CENTRO UNIVERSITÁRIO UNA

BIOMEDICINA

TAMIRES CRISTINA PIMENTEL SILVA

THAMIRES ADRIANE COSTA FERREIRA

A importância da fenotipagem eritrocitária na prevenção da aloimunização.

BELO HORIZONTE

2021

TAMIRES CRISTINA PIMENTEL SILVA
THAMIRES ADRIANE COSTA FERREIRA

A importância da fenotipagem eritrocitária na prevenção da aloimunização.

Trabalho de conclusão de curso a ser apresentado como requisito parcial para obtenção de grau em Bacharel de Biomedicina

Orientador Professor: Dr. Leandro Gonzaga de Oliveira

BELO HORIZONTE
2021

RESUMO

A aloimunização eritrocitária ocorre quando um receptor produz anticorpos contra antígenos das hemácias de um doador. Em um estudo prospectivo, autores descreveram que quanto maior o número de transfusões feitas, mais o organismo tende a produzir anticorpos. As transfusões podem levar á complicações imunológicas e a aloimunização. Um dos riscos da transfusão sanguínea é a formação dos anticorpos anti-eritrocitários que geralmente podem ocorrer, devido aos diferentes fatores genéticos existentes de um doador para o receptor. Isso resulta, muitas vezes, em dificuldades para encontrar sangue compatível, levando a um aumento de possíveis complicações e riscos de reações hemolíticas tardias. Com isso, tem aumentado o número de pacientes aloimunizados, e consequentemente a demanda de transfusões sanguíneas com hemocomponentes especiais, como o Concentrado de Hemácia Fenotipado. Este trabalho tem como objetivo demonstrar a importância da Fenotipagem Eritrocitária para a prevenção da aloimunização. A metodologia utilizada foi uma revisão de literatura com busca nas plataformas de pesquisa, Scielo, Pubmed, Google Acadêmico. Os artigos foram pesquisados com data de publicação após 2005 e palavras-chave como: Blood Transfusion, Aloimunização, Transfusão de Sangue, Fenotipagem Eritrocitária, Imuno-hematologia, Erythrocyte Phenotyping, Immunohematology e Alloimmunization, Grupos Sanguíneos, Blood Groups. Adotamos os seguintes critérios de inclusão: artigos que abordam as variáveis em estudo, artigos em inglês e português, revisões bibliográficas, publicações em revistas da área, livros sobre o tema e critérios de exclusão: relatos de casos, artigos de opinião, comentários ou cartas, estudos e/ou artigos em animais.

Palavras-chave: Aloimunização; Fenotipagem eritrocitária; Transfusão sanguínea.

ABSTRACT

Erythrocyte alloimmunization occurs when a recipient produces antibodies against red blood cell antigens from a donor. In a prospective study, authors described that the greater the number of transfusions performed, the more the body tends to produce antibodies. Transfusions can lead to immunological complications and alloimmunization. One of the risks of blood transfusion is the formation of anti-erythrocyte antibodies that can usually occur, due to the different genetic factors that exist from a donor to the recipient. This often results in difficulties in finding compatible blood, leading to an increase in possible complications and risks of late hemolytic reactions. As a result, the number of alloimmunized patients has increased, and consequently the demand for blood transfusions with special blood components, such as the Phenotyped Red Blood Cell Concentrate. This work aims to demonstrate the importance of erythrocyte phenotyping for the prevention of alloimmunization. The methodology used was a literature review with search in the research platforms, Scielo, Pubmed, Google Scholar. The articles were searched with a publication date after 2005 and keywords such as: Blood Transfusion, Alloimmunization, Blood Transfusion, Erythrocyte Phenotyping, Immunohematology, Erythrocyte Phenotyping, Immunohematology and Alloimmunization, Blood Groups, Blood Groups. Adopting the following inclusion criteria: articles that address the variables under study, articles in English and Portuguese, bibliographic reviews, publications in magazines in the area, books on the subject and exclusion criteria: case reports, opinion articles, comments or letters, studies and / or articles on animals.

Keywords: Alloimmunization; Erythrocyte phenotyping; Blood transfusion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Antígenos do Sistema ABO - A) Antígeno H; B) antígeno A; C) antígeno B. 14
Figura 2 - Esquema de compatibilidade sanguínea para doação e transfusão de sangue. ... 15
Figura 3 - Grupos sanguíneos e seus anticorpos..... 16
Figura 4 - Disposição da estrutura da proteína Rh na membrana da hemácia 18

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS 4
1 INTRODUÇÃO 7
1.1 TRANSFUSÃO DE CONCENTRADO DE HEMÁCIA EM HEMORRAGIAS AGUDAS: 7
1.2 EM HEMORRAGIAS AGUDAS 8
1.3 TRANSFUSÃO DE CONCENTRADO DE HEMÁCIA EM ANEMIAS: 8
2 OBJETIVO 10
2.1 OBJETIVO GERAL 10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 10
3 REFERENCIAL TEÓRICO 10
4 GRUPOS SANGUÍNEOS 12
5 SISTEMA ABO 13
6 SISTEMA RH 17
7 SISTEMA KELL 20
8 SISTEMA DUFFY 21
9 SISTEMAS KIDD 22
10 SISTEMA LEWIS 23
11 SISTEMA MNS 24
12 SISTEMA DIEGO 25
13 FENOTIPAGM ERITROCITÁRIA 27
14 TÉCNICA EM GEL BIORAD DIAMED - CARTÃO ID-ANTIGEN PROFILE I, II e III 27
15 TÉCNICAS 28
15.1 ID-ANTIGEN PROFILE I e II 28
15.2 ID-ANTIGEN PROFILE III 29

15.3 DIACLON RH-SUBGRUPOS (C, C, E, E) + CW + K.....30

15.4 TÉCNICA EM TUBO BIORAD DIAMED - SOROS COM ANTICORPOS MONOCLONAIS.....30

16 ALOIMUNIZAÇÃO.....32

17 METODOLOGIA.....33

18 DISCUSSÃO.....34

19 CONSIDERAÇÕES FINAIS 35

REFERÊNCIAS 36

1 INTRODUÇÃO

Conforme (ZAGO, *et. al,* 2014) a terapêutica transfusional é baseada na reposição de um tipo de hemocomponente ou hemoderivado, que esteja em quantidade inadequada no paciente. Os hemocomponentes e hemoderivados são preparados a partir da centrifugação de um sangue total ou doação por aférese. A centrifugação do sangue total da origem aos seguintes hemocoponentes: concentrado de hemácias (CH), concentrado de plaquetas (CP) e plasma fresco congelado (PFC).

A transfusão sanguínea visa principalmente restaurar ou manter a capacidade de transporte de oxigênio, o volume sanguíneo e a hemostasia. Além disso, a indicação de transfusão sanguínea também depende das condições clínicas e físicas do paciente e não somente dos resultados laboratoriais. Informações conforme (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Já para (JÚNIOR, 2014), a transfusão de Concentrado de Hemácia (CH) tem como indicação única e exclusiva para tratar ou prevenir iminente ou inadequada liberação de oxigênio (O2) aos tecidos com consequente hipóxia tecidual. A transfusão também é realizada em casos de anemia, porém não é todo quadro anêmico que exige transfusão de concentrado de hemácia. Conforme o “Guia para o uso de Hemocomponentes” publicado em (2015) pelo Ministério da Saúde, as indicações para transfusão de hemácia são:

1.1 TRANSFUSÃO DE CONCENTRADO DE HEMÁCIA EM HEMORRAGIAS AGUDAS:

a) Hemorragia classe I – perda de até 15% do volume sanguíneo
b) Hemorragia classe II – perda sanguínea de 15% a 30%
c) Hemorragia classe III – perda de 30% a 40%
d) Hemorragia classe IV – perda maior que 40%

1.2 EM HEMORRAGIAS AGUDAS

Em hemorragias agudas o paciente deve imediatamente transfundido quando apresentar os seguintes sinais e sintomas:

a) Frequência cardíaca acima de 100 bpm a 120 bpm.
b) Hipotensão arterial.
c) Queda no débito urinário.
d) Frequência respiratória aumentada.
e) Enchimento capilar retardado (> 2 segundos).
f) Alteração no nível de consciência.

1.3 TRANSFUSÃO DE CONCENTRADO DE HEMÁCIA EM ANEMIAS:

a) Pacientes com níveis de hemoglobina (Hb) inferior a 7 g/dL, pois existe um grande risco e hipóxia tecidual e comprometimento das funções vitais;
b) Pacientes com níveis de hemoglobina (Hb) entre 7 e 10 g/dL, a indicação depende da avaliação do estado clínico;
c) Pacientes com níveis de hemoglobina (Hb) superior a 10 g/dL, excepcionalmente requer transfusão. Pacientes com doenças pulmonares obstrutivas deve-se manter hemoglobina superior a 10 g/dL;
d) Pacientes com cardiopatias isquêmicas agudas, devem-se manter níveis entre 9 e 10 g/dL;
e) Pacientes acima de 65 anos de idade e sintomático, devem transfundir quando o nível de hemoglobina estiver inferior a 9 g/dL.

