está relacionado com a fraca expressão dos antígenos Kidd, não detectáveis em testes de rotina. ⁽¹¹⁾ O fenótipo $Jk(a-b-)$ é raro em raças brancas e negros. Este fenótipo foi descrito em indivíduos de origem oriental. ^(14,42)

3. Antígenos.

Os antígenos do sistema Kidd podem ser encontrados nas hemácias, porém estão ausentes nos neutrófilos, linfócitos, monócitos e plaquetas. As frequências antigênicas nas populações branca e negra são Jk^a 76% e 91% e Jk^b 71% e 43% respectivamente.⁽²⁴⁾ Esses antígenos encontram-se bem desenvolvidos ao nascimento, o que contribui para o potencial da doença hemolítica peri-natal.⁽⁹⁾ Os eritrócitos de indivíduos homozigóticos exprimem o antígeno mais acentuadamente que os heterozigóticos.

Os antígenos deste sistema não são suprimidos pelo tratamento das hemácias com enzimas proteolíticas; ao contrário, o Jk^a tem suas reações exacerbadas por estas técnicas.⁽³⁴⁾

4. Anticorpos

Os anticorpos Kidd possuem uma notória reputação no banco de sangue, são frequentemente encontrados em combinação de anticorpos, refletindo uma baixa imunogênicidade dos antígenos Kidd. Como Jk^a e Jk^b são imunógenos fracos, somente “bons respondedores” de anticorpos os identificam. O anti-Jk^a é mais comum que o anti-Jk^b. Ambos são formados após sensibilização por gravidez ou transfusão, sendo raros os de ocorrência natural. O anticorpos são IgG (principalmente IgG3) e fixam complemento, sendo

portanto, detectado pelo teste indireto de Coombs com soro de largo espectro (com atividade anti-complemento).^(9,14,34)

5. Aspectos de importância clínica

Como a apresentação dos anticorpos do sistema Kidd aparecem frequentemente em combinação com outros anticorpos, muitas vezes é difícil seu reconhecimento. São conhecidos pela sua implicação em graves reações hemolíticas pós-transfusionais, especialmente nas reações tardias que se apresentam quando o anticorpo, que se desenvolve rapidamente como resposta anamnésica frente aos antígenos das hemácias transfundidas, destroem as hemácias ainda circulantes.^(40,52)

Alguns auto-anticorpos tipo anti-Jk^a foram relacionados com medicamentos: um foi descoberto em pacientes tratados com Alfametildopa (Aldomet); outro era dependente de Clorpropamida (isto é, reagia com eritrócitos Jk(a+) somente quando a droga estava presente). O paciente era Jk(a+) e estava sendo tratado com o medicamento.⁽⁹⁾

SISTEMA MNSs

1. Histórico

Após a descoberta do sistema ABO, Landsteiner e Levine imunizando coelhos com eritrócitos humanos detectaram o anti-M e anti-N, os quais foram relatados em 1927. Em 1947, Walsh e Montgomery encontraram um aloanticorpo, anti-S detectado em antígeno relacionado com M e N. Seu parceiro antitético “s” foi descoberto em 1951. Desde essas descobertas iniciais, muitos outros antígenos geneticamente relacionados foram descritos, fazendo com que o sistema MNSs seja igual ao Rh em tamanho e complexidade. Este sistema tem em torno de 38 antígenos e segundo a ISBT apresenta como símbolo MNS e é reconhecido pela numeração 002. ^(9,13,45,52)

2. Genética

O sistema MNSs é complexo e caracterizado pelo desenvolvimento crescente de variantes genéticas. MNSs são pseudoalelos que se combinam para formar quatro haplótipos: Ns, Ms, MS, NS. O complexo genético está localizado no braço longo do cromossomo 4 (4q28-q31). ^(10,24)

3. Antígenos

Os antígenos do Sistema MNSs estão associados às sialoglicoproteínas (SGP) da membrana eritrocitária, denominado glicoforina A (GPA) e glicoforina B (GPB). Estes antígenos possuem certas características clínicas e sorológicas importantes. Eles são bem desenvolvidos ao nascimento e têm sido detectados em eritrócitos fetais em uma idade gestacional precoce o que contribui para os casos de doença hemolítica peri-natal.

Mostram efeito de dose, ou seja, hemácias homozigotas reagem muito mais fortemente com o anticorpo correspondente e são suscetíveis ao tratamento enzimáticos por enzimas proteolíticas. ^(9,10)

4. Anticorpos

O anti-M é um anticorpo natural irregular que reage melhor à 4°C e ph: 6.5, podendo reagir ainda que fracamente à 37°C. Embora geralmente IgM, em grande parte dos casos encontra-se uma fração IgG. Normalmente estes anticorpos não fixam complemento. O anti-N apresenta características sorológicas semelhantes ao anti-M, porém é mais raro. O anti-S e anti-s, ao contrário do anti-M e anti-N usualmente são clinicamente significantes e produzidos por aloimunizações. Em geral o anti-S é imune (IgG), embora possa ocorrer como natural (IgM). O anti-s é um anticorpo raro e imune (IgG). ⁽¹⁰⁾

5. Aspectos de Importância Clínica

Além dos aspectos relativos às aloimunizações, a GPA-M pode ser receptora de cepas pielonefritogênicas de *Escherichia coli* que penetra no trato urinário. Há evidências que o *Plasmódium falciparum* utiliza sítios associados com SGP-MN, ou SGP-Ss, para a invasão do eritrócito. ⁽¹⁰⁾

Os anticorpos do sistema MNSs são raramente encontrados na rotina laboratorial de banco de sangue, sendo que o anti-M é o mais comum. Em virtude destes anticorpos serem ativos em baixa temperatura, merecem atenção especial aqueles pacientes portadores desses anticorpos numa cirurgia sob hipotermia. Na prática transfusional, a incompatibilidade dos anticorpos com o sistema MNSs é apontado como causa de reações transfusionais graves. Quando estes anticorpos estão presentes é importante lembrar que o sangue a ser transfundido deverá ser negativo para o antígeno correspondente ao anticorpo encontrado. ⁽³⁸⁾

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 180 doadores de sangue, n=180, do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará - HEMOCE no período de 15 de outubro 1997 à 15 de janeiro de 1998. Os mesmos foram abordados pela equipe do serviço social, a fim de instruí-los sobre o programa de fenotipagem-PROFEN.

