



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
FUNDAÇÃO HOSPITALAR DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA
DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADA A
HEMATOLOGIA**

**CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL IMUNO – HEMATOLÓGICO DAS REAÇÕES
TRANSFUSIONAIS TARDIAS EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME
POLITRANSFUNDIDOS NO HEMOCENTRO DO AMAZONAS**

LORENA ALVES SANTOS

**Manaus - AM
2023**

LORENA ALVES SANTOS
CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL IMUNO-HEMATOLÓGICO DAS REAÇÕES
TRANSFUSIONAIS TARDIAS EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME
POLITRANSFUNDIDOS NO HEMOCENTRO DO AMAZONAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia da Universidade do Estado do Amazonas em Convênio com a Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas, para obtenção do grau de *Mestre em Ciências Aplicadas à Hematologia*.

Orientador (a): **Prof^ª** Sergio Roberto Lopes Albuquerque

Manaus - AM
2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

S237cc Santos, Lorena Alves
Caracterização do perfil imuno-hematológico das reações transfusionais tardias em pacientes com doença falciforme politransfundidos no hemocentro do Amazonas / Lorena Alves Santos. Manaus : [s.n], 2023.
91 f.: color.; 21 cm.

Dissertação - Pós-graduação em ciências aplicadas à hematologia - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2023.

Inclui bibliografia

Orientador: Sergio Roberto Lopes Albuquerque

1. reação transfusional tardia. 2. aloimunização. 3. reação de hemólise tardia. 4. sistemas de grupos sanguíneos . 5. politransfundidos. I. Sergio Roberto Lopes Albuquerque (Orient.). II. Universidade do Estado do Amazonas. III. Caracterização do perfil imuno-hematológico das reações transfusionais tardias em pacientes com doença falciforme politransfundidos no hemocentro do Amazonas



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 016/2023

Ao trigésimo primeiro dia do mês de agosto do ano de 2023, às 10h00min, realizou-se remotamente, via plataforma Google Meet, a Defesa de Dissertação da discente **Lorena Alves Santos**, sob o título: **"Caracterização do perfil imuno-hematológico das reações transfusionais tardias em pacientes com Doença falciforme politransfundidos no Hemocentro do Amazonas"**, tendo como orientador o Prof. Dr. **Sérgio Roberto Lopes Albuquerque**, segundo encaminhamento da Prof.ª Dr.ª Andréa Monteiro Tarragô, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia e de acordo com os registros constantes na Secretaria Geral da Universidade do Estado do Amazonas, a Banca julgadora foi composta pelos seguintes componentes, que deram o parecer final sobre a Defesa, tendo sido atribuído a discente o conceito discriminado no parecer da referida Comissão.

Membros	Parecer	Assinatura
Prof. Dr. Sérgio Roberto Lopes Albuquerque – Presidente (HEMOAM)	Aprovado(a) <input checked="" type="checkbox"/> Reprovado(a) <input type="checkbox"/>	Assinatura: CPF: 347.422.712-20
Prof. Dr. José Pereira de Moura Neto – Membro (UFAM)	Aprovado(a) <input checked="" type="checkbox"/> Reprovado(a) <input type="checkbox"/>	Assinatura: CPF: 032.049.176-57
Prof.ª Dr.ª Mariza Aparecida Mota – Membro (UFJF-MG)	Aprovado(a) <input checked="" type="checkbox"/> Reprovado(a) <input type="checkbox"/>	Assinatura: CPF: 285.377.346-9

O parecer final do Exame de Defesa foi:

Aprovado

Não Aprovado

Presidente da Banca Examinadora

Coordenação PPGH-UEA/HEMOAM

• Endereço: Avenida Constantino Nery, 4397 – Chapada
• Manaus-AM – CEP 69050-001 / • Fone: (92) 3655-0123
• E-mail: mestrado@hemoam.am.gov.br
• Site: <http://www.pos.uea.edu.br/hematologia>
• www.instagram.com/ppgh_uea

DEDICATÓRIA

Seja dedicado este desafio ao Deus, Cristo Jesus e Espírito Santo que me instruíram a conclusão desta importante etapa da minha vida acadêmica que me transformaram e me propuseram o fortalecimento espiritual e mental.

Aos meus pais, irmã que foram meu alicerce.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, sou imensamente grata ao Trio divino Deus Pai, filho e Espírito Santo que pairavam sobre mim nos momentos de aflição, ansiedade e desânimo vencidos, pois os sonhos de Deus são maiores e melhores que os meus.