Para (JÚNIOR, 2014). Em relação às anemias, alguns aspectos devem ser levados em consideração e a transfusão deve ser considerada nas seguintes situações.

Anemia aguda: Para aliviar sintomas relacionados à perda de volume sanguíneo, quando com a infusão de cristalóides não foi possível corrigir o volume intravascular; (JÚNIOR, 2014)

Anemia crônica: Para aliviar os sintomas relacionados com a diminuição do volume de hemácias, quando outras intervenções terapêuticas, tais como reposição e ferro, ácido fólico, vitamina B12 ou o tratamento com eritropoetina, ou ambas, foram insuficientes. (JÚNIOR, 2014)

O risco associado à transfusão de concentrado de hemácias inclui reações transfusionais como a aloimunização a antígenos eritrocitários. A aloimunização ocorre quando um receptor produz anticorpos contra antígenos das hemácias do doador. Em um estudo prospectivo sobre aloimunização em pacientes com doenças agudas e/ou atendidos em emergências médicas, os autores descreveram que, quanto maior o número de transfusões feitas, mais o organismo se torna sensível a produzir anticorpos. (ALVES, *et.al*., 2012).

Diante do exposto, as transfusões podem ocasionar complicações imunológicas e aloimunizações, com incidência global variando entre 18 e 36%, aumentando assim as comorbidades do paciente. (KANGIWA U, *et. al*., 2015).

Conforme o (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020), no Brasil temos hoje cerca de 3,5 milhões de pessoas que realizam transfusão de sangue ao ano. As transfusões no país aumentaram de 2016 para 2019, passando de 2,8 milhões para 2,95 milhões de transfusões realizadas. Para (KANGIWA U, et. al., 2015), um dos riscos da transfusão sanguínea é a formação de anticorpos anti-eritrocitários, que resulta nas disparidades entre doador e receptor.

Hoje, com o aumento da expectativa de vida e o desenvolvimento tecnológico, veem se observando ampliação no número de doenças crônico-degenerativas e cirurgias mais complexas que requerem maior quantidade de transfusões sanguíneas, o que tem aumentado a frequência de aloanticorpos anti-eritrocitários não pertencentes ao sistema ABO. Isso resulta, muitas vezes, em dificuldades em se encontrar hemocomponente compatível, além de aumentar os riscos de reações hemolíticas tardias. (ALVES, et. al., 2012).

Com isso, tem-se o aumento de pacientes aloimunizados e consequentemente aumentado a demanda de transfusão de hemocomponentes especiais, como o Concentrado de Hemácia Fenotipado. Sendo assim é necessário discutir sobre a necessidade de fenotipar as hemácias como estratégia para evitar a aloimunização.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Demonstrar a importância da Fenotipagem Eritrocitária para a prevenção da aloimunização.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Abordar os principais grupos sanguíneos existentes;
- Evidenciar a fenotipagem eritrocitária e os seus principais fenótipos;
- Descrever a aloimunização e correlacionar a mesma com a terapia transfusional;
- Associar a fenotipagem eritrocitária com a aloimunização e demonstrar a sua importância como prática transfusional.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

A primeira transfusão com sangue humano é atribuída a James Blundell, em 1818, que, após realizar com sucesso experiências em animais, transfundiu sangue humano em mulheres com hemorragia pós-parto. Desde então houve inúmeros acontecimentos importantes no mundo da Hematologia e Hemoterapia, como a descoberta do sistema ABO no final do século XIX, em 1900, que o imunologista austríaco, Karl Landsteiner, constatou que o soro do sangue de uma pessoa muitas vezes coagulava ao ser misturado com o de outra. Ele colheu amostras de sangue, isolou os glóbulos vermelhos e fez várias combinações entre as amostras de plasmas

e hemácias. Em alguns casos, os glóbulos se aglutinavam, formando coágulos e/ou grânulos (JUNQUEIRA, *et.al*, 2005).

Em 1907, um cirurgião americano chamado Reuben Ottenberg sugeriu que o sangue do receptor e doador, fosse compatibilizado antes das transfusões para evitar as possíveis incompatibilidades. Entre os anos de 1914 e 1918, os anticoagulantes tais como o citrato de sódio é desenvolvido para prolongar a vida útil do sangue e da refrigeração igualmente provada ser meios eficazes de preservar o sangue (MANDAL, 2020).

O primeiro relato de transfusão sanguínea no Brasil ocorreu em outubro de 1915 no Hospital Santa Izabel da Santa Casa da Bahia, onde o Dr. João Américo Garcez Froes transfundiu 129 ml de Sangue Total em uma paciente com um quadro de hemorragia provocada por um pólipo uterino. A transfusão ocorreu utilizando um aparelho desenvolvido pelo médico argentino Dr. Luís Agote que consistia em duas bombas de sucção, uma para sugar o líquido, outra para injetá-lo e uma mangueirinha por onde o sangue corria, no processo recebia uma mistura de citrato de sódio. Doador e paciente ficavam, de braço esticado, um olhando para a cara do outro. A inovação da técnica de Agote é que evitava a coagulação. (CADENA, 2020).

Com o sucesso da primeira transfusão, Dr Froes realizou vários outros procedimentos com sucesso. O caso mais grave ocorreu em Julho de 1916. Um homem de 31 anos com quadro de icterícia agravado por uma blenorragia estava sendo transfundido quando apresentou sinais de rejeição, ele foi tratado com banhos hidroterápicos em altas e baixas temperaturas até estabilizar a paciente. O sobressalto não desanimou o Dr. Froes que continuou a sua jornada de transfusões. (CADENA, 2020)

Em 1940 durante pesquisas realizadas com macacos do gênero Rhesus, o Dr. Landsteiner com a colaboração do médico Alexander Wiener descobriram o fator de grupo sanguíneo Rh, que subdivide os grupos sanguíneos em Rh negativo e Rh positivo. (BATISTETE, et. al, 2007).

4 GRUPOS SANGUÍNEOS

Na primeira metade do século XX ocorreu a descoberta dos antígenos eritrocitários, e foi considerado um dos avanços mais importantes na área médica transfusional. Os sistemas de grupos sanguíneos são caracterizados por antígenos na membrana eritrocitária, com características funcionais e polimórficas definidas. Desde que o sistema ABO foi descoberto, em 1900, foram descritos mais de 250 antígenos eritrocitários, organizados em sistemas, séries e coleções. (JENS, et. al, 2005).

A grande parte dos antígenos é um componente integral de membrana, composto por carboidratos complexos associados a proteínas ou lipídeos inseridos na membrana eritrocitária, sendo denominados de glicoproteína. Sendo que o grupo ABO é composto de carboidratos e os grupos Duffy, Rh, MNSs, Kell e Kidd, são compostos por proteínas. Estes antígenos também podem estar presentes nas plaquetas, nos leucócitos, nos tecidos e em fluídos (soro, saliva) do organismo. (GIRELLO; KUHN, 2016).

O grupo sanguíneo é herdado geneticamente, porém não existe um gene específico que codifique os sistemas, e sim, um gene que codifica açúcares que formarão os antígenos. Os antígenos eritrocitários variam em imunogenicidade e significado clínico e a detecção e a descrição destes ainda é feita através de testes sorológicos (anticorpos policlonais ou monoclonais). (COELHO, 2013).

De acordo com a Portaria Nº 158, de 4 de fevereiro de 2016, do Ministério da Saúde que redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Na Seção VI - Dos Exames de Qualificação no Sangue do Doador, o artigo 124 recomenda a realização da fenotipagem de antígenos eritrocitários dos sistemas Rh (D, C, c, E, e) e Kell (K1) nas amostras de sangue de doadores, conforme as demandas do serviço de hemoterapia. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Sendo assim, será abordado nesse trabalho aqueles sistemas com maior importância clínica, transfusional e imunogenicidade como: ABO, RH, Kell, Duffy, Kidd, Lewis, MSN e Diego.

