



PROGRAMA DE APRIMORAMENTO
PROFISSIONAL
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS



GABRIELLE SOUZA QUITÉRIO
STÉFANNI ALEXSANDRA GABIOLI DE SOUZA

Fenótipos sanguíneos raros no hemocentro de Ribeirão Preto

RIBEIRÃO PRETO
2018



PROGRAMA DE APRIMORAMENTO
PROFISSIONAL
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS



GABRIELLE SOUZA QUITÉRIO
STÉFANNI ALEXSANDRA GABIOLI DE SOUZA

Fenótipos sanguíneos raros no hemocentro de Ribeirão Preto

Monografia apresentada ao Programa de Aprimoramento Profissional/CRH/SES-SP, elaborada no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP/ Hemocentro

Área: Técnicas Laboratoriais Aplicadas em Hemoterapia

Orientadora: Flávia Leite Souza Santos

Supervisora Titular: Vanderléia Bárbaro Valente

RIBEIRÃO PRETO
2018

AGRADECIMENTOS

Agradecemos, primeiramente, aos nossos pais e irmãs por toda paciência, confiança, carinho e apoio durante o aprimoramento e em todos os momentos de nossas vidas. Muito obrigada por serem exemplos a serem seguidos.

As nossas amigas de aprimoramento Raíssa e Daniela, pela amizade e boa convivência que tivemos durante todo esse ano. Em especial à Mariana Burgos Fratucci, aprimoranda em imunogenética, por todos os conselhos e amizade.

Aos funcionários de todos os laboratórios que tivemos o privilégio de conhecer e aprender mais: obrigada pela paciência conosco, iniciantes no universo da hemoterapia; foram meses em que pudemos ver a dedicação, ética e seriedade com que desenvolvem seus respectivos trabalhos. Um agradecimento especial à Emile Cristina de Souza Bettarello, sempre disposta a ajudar, paciente em suas explicações e essencial para sanar nossas dúvidas quanto à imuno-hematologia.

Um agradecimento especial à nossa orientadora, Flávia L. S. Santos, médica hematologista e responsável médica pelo setor de imuno-hematologia da Fundação. Sua orientação e seus conhecimentos nos mostraram como é de suma importância o trabalho desenvolvido neste centro de hemoterapia.

E um agradecimento mais que especial à nossa supervisora, Vanderléia Bárbaro Valente e Renata Rosada de Biase, pela oportunidade que tivemos. Desde a seleção para o programa de aprimoramento até sua conclusão, vocês sempre estiveram presentes, guiando e tornando-nos profissionais éticos e capacitados para os desafios que enfrentaremos a partir de agora. Nada disso seria possível sem a ajuda de vocês. Muito obrigada.

“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana”

(Carl Jung)

RESUMO

QUITÉRIO, G.S; SOUZA, S.A.G. **Fenótipos sanguíneos raros no Hemocentro de Ribeirão Preto**. 2017. f. Monografia (Curso de Aprimoramento Profissional). Hospital das Clínicas- Faculdade de Medicina “Universidade de São Paulo” (HC-FMRP/USP). Campus Ribeirão Preto, 2018.

Os antígenos eritrocitários são moléculas de carboidratos ligadas a proteínas da membrana da hemácia, formando glicoproteínas, ou moléculas de carboidratos associadas a lipídios, formando os glicolipídios. Os antígenos eritrocitários são capazes de induzir a resposta imune e levar a produção de anticorpos quando indivíduos que não os expressam são expostos a eles durante transfusões ou gestações. Por exemplo, se um indivíduo RhD negativo hígido e jovem é exposto à transfusão de uma unidade de hemácias RhD positiva, ele tem 80% de chance de desenvolver o anticorpo anti-D. Apesar de não haver um consenso entre os especialistas sobre a definição de anticorpo de significado clínico, normalmente considera-se de significado clínico os anticorpos capazes de reduzir a sobrevivência da hemácia transfundida e/ou de provocar a doença hemolítica do feto e recém-nascido (DHFRN). Os antígenos eritrocitários podem ser de baixa frequência, de frequência intermediária ou ainda de alta frequência. Indivíduos que não expressam antígenos de alta frequência são em geral considerados como raros. A maioria dos países considera como raro aquele fenótipo cuja prevalência é inferior a 1:1000, mas este valor pode variar de 1:10000 a 1:250. Um paciente com sangue raro que desenvolve o respectivo anticorpo representa um desafio ao banco de sangue, pois exige um doador raro como ele para que a transfusão seja possível. Para atender à necessidade específica desses pacientes raros, considerando a grande diversidade étnica em nosso país e a grande extensão do território nacional, é necessária a estruturação de um programa de doador raro, permitindo o fácil e rápido acesso ao doador quando necessário. O Hemocentro de Ribeirão Preto é hoje um centro de referência em coleta, processamento, testagem, distribuição de sangue e hemocomponentes. Além disso, o Hemocentro realiza o atendimento de pacientes portadores de doenças hematológicas, desenvolve programas de pesquisa em Hemoterapia, Hematologia, Transplante de Medula Óssea e Terapia Celular e atua na área de ensino. Para atender a demanda específica de seus pacientes, especialmente aqueles em esquema transfusional crônico e aloimunizados, o hemocentro estruturou desde 1999 um banco de doadores fenotipados que hoje conta com mais de 84 mil doadores cadastrados. O objetivo deste trabalho foi estudar o banco de doadores fenotipados através do sistema informatizado do Hemocentro de Ribeirão Preto em busca de doadores de sangue raro e de realizar a convocação daqueles que não apresentassem a confirmação prévia do fenótipo.

Palavras-chave: Imunohematologia, fenótipos raros, sistemas sanguíneos.

ABSTRACT

QUITÉRIO, G.S; SOUZA, S.A.G. **Fenótipos sanguíneos raros no Hemocentro de Ribeirão Preto**. 2017. f. Monografia (Curso de Aprimoramento Profissional). Hospital das Clínicas- Faculdade de Medicina “Universidade de São Paulo” (HC-FMRP/USP). Campus Ribeirão Preto, 2018.

