

1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS - DACT/FFOE
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA - DMC/FM
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ - HEMOCE

***Pesquisa de Anticorpos Eritrocitários Irregulares em
Pacientes Portadores de Insuficiência Renal Crônica
Politransfundidos.***

Alessandro Moraes de Sousa

Fortaleza - Ceará

1999

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS - DACT/FFOE
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA - DMC/FM
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ - HEMOCE**

***Pesquisa de Anticorpos Eritrocitários Irregulares em
Pacientes Portadores de Insuficiência Renal Crônica
Politransfundidos.***

Alessandro Moraes de Sousa

***Monografia apresentada ao Curso de Hematologia e Hemoterapia da
Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de especialista.***

Fortaleza - Ceará

1999

ORIENTADORAS:

Dra. Vilany Franco Pereira da Silva
Farmacêutica-Bioquímica

Dra. Sônia Leite da Silva
Nefrologista

"A capacidade de converter idéias em
coisas concretas é o segredo do sucesso".

Henry Ward Beecher.

AGRADECIMENTOS

- Aos profissionais que se dedicaram à prática docente, meus sinceros agradecimentos pelos ensinamentos recebidos.
- Aos meus colegas do Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia pelo companheirismo, principalmente aqueles que moraram no HEMOCE.
- À toda equipe do Laboratório de Imunohematologia do HEMOCE pelo auxílio na realização deste trabalho.
- À todos os pacientes que contribuíram voluntariamente.
- À todas as enfermeiras do Setor de Hemodiálise, que ajudaram na coleta das amostras.
- Aos profissionais do HEMOCE pela colaboração no decorrer deste ano.
- À Telma Maria Furtado Sampaio pela sua capacidade profissional e amizade.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

- A Deus por tudo.
- Aos meus pais por todo o incentivo e colaboração para minha formação.
- Ao Dr. Henry de Holanda Campos pelo incentivo à pesquisa.
- À Dra. Vilany Franco Pereira da Silva pelo apoio e orientação na realização deste trabalho.
- À Dra. Sônia Leite da Silva pela valiosa ajuda na formulação deste trabalho.
- Ao Dr. José Napoleão Monte Cruz pela valorização do profissional farmacêutico.
- À minha namorada Mireille Fiévez pelo apoio durante o curso e pelos momentos maravilhosos que passamos juntos.

ÍNDICE

	Resumo	
01	Introdução	09
02	Material e Métodos	15
03	Resultados	21
04	Discussão	25
05	Conclusão	29
	Summary	30
	Referências Bibliográficas	31
	ANEXOS	

RESUMO

Realizamos a pesquisa de anticorpos irregulares em 80 pacientes politransfundidos portadores de insuficiência renal crônica, que fazem tratamento dialítico no Hospital Universitário Walter Cântidio e na Santa Casa de Misericórdia de Fortaleza.

As análises inumohematológicas foram realizadas no laboratório de Imunohematologia do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE).

As amostras foram testadas para presença de anticorpos irregulares pela técnica de gel teste centrifugação LISS/Coombs, utilizando dois tipos de hemácias fenotipadas (hemácias I e II).

Em todas as amostras positivas, procedeu-se a identificação dos anticorpos, utilizando os painéis de hemácias fenotipadas em dois meios: LISS /Coombs e Papaína.

Foram detectados em 04 pacientes anticorpos com as seguintes especificações: 01 anti-C+-D (**Sistema Rh**), 01 anti-K (**Sistema Kell**), 01 anti-JK^a (**Sistema Kidd**) e 01 provável auto-anticorpo quente não identificado.

Observou-se que 18 amostras apresentaram reatividade fraca para o Coombs direto, onde a especificidade pesquisada foi para IgG, porém a realização do eluato não contribuiu para a identificação destes anticorpos.

1. INTRODUÇÃO

O sangue sempre esteve ligado ao conceito de vida, e seu uso terapêutico, como a maioria das práticas médicas, comporta dois períodos bem distintos: o empírico, que vai até 1900 e, posteriormente, o científico.

O período empírico é tão antigo quanto a humanidade. Os povos antigos já tinham percebido que a perda de sangue provocada por ferimentos tirava a força e poderia levar a morte ⁽²²⁾.

Na idade média, o sangue era tido como tônico de rejuvenescimento, tendo sido usado na tentativa de curar várias enfermidades. Usado também pelos egípcios para tratamento de doentes e incapazes e pelos romanos, que tinham o costume de beber e banhar-se com o sangue dos bravos guerreiros mortos em combate com a crença de que poderiam herdar a força e a coragem ^(33, 34).

Após Harvey ter descrito a circulação em 1628, alguns pesquisadores começaram a cogitar sobre as possibilidades de se empregar a transfusão de sangue com fim terapêutico. Transfusões de animal para animal e de animal para o homem foram registradas nos anos de 1666 e 1667 no *Philosophical Transactions* atribuídas, respectivamente, a Richard Lower e Jean Denis ^(22, 25).

A hemoterapia ganhou bases científicas somente após a descoberta

dos grupos sanguíneos **ABO** por Karl Landsteiner, em 1900. Este pesquisador identificou os antígenos e anticorpos deste sistema classificando o sangue humano em quatro grupos sanguíneos e, conseqüentemente estabelecendo seu grau de compatibilidade e incompatibilidade ⁽⁴³⁾.

Desde então, várias foram as tentativas à procura de outros sistemas e anticorpos de ocorrência natural. A introdução de técnicas de imunização de animais com hemácias humanas e conseqüente formação de anticorpos, possibilitou a descoberta de outros sistemas, tais como **MNS** e **P** em 1927. Mais tarde, em 1940, Landsteiner e Wiener identificaram o fator **Rh**, também de grande importância juntamente com o sistema **ABO**.

Em 1945, os pesquisadores Coombs, Mourant e Race desenvolveram um teste para anticorpos bloqueadores, posteriormente aperfeiçoado e chamado teste de antiglobulina humana (teste de Coombs). Este teste possibilitou a demonstração de anticorpos que apenas se prendiam ou bloqueavam as hemácias sem, no entanto, causar reação visível, sendo denominados anticorpos incompletos. Com mais este avanço tecnológico, foi possível a descoberta, a curto prazo, de diversos novos sistemas de grupos sanguíneos: **Lutheran**, **Lewis**, **Kell**, **Duffy** e **Kidd** ⁽³³⁾.

O número de antígenos eritrocitários conhecidos atualmente é superior a 250, sendo que 203 estão distribuídos em 23 sistemas de grupos sanguíneos ⁽¹¹⁾.

É freqüente a utilização de concentrados de hemácias alogênicas

para prevenir ou reverter eventos clínicos agudos ou crônicos. Estados como hemorragia maciça aguda, anemia aplástica, anemia falciforme e insuficiência renal são exemplos de desordens onde os pacientes são submetidos a várias transfusões ^(08, 20, 45).