5 SISTEMA ABO

Os antígenos do sistema ABO são produtos secundários dos genes ABO presentes na membrana das hemácias. Os produtos primários são enzimas (glicosiltransferases) que possuem a capacidade de adicionar carboidratos sobre uma estrutura precursora da membrana do eritrócito. (GIRELLO; KUHN, 2016)

As glicosiltransferases acrescentam carboidratos terminais à substância H, que serve como estrutura básica para a formação dos outros dois antígenos (FIGURA 1).[1]

Onde:

a) Gene H - glicosiltransferase H - 2-alfa-fucosiltransferase - adiciona fucose à substância precursora - antígeno H – Grupo tipo O

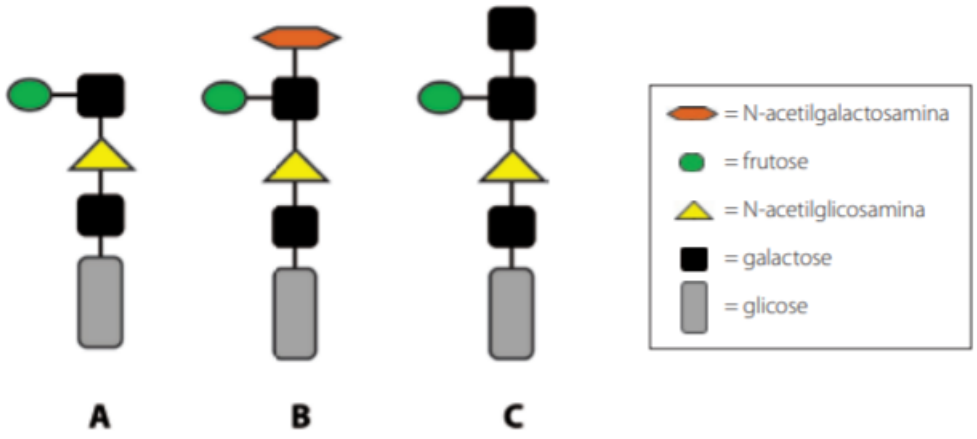
b) Gene A - glicosiltransferase A - N-acetil-galactosaminiltransferase - adiciona N-acetilgalactosamina ao antígeno H - antígeno A – Grupo tipo A

c) Gene B - 7 glicosiltransferase B - galactosiltransferase - adiciona galactose ao antígeno H - antígeno B – Grupo tipo B

Os antígenos do sistema ABO estão expressos desde a 5ª - 6ª semanas de vida intrauterina, porém é somente ao redor dos 2 a 4 anos de vida que os números de sítios antigênicos apresentam uma expressão plena. (COELHO, 2013). A Figura 1 presente no livro de (OLIVEIRA; RIBEIRO; VIZZONI. 2013. P. 66) apresenta um exemplo de Antígenos do Sistema ABO - A) Antígeno H; B) antígeno A; C) antígeno B:

[1] Vide Lista de Figura com o título: Antígenos do Sistema ABO - A) Antígeno H; B) antígeno A; C) antígeno B na lista de figuras ao final do trabalho.

Figura 1 - Antígenos do Sistema ABO - A) Antígeno H; B) antígeno A; C) antígeno B.



Fonte: Conceitos básicos e aplicados em imuno-hematologia – Imuno-hematologia eritrocitária. Página: 66

> Os antígenos do sistema ABO são produtos secundários dos genes ABO presentes na membrana dos eritrócitos. Os produtos primários são enzimas (glicosiltransferases) capazes de adicionar carboidratos sobre uma estrutura precursora da membrana da hemácia. Onde: A - Gene H - glicosiltransferase H - 2-alfa-fucosiltransferase - adiciona fucose à substância precursora - antígeno H – Grupo tipo O. B - Gene A - glicosiltransferase A - N-acetil-galactosaminiltransferase - adiciona N-acetilgalactosamina ao antígeno H - antígeno A – Grupo tipo A. C - Gene B - 7 glicosiltransferase B - galactosiltransferase - adiciona galactose ao antígeno H - antígeno B – Grupo tipo B. (OLIVEIRA; RIBEIRO; VIZZONI. 2013. P. 66)

Além das hemácias, os antígenos do sistema ABO também estão presentes nos glicolipídeos e glicoproteínas membranares de diversos tecidos. Os mesmos podem ser encontrados em secreções e outros fluídos como, saliva, lágrimas, urina, sucos digestivos, leite e líquido amniótico. Também são encontrados em órgãos como medula óssea, rins e em células como linfócitos e plaquetas, sendo por isso considerado antígenos com histocompatibilidade de grande importância clínica e na prática transfusional. (COELHO et.al, 2013).

Como primeira e mais importante regra, nunca se deve transfundir hemocomponente contendo um antígeno ABO ao qual o receptor não o possua, pois isso resultará em uma resposta imune consistente refletida na produção de anticorpos, estes sendo uma mistura de anticorpos da classe IgM e IgG, capazes de ativar

complemento provocando hemólise intravascular em casos de transfusões incompatíveis. (GIRELLO; KUHN, 2016).

Assim, sempre que possível deve ser realizado transfusões de isogrupos (doador e receptor de mesmo grupo sanguíneo no sistema ABO) e, quando estas não forem possíveis, realizar transfusões de heterogrupos (doador e receptor de grupos sangüíneos diferentes) respeitando o esquema clássico de compatibilidade de plasma isogrupo do receptor (FIGURA 2), enfatizando que o grupo O é doador universal e o AB é receptor universal (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005). A Figura 2 [2] descrita na (Cartilha transfusional) apresenta um exemplo de Esquema de compatibilidade sanguínea para doação e transfusão de sangue:

Figura 2 - Esquema de compatibilidade sanguínea para doação e transfusão de sangue.

Grupo ABO / Rh(D) do receptor	Compatibilidade doador / receptor
O + (O positivo)	O + / O -
O - (O negativo)	O -
A + (A positivo)	A+ / O+ / A- / O-
A – (A negativo)	A- / O-
B + (B positivo)	B+ / O+ / B- / O-
B - (B negativo)	B- / O-
AB + (AB positivo)	AB+ /A+ / B+ / O+/AB- /A- / B- /0-
AB - (AB negativo)	AB- / A- / B- / O-

Fonte: Cartilha transfusional. Disponível em:www.hse.rj.saude.gov.br/profissional/clin/hemo.asp

> As transfusões sanguíneas sempre que possível devem ser de isogrupos (doador e receptor de mesmo grupo sanguíneo no sistema ABO) e, quando estas não forem possíveis, realizar transfusões de heterogrupos (doador e receptor de grupos sangüíneos diferentes) respeitando este esquema de compatibilidade de plasma isogrupo do receptor enfatizando que o grupo O é doador universal e o AB é receptor universal. (Cartilha transfusional. Disponível em:www.hse.rj.saude.gov.br/profissional/clin/hemo.asp)

Os anticorpos do sistema ABO aparecem de forma natural (classe IgM - alto peso molecular) depois dos 3-6 meses de idade, com pico de produção dos 5 aos 10

[2] Vide Lista de Figura com o título: Esquema de compatibilidade sanguínea para doação e transfusão de sangue

anos de idade e com a sua diminuição progressiva na velhice. Os anticorpos imunes (classe IgG – baixo peso molecular), ocorre principalmente por heteroimunização, aloimunização por gestação ou transfusão ABO incompatível. (OLIVEIRA, 2013)

Os estímulos para a produção dos anticorpos são, principalmente das bactérias que começam a colonizar o trato intestinal a partir do nascimento, pois possuem açúcares em suas membranas celulares semelhantes aos açúcares imunodominantes dos antígenos A e B. (BARONE, 2020). Os anticorpos anti-A e anti-B (FIGURA 3) dos indivíduos B e A, respectivamente, são em sua maioria de classe IgM e pequena quantidade de IgG. Já os anticorpos anti-A e anti-B do grupo O são de classe IgG e podem estar presentes em altos títulos. (BARONE, 2020). A Figura 3[3] do (Ministério da Saúde, Brasília 2014, Capítulo 2, p 28) apresenta um exemplo de Grupos sanguíneos e seus anticorpos:

Figura 3 - Grupos sanguíneos e seus anticorpos

GRUPO SANGUÍNEO	**ANTICORPO**
A	Anit-B
B	Anti-A
AB	Não possui
O	Anti-A e Anti-B

Fonte: Adaptado de Imuno-Hematologia Laboratorial, Ministério da Saúde, Brasília 2014, Capítulo 2, Página 28

> Os anticorpos do sistema ABO aparecem de forma natural depois dos 3-6 meses de idade, com pico de produção dos 5 aos 10 anos de idade e com diminuição progressiva na velhice e os anticorpos imunes, ocorrendo principalmente por heteroimunização, aloimunização por gestação ou transfusão ABO incompatível. Os anticorpos anti-A e anti-B dos indivíduos B e A, respectivamente, são em sua maioria de classe IgM e pequena quantidade de IgG. Já os anticorpos anti-A e anti-B do grupo O são de classe IgG e podem estar presentes em altos títulos. (Adaptado de Imuno-

[3] Vide Lista de Figura com o título: Grupos sanguíneos e seus anticorpos

Hematologia Laboratorial, BRASIL, Ministério da Saúde, Brasília 2014, Capítulo 2, p 28.)

