

**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**

**PESQUISA E IDENTIFICAÇÃO DE ALOANTICORPOS
ERITROCITÁRIOS EM PACIENTES PORTADORES DE ANEMIA
FALCIFORME DO HOSPITAL INFANTIL ALBERT SABIN**

PAULO SÉRGIO COUTINHO BARRETO

**FORTALEZA – CE
2005**

PAULO SÉRGIO COUTINHO BARRETO

**PESQUISA E IDENTIFICAÇÃO DE ALOANTICORPOS
ERITROCITÁRIOS EM PACIENTES PORTADORES DE ANEMIA
FALCIFORME DO HOSPITAL INFANTIL ALBERT SABIN**

Monografia apresentada como
requisito final do Curso de
Especialização em Hematologia e
Hemoterapia.

ORIENTADORAS:

Dra. Vilany Franco Pereira da Silva
Dra. Fátima Nazaré Galvão Sales

**FORTALEZA – CE
2005**

*“Temos que pensar em fazer bem
feito aquilo que nem sabemos se
vai ser feito amanhã”
Amyr Klink*

AGRADECIMENTOS

- A DEUS, incondicionalmente.
- Aos meus pais que mesmo de longe torcem pelo meu sucesso.
- A minha querida esposa Domitilha pelo incentivo, apoio e compreensão.
- Aos meus queridos filhos Paulo e Marina pela compreensão nas horas de ausência e orgulho do pai.
- Aos funcionários do Hospital Infantil Albert Sabin, Gervásia e Hélio pela coleta do sangue dos pacientes.
- A toda equipe do Laboratório de Imuno-hematologia do HEMOCE pelo auxílio na realização deste trabalho, em especial Zilma e Solenis.
- Jeovany, Cecília, Nazaré e Telma pela amizade.
- Aos colegas do curso pelas boas horas que passamos juntos.
- A todos os professores do Curso e profissionais pela acolhida e ensinamentos nos setores em que passamos, em especial os Doutores Alana, Vânia, Herivaldo, Jaqueline, Fanca, Vitória, Vilany, Annecy e Fátima Galvão.

SUMÁRIO

RESUMO.....	06
Abstract	07
1 – INTRODUÇÃO.....	08
Revisão de Literatura.....	13
2 – OBJETIVOS.....	22
3 – MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4 – RESULTADOS.....	28
5 – DISCUSSÃO.....	32
6 – CONCLUSÃO.....	35
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

RESUMO

Anemia Falciforme (AF) é representada pela substituição do ácido glutâmico pela valina na posição 6 da cadeia beta da globina. Esta substituição tem como consequência final a polimerização das moléculas dessa hemoglobina anormal (HbS) quando desoxigenadas, resultando na alteração da forma do eritrócito, de disco bicôncavo deformável em célula rígida, aberrante conhecida como célula em forma de foice. O suporte transfusional utilizando concentrado de hemácias (CH) é de vital importância no manejo de pacientes com AF, porém acarretam riscos de complicações imunológicas e não imunológicas. A determinação da fenotipagem dos grupos sanguíneos ABO/Rh e outros sistemas de grupos sanguíneos (Kell, Duffy, Kidd, Lewis, P, MNSs, Lutheran) é importante para estes pacientes politransfundidos para prevenir a aloimunização e reduzir reações transfusionais hemolíticas. Este trabalho teve como objetivo, determinar a prevalência de aloanticorpos eritrocitários em pacientes falcêmicos que receberam pelo menos uma transfusão de concentrado de hemácias. Foram estudados 100 pacientes de ambos os sexos com idade variando de 1 ano a 21 anos, utilizando-se a técnica de gel centrifugação, através da qual identificamos 12 pacientes aloimunizados, cujos aloanticorpos eram predominantemente dirigidos contra antígenos do sistema Rh (57%) e possuíam as seguintes especificidades: 3 anti-E, 3 anti-c, 2 anti-C, 1 anti- Fy^a, 2 anti-Fy^b, 2 anti-K, 1 anti-S e 2 pacientes com anticorpos não identificados.

ABSTRACT

Sickle cell anemia is represented by the substitution of the glutamic acid by valina in chain beta globin's position 6. This substitution has final consequence abnormal hemoglobin's polimerization when it is deoxygenated, resulting alterations in red cell's shape from a deformable biconcave disk to a rigid and aberrant cell – sickle cell. The transfusional support using red blood cells is essential to this patients, but can have some immunologic and nonimmunologic's complications. The determination of phenotyping of blood's group ABO/Rh and uncommon antigens (Kell, Duffy, Kidd, Lewis, P, MNSs, Lutheran) is important in patients with multiple transfusions to prevent alloimmunization and reduce hemolytic transfusion reactions. The study's objective was determined red cell alloantibodies' prevalence in sickle cell patients. One hundred patients from both sex, aged from one year to 21 years were assessed. The gel centrifugation's thecnic was used. Found 12 patients alloimmunized, whose alloantibodies were mainly driven against Rh antigens (57%) and flollowing typing: anti-E 3, anti-c 3, anti-C 2, anti-Fy^a 1, anti-Fy^b 2, anti-K 2, anti-S 1, and 2 non-identified antibodies.

1. INTRODUÇÃO

O eritrócito, descrito freqüentemente como uma célula funcionalmente simples, apresenta numerosos aspectos relativos à estrutura e propriedades metabólicas extremamente complexos e ainda não totalmente elucidados⁽¹⁾.

O metabolismo eritrocitário e conseqüente produção de energia visam fundamentalmente manter a flexibilidade da membrana, a forma bicôncava da hemácia e a integridade da hemoglobina⁽²⁾.

A hemoglobina, subunidade funcional e principal constituinte celular, representa importante fator do controle da integridade do eritrócito⁽¹⁾. É uma proteína de estrutura globular e quaternária composta por quatro cadeias polipeptídicas, ou cadeias de globina, e um grupo prostético (o grupo heme), ligado a cada uma das cadeias de globina⁽³⁾. A molécula de hemoglobina é, portanto, um tetrâmero de cadeias de globina do tipo alfa e duas do tipo beta. Assim, por exemplo, duas globinas alfa (α_2) e duas beta (β_2) compõem a HbA e, dessa forma, as combinações entre as diferentes globinas determinam os seis tipos de hemoglobinas humanas produzidas nas fases do desenvolvimento caracterizadas como embrionária, fetal e pós nascimento⁽³⁾.

Uma vez que o eritrócito maduro alcança a circulação periférica, o mesmo está cheio de hemoglobina e apto a realizar a sua função, que é transportar oxigênio dos pulmões para os tecidos e gás carbônico recolhido dos capilares teciduais para os pulmões, circulando em média 120 dias⁽⁴⁾.