Os doadores, por questão ética decidiam a adesão ou não ao programa. Os que aceitavam espontaneamente, com idade entre 18 e 58 anos, teriam que assumir a responsabilidade de no caso de ter um fenótipo raro, fazer a doação quando fosse solicitado dentro dos parâmetros legais.

Para esse trabalho foram estipulados critérios de escolha: os doadores escolhidos para o PROFEN seriam preferencialmente dos grupos sangüíneos "O" e "A" positivo ou negativo e que já haviam doado sangue pelo menos uma vez. A razão da escolha dos grupos "A" e "O", deve-se ao conhecimento antecipado dos grupos sangüíneos, e por serem estes os mais frequentes na população.

A fenotipagem dos antígenos eritrocitários de significância clínica foi avaliada no laboratório de imunohematologia. As amostras eram repassadas após a classificação e estudos sorológicos confirmados como negativos.

O serviço social, que se encarregava da abordagem ao doador, mantinha uma ficha onde se apresentavam alguns dados do mesmo, como:

nome, endereço, telefone, idade, sexo, cor da pele, se havia sido transfundido ou tido alguma gestação quando em mulheres. (ver anexo)

Da mostra de sangue do doador, era preparada uma suspensão de hemácias. As técnicas utilizadas, no laboratório de imunohematologia do HEMOCE eram por gel centrifugação, o gel utilizado foi o Sephadex G₁₀₀ super fino. A apresentação para a pesquisa era de cartelas contendo: gel neutro (sem anti-soro específico) e gel específico (mistura de gel com anti-soro). O gel teste é o novo método, DIAMED – ID Sicro Typing Sistem, desenvolvido pela DIAMED Suíça. É um sistema de cartões com 6 microtubos de reações que permitem executar todos os testes imunohematológicos com maior segurança, podendo os resultados, inclusive serem documentados por fotocópias. ⁽²⁶⁾

Foram utilizadas substâncias como Liss, (modificador da força iônica variando a composição do meio, facilitando assim a reação antígeno-anticorpo) e Bromelina (enzima proteolítica que facilita a reação antígeno-anticorpo por diminuição da carga elétrica das hemácias).

Para a determinação dos antígenos M,N,S,s, Fy^a, Fy^b seguimos a seguinte técnica:

1. Da amostra com anticoagulante, centrifugamos a 3.500 rpm por 5 minutos.
2. Fizemos uma suspensão de hemácias a 0.8% em tubo de hemólise retirando 10µl do sedimento mais 1ml do diluente 2 (Liss-modificado).
3. Pipetamos 50µl da suspensão de hemácias nos microtubos.

4. Em seguida pipetamos 50 μ l de ID-anti soro nos microtubos correspondentes.
5. Incubamos durante 10 minutos à temperatura ambiente.
6. Centrifugamos durante 10 minutos e realizamos a leitura.

(Para essa determinação foram utilizadas cartelas contendo gel antiglobulina (mistura/antiglobulina humana-AGH).⁽²⁶⁾

Para a determinação dos antígenos C,E,c,e,^w Jk^a , Jk^b obedecemos a seguinte técnica:

1. Centrifugamos a amostra de sangue com anticoagulante a 3.500rpm durante 5 minutos.
2. Em seguida fizemos uma suspensão a 5% em tubo de hemólise correspondente a 25 μ l do sedimento mais 0,5ml do diluente 1 (bromelina).
3. Homogeinizamos a suspensão e incubamos a 10 minutos à temperatura ambiente.
4. Repetimos a homogenização e pipetamos 10 μ l da suspensão nos microtubos.
5. Centrifugamos as cartelas a 10 minutos e então realizamos a leitura.

(Para essa determinação, foram utilizadas cartelas com anticorpos monoclonais. Adicionamos apenas a suspensão das hemácias).⁽²⁶⁾

A presença do antígeno era observada na formação do aglutinato, pela ação dos anticorpos. Nesse caso as hemácias, retidas pelo gel durante a centrifugação, apresentavam padrões de 1 a 4 cruces (reação positiva).

Quando as hemácias não formam aglutinatos por anticorpos, sedimentam-se no fundo do microtubo (reação negativa).

Materiais e Equipamentos Utilizados

- ✓ Tubos de ensaio
- ✓ Sangue com anticoagulante (EDTA)
- ✓ Centrífuga
- ✓ Cartelas contendo Gel-antiglobulina (mistura gel/antiglobulina humana-AGH)
- ✓ Pipetas automáticas
- ✓ Centrífuga padronizada para técnicas em cartelas DIAMED
- ✓ Estante para tubo de ensaio
- ✓ Estantes para cartelas
- ✓ Diluente 1 → Bromelina
- ✓ Diluente 2 → Liss
- ✓ ID Soros: Anti-M, Anti-N, Anti-S, Anti-s, Anti-Fy^a, Anti-Fy^b.

(ver figuras - anexo).

Metodologia da pesquisa.

Esse estudo caracterizou-se por ser uma pesquisa de natureza exploratória, com obtenção de dados através de entrevistas com doadores. Foi determinado um erro de amostragem de 5% e os dados foram tabulados e tratados utilizando-se análise estatística descritiva.

4. RESULTADOS

Os dados, resultantes do estudo de 180 amostras de sangue, mostraram uma distribuição do perfil dos doadores do programa de fenotipagem do Hemoce segundo a idade, sexo e cor da pele.

Os resultados obtidos mostraram uma distribuição da idade que variou entre 18 a 58 anos, com uma maior frequência de doadores entre 26 a 34 anos. Foi observado um predomínio do sexo masculino (90,0%) sobre o sexo feminino (10,0%) e da cor parda (84,4%) sobre branca e negra (tabelas e gráficos 1,2,3).

Em relação a detecção de fenótipos raros, foi revelada a seguinte frequência: Sistema Rh \Rightarrow CCDee (19,0%); CCDEe (2,2%); CCDEE (0%); CcDEE (0%); ccDEE (3,0%); Sistema Duffy \Rightarrow Fy(a-b-) (4,4%); Sistema Kidd \Rightarrow Jk(a-b-) (0%); Sistema MNSs \Rightarrow (M-N-) (0%); (S-s-) (0,6%).

Estes resultados acompanhados com a frequência dos demais fenótipos podem ser vistos nas tabelas 4,5,6,7,8.

Tabela 1 - Distribuição dos doadores do Programa de Fenotipagem do HEMOCE segundo a idade.

FAIXA ETÁRIA (anos)	Nº de doadores	Frequência %
18 -- 26	40	22,0
26 -- 34	57	31,7
34 -- 42	46	25,6
42 -- 50	30	16,7
50 -- 58	7	4,0
TOTAL	180	100,0

Fonte: Pesquisa direta - Hemoce.

