

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

**FENOTIPAGEM ERITROCITÁRIA DOS DOADORES DE SANGUE
DO HEMOCE**

LUCIANO DE LIMA PESSOA

FORTALEZA – CEARÁ
1999

LUCIANO DE LIMA PESSOA

**FENOTIPAGEM ERITROCITÁRIA DOS DOADORES DE
SANGUE DO HEMOCE**

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

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FORTALEZA – CEARÁ
1999**

AGRADECIMENTOS

- A Dra. Anecy, pela orientação e ajuda na elaboração desse trabalho de pesquisa.
- A Dra. Vilany Franco pela amizade e ajuda na realização desse trabalho.
- Aos funcionários do setor de Coleta do Hemoce, pela obtenção de dados dos doadores supostamente aptos à pesquisa.
- Aos funcionários do setor de Imunohematologia que também contribuíram na realização desse trabalho.
- Aos colegas do curso, pelo apoio dado .

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	03
2. REVISÃO DA LITERATURA	05
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
4. RESULTADOS	27
5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	33
6. CONCLUSÃO	35
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

FENOTIPAGEM ERITROCITÁRIA DOS DOADORES DE SANGUE DO HEMOCE.*

LUCIANO DE LIMA PESSOA.**

RESUMO

Na rotina dos centros transfusionais, os laboratórios de imunohematologia eritrocitária classificam os doadores e os receptores de sangue nos sistemas ABO e Rhesus (fator Rh0 ou D e Dfraco, se necessário). Porém a prevenção frente à aloimunização para os demais antígenos do sistema Rhesus (C, c, E, e), e os antígenos de grupos sanguíneos de importância transfusional (Kell, Duffy, Kidd, Lewis, Lutheran, MNSs, P) se faz necessário.

Este trabalho teve como objetivo fenotipar individualmente 185 doadores de sangue do Hemoce para os principais sistemas de grupos sanguíneos, classificando-os de acordo com a presença dos antígenos dos principais grupos sanguíneos acima citados, criar um banco de dados referente a doadores com fenótipos raros, permitindo assim que o Hemoce acione estes doadores quando houver necessidade e fazer uma análise estatística da frequência dos antígenos eritrocitários na população de Fortaleza comparando os resultados com os dados disponíveis na literatura nacional e internacional.

Requisitos para a seleção dos doadores :

Doadores dos grupos sanguíneos O ou A, Rh positivo, com mais de uma doação no Hemoce e residentes em Fortaleza.

Metodologia:

Efetuar a fenotipagem dos doadores (3 a 8 doadores por dia) no período de 02 de agosto/99 a 24 de novembro/99 utilizando para a mesma o método de gel centrifugação (Diamed-ID Micro Typing System).

Foi realizada a análise percentual de cada antígeno pesquisado e comparado os resultados com a Literatura, chegando a conclusão que não há variações significativas na frequência dos antígenos.

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

** Farmacêutico Bioquímico aluno do XIV Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia.

I. INTRODUÇÃO

As proteínas da superfície dos eritrócitos funcionam como antígenos, sendo conhecidos mais de 400 tipos diferentes. Os antígenos são capazes de estimular uma resposta imunológica, ou seja, capaz de induzir a formação de anticorpos e de se combinar com ele⁽¹⁰⁾.

Os antígenos eritrocitários são denominados de aloantígenos que diferenciam os indivíduos de uma mesma espécie e são transmitidos hereditariamente. Eles são fabricados diretamente pelo próprio material genético, ou indiretamente através de enzimas produzidas por este material. São produzidas por uma única unidade genética, podendo o produto deferir de um indivíduo a outro, mas acessíveis às análises de genética. São integralmente transmitidos dos pais aos filhos e são geneticamente independentes uns dos outros. Os genes que os transmitem são dominantes.

Os grupos sanguíneos eritrocitários se expressam em sistemas constituídos por grupos de antígenos, que são estruturas reativas inseridas na membrana do glóbulo vermelho. Os mais importantes grupos sanguíneos são os ABO, Rhesus, MNSSs, I, P, Lewis, Lutheran, Kell, Duffy, Kidd⁽⁹⁾.

Os antígenos dos grupos sanguíneos eritrocitários são glicoproteínas, ou glicolipídeos e lipoproteínas da membrana globular.

A especificidade de um antígeno é sua propriedade de ser reconhecido pelo anticorpo produzido contra ele e não produzido por outro. Assim, os antígenos eritrocitários A e B correspondem anticorpos naturais (aglutininas naturais) anti-A e anti-B⁽¹⁰⁾.

O local onde ocorre a ligação do antígeno com o anticorpo é chamado de determinante antigênico ou epítipo. A especificidade dos grupos sanguíneos ABO, H, Lewis e P está ligada aos açúcares terminais acoplados a moléculas complexas. No sistema Rhesus tem uma especificidade protéica.

Os sistemas sanguíneos ABO e Rh são prioritários devido a sua imunogenicidade e também nos aspectos populacionais. As reações transfusionais mais severas são causadas por estes sistemas. Não que os outros sistemas não tenham importância, mas os sistemas ABO e Rh merecem melhor atenção. Os outros sistemas também são responsáveis por acidentes transfusionais, mas menos severos.

REVISÃO DE LITERATURA

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO ABO

1. Aspectos Históricos

Foi o primeiro sistema de grupo sanguíneo a ser descoberto por Karl Landsteiner em 1901, quando ele colheu seu próprio sangue e de cinco colaboradores, separando as células e soro, e depois misturou cada amostra em cada soro.

Ele descobriu que o soro dos indivíduos do grupo B aglutinavam as células hemáticas do grupo A e, conseqüentemente, que um anticorpo para os antígenos A estava presente no soro do grupo B. Da mesma forma de modo contrário.

O soro de indivíduos do grupo O aglutinava tanto as células A, como as células B, indicando a presença de anticorpo A e B.

Em 1922, Sturle e Von Descatello, descobriu o grupo sanguíneo AB, que tem uma reação positiva com anti-A e anti-B.