Meus agradecimentos a minha família que oraram por mim e me auxiliaram sob seus cuidados em momentos de doença ou até mesmo em saúde mostrando -se preocupados com esta rotina intensa que muitas vezes não compreendida. Obrigada a minha irmã Jéssica Larissa que me ajudou na elaboração do banco de dados e configuração do projeto, e por, mas não tenha a mesma formação que a minha, esforçou-se ao máximo, além de ter sido meu braço direito na reta final de resultados e discussão também no apoio moral, mental e espiritual.

Agradeço ao orientador Dr. Sergio Roberto Lopes Albuquerque por ter despendido o seu tempo e atenção em compartilhar do seu vasto conhecimento de imuno-hematologia.

Agradeço ao Dr. Marcelo Reis pela parceria no projeto e pela sua amizade e apoio pois, afinal de contas " Vai dar tudo certo!".

Agradeço ao Sr. Aldenor Oliveira por me proporcionar desenvolver o projeto no seu setor, ter o momento do café acompanhado de boa risada juntamente com a estagiária do LCQ Samara Mikelly. Obrigada a técnica Ademildes pelos seus conselhos. Também sou grata por ter conhecido Hallana Fernandes, Gabriela Mendonca, Nicolý Damasceno, Bruna Lima, Rosana Vasconcelos, pois saibam que torço muito pelo sucesso de todas.

Agradeço a gerente de imuno-hematologia Dr. Nina Rosa e sua equipe de técnicas de hemoterapia por me concederem à minha disposição para execução do projeto, e especial às técnicas Íris Salvaterra, Elielza Alencar e Rozilene Castro pelo ensino das técnicas imuno-hematológicas e acima de tudo a nossa amizade.

Agradeço a minha turma de mestrado 10/2021, especialmente a Erycka Alves pois foram nos nossos desabafos que firmamos uma amizade, também ao nosso grupo composto pela Daniele, Debora, Jhemerson, Wivian, Alice, Geyse, Miliane. Finalmente, agradeço a coordenadora Dr. Andrea Tarrago e Dr. George Allan Villarouco pelo impulsionando em concluir este projeto, e a secretaria do PPGH/UEA/ Hemoam pela compreensão e suporte.

Obrigada a todos gerentes e funcionários da Fundação Hemoam pela reciprocidade do respeito e admiração que me foi atribuída nesta jornada científica.

DECLARAÇÃO DE AGÊNCIAS FINANCIADORAS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro para realização dos meus estudos de mestrado e à Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

EPÍGRAFE

Há Tempo para tudo

"Para tudo há uma ocasião certa;
há um tempo certo para propósito
debaixo do céu;
tempo de chorar e tempo de rir,
tempo de prantear e tempo de
dançar;
tempo de amar e tempo de odiar,
tempo de lutar e tempo de viver em
paz."

Eclesiastes 3:1-4-8

RESUMO

Introdução: As reações transfusionais tardias mais frequentes são aloimunização e hemólise, sendo observada em até 70% dos pacientes com doença falciforme (DF) politransfundidos. O perfil imuno-hematológico destas reações é caracterizado pela identificação da aloimunização, com presença ou não de hemólise através de testes como pesquisa de anticorpo irregular (PAI) positivo, indicando anticorpo potencialmente hemolítico específico para os sistemas de grupos sanguíneos tais como Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS. **Objetivo:** Caracterizar o perfil imuno-hematológico das reações transfusionais tardias em pacientes com doença falciforme politransfundidos. **Metodologia:** Estudo observacional descritivo prospectivo destes pacientes, incluindo crianças, adultos e idosos de ambos os sexos em terapia transfusional crônica. Pacientes com DF politransfundidos expostos a três ou mais unidades de hemocomponentes durante doze meses. **Resultados e Discussão:** Foram incluídos no projeto 44 pacientes com DF politransfundidos, os quais a maioria pertencia ao gênero feminino (54,5%), adultos (40,9%) e do tipo O (61,3%) do sistema ABO. Quanto à fenotipagem dos sistemas de grupos sanguíneos, os resultados mais significantes do ponto de vista transfusional, foram encontrados no sistema Rh, frequência de 26,6% do fenótipo RZRZ (CDE/CDE), um paciente com variante *RHD* apresentando anti-RhD e um paciente com variante *RHCE* (R1 wR1) apresentando anti-e e anti-E. Quanto ao sistema Kell, 61,3% apresentaram K-k+, com considerável dificuldade para se encontrar doadores de sangue compatíveis nestes casos citados. Entre os pacientes incluídos, 20,4% apresentaram um ou mais aloanticorpos, evidenciando reações tardias de aloimunização de, 9% apresentaram de autoanticorpos, sugerindo uma possível reação tardia de imunomodulação. Quanto a verificação de exames hematológicos pós transfusionais, 31,8% dos pacientes apresentaram indicadores laboratoriais de Hemólise pós transfusional com o resultado de DHL alterada e 54,5% apresentando baixíssimo incremento de hemoglobina após as transfusões de sangue, sugerindo possíveis reações Hemolíticas Tardias. **Conclusão:** Os resultados deste estudo demonstram a caracterização do perfil imuno-hematológico de reações transfusionais tardias de aloimunização e hemolítica em pacientes com Doença Falciforme politransfundidos tratados na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas, constituindo-se dados inéditos obtidos durante acompanhamento clínico-laboratorial até 28 dias após as transfusões.