Erythrocyte antigens are carbohydrate molecules linked to the red cell membrane's proteins, forming glycoproteins, or lipid-associated carbohydrate molecules, forming glycolipids. The erythrocyte antigens can induce the immune response and lead to the antibody production when individuals who do not express them are exposed to them during transfusions or gestations. Exemplifying, if a healthy and young RhD negative individual is exposed to a unity of RhD positive blood cells through transfusion, he has an 80% chance of developing the anti-D antibody. Although there is no consensus among the experts on the definition of clinically significant antibody, usually is considered as clinically significant the antibodies that are able to reduce the survival of the transfused blood cell and/or to cause the hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN). The erythrocyte antigens may be of low frequency, intermediate frequency or even high frequency. The individuals who do not express high frequency antigens are considered as rare ones. Most countries consider as rare that phenotype whose prevalence is inferior than 1:1000, but this value may range from 1:10000 to 1:250. A rare blood patient who develops the respective antibody represents a challenge to the blood bank because it demands a rare donor like him to enable the transfusion. To meet the specific needs of these rare patients, considering the elevated ethnic diversity of our country and the wide national territory extension, the structuring of a rare donor program is necessary, enabling the easy and fast access to a donor whenever necessary. The Regional Blood Center of Ribeirão Preto (Hemocentro) is, by this date, a reference center in collection, processing, testing, and distribution of blood and blood components. Furthermore, the Hemocentro performs the health care of patients with hematological diseases, develops research programs Hemotherapy, Hematology, Bone Marrow Transplantation and Cell Therapy, and works in the teaching field. To meet the specific demand of its patients, especially those in chronic and alloimmunized transfusion, the hemocenter structured since 1999 a phenotyped donors' bank that today has more than 84,000 registered donors. The objective of this work was to

study the phenotyped donor's bank through the computerized system of the Regional Blood Center of Ribeirão Preto in search of rare blood donors and to convoke those who did not present the previous confirmation of the phenotype.

Key words: Immunohematology, rare phenotypes, blood systems.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
1.1 Antígenos Eritrocitários	9
1.2 Classificação dos antígenos eritrocitários	12
1.3 Fenótipos Sanguíneos Raros	16
1.4 Hemocentro de Ribeirão Preto	18
2 OBJETIVO	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivo Específico	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
4 RESULTADOS	23
5 DISCUSSÃO	25
6 CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

1.1 Antígenos Eritrocitários

Os antígenos de grupos sanguíneos eritrocitários são estruturas macromoleculares localizados na superfície extracelular da membrana dos eritrócitos podendo ser de natureza carboidrato, proteína ou glicoproteína. Muitos desses antígenos são altamente imunogênicos e podem portanto sensibilizar indivíduos desprovidos dessas moléculas durante transfusões e/ou gestações. Esses indivíduos previamente sensibilizados, se expostos novamente ao antígeno eritrocitário, podem apresentar reações transfusionais hemolíticas e no caso de mulheres em idade fértil, a gestação pode ser comprometida pela doença hemolítica do feto e recém-nascido (DHFRN). (RODRIGUES, 2016)

Atualmente, entre os 346 antígenos eritrocitários descritos, 308 antígenos são classificados em 36 sistemas, pois suas bases moleculares são bem definidas. Os demais 38 antígenos são classificados em coleções ou séries e à medida que suas bases genéticas são descobertas, o antígeno é classificado dentro de um sistema já existente ou passa a compor um novo sistema de grupo sanguíneo, como ocorreu com o sistema AUG, que até 2014 era classificado na série 901.

Os antígenos de grupos sanguíneos podem ser classificados quanto a função em: proteínas estruturais, transporte, receptores/moléculas de adesão, enzimática, complemento, proteínas regulatórias e outras, sendo que um antígeno eritrocitário pode apresentar mais que uma função. (BONIFACIO ; NOVARETTI, 2009)

Em 1900, o pesquisador austríaco Karl Landsteiner, ao reagir o soro e as hemácias suas e de cinco colegas de laboratório, percebeu que alguns testes aglutinavam e outros não. Desta forma, nomeou os primeiros antígenos de grupos sanguíneos como A, B e C, que depois tornou-se O (do alemão "Ohne ",que significa ausência). Apenas em 1902 von Decastello e Sturle, colaboradores de Landsteiner, descreveram o grupo AB. (BORDIN; JÚNIOR; COVAS, 2007; HARMENING, 2015)

O sistema ABO é único, pois os anticorpos anti-A e anti-B são produzidos "naturalmente" nos indivíduos do tipo B e A, respectivamente. Landsteiner chegou a essa conclusão, entretanto, há evidências que sugerem que a produção de anti-A e anti-B seja estimulada por contato com bactérias quimicamente similares aos

antígenos A e B. A produção de anticorpos é iniciada ao nascimento, com uma expressão dos antígenos eritrocitários baixa até os seis meses de vida. (HARMENING, 2015)

Bernstein, em 1924, propôs uma teoria para a herança dos grupos sanguíneos ABO, na qual o indivíduo herda um gene de cada um dos pais e são esses genes que determinam diretamente os antígenos A e B presentes na membrana dos eritrócitos. Entretanto, sabe-se que os antígenos A e B não são produtos primários dos genes ABO, ou seja, estes produzem glicosiltransferases específicas, que acrescentam açúcares à substância precursora básica (antígeno H) presente na membrana das hemácias. (HARMENING, 2015) O gene *H* (*FUT1*),

Figura 1: Antígenos e Genótipos do Sistema ABO

Grupo ABO	Antígeno ABO	Genótipo ABO
O	nenhum	OO
A1	A1	A ¹ A ¹ , A ¹ A ² , A ¹ O
B	B	BB e BO
A1B	A e B	A ¹ B
A2	A2	A ² A ² , A ² O
A2B	A2B	A ² B

Fonte: Bordin, Junior e Covas (2007)

localizado no cromossomo 19 e presente em 99% da população na forma homozigota HH, precisa estar ativado para que ocorra a expressão dos genes ABO. A partir do antígeno H são adicionados açúcares responsáveis pelo sistema em questão. (CASTILHO, L, 2007)

Os antígenos ABO são glicolipídeos sobre um carboidrato comum: o alelo A especifica a glicosiltransferase A que, a partir de um nucleotídeo doador, transfere N-acetilgalactosamina à substância precursora básica, o antígeno H, enquanto o alelo B, que codifica a glicosiltransferase B, transfere o açúcar D-galactose ao antígeno H. Quanto ao alelo O, este não leva a produção de uma glicosiltransferase ativa, portanto, não transfere açúcar ao antígeno H, que permanece inalterado. Já quando o indivíduo herda os genes A e B, as duas glicosiltransferases são ativas e convertem o antígeno H em antígeno A e B. (HARMENING, 2015)

Embora seja o sistema sanguíneo mais importante na prática transfusional, os antígenos ABO não têm sua fisiologia elucidada e podem ser encontrados, além da superfície das hemácias, em linfócitos, plaquetas, endotélio capilar venular e arterial, medula óssea, saliva, urina e leite. (BATISSOCO; NOVARETTI, 2003)

O genes *ABO*, localizados no braço longo do cromossomo 9 (9q 34.1 9q 34.2) são similares e diferem em poucas substituições de nucleotídeos que alteram a seqüência de aminoácidos das glicosiltransferases codificadas. (MATTOS et al, 2001; FUNG et al., 2014).