Estima-se que 20% das transfusões sangüíneas acarretam algum efeito adverso para o receptor. Portanto, a relação risco/benefício deve sempre ser considerada individualmente no momento da indicação desta terapia. Os * efeitos adversos, podem ser divididos em: mecanismos imunológicos, não imunológicos e transmissão de doenças ^(09, 27, 46).

É de interesse para este trabalho os efeitos adversos causados por * mecanismos imunológicos, caracterizados pela formação de anticorpos, como processo de defesa do organismo, contra antígenos eritrocitários que não lhes são próprios, ou seja, ausentes nas hemácias do receptor.

Os anticorpos são proteínas da classe das imunoglobulinas que * sempre iniciam seus efeitos biológicos através da ligação com antígenos e não modificam a estrutura covalente dos antígenos, exceto em circunstâncias incomuns. Os anticorpos fazem parte da imunidade adaptativa ou adquirida * efetuada por linfócitos T e B, surgindo quando as defesas fornecidas pelo sistema imune inato ou natural falham. Apresentam certas características * próprias que são: a discriminação do próprio e do não próprio, a especificidade para o imunógeno agressor e a memória responsável pela intensificação da resposta após um segundo encontro com o mesmo imunógeno ^(01, 04, 19, 28).

Os linfócitos T auxiliares fazem parte da imunidade celular, apresentando várias funções, tais como a interação com as células apresentadoras de antígenos e com os linfócitos B, contribuindo para a proliferação e diferenciação destes em plasmócitos. Os plasmócitos produzem e secretam uma quantidade de moléculas receptoras solúveis ou anticorpos, responsáveis pela defesa humoral. Estas moléculas estão presentes no plasma, na superfície de algumas células, como linfócitos B e *natural killer*, no leite, muco e nos líquidos intersticiais dos tecidos ^(02, 10, 21, 30, 38, 41).

Quando usada a técnica da eletroforese, as proteínas séricas se separam, por migração, em albumina e globulinas. As globulinas são divididas em α_1 , α_2 , β e γ , sendo que esta última é mais lenta, por apresentar menor carga elétrica, e constitui a maioria das imunoglobulinas, correspondendo a 20% das proteínas plasmáticas totais ^(09, 13, 18, 37).

A unidade básica de uma imunoglobulina consiste em duas cadeias leves idênticas (L), e duas cadeias pesadas também idênticas (H), que determinam a classe da molécula de imunoglobulina em IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. As quatro cadeias se mantêm juntas através de pontes de dissulfetos e ligações não covalentes, formando uma molécula em forma de Y ^(23, 39, 40).

As classes individuais de imunoglobulinas diferem entre si pelas suas propriedades físico-químicas: estrutura das cadeias pesadas, tamanho molecular, concentração sérica média (mg/ml), conteúdo de carboidratos, atividade biológica, distribuição (intravascular) e a meia vida plasmática ^(05, 18, 28, 36, 37).

Apenas duas classes de imunoglobulinas são de interesse para a imunohematologia eritrocitária: a IgG, constituindo cerca de 70 a 75%, e a IgM, representando 6 a 10% das imunoglobulinas séricas totais ^(24, 36, 44).

Os níveis séricos de algumas imunoglobulinas são influenciadas por vários fatores, como idade e raça ⁽²³⁾.

Outros fatores que influenciam a produção de anticorpos são: a imunogenicidade do antígeno, seu modo de introdução, a quantidade, a sobrevida na circulação e a capacidade de resposta imune do receptor.

Os primeiros anticorpos formados, em decorrência dos efeitos da resposta imune, são da classe IgM. Na maioria das vezes caracteriza uma resposta primária, demorada devido ao grande período de latência, fraca devido a baixa produção de anticorpos, e de pequena duração declinando gradualmente para níveis basais. Em uma segunda exposição ao mesmo imunógeno a resposta ocorre mais rapidamente, caracterizando uma resposta secundária ou anamnésica, com produção de altos níveis de anticorpos, predominantemente da classe IgG. Esta resposta se inicia 24 a 72 horas após a estimulação, podendo permanecer detectável durante vários anos, mesmo na ausência de novos estímulos ^(04, 10).

Os anticorpos que são capazes de reagir com antígenos dos grupos sangüíneos são geralmente denominados aloanticorpos. São classificados em naturais ou imunes, de acordo com a circunstância de seu aparecimento. Os de ocorrência natural são formados espontaneamente, sem pré-imunização aparente

pelo antígeno correspondente. Tratam-se de anticorpos que aparecem em seguida a uma heteroimunização por antígeno ubigüitário de diferentes espécies, sendo esta uma característica do sistema **ABO**. Por outro lado, existem anticorpos naturais ditos irregulares que aparecem de forma inconstante, por exemplo o anticorpo anti-Le^a, que pode surgir em indivíduos com fenótipo eritrocitário Le(a-). A maioria deles são da classe IgM, denominados de completos, são potentes hemolisinas e aglutininas, reagindo em meio salino à temperatura ambiente. Porém não apresentam significância clínica, visto que reagem abaixo de 25°C e não causam destruição celular *in vivo*, exceto os anticorpos **ABO** ativos a 37°C (04, 08, 17, 24, 43).

Os anticorpos imunes também chamados de incompletos ou irregulares, são da classe IgG, reagem a 37°C *in vivo*, apresentam significância clínica e surgem como resposta imune a incompatibilidade transfusional, incompatibilidade feto-materno e uso de drogas. São de ocorrência imprevisível e podem hemolizar, aglutinar ou sensibilizar os glóbulos vermelhos. Geralmente não fixam complemento e sua identificação é favorecida pelo teste de Coombs indireto *in vitro*, associado a meios adicionais potencializadores. Estes meios são substâncias protéicas (albumina), meios de baixa força iônica (LISS) e meios enzimáticos (bromelina, papaína e ficina) (16, 17, 20, 29, 31, 43).

O presente trabalho visa a pesquisa e identificação de anticorpos eritrocitários irregulares em pacientes politransfundidos, portadores de insuficiência renal crônica, em uso de eritropoetina, uma vez que a aloimunização é uma das maiores conseqüências da terapia transfusional.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo compreende a análise imuno hematológica de 80 pacientes politransfundidos portadores de insuficiência renal crônica, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 77 anos, em programa de hemodiálise regular no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) e Santa Casa de Misericórdia de Fortaleza (SCM), no período de outubro a dezembro de 1998.

Excluimos do estudo os pacientes com antecedentes de transplantes ou gestações, visto que seria impossível determinar a causa da sensibilização.

Os pacientes foram investigados a partir de uma ficha individual de identificação que constava de dados como: nome, idade, sexo, número de transfusões sanguíneas, uso de medicamentos e outros (anexo 1).