As hemoglobinopatias constituem um grupo de doenças, de natureza genética, em que existe alteração da parte globínica da hemoglobina⁽⁵⁾.

A anemia falciforme é um exemplo clássico de uma alteração mínima na estrutura da hemoglobina capaz de provocar, sob determinadas circunstâncias, uma singular interação molecular e drástica redução na sua solubilidade⁽¹⁾.

Eritrócitos "peculiarmente alongados e em forma de foice" foram assinalados pela primeira vez por Herrick, em 1910, no sangue de um indivíduo anêmico da raça negra, embora as manifestações clínicas da doença já fossem conhecidas séculos antes na África Ocidental.

A alteração molecular primária na anemia falciforme é representada pela substituição de uma única base no códon 6 do gene da globina β , uma adenina (A) é substituída por uma timina (T) (GAG→GTC). Esta mutação resulta na substituição do resíduo glutamí na posição $\beta 6$ por um resíduo valil ($\beta 6$ Glu→Val). Esta substituição tem como consequência final a polimerização das moléculas dessa hemoglobina anormal (HbS) quando desoxigenadas⁽¹⁾.

A polimerização da hemoglobina S é o evento fundamental na patogenia da anemia falciforme, resultando na alteração da forma do eritrócito e na acentuada redução de sua deformabilidade. As células rígidas, com formas aberrantes (classicamente conhecidas são as células em forma de foice), são responsáveis pela oclusão vascular e lesão de tecidos que representam os fenômenos principais dessa doença⁽¹⁾.

Todas as hemácias contendo predominantemente hemoglobina S podem adquirir a forma falciforme clássica após desoxigenação, em decorrência da polimerização intracelular da desoxi-hemoglobina S, processo normalmente reversível após a reoxigenação. No entanto, a repetição desse fenômeno provoca considerável lesão de membrana em algumas células suscetíveis, fazendo com que a rigidez e configuração em forma de foice persistam mesmo após a reoxigenação⁽¹⁾.

Em decorrência de sua acentuada rigidez, as células irreversivelmente falcizadas têm uma vida-média reduzida e contribuem significativamente para a anemia hemolítica dos pacientes eritrofalcêmicos. No entanto, o quadro clínico da anemia falciforme, não depende substancialmente dos sintomas causados pela anemia propriamente, mas sim da ocorrência de lesões orgânicas causadas pela obstrução vascular e das chamadas “crises de falcização”. Nos períodos entre as crises, os pacientes evoluem praticamente assintomáticos, a despeito da anemia persistente, com níveis de hemoglobina variáveis, mas em geral ao redor de 8g/dl. Contribui fundamentalmente para esta relativa ausência de sintomas a acentuada redução da afinidade dessa hemoglobina anormal para o oxigênio. Dessa forma, uma menor concentração de hemoglobina ainda disponibiliza quantidades adequadas de oxigênio nos tecidos⁽¹⁾.

As doenças falciformes incluem a anemia falciforme, que representa o estado homozigoto para a hemoglobina S (SS), e as interações hemoglobina S- β talassemia (S/ β tal), hemoglobinopatia SC (CS), Hemoglobinopatia SD (SD) e hemoglobina S-persistência hereditária de hemoglobina fetal (S/PHHF)⁽¹⁾.

A anemia falciforme prevalece na raça negra, e sua maior incidência ocorre na África, embora seja também encontrada em países Mediterrâneos, principalmente Grécia, Itália e Israel, assim como na Arábia Saudita, Índia e nos negros americanos.

Hemoterapia em Anemia Falciforme

O caráter crônico da anemia, nos pacientes portadores de Anemia Falciforme, associado, à maior capacidade de liberação de oxigênio pela HbS, faz com que sejam pouco sintomáticos em relação à anemia e não necessitam de forma rotineira de transfusão de hemácias. Contudo, na vigência de complicações agudas, a queda adicional da hemoglobina pode precipitar descompensação da função cardíorrespiratória e colocar em risco a vida do paciente, tornando a transfusão de sangue um recurso terapêutico de grande importância⁽⁶⁾.

O suporte transfusional utilizando concentrado de hemácias é de vital importância no manejo de pacientes com anemia falciforme. O objetivo da hemoterapia nos pacientes com anemia falciforme é melhorar a capacidade de transportar oxigênio e o fluxo de sangue na microcirculação pelo aumento no nível de hematócrito e o decréscimo na porcentagem de hemoglobina S (HbS)⁽⁷⁾.

Um cuidado importante na transfusão de pacientes com anemia falciforme é evitar a excessiva viscosidade sanguínea. Portanto, as transfusões de concentrado de hemácias devem ser usadas com cautela, particularmente em pacientes com hematócritos superiores a 20% em crianças ou a 25% em adultos⁽⁸⁾.

Se por um lado as transfusões de CH são vitais para o tratamento de pacientes com anemia falciforme, por outro lado elas acarretam riscos de complicações imunológicas e não imunológicas⁽⁹⁾. Entre as reações imunológicas a aloimunização a antígenos eritrocitários é uma complicação relativamente comum em pacientes com anemia falciforme, e que pode acarretar aumento substancial da morbidade da doença⁽¹⁰⁾. As principais indicações de transfusões de concentrados

de hemácias em pacientes com anemia falciforme, e seus riscos imunológicos estão sumarizados no quadro abaixo⁽¹¹⁾.

Principais indicações e riscos imunológicos das transfusões de hemácias em pacientes com anemia falciforme.

Indicações clínicas		
Inquestionáveis	controversas	contra-indicadas
Anemia Aguda sintomática	complicações obstétricas	crises dolorosas não complicadas
Anemia crônica com insuficiência <i>de órgão</i>	úlceras maleolares refratárias	gravidez não complicada de órgão
Prevenção de recorrência de AVCI em crianças	Prevenção primária de AVCI em crianças	Pequenas cirurgias com anestesia local
Síndrome torácica aguda com hipóxia	crises dolorosas refratárias	Elevar o nível de hemoglobina.
Cirurgia com anestesia geral	Priapismo agudo	
Cirurgia ocular	Síndrome do quadrante superior com hiperbilirrubinemia	
Riscos imunológicos		
Aloimunização a antígenos eritrocitários, granulocitários e/ou plaquetários Insuficiência pulmonar aguda Reação hemolítica aguda Reação hemolítica tardia Reação alérgica		

Aloimunização eritrocitária em anemia falciforme

A probabilidade de formação de anticorpos eritrocitários depende, principalmente, da exposição a aloantígenos, da relativa imunogenicidade do aloantígeno e da resposta imunológica do indivíduo⁽¹²⁾. Além disso, é bem estabelecido que o desenvolvimento de anticorpos eritrocitários é relacionado ao número de transfusões, e que a frequência de aloimunização aumenta à medida que aumenta o número de transfusões. Também tem sido sugerido que os antígenos mais freqüentemente envolvidos na aloimunização de pacientes com anemia

falciforme são cujas freqüências diferem entre calcasóides e negróides, ou seja, o fator inter-racial também participa do fenômeno⁽¹⁰⁾.