Após o sistema sanguíneo ABO, o sistema Rh é um dos mais complexos e de relevância na prática transfusional, com alto grau de polimorfismo e com 46 antígenos. (DANIELS, 2002), sendo cinco deles (D, C, c, E, e) os responsáveis por problemas clínicos associados ao sistema Rh. (BARONE; FERNANDES, 2015)

O sistema Rh foi descoberto no final da década de 1930, quando Stetson e Levine descreveram o caso de uma paciente gestante que desenvolveu reação transfusional hemolítica; após o nascimento do bebê, natimorto, a mãe necessitou de transfusão e seu marido foi o doador, entretanto, a mesma apresentou os sinais de reação hemolítica aguda. Portanto, após isolamento de um anticorpo no soro materno, postulou-se que o feto tinha um antígeno, que ausente na mãe, provocou sua sensibilização, e que o marido, também portador desse mesmo antígeno, desencadeou a reação transfusional. (HARMENING, 2015)

Após as descobertas dos sistemas ABO e Rh, numerosos antígenos eritrocitários foram identificados, mas, em sua maioria, são antígenos comuns à maioria dos seres humanos ou são de baixo poder imunogênico, não representando, portanto, risco importante na rotina transfusional. Entretanto, alguns desses podem causar reação hemolítica transfusional ou DHRN, como sistema Kell, MNS, Kidd e Duffy.

Depois do sistema Rh, o sistema Kell é o mais polimórfico, com 24 antígenos de alta e baixa frequências. Foi o primeiro sistema a ser descoberto com o Teste da Antiglobulina Humana, quando o anticorpo anti-K foi encontrado em um caso de doença hemolítica perinatal; o antígeno K (Kell) e seu par antitético k (Cellano), são, respectivamente, de baixa e alta frequências. (HARMENING, 2015) Os antígenos do sistema Kell são altamente imunogênicos, cujos anticorpos são, na maioria das vezes, do tipo imune, envolvidos em reações transfusionais, assim como na DHRN. (BORDIN; JUNIOR; COVAS, 2007).

O sistema MNS, segundo sistema sanguíneo a ser descrito e de uma complexidade menor apenas que o sistema Rh, foi descoberto em 1927 por Landsteiner e Levine, quando recuperaram do soro de coelhos os anticorpos anti-M e anti-N; após a implementação do teste da antiglobulina humana, em 1947, por Walsh e Montgomery, o antígeno S foi descoberto, sendo apenas em 1951 a descoberta de seu par antitético, s. (HARMENING, 2015; DANIELS, 2002)

No soro de um paciente hemofílico politransfundido identificou-se um anticorpo que reagia com 64,9% das 205 amostras de sangue testadas de indivíduos

não aparentados na população inglesa; a este anticorpo foi dado o nome de anti-Fy^a, em homenagem ao paciente em questão, Sr. Duffy. Um dos aspectos interessantes dos antígenos Duffy é sua função de receptor de merozoítas de *Plasmodium vivax* agente responsáveis pela malária no homem, portanto, eritrócitos Fy (a- b-) são resistentes à infecção pelo *Plasmodium*, constituindo este, um exemplo de seleção natural. (JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005) Os antígenos não foram detectados em plaquetas, linfócitos, monócitos ou granulócitos, mas foram encontrados em tecidos não eritróides, como cérebro, cólon, pulmões, baço, tireóide, timo e rins. (HARMENING, 2015)

De acordo com Harmening (2015), o sistema sanguíneo Kidd é o mais simples e direto; os anticorpos desse sistema tem significado na rotina de bancos de sangue, uma vez que podem ser de difícil detecção, mas são causa frequente de reações hemolíticas transfusionais. Os antígenos podem ser detectados em eritrócitos fetais a partir da 11^a semana gestacional e podem não ser muito acessíveis na superfície da hemácia, mas podem estar agrupados, sendo esta uma explicação para a baixa reação com os anticorpos correspondentes.

1.2 Classificação dos antígenos eritrocitários

Os antígenos de grupos sanguíneos eritrocitários são estruturas macromoleculares localizados na superfície extracelular da membrana dos eritrócitos podendo ser de natureza carboidrato, proteína ou glicoproteína. As funções biológicas e aspectos funcionais dos antígenos eritrocitários podem ser classificados em proteínas estruturais, receptores/moléculas de adesão, mediadores de transporte, função enzimática, sistema complemento, proteínas regulatórias e outras, onde um antígeno eritrocitário pode apresentar mais que uma função. (BORDIN; JÚNIOR; COVAS, 2007)

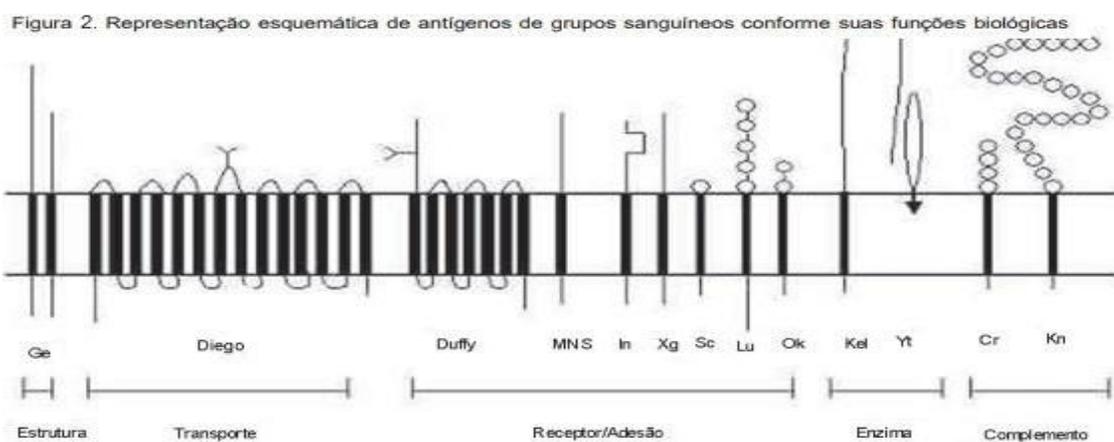
A função estrutural e de transporte têm grande importância para a regulação do pH renal e retirada de CO₂ dos tecidos, ocorrendo assim a troca iônica, o que facilita a função eritrocitária de liberar o CO₂ nos pulmões. (MURADOR; DEFFUNE, 2007)

A banda 3 é a proteína mais abundante encontrada na membrana do eritrócito, localizada na membrana basolateral das células, intercaladas nos túbulos distais e nas alças de Henle, além de ter grande relevância na manutenção do pH, a

partir da troca de cloro e ânions de bicarbonato, há interações da mesma com a proteína de membrana glicoforina A (GPA), indicando que a presença ou ausência dessa proteína pode afetar a eficácia do transporte iônico. Além disso, o N-terminal da banda 3 têm grande interação com o citoesqueleto da membrana, que quando alterado, modifica a forma eritrocitária, fato observado em pessoas com esferocitose hereditária. (MURADOR; DEFFUNE, 2007)