As amostras foram coletadas após punção da fistula arteriovenosa no início do procedimento hemodialítico, em dois tubos. Um com anticoagulante (EDTA) que recebeu o volume de 3 ml, e outro sem anticoagulante que recebeu o volume de 7 ml de sangue.

As amostras coletadas com anticoagulante foram utilizadas para tipagem ABO, Rh e Coombs direto. O soro foi submetido à pesquisa e identificação de anticorpos irregulares.

As análises imuno hematológicas foram realizadas no Laboratório de Imuno hematologia do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE).

O método utilizado é de última geração: técnica de aglutinação em *
gel Sephadex G 100 superfino contido em microtubos com princípio baseado na
filtração dos aglutinados sob força centrífuga, descoberto por Y. Lapierre, e
desenvolvido pela Diamed. ^(14, 32)

Materiais utilizados: tubos de hemólise 12x75 mm, pipetas
automáticas, ponteiras, etiquetas, ficha de registro (anexo 2), bandeja de
trabalho, relógio e pincel marcador.

Equipamentos: centrífuga para separação de soro/plasma/
hemácias, centrífuga (ID-Centrifuge Especial 12 SII), dispensador (ID-
Dispenser), incubadora (ID-Incubator 37 SI), estante de cartelas e banho-maria.

Reagentes:

- para tipagem ABO e Rh: cartelas ID-ABO/Rh, ID-anti-D, ID-diluyente 2 (LISS) (anexo 3).
- para teste de Coombs direto: cartelas ID-LISS/Coombs, ID-diluyente 2 (LISS),
cartelas ID-Coombs monoespecífico (IgG, IgA, IgM, C3c, C3d, Ctl)
(anexo 4).
- para pesquisa de anticorpos irregulares e auto-anticorpos: cartelas
LISS/Coombs, hemácias testes ID-Diacell I e II, ID-diluyente 2 (LISS)
(anexo 5).

- para identificação de anticorpos irregulares: cartelas LISS/Coombs, hemácias testes ID-DiaPanel (11 células não papainizadas a $0,8 \pm 1\%$), cartelas ID-NaCl para teste enzimático (neutras), hemácias testes ID-DiaPanel-P (11 células papainizadas a $0,8 \pm 1\%$) (anexos 6 e 7).
- para o eluato: cartela LISS/Coombs, solução tampão, solução eluidora, solução concentrada de lavagem (ELU-KIT II-gamma) (anexo 8).

✦ **Descrição das técnicas:**

As amostras de sangue e os reagentes foram mantidos à temperatura ambiente por 10 minutos antes da realização dos testes. Os resultados de todos os testes foram interpretados de acordo com o grau de aglutinação da reação: reação negativa - hemácias depositadas no fundo da coluna de gel; reação positiva - hemácias presentes na superfície ou na extensão da coluna de gel, podendo variar de 1+ a 4+.

Os painéis, ID-DiaPanel e ID-DiaPanel-P são acompanhados de um antigrama que relacionam a constituição antigênica de cada célula de avaliação de acordo com o padrão de reatividade, possibilitando a identificação do(s) anticorpo(s) irregular(es) da amostra (anexo 9).

- Determinação do grupo sanguíneo ABO/Rh (utilizando soro monoclonal):

Em um tubo 12x75mm previamente identificado foi preparado uma

suspensão de hemácias a 5%, utilizando 500µl do diluente 2 (LISS) e 25µl do concentrado de hemácias. Após identificação da cartela ID-ABO/Rh, que já contém os anti-soros específicos para fenotipagem dos antígenos, foi acrescentado 10µl da suspensão devidamente homogeneizada, nos microtubos identificados com: A, B, AB, D, DCE, Ctl. A cartela foi centrifugada por 10 minutos e, posteriormente, realizada a leitura.

A confirmação do antígeno D fraco foi realizada na cartela anti-D (human/humain) em gel centrifugação utilizando o diluente-1 (bromelina), seguindo o mesmo procedimento acima descrito.

- Teste de Coombs direto:

Em um tubo 12x75mm previamente identificado foi preparada uma suspensão de hemácias a 1%, utilizando 1ml do diluente 2 (LISS) e 10µl do concentrado de hemácias. Após identificação da cartela ID-LISS/Coombs foi acrescentada 50µl da suspensão no microtubo correspondente. A cartela foi centrifugada por 10 minutos e, posteriormente, realizada a leitura.

Para verificar a especificidade do anticorpo e/ou frações do complemento fixados às hemácias, nas amostras com Coombs direto positivo foi usada a cartela ID-Coombs monoespecífico (IgG, IgA, IgM, C3c, C3d, Ctl) seguindo o mesmo procedimento. Nos casos em que o resultado se mostrou positivo para IgG e, dependendo do grau de aglutinação observado, prosseguiu-se a eluição do anticorpo com posterior identificação.

- Pesquisa de anticorpos irregulares:

Foi utilizada a cartela ID-LISS/Coombs; os microtubos foram identificados com: I, II e AC (auto-controle). Foi preparada uma suspensão de hemácias do paciente a 1%, utilizando 1 ml do diluente 2 (LISS) e 10 μ l do concentrado de hemácias, que foi usada para o auto-controle. Foi dispensada 1 gota das hemácias testes ID-Diacell I e II nos microtubos identificados anteriormente com I e II. Foi dispensada 50 μ l da suspensão de hemácias do paciente no microtubo identificado com AC. Foi adicionado 25 μ l de soro ou plasma do paciente nos três microtubos. A cartela foi incubada por 10 minutos à 37°C, seguida de centrifugação por 10 minutos e, feita a leitura.

- Identificação de anticorpos irregulares:

Foram utilizados dois métodos: teste indireto de antiglobulina e teste enzimático. No primeiro método, foram utilizadas 2 cartelas ID-LISS/Coombs, numeradas de 1 a 6 e 7 a 11. Foi dispensada 1 gota de cada hemácia teste ID-DiaPanel (11 células não papainizadas a $0,8 \pm 1\%$) nos microtubos correspondentes. Foi adicionado 25 μ l de soro ou plasma do paciente em todos os microtubos. As cartelas foram incubadas por 10 minutos à 37°C, centrifugadas por 10 minutos e, feitas as leituras.

O segundo método, segue a mesma ordem prática acima descrita, utilizando desta vez a cartela NaCl (neutra) e as hemácias ID-DiaPanel P (11 células papainizadas a $0,8 \pm 1\%$)

- Eluição de anticorpos fixados às hemácias:

Foram enumerados 03 tubos 12x75 mm. No tubo 01 foi separado 1ml de concentrado de hemácias do paciente, e estas foram lavadas uma vez com solução salina 0,9%. Em seguida, lavadas mais 4 vezes com solução de lavagem, que foi preparada com 9ml de água destilada e 1ml de solução concentrada de lavagem em tubo de ensaio. Após a última lavagem foi reservado o sobrenadante para controle. Foi acrescentado 1ml de solução eluidora sobre as hemácias lavadas e o tubo, devidamente fechado, foi invertido por quatro vezes, sendo a seguir centrifugado por 1 minuto. O sobrenadante foi transferido imediatamente para o tubo, 02. A solução tampão foi gotejada aos poucos, agitando o tubo, até o eluato mudar a sua cor característica de amarelo para azul. A solução foi, posteriormente, centrifugada por 1 minuto. O sobrenadante (eluato de baixa força iônica) foi transferido para o tubo 03 e procedida a pesquisa do(s) anticorpo(s).