Nos últimos anos, vários estudos internacionais têm referido que os pacientes com anemia falciforme têm uma taxa de aloimunização a antígenos eritrocitários relativamente elevada ^(10,13,14,15, 16) com uma prevalência que varia de 8 % em pacientes pediátricos a 50 % em adultos politransfundidos⁽¹⁷⁾. Os antígenos mais freqüentemente envolvidos na produção de aloanticorpos nesses pacientes estão relacionados aos sistemas eritrocitários Rh, Kell (K), Duffy (Fy), e Kidd (Jk) ⁽¹²⁾. Embora a maioria dos anticorpos seja dirigida contra antígenos do sistema Rh e Kell, mais de 50% dos pacientes aloimunizados desenvolvem múltiplos anticorpos dificultando, e algumas vezes impossibilitando, o encontro de unidades de CH compatíveis para transfusão^(18,10).

Os anticorpos eritrocitários recentemente formados, ou os estimulados por reação anamnésica após transfusão de CH, geralmente são da classe IgG, sensibilizam as hemácias transfundidas na circulação do paciente, e podem causar hemólise que podem ocorrer agudamente caracterizando a reação transfusional hemolítica aguda⁽¹⁹⁾, ou alguns dias após a transfusão caracterizando a reação transfusional hemolítica tardia (RTHT)⁽²⁰⁾.

A hemólise aguda que pode ocorrer após a transfusão de CH é geralmente associada à incompatibilidade pelo sistema ABO e a maioria das vezes relacionada a erros administrativos. Um estudo de relatos de mortes associadas a transfusão de hemocomponentes mostrou que em 51% das mortes ocorreu devido às conseqüências da hemólise aguda. Além disso, foi mostrado que a RTHT foi responsável por 10% dos óbitos⁽²⁰⁾.

Tem sido descrito que a prevalência de RTHT em pacientes com anemia falciforme varia de 0,7 a 4% ^(16,10). Numa análise retrospectiva de pacientes com anemia falciforme aproximadamente 30% dos pacientes desenvolveram aloanticorpos eritrocitários após transfusão, e 11% tiveram sinais de RTHT⁽⁹⁾. Contudo, mais freqüentemente, existe apenas evidência sorológica de aloimunização confirmada pela positividade do teste direto e/ou indireto da antiglobulina humana

(AGH) positivo, do que sinais e sintomas clínicos de hemólise, caracterizando o que tem sido denominado de reação transfusional tardia (RTHT)⁽²¹⁾.

Dados de uma série de pacientes que apresentaram RTHT mostraram que, em 83% dos casos, o hematócrito e a hemoglobina pós-transfusional caíram abaixo dos limites detectados antes da transfusão, sugerindo que as hemácias autólogas também tenham sido destruídas^(22,23). Recentemente, alguns autores sugeriram que este fenômeno, que chamaram de hemólise inocente pode ter sido a maior causa da crise de hemólise pós-transfusional observada em alguns pacientes. Apesar da discussão feita e ainda não concluída a respeito do(s) mecanismo(s) que leva(m) a este tipo de hemólise, esses autores chamaram a atenção para a importância de se reconhecer pacientes com anemia falciforme que apresentam piora da anemia, geralmente associada com dor aguda, após a transfusão de CH^(24,9).

A documentação de aloanticorpos eritrocitários em pacientes com anemia falciforme é fundamental na tentativa de prevenir ou mesmo minimizar os efeitos imunológicos associados às transfusões de concentrados de hemácias nesses pacientes. Entretanto, ainda não está devidamente esclarecida pela literatura especializada qual é a técnica imuno-hematológica para a detecção de aloanticorpos eritrocitários e, possivelmente, as técnicas sejam complementares.

REVISÃO DE LITERATURA

SISTEMAS DE GRUPOS SANGÜÍNEOS:

A denominação grupo sanguíneo se restringe aos antígenos da superfície celular e geralmente aos antígenos eritrocitários. Os antígenos de grupos sanguíneos são resultantes de variabilidade genética que ocorre nos componentes da membrana celular que podem ser proteínas, glicoproteínas ou glicolídeos. Os aloanticorpos que reconhecem os antígenos de grupos sanguíneos são de ocorrência natural, provavelmente como resultado da estimulação por antígenos promíscuos presentes em abundância no ambiente ou devido à aloimunização em decorrência de transfusão ou gravidez. Nem todo polimorfismo observado nas

moléculas de superfície dos eritrócitos constitui grupo sanguíneo, sendo por definição necessária a existência do anticorpo que o define⁽²⁵⁾.

Atualmente, mais de 250 antígenos de grupos sanguíneos são reconhecidos. De acordo com a Sociedade Internacional de Transfusão Sanguínea, os grupos sanguíneos são classificados em 25 sistemas. Cada sistema de grupo sanguíneo consiste de um ou mais antígenos codificados. Cada sistema é distinto geneticamente de qualquer outro sistema⁽²⁵⁾.

SISTEMA ABO

É o mais importante e mais conhecido sistema de grupos sanguíneos. Os anticorpos ABO são de ocorrência natural e regular, contra os antígenos ausentes nas hemácias do próprio indivíduo. São de classe IgM e IgG, ativos à 37°C, sendo capazes de fixar e ativar o Complemento, provocando hemólises intravasculares severas em casos de incompatibilidades transfusionais.

Os fenótipos ABO eritrocitários são definidos pelo antígeno presente na membrana globular e pelo anticorpo sérico natural correspondente ao antígeno ausente^(25,26).

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO RH

O sistema Rh apresenta um alto polimorfismo genético, levando a modificações dos antígenos correntes cujos principais são: D, C, c, E, e, C^w.

Os anticorpos anti-Rh resultam, praticamente, todos, de uma aloimunização por transfusão sanguínea ou por gravidez, pertencendo quase sempre à classe IgG (IgG₁ ou IgG₃).

A imunização por transfusão é a via mais freqüente contra antígeno Rh. No caso específico do antígeno D, estima-se em 80% a probabilidade de imunização após uma transfusão incompatível.

Aloimunização contra os antígenos E, c, e, C são também observadas em pacientes politransfundidos, mas com uma freqüência inferior.