Os antígenos do sistema sanguíneo Gerbich apresentam atividade estrutural; são expressos nas glicoproteínas de membrana tipo I, glicoforinas C e D (GPC e GPD), cujas principais funções são a manutenção da forma celular e a estabilidade mecânica da membrana. A ausência de ambas as proteínas leva ao raro fenótipo Leach, caracterizado pela redução da estabilidade mecânica, distorção na forma dos eritrócitos e níveis variados de eliptocitose. A glicoforina C é um receptor para proteínas do *Plasmodium falciparum*. (BONIFACIO; NOVARETTI, 2009)

Os antígenos do sistema sanguíneo Diego, codificados por alelos codominantes no cromossomo 17, estão localizados na proteína banda 3, a principal e mais abundante proteína integral na membrana das hemácias, codificada pelo gene *SLC4A1* localizado no cromossomo 17q21-q22, pertencente à família dos genes transportadores de ânions. A proteína banda 3 apresenta o domínio citoplasmático N-terminal, que funciona como ponto de ancoragem para o citoesqueleto da membrana, conferindo a função de manter a integridade estrutural da membrana eritrocitária, que, quando alterada, modifica a forma dos eritrócitos, e servem também como sítio de ligação para a hemoglobina; o domínio C-terminal, que atravessa várias vezes a membrana eritrocitária, forma um canal para troca iônica de bicarbonato por cloreto (HARMENING, 2015).



Fonte: Bonifácio; Novaretti (2009)

Quanto aos antígenos do sistema Rh, estes são polipeptídeos transmembrana sendo, portanto, parte integral da membrana das hemácias. São genes codominantes, *RHD* e *RHCE*, localizados no braço curto do cromossomo 1, fortemente ligados entre si (HARMENING, 2015). A expressão dos antígenos na membrana dos eritrócitos depende da formação do “complexo Rh”, associação das proteínas RhD e RhCE com RhAG (glicoproteína Rh-associada): o domínio C-terminal das proteínas interage com a anquirina, ligante à banda 3, garantindo uma forte ligação do citoesqueleto com a membrana da hemácia. (NARDOZZA, 2010; BONIFACIO ; NOVARETTI, 2009)

O gene *JK*, localizado no locus 18q12.3 pertencente à família dos transportadores de uréia, codifica a glicoproteína do sistema sanguíneo Kidd; é uma proteína transmembrana onde são expressos os antígenos Kidd. Quando os eritrócitos atravessam altas concentrações de uréia na medula renal, a glicoproteína Kidd funciona transportando rapidamente a mesma a fim de evitar desidratação celular. (HARMENING, 2015)

Os antígenos do sistema sanguíneo Duffy, codificados pelo gene *FY*, localizado no cromossomo 1 (1q22-q23), são expressos tanto nas células eritróides como em não eritróides. A glicoproteína Duffy é do tipo transmembrana, entretanto, não tem a função de transporte, uma vez que seu domínio N-terminal está voltado para o interior da hemácia; os antígenos são receptores para merozoítas do *Plasmodium vivax* em humanos e a glicoproteína é receptora de citocinas pró inflamatórias. (BONIFACIO; NOVARETTI, 2009)

Em seguida à descoberta do sistema ABO, Landsteiner e Levine continuaram com as pesquisas em coelhos e detectaram os anticorpos anti-M e anti-N; os antígenos M e N se encontram em uma proteína chamada glicoforina A (GPA) e S e s estão na glicoforina B (GPB), e ambas são codificadas, respectivamente, pelos genes homólogos *GYP A* e *GYP B*, localizados no cromossomo 4. (HARMENING, 2015) Ambas as proteínas contêm resíduos de carboidratos com elevado conteúdo de ácido siálico, tornando a membrana dos eritrócitos negativa, impedindo, portanto, aglutinação espontânea dos eritrócitos ou que fiquem aderidos às paredes vasculares. (BONIFACIO; NOVARETTI, 2009)

O gene *LU*, que codifica duas proteínas, Lu e B-CAM sobre as quais encontram-se os antígenos do sistema sanguíneo Lutheran, está localizado no cromossomo 19 (19q 13.2), juntamente com os genes *H*, *Se*, *Le* e *LW*. Ambas

proteínas apresentam o domínio N-terminal voltado para o exterior do eritrócito, sendo que este possui cinco domínios da superfamília das imunoglobulinas ligados por pontes dissulfeto. (REID; LOMAS-FRANCIS; OLSSON, 2012) A expressão de Lu e B-CAM nos eritrócitos atuam como receptores para a proteína laminina, abundante em membranas celulares. (BONIFACIO; NOVARETTI, 2009)

Os principais antígenos representantes do sistema sanguíneo Kell são os antígenos K (Kell), seu par antitético k (Cellano), de alto poder imunogênico, Kp^a e o antitético Kp^b, encontram-se na glicoproteína transmembrana Kell, codificada pelo gene *KEL*, localizado no cromossomo 7 (7q33). Tanto em estrutura quanto sequência de aminoácidos, a proteína Kell se assemelha a uma família de endopeptidases de zinco, e é uma enzima conversora de endotelina-3 em endotelina-3 bioativa, um potente vasoconstritor, relacionando-se, portanto, com a manutenção do tônus vascular. (REID; LOMAS-FRANCIS; OLSSON, 2012; NETO, 2008)

A proteína Kx, codificada pelo gene *Xk* (cromossomo X, locus Xp21.1) têm os domínios terminais voltados para o interior dos eritrócitos e está ligada covalentemente à glicoproteína Kell. De função não muito bem elucidada, os antígenos parecem estar ligados à manutenção da integridade normal da membrana. (REID; LOMAS-FRANCIS; OLSSON, 2012)

O sistema Colton é composto por 3 antígenos, dois antitéticos, Co^a e Co^{b,e}, Co³, sendo estes expressos na proteína AQP1, uma proteína de canal de água da família das aquaporinas, codificada pelo gene *AQP-1*, locus 7p14, cuja função é facilitar a reidratação das hemácias após sua passagem pela medula renal. (REID; LOMAS-FRANCIS; OLSSON, 2012; HARMENING, 2015)

Os antígenos do grupo sanguíneo GIL são expressos na proteína AQP3, transportadora seletiva de uréia e glicerol em adição a água, codificada pelo gene *AQP3*, localizado no locus 9p13.3. Hemácias GIL negativas apresentam redução na permeabilidade ao glicerol. (BONIFACIO; NOVARETTI, 2009)

C4A e C4B são glicoproteínas adsorvidas do plasma para a membrana das hemácias; os antígenos do sistema sanguíneo Chido/Rodgers estão localizados na porção C4d de C4A e C4B, respectivamente. Sabe-se que C4A é mais eficiente na remoção de imunocomplexos, enquanto C4B liga-se eficientemente ao ácido siálico, causando hemólise. (REID; LOMAS-FRANCIS; OLSSON, 2012)

1.3 Fenótipos Sanguíneos Raros

A *American Association of Blood Banks* (AABB) considera fenótipo raro aquele cuja prevalência é menor ou igual a 1 a cada 1000 doadores, e muito raro quando a frequência é menor que 1 a cada 10000 doadores. Em outros países esta definição pode ser diferente, variando de 1:250 a 1:10000. Um fenótipo pode ser considerado raro pela ausência de um antígeno de alta frequência, por apresentar uma combinação de múltiplos antígenos negativos em diferentes sistemas ou ainda, por apresentar uma associação rara de antígenos do sistema Rh. (REESINK et al., 2008).