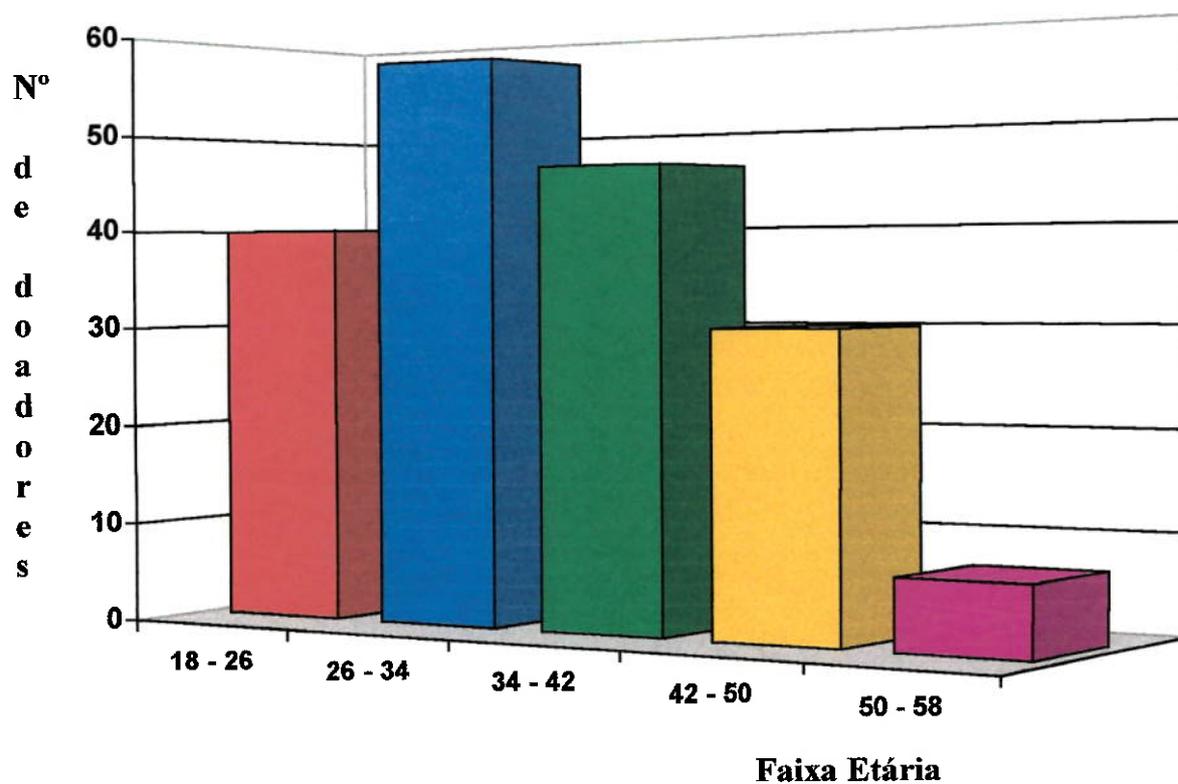


Gráfico 01 - Distribuição dos doadores do PROFEN segundo a faixa etária.

Tabela 2 - Distribuição dos doadores do PROFEN segundo o sexo.

SEXO	Nº de doadores	Frequência %
Masculino	162	90
Feminino	18	10
TOTAL	180	100

Fonte: Pesquisa direta - HEMOCE

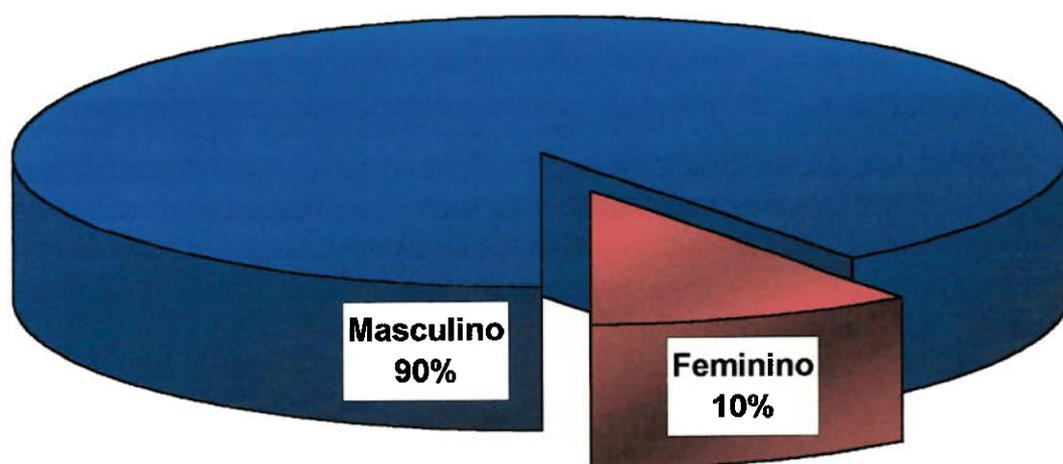


Gráfico 02 - Distribuição dos doadores do PROFEN segundo o sexo.

Tabela 3 – Distribuição dos doadores do PROFEN segundo a cor da pele

COR DA PELE	Nº de doadores	Frequência %
Branco	20	11,1
Pardo	152	84,4
Negro	8	4,5
TOTAL	180	100,0