Do ponto de vista prático, a freqüência dos anticorpos Rh em ordem decrescente é a seguinte: anti-D, anti-E, anti-c, anti-e, anti-C^(25,27).

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO LEWIS:

Antígeno

Os antígenos Lewis (Le^a e Le^b) não são sintetizados pelo eritrócito, são incorporados à estrutura da hemácia. 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.

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.

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.

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 implicado 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 ^(25,26).

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO MNSs:

Antígenos

Os antígenos MNSs estão bem desenvolvidos ao nascimento. Estão associados às sialoglicoproteínas da membrana eritrocitária, chamadas glicoforinas A e B, as quais são susceptíveis de clivagem por enzimas proteolíticas em posições variadas. Os antígenos MNS são removidos pelo tratamento enzimático.

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

Anticorpos

Anti-M e anti-N: são, via de regra, naturais e irregulares. São da classe IgM (às vezes IgG) ativos à baixas temperaturas (sobretudo a 4°C) e pH acidificado de 6,5. Estes anticorpos mostram acentuado efeito de dose. Aloanticorpos 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.

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 têm maior probabilidade de apresentar significado clínico. Eles podem fixar o complemento e foram implicados com reações hemolíticas graves com hemoglobinúria. Também provocam doença hemolítica do recém-nascido^(25,28).

SISTEMA DE GRUPO SANGÜÍNEO KELL:

Antígenos

O antígeno Kell (K), 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 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 (cellano) em granulócitos, linfócitos, monócitos e plaquetas.

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.

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 reativos 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^(25,29).

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO DUFFY

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.

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.

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 (às 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.

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 ^(25,30).

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO KIDD:

Antígenos

Jk^a e Jk^b são antígenos eritrocitários comuns. Existem algumas diferenças raciais notáveis na freqüência antigênica: 77% dos brancos e 91% dos negros são Jk^a (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 72% 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.

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 freqüentemente 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 freqüentemente 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 ^(25,30).

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO P

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 P_1 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 cols. descobriram que fetos jovens eram mais freqüentes e mais fortemente P_1+ 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.

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 P2. 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-Tja. Ele causa reações hemolíticas transfusionais graves e, ocasionalmente, pode provocar doença hemolítica do recém-nascido. Existe uma forte associação entre anti-Tja e abortamento espontâneo em mulheres $P^{(25,28)}$.

SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO LUTHERAN

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.

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 regem 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 classes 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 completo. São imunoglobulinas das classes IgG (frequentemente) IgG4, IgM e IgA ^(25,31)

2. OBJETIVOS

1. Determinar a ^{prevalência} incidência de aloanticorpos eritrocitários em pacientes falcêmicos que receberam pelo menos uma transfusão de concentrado de hemácias.
2. Identificar os aloanticorpos eritrocitários detectados.
3. Determinar os aloanticorpos eritrocitários mais freqüentes.
4. Fenotipar as hemácias dos pacientes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 100 pacientes portadores de anemia falciforme acompanhados no ambulatório da especialidade do Hospital Infantil Albert Sabin no período de janeiro a maio de 2005.

O critério para o diagnóstico de anemia falciforme foi baseado no estudo familiar, clínico e nos exames laboratoriais incluindo a eletroforese de hemoglobina. Foram incluídos para o estudo pacientes com anemia falciforme (SS), independente do sexo, que tinham sido transfundidos previamente com pelo menos um concentrado de hemácias.

As amostras de sangue foram colhidas pela técnica convencional de punção venosa, sendo transferidas para tubos de hemólise com EDTA e tubos sem anticoagulante.

O soro/plasma/concentrado de hemácias foram obtidos após centrifugação durante 10 minutos na centrífuga para separação de soro/plasma/hemácias (Immunufuge II – Baxter) a 3.400 rpm.

O soro e/ou plasma, foram utilizados para a realização da Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI) e identificação dos mesmos caso a PAI fosse positiva.

O concentrado de hemácias foi utilizado para os testes ABO/Rh, fenotipagens de outros sistemas de grupo sanguíneo, como Kell, Duffy, Kidd, MNSs, P1, Lewis e Lutheran.

Materiais Utilizados

- ID - Cartão "Liss/Coombs" com 6 microtubos contendo reagente poliespecífico AGH (anti-IgG de coelho e anti-C3d monoclonal da linhagem celular C139-9) suspenso no gel.
- ID – Cartão "Rh – subgrupos + C^w + K" para determinação de fenótipos Rh com C^w, Kell (C, C^w, c, E, e, K).
- ID-DiaCell I-II – para Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI).
- ID-DiaPanel – Para identificação de anticorpos irregulares "Liss/Coombs".

- ID-DiaPanel P – para identificação de anticorpos irregulares em cartelas ID-“NaCl/Enzima”. Este painel exacerba os anticorpos exceto os dos sistemas MNSS, Fy^a e Fy^b que são destruídos.
- ID-Cartão “Perfil I” para determinação dos antígenos P1, Le^a, Le^b, Lu^a, Lu^b, ctl.
- ID-Cartão “Perfil II” para determinação dos antígenos k-cellano, Kp^a, Kp^b, Jk^a, Jk^b, ctl.
- ID “ABO/Rh”
- A-B-AB-D-CDE-ctl – para determinação dos grupos sanguíneos ABO/Rh.
- ID-Cartão “Perfil III” para determinação dos antígenos M, N, S, s, Fy^a, Fy^b.

Reativos Adicionais Necessários

- ID-Diluent 1: solução de bromelina para preparo de suspensões de hemácias.
- ID-Diluent 2: solução de baixa força iônica (LISS modificado) para o preparo de suspensões de hemácias.
- ID-Anti-soros: M,N,S,s,Fy^a, Fy^b.

Outros Materiais Necessários

- ID-Pipetas automáticas: 10, 25 e 50 µl.
- ID-Ponteiras.
- ID-Tubos de hemólise para suspensão de hemácias.
- D-Centrífugas: , 12 ou 24 rotações e tempos fixos.

Procedimentos

- Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI): ID-DiaCell I e II

Técnica:

1. Identificar cartão ID “Liss/Coombs”, com o nome do paciente. Retirar o lacre.
2. Pipetar 50 µl de ID-DiaCell I e II em cada microtubo.
3. Adicionar 25 µl do soro ou plasma do paciente.

4. Incubar durante 15 minutos a 37°C.
5. Centrifugar durante 10 minutos.
6. Ler e anotar os resultados

Interpretação dos resultados

POSITIVO: células aglutinadas formando uma linha vermelha na superfície do gel ou células dispersas ao longo do gel.

NEGATIVO: botão compacto de células no fundo do microtubo.