2. Anticorpos ABO

Os anticorpos ABO são, em geral, IgM. Em um soro de um indivíduo do grupo A e/ou B, o anti-B e/ou anti-A pode compreender somente a IgM, uma mistura de IgM e IgG, uma mistura de IgM e IgA ou uma mistura de três imunoglobulinas, contudo a maioria do anti-A de um indivíduo do grupo B e o anti-B de um indivíduo do grupo A contém, predominantemente, anticorpo IgM, com menores quantidades de IgG e IgA.

O anti-A,B de indivíduos do grupo O é uma mistura de IgG e IgM ou IgG, IgM e IgA.

O conhecimento da quantidade de IgG anti-A ou anti-B ou anti-A,B no soro de uma mulher permite, algumas vezes, prever ou diagnosticar a doença hemolítica do recém-nascido causada por incompatibilidade ABO.

3. Genética

A herança dos grupos sanguíneos ABO foi descrita pela primeira vez por Bernstein em 1924.

Cada indivíduo herda um gene ABO de cada pai e que estes dois genes determinam quais antígenos ABO estarão presentes sobre a membrana do eritrócito.

As designações A ou B referem-se aos fenótipos, enquanto que AA, BO e OO denotam genótipos. No caso de um indivíduo O, o fenótipo e o genótipo são idênticos, porque o indivíduo teria de ser homozigoto para o gene O . A herança dos antígenos ABO segue a genética mendeliana simples.

4. Frequência

A frequência destes grupos sanguíneos na população branca é a seguinte : Grupo O, 0,45%; Grupo A, 41%; Grupo B, 10%; Grupo AB, 4%. Os grupos sanguíneos O e A constituem os tipos sanguíneos mais comuns. O grupo sanguíneo mais raro é o AB.

As frequências dos grupos ABO diferem em algumas populações selecionadas e grupos étnicos. O grupo B é encontrado duas vezes mais frequentemente em negros e orientais que em brancos.

5. Subgrupos ABO

a) Subgrupo A:

Von Dungern descreveu, em 1911, dois diferentes antígenos A, baseado nas reações com anti-soros anti-A e anti-A₁.

O soro de indivíduos do B contém uma mistura de dois anticorpos, anti-A e anti-A₁. As hemácias A, que reagem somente com anti-A e não com anti-A₁, são classificadas como subgrupo A₂.

A classificação nos fenótipos A₁ e A₂ contribui com 99% de todos os indivíduos do grupo A. As células de aproximadamente 80% da população do grupo A são A₁, sendo que os 20% restantes são A₂ ou subgrupos mais fracos.

b) Subgrupo B:

Os subgrupos B são infrequentes. Eles são reconhecidos por variações na força de reação usando anti-B e anti-A₁B.

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO Rh

1. Aspectos Históricos

Levine e Stetson observaram uma reação transfusional hemolítica numa paciente que tinha recebido sangue ABO específico do esposo. Ela gerou um natimorto, antes da reação transfusional hemolítica.

Landsteiner e Winer relataram um anticorpo, produzido por cobaias e coelho, quando imunizados com eritrócitos de macaco Rhesus. Outra pesquisa feita por Levine mostrou que a isoaglutinina, que tinha causado a reação transfusional hemolítica, e o anticorpo descrito por Landsteiner e Wiener, definiam o mesmo grupo sanguíneo.

Na metade da década de 40, o sistema Rh consistia de cinco antígenos. Este sistema é um dos mais complexos e, junto ao sistema ABO, pode causar reação transfusional severa.

2. Antígenos DCE

Fisher e Race definiram os antígenos do sistema como D, d, C, c, E, e. O antígeno d é considerado um amorfo. O fenótipo Rh de um determinado eritrócito é definido pela presença ou ausência de D, C, c, E, e. Esses antígenos são os que em importância clínica.

O antígeno D apresenta uma frequência de 85%; o C de 70%; E de 30%; c de 80%; e possui uma frequência de 98%. Os antígenos Rh são altamente imunogênicos, sendo que D é o mais potente no que se refere a capacidade de provocar resposta imune. Na escala de imunogenicidade temos $D > c > E > C > e$.

3. Genética

Fisher e Race descobriram que o locus Rh continha três genes distintos, que controlavam a produção de seus respectivos antígenos. Foi demonstrado que o locus Rh está localizado no cromossoma 1. Os antígenos Rh são herdados como alelos co-dominantes, e estão presentes apenas na superfície das hemácias.

4. Anticorpos Rhesus

A maior parte de anticorpos Rhesus pertence à classe da imunoglobulina IgG, usualmente da subclasse IgG₁. A maioria desses anticorpos é produzida por exposição do sistema imunológico do indivíduo a eritrócitos estranhos por transfusão ou gravidez.

Os anticorpos IgM são formados em primeiro lugar, sendo feita uma transição para IgG e não fixam complemento. Estes anticorpos permanecem em circulação por longos períodos após a imunização. Com os títulos baixos e uma nova exposição ao mesmo antígeno, é deflagrada uma resposta secundária rápida.

Como se trata de uma IgG, que atravessa a placenta, os anticorpos Rh podem provocar doença hemolítica do recém-nascido.

SISTEMA DE GRUPO SANGÜÍNEO LEWIS

1. Aspectos Históricos

Os antígenos Lewis (Le^a e Le^b) foram descobertos em épocas diferentes e estão estreitamente relacionados ao antígeno ABH. Os antígenos Lewis não são sintetizados pelo eritrócito e incorporado à estrutura da hemácia. Estes antígenos são produzidos por células teciduais e secretados nos líquidos orgânicos, como nas secreções e no plasma. Depois eles são adsorvidos pela membrana eritrocitária a partir do plasma.

2. Antígeno

No recém-nascido os antígenos Lewis estão presentes na saliva e não no sangue, tendo assim fenótipo Le (a - b-). O antígeno torna-se presente no plasma após cerca de 10 dias de vida.

Todos os antígenos Lewis encontrados nas hemácias foram adsorvidos do plasma. Quando os antígenos são encontrados nas secreções são glicoproteínas. No plasma, são glicosfingolipídeos.

Os antígenos Lewis devem ser pesquisados em sangue de estoque recente, pois a estocagem prolongada enfraquece a reação (aglutinação), provavelmente em consequência da eluição da substância fixada.