Fonte: Pesquisa direta - HEMOCE

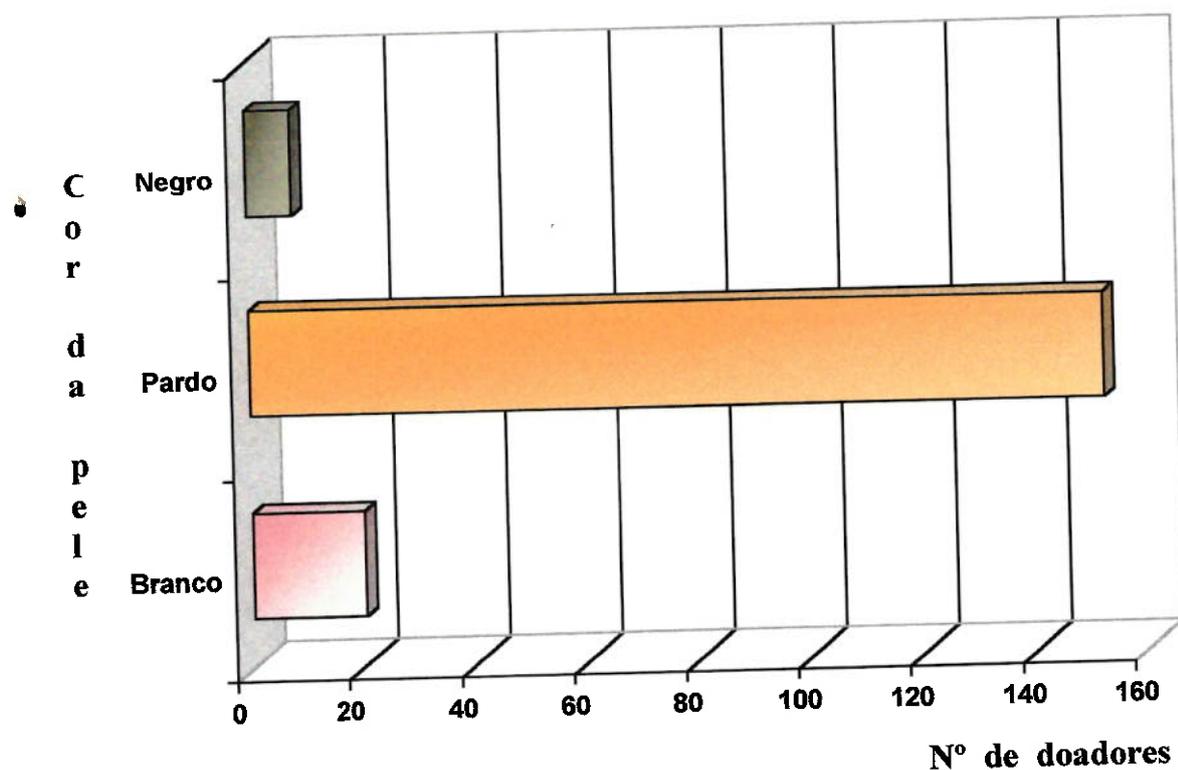


Gráfico 03 – Distribuição dos doadores do PROFEN segundo a cor da pele

Tabela 4 – Frequência dos fenótipos do Sistema Rh em uma amostra de 180 doadores do PROFEN

FENÓTIPO	Nº de doadores	Frequência %
CcDee	58	32,0
CCDee	34	19,0
CcDEe	20	11,0
ccDee	25	14,0
CCDEe	04	2,2
ccDEE	05	3,0
CcDEE	00	0
CCDEE	00	0
ccDEe	15	8,3
ccdee	17	9,4
Ccdee	02	1,1
ccdEe	00	0
CCdEe	00	0
TOTAL	180	100,0

Fonte: Pesquisa direta – HEMOCE

Fenótipos raros

Tabela 5 – Frequência dos fenótipos do Sistema Kell em uma amostra de 180 doadores do PROFEN

Fenótipos	Nº de doadores	Frequência %
K+	11	6
K-	169	94
TOTAL	180	100

Fonte: Pesquisa direta - HEMOCE

Tabela 6 – Frequência dos fenótipos do Sistema MNSs em uma amostra de 180 doadores do PROFEN

Fenótipos	Nº de doadores	Frequência %
(M+N-)	57	32
(M-N+)	31	17
(M+N+)	92	51
(M-N-)	0	0
TOTAL	180	100

Fenótipos	Nº de doadores	Frequência %
(S+s+)	71	39,4
(S+s-)	16	8,9
(S-s+)	92	51,1
(S-s-)	1	0,6
TOTAL	180	100,0

Fonte: Pesquisa direta - HEMOCE

Fenótipos raros

Tabela 7 – Frequência dos fenótipos do Sistema Duffy em uma amostra de 180 doadores do PROFEN

Fenótipos	Nº de doadores	Frequência %
Fy(a+b-)	53	29,5
Fy(a+b+)	59	32,8
Fy(a-b+)	60	33,3
Fy(a-b-)	8	4,4
TOTAL	180	100,0

Fonte: Pesquisa direta - HEMOCE

Fenótipos raros

Tabela 8 – Frequência dos fenótipos do Sistema Kidd em uma amostra de 180 doadores do PROFEN

Fenótipos	Nº de doadores	Frequência %
Jk(a+b-)	54	30
Jk(a+b+)	88	49
Jk(a-b+)	38	21
Jk(a-b-)	00	00
TOTAL	180	100

Fonte: Pesquisa direta - HEMOCE

Fenótipos raros

5. DISCUSSÃO

O Brasil representa um dos maiores grupos étnicos do mundo. No entanto, existem poucas informações sobre a distribuição dos grupos sangüíneos na população brasileira. Por isso é importante o conhecimento do perfil dos antígenos eritrocitários em doadores de sangue de cada região, pois serve acima de tudo para identificar as diferenças existentes nas diversas localizações, a fim de estimular uma ação cooperativa entre os serviços de medicina transfusional, quanto a disponibilidade de determinados fenótipos para transfusão em pacientes aloimunizados. ⁽³⁵⁾

A implantação do Programa de Fenotipagem – PROFEN, é mais uma estratégia criada pelo HEMOCE para beneficiar principalmente pacientes aloimunizados e também minimizar as perdas de bolsas de sangue com fenótipos raros. Pois o que ocorre em nosso centro é que muitas vezes, a bolsa de sangue de um doador com fenótipo raro se destina a pacientes que não necessitam de uma bolsa incomum. Com isso há desperdício do concentrado de hemácias com fenótipos pouco comuns. Por exemplo, um doador com fenótipo para o sistema Rh: CCDEE (raro) cujo antígeno “c” e “e” estão ausentes, muitas vezes se destina a pacientes que contém tais antígenos e não necessariamente precisaria de tal fenótipo. Nesse caso o receptor que contém os dois antígenos poderia receber um sangue com fenótipo comum.

Com a implantação do programa podemos contar com a seleção de vários doadores com fenótipos pouco comuns que estarão disponíveis à doação em situações específicas. Neste trabalho procuramos determinar os fenótipos raros em doadores do PROFEN.

Foi considerado fenótipo raro aquele que se encontra em escassês em nossa população com menores chances de serem encontrados na rotina do laboratório de imunohematologia. A maioria desses fenótipos raros são referidos àqueles cujo antígenos são ausentes. O fenótipo de um determinado eritrócito é definido pela presença ou ausência de seus antígenos.

De acordo com o trabalho publicado pela Sociedade Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Hemocentros da Rede Oficial, a frequência fenotípica no Brasil não diferencia significativamente de região para região.