Devido aos anticorpos é preciso se atentar ao conceito de doador-receptor universal, pois um indivíduo de grupo sanguíneo O apresenta em seu soro/ plasma anticorpos anti-A, anti-B e anti-AB. Se doar sangue para outro indivíduo não-isogrupo, ainda que seja concentrado de hemácias, uma certa quantidade de plasma sempre estará presente. Se o título das aglutininas (anticorpos) for elevado (superior a 1/100 no chamado doador O perigoso), poderá ocorrer reação transfusional. (COELHO et.al, 2013)

6 SISTEMA RH

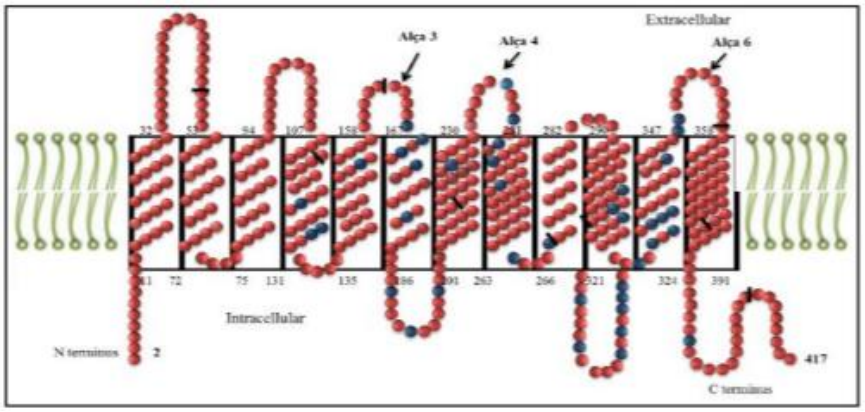
O sistema Rh é o mais polimórfico e imunogênico de todos os sistemas de grupos sanguíneos. Atualmente mais de 49 antígenos foram identificados sendo cinco principais os antígenos D, C, c, E, e. O sistema Rh apresenta um maior interesse clínico entre os demais sistemas por seus anticorpos estarem envolvidos em destruição eritrocitária imunomediadas, isto é, reação transfusional hemolítica e doença hemolítica perinatal (DHPN). (NARDOZZA, et.al, 2010)

Os antígenos do sistema Rh estão expressos em duas proteínas, genes altamente homólogos RhD e RhCE. A proteína RhD expressa o antígeno D e a proteína RhCE expressa os antígenos CE em várias combinações (ce, Ce, cE ou CE). Os antígenos C e e são menos imunogênicos que E e c. (FLEGEL WA., 2006).

As proteínas RhD e RhCE são hidrofóbicas, não glicolisadas, e compostas de 417 aminoácidos que se distribuem em seis segmentos extracelulares, 12 transmembranárias e sete intracelulares (FIGURA 4). Para classificar os fatores positivos e negativos o indivíduo considerado positivo (D positivo) possui dois genes (RhD, RhCE) e os indivíduos Rh negativos, quase na sua totalidade, o gene RhD está deletado. Estes genes são co-dominantes e são herdados segundo as leis de Mendel.

(GIRELLO; KUHN, 2016). A Figura 4 [4]apresenta um exemplo de disposição da estrutura da proteína Rh na membrana da hemácia:

Figura 4 - Disposição da estrutura da proteína Rh na membrana da hemácia



Fonte: Adaptado de Wagner, EF; Flegel, WA; Bases moleculares do sistema Rh e suas aplicações em obstetrícia e medicina transfusional, página 4.

> As proteínas RhD e RhCE são hidrofóbicas, não glicolisadas, e compostas de 417 aminoácidos que se distribuem em seis segmentos extracelulares, 12 transmembranárias e sete intracelulares (FIGURA 4). Para classificar os fatores positivos e negativos o indivíduo considerado positivo (D positivo) possui dois genes (RhD, RhCE) e os indivíduos Rh negativos, quase na sua totalidade, o gene RhD está deletado. Estes genes são co-dominantes e são herdados segundo as leis de Mendel. (FLEGEL, 2004, p.4)

Indivíduos que não possuem o RhD (Rh negativo), quando expostos a um antígeno Rh D completo, passam a produzir anticorpos contra os epítopos ausentes nos seus eritrócitos. Raramente ocorrem de forma natural, ou seja, são imunes, resultantes de transfusão ou gravidez anterior (FLEGEL, 2007; HOFFBRAND, 2013). Anticorpos dirigidos contra os antígenos do sistema Rh geralmente são da classe IgG, não fixam o complemento, atravessam a placenta e reagem otimamente a 37ºC e na fase de Antiglobulina Humana (AGH). (GIRELLO; KUHN, 2016).

O antígeno D pode variar de expressão fenotípica, devido a alterações qualitativas e quantitativas, como D “normal” (o indivíduo possui todos os epítopos

[4] Vide Lista de Figura com o título: disposição da estrutura da proteína Rh na membrana da hemácia

previstos), D fraco (as hemácias do indivíduo só reagem em fase de antiglobulina) e D parcial (ausência de um ou mais epítopos do antígeno, mutações) (NARDOZZA, 2010).

Os eritrócitos com fenótipo RhD fraco não apresentam falta de epítopos RhD extracelulares, as alterações que acontecem afetam a eficiência de inserção com a redução da quantidade do antígeno RhD na membrana. Este fato explica a redução do número de sítios antigênicos nesses eritrócitos, bem como a ausência de aloanticorpos anti-D nos indivíduos RhD fracos (WESTHOFF, 2005).

O antígeno D parcial é caracterizado pela ausência de um ou mais epítopos da proteína D, causados pelos rearranjos dos genes RHD e RHCE. Poucos fenótipos D parciais resultam de trocas de um aminoácido apenas. Porém, em contraste ao D fraco, o polimorfismo ocorre nos segmentos extracelulares da proteína RhD. (MARCONDES, et.al, 2020)

Os indivíduos que apresentam D parcial, frequentemente são identificados como Rh positivos nos testes convencionais, e isso pode torná-los aloimunizados por transfusões de sangue Rh positivas ou na gestação de fetos Rh positivos (WESTHOFF, 2007). Na clínica transfusional, receptores D parcial devem receber hemácias RhD negativas, independente da categoria do antígeno RhD parcial presente. Pacientes e gestantes com o fenótipo D parcial devem ser classificados como RhD-negativo (CREDIDO, 2010).

A identificação sorológica de D parcial é possível através do uso de anticorpos monoclonais específicos ou técnicas de biologia molecular. Os soros monoclonais anti-D IgG e IgM são usados para a identificação das variantes RhD, a reatividade dos reagentes anti-D monoclonais dependem da concentração e da avidez do anticorpo. (CALUZI, 2006)

Os testes moleculares são mais eficazes para a confirmação das discrepâncias na tipagem de RhD, pois eles permitem distinguir os eritrócitos que perdem ou apresentam epítopos alterados daquelas que possuem níveis reduzidos do antígeno. Além de possibilitar a diferenciação dos subtipos das variantes RhD (SABINO, 2008).

7 SISTEMA KELL

O sistema do grupo sanguíneo Kell foi descoberto em 1946 e foi nomeado pela Sra. Kelleher, quando uma paciente no qual, anticorpos anti-Kell resultou em doença hemolítica de seu filho recém-nascido (eritrócitos da criança expressavam antígeno K que estavam ligados por anti-K no soro da mãe). (MIGUEL et.al, 2017).

O sistema de grupo sanguíneo Kell é composto por 35 antígenos, sendo 10 de baixa frequência e 25 de alta frequência. O gene Kell é altamente polimórfico e é uma glicoproteína de membrana tipo II que possui 732 aminoácidos, pertencente à família das endopeptidases (BIANCHI, 2016).

Devido ao grande número de antígenos conhecidos, há uma gama de fenótipos possíveis encontrados, entre eles, KEL: 1,-2 (K+, k-); KEL:3,-4 [Kp (a+, b-)]; KEL:6,-7 [Js (a+, b-)]; KEL:-1,2 (K-,k+); KEL:1,2 (K+, k+); KEL: -6,7 [Js (a-,b+)]. Existem alguns fenótipos de baixa expressão antigênica que são raríssimos, são eles: KELmod, McLeod e o KELnull.(DEAN, L. 2005.)

Alguns antígenos como KEL1 (K), KEL2 (k), KEL3 (kpa) e KEL7 (Jsb), possuem uma maior importância transfusional, pois, seus anticorpos podem causar uma reação hemolítica severa á mediana. Sendo assim, a identificação desses antígenos é muito importante para que não ocorram reações hemolíticas nos pacientes transfundidos. (GUIMARÃES, 2018).

O fenótipo KELmod é caracterizado pela fraca expressão do antígeno kell, que geralmente só é detectada pela técnica de eluição. Atualmente, foram identificados 12 alelos que causam esse fenótipo e a maioria devido a mutações do tipo missense no gene KEL. (JI, Y. et, 2014.) (DEAN, L. 2005.)

O fenótipo McLeod é caracterizado pela fraca expressão dos antígenos kell, devido à falta ou mutações na proteína XK, a qual os antígenos kell são ligados, e pela presença de acantócitos no sangue periférico. A partir desse fenótipo temos a chamada Síndrome de McLeod que incluem sintomas como a cardiomiopatia, distrofia muscular e perda dos reflexos. (BOTURÃO NETO, E. 2008) (DEAN, L. 2005).