3. Genética

O gene Lewis é semelhante aos genes ABO. Acredita-se que o gene Le esteja localizado no cromossoma 19, ligado ao locus do complemento C₃. Em caucasianos, 90% da população possuem o gene Le.

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

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

A conversão do fator Le^a em Le^b não é sempre completa. As pessoas portadoras de Le^b trazem alguma substância Le^a nas secreções, porém no plasma, ela é geralmente em quantidade insuficiente para ser absorvida às hemácias. Portanto as hemácias desses indivíduos podem ser classificados como Le (a - b +), ou em casos raros Le (a + b +)⁽²²⁾.

4. Anticorpos Lewis

Os anticorpos Lewis são, em geral, produzidos por pessoas com fenótipo Le (a- b-). Geralmente, eles são da classe IgM e não atravessam a placenta, de modo a não causar doença hemolítica do recém-nascido e nem estão implicados em reações hemolíticas transfusionais, mas podem ativar o complemento, de modo a causar ocasionalmente reações hemolíticas transfusionais. São anticorpos de ocorrência natural.

Os anticorpos mais comuns do sistema Lewis são anti-Le^a e anti-Le^b, que foram descritos respectivamente por Mourant em 1946 e Anderson em 1948 ⁽²²⁾.

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO MNSsU

1. Aspectos Históricos

Os antígenos M e N foram descobertos em 1927 por Landsteiner e Levine, a partir da imunização em coelhos com eritrócitos humanos, tendo sido o segundo sistema de grupos sanguíneos a ser descoberto. Em 1947, Walsh e Montgnory descobriram S, um antígeno distinto, geneticamente ligado aos antígenos MN. Em 1951, foi descoberto s e o sistema MN tornou-se MNSs, um sistema de dois loci. Em 1953, Wiener relatou um anticorpo para um antígeno de alta frequência, U. Todos os eritrócitos U também são S-s- (fenótipo Ss nulo).

2. Antígenos

Os antígenos MNSs estão bem desenvolvidos ao nascimento. Estes antígenos do sistema MNSs estão associados às sialoglicoproteínas da

membrana eritrócitaria, chamada glicoforinas A e B, as quais são susceptíveis de clivagem por enzimas proteolíticas em posições variadas. A atividade antigênica MN está localizada na glicoforina A. A glicoforina B carrega as especificidades S, s, U. Os antígenos MNS são removidos pelo tratamento enzimático.

O antígeno S e, mais raramente, o s, podem ser responsáveis por aloimunizações. Os antígenos M e N são, excepcionalmente, causa de aloimunizações.

O antígeno U está localizado na Ss-sialoglicoproteína próximo aos sítios antigênicos Ss, porém mais próxima à membrana eritrocitária.

3. Genética

Os antígenos do sistema MNSs estão localizados em duas glicoproteínas importantes, ricas em ácido siálico, na membrana do eritrócito. Cada glicoproteína apresenta vários nomes comuns : a estrutura transportadora dos antígenos MN é conhecida como MN-sialoglicoproteína (MN-SGP), alfa-SGP ou glicoforina A; os antígenos Ss estão na Ss-sialoglicoproteína (Ss-SGP), delta-SGP ou glicoforina B.

Há muito se sabe que MN e Ss representam alelos co-dominantes em dois loci intimamente ligados, contudo, ao invés de codificar apenas os próprios antígenos MN e Ss, é muito provável que os genes sejam responsáveis por toda estrutura MN ou Ss SGP, as quais por sua vez, podem conter muitos sítios antigênicos.

O complexo genético MNSs está localizado no braço longo do cromossoma 4. Como Ss-SGP e N-SGP apresentam estruturas muito semelhantes, alguns sugerem que os genes Ss surgiram de uma duplicação

no locus N. O mais comum complexo genético é Ns, seguido por Ms, MS e NS.

A herança de MS, Ms, NS e Ns pode ser traçada de geração para geração dentro de uma família e tem sido utilizada para avaliar questões de paternidade.

4. Anticorpos

A) Anti-M e Anti-N

Os anticorpos anti-M e anti-N são, via de regra, naturais e irregulares. São da classe IgM (às vezes IgG) ativos a baixas temperaturas (sobretudo a 4° c) e em pH acidificado de 6,5. Estes anticorpos mostram acentuado efeito de dose. Alo-anticorpos de classe IgG, e ativos a 37°c, são pouco freqüentes. Esses são principalmente de especificidade anti-S, raramente anti-s e são capazes de causar reações transfusionais e doença hemolítica do recém-nascido.

A maioria dos reagentes comerciais utilizados na detecção dos antígenos M e N é produzida por imunização em coelhos.

B) Anti-S e Anti-s

A maioria dos exemplos de anti-S e anti-s é constituída por IgG imunomediada, sendo detectada a 37°c e na fase de antiglobulina. Contudo, algumas podem ter uma reação ótima em temperaturas mais baixas.

Embora encontrados com menor freqüência que anti-M, os anticorpos S e s tem maior probabilidade de apresentar significado clínico. Eles podem fixar o complemento e foram implicados com reações

hemolíticas transfusionais graves, com hemoglobinúria. Também provocam doença hemolítica do recém nascido.

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO KELL

1. Aspectos Históricos

Em 1946 um antígeno foi definido por um anticorpo no soro da Sra. Kellacher, que reagiu com os eritrócitos de sua filha neonata, sua filha mais velha, seu marido e 7 a 9% da população ao acaso. O antígeno foi denominado K (Kell). Em 1949, Levine e colaboradores relataram seu parceiro antitético de alta frequência k (cellano)⁽²²⁾.

O sistema de grupo sanguíneo Kell possui 24 antígenos distribuídos em 4 e, possivelmente, 5 conjuntos antitéticos, com antígeno de baixa frequência opondo-se a antígeno de alta frequência⁽⁰⁹⁾.

2. Antígenos

O antígeno Kell (K_1), presente em 9% da população branca, é o segundo antígeno eritrocitário com maior capacidade de produzir anticorpos. A expressão do antígeno Kell começa em torno da décima semana de vida intrauterina. Como o antígeno K_1 está bem desenvolvido ao nascimento, é capaz de provocar isoimunização materna com doença hemolítica peri natal conseqüente.