Quando a classificação de raro é atribuída à ausência de um antígeno de alta frequência na população, geralmente os doadores são identificados quando encaminhados ao serviço de hemoterapia para doação de sangue autóloga ou transfusão sanguínea, uma vez que apresentaram um anticorpo anti-eritrocitário que dificulta a transfusão. Neste momento, familiares, em especial irmãos, são convidados a realizar fenotipagem eritrocitária com o intuito de identificar outros doadores com as mesmas características raras. (REESINK et al., 2008; NANCE, 2009) Em casos de anticorpos contra antígeno de alta frequência, um irmão terá no mínimo 25% de chance de ser fenótipo negativo para o antígeno correspondente. (SCHÖRNER, 2015)

No caso do doador raro pela combinação de múltiplos antígenos comuns negativos, eles são identificados no momento da fenotipagem eritrocitária feita rotineiramente nos serviços de hemoterapia. (MACEDO, 2015)

Cada serviço de hemoterapia deve conhecer a composição étnica de sua população de doadores, registrando características importantes como cor da pele do doador e questioná-lo sobre sua etnia, além de realizar fenotipagem para vários antígenos de grupo sanguíneo para obter dados estatísticos confiáveis e então compará-los com os da literatura nacional e internacional. (SCHÖRNER, 2015)

Figura 3: Características de doadores de sangue raro com fenótipo negativo para antígenos de alta frequência, de acordo com o sistema sanguíneo.

System	Phenotype
RH	CCDEE, CCdee, ccdEE, CCdEE, deletions
KEL	Ko, K var, Kp(a-b-), Kp(b-), Js(b-), k-
JK	Jk(a-b-)
FY	Fy(a-b-)
LW	LW-
DO	Do(a-), Hy-, Gy(a-)
IN	In(b-)
MNS	U-, En(a-), S-s-
CO	Co(a-b-), Co(a-)
LU	Lu(a-b-), Lu(b-)
SC	Sc:-1,-2, Sc:-1
GE	Ge:-2,-3, Ge:-2, 3
CROM	Cr(a-), Es(a-), Tc(a-)
YT	Yt(a-)
DI	Di(b-), Wr(b-)
901 Series	Vel-, Lan-, At(a-), Jr(a-), Ok(a-), Lan-
Collections	I-, i-, PP ₁ P ^h -, P ^h -, LKE-, Er(a-)
H	O _h
JMH	JMH-

Fonte: Morelati et al (2007)

No Brasil, a Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados do Ministério da Saúde, assinou um convênio com o Hospital Israelita Albert Einstein em 2011 objetivando a implantação de bancos de concentrados de hemácias e plaquetas genotipadas e congeladas. O projeto teve a duração de 2 anos e a participação de 04 Hemocentros públicos: Hemocentro do Amazonas-HEMOAM, HEMORIO, Hemocentro de Santa Catarina- HEMOSC e Hemocentro da Unicamp, que já se encontram com infraestrutura, equipamentos, profissionais capacitados e procedimentos padronizados para a implantação e manutenção da estratégia

nacional de bancos de sangue de hemácias e plaquetas raras para o SUS. Estes Hemocentros seriam responsáveis por realizar genotipagem eritrocitária e plaquetária e criopreservação de hemocomponentes (bancos de sangue raros), contribuindo para a segurança transfusional de pacientes com sangue raros ou politransfundidos. (SCHÖRNER, 2015).

1.4 Hemocentro de Ribeirão Preto

O Hemocentro de Ribeirão Preto é considerado hoje um centro de referência em coleta, processamento, testagem, distribuição de sangue e hemocomponentes, além de realizar atendimento a pacientes portadores de doenças hematológicas, desenvolver programas de pesquisa em Hemoterapia, Hematologia, Transplante de Medula Óssea e Terapia Celular e atuar na área de ensino. (MACEDO, 2015)

A Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, fundação privada, de financiamento e administração autônomos, sem fins lucrativos, atua em consonância com o Plano Nacional de Sangue e Hemoderivados do Ministério da Saúde e o Plano Diretor para o Sangue e Hemoderivados do Estado de São Paulo. Ela abrange a região de Ribeirão Preto e das microrregiões de Araçatuba, Presidente Prudente, Franca, Fernandópolis, Bebedouro e Olímpia, integrada por 187 municípios e uma população estimada em 4,3 milhões de habitantes. (MACEDO, 2015). A Fundação é composta por um Hemocentro regional (Hemocentro de Ribeirão Preto), quatro Núcleos de Hemoterapia (Araçatuba, Fernandópolis, Franca e Presidente Prudente), três Unidades de Hemoterapia (Batatais, Bebedouro e Olímpia), um posto de coleta em Ribeirão Preto e quatro Agências Transfusionais (Hospital das Clínicas- Campus, Hospital das Clínicas-Unidade de Emergência, Centro de Referência de Saúde da Mulher- Mater e Santa Casa de Jales).

Para atender a demanda específica dos pacientes em regime transfusional crônico, especialmente pacientes com hemoglobinopatias e aloimunizados, é necessário contar com um banco de doadores fenotipados para os principais antígenos de grupos sanguíneos (D, C, c, E, e, K, k, Jka, Jkb, Fya, Fyb, S,s). Por esse motivo a rotina de fenotipagem de doadores foi iniciada no Hemocentro de Ribeirão Preto em 1999 de forma que hoje, o banco de doadores fenotipados conta com mais 84.000 doadores. A existência desse banco facilita muito a transfusão dos paciente com múltiplos anticorpos, mas mesmo assim, para pacientes com fenótipo

pouco comum/raros devido à ausência de múltiplos antígenos ou à ausência de antígeno de alta frequência, o serviço encontra dificuldade em obter hemácias específicas para sustentar o regime transfusional crônico que eles necessitam. Estas particularidades demandam do serviço um maior esforço para identificação, recrutamento e manutenção dos doadores.(MACEDO, 2015)