Reações positivas (1+ a 4+) indicam que as hemácias do paciente estão sensibilizadas com IgG e/ou C3d.

Observação: aglutinação no microtubo I e/ou II: PAI positiva.

Identificação de Anticorpos Irregulares:

DiaPanel

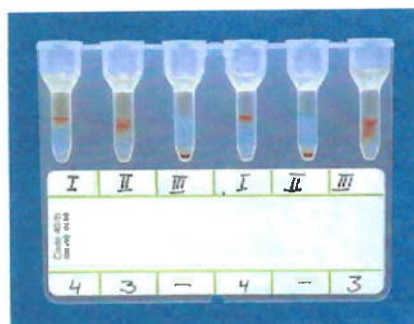
ID-Cartão "Liss/Coombs"

1. Identificar o cartão com o nome do paciente e numerar de 1 a 11.
2. Colocar em cada microtubo 50 µl do DiaPanel de 1 a 11.
3. Colocar em todos os microtubos 25 µl do soro ou plasma do paciente
4. Incubar durante 15 minutos a 37°C
5. Centrifugar durante 10 minutos.
6. Proceder a leitura em antigrama que acompanha o Painel.

Interpretação dos resultados

De acordo com os antígenos correspondentes mostrados no antigrama em grau de positividade de 1+ a 4+.





Procedimento para determinação dos antígenos do ID-Cartão “perfil III”: M, N, S, s, Fy^a, Fy^b.

Técnica – Preparo da amostra de sangue: preparar a suspensão de hemácias a 0,8 ± 1% em ID-Diluyente 2:

1. Colocar em tubo de hemólise 1 ml de diluyente 2.
2. Pipetar 10 µl de concentrado de hemácias.
3. Homogeneizar. A suspensão deve ser usada imediatamente.
4. Identificar o cartão M, N, S,s,Fy^a, Fy^b.
5. Pipetar 50 µl da suspensão de hemácias a 1% em todos os microtubos.
6. Em seguida colocar com o próprio conta gotas, 50 µl dos anti-soros em cada microtubo correspondente da cartela.
7. Deixar a cartela durante 10 minutos à temperatura ambiente (18-25°C).
8. Centrifugar durante 10 minutos.
9. A leitura é feita como descrito para PAI.

4. RESULTADOS

Estudamos 100 pacientes portadores de anemia falciforme (SS), todos já haviam recebido pelo menos uma transfusão de concentrado de hemácias. A idade variou de 1 a 21 anos (média de 10,2). Destes, 54 (54%) eram do sexo masculino e 46 (46%) do sexo feminino (Tabela I, gráfico 1).

A população foi constituída de 34 (34%) pacientes do grupo sanguíneo A+, 1(1%) do grupo sanguíneo A-, 11 (11%) do grupo sanguíneo B+, 0 (0%) do grupo sanguíneo B-, 2 (2%) do grupo sanguíneo AB+, 0 (0%) do grupo sanguíneo AB-, 48 (48%) do grupo sanguíneo O+ e 4 (4%) do grupo sanguíneo O- (Tabela II). Com relação à etnia, 32 (32%) foram classificados como sendo de cor branca, 51 (51%) como sendo de cor parda e 17 (17%) como sendo de cor negra (Tabela III).

Nos pacientes estudados o número de transfusões variou de 01 a 31. Sessenta e nove pacientes (69%) receberam até 6 transfusões e 31 pacientes (31%) receberam acima de 6 transfusões (gráfico 2).

Na avaliação da prevalência de aloanticorpos eritrocitários dos 100 pacientes com anemia falciforme, utilizando-se técnicas imuno-hematológicas em gel centrifugação, foi constatada a presença de 12 pacientes aloimunizados e identificados 14 aloanticorpos eritrocitários, caracterizando uma taxa de aloimunização de 12%. Em 2 pacientes não foi possível a caracterização do aloanticorpo. Dos 12 pacientes com aloanticorpos eritrocitários, 9 (75%) eram do sexo masculino e 3 (25%) do sexo feminino, com uma proporção masculino/feminino de 3. Os aloanticorpos eram predominantemente dirigidos contra antígenos do sistema Rh (8/14 = 57%) e possuíam as seguintes especificidades: 3 anti-E, 3 anti-c, 2 anti-C, 1 anti-Fy^a, 2 anti-Fy^b, 2 anti-k, 1 anti-S e 2 pacientes com anticorpos não identificados (Tabela IV).

Dos 12 pacientes aloimunizados, 7 (58%) havia recebido até 6 transfusões de concentrado de hemácias. O restante 5 (42%) recebeu até 18 transfusões. (Gráfico 3)

Tabela 1 – Distribuição dos pacientes de acordo com o sexo:

Sexo	Número	Percentagem (%)
Masculino	54	54
Feminino	46	46
Total	100	100

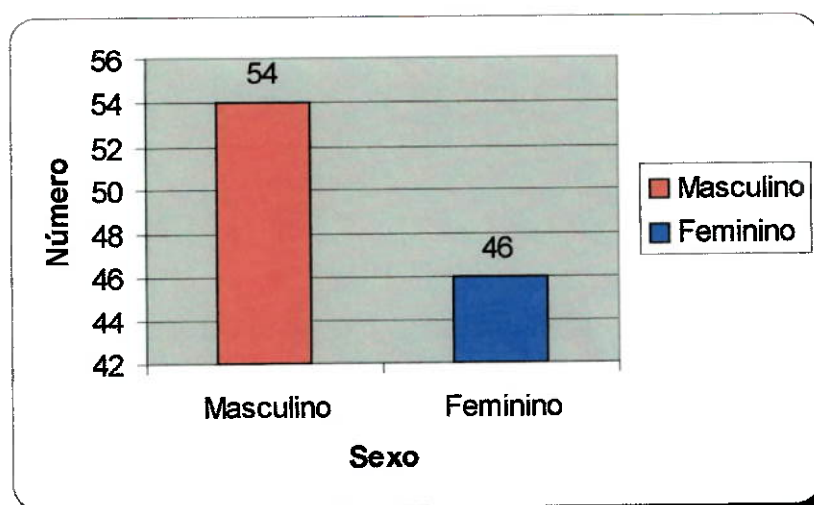


Gráfico 1 – Distribuição dos pacientes de acordo com o sexo.

Tabela 2 – Distribuição dos pacientes transfundidos, segundo o grupo sanguíneo e fator Rh.

Grupo Sanguíneo	Rh positivo	Rh negativo	Total
A	34 (34%)	1 (1%)	35 (35%)
B	11 (11%)	0	11 (11%)
AB	2 (2%)	0	2 (2%)
O	48 (48%)	4 (4%)	52 (52%)
Total	95 (95%)	5 (5%)	100 (100%)

Tabela 3 – Distribuição dos pacientes segundo a etnia.