Os antígenos Kell estão presentes na linhagem de eritrócitos a partir do eritroblasto. Não foram observados antígenos K e k em granulócitos, linfócitos, monócitos e plaquetas⁽⁹⁾.

Os antígenos K e k são antitéticos e merecem especial atenção porque são muito imunogênicos. K posiciona-se em segundo lugar, somente

atrás do antígeno D, em imunogenicidade. Quando os indivíduos K- são transfundidos com unidades K+, a probabilidade de produzir anti-K pode ser tão alta quanto 10%, mas provavelmente, é menor do que isto. 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.

3. Genética

A expressão dos antígenos do grupo sanguíneo Kell é controlada por dois genes independentes. Um está localizado no cromossoma X; o outro está localizado em um autossoma. O autossoma exato não é conhecido⁽⁰¹⁾.

O gene Kell autossômico codifica muitos antígenos e é análogo ao Rh: ele pode representar um complexo genético com loci intimamente ligados ou um locus genético único que codifica vários antígenos. Existe também um raro gene silencioso que não expressa antígenos autossômicos e é chamado K⁰.

4. Anticorpos

A maioria dos anticorpos no sistema Kell é estimulada a partir da exposição do eritrócito através de gravidez ou transfusão. Como tal, são anticorpos IgG reativo a 37°C, melhor detectados na fase de globulina anti-humana.

Os anticorpos do sistema Kell podem fixar o complemento, mas não de modo tão eficiente que provoquem hemólise in vitro. Em geral, a destruição eritrocitária in vivo é extravascular, através dos macrófagos do baço.

O anticorpo mais comum do sistema Kell observado no banco de sangue é o anti-K. Dois em cada três anticorpos não Rh detectados são anti-K. Seu antígeno pode ter baixa frequência (9%), mas é muito imunogênico.

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO DUFFY

1. Aspectos Históricos

O sistema de grupo sanguíneo Duffy foi denominado por Mr. Duffy, um hemofílico politransfundido, que, em 1950, descobriu possuir o primeiro exemplo descrito de anti-Fy^a. Um ano depois, o anticorpo definindo seu antígeno antitético Fy^b foi descrito por Ikim e colaboradores. Desde 1970, três anticorpos adicionais foram identificados. Embora eles sejam raramente observados no banco de sangue, seus antígenos Fy³, Fy⁴ e Fy⁵, contribuíram para nosso conhecimento da herança do sistema.

2. Antígenos

Os antígenos importantes na sorologia rotineira do banco de sangue são Fy^a e Fy^b. Eles podem ser identificados em eritrócitos no início da vida fetal (6 a 7 semanas de gestação) e estão bem desenvolvidos ao nascimento.

Os antígenos Duffy são estritamente eritrocitários. Na raça branca, exceto os casos excepcionais de indivíduos que não possuem os antígenos Fy^a e Fy^b, o sistema Duffy apresenta três fenótipos. O fenótipo “silencioso”, Fy (a-b-), excepcional na raça branca, é freqüente na raça negra⁽⁰⁹⁾.

As freqüências antigênicas nas populações branca e negra são as seguintes: Fy^a presente em 66% de brancos e 10% de negros

Fy^b presente em 83% de brancos e 23% de negros

Os antígenos do sistema Duffy são glicoproteínas que apresentam diferentes sensibilidades a enzimas proteolíticas: são desnaturadas ou removidas pela quimiotripsina, papaína e bromelina não sendo, porém, afetados pela tripsina.

3. Genética

Em 1968, o locus Duffy estava ligado a uma anormalidade herdada visível do cromossoma 1. Ele tornou-se o primeiro locus na espécie humana a ser designado para um cromossoma específico. Os antígenos são herdados por alelos co-dominantes mendelianos Fy^a e Fy^b. Acredita-se que o locus Duffy esteja no mesmo cromossoma que o gene Rh, porém segregam independentemente.

4. Anticorpos

Os anticorpos importantes na sorologia rotineira do banco de sangue são anti-Fy^a e anti-Fy^b.

Os anticorpos anti-Duffy resultam, todos, de aloimunização transfusional ou materno-fetal. São anticorpos imunes, via de regra de classe IgG (as vezes fixam complemento), detectados pela reação de coombs indireto. Os métodos enzimáticos, por suprimirem os antígenos Fy^a e Fy^b, servem como testes confirmatórios na identificação dos anticorpos contra esses antígenos.

O anticorpo anti-Fy^a é o mais freqüente (raça branca) e é responsável por doenças hemolíticas neo-natais e acidentes hemolíticos

transfusionais em pacientes politransfundidos. O anti-Fy^b é relativamente raro na população branca ⁽⁰⁹⁾.

Os indivíduos imunizados para os antígenos Fy^a e/ou Fy^b devem ser transfundidos com sangue negativo em relação a eles. Os sangues Duffy negativo são encontrados facilmente nas populações negras. Anti-Fy^a e anti-Fy^b podem causar graves reações hemolíticas transfusionais ⁽²²⁾.

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO KIDD

1. Aspectos Históricos

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

2. Antígenos

Jk^a e Jk^b são antígenos eritrocitários comuns. Existem algumas diferenças raciais notáveis na frequência antigênica: 77% dos brancos e 91% dos negros são Jk (a+), mas somente 50% dos chineses portam o antígeno; 57% dos negros são Jk (b-), mas apenas 28% dos brancos são Jk (b-).

Frequências antigênicas nas populações branca e negra:

Jk^a: presente em 77% dos brancos e 91% dos negros

Jk^b: presente em 22% dos brancos e 43% dos negros

Antígenos Jk^a foram detectados nos eritrócitos fetais tão precocemente quanto com 11 semanas, 7 semanas para Jk^b. Eles estão bem desenvolvidos ao nascimento, o que contribui para o potencial para a doença hemolítica do recém-nascido. Os eritrócitos de indivíduos homozigóticos exprimem o antígeno mais acentuadamente que os indivíduos heterozigóticos. O tratamento enzimático pode estimular a reatividade dos antígenos Kidd com seus anticorpos.