O artigo 124 da Portaria nº 158 de 04/02/2016 do Ministério da Saúde, recomenda a realização da fenotipagem dos sistemas Rh (D, C, c, E, e) e Kell (K) nas amostras de sangue de doadores e recomenda (Art.178) a fenotipagem para os antígenos do sistema Rh (E, e, C, c), Kell (K) Duffy (Fy^a, Fy^b), Kidd (Jk^a, Jk^b) e MNS (S, s) em pacientes candidatos à transfusão crônica, com o intuito de facilitar a identificação de anticorpos irregulares e/ou de guiar a transfusão profilática de fenótipo compatível e evitar a aloimunização. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013)

O Sistema de Banco de Sangue - SBS é um sistema informatizado para gerenciamento de hemocentros, bancos de sangue e agências transfusionais. Todos os relatórios técnicos e gerenciais definidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estão disponíveis no SBS Web, que atende as normas das legislações estaduais das Secretarias de Saúde e os padrões estabelecidos pela AABB, conferindo à instituição que opera o SBS, a possibilidade de acreditação internacional. (SBS, 2011). Toda informação de tipagem ABO, RhD e fenotipagem estendida de doadores e pacientes é armazenada no SBS, que permite que o usuário consiga acessar a listagem de indivíduos com o fenótipo desejado disponível no banco.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Levantamento de doadores com fenótipos raros identificados pelo sistema informatizado do Hemocentro de Ribeirão Preto.

2.2 Objetivo Específico

- Enumerar os fenótipos raros encontrados no banco informatizado;
- Confirmar o fenótipo de doadores com apenas um resultado de fenotipagem e/ou fenotipagem muito antiga.

3 MATERIAL E MÉTODO

Por meio do sistema informatizado utilizado neste serviço (SBS) e utilizando critérios previamente definidos, foi feito um levantamento retroativo (de 1996 a 2017) de dados de doadores do Hemocentro de Ribeirão Preto e seus 4 Núcleos de Hemoterapia. Trata-se de um trabalho documental que teve como finalidade catalogar, conhecer, discutir e interpretar as características fenotípicas raras das hemácias dos doadores deste serviço de hemoterapia e suas unidades.

O levantamento no sistema informatizado contemplou os fenótipos sanguíneos raros passíveis de identificação pela fenotipagem de rotina no Laboratório de Imunohematologia da Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto para os seguintes fenótipos: Rh null (D-E-C-c-e-), D - - (D+E-C-c-e-), RzRz (D+E+C+c-e-), r´r´(C+E-c-e+), r´´r´´(C-E+c+e-), M-N-, S-s-, Jk(a-b-), K null (K-k-), K+k- e Kp(b-). Na tabela a seguir encontram-se os fenótipos eritrocitários raros que é possível encontrar através da fenotipagem de rotina aplicada aos doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto e que foram utilizados na busca no sistema informatizado.

Tabela 1: Fenótipos eritrocitários raros determinados pela fenotipagem estendida de doadores.

SISTEMA SANGUÍNEO	FENÓTIPO RARO ASSOCIADO
Sistema Rh	D - - , RzRz, r´r´, r´´r´´, ryry
Sistema Kell	k-, K-k- (Kell null), Kp(b)-
Sistema Kidd	Jk(a-b-) ou Kidd null
Sistema MNS	M-N- e/ou S-s-

Após a identificação dos doadores com fenótipos raros pelo sistema informatiza (Sistema SBS), os resultados das fenotipagens foram avaliados um a um e os doadores foram divididos em doadores cujas fenotipagens já eram confirmadas (pelo menos duas fenotipagens e diferentes doações) e os que necessitavam de confirmação (fenotipagens muito antigas ou apenas uma amostra) . Conforme

procedimento operacional da instituição, uma carta foi enviada aos doadores raros não confirmados pela Comunicação Social, convidando-o a comparecer ao Núcleo e/ou Unidade de Hemoterapia mais próximo para coleta de amostras para confirmação do fenótipo.

4. RESULTADOS

Na tabela abaixo, encontram-se os fenótipos identificados como raros na primeira busca realizada no SBS (n=194) , o número de doadores por fenótipo raro avaliado, o número de doadores já confirmados antes do envio das cartas e o número de cartas enviadas pela Comunicação Social.

Tabela 2: Relação entre doadores fenótipo raro do sistema e número de confirmados antes do envio das cartas e número de cartas enviadas

FENÓTIPO RARO	Nº DOADORES SBS	Nº DOADORES CONFIRMADOS	Nº CARTAS ENVIADAS
RzRz	3	0	3
D - -	3	0	3
r´r´	16	1	15
r´´r´´	10	2	8
K-k-	9	1	8
K+k-	48	5	43
Kp ^b -	6	0	6
M-N-	9	0	9
S-s-	47	15	32
Jk(a-b-)	43	0	43
TOTAL	194	24	170

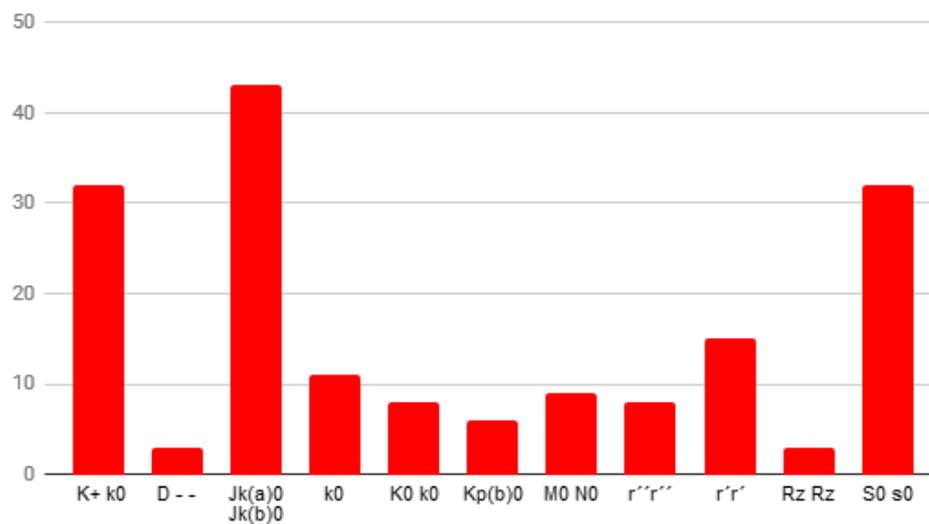
Após 4 meses da data de envio das cartas pela Comunicação Social, realizou-se um novo levantamento no Sistema SBS, utilizando os mesmos filtros e critérios de busca do levantamento inicial.

Os resultados encontram-se na tabela abaixo.