✧ 3 RESULTADOS

Estudamos 80 pacientes com insuficiência renal crônica e todos com mais de 02 transfusões sangüíneas, com idade entre 18 a 77 anos. Destes, 69 eram do sexo masculino e 11 feminino (tabela I, gráfico 01).

A população masculina foi constituída de 21 (26,25%) pacientes do grupo sangüíneo **A**, 11 (13,75%) do grupo **B**, 03 (3,75%) do grupo **AB** e 34 (42,5%) do grupo **O**. A população feminina constava de 04 (5,0%) pacientes do grupo sangüíneo **A**, 01 (1,25%) do grupo **B**, 01 (1,25%) do grupo **AB** e 05 (6,25%) do grupo **O** (tabela II).

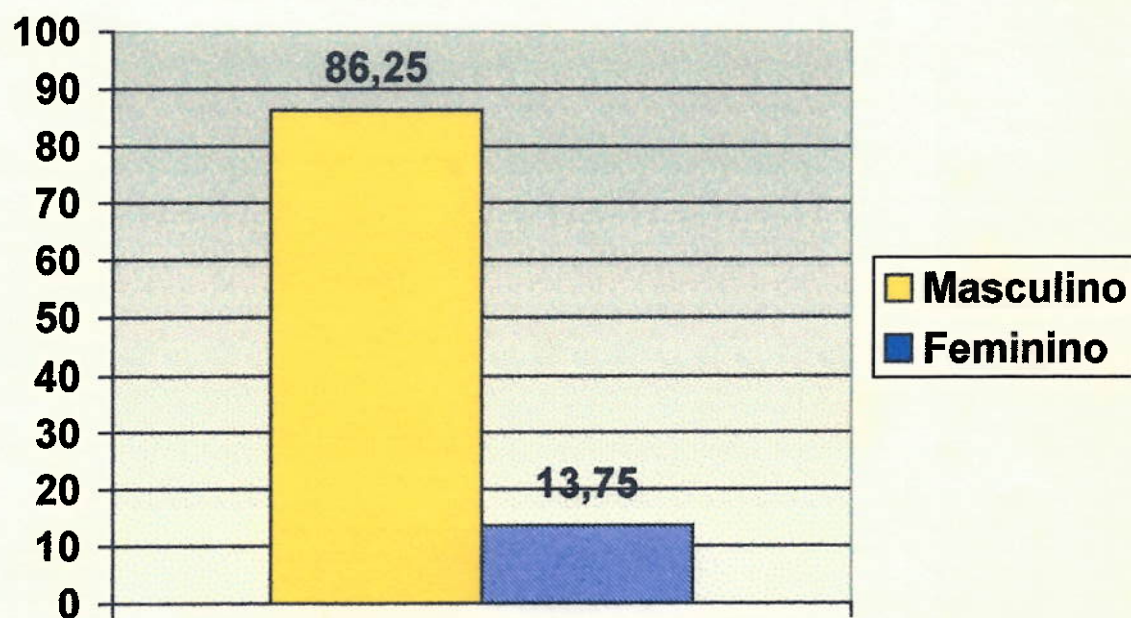
Com relação ao fator **Rh**, 75 (93,75%) foram classificados como Rh positivo e 05 (6,25%) com Rh negativo. (tabela III).

A presença de anticorpos foi detectada em 04 (5,0%) dos 80 ✧
pacientes analisados. Em três deles os anticorpos irregulares identificados foram: 01 anti-K (**sistema Kell**), 01 anti-C+-D (**sistema Rh**) e 01 anti-JK^a (**sistema Kidd**). Em um paciente foi evidenciado um provável auto-anticorpo quente, que reagiu com todas as hemácias do painel, não sendo, portanto, passível de identificação (tabela IV).

Dezoito pacientes apresentaram teste de Coombs direto e auto- ✧
controle positivos, todos fazendo uso do anti-hipertensivo alfametildopa. Foi ✧
feita a pesquisa para a especificidade do anticorpo e/ou frações do complemento, sendo, portanto, detectada especificidade IgG, com fraca reatividade. Mesmo utilizando-se a técnica do eluato, não foi possível a identificação destes anticorpos frente às hemácias do painel.

Tabela I - Distribuição dos pacientes de acordo com o sexo.

SEXO	NÚMERO	%
MASCULINO	69	86,25
FEMININO	11	13,75

Figura 1

Distribuição dos pacientes de acordo com o sexo.

Tabela II - Distribuição dos pacientes politransfundidos com insuficiência renal crônica, segundo o grupo sanguíneo e o sexo.

Grupo Sanguíneo	Sexo Masculino	%	Sexo Feminino	%	Total	%
A	21	26,25	04	5,00	25	31,25
B	11	13,75	01	1,25	12	15,00
AB	03	3,75	01	1,25	04	5,00
O	34	42,5	05	6,25	39	48,75
TOTAL	69	86,25	11	13,75	80	100

Tabela III - Distribuição dos pacientes politransfundidos com insuficiência renal crônica, segundo o grupo sanguíneo e fator Rh.

Grupo Sanguíneo	Rh Positivo	%	Rh Negativo	%	Total	%
A	25	31,75	0	0	25	31,75
B	09	11,25	03	3,75	12	15,00
AB	04	5,00	0	0	04	5,00
O	37	46,25	02	2,50	39	48,75
TOTAL	75	93,75	05	6,25	80	100

Tabela IV - Distribuição dos anticorpos anti-eritrocitários encontrados nos pacientes politransfundidos com insuficiência renal crônica.

Anticorpos	Número de Anticorpos	Pacientes Sensibilizados %	Pacientes Estudados %
Anti-C+-D	01	25	1,25
Anti-K	01	25	1,25
Anti-JK^a	01	25	1,25
Auto-anticorpo quente	01	25	1,25
TOTAL	04	100	5,00

4. DISCUSSÃO

A insuficiência renal crônica é um diagnóstico funcional que se *
caracteriza por uma intensa destruição da massa de néfrons, o que ocasiona a
queda progressiva e irreversível da taxa de filtração glomerular ⁽⁰⁶⁾.

Entre as causas mais comuns de insuficiência renal crônica estão a
glomerulonefrite, nefrite intersticial, doença tubulointesticiais, nefropatias
diabéticas e nefroesclerose hipertensiva, que foram observadas nos pacientes ?
estudados.