Já o fenótipo KELnull (K0) é caracterizado por não expressar a proteína e os antígenos kell na superfície celular dos eritrócitos, a ausência dessa expressão pode

ocorrer por várias alterações genéticas diferentes como splicing errado ou deleção de nucleotídeo. Geralmente, os indivíduos que possuem esse fenótipo acabam produzindo o anticorpo anti-KEL5 (antiKu), que é capaz de causar reações transfusionais hemolíticas graves e a Doença Hemolítica do Recém-Nascido (DHRN). (BOTURÃO NETO, E. 2008)

O sistema Kell possui grande importância do ponto de vista transfusional visto que anticorpos anti-Kell, produzidos em decorrência de aloimunização transfusional ou gravidez, são frequentemente identificados. Os aloanticorpos anti-Kell geralmente são da classe IgG que promovem rápida remoção extravascular das hemácias sensibilizadas (MIGUEL *et.al,* 2017)

Os anticorpos que reconhecem Kell como antígenos podem causar reações transfusionais e a Doença Hemolítica do Recém-nascido Nascido (DHRN). No caso da DHRN, a incompatibilidade ABO e Rh são as causas mais comuns. No entanto, a doença causada pelo anti-ABO maternal tende a ser suave, e doença causada pelo anti-Rh maternal pode ser largamente evitada. Os casos frequentes de DHRN causados pela imunização Kell tendem a resultar em anemia fetal grave porque o alvo do anti-Kell materno são os precursores dos glóbulos vermelhos fetal, ocasionando supressão da produção de glóbulos vermelhos do feto. (MIGUEL et.al, 2017).

8 SISTEMA DUFFY

O grupo sanguíneo Duffy (Fy) foi descoberto em 1950 e foi nomeado em homenagem a um paciente hemofílico chamado Mr. Duffy que após várias transfusões apresentou um anticorpo até então desconhecido, o anti-Fya. Um ano depois foi descrito o anti-Fyb. Atualmente, o sistema Duffy possui cinco antígenos. (GUIMARÃES, 2018)

Os cinco antígenos que compõe o sistema Duffy são: Fya, Fyb, Fy3, Fy5, Fy6, o sistema Duffy é codificado pelo gene FY localizado no cromossomo 1q. Os antígenos Fya e Fyb não são exclusivos das hemácias e estão presentes em células fetais de 6 a 7 semanas, mas também em células epiteliais, endoteliais, células de

órgãos como rins, cérebro, fígado, coração e pâncreas. (RODRIGUES, et al 2021). Os anticorpos do sistema Duffy são geralmente de classe IgG e são clinicamente significantes, podendo ativar complemento. (GIRELLO, KUHN, 2011)

O anticorpo anti-Fya é encontrado principalmente após transfusão e, menos frequentemente, como resultado de gravidez incompatível; quase nunca ocorre naturalmente. O anti-Fyb é cerca de 20 vezes menos comum que o anti-Fya e geralmente está presente no soro em combinação com outros anticorpos (HÖHER et al., 2018).

O fenótipo Fy é responsável por uma queda na imunidade da pessoa em relação à doença da malária, devido ao *Plasmodium ssp.*, transmissor da malária requerer antígenos Duffy para entrar nas hemácias. Uma característica interessante a este sistema, nos casos das pessoas Fy (a-b-), é encontrado frequente em indivíduos negros africanos, ela será resistente ao parasita transmissor. (SANTANDER, 2019)

9 SISTEMAS KIDD

O sistema KIDD (Jk) foi identificado em 1951 em um caso de Doença hemolítica do recém-nascido nascido (DHRN), onde um anticorpo presente no plasma da mãe reagia com o antígeno na hemácia do feto. Neste caso foi descrito o antígeno Jka e dois anos depois foi descrito o antígeno Jkb. (BORGES, 2020).

Os antígenos do grupo sanguíneo Kidd, são produtos de um único gene JK ou SLC1Â1. (VIZZONI, 2016). O gene JK está localizado no locus 18q12-q21 e possui 389 aminoácido. É um gene da família carregadora de uréia, a glicoproteína Kidd transpassa a membrana eritrocitária dez vezes e transporta o N-glican na terceira alça extracelular do antígeno. O antígeno na membrana funciona como um transportador de uréia em células endoteliais do vaso renal, bem também como nos eritrócitos. Eles previnem a desidratação quando o eritrócito passa pela medula renal. (BORGES, 2020).

O sistema Kidd possui dois antígenos que são frequentemente associados a aloimunização decorrente de transfusão sanguínea. Os antígenos do Sistema Kidd são Jka e Jkb, portanto quatro fenótipos Kidd são possíveis: Jk (a + b−), Jk (a − b +), Jk (a + b +) e Jk (a − b−). (BELAI, 2011). Os antígenos Jka e Jkb são o resultado de um polimorfismo de um nucleotídeo presente no nucleotídeo 838, resultando em um aspartato ou aminoácido aspargina na posição 280, respectivamente. Eles apresentam moderada potência imunogênica, capaz de sensibilizar o organismo e iniciar a produção de aloanticorpo anti-Jka e anti-Jkb. (LAWICKI, et.al., 2017).

Os anticorpos anti-Jka e anti-Jkb causam graves reações hemolítica pós transfusão e também a DHRN, embora seja de forma mais leve. (LAWICKI, et.al., 2017). O anti-Jka é mais comum que o anti-Jkb, ambos são encontrados muitas vezes associados a outros aloanticorpos eritrocitários. Os anticorpos do sistema Kidd são principalmente de classe IgG. (BORGES, 2020).

10 SISTEMA LEWIS

Em 1946, Arthur Morant descreveu os primeiros exemplos de anti-Lewis (anti-Lea), ao analisar que o soro do Sr H.D.G. Lewis, apresentava um anticorpo que aglutinava 20% dos eritrócitos durante uma prova cruzada com um hemocomponente. O sistema Lewis possui 6 antígenos e o gene que codifica esta proteína, se encontra no cromossomo 19p-13.3, ligado ao locus C3 do sistema complemento. A expressão dos antígenos Lewis é caracterizada pelo termo de dois antígenos glicolipídicos Le(a) e Le(b), á qual a síntese resulta da relação dos genes FUT3 e FUT2. (RODRIGUES, 2015).

O gene FUT3 codifica a fucosiltransferase FUTIII a qual fucosila o oligossacarídeo precursor lactotetraosilceramídio, para estruturar o antígeno Le(a). A fucosiltransferase FUTII, codificada pelo gene FUT2, fucosila o próprio precursor para construir o antígeno H tipo 1. (RODRIGUES, 2015).

A decorrente fucosilação desse antígeno pela FUTIII da origem ao antígeno Le(b). Deste modo, os indivíduos que apresentam ambas as fucosiltransferase, serão

considerados como secretores positivos e expressam o fenótipo eritrocitário Le(a-b+). Estes possuem apenas a FUTIII serão secretores negativos, a qual o fenótipo eritrocitário será Le (a+b-). (RODRIGUES, 2015).

Indivíduos que não apresentam fucosiltransferase FUTIII expressam o fenótipo eritrocitário Le (a-b-) e poderão ser secretores positivos ou negativos na dependência de possuírem ou não a fucosiltransferase FUTII. (RODRIGUES, 2015).

De acordo com Harmening, o antígeno Lewis é produzido por células teciduais e secretado nos líquidos orgânicos, sendo seus antígenos encontrados nas secreções e no plasma. Sendo o único a não ser sintetizados pelos eritrócitos. Este sistema apresenta uma interação genética com o sistema ABO, sendo a quantidade de antígeno eritrocitário motivado pelos genes ABO herdados. (HARMENING, 2006)

Os anticorpos são geralmente da classe IgM, espécie de anticorpos que não atravessa a barreira placentária, assim, impossibilitando a DHRN, sendo estes anticorpos classificados como anticorpos frios, mais reativos à temperaturas inferiores à 37°C. (BEIGUELMAN, 2003).

11 SISTEMA MNS

Em 1927, o sistema MNS foi descoberto por Landsteiner e Levine, ao imunizar coelhos com células vermelhas. Sendo a partir de então provável a caracterização de dois tipos de aglutinogênio existentes conjuntamente ou isolados na membrana do eritrócito, o antígeno M e ao antígeno N. Sendo assim, trata-se de uma herança codominante do grupo sanguíneo, constituído pelos alelos Lm e Ln. (OLIVEIRA, 2010).

O sistema MNS é considerado o segundo sistema em diversidade antigênica, depois do Rh, apresentando 43 antígenos complexos. Os seus genes são “GYPA”, “GYPB” e “GYPE” e estão localizados no cromossomo 4q28-q31. Sendo estes glicoproteínas transmembranares e as glicoforinas que contém resíduos de carboidratos com elevado ácido siálico e alta carga negativa, prevenindo a aglutinação espontânea dos eritrócitos. (COELHO, 2013).

O antígeno M possui anticorpos IgM frios em quase sua totalidade, porém podem apresentar associações com IgG. O anti-M não possui importância transfusional. Já o anti-N é mais raro e pode ser observado em pacientes submetidos a hemodiálises em aparelhos que foram esterilizados por formaldeído. (BEIGUELMAN, 2003).

Relata-se que o motivo para a produção de anticorpos anti-N é associado a danos mecânicos nos eritrócitos, em contato com a membrana da diálise, pois nesta utiliza-se o formaldeído para esterilização que constituiu estas células imunogênicas ao paciente. (BEIGUELMAN, 2003).

Existe uma forte reação da antiglobulina direta dos eritrócitos tratados com formalina após o contato de cinco minutos com o anticorpo específico, indicando um aumento na afinidade do anticorpo para a célula de formalina. Considera-se que é desencadeada por uma alteração de formaldeído, proteína que é familiar, mas não idêntica, à glicoproteína que define os antígenos M e N. Como resultado, são formados os primeiros anticorpos contra este novo imunógeno. (OLIVEIRA, 2010).