Tabela 2: Doadores que retornaram para nova fenotipagem após envio das cartas

FENÓTIPO RARO	Nº DOADORES SBS	Nº DOADORES CONFIRMADOS PREVIAMENTE	Nº CARTAS ENVIADAS	Nº DOADORES CONFIRMADOS APÓS CARTA	TOTAL CONFIRMADO NO BANCO
RzRz	3	0	3	3	3
D - -	3	0	3	0	0
r´r´	16	1	15	3	4
r´´r´´	10	2	8	2	4
K-k-	9	1	8	0	1
K+k-	48	5	43	6	11
Kp ^b -	6	0	6	0	0
M-N-	9	0	9	0	0
S-s-	47	15	32	1	16
Jk(a-b-)	43	0	43	0	0
TOTAL	194	24	170	15	39

Gráfico 1: Número de cartas enviadas por fenótipo raro



5 DISCUSSÃO

Programas de doadores raros são bem estabelecidos em países desenvolvidos. Nesses países a busca ativa de doadores com sangue raro é feita regularmente há muitos anos e até mesmo a colaboração internacional é bem estabelecida. A criação de um banco de doadores raros exige investimento em fenotipagem e genotipagem em larga escala de doadores, além da capacitação de mão de obra extremamente especializada. No Brasil, a criação de um banco nacional de doadores de sangue raro é uma iniciativa relativamente recente da Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados do Ministério da Saúde. A prevalência e o perfil de fenótipos raros que podemos encontrar em nossa população é ainda alvo de estudo. As múltiplas etnias que são encontradas no Brasil aliadas à forte miscigenação existente no país, devem conferir características ímpares à população brasileira. Além disso, a grande extensão do território nacional associada à diferente constituição étnica de cada região podem conferir uma distribuição de fenótipos raros peculiar em cada região.

Com o intuito de estruturar seu próprio banco de doadores raros o Hemocentro de Ribeirão Preto começou esse trabalho por compreender quais fenótipos raros eram encontrados em seu banco de fenotipados, que contém registros de fenótipos realizados desde 1996 e que conta com mais de 84.000 doadores fenotipados (fenótipo Rh e Kell ou fenotipagem estendida). A finalidade desse primeiro passo da estruturação desse banco foi realizar um levantamento dos fenótipos raros já existentes no sistema informatizado e iniciar um processo de captação sistematizado desses doadores.

Foram encontrados no banco informatizado 194 fenótipos raros, dentre os quais 170 apresentavam fenótipos muito antigos ou apenas uma fenotipagem. Dentre os 170 doadores raros não confirmados presentes no banco informatizado, 8,82% tiveram seus fenótipos confirmados após a convocação por carta realizada em Setembro de 2017. Após esta medida, o banco de doadores raros, que contava com 12,3% (24/194) de doadores confirmados, passou a contar com 20,1% (39/194) de fenótipos confirmados. Apesar de ter colaborado com o aumento da porcentagem de fenótipos confirmados em 7,8%, a convocação por carta mostrou-se pouco efetiva já que apenas 15 dos 170 doadores retornaram. Acredita-se que a baixa eficácia da carta esteja relacionada a múltiplos fatores, entre eles a desatualização

do endereço no cadastro do doador e ao baixo impacto da informação sobre a população alvo, especialmente devido à dificuldade de compreender a informação nela contida, ainda que utilizada linguagem acessível e clara.

Entre os fenótipos raros avaliados, o fenótipo S-s- foi aquele com maior número de doadores raros confirmados previamente (15/47). A maior taxa de confirmação prévia para este fenótipo deve-se aos esforços conjuntos empregados pela equipe de imuno-hematologia e pelo setor de captação em 2016 durante um projeto direcionado para confirmação da base molecular deste fenótipo por genotipagem, que é fundamental para a adequada utilização em transfusão. Naquele período, observou-se que o retorno inicial após convocação por carta havia sido muito baixo e que o contato telefônico teve maior impacto sobre os doadores e garantiu o retorno de aproximadamente metade dos doadores com o fenótipo S-s- cadastrados na época. Após a nova convocação por carta em Setembro/2017 apenas 1 dos 32 doadores convocados com o fenótipo S-s- retornou. O maior impacto do telefonema pode ser atribuído ao contato mais pessoal, à possibilidade imediata de esclarecimento de dúvidas pelo doador e talvez pelo fato do doador sentir-se mais valorizado.

Foram encontrados 43 (23,3%) doadores com o fenótipo Kidd null no sistema informatizado. Tal fenótipo é extremamente raro no mundo todo, sendo mais encontrado em populações orientais, polinésias e indígenas. A elevada prevalência entre os doadores do banco aponta para prováveis erros na fenotipagem e digitação de resultados que ocorreram de forma cumulativa ao longo dos anos, sendo que a maior parte (80,5%) deles ocorreram entre 1997 e 2010. Conforme esperado, nenhum dos três doadores que retornaram foram confirmados como Kidd null. A razão da maior prevalência de erros de fenotipagem relacionadas ao sistema Kidd deve-se provavelmente à reatividade dos reagentes disponíveis no mercado na época e ao frequente efeito de dose observado nesse sistema. Esse levantamento indica a necessidade de ações que minimizem os erros de fenotipagem no futuro e de dispositivos para que esses doadores, quando retornarem espontaneamente, sejam obrigatoriamente fenotipados para correção/confirmação.

Dentre as 15 cartas enviadas para doadores com o fenótipo r´r´, 20,0% (3/15) tiveram retorno, enquanto que dois dos oito doadores com o fenótipo r´´r´´ retornaram. Para o fenótipo RzRz, os 3 doadores cadastrados convocados retornaram e foram confirmados, sendo o único fenótipo com 100% de confirmação.

Nenhum Rh null ou D-- retornaram. Foram convocados ainda 51 doadores com fenótipo K+k- e K-k-, dos quais 11,7% foram confirmados, todos com o fenótipo K+k-. Por outro lado, nenhum dos seis doadores com fenótipo Kp^b- compareceu.

O levantamento e a convocação aqui descritos fazem parte de um procedimento operacional multisetorial implementado em 2016 e atualizado em 2017 que sistematiza a identificação e fidelização do doador raro. As equipes de captação, serviço social, enfermagem, médica e de imuno-hematologia são treinados nesse procedimento que contempla:

- O treinamento do assistente de laboratório para reconhecer o fenótipo raro na primeira fenotipagem
- A imediata convocação do doador para coleta de nova amostra confirmatória
- A fidelização do doador
- A emissão de carteirinha de Doador de Sangue Raro
- Carta explicativa sobre a importância do fenótipo raro
- Programação do sistema informatizado para reconhecer o fenótipo raro
- A análise e convocação periódica dos fenótipos raros não confirmados contidos no banco
- Programação do sistema informatizado para alertar o triador que se trata de um doador com fenótipo raro, assim a amostra é identificada e o fenótipo é confirmado no laboratório.

Tais medidas descritas já mostraram resultados positivos e novos doadores foram identificados e fidelizados após a primeira fenotipagem, assim como doadores com tipagens prévias que compareceram espontaneamente para doação e que não mencionaram o recebimento da convocação por carta, também foram identificados e fidelizados.