Na região sul a frequência de fenótipos raros para o Sistema Duffy Fy(a-b-) é de 2%, região nordeste 7,3% e região sudeste 10,2%. Quanto aos doadores do PROFEN, foi observado dados referentes a 4,4%. Vale ressaltar que não obedecemos critérios de escolha para raça e como o fenótipo Fy(a-b-) é mais encontrado em negros que foram minoria em nosso estudo, ressaltamos que o fenótipo com pequena frequência está relacionado com o baixo índice de negros aderidos ao programa.

Em relação ao Sistema Kidd o seu fenótipo raro Jk(a-b-), segundo a literatura mostra 0,7% na região sul, 0% na região nordeste e 10,2% na região

sudeste. Estes resultados condizem com os encontrados em nosso trabalho. (Ver tabela 8). Quanto aos outros sistemas também foram compatíveis com os resultados da literatura. ^(1,22,24,31,40,53)

A frequência de fenótipos raros para o Sistema Rh de acordo com Pelizza, S.M., Berthier, M., Gonzaga, E.O., é a seguinte: 17,8% de CCDee; 2,3% de ccDEE. Estas frequências quando relacionadas com nossos resultados não mostraram variações significativas. (ver tabela 4) Quanto ao Sistema MNSs mostraram percentuais correlacionados com a literatura consultada. ^(35,53) (ver tabela 6) No Sistema Kell vale ressaltar que a ausência do antígeno “K”, apesar de ser um excelente fenótipo para transfusão em pacientes com anticorpos anti-K, não é considerado raro já que a maioria da população não o possui. A percentagem encontrada para o antígenos “K” mostra o cuidado que se deve ter de não transfundir um sangue com sua presença pois a maioria da população sendo K- facilmente será imunizada. (ver tabela 5)

Foi determinado também a frequência em relação a cor da pele, mas devido os dados referenciais da literatura serem baseados na cor branca e negra, não foi possível fazer uma correlação com os encontrados nos doadores do PROFEN, que apresentaram uma maior incidência de pardos. (ver tabela e gráfico 3)

Quanto ao sexo, foi verificado uma predominância do sexo masculino justificado por terem mais hábito de doar sangue. (ver tabela e gráfico 2)

6. CONCLUSÃO

A detecção de fenótipos raros em um grupo de doadores, estabelecendo um arquivo contendo dados suficiente para um possível contato, é sem dúvida, de extrema importância, pois conhecendo o perfil antigênico dos doadores, os processos de aloimunização serão minimizados.

A baixa incidência de fenótipos raros e o aumento de pacientes com doenças hematológicas, necessitando de sangue fenotipado, faz com que o acesso às bolsas raras de sangue para estoque, se torne cada vez mais difícil para fins terapêuticos.

Portanto a objetividade do nosso trabalho diante da seleção de doadores com fenótipos raros, é estabelecer uma maneira racional no fornecimento dessas bolsas para quem necessita. Dessa maneira, o HEMOCE avança com mais uma estratégia para atender à demanda de bolsas de sangue fenotipadas, a fim de assegurar, principalmente ao paciente politransfundido imunizado, um atendimento planejado com maior rapidez e segurança.

7. SUMMARY

INCIDENCE OF ERYTHROCYTIC ANTIGENS IN BLOOD DONORS PARTAKING IN A PHENOTYPE REGISTRATION PROGRAM AT *HEMOCE*.*

MARIA DAS GRAÇAS RAMALHO LEITE.**

An analysis of the main antigens of the Rh, Kell, Kidd and MNSs systems was carried out for 180 blood donors partaking in a phenotype registration program (PROFEN) at HEMOCE – The Ceará Center for Hematology and Hemotherapy. The analysis extended over a period of three months (from Oct.15 1997 to Jan.15 1998) in each of which 60 donors were selected, corresponding to 2% of the average monthly number of donors at the center. The aim of the study was to detect rare phenotypes with which to establish a data base of donors available for highly specific blood requirements. The detected phenotypes and their frequency rates were as follows: Rh System: CcDee (32,0%), CCDee (19,0%), CcDEe (11,0%), ccDee (14,0%), ccDEe (8,3%), ccdee (9,4%), CCDEe (2,2%), ccDEE (3,0%), Ccdee (1,1%). Kell System: K+(6,0%), K- (94,0%). Duffy System: Fy(a+b+) (32,8%), Fy(a-b+) (33,3%), Fy(a+b-) (29,5%), Fy(a-b-) (4,4%). Kidd System: Jk(a+b+) (49,0%), Jk(a-b+) (21,0%), Jk(a+b-) (30,0%), Jk(a-b-) (0%). MNSs System: (M+N-)

(32,0%), (M+N+) (51,0%), (M-N+) (17,0%), (M-N-) (0%), (S+s-) (8,9%), (S+s+) (39,4%), (S-s+) (51,1%), (S-s-) (0,6%). The antigen study was carried out with standard techniques through gel centrifugalization and with strict adherence to the manufacturers's guidelines. The rates found for each antigen do not differ significantly from those given in the scientific literature in Brazil.

*Work done in the CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ – HEMOCE [HEMATOLOGY AND HEMOTHERAPY CENTER OF CEARÁ].

** Pharmaceutical Biochemist who attended the 12th Specialization Course on Hematology and Hemotherapy.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALLEN, F. H. Jr., ROSENFELD, R. E. **Notation for the Kell blood system.** Transfusion, 1961, v.1, p.305.
02. ASSISTT, P. D., **Recent advances in the Rh blood group system.** Vox Sang, 1996, v.70, p.26-30.
03. BARRETO, O. C., et al. **Distribuição do sistema ABO e Rh destacando se a pesquisa do antígeno Du, em Santo André, SP.** Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Univ. São Paulo, 1983, v. 38, n. 3, p. 111-114.
04. BEIGUELMAN, D. **Farmacogenética e sistemas sangüíneos eritrocitários.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983.
05. BEUTLER, E., LICHTMAN, M., COLLER, B. S., KIPPS, T. J. **Erythrocyte antigens and antibodies.** In: CALHOUN, I., PETZ, L. D. Hematology, 5 ed. New York: Mc Graw Hill, 1995. Cap 148, p.1595-1610.
06. BLOY, C., BLANCHARD, D., LAMBIN, P., et al. **Characterization of the D, c, E and G antigens of the Rh blood group system with human monoclonal antibodies.** Mol. Immunol, 1988, v.25, p. 925-931.