3. Genética

Os genes codificados Jk^a e Jk^b são alelos co-dominantes mendelianos. Evidências, baseadas na herança Kidd e Colton em indivíduos com deleção do braço longo do cromossoma 7 ou monossomia do cromossoma 7, sugerem que os genes Kidd e Colton podem ser sintênicos (p.ex., no mesmo cromossoma, mas não ligados) no cromossoma 7.

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

4. Anticorpos

O anticorpo anti-Jk^a está frequentemente implicado em reações transfusionais. De fato, o antígeno Jk^a é, praticamente, tão imunogênico quanto Fy^a. Este antígeno é, na maioria das vezes, de classe IgG, podendo ser também IgM (raro). Nos dois casos há fixação de complemento sendo, portanto, melhor detectado pela reação de coombs indireto. O anti-Jk^a frequentemente causa hemólise das células tratadas com enzimas proteolíticas.

Quando é de classe IgG, o anti-Jk^a pode ser responsável por doença hemolítica peri-natal. O anticorpo anti-Jk^b é raro e frequentemente associado a outros anticorpos.

Quando se suspeita da presença de anti-Jk^a ou anti-Jk^b em misturas de anticorpos, deverão ser providenciadas unidades de sangue fenotipadas e compatibilizadas para o sistema Kidd ⁽⁰²⁾.

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO P

1. Aspectos Históricos

O sistema de grupo sanguíneo P foi introduzido em 1927 por Landsteiner e Levine. Na pesquisa de novos antígenos, eles injetaram eritrócitos humanos em coelhos e produziram um anticorpo, inicialmente denominado anti-P, que dividiu os eritrócitos humanos em dois grupos: P+ e P-.

2. Antígenos

Os antígenos P₁, P e P^k são encontrados em eritrócitos, plaquetas, leucócitos e fibroblastos. P e P^k também foram identificados como glicoproteínas no plasma. Eles não foram encontrados em secreções.

A expressão do antígeno P₁ varia consideravelmente durante o desenvolvimento fetal. O antígeno foi encontrado em eritrócitos fetais tão precocemente quanto com 12 semanas e enfraquece com a idade gestacional. Ikim e colaboradores descobriram que fetos jovens eram mais freqüentes e mais fortemente P₁+ que fetos com mais idade gestacional. O antígeno está mal desenvolvido ao nascimento e leva até 7 anos para se

expressar totalmente. Diferente de P_1 , o antígeno P está bem desenvolvido ao nascimento.

O antígeno P_1 deteriora-se rapidamente durante o armazenamento. Quando células antigas devem ser classificadas para antígenos ou utilizadas como controle para reagentes de tipagem, ou quando células mais antigas são empregadas para identificar anti- P_1 no soro, podem resultar em resultados falso-negativos.

3. Genética

Em 1978, Graham e William propuseram um modelo genético para o sistema que, posteriormente foi confirmado através de estudos sorológicos e bioquímicos. O sistema possui dois loci com três genes no primeiro (P^k , P^{kl} e P) e dois genes no segundo (P^2 e $P^{2,0}$)⁽⁰⁹⁾.

4. Anticorpos

Os anticorpos do sistema P são, via de regra, naturais, de classe IgM e atuam em baixas temperaturas (4 a 25° c).

O anti- P_1 encontra-se em algumas pessoas de fenótipos P_2 . A força de reatividade do soro anti- P_1 varia de uma célula para outra e tende a diminuir quando é usado em células estocadas. Este fato cria dificuldades na sua identificação.

O fenótipo p é caracterizado pela presença, no soro, de uma IgM hemolítica com atividade anti- PP_1P^k anteriormente chamada de anti-Tj^a, porque foi descoberto num paciente com câncer, chamado Jay. Levine e colaboradores, em 1951, observaram que este anticorpo reagia com mais de 99,9% dos indivíduos testados. Ele causa reações hemolíticas transfusionais graves e, ocasionalmente, pode provocar doença hemolítica do recém-

nascido. Existe uma forte associação entre anti-Tj^a e abortamento espontâneo em mulheres p.

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO LUTHERAN

1. Aspectos Históricos

Os grupos sanguíneos Lutheran foram identificados desde 1945, quando o primeiro exemplar de anti-Lu^a foi descoberto no soro de um paciente com lúpus eritematoso difuso, após a transfusão de uma unidade de sangue portadora do antígeno de baixa frequência correspondente. O novo anticorpo foi denominado Lutheran, uma interpretação errônea do nome do doador Lutheran. Em 1956, Cutbush e Chanarin descreveram anti-Lu^b, o qual define o parceiro antitético para Lu^a e um sistema sanguíneo completo envolvido.

2. Genética

Alelos co-dominantes codificam os antígenos do sistema Lutheran. O gene foi designado para o cromossoma 19 através de sua ligação com C₃. Lutheran também está ligado ao Se, o primeiro exemplo de linkage autossômico em seres humanos, e a LW.

3. Antígenos

Embora antígenos Lu^a e Lu^b tivessem sido detectados em eritrócitos fetais tão precocemente quanto 12 semanas, eles estão mal desenvolvidos ao nascimento e não atingem o nível adulto por muitos anos. Ambos os antígenos mostram um efeito de dose com nítidas diferenças entre indivíduos homozigotos e heterozigotos dentro da mesma família.

Contudo, a expressão antigênica pode variar muito de uma família para outra. Os antígenos Lutheran são destruídos quando submetidos a tratamento enzimático.

4. Anticorpos

Anti-Lu^a: é raramente encontrado na população geral, talvez um resultado da baixa frequência do antígeno. A maioria dos exemplos é constituída de aglutininas salinas, de ocorrência natural, que reagem melhor em temperaturas abaixo de 37°C. Alguns exemplos são capazes de fixar o complemento. Os anticorpos Lutheran são raros porque eles podem ser imunoglobulinas de classe IgA, bem como IgM e IgG.