6 CONCLUSÃO

A estruturação de um banco de doadores raros exige investimentos e esforços contínuos. O levantamento dos fenótipos no banco informatizado do Hemocentro de Ribeirão Preto evidencia a importância da fidelização do doador e do esclarecimento do mesmo sobre a importância de seu fenótipo, uma vez que ao longo dos anos, a inexistência de um procedimento destinado a este fim fez com muitos doadores não retornassem e nunca soubessem de sua característica rara. O baixo retorno observado após a convocação por cartas dos fenótipos não confirmados aponta a necessidade de buscar novos meios de comunicação com o doador. Além disso, novos procedimentos e dispositivos no sistema informatizado devem contribuir para a identificação e confirmação do doador raro.

REFERÊNCIAS

BATISSOCO, A.C; NOVARETTI, M.C.Z. **Aspectos moleculares do Sistema Sanguíneo ABO**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., São José do Rio Preto, v. 25, n. 1, p. 47-58, Mar. 2003. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842003000100008&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 11 de dezembro de 2017.

BORDIN, J. O; JÚNIOR, D. M. L; COVAS, D.T. **Hemoterapia fundamentos e prática**. São Paulo, Rio de Janeiro, Ribeirão Preto, Belo Horizonte: Atheneu, 2007.

BONIFACIO, S.L.; NOVARETTI, M.C.Z. **Funções biológicas dos antígenos eritrocitários**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., São Paulo, v. 31, n. 2, p. 104-111, Abr. 2009 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842009000200013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 12 de dezembro de 2017.

CASTILHO, L. **O futuro da aloimunização eritrocitária**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., São José do Rio Preto, v. 30, n. 4, p. 261-262, Ago. 2008 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-8484200800040003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 20 de dezembro de 2017.

CASTILHO, L. **Sistema Rh e suas complexidades**. Hemocamp. 2007; Pag 36-46. Disponível em <www.diamed.com.br/Cmi/Download.aspx?837>. Acesso em 6 de janeiro de 2018.

DANIELS, G. **Human Blood Groups**. Blackwell Science. 2th ed. Oxford; 2002.

FUNG, M. K. et al. **Technical manual**. Bethesda, Md.: American Association of Blood Banks, 2014.

HARMENING, D.M. **Técnicas Modernas Em Banco de Sangue e Transfusão**. 6. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2015.

JENS, E.; PAGLIARINI, T.; NOVARETTI, M.C.Z.. **Sistema de grupo sanguíneo Duffy: biologia e prática transfusional**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., São José do Rio Preto, v. 27, n. 2, p. 110-119, Jun. 2005 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842005000200011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 20 de dezembro de 2017.

MACEDO, Maria do Carmo Favarin de. **Estruturação do banco de doadores de sangue do hemocentro de Ribeirão Preto**. 2015. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Rio de Janeiro, 2015.

MATTOS, L.C. et al. **Genotipagem do locus ABO (9q34.1) em doadores de sangue da região noroeste do Estado de São Paulo**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., São José do Rio Preto , v. 23, n. 1, p. 15-22, Abr. 2001 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-8484200100010003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 11 de dezembro de 2017.

NANCE, S. T.. **Global definitions of rare donors**. Isbt Science Series, [s.l.], v. 8, n. 1, p.23-27, 31 maio 2013. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/voxs.12006>.

NARDOZZA, L.M.M. et al . **Bases moleculares do sistema Rh e suas aplicações em obstetrícia e medicina transfusional**. Rev. Assoc. Med. Bras., São Paulo , v. 56, n. 6, p. 724-728, 2010 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_art_text&pid=S0104-42302010000600026&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 25 de setembro de 2017.

NETO, E.B. **Estudo imunohematológico molecular do sistema de grupo sanguíneo Kell em indivíduos brasileiros**. 2008. 159 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Hematologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2008. Disponível em <<http://www.repositorio.unifesp.br/bitstream/handle/11600/9588/Publico-10892a.pdf?sequence=1>>. Acesso em 11 de dezembro de 2017.

NOVARETTI, M.C. Z.. **Estudo de grupos sanguíneos em doadores de sangue caucasoídes e negróides na cidade de São Paulo**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., São José do Rio Preto , v. 22, n. 1, p. 23-32, Abr. 2000 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842000000100004&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 11 de dezembro de 2017.

OLIVEIRA, M.B.S.C. et al. **Conceitos básicos e aplicados em imunohematologia**. Rio de Janeiro: Suprema Gráfica Editora, 2013. 156 p. Disponível em <<http://www.epsjv.fiocruz.br/publicacao/livro/conceitos-basicos-e-aplicados-em-imuno-hematologia>>. Acesso em 15 de dezembro de 2017.

REID, M.; LOMAS-FRANCIS, C.; OLSSON, M. **The Blood Group Antigen FactsBook**. 3. ed. London: Academic Press, 2012. 758 p.

REESINK et al. Donors with a rare pheno (geno) type. **Vox Sanguinis**, [s.l.], v. 95, n. 3, p.236-253, out. 2008. Wiley-Blackwell. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1423-0410.2008.01084.x>>. Acesso em 22 de dezembro de 2017.

RODRIGUES, A.T. **Aloimunização dos doadores de sangue como fonte de anti-soros e hemácias raras**.2016. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2016. Disponível em <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/137794?locale-attribute=es>>. Acesso em 15 de dezembro de 2017.

SCHÖRNER, E.J. **Guia nacional para implantação de banco de sangue com fenótipos raros: uma proposta para a hemorrede pública brasileira**. 2015. Dissertação (Mestrado em Hemoterapia e Medicina Transfusional) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015. Disponível em <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17155/tde-27072015-053713/pt-br.php>>. Acesso em 25 de setembro de 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE; **Plano para implementação do padrão ISBT 128**. Brasília – DF: 2012. Disponível em <http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano_implantacao_padrao_ISBT128.pdf>. Acesso em 20 de dezembro de 2017

MURADOR, P; DEFFUNE, E. **Aspectos estruturais da membrana eritrocitária.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007; 29(2):168-178. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-84842007000200016&script=sci_abstract&tlng=pt> . Acesso em 12 de dezembro de 2017.

MARTINS, P. R. J; et al. **Frequência de anticorpos irregulares em politransfundidos no Hemocentro Regional de Uberaba-MG, de 1997 a 2005.** Ver. Bras. Hematol. Hemoter. 2008; 30(4): 272- 276. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-84842008000400008&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em 20 de dezembro de 2017

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Redefine o regulamento de procedimentos hemoterápicos.** Portaria nº2.712, de 12 de novembro de 2013. Disponível em <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt2712_12_11_2013.html>. Acesso em 20 de dezembro de 2017.

SBS CONSULTORES. Disponível em <<http://www.sbs.srv.br/index.php/a-empresa/77-sbs/69-sistemabancosangue>> Acesso em 15 de janeiro de 2018.