Cor	Número
Branca	32 (32%)
Parda	51 (51%)
Negra	17 (17%)
Total	100 (100%)

Tabela 4 – Prevalência dos 14 aloanticorpos eritrocitários detectados através da técnica em gel centrifugação em pacientes com anemia falciforme.

Paciente	Idade (anos)	Sexo (M/F)	Número de transfusões	Anticorpo
AJFA	10 a	M	4	anti-Fya,-K
JGG	9 a	M	3	ac. não identificado
FCSS	19 a	M	18	anti-Fyb
FLOS	10 a	F	8	anti-E,-S
FCAS	11 a	M	3	ac. não identificado
LPS	7 a	M	3	anti-E
ILL	18 a	M	2	anti-K
MLF	9 a	F	3	anti-c
MJM	17 a	F	10	anti-C
EJF	18 a	M	10	anti-c
RFS	11 a	M	6	anti-C,-K
JAOS	9a	M	8	anti-c,-E

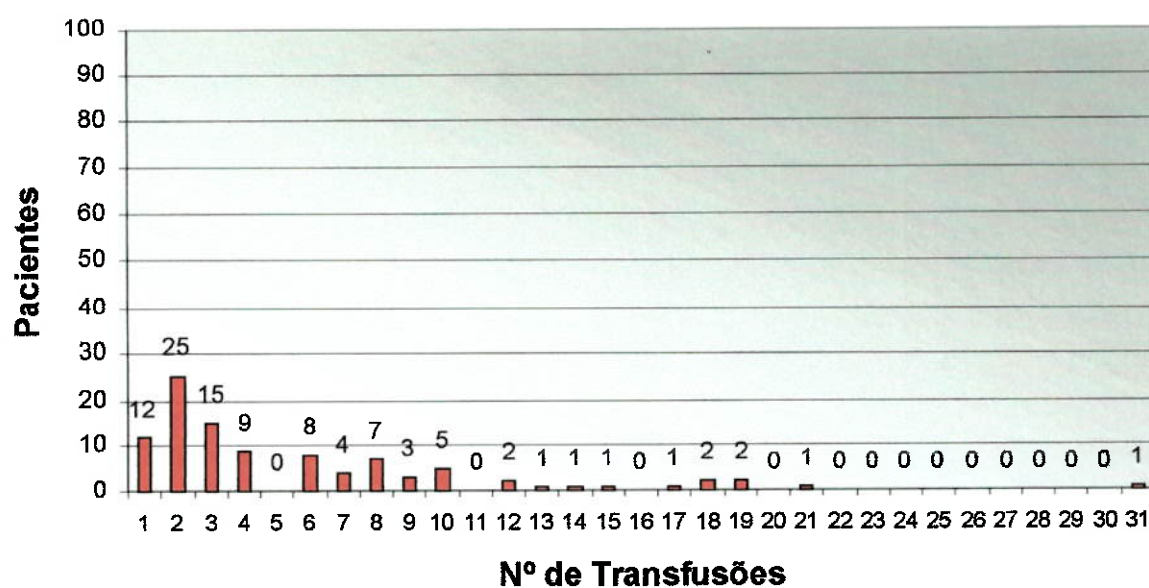


Gráfico 2 – Pacientes x Número de transfusões

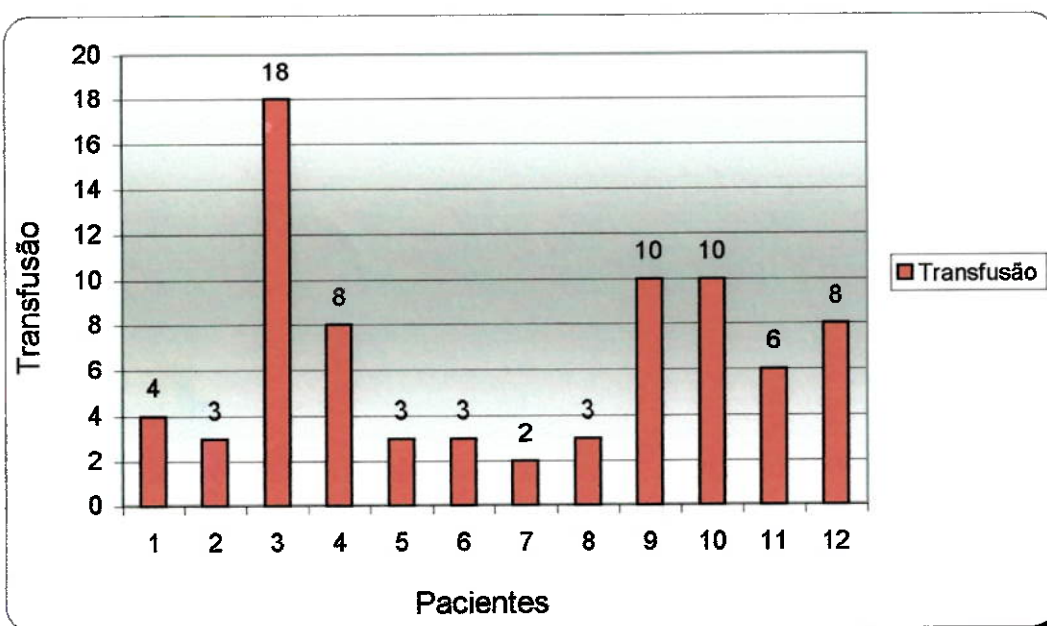


Gráfico 3 – Pacientes aloimunizados x número de transfusões

5. DISCUSSÃO

Para o tratamento da anemia e de episódios de dor que acomete pacientes com anemia falciforme geralmente não há a necessidade de transfusões de concentrado de hemácias. As transfusões são indicadas em complicações agudas da doença ou para prevenir certas complicações que podem ocorrer na evolução dos pacientes. Transfusões de sangue através de CH podem ser usadas em situações específicas em pacientes com anemia falciforme, como visto anteriormente. No entanto, o número de transfusões deveria ser limitado, uma vez que elas acarretam riscos de complicações imunológicas e não imunológicas⁽⁹⁾. Assim, para os receptores de hemocomponentes, as complicações imunológicas relacionadas à transfusão de CH podem ser fatais, uma vez que podem acarretar quadros hemolíticos graves⁽²⁰⁾.

A aloimunização eritrocitária em pacientes com anemia falciforme é uma complicação grave, relativamente comum, e que pode aumentar substancialmente a morbidade da doença, uma vez que pode dificultar o encontro de sangue compatível quando há necessidade de transfusões, e provocar reações hemolíticas agudas e tardias⁽¹⁰⁾.