Tal patologia acaba comprometendo a produção de eritropoetina,
uma glicoproteína sintetizada principalmente pelos rins, de essencial valor na
manutenção do sistema hematopoético. A eritropoetina age de modo sinérgico
com outros fatores de crescimento e sua ação é estimular células progenitoras
eritróides reservadas a proliferar e produzir hemácias. Nestes pacientes há
diminuição das hemácias em virtude da redução na produção de eritropoetina
pelo rim acometido e por perda de sangue associada a diálise, o que contribui
para apatia dos doentes. Para reverter este quadro anêmico, as transfusões
sangüíneas eram mais freqüentes que no presente, o que favorecia a ocorrência
de complicações transfusionais ^(06, 35).

Com o advento da eritropoetina, medicamento também indicado no
tratamento de pacientes com insuficiência renal que apresentam anemia
significativa, foi possível diminuir as necessidades transfusionais na grande
maioria dos pacientes responsivos, reduzindo a exposição destes a antígenos

eritrocitários estranhos, que levariam a aloimunização ⁽⁴²⁾.

Observamos a presença de 03 aloanticorpos envolvidos em reações transfusionais hemolíticas tardias, 01 provável auto-anticorpo quente, e 18 Coombs direto e auto-controle positivos.

A respeito das 76 amostras negativas para a pesquisa de anticorpos irregulares, não podemos afirmar que não houve aloimunização, visto que, há alguns meses ou pouco mais de um ano, os pacientes não mais receberam sangue, devido o tratamento com a eritropoetina. E os prováveis anticorpos formados anteriormente, podem nesse momento estarem em níveis basais a ponto de não serem detectados por técnicas usuais, sendo o que acontece com 30% dos aloanticorpos eritrocitários formados por um indivíduo ⁽⁴⁵⁾.

Dentre os anticorpos do sistema Rh, um anti-C+-D foi identificado. ✱ Os anticorpos deste sistema pertencem à classe IgG, usualmente IgG₁ e IgG₃, tendo importância clínica, pois regem a 37°C. Não fixam complemento, com exceção da classe IgM que pode ocorrer transitoriamente no início da aloimunização. São facilmente detectados pelo teste de Coombs e o tratamento enzimático potencializa sua ação ⁽⁰³⁾.

O anti-K apresenta todas as características comuns aos anticorpos do **sistema Kell**: são da classe IgG, a maioria IgG₁, reagem a 37°C, sendo portanto, considerados clinicamente significantes. Cerca de 20% dos anticorpos do sistema Kell fixam complemento, mas não de modo tão eficiente que provoquem hemólise *in vivo*.

O anti-JK^a pertence ao sistema Kidd. Neste sistema os anticorpos * podem ser IgG e/ou IgM, ativos a 37°C. São anticorpos frequentemente fracos, mostram efeitos de dose, reagindo somente com hemácias com dupla expressão do antígeno. São os mais difíceis de serem detectados com procedimentos sorológicos rotineiros, tornando-se indetectáveis com a estocagem ⁽¹²⁾.

Evidenciamos a presença de um provável auto-anticorpo quente que foi capaz de reagir com todas as células testes do painel de identificação, levando a uma série de dificuldades técnicas, que contribuíram para sua não identificação. Devemos considerar a possibilidade de tal paciente apresentar aloanticorpo(s) associado(s), visto a falta de clareza no estudo imuno-hematológico. Neste caso a obtenção de sangue compatível torna-se difícil, devido a reatividade desse anticorpo com todas as hemácias testadas.

Ressaltamos que os auto-anticorpos reativos a quente estão frequentemente associados a determinadas doenças imunológicas ou secundários à ingestão de algumas drogas ^(15, 26).

A possível explicação para a presença de 18 testes de Coombs direto positivos com especificidade para IgG, deve-se ao uso prolongado do anti-hipertensivo alfametildopa (Aldomet[®]). *

O alfa-metildopa induz a produção de auto-anticorpos que atuam diretamente sobre as hemácias normais do indivíduo, sem necessidade da presença da droga fixada às hemácias, ao contrário do que ocorre com outros medicamentos como a penicilina. Tal medicamento podem induzir a

positividade do teste de Coombs direto em 10 a 20% de seus usuários. Quando o uso da droga cessa, o título do anticorpo declina em poucas semanas ou meses, perdendo a força da reação original, e os resultados do testes de antiglobulina tornam-se negativos ^(16, 26).

5. CONCLUSÃO

A aloimunização é uma ocorrência comum em pacientes politransfundidos, sendo demonstrada em 03 dos 80 pacientes estudados (3,75%), e é responsável por incompatibilidades imunohematológicas, que dificulta as subseqüentes transfusões sangüíneas.

Para prevenir a aloimunização anti-eritrocitária medidas adequadas devem ser tomadas, como a utilização de concentrado de hemácias fenotipadas para os principais sistemas de grupos sangüíneos ou, até mesmo, o uso de fatores de crescimento, com a eritropoetina.

SUMMARY

We have researched irregular blood antibodies in 80 politransfused patients with chronic renal failure, that make dialysis program at Walter Cantídio University Hospital and Santa Casa de Misericórdia, in Fortaleza, Ceará, Brazil.

The analyses immunohematologic were done in the Immunohematologic Laboratory in the Hematology and Hemotherapy Center of Ceará (HEMOCE).

The samples were tested for the presence of irregular antibodies by the gel centrifugation test LISS/Coombs, using two variety⁽¹⁵⁾ of phenotypes erythrocytes (cells I and II).

In all positives samples, were conducted the identification of the antibodies, through two panel of phenotypes erythrocytes in two means: LISS/Combs and enzyme.

We detected in 04 patients antibodies with these specifications: 01 anti-CD+-D (group Rh), 01 anti-K (group Kell), 01 anti-Jk^a (group Kidd), and 01 probable non identificaded hot auto-antibody.

We observed that 18 samples had low reaction to the direct Coombs test, the realization of the eluating didn't contribute to the identification of these antibodies.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABAAS, A.K., LICHTMAN, A.H. et al. **Imunologia celular e molecular**. 2.ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1998. 469p. cap.1: Propriedades gerais das respostas imunes, p.4-13.
2. _____. _____. 2.ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1998. 469p. cap.3: Anticorpos e antígenos, p.36-67.
3. ASOCIACION AMERICANA DE BANCOS DE SANGRE. **Manual técnico**. 10. ed. Barcelona, 1992. 785p.
4. BACH, J.F. Fisiologia da produção de anticorpos. In: BACH, J.F., AURAMEAS, S. et al. **Imunologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 585p. cap.10. p.188-197.
5. BIER, O.G. Anticorpos. In: BIER, O.G., MOTA, I. et al. **Imunologia básica e aplicada**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1989. 497p. cap.6, p.98-133.
6. BRENNER, B.M., LAZARUS, J.M. Insuficiência renal crônica: considerações fisiopatológicas e clínicas. In: WILSON, J.D., BRAUWALD, E. et al. **Harrison Medicina interna**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. v.2, p. 1796-1803.