07. BORDIN, J. O. **Sistema Kell**. In:--- Manual de imunohematologia eritrocitário. Belo Horizonte: IEA, 1996, cap.6.
08. BRYANT, N.J., SHANAHAN, L.S., SUTTON, D.M.C. **A rapid tube technique for fetal cell typing transfusion**. 1979, v.19, n.2, p.190-191.
09. CALHOUN, L., **Outros sistemas importantes de grupos sanguíneos**. In: HARMENING, D. Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão. 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1992. 445p. cap. 8, p. 135-172.
10. CASTILHO, S. L., **Sistema MNS**. In:--- Manual de imunohematologia eritrocitário. Belo Horizonte: IEA, 1996, cap.8.
11. CASTILHO, L. M., MELO, L., SANTOS, J. A., **Sistema Duffy e Kidd**, Manual de imunohematologia eritrocitário. Belo Horizonte: IEA, 1996. cap.7.
12. CHASSAIGNE, M. et al. **Sistema Rhesus**. In:--- Manual prático de transfusão sanguínea. São Paulo: Andrei, 1988.
13. DANIELS, G. **MNS blood group system**. In: --- Human blood groups. 5 ed. s. 1: Blackwell Science, 1995, cap 3, p.121-138.
14. ----- **Kidd blood group system**. In: --- Human blood groups. 5 ed. s. 1: Blackwell Science, 1995, cap 9, p.441-442.

15. -----. **Duffy blood group system.** In: --- Human blood groups. 5 ed. s. 1: Blackwell Science, 1995, cap 8, p.425-426,433.
16. -----. **Kell blood group system.** In: --- Human blood groups. 5 ed. s.1: Blackwell Science, 1995, cap 7, p.385-390.
17. -----. **Rh blood group system.** In: --- Human blood groups. 5 ed. s. 1: Blackwell Science, 1995, cap 5, p.204-245.
18. DANIELS, G., ANSTEE, D. I., CARTRON, J. P., DAHR, W. et al. **Blood group terminology.** Vox Sang, 1995, v. 69, p.265-279.
19. DANIELS, G. L. et al. **Terminologia dos grupos sanguíneos.** Bol. da Soc. Bras. de Hemat. e Hemot., 1996, v. 18, p.37-51.
20. IKIN, E. W., MOURANT. E., PETTENKOFER, H., BLUMENTHAL, G., **Discovery, of the expected haemagglutinin, Anti-Fy^b.** Nature, 1951, v.168, p.1077.
21. ISSELBACHER, K. J. et al. **Grupos sanguíneos e transfusão de sangue.** In:--- Medicina interna. 13 ed. México: Nueva editorial interamericana, 1995, vol 2, cap 312, p. 1875-1876.
22. JUNQUEIRA, P. C., WISHART, P. J. **Grupos sanguíneos em pretos do Rio de Janeiro.** Arq. Bras. de Med., v.12, p. 427-434.
23. JUNQUEIRA, P. C., **Evolução da transfusão de sangue.** In: ---. O essencial da transfusão de sangue. São Paulo. Organização Andrei Editora, 1979, cap. 1, p.16-22.

24. LIMA, L. M. A., **Curso de imunohematologia**, Botucatu, UNESP, 1992.
25. LIZZA, C., MEYERS, I., GINDY, L. **Blood groups**. In: PETZ, L.D., SWISHER, S.N., KLEINMAN, S. et al. Clinical practice of transfusion medicine. 3 ed. New York: Churchill Livingstone, 1996, cap.5, p. 96-116.
26. **MANUAL de técnicas**, Belo Horizonte – MG - Dia Med, Brasil. 1994.
27. MELO, L., SANTOS, J. A. **Sistema Rh** Belo Horizonte: IEA, 1996 (Imunotematologia Eritrocitária, 5).
28. MELO, L., SANTOS, J. A., **Genética e bioquímica dos grupos sangüíneos**: IEA, 1996 (Imunohematologia eritrocitária, 3).
29. MOLLISON, P. L., ENGELFRIET, C. P., CONTRERAS, M., **The Rh blood group system**. In: ---. Blood Transfusion in Clinical Medicine. 10 ed. Oxford Blackwell Scientific Publications, 1997, p.204-245, cap 5.
30. NOVARETTI, M. C. **Sistema de grupo sangüíneo Rh**. In:--- Hematologia e hemoterapia, 1996, v.1, n.3, p. 10-14.
31. NUNES, M. J. A. **Análise estatística dos grupos sangüíneos em Fortaleza**. Rev. Bras. Biol., 1963, v.23, p.355-360.

32. O'CONNOR, K L., **O sistema de grupo sanguíneo Rh.** In: HARMENING, D., Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão. 2 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1992. 445p. cap. 6, p. 109-123.
33. OLIVEIRA, A. M P., OLIVEIRA, V. F. C. P. **Distribuição dos grupos sanguíneos ABO e Rh no estado da Paraíba.** CCS. UFPb. 1993, v.5, n.2.
34. OLIVEIRA, K. L. S., **Incidência dos principais antígenos eritrocitários nos doadores de sangue do Hemoce.** Fortaleza, 1996 Monografia (Espec. em hemat. e Hemot.) – Univ. Fed. do Ceará.
35. 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,** Rev. Bras. Genet. 1983, v.2, p.375-380.
36. PATTO, G. S. **Curso de imunohematologia básica,** São Paulo: Banco de Sangue do Hospital Santa Catarina s.d. p. 38-73.
37. PELIZZA, S. M., BERTHIER, M. E. O., GONZAGA, A. L. **Sistema Duffy.** In:--- Manual de imunohematologia básica. Rio de Janeiro: Centro de hemat. de Santa Catarina, 1977. v. 1, cap. 12, p. 87-90.