Os antígenos Ss estão localizados em uma glicoproteína menor, semelhante à dos antígenos MN, chamada de Ss-sialoglicoproteina (Ss-SGP) ou glicoforina B. Demonstram efeito de dose, estão bem desenvolvidos ao nascimento e surgem nos eritrócitos em uma idade gestacional precoce (12 semanas), os anticorpos anti-S e anti-s são significativos e produzidos por aloimunizações (HARMENING, 2006)

12 SISTEMA DIEGO

O grupo sanguíneo Diego foi descrito por Miguel Larysse em 1955, e recebeu esse nome devido ao caso de uma paciente, a Sra. Diego, que deu à luz a uma criança com Doença Hemolítica do Recém-Nascido (DHRN). Larysse estudou o soro de um bebê que ao nascer apresentava sinais clínicos hematológicos normais, mas naquela época a determinação de bilirrubina não foi realizada. Após 12 horas, a icterícia passou a se tornar mais evidente na criança, que com o tempo ficou cada vez mais severa, levando a criança a óbito três dias depois. O teste de antiglobulina realizado

nas hemácias do recém-nascido deu positivo. Foram colhidas amostras de sangue da mãe Rh positiva e de seu bebê compatível com o grupo Rh para as análises, e foi concluído que, embora os glóbulos vermelhos do bebê estivessem em perfeito estado, foi excluída a incompatibilidade de Rh, mas foi suspeitado de uma possível ocorrência de fator sanguíneo de baixa incidência com seu correspondente anticorpo. Nesse mesmo ano, o pai da criança também teve seus glóbulos vermelhos testados contra o soro materno e uma forte aglutinação foi encontrada. Com isso, surgiu o nome de Sistema Diego (CASTILHO, 2002).

O Sistema Diego é constituído por 21 antígenos, sendo dois pares de antígenos individuais que são (Dia e Dib, Wra e WRb), e mais 17 antígenos de menor relevância. (RODRIGUES, 2015). Os antígenos Dia e Dib são considerados os primeiros pares de antígenos antitéticos do sistema Diego, e são caracterizados pela ausência de um na presença do outro, um exemplo é o Dib na ausência do Dia e vice-versa. E dentre os 17 antígenos estão os Dia, Wra, Rba, WARR, ELO, Wu, Bpa, Moa, Hga, Vga, Swa, BOW, NFLD, Jna, KREP, Tra, Fra e SW1. (CARVALHO, 2018)

O fenótipo Di (a+b-) é encontrado dificilmente em asiáticos e índios. Alguns indivíduos com este fenótipo são, geneticamente Di*01/Di*02, o que sugere a existência de uma nova mutação na Banda 3, exclusivamente no alelo Di*02, a qual impossibilita a expressão do Dib (CARVALHO, 2018). Esta proteína é um permutador de cloreto / bicarbonato vinculado no transporte de dióxido de carbono dos tecidos aos pulmões. Situa-se também no rim, onde está envolvido na secreção de ácido. Os anticorpos do sistema Diego, anti-Dia e anti-Dib estão mais relacionados à DHRN que em reações transfusionais, sejam imediatas ou tardias.(RODRIGUES, 2015).

Em 1953, Holman relatou um antígeno eritrocitário de menor incidência chamado de Wra. Após sua evidenciação, vários casos de indivíduos Wr(a+) foram descobertos. A ocorrência de fenótipo Wr (a+b-) por homozigosidade dos alelos Di*02, 03, há alguns casos desse fenótipo, com a expressão antigênico debilitada de Wrb, na existência representam ao genótipo Di*02,03/ Di* 02,04 com modificações nos resíduos da GPA, que é uma sialoglicoproteína atuante durante a biossíntese da Banda 3, pois comporta-se como uma molécula acompanhante no auxílio de sua dobradura, e eficientemente aplicada na membrana da hemácia. (CARVALHO,2018).

O anti-Wra geralmente é visto em reações transfusionais imediatas e tardias graves e na Doença Hemolítica do Recém-Nascido (DHPN). Ao adverso do anti-Dia, o anti-Wra pode ser encontrado como anticorpo de ocorrência natural e no soro de pacientes com anemia hemolítica autoimune. O anticorpo anti-Wrb é raramente frequente, pois o fenótipo Wr (b-) ocorre muito ocasionalmente. (RODRIGUES, 2015).

13 FENOTIPAGM ERITROCITÁRIA

Na superfície dos eritrócitos possui antígenos que são determinantes para a classificação dos diversos grupos sanguíneos, cuja presença ou ausência é regida pela hereditariedade. (BORGES, 2020)

A fenotipagem eritrocitária é uma ferramenta essencial para a profilaxia da aloimunização, onde essa técnica pode proporcionar aos pacientes politransfundidos uma maior segurança minimizando as possíveis reações transfusionais, que por muitas vezes são graves. (RODRIGUES et.al, 2013)

A técnica tem como função principal a interação entre antígeno-anticorpo, facilmente visualizada na aglutinação que ocorre entre as hemácias (antígeno) e os anti-soros específicos (anticorpos). A fenotipagem eritrocitária pode ser realizada em duas técnicas diferentes, a em Gel ou em Tubo. (COELHO e ROQUE, 2013)

As técnicas de Fenotipagem Eritrocitária a seguir, foram extraídas das bulas de reagentes da empresa DiaMed Latino América / Bio-Rad Laboratórios do Brasil.

14 TÉCNICA EM GEL BIORAD DIAMED - CARTÃO ID-ANTIGEN PROFILE I, II e III

A empresa BioRad-Diamed dispõe de vários cartões para fenotipagem eritrocitária. Neste trabalho vamos demonstra a técnica de utilização de quarto tipos. São eles:

a) ID-ANTIGEN PROFILE I

P1, Lea, Leb, Lua, Lub, ctl

b) ID-ANTIGEN PROFILE II

K, Kpa, Kpb, Jka, Jkb, ctl

c) ID-ANTIGEN PROFILE III

M, N, S, s, Fya, Fyb.

d) DIACLON RH-SUBGRUPOS (C, C, E, E) + CW + K

C, c, E, e, Cw, K .

15 TÉCNICAS

15.1 ID-ANTIGEN PROFILE I e II

15.1.1 Preparação da Amostra

Preparar uma suspensão de hemácia a 5% da seguinte forma:

Em um tubo de vidro adicione 1ml de ID- Diluente 1 e em seguida adicione 1 gota (50 µl) de sangue total ou 25 µl de concentrado de hemácias, misture suavemente. Incube a suspensão por 10 minutos em temperatura ambiente (18-25 graus).

15.1.2 Procedimento:

a) Identifique o Card-ID com o número da doação;
b) Pipetar 10 ou 12,5 µl de suspensão de hemácias em todos os microtubos;
c) Centrifugue os Cards em centrífuga específica durante 10 minutos;
d) Realizar a leitura.

15.2 ID-ANTIGEN PROFILE III

15.2.1 Preparação da Amostra

Preparar uma suspensão de hemácia a 0,8% da seguinte forma:

Em um tubo de vidro adicione 1ml de ID- Diluente 2 e em seguida adicione 20 µl de sangue total ou 10 µl de concentrado de hemácias, misture suavemente.

15.2.2 Procedimento:

a) Identifique o Card-ID com o número da doação;
b) Pipetar 50 µl de suspensão de hemácias em todos os microtubos;
c) Adicione 50 µl de soro ID-teste em todos os microtubos;
d) Incube os Cards-ID por 10 minutos em temperatura ambiente (18-25 graus);
e) Centrifugue os Cards em centrífuga específica durante 10 minutos;
f) Realizar a leitura.

15.3 DIACLON RH-SUBGRUPOS (C, C, E, E) + CW + K

15.3.1 Preparação da Amostra

Preparar uma suspensão de hemácia a 5% da seguinte forma:

Em um tubo de vidro adicione 0,5 ml de ID- Diluente 2 e em seguida adicione 25 µl de concentrado de hemácias, misture suavemente.

15.3.2 Procedimento:

a) Identifique o Card-ID com o número da doação;
b) Pipetar 10 ou 12,5 µl de suspensão de hemácias em todos os microtubos;
c) Centrifugue os Cards em centrífuga específica durante 10 minutos;
d) Realizar a leitura.

15.3.3 Interpretação dos Resultados em Cartão Gel

Positivo: Hemácias aglutinadas formam uma linha vermelha na superfície do gel ou aglutinados dispersos no gel.

Negativo: Cria um botão compacto de eritrócitos no fundo do microtubo.

15.4 TÉCNICA EM TUBO BIORAD DIAMED - SOROS COM ANTICORPOS MONOCLONAIS

A empresa BioRad Diamed dispõe de vários soros com anticorpos monoclonais (IgG, IgM e IgA) para todos os grupos sanguíneos. Neste trabalho vamos demonstrar a técnica de fenotipagem em tubo que abrange todos os grupos sanguíneo.