7. BUNN, F. Fisiologia das anemias. In: WILSON, J.D., BRAUWALD, E. 12. ed. **Harrison Medicina interna**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. v.2, p.11.24 -11.28.
8. CHASSAIGNE, M. et al. **Manual prático de transfusão sangüínea**. São Paulo: Andrei, 1988. 309p. Grupos sangüíneos, p.33-57.
9. COVAS, D.T. Terapia transfusional com componentes celulares do sangue. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.26, n.4, p.517-525, 1993.
10. DAGUET, G. - L. **Éléments de immunologie médicale**. 3. ed. Paris: Flammarion Médecine-Sciences, 1976. 246p. cap. 3: Anticorps et imunoglobulines, p.59-88.
11. DANIELS, G.L., MOULDS, J.J. et al. ISBT working party on terminology of red surface antigens: São Paulo Report. **Vox Sang.**, v.65, p.77-80, 1993.
12. DANIELS, G. **Human blood groups**. London: Blackwell Science, 1995. 737p.
13. DE SANTIS, G.C. Terapia transfusional com plasma e derivados. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.26, n.4, p.526-538, 1993.
14. DIAMED BRASIL. **Diamed-ID micro typing system**: manual de técnicas Belo Horizonte: IEA, 1994. 45p. p.24-32.

15. FOERSTER, J. Anemias hemolíticas auto-imunes. In: LEE, R.G., BITHELL, T.G. et al. **Wintrobe hematologia clínica**. São Paulo: Manole, 1998. 1423p. v.1, cap. 41, p.1284-1313.
16. GARRATY, G. Evaluating the clinical significance of blood group alloantibodies that are causing problems in pre-transfusion testing. **Vox Sang.**, v.74, p. 285-300, 1998.
17. GIBBS, W.N., BRITTEN, A.F.H. **Guidelines for the organization of a blood transfusion service**. Genebra: World health organization, 1992. 150p. cap. 6: Blood group serology, p.67-87.
18. GOLUB, E.S., GREEN, D.R. **Immunology a synthesis**. 2. ed. Massachusetts: Sinaver, 1991. 744p. cap.3: The structura of immunoglobulins, p.42-53.
19. GOODMAN, J.W. A resposta imune. In: STITES, D.P., TERR, A.I. **Imunologia básica**. Rio de Janeiro: Prentice-Hall do Brasil, 1992. 187p. cap.3, p.26-34.
20. GUSHIKEN, E.Y., NONAYAMA, K. et al. Frequência de anticorpos irregulares detectados na rotina imunoematológica do Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). **NewsLab**, n.18, p.40-43, 1996.
21. ISAAC, L. Células do sistema imune. In: CALICH, V.L.G., VAZ, C.A.C. et al. **Imunologia básica**. São Paulo: Artes Médicas, 1989. 376p. cap.3, p.31-38.

22. JUNQUEIRA, P.C. **O essencial da transfusão de sangue**. São Paulo: Andrei, 1979. 356p. p.17-22.
23. KAGAN, E., PATH, M.R.C. Fundamentos da imunologia para hematologistas. In: HARMENING, D., CALHOUN, L. et al. **Técnicas modernas em banco de sangue**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1992. 445p. cap.3, p.45-66.
24. LIMA, M.A., CALLADO, J.R.M., SANTOS, J.A. **Curso de imunohematologia**. São Paulo: UNESP, 1992. 306p. p.8-10.
25. LISBOA, A.C. Hemoterapia: manual para serviço de coleta e transfusão de sangue. **Hemo informativo**, v.1, n.2, pt .4, p.69-76, 1985. (Suplemento).
26. LORENZI, T.F. **Manual de hematologia: propedêutica e clínica**. 2. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999. 641p. cap.3: Anemias, p.217-326.
27. MARTINS, M.V.N., REGO, E.M. Efeitos adversos da transfusão de hemoderivados. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.26, n.4, p.567-579, 1993.
28. MOLLISON, P.L., ENGELFRIET, C.P. et al. **Blood transfusion in clinical medicine**. 10. ed. Oxford: Blackwell Science, 1997. 754p. cap.3: Immunology of red cells, p.60-113.
29. MOREIRA Jr., G., OGURO, T. et al. Métodos imuno-hematológicos para identificação de aloanticorpos eritrocitários. **Laes/Haes**, n.101, p.42-48, 1996.

30. MOTA, I. Interações celulares na resposta imune. In: BIER, O.G., MOTA, I. et al. **Imunologia básica e aplicada**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1989. 497p. cap. 3, p.53-66.
31. NOVARETTI, M.C.Z. **Fenotipagem eritrocitária e identificação de anticorpos irregulares**. São Paulo: Escola de Brasileira de Hematologia, 1998. p.20-33. (Série de monografias, v.5).
32. OLIVEIRA, M.C.V.C., GÓES, S.M.P.M. **Práticas em imunologia eritrocitária**. Recife: MEDSI, 1999. 270p.
33. PELLIZZA, S.M., BERTHIER, M.E.O. et al. **Manual de imunohematologia**. Rio de Janeiro: Centro de hematologia Santa Catarina, 1977. v. 1, cap. 1: Histórico da transfusão de sangue, p.1-3.
34. PITTIGLIO, D.H., HARRISON, C.R. et al. Preservação do sangue: aspectos históricos, revisão do metabolismo e perspectivas atuais. In: HARMENING, D., CALHOUN, L. et al. **Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão**. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1992. 445p. cap.1, p.1-24.
35. RANG, H.P., DALE, M.M. **Farmacologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 595p. cap. 22: O sistema hematopoético, p. 340-348.
36. RAPAPORT, S.I. **Hematologia: introdução**. 2. ed. São Paulo: Roca, 1990. 450p. cap.20: Imunoglobulinas e doenças imunoproliferativas malinas, p.276-281. *apenas*

37. RAVEL, R. **Laboratório clínico: aplicações clínicas dos dados laboratoriais**. 6. ed. Rio de Janeiro Guanabara Koogan, 1997. 616p. cap. 22: Proteínas séricas, p.301-322.
38. ROESEL, C.E. **Imunologia um método auto-instrutivo**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1981. 284p. cap. 2: A ação dos linfócitos B e T nas respostas imunológicas humoral e mediada por células, p.35-60.
39. _____. _____. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1981. 284p. cap. 3: Antígenos, imunoglobulinas e complemento, p.65-96.
40. ROITT, I.M. **Imunologia**. São Paulo: Atheneu, 1993. 294p. cap. 2: As imunoglobulinas, p.19-40.
41. _____. _____. São Paulo: Atheneu, 1993. 294p. cap. 3: A resposta imunológica: aspectos adicionais, p.41-71.
42. SANTI, D.V., RIES, C.A. Agentes utilizados nas anemias; fatores de crescimento. In: KATZUNG, B.G. **Farmacologia básica e clínica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 854p. cap. 32, p. 375-385.
43. SZTERLING, G. **Elementos de hemoterapia**. São Paulo: 1975. 167p. cap. 4: Classificação de sangue, p. 41-68.
44. TURNER, M. Moléculas que reconhecem antígenos. In: ROITT, I., BROSTOFF, J. et al. **Imunologia**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. cap. 5, p. 5.1-5.12.