38. -----. **Sistema MNS**. In:--- Manual de imunohematologia básica. Rio de Janeiro: Centro de hemat. de Santa Catarina, 1977. v. 1, cap. 10, p. 75-79.
39. -----. **Sistema Kell**. In:--- Manual de imunohematologia básica. Rio de Janeiro: Centro de hemat. de Santa Catarina, 1977. v. 1, cap. 11, p. 81-85.
40. -----. **Sistema Kidd**. In:--- Manual de imunohematologia básica. Rio de Janeiro: Centro de hemat. de Santa Catarina, 1977. v. 1, cap. 13, p. 91-94.
41. -----. **Sistema Rh**. In:--- Manual de imunohematologia básica. Rio de Janeiro: Centro de hemat Santa Catarina, 1977, v.1, cap. 9, p. 59-73.
42. PINKERTON, F. J., MERMOD, L. E., LILES, B A., JACK, J. A. NOADES, J., **The phenotype Jk (a-b) in the Kidd blood group system**. Vox Sang. 1959, v.4, p.155.
43. PLAUT, G., IKIN, E., MOURANT, A. E., SANGER, R., RACE, R.R., **A new blood group antibody anti-Jk^b** , Nature 1953, v.171, p.431.
44. RACE, R.R., SANGER, R., **The Rh blood groups**. In:---. Blood groups in man. Oxford: Blackwell Scientific, 1968. cap. 1, p. 8-12.
45. REID, MARION E., LOOMAS-FRANCIS, C., **The blood group antigen factsbook**. New York: Academic Press, 1996.

46. SANGER, R., RACE, R. R., JACK, J., **The Duffy blood groups of New York negroes, the phenotype Fy (a-b-)** Br. Journ. Hemat. 1955, v.1, p.370.
47. STEVENS, W. L., **Estimation of blood groups gene frequencies.** Ann. Eug. 1938, v.8, p.362-363.
48. SILVER, R. T., HABER, J. N., KELLNEK, A., **Evidence for a new allelo in the Kidd blood group system in Indians of Mato Grosso, Brazil,** Nature, 1960, v. 186, p.481.
49. **SISTEMA ABO & Rh.** São Paulo, Ortho Diagnosis, 1978. p. 37-71.
50. **SISTEMA de grupos sangüíneos Rh.** São Paulo: Biotest, s. d. v.2.
51. **SISTEMA Rh.** Belo Horizonte: Dia Med Brasil, 1994 (Fascículo 5).
52. **TECHINICAL MANUAL**, 12 ed. Maryland: American Association of Blood Banks, 1996.
53. VENTURELLI, L. E., MORAES M. H. B., **Frequências gênicas dos sistemas ABO, MNSs e Rh em caucasóides e negroides da cidade de Campinas SP.** Rev. Bras. Gen. 1986, v.1, p.179-185.
54. WENDEL, S., **Nomenclatura ISBT para os antígenos eritrocitários.** Belo Horizonte: IEA, 1996, (Imunohematologia eritrocitária, 10).

9. ANEXO

9.1 Figuras.

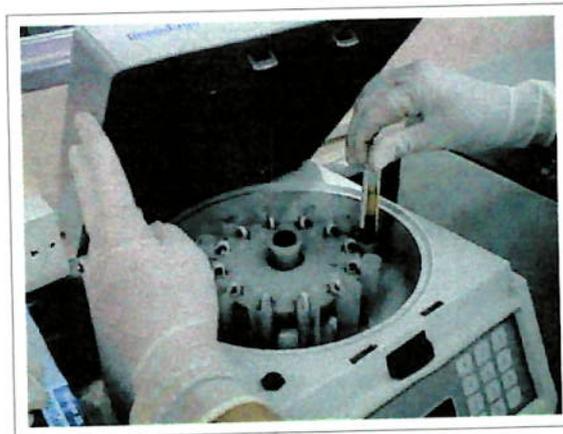
9.2 Folheto informativo sobre o PROFEN, distribuídos aos doadores de sangue.