15.4.1 Preparação da Amostra

Preparar uma suspensão de hemácia a 3-5% da seguinte forma:

Em um tubo de vidro adicione 0,5ml de solução salina e em seguida adicione 1 gota (50 µl) de sangue total ou 25 µl de concentrado de hemácias, misture suavemente.

15.4.2 Procedimento:

a) Identifique um tubo de vidro com o número da doação e o antígeno a ser pesquisado;
b) Pipete 50 µl de soro anticorpos monoclonais;
c) Pipete 50 µl da suspensão de hemácia;
d) Homogenize bem e incube a temperatura ambiente (18-25 graus) por 5 minutos;
e) Centrifugue durante 20 segundos a 1000 g ou durante 1 minuto a 125 g;
f) Homogenize suavemente os eritrócitos até que ocorra a suspensão, verifique macroscopicamente sinais de aglutinação sobre uma fonte de luz.

15.4.3 Interpretação dos Resultados

O resultado é dado em cruzes, onde:

Positivo: Uma aglutinação de 1 + a 4+ é indicadora de reação entre o anticorpo e os eritrócitos. Quando positivo, indica a presença do antígeno que está sendo pesquisado.

Negativo: A inexistência de aglutinação visível indica não ter ocorrido reação entre o anticorpo e os eritrócitos. Quando negativo, indica a ausência do antígeno que está sendo pesquisado.

16 ALOIMUNIZAÇÃO

A aloimunização eritrocitária é uma importante complicação transfusional que ocorre quando um receptor transfunde hemácias com antígenos desconhecidos ao seu organismo. (BELAI, 2011). Ela também pode ocorrer em gestantes onde os fetos expressam em suas células sanguíneas antígenos de origem paterna, nos quais podem chegar à circulação materna durante a gestação ou no parto. (RODRIGUES et.al., 2013)

A aloimunização eritrocitária nada mais é que a produção de anticorpos anti-eritrocitário que reage com os eritrócitos de um indivíduo sensibilizado. Ela ocorre frequente em pacientes politransfundidos ocasionando em dificuldades transfusionais, principalmente quando há presença de antígenos de alta frequência e também de anticorpos, os quais por muitas vezes não são detectados na rotina de um banco de sangue. (CRUZ et.al., 2011)

A imunogenicidade do paciente vai aumentando no decorrer das transfusões, pois novos aloanrticorpos são formados tornando cada vez mais difícil encontrar hemocomponente compatível com o mesmo. A aloimunização eritrocitária limita a disponibilidade de concentrado de hemácia compatível para futuras transfusões além de ser risco de hemólise tardia e de quadros graves de hiper-hemólise. (RODRIGUES et.al., 2013)

A aloimunização pode estar relacionado a alguns fatores, sendo eles: idade do paciente, número de transfusões recebidas, doenças de base pré disponentes, diferenças antigênicas entre receptor e doador, doenças de base, expressão do HLA (antígeno de histocompatibilidade). (MENEGATI, 2019)

Os antígenos que estão mais frequentes na aloimunização são os dos seguintes grupos sanguíneos: Rh, Kell, Kidd, Duffy, Diego e MNS. (MOULDS, 2010); Os aloanticorpos anti-eritrocitários dos grupos Rh, Kell, Duffy e Kidd, são os que possuem maior importância clínica, pois reagem a 37C e podem desencadear uma hemólise no receptor de sangue e no feto ou recém-nascido. (MENEGATI, 2019).

A identificação dos antígenos que podem induzir a formação de aloanticorpos ocorre através do teste de fenotipagem eritrocitária. O teste possui grande importância, pois possibilita aos pacientes encontrar hemocomponente compatível antigenicamente, excluindo antígenos irregulares positivos (que poderiam provocar aloimunizações posteriores) e compatibilizando com antígenos irregulares negativos, evitando aloimunizações futuras. (RODRIGUES et.al., 2013)

17 METODOLOGIA

Realizamos uma revisão de literatura com busca nas plataformas de pesquisa, Scielo, Pubmed, Google Acadêmico. Os artigos foram pesquisados com data de publicação após 2005 e palavras-chave como: Blood Transfusion, Aloimunização, Transfusão de Sangue, Fenotipagem Eritrocitária, Imuno-hematologia, Erythrocyte Phenotyping, Immunohematology e Alloimmunization, Grupos Sanguíneos, Blood Groups.

Adotamos os seguintes critérios de inclusão: artigos que abordam as variáveis em estudo, artigos em inglês e português, revisões bibliográficas, publicações em revistas da área, livros sobre o tema e critérios de exclusão: relatos de casos, artigos de opinião, comentários ou cartas, estudos e/ou artigos em animais.

18 DISCUSSÃO

Um dos maiores riscos da transfusão sanguínea é a formação de anticorpos anti-eritrocitários, que resulta nas disparidades entre doador e receptor. (KANGIWA U, et. al., 2015).

A aloimunização eritrocitária é uma importante complicação transfusional que ocorre quando um receptor transfunde concentrado de hemácias com antígenos desconhecidos ao seu organismo. (BELAI, 2011). Tais incompatibilidades entre doador x receptor pode ocasionar complicações imunológicas e aloimunizações, com incidência global variando entre 18 e 36%, aumentando assim as comorbidades do paciente. (KANGIWA U, et. al., 2015).

A identificação dos antígenos que podem induzir a formação de anticorpos ocorre através do teste de fenotipagem eritrocitária. O teste possui grande importância, pois possibilita aos pacientes encontrar hemocomponente compatível antigenicamente, excluindo antígenos irregulares positivos e compatibilizando com antígenos irregulares negativos, evitando aloimunização futuras (RODRIGUES et. 2013).

O Ministério da Saúde orienta com a Portaria Nº 158, de 4 de fevereiro de 2016 na Seção VI - Dos Exames de Qualificação no Sangue do Doador, no artigo 124, a realização da fenotipagem de antígenos eritrocitários dos sistemas Rh (D, C, c, E, e) e Kell (K1) nas amostras de sangue de doadores, conforme as demandas do serviço de hemoterapia. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Em um estudo realizado em 2015 Rodrigues afirmou que para um paciente politransfundido, o Concentrado de Hemácia compatível com os antígenos que ele apresenta em seus eritrócitos irá proporciona-lo uma transfusão mais segura e com um menor risco de reação pós transfusional. E a Fenotipagem eritrocitária tem como função principal promover aos pacientes uma maior segurança transfusional e disponibilidade de hemocomponente compatível caso necessário uma nova transfusão.

Rodrigues et.al, em 2013, defendeu que a fenotipagem eritrocitária é essencial para a profilaxia da aloimunização e proporciona aos pacientes politransfundidos uma

maior segurança minimizando as possíveis reações transfusionais, que por muitas vezes são graves.

19 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo nos permitiu realizar um levantamento bibliográfico onde evidenciamos a importância da realização da fenotipagem eritrocitária dos Concentrados de Hemácia para a terapia transfusional. Levando em consideração que o simples fato de ter o conhecimento sobre a classificação ABO/RH dos doadores de sangue não são suficientes, pois os pacientes que necessitam de transfusões regulares poderão apresentar aloimunização decorrente da presença de anticorpos irregulares dos outros 06 sistemas abordados neste estudo ou dos aproximadamente outros 250 não citados neste trabalho.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, E. S. N; BATISTETI, C. B; CALUZI, J. J; LIMA, S. G. **O sistema de grupo sanguíneo Rh.** 2006. Filosofia e História da Biologia, v. 2, p. 85-101, 2007. Disponível em: <http://www.abfhib.org/FHB/FHB-02/FHB-v02-06-Caroline-Batistete-et-al.pdf>. Acesso em: 15 junho de 2021.

ALVES, V. M, *et al*. **Alloimmunization screening after transfusion of red blood cells in a prospective study**. março de 2012. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2012; 34(3): 206-11. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/232226527_Alloimmunization_screening_after_transfusion_of_red_blood_cells_in_a_prospective_study>. Acesso em: 20 junho de 2021.

ALVES. V. M; *et al*. **Pesquisa de aloimunização após transfusão de concentrados de hemácias em um estudo prospectivo**. 2012. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2012; 34(3): 206-11 Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/9PXdm3KkjB5jd3MNshkZSdt/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 17 maio 2021.

BEIGUELMAN, B. **Os Sistemas Sanguíneos Eritrocitários**. 3° ed. Ribeirão Preto: FUNPEC, 234 p., 2003.

BELAI, S. C.S. **Fenotipagem Eritrocitária De Antígenos Pouco Usuais E Sua Importância Em Transfusões Sanguíneas**. 2011. Obtenção do título de especialista em Hematologia e Banco de Sangue. São José do Rio Preto – SP, 2011 Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/imunohematologia/13-Fenotipagem-eritrocitaria.pdf>. Acesso em 19 junho de 2021.

BORGES, R. C; SILVA, J. K. A; GOUVEA, P. P.F. **Importância Clínica dos Grupos Sanguíneos na Transfusão de Sangue: Uma Revisão Bibliográfica**. 2020. Anais do 19 Simpósio de TCC do Centro Universitário ICESP. 2020(19); 73-81. Disponível em: <http://nippromove.hospedagemdesites.ws/anais_simposio/arquivos_up/documentos/artigos/7e5d11e3a404c23114182dcf9268d5fa.pdf>. Acesso em: 15 junho de 2021.