Avaliando a prevalência de aloanticorpos em 100 pacientes com anemia falciforme previamente transfundidos, utilizando a técnica imuno-hematológica em gel centrifugação para pesquisa de anticorpos irregulares, encontramos 12 pacientes aloimunizados com 14 aloanticorpos sendo 2 deles com aloanticorpos não identificados, caracterizando uma taxa de prevalência de aloimunização eritrocitária de 12%. A literatura revela que a prevalência de aloimunização eritrocitária em pacientes com anemia falciforme é da ordem de 20%^(13,14,15,16).

Segundo MOLISSON et al., 1987, os antígenos mais frequentemente envolvidos na aloimunização de pacientes com anemia falciforme estão relacionados aos sistemas Rh, Kell, Duffy e Kidd. Este fato foi confirmado no presente estudo, uma vez que dos 14 aloanticorpos detectados, 8 (57%) eram dirigidos contra antígenos do sistema Rh (3 anti-E, 3 anti-c, 2 anti-C), e 6 (43%) eram relacionados aos sistemas Kell, Duffy, Kidd ou MNSs.

A aloimunização eritrocitária parece aumentar com o número de unidades de CH transfundidas⁽¹⁷⁾. Apesar do número pequeno de pacientes analisados, não foi observada diferença entre a taxa de aloimunização e o número de transfusões por pacientes, sugerindo que não pode existir uma correlação perfeita entre a taxa de aloimunização e o número de unidades de CH transfundidas.

Os anticorpos eritrocitários desenvolvidos após transfusão de CH, geralmente são da classe IgG, sensibilizam as hemácias incompatíveis transfundidas na circulação do paciente, e podem causar hemólise de modo agudo ou tardio⁽¹⁹⁾.

A incidência de RTHT em pacientes com doença falciforme varia de 4% a 22%⁽³²⁾. Foi descrita uma RTHT desencadeada por um aloanticorpo anti-c em uma paciente com anemia falciforme que estava recebendo transfusões de CH como preparo pré operatório para colecistectomia. Sete dias após a transfusão de CH a paciente apresentou anemia, icterícia e queixa de dor, simulando uma crise vaso-oclusiva. Com adequada hidratação, analgesia e transfusões compatíveis a paciente recebeu alta em bom estado geral⁽³³⁾.

Tem sido descrito, que cerca de 30% dos aloanticorpos eritrocitários circulantes potencialmente hemolíticos da classe IgG, tornam-se indetectáveis através dos testes rotineiros de compatibilidade com o decorrer dos anos, acarretando um aumento no risco na ocorrência de reação transfusional hemolítica, principalmente da RTHT^(34,18).

Em um estudo, os autores observaram que, após um período de 10 a 30 meses da primeira identificação, 25% dos aloanticorpos eritrocitários tornaram-se indetectáveis⁽³⁵⁾. Este achado confirma o risco potencial de RTHT que esses pacientes apresentam caso necessitem de transfusão de CH, uma vez que o título desses aloanticorpos podem aumentar rapidamente após estímulos com novas transfusões imunologicamente incompatíveis. Desse modo, é possível estabelecer que para prevenir RTHT em pacientes com anemia falciforme, a caracterização de aloanticorpos eritrocitários é de fundamental importância e, uma vez identificados, os dados devem ficar registrados para orientar futuras transfusões de CH.

A determinação da fenotipagem dos grupos sanguíneos ABO/Rh e outros sistemas (Kell, Duffy, Kidd, Lewis, P, MNS e Lutheran) é importante na medicina

transfusional principalmente em pacientes politransfundidos para prevenir a aloimunização a antígenos eritrocitários e reduzir reações transfusionais hemolíticas.

No nosso trabalho, em 88% dos pacientes não foi detectado aloanticorpos eritrocitários pela técnica em gel centrifugação, embora a técnica adotada seja uma das mais sensíveis.

Nos últimos anos, tem sido muito discutido qual técnica imuno-hematológica deve ser a escolhida para documentar a presença de aloanticorpos eritrocitários⁽³⁶⁾. Segundo alguns autores, não existe uma única técnica capaz de detectar todos os aloanticorpos eritrocitários e, para se obter segurança absoluta, deveria ser usada uma combinação de várias outras técnicas. Entretanto, esta conduta aumentaria significativamente os custos e a carga de trabalho, afetando consideravelmente a rotina do laboratório de imuno-hematologia.

6. CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos no estudo realizado, pode-se concluir que:

- A taxa de prevalência de aloanticorpos eritrocitários detectada em pacientes com anemia falciforme foi de 12%.
- 57% dos aloanticorpos eritrocitários observados nos pacientes com anemia falciforme estavam relacionados ao sistema Rh.
- Não houve relação com o número de transfusões e aloimunização eritrocitária.
- É importante a fenotipagem para os outros sistemas de grupo sanguíneo (Kell, Duffy, Kidd, Lewis, P, MNS e Lutheran) nos pacientes com anemia falciforme, além dos sistemas ABO/Rh.
- A transfusão deve respeitar a fenotipagem, principalmente em pacientes politransfundidos.
- Pacientes c/ anemia falciforme apresentam alto risco de aloimunização.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COSTA, F. F. Anemia falciforme. In: ZAGO, M. A. (Coord.). **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 30, p. 290 – 293.
2. COSTA, F. F. Síndrome hemolítica. Fisiopatologia e clínica. Classificação. In: ZAGO, M. A. (Coord.). **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 25, p. 242.
3. NAOUM, P. C. **Hemoglobinopatias e talassemias**. São Paulo: Sarvier, 2001. 171p, cap. 4, p. 16.
4. SILVA, P. H. **A Molécula da hemoglobina: interpretação laboratorial do eritograma**. São Paulo: Lovise, 1979. cap. 5, p. 45.
5. LORENZI, T. F. Anemias. In: _____. **Manual de hematologia: propedêutica e clínica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2003. cap. 3, p. 254.
6. NAUFEL, C. C. S.; BRAGA, J. A. P.; CANÇADO, R. D.; LANGHI JUNIOR, D. M.; BORDIN, J. O. Reação transfusional hiper-hemolítica em pacientes portadores de anemia falciforme; relato de dois casos. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 24, n. 4, p. 292-299, out.-dez. 2002.
7. WAYNE, A. S.; KEVY, S. V.; NATHAN, D. G. Transfusion management of sickle cell disease, **Blood**, v. 81, p. 1109-1123, 1993.
8. CHARACHE, S. Problems in transfusion therapy. **N. Engl. J. Med.**, v. 322, p. 1666-1668, 1990.
9. PETZ, L. D.; CALHOUN, L.; SHULMAN, I. A.; JOHNSON, C.; HERRON, R. M. The sickle cell hemolytic reaction syndrome. **Transfusion**, v. 37, p. 382-392, 1997.
10. VICHINSKY, E. P.; EARLES, A.; JOHNSON, R. A.; HOAG, M. S.; WILLIAMS, A.; LUBIN, B. Alloimmunization in sickle cell anemia and transfusion rationally unmatched blood. **N. Engl. J. Med.**, v. 322, p. 1617-1621, 1990.
11. STEINBERG, M. H. Management of sickle cell disease. **N. Engl. J. Med**, **340(13)**:1021-30, 1999.
12. MOLLISON, P. L.; ENGLEFREIT, C. P.; CONTRERAS, M. Red cell antigens and antibodies and their interactions. In: _____. **Blood transfusion in clinical medicine**. 8th ed. Oxford, UK: Blackwell, 1997. p.194.
13. ORLINA, A. R.; UNGER, P. J.; KOSHY, M. Post-transfusion alloimmunization in patients with sickle cell disease. **Am. J. Hematol.**, v. 5, p. 101-106, 1978.