45. VICHINSKY, E.P., JOHNSON, R.A. et al. Alloimmunization in sickle cell anemia and transfusion of racially unmatched blood. **N. Engl. J. Med.**, v. 322, n. 23, p. 1617-1621, 1990.
46. WENDEL NETO, S. Reações adversas das transfusões. Parte 1: Reações imediatas não imunológicas. **Bol. Soc. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 8, n. 141, p. 197-198. 1986.

ANEXOS

ANEXO 1

NOME:.....Nº.....

IDADE:.....TEMPO DE HD:.....

Nº DE TRANSFUSÕES.....Nº GESTAÇÕES:.....

CAUSA DA IRC:.....

DROGAS USADAS:

EPO () SULF. FERROSO () NORIPURUM ()

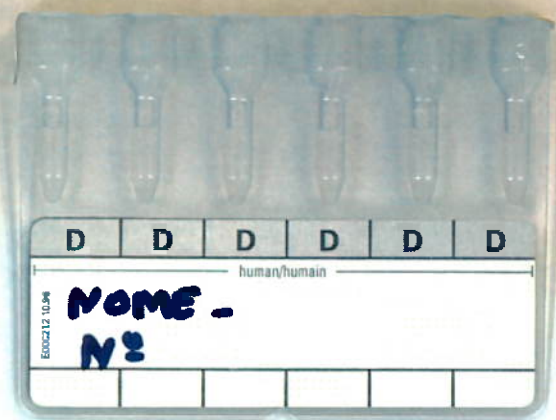
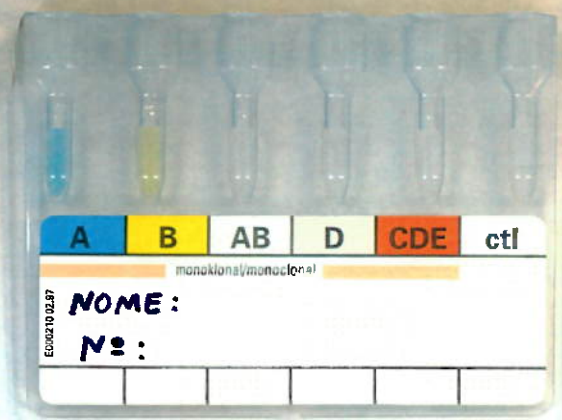
OUTRAS:.....

DOENÇA ÓSSEA / BIÓPSIA ÓSSEA:.....

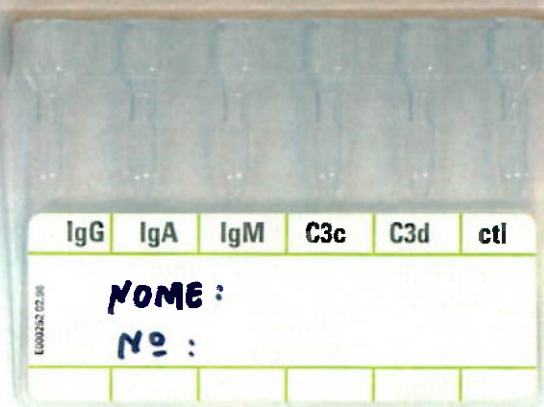
ANEXO 2

[illegible]

ANEXO 3



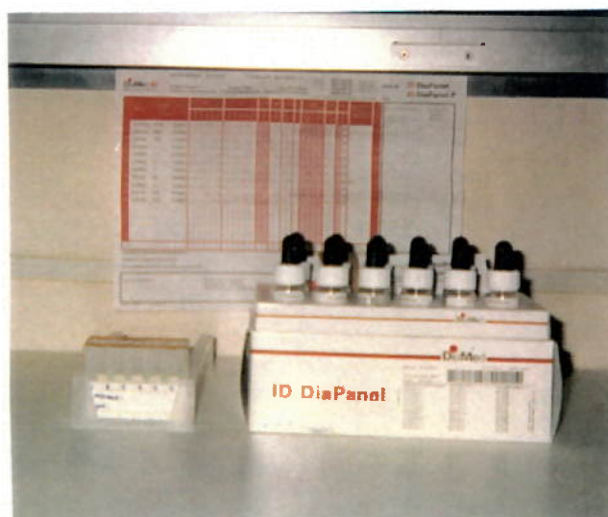
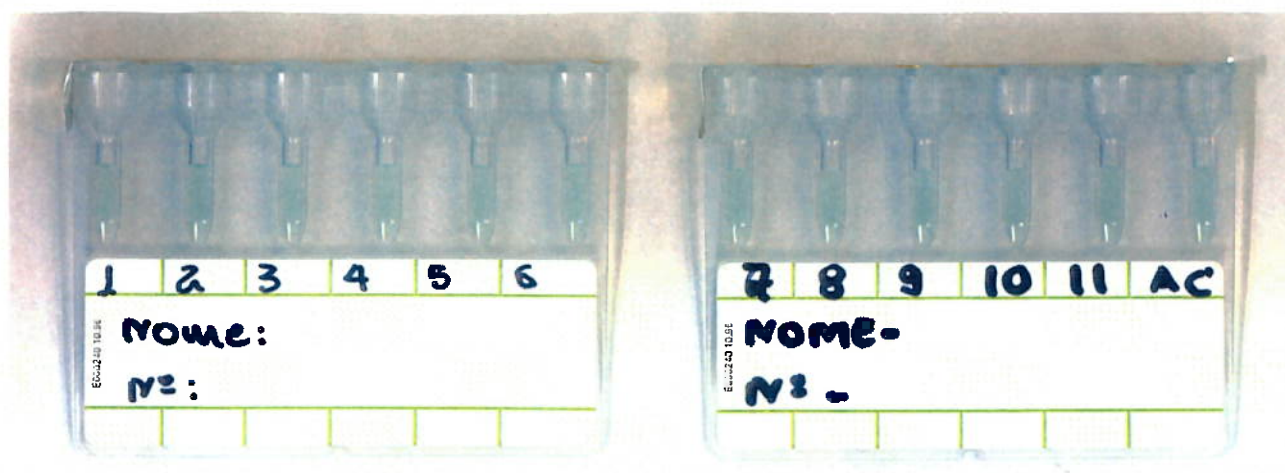
ANEXO 4