CADENA, Nelson. O pioneirismo na transfusão de sangue na Bahia e norte e nordeste. **Bahia Blogs**. mar 12, 2020. Publicado simultaneamente com a edição digital do Correio* em 12/03/2020. Disponível em: <https://blogs.ibahia.com/a/blogs/memoriasdabahia/2020/03/12/o-pioneirismo-na-transfusao-de-sangue-na-bahia-e-norte-e-nodeste/>. Acesso em: 15 junho de 2021.

CARVALHO, T. V. **Desenvolvimento de estratégia de Genotipagem para discriminação de alelos antitéticos do sistema do grupo sanguíneo Diego utilizando Pool de DNA**. 2018. Dissertação (Hemoterapia e Medicina Transfusional) Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Ribeirão Preto. 2018. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17155/tde-19072018-141223/publico/THIAGOVIANNADECARVALHO.pdf>. Acesso em: 17 maio 2021.

CASSIANO, B. Brasil consegue ampliar transfusões de sangue, mas coleta diminui. Agência Saúde. **Ministério da Saúde**. 12 de junho de 2020 as 20h46. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/brasil-consegue-ampliar-transfusoes-de-sangue-mas-coleta-diminui>. Acesso em: 17 maio 2021.

CASTILHO, L; JUNQUEIRA, P. **A história do sistema de grupos sanguíneos**. 2002. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/WX8BpLLDKrrJdpRpQLZ5Jyd/?lang=en#>. Acesso em: 17 maio 2021.

COELHO, I. G; ROQUE, L. S. **Caracterização do perfil antigênico eritrocitário de doadores voluntários e pacientes politransfundidos do Hemocentro de**

Ribeirão Preto. 2013. 45f. Monografia (Curso de Aprimoramento Profissional). Hospital das Clínicas- Faculdade de Medicina “Universidade de São Paulo” (HCFMRP/USP). Campus Ribeirão Preto, 2013. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ses-31477> Acesso em: 17 maio 2021.

CREDIDIO, D. C. **Variantes do antígeno RhD: estudo sorológico e molecular**. 2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010. Disponível em: < http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/310414> Acesso em: 17 maio 2021.

CRUZ, R. O *et al*. **Incidência de aloimunização eritrocitária em pacientes poli transfundidos**. 2010. Trabalho realizado no Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE, São Paulo (SP), Brasil. (sp), v. 9, n. 2, p.173-178,2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eins/a/kFh4LcLLJS6YMbJhs9qCgmF/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 17 maio 2021.

FLEGEL, W. A. **The genetics of the rhesus blood group system**. 2007. Blood Transfusion. Doi: 10.2450/2007.0011-07. Dtsch Arztebl, v. 104, p. 651-657, 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2535884/>. Acesso em: 17 maio 2021.

GIRELLO, A. L; KUHN, T. I. B. B. **Fundamentos da imunohematologia eritrocitária.** 4ª ed. Editora Senac. São Paulo. 2016.

GUIMARÃES, H.C.T. **Os sistemas de grupos sanguíneos kell, kidd e duffy**. Academia de ciência e tecnologia AC&T CIENTÍFICA, vol 1, número 1, 2018.

HARMENING, D. M. **Conservação do sangue: perspectivas históricas, revisão do metabolismo e tendências atuais**. 2019. In: ___. Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão. Rio de Janeiro: Revinter, 2006. P. 1-19.

HOFFBRAND, A. V; MOSS, P. A. H. **Fundamentos em Hematologia**. 7ª ed. Editora Artmed Porto Alegre, 2013.

JI, Y. *et al*. **Novel alleles at the Kell blood group locus that lead to Kell variant phenotype in the Dutch population**. 2015. NIH National Library of Medicine. v., p., 2015.

JÚNIOR, D. M. L; COVAS, D. T; BORDIN, J. O. **Tratado de Hematologia**. 2018. 1ª ed. Capítulo 79, Página: 777; São Paulo, Editora Atheneu, 2013.

JUNQUEIRA, P. C; ROSENBLIT, J; HAMERSCHLAK, N. **História da Hemoterapia no Brasil**. 2005. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. São Paulo. 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/KPf53b35B5jDZqSkmtJKkZj/?lang=pt>. Acesso em: 17 maio 2021.

KANGIWA; U, *et al.* **Padrão e prevalência de aloimunização em pacientes com múltiplas transfusões de células falciformes na Nigéria**. 2015. Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA. Biomarker Res . 2015; 3 (1): 26 10.1186 / s40364-015-0050-3. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4603770/>. Acesso em: 17 maio 2021.

LAWICKI, S; COVIN. R. B; POWERS, A. A. **O Sistema de Grupo Sanguíneo Kidd (JK)**, 2017. 3ª ed. Comentários sobre medicina transfusional, Volume 31. 2017, Páginas 165-172. ISSN 0887-7963. Disponível em: <https://scite.ai/reports/the-kidd-jk-blood-group-O1jv84>. Acesso em: 17 maio 2021.

MENEGATI, S. F. P. **Discrepância entre fenótipos e genótipos: implicação na segurança transfusional**. 2019. Dissertação (Mestrado em ciência, na área de clínica medica) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências

Médicas. Campinas, 2019. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/335487/1/Menegati_SheilaDeFatimaPerecin_M.pdf>. Acesso em: 17 maio 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. 2ª ed. 1ª reimpressão. **Guia para uso de hemocomponentes.** ISBN 978‑85‑334‑2161‑5. Brasília, 2015.

MOTA, M; *et al*. **Incidência de aloimunização eritrocitária em pacientes politransfundidos**. 2011. Einstein. São Paulo. 9 (2 Pt 1):173-8. Disponível em: <https://journal.einstein.br/pt-br/article/incidencia-de-aloimunizacao-eritrocitaria-em-pacientes-poli-transfundidos/>. Acesso em: 17 maio 2021.

MOULDS, J. M. **Futuro dos testes moleculares para antígenos de glóbulos vermelhos**. 2010. 2ª ed. Volume 30. ScienceDirect. Junho 2010. LA – EUA. 30 (2): 419-29). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0272271210000107>. Acesso em: 17 maio 2021.

NARDOZZA, L; SZULMAN, A; BARRETO, J, A; JUNIOR, E. A. **Bases moleculares do sistema Rh e suas aplicações em obstetrícia e medicina transfusional**. 2010. Revista da Associação Médica Brasileira. 2010; 56(6): 724-8 São Paulo, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ramb/a/BB8fpp4Gb9y3SVChyHwMDps/?lang=pt>. Acesso em: 17 maio 2021

OLIVEIRA, M. B. S. C; RIBEIRO, F. C; VIZONNI, A, G. **Conceitos básicos e aplicados em imuno-hematologia**. 1ª ed. Editora Lisa Stuart. Rio de Janeiro, 2013.

OLIVEIRA, M. R.; GATTI, L.L. **Importância dos sistemas sanguíneos RH, Lewis, Duffy, Kell, MNS e Kidd em politransfusões**. 2010. Graduada em Ciências Biológicas - Faculdades Integradas de Ourinhos / FEMM Professor Doutor do

Departamento de Ciências Biológicas - Faculdades Integradas de Ourinhos /FEMM; 2010. Disponível em: <http://www.cic.fio.edu.br/anaisCIC/anais2010/pdf/03BIO/31BIO.pdf>. Acesso em: 17 maio 2021.

RODRIGUES R; *et. al*. **Aplicabilidade da fenotipagem eritrocitária em doadores voluntários e pacientes politransfundidos**. 2013. Saúde Pesquisa. v. 6 n. 3 (2013): set./dez. Disponível em: <https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/2614/2150>. Poli> Acesso em: 17 maio 2021.

RODRIGUES, A. R. **Sistemas sanguíneos e aloimunização eritrocitária: Importância biológica e relevância clínica**. 2015. Obtenção de especialista em Hematologia Clínica, Academia de Ciência e Tecnologia, São José do Rio Preto, 2015. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/imunohematologia/19-Sistema-sanguineo.pdf> Acesso em: 17 maio 2021.

SABINO, J. S. **Determinação da incidência de RhD fraco e RhD parcial na população da área de abrangência do Hemocentro de Botucatu**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, São Paulo, 2008. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/88098> Acesso em: 17 maio 2021.

SCHIMIDT, L. C; *et al***. Impact of a confirmatory RhD test on the correct serologic typing of blood donors**. 2015. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia v. 37(5), p. 302-305, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/BrvRJ5hTbZDt9LQvYxPQDnG/abstract/?lang=en> Acesso em: 17 maio 2021.

VIZZONI, A. G. **Estudo da prevalência entre sistemas de grupos sanguíneos ABO, RH, Kell, Kidd, Duffy, MNS e formas clínicas da doença de Chagas**. 2016.

Tese (Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas). Arca. Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/26508> Acesso em: 17 maio 2021.

ZAGO, M. A; Falcão, R. P; PASQUINI, R. **Tratado de hematologia**. 2013. 1ª ed. Editora Atheneu. São Paulo, 2013.