14. COLES, S. M.; KLEIN, H. G.; HOLLAND, P. V. Alloimmunization in two multitransfused patient populations. **Transfusion**, v. 21, p. 462-466, 1981.
15. DAVIES, S. C.; MCWILLIAM, A. C.; HEWITT, P. E.; DEVENISH, A.; BROZOVIC, M. Red cell alloimmunization in sickle cell disease. **Br. J. Haematol.**, v. 63, p. 241-245, 1986.
16. COX, J. V.; STEANE, E.; CUNNINGHAM, G.; FRENKEL, E. P. Risk of alloimmunization and delayed hemolytic reactions in patients with sickle cell disease. **Arch. Inter. Med.**, v. 148, p. 2485-2488, 1988.
17. REISNER, E. G.; KOSTYU, D. D.; PHILLIPS, G.; WALKER, C.; DAWSON, D. V. Alloantibody responses in multiply transfused sickle cell patients. **Tissue Antig.**, v. 30, p. 161-166, 1987.
18. ROSSE, W. F.; GALLANGER, D.; KINNEY, T. R.; CASTRO, O.; DOSIK, H.; MOOHR, J.; WANG, W.; LEVY, P. S. The cooperative study of Sickle Cell Disease. Transfusion and alloimmunization in sickle cell disease. **Blood**, v. 76, p. 1431-1437, 1990.
19. CAPON, S. M.; GOLDFINGER, D. Acute hemolytic transfusion reaction, a paradigm of systemic inflammatory response: new insight into pathophysiology and treatment. **Transfusion**, v. 35, p. 513-520, 1995.
20. SAZAMA, K. reports of 355 transfusion-associated deaths: 1976 through 1985. **Transfusion**, v. 30, p. 583-590, 1990.
21. NESS, P. M.; SHIREY, R. S.; THOMAS, S. K.; BICK, S. A. The differentiation of delayed serologic and delayed haemolytic transfusion reactions: Incidence, long-term serologic findings, and clinical significance. **Transfusion**, v. 30, p. 688-693, 1990.
22. CULLIS, J. O.; WIN, N.; DUDLEY, J. M.; KAYE, T. Post-transfusion hyperhaemolysis in a patient with sickle cell disease: use of steroids and intravenous immunoglobulin to prevent further red cell destruction. **Vox Sang.**, v. 69, p. 355-357, 1995.
23. SYED, S. K.; SEARS, D. A.; WERCH, J. B. Case reports: delayed haemolytic transfusion reaction in sickle cell disease. **Am. J. Med. Sci.**, v. 312, p. 175-181, 1996.
24. KING, K. E.; SHIREY, R. S.; LANKIEWICZ, M. W.; YOUNG-RAMSARAN, J.; NESS, P. M. Delayed hemolytic transfusion reactions in sickle cell disease: simultaneous destruction of recipients' red cells. **Transfusion**, v. 37, p. 376-381, 1997.

25. COVAS, D. T. Antígenos eritrocitários, leucocitários e plaquetários. In: ZAGO, M. A. (Coord.). **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 83, p. 952-965.
26. MELO, L.; SANTOS, J. A. Sistemas ABO, Hh e Lewis. In: **IMUNOHEMATOLOGIA eritrocitária**. Belo Horizonte: IEA, 1996. cap. 4, p. 85-102.
27. MELO, L.; SANTOS, J. A. Sistema Rh. In: **IMUNOHEMATOLOGIA eritrocitária**. Belo Horizonte: IEA, 1996. cap. 5, p. 109-128.
28. CASTILHO, S. L. Sistemas MNSs, P e antígenos I e i. In: **IMUNOHEMATOLOGIA eritrocitária**. Belo Horizonte: IEA, 1996. cap. 8, p. 173-183.
29. BORDIN, J. O.; MOREIRA Jr, G. Sistemas Kell e Kx. In: **IMUNOHEMATOLOGIA eritrocitária**. Belo Horizonte: IEA, 1996. cap. 6, p. 137-143.
30. CASTILHO, L. M.; MELO, L.; SANTOS, J. A. Sistemas Duffy e Kidd. In: **IMUNOHEMATOLOGIA eritrocitária**. Belo Horizonte: IEA, 1996. cap. 7, p. 153-165.
31. CALHOUN, L. Outros sistemas importantes de grupo sanguíneo. In: HARMENING, D.; CALHOUN, L.; POLESKI, H. F. (Ed.) **Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão**. 2. ed. São Paulo: Revinter. 1992. p. 164-167.
32. GARRITY, G. Severe reactions associated with transfusion of patients with sickle cell disease. **Transfusion**, v. 37, p. 357-361, 1990.
33. FABRON-JUNIOR, A.; MOREIRA JR, G.; BORDIN, J. O. Delayed hemolytic transfusion reaction presenting as a sickle cell crisis in a patient with sickle cell anemia. **São Paulo Med. J.**, v. 117, n. 1, p. 38-39, 1999.
34. RANSEY, G.; LARSON, P. Loss of red cell alloantibodies over time. **Transfusion**, v. 28, p. 162-165, 1998.
35. SCHONEWILLE, H.; HAAK, H. L.; VAN ZIJL, A. M. RBC antibody persistence. **Transfusion**, v. 40, p. 1127-1131, 2000.
36. ENGELFRIET, C. P.; REESINK, H. W. What is the best technique for the detection of red cell alloantibodies?., **Vox Sang.**, v. 69, p. 292-300, 1995.