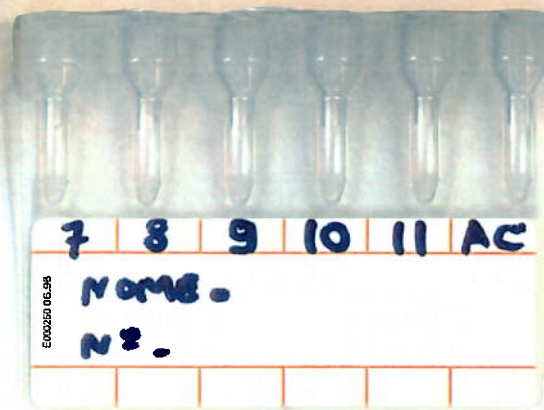
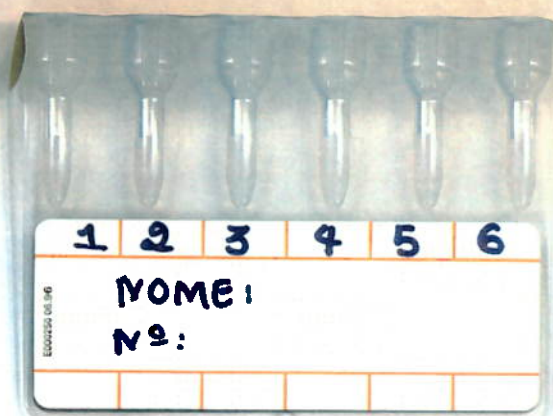
ANEXO 5



ANEXO 6



ANEXO 7



ANEXO 8



[illegible]

Zusätzliche Antigene siehe Rückseite.

Additional antigens see reverse.

Pour antigènes supplémentaires voir au verso.

Die farbige gekennzeichneten Antigene können im Enzymtest unterdrückt oder zerstört werden.

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

La réaction peut être inhibée avec les anticorps des systèmes MNSs, Duffy et Xg, si les hématies sont traitées aux enzymes protéolytiques.

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

Name/name/nom

Blutgruppe + Antigene
Bloodgroup + antigens
Groupe de sang + antigènes

Interpretation
Interpretation
Interprétation

Untersuchungsdatum
Examined on
Date de l'analyse

R.B.P. us 72

0 Positivo

Provive auto-anticorpo que

86127188

Rh-ir	Spender Donor Donneur	Rh-ir				Kell				Duffy	Kidd	Lewis	P	MNS				Luth.	Xg	Bemerkungen Remarks Remarques	Resultat/Resultat/Résultat		Bemerkungen Remarks Remarques	
		D	C	E	c	e	C*	K	k	Kp	Kp*	Js*	Js*	Fy*	Fy*	Jk*	Jk*	Le*	Le*		LISS/ Coombs	Enzym Enzyme		
1	C ⁺ CD. ee R ₁ R ₁	616307	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+4	+4	
2	CCD. ee R ₁ R ₁	616302	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+4	+4	
3	ccD. EE R ₂ R ₂	715084	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+4	+4	
4	Ccddee r' r	216332	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+4	+4	
5	ccddEe r' r	213339	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	0	
6	ccdd ee rr	116320	0	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	0	
7	ccdd ee rr	116305	0	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	0	
8	ccD. ee R ₀ r	309446	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+3	+4	
9	ccdd ee rr	114545	0	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	
10	CCD. ee R ₁ R ₁	615960	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+3	+4	
11	CcD. EE R ₂ R ₂	915685	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+4	+4	
			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	I	+4	
																						SS	+4	
																						CD	I	
																						AC	I	
Patient																					Eigenkontrolle negative control			

Zusätzliche Antigene siehe Rückseite.

Additional antigens see reverse.

Pour antigènes supplémentaires voir au verso.

Die farbige 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/faible
nt = nicht getestet
not tested
pas testé

Name/name/nom	Untersuchungsdatum Examined on Date de l'analyse
A.N. 2 02 45	28/10/98
Blutgruppe + Antigene Bloodgroup + antigens Groupe de sang + antigènes	Interpretation Interpretation Interprétation
B negativ	Aut-C + -D

Rh-hr	Spender Donor Donneur	Rh-hr				Kell				Duffy	Kidd	Lewis	P	MNS				Luth.		Xg	Bemerkungen Remarks Remarques	Resultat/Resultat		Bemerkungen Remarks Remarques
		D	C	E	c	e	C*	K	k	Kp	Kp	Jsb	Jsa	M	N	S	s	Lur	Lub			LISS/ Coombs	Enzym Enzyme	
1	C ⁺ CD. ee R ₁ R ₁ 616307	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0		
2	CCD. ee R ₁ R ₁ 616302	+	+	0	0	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	0		
3	ccD. EE R ₂ R ₂ 715084	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+3	+3		
4	Ccddee r' r 216332	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+3	+4		
5	ccddEe r' r 213339	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+3	+3		
6	ccdd ee rr 116320	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	0		
7	ccdd ee rr 116305	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	nt	0	0		
8	ccD. ee Ror 309446	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+3	+3		
9	ccdd ee rr 114545	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	w	+	0	+3	+4		
10	CCD. ee R ₁ R ₁ 615960	+	+	0	0	+	0	+	w	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+3	+4		
11	CcD. EE R ₂ R ₂ 915685	+	w	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	0	0		
Patient																						Eigenkontrolle negative control		

Zusätzliche Antigene siehe Rückseite.

Additional antigens see reverse.

Pour antigènes supplémentaires voir au verso.

Die farbigen gekennzeichneten Antigene können im Enzymtest unterdrückt oder zerstört werden.

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

La réaction peut être inhibée avec les anticorps des systèmes MNSs, Duffy et Xg, si les hématies sont traitées aux enzymes protéolytiques.

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

Name/name/nom	Blutgruppe + Antigene Blood group + antigens Groupe de sang + antigènes	Interpretation Interpretation Interprétation	Untersuchungsdatum Examined on Date de l'analyse
M.L.J.L. ue 52	0 positiv	Anti-3K ²	30.11.98



Universidade Federal do Ceará
Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina
e Complexo Hospitalar

Fortaleza, 30 de outubro de 1998.

Of. N° 080/98

Processo n° 052/98

Responsável: Alessandro Moraes de Sousa

Deptº./Serviço: Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará - HEMOCE

Título do Projeto: "Frequência de Anticorpos Irregulares em Pacientes Portadores de Insuficiência Renal Crônica"

Levamos ao conhecimento de V.Sª. que o Comitê de Ética em Pesquisa e Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução nº196, de 10 de outubro de 1996, publicada no Diário Oficial da União em 16 de outubro de 1996, aprovou o projeto supracitado, na reunião do dia 22 de outubro de 1998.

Atenciosamente,

Drª Mª Elisabete Amaral de Moraes
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
COMEPE/HUWC/UFC