Anti-Lu^b: é raramente observado porque muitas poucas pessoas são Lu(b-) e, com isso, muitas poucas pessoas são capazes de produzir o anticorpo. Embora o primeiro exemplar fosse uma aglutinina a 20°C, a maior parte reage a 37°C e é observada na fase de antiglobulina. Alguns exemplares fixam complemento. São imunoglobulinas das classes IgG (frequentemente IgG₄), IgM e IgA.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 185 doadores, de ambos os sexos, que se apresentaram no Hemoce no período de 02 de agosto a 24 de novembro de 1999. Todos eles foram triados pela equipe médica e considerados aptos a doação.

A análise foi realizada no laboratório de Imunohematologia. As amostras foram obtidas na hora da doação e estudada logo após. Os critérios de escolha para o doador fazer parte do estudo é ter tipo sanguíneo O ou A, fator Rh Positivo, já ter doado sangue mais de uma vez no Hemoce e residir na cidade de Fortaleza.

As amostras obtidas dos doadores foram fenotipadas para vários sistemas de grupos sanguíneos, obedecendo técnicas específicas para cada sistema de grupo sanguíneo.

Os antígenos analisados foram dos sistemas Rhesus, Kell, Duffy, Kidd, MNSs, P, Lewis e Lutheran. Para a identificação desses antígenos, foi utilizada a técnica em Gel Centrifugação (Diamed-ID Micro Typing System).

Para os antígenos dos sistema Rhesus pesquisados que foram aos seguintes: C; c; E; e; C^w, para os antígenos do sistema Kidd, Jk^a Jk^b, para os antígenos do sistema P, do sistema Kell, do sistema Lewis, Le^a Le^b, do sistema Lutheran, Lu^a Lu^b, obedecemos os seguintes procedimentos técnicos:

- Centrifugamos a amostra de sangue por 10 minutos a 3.400 rpm

- Preparamos uma suspensão de hemácias a testar em bromelina, utilizando 0,5ml de bromelina e 25µl do concentrado de hemácias
- Homogeneizamos e deixamos as suspensões por 10 minutos a temperatura ambiente
- Pipetamos 10µl da suspensão e dispensamos nos respectivos microtubos para os antígenos dos sistemas de grupos sanguíneos acima relacionados
- Centrifugamos e efetuamos a leitura. Hemácias presentes na superfície ou na extensão da coluna do gel significa presença do antígeno correspondente nas hemácias. Hemácias depositadas no fundo da coluna de gel, ausência do antígeno.

Para os antígenos do sistema MNSs e do sistema Duffy, obedecemos os seguintes procedimentos técnicos:

- Centrifugamos a amostra de sangue por 10 minutos a 34.000 rpm
- Preparamos uma suspensão a 0,8 a 1% de hemácias a testar, em Liss, utilizando 1 ml de Liss e 10µl do concentrado de hemácias
- Homogeneizamos
- Pipetamos 50µl da suspensão nos microtubos
- Pipetamos 50µl do anti-soro nos microtubos correspondentes (anti-M-N-S-s-Fy^a-Fy^b)
- Deixamos 10 minutos à temperatura ambiente
- Centrifugamos e efetuamos a leitura

Materiais e Equipamentos Utilizados:

- Pipetas automáticas / ponteiras
- Tubos de hemólise
- Pincel retroprojektor
- Estantes para tubos
- Relógio
- Papel absorvente / gaze
- Centrífuga para a separação de soro/plasma/hemácias
- Centrífuga (ID-centrífuga especial)
- Cartelas específicas para os antígenos a serem determinados
- ID-Diluyente 1 (Bromelina)
- ID-Diluyente 2 (LISS)
- ID-Soros anti-M-N-S-s-Fy^aFy^b

OBS.: Utilizamos amostras de sangue previamente tipados pelo setor de Imunohematologia. Para o estudo, usamos amostras de sangue tipo A ou O Positivo.

RESULTADOS

Foram estudados 185 doadores com idade variando de 19 a 58 anos. Os resultados desse estudo, no que diz respeito a distribuição de freqüências dos principais sistemas de grupos sanguíneos que foram objeto de pesquisa desse trabalho, estão distribuídos nas tabelas de 1 a 9.

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

Tabela. 1 – Freqüência dos fenótipos dos sistema Rh em uma amostra de 185 doadores de sangue do HEMOCE

FENÓTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
CcDee	33,5 /
CCDee	18,9 /
CcDEe	11,8 /
ccDEe	16,8 /
ccDEE	4,9 /
ccDee	11,4 /
CCDEe	2,2 /
CcDEE	0,5 /
<i>TOTAL</i>	100

Na tabela 2 estão relacionados os principais fenótipos do sistema Duffy e suas frequências na população em estudo.

Tabela. 2 – Frequência dos fenótipos do sistema Duffy em uma amostra de 185 doadores de sangue do HEMOCE

FENÓTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
Fy (a + b +)	35,2
Fy (a + b -)	28,6
Fy (a - b +)	32,9
Fy (a - b -)	3,3
<i>TOTAL</i>	100

Na tabela 3 estão relacionados os principais fenótipos do sistema Kidd e suas frequências na população em estudo.

Tabela. 3 – Frequência dos fenótipos do sistema Kidd em uma amostra de 185 doadores de sangue do HEMOCE

FENÓTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
Jk (a + b +)	44,9
Jk (a + b -)	28,1
Jk (a - b +)	27,0
Jk (a - b -)	-
<i>TOTAL</i>	100

Na tabela 4 estão relacionados os principais fenótipos do sistema Lewis e suas frequências na população em estudo.

Tabela. 4 – Frequência dos fenótipos do sistema Lewis em uma amostra de 185 doadores de sangue do HEMOCE

FENÓTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
Le (a + b +)	-
Le (a + b -)	9,2
Le (a - b +)	69,8
Le (a - b -)	21,0
<i>TOTAL</i>	100

Na tabela 5 está relacionado a frequência do fenótipo do sistema P na população em estudo.

Tabela. 5 – Frequência do fenótipo do sistema P em uma amostra de 185 doadores de sangue do HEMOCE

FENÓTIPO	FREQUÊNCIA (%)
P ₁ (+)	81,62
P ₁ (-)	18,38
<i>TOTAL</i>	100

Na tabela 6 estão relacionados os principais fenótipos do sistema MNSs e suas frequências na população em estudo.