9.3 Ficha de cadastro do doador do PROFEN, preenchida pelo Serviço Social.

9.4 Ficha de cadastro do doador do PROFEN, preenchida pelo Setor de Imunohematologia.

9.5 Ficha arquivo de doadores do PROFEN.

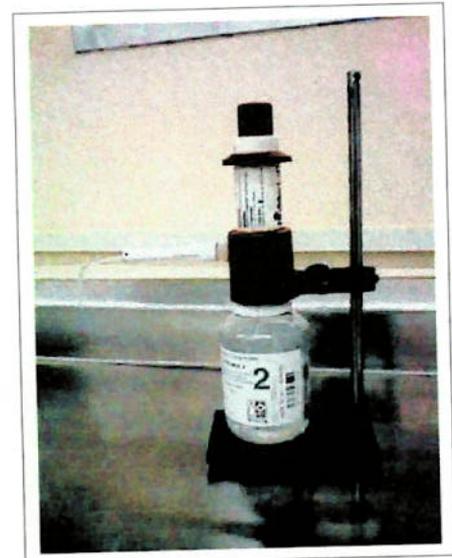
9.1 FIGURAS



Sangue a ser centrifugado



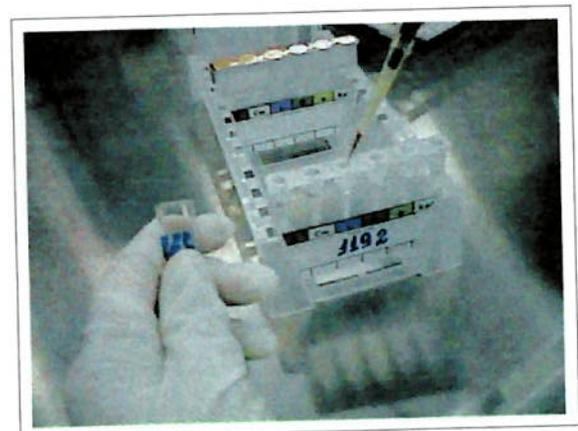
Diluyente 1 - Bromelina



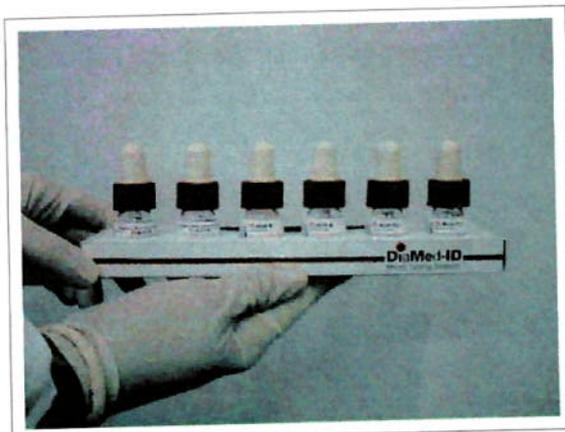
Diluyente 2 - Liss



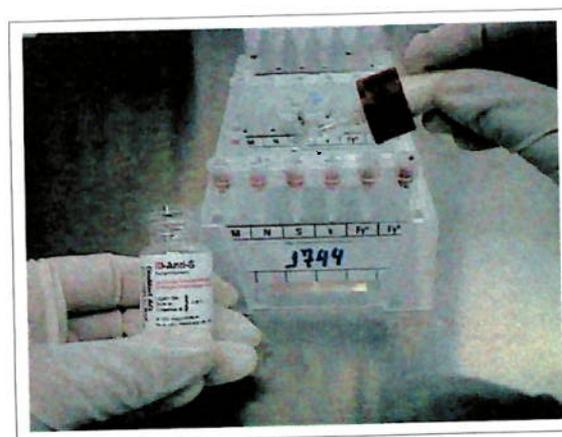
**Diluição da amostra
de sangue**



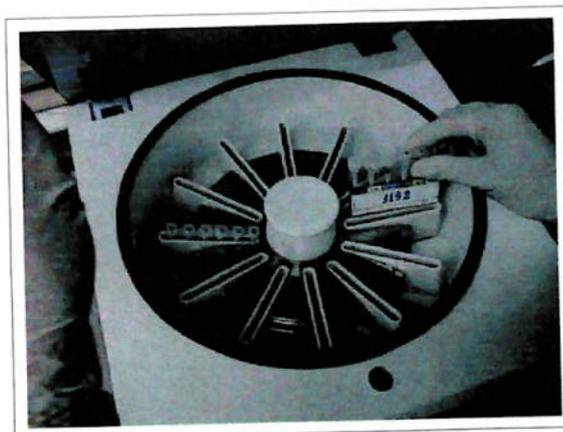
Adição do sangue nas cartelas



Soros utilizados



Adição dos soros



Centrífuga padronizada para técnicas em cartela - Dia Med



Exemplos de resultados em cartelas

9.2 FOLHETO INFORMATIVO SOBRE O PROFEN DISTRIBUIDOS AOS DOADORES DE SANGUE

PROGRAMA DE FENOTIPAGEM ERITROCITÁRIA DE DOADORES DE SANGUE DO HEMOCE – PROFEN

Tudo que você precisa saber para fazer parte dele

1. O que é fenotipagem eritrocitária ?
É a determinação de um grupo de antígenos presente nas células do doador.
2. Todos os doadores são fenotipados ?
Sim. Todos os doadores são fenotipados para o sistema ABO (antígenos A, B, e AB)
3. Existem outros antígenos ?
Atualmente são conhecidos mais de 600 antígenos de grupos sanguíneos. Alguns são extremamente importantes (como os descritos anteriormente) e devem ser determinados antes de qualquer transfusão. Outros só causarão problemas em pacientes que tomam muitas transfusões durante a vida.
4. Que outros antígenos são esses ?
São antígenos dos sistemas RH, Kell, Duffy, Kidd, MNSs
5. Quem se beneficia com o PROFEN ?
Os portadores de anemias congênicas ou crônicas, pacientes em tratamento de leucemias ou outras doenças malignas.
Estes serão os grandes beneficiados com a implantação do Programa de Fenotipagem Eritrocitária de Doadores de Sangue (PROFEN)
6. Como é feito esta fenotipagem ?
Este é um exame de sangue que será feito adicionalmente em todos os doadores que disserem sim a esta proposta. Você não fará nada além de doar o sangue e fazer o cadastramento. O laboratório de Imuno-hematologia do HEMOCE é que ficará encarregado de realizar todos os testes necessários.
7. Quem pode participar do PROFEN ?
A primeira exigência é que o doador aceite fazer parte deste programa espontaneamente. Além disso, ele precisa ser um doador de repetição (já ter doado pelo menos uma vez) ter entre 18 e 50 anos, ter endereço fixo em Fortaleza, poder ser facilmente contactado (telefone em casa ou no trabalho) e se dispor a vir fazer uma doação de sangue quando for eventualmente chamado.
8. O doador fenotipado pode continuar fazendo doações de sangue normalmente ?
Sim, mas o ideal seria doar o mínimo possível, para que você possa estar apto para doação quando eventualmente for contactado.

Se você se identificou com o que foi explicado aqui e aceitar participar do PROFEN, nós lhe asseguramos que este seu gesto será de grande importância para muitos pacientes que terão seu tratamento vacilitado e melhorado.

**VOCÊ JÁ PODE SE ORGULHAR !
FAZENDO PARTE DO PROFEN, VOCÊ ESTARÁ SALVANDO PACIENTES MUITO
ESPECIAIS**

**9.3 FICHA DE CADASTRO DO DOADOR DO PROFEN
PREENCHIDO PELO SERVIÇO SOCIAL.**

**PROGRAMA DE FENOTIPAGEM ERITROCITÁRIA DE
DOADORES DE SANGUE DO HEMOCE - PROFEN**

FICHA DE CADASTRAMENTO

Nº: _____ DATA: _____

NOME: _____

IDADE: _____ DATA DE NASCIMENTO ____/____/____

SEXO: _____ COR: _____ EST. CIVIL _____

NATURALIDADE: _____ PROCEDÊNCIA _____

ENDEREÇO COMPLETO: _____

TELEFONE RESIDENCIAL: _____ TELEFONE TRABALHO: _____

OUTRO TELEFONE P/ CONTATO: _____

INFORMAÇÕES IMPORTANTES:

1. VOCÊ JÁ FOI TRANSFUNDIDO ALGUMA VEZ ? QUANDO ?

2. VOCÊ JÁ TEVE ALGUMA GESTAÇÃO ? QUANTAS ?

Sim, aceito fazer parte do Programa de Fenotipagem Eritrocitária de Doadores de Sangue do HEMOCE, tendo recebido todos os esclarecimentos necessários para tanto. Tenho conhecimento de que serei chamado para fazer doação de sangue quando for necessário.

ASSINATURA DO DOADOR

FUNCION. RESPONS. PELO CADASTRAMENTO

**9.4 FICHA DE CADASTRO DO DOADOR DO PROFEN
PREENCHIDA PELO SETOR DE IMUNO-HEMATOLOGIA.**

**FENOTIPAGEM DO SISTEMA
RH, KELL, DUFFY, KIDD, MNS
EM DOADORES DE SANGUE**

NOME: _____

Nº FICHA: _____ DATA DOAÇÃO: _____

IDADE: _____ SEXO: _____ COR: _____

ENDEREÇO: _____

_____ FONE: _____

FILIAÇÃO: _____

GRUPO SANGUÍNEO: _____ FATOR RH: _____

FENÓTIPOS

RH

D	C	E	c	e	C ^w

KELL

K

DUFFY

Fy ^a	Fy ^b

KIDD

JK ^a	JK ^b

MNS

M	N	S	s

OBS.: _____