Tabela. 6 – Frequência dos fenótipos do sistema MNSs em uma amostra de 185 doadores de sangue do HEMOCE

FENÓTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
M + N -	38,0
M + N +	47,0
M – N -	-
M – N +	15,0
<i>TOTAL</i>	100

FENÓTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
S + s -	16,0
S + s +	35,0
S – s -	-
S – s +	49,0
TOTAL	100

Na tabela 7 estão relacionados os principais fenótipos do sistema Lutheran e suas frequências na população em estudo.

Tabela. 7 – Frequência dos fenótipos do sistema Lutheran em uma amostra de 185 doadores de sangue do HEMOCE

FENÓTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
Lu (a + b +)	5,5
Lu (a + b -)	-
Lu (a - b +)	94,5
Lu (a - b -)	-
<i>TOTAL</i>	100

Na tabela 8 está relacionada a frequência do fenótipo do sistema Kell.

Tabela. 8 – Frequência o fenótipo do sistema Kell em uma amostra de 185 doadores de sangue do HEMOCE

FENÓTIPOS	FREQUÊNCIA (%)
K (+)	9,2
K (-)	90,8
<i>TOTAL</i>	100

Na tabela 9 está relacionada a tipagem sanguínea dos 185 doadores que fizeram parte desse estudo.

Tabela. 9 – Classificação sanguínea do grupo sanguíneos ABO nos 185 doadores de sangue do HEMOCE

TIPO	FATOR Rh	FREQUÊNCIA
A	POSITIVO	44,8
O	POSITIVO	55,2
<i>TOTAL</i>		100

Tabela. 10 – Distribuição dos 185 doadores de sangue segundo o sexo

SEXO	Nº DE DOADORES	%
Masculino	163	88,11
Feminino	22	11,89
<i>TOTAL</i>	185	100

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Na rotina dos centros transfusionais, os laboratórios de imunohematologia eritrocitária classificam os doadores e os receptores de sangue nos sistemas ABO e Rhesus (fator Rh0 ou D e D fraco, se necessário). Seria muito importante a classificação dos doadores de sangue para os outros sistemas de grupos sanguíneos eritrocitários que também são causas de acidentes transfusionais.

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

Além dos antígenos do sistema ABO e Rhesus, procuramos destacar também a frequência dos antígenos dos outros sistemas de grupos sanguíneos como: Duffy, Lewis, Kidd, Kell, MNSs, Lutheran, P. A frequência (em porcentagem) encontrada na amostra estudada foi comparada com as informações da literatura médica.

Nesta monografia, foram pesquisados um total de 19 antígenos a seguir relacionados: C / c / E / e / C^w / K / Fy^a / Fy^b / Jk^a / Jk^b / M / N / S / s / P₁ / Le^a / Le^b / Lu^a / Lu^b.

Os resultados obtidos das frequências desses antígenos foram comparados com as informações da literatura médica.

Para os antígenos do sistema Rhesus, segundo Pelliza, S.M; Berthier, M; E.O. Gonzaga, a população em geral apresenta os seguintes fenótipos: 34% CcDee (33,5%)**; 17,8% CCDee (18,9%)**; 13,5%

CcDEe (11,8%)**; 11,7% ccDEe (16,8%); 2,3% ccDEE (4,9%)**. Observamos uma diferença considerável entre os resultados para o fenótipo ccDee do nosso trabalho, que foi de 11,4% com os resultados da bibliografia acima citado, que é de 2,1%. Para os fenótipos CCDEe e CcDEE, segundo Karen L. O'Connor, B.A, MT(ASCP), SBB, Cap. 6 do livro Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão é menor que 0,2% em ambos fenótipos. Como resultado da nossa pesquisa encontramos 2,2% para CCDEe e 0,5% para CcDEE.

Para os fenótipos do sistema Duffy, de acordo com a literatura estudada, encontramos o seguinte: 17,0% Fy(a + b -); 49,0% Fy(a + b +), diferente do que encontramos na nossa pesquisa que foi 28,6% para Fy(a+b-) e 35,2% para Fy(a + b +). Os fenótipos Fy(a – b +), segundo a literatura apresenta 34% e raros apresentam Fy(a – b -), de acordo com os resultados do nosso estudo ⁽²⁷⁾.

Para os fenótipos do sistema Lewis, de acordo com a literatura ISSIT, P.A. Applied Blood Group Sorology, apresenta uma frequência Le(a+b+) extremamente raro; Le(a+b-) de 22%; Le(a-b+) de 72% e Le(a-b-) de 6%. Há uma diferença na frequência dos fenótipos Le(a+b-) e Le(a-b-) do nosso estudo, que foi respectivamente 9,2% e 21%.

Essas diferenças que vimos nos resultados de alguns sistemas de grupo sanguíneo pode ser explicado na classificação segundo a raça. Nesse trabalho, fizemos um classificação segundo a raça, pois na nossa região há um miscigenação acentuada do povo, dificultando essa classificação.

A correlação entre os valores encontrados na literatura consultada^(01, 09, 22) e os que observamos no nosso trabalho se aproximam nos sistemas de grupo sanguíneo Kidd (tab.3), P (tab.5), MNSs (tab.6), Lutheran (tab.7) e Kell (tab.8).

CONCLUSÃO

Apesar do HEMOCE fenotipar o sangue dos doadores para os sistemas de grupos sanguíneos ABO e Rhesus, os outros grupos tem uma fundamental importância na medicina transfusional, havendo assim a fenotipagem dos principais antígenos eritrocitários numa transfusão sanguínea.

Neste trabalho, observamos que não há diferenças significativas nas frequências fenotípicas entre outras regiões. As diferenças que existiram no trabalhos podem ser explicadas pela raça. Não separamos os doadores segundo a raça, devido a grande miscigenação existente em Fortaleza, e a literatura médica enfoca a frequência fenotípica segundo a raça.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALLEN, F.H.Jr., and ROSENFELD, R.E.: Notation for the Kell blood system. *Transfusion* 1: 305, 1961.
02. ANSTEE, D.J. Blood group – active surface molecules of the human red blood cells. *Vox.sang.*, Basel, v.58, p. 1-20, 1990.
03. BBEIGUELMAN, D. *Farmacogenética e sistemas sanguíneos eritrocitários*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1983.
04. CASTILHO, L.M., PELLEGRINO JUNIOR, J., SILVA, R.C., BICUDO, A.B.O., MILARE, M.S., BEIGUELMAN, B. *Boletim Rev. Soc. Brasil. Hematol. Hemoter.*, v.12, n. 155, p.29, 1990.
05. COOMBS, R.R.A.; MOURANT, A.E.; RACE, R.R. A new test for the detection of weak and “incomplete” Rh agglutinins. *BR. J. EXP. Pathol.* 26: 256-66, 1945.
06. GUINSBURG. SALDANHA, S. *Revista Brasileira Genética*. 5: 175 - 186, 1982.
07. ISSIT, P.D. *Applied Blood Group Serology*. 3. Ed. Miami: Montgomery Scientific Publications, 1985. 683p.
08. IKIN, E.W; MOURANT. A.E.; PETTENKOFER, H. And Blumenthal, G.: Discovery, of the Expected Haemagglutinin, Anti-Fy^b. *Nature* 168: 1077, 1951.
09. LIMA, Lise Mary Alves de; *Curso de Imunohematologia*, Botucatu S.P.: Faculdade de Medicina UNESP, 1992.
10. LORENZI, T.F.: *Manual de Hematologia Propedêutica e Clínica* 2.Ed. Medsi Rio de Janeiro p.76-81, 1999.

11. LUIS Edmundo Venturelli e MARIA Helena Baena de Moraes. Frequências Gênicas dos Sistemas ABO, MNSs e Rh em caucasóides e negróides da cidade de Campinas, SP. Rev, Brasil Genética 1: 179-185, 1986.
12. MARCOS, Palatnik, NACI S.M. Laranjeira, MARIA, L.M.S. Simões and. Juciara B. Loureiro. Distribution of the Lewis and secretor traits in Rio de Janeiro, Brasil, Rev, Brasil Genética 11: 187-192, 1988.
13. MARSH, W.L., REDMAN, C.M. The Kell blood group system: a review. Transfusion, Arlington, v.30, n.2 p.158-167, 1990.
14. MOLLISON, P.L. Blood Transfusion in Clinical Medicine. 7. Ed. Oxford: Black Well Scient. Pub., 1983.
15. MOLLISON, P.L. ABO, Lewis, Ii and P groups. Blood transfusion in Clinical Medicine Oxford, Black Well Scientific Publication 7: 267-327, 1987.
16. MOORE, S.B. Progress in Immunohematology. 1.Ed. Arlington: American Association of Blood Banks (AABB), 1988 159p.
17. MOURANT, A.E., KOPEC, A.C., DOMANIEWSKA-SOBCZAK, K. The distribution of the human blood group and other polymorphisms. 2.Ed. Londres: Oxford University Press, 1976.
18. NICHOLS, M.E., RUBINSTEIN, P., BARNWELL, J., RODRIGUEZ DE CORDOBA, S., ROSENFELD, R.E. A new human Duffy blood group specificity defined by a murine monoclonal antibody. J. Exp. Med., (S.L.) v. 166 p. 776-785, 1987.
19. NUNES, Moreira, J.A. Análise Estatística dos Grupos Sanguíneos em Frotaleza. Ver. Bras. Biol. 23: 355-360, 1963.

20. NEVES, M.L.J. Grupos Sanguíneos ABO e Rh. Estatística em 2.354 doadores de sangue. Fortaleza: UFC, 1987. 29p. Monografia (Especialização em Hematologia e Hemoterapia).
21. OLIVEIRA, M.C.V.C.; OLIVEIRA A.M.; SALAZANO, F.M. ABO and Rh gene frequencies in the metropolitan region of Recife, Estate of Pernambuco, Brasil Revista Brasileira Genética, 2: 375-380, 1983.
22. PELLIZA, S.M., BERTHIER, M.E.O., GONZAGA, A.L. Manual de Imunohematologia. 1.Ed. Rio de Janeiro: Centro de Hematologia Santa Catarina, 1977. 149p.
23. PELLEGRINO JUNIOR, J., CASTILHO, L.M., LOCATELLI, M.F., VICENTE, N.R., SILVEIRA, N.M.F., BEIGUELMAN, B. Boletim, Rev. Soc. Brasil. Hematol. Hemoter., v.12, n.155, p.116, 1990.
24. PETZ, L.D., SWISHER, S.N. Clinical Practice of Transfusion Medicine: 2. Ed. Nova Iorque: Churchill Livingstone Ed., 1989. 790p.
25. PINKERTON, F.J.; MERMOD; L.E; LILES, B.A.; JACK, J.A. and NOADES, J.: The Phenotype Jk (a-b-) in the Kidd blood Group System Vox sang. 4: 155, 1959.
26. RACE, R.R., SANGER, R. Blood Groups in Man. 6.Ed. Oxford: Balckwell Sci. Pub., 1985.
27. SANGER, R.; RACE, R.R. and JACK, J.: The Duffy blood groups of New York negroes, the Phenotype Fy (a-b-) BR. J. Haematol. 1: 370, 1955.

28. SANTOS, J.A., VIEIRA, L.M.F., NEVES, M.S.A., ASSUNÇÃO, P.R.S. Apostila de Imunohematologia Eritrocitária. Belo Horizonte: HEMOMINAS, 1988 (Mineogr.).
29. STEVENS, W.L.: Estimation of blood-groups Gene Frequencies. Ann. Eng. 8: 362-735, 1938.
30. TECHNICAL MANUAL OF AABB. 8.Ed. Washington: American Association of Blood Banks (AABB), 1981. 442 p.
31. TECHNICAL MANUAL OF AABB. 9.Ed. Arlington: American Association of Blood Banks (AABB), 1985. 515 p.
32. TECHNICAL MANUAL OF AABB. 10.Ed. Arlington: American Association of Blood Banks (AABB), 1990. 665 p.