Palavras – chaves: reação transfusional tardia, aloimunização, reação de hemólise tardia, sistemas de grupos sanguíneos e politransfundidos.

ABSTRACT

Introduction: The most frequent late transfusion reactions are alloimmunization and hemolysis, observed in up to 70% of patients with sickle cell disease (SCD) who received multiple transfusions. The immunohematological profile of these reactions is characterized by the identification of alloimmunization, with or without the presence of hemolysis through tests such as a positive irregular antibody test, indicating a potentially hemolytic antibody specific for blood group systems such as Rh, Kell, Kidd, Duffy and MNS. **Objective:** To characterize the immunohematological profile of late transfusion reactions in patients with sickle cell disease who received multiple transfusions. **Methodology:** Prospective descriptive observational study of these patients, including children, adults and elderly people of both sexes undergoing chronic transfusion therapy. Patients with multiple transfusions exposed to three or more units of blood products during twelve months. **Results and Discussion:** 44 patients with multiple transfusions were included in the project, the majority of whom were female (54.5%), adults (40.9%) and type O (61.3%) of the ABO system. Regarding the phenotyping of blood group systems, the most significant results from a transfusion point of view were found in the Rh system, a frequency of 26.6% of the RZRZ phenotype (CDE/CDE), a patient with the RHD variant presenting anti-RhD and a patient with RHCE variant (R1 wR1) presenting anti-e I and anti-E. As for the Kell system, 61.3% presented K-k+, with considerable difficulty in finding compatible blood donors in these cases. Among the patients included, 20.4% presented one or more alloantibodies, showing late alloimmunization reactions, 9% presented autoantibodies, suggesting a possible late immunomodulation reaction. Regarding the verification of post-transfusion hematological tests, 31.8% of patients presented laboratory indicators of post-transfusion Hemolysis with the result of altered DHL and 54.5% presented a very low increase in hemoglobin after blood transfusions, suggesting possible delayed hemolytic reactions. **Conclusion:** The results of this study demonstrate the characterization of the immunohematological profile of late alloimmunization and hemolytic transfusion reactions in patients with Sickle Cell Disease who received multiple transfusions treated at the Hematology and Hemotherapy foundation from Amazonas, constituting unprecedented data obtained during clinical-laboratory follow-up up to 28 days after transfusions. **Keywords:** delayed transfusion reaction, alloimmunization, delayed hemolysis reaction, blood group systems and polytransfusions.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ativação do complemento e hemólise das hemácias	xxix
Figura 2 – Exposição primária e secundária a antígenos eritrocitários	xxx

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	classificação das reações transfusionais em relação ao tempo	xxiii
Quadro 2	Classificação e definição das reações transfusionais quanto à gravidade	xxiii
Quadro 3	Principais reações transfusionais imediatas e tardias	xxiv
Quadro 4	Classificação das reações transfusionais quanto a correlação com a transfusão	xxvii
Quadro 5	Algumas causas de resultados de TAD positivos	xxxii
Quadro 6	Classificação dos sistemas eritrocitários	xxxiv
Quadro 7	Classificação dos anticorpos Rh	xxxv
Quadro 8	Classificação dos anticorpos Kell	xxxvi
Quadro 9	Classificação dos anticorpos Kidd	xxxvii
Quadro 10	Classificação dos anticorpos Duffy	xxxviii
Quadro 11	Classificação dos anticorpos MNS	xxxix
Quadro 12	Perfil imuno-hematológico	xlvi
Quadro 13	Reações tardias e indicadores hematológicos, Bioquímicos e imuno-hematológicos.	1
Quadro 14	Dados categóricos da população de estudo	lii
Quadro 15	Frequência fenotípica dos principais antígenos dos sistemas Rh, Kell, Kidd, Duffy e MSN e receptores com Doença falciforme politransfundidos (N=44)	liii
Quadro 16	Descrição do perfil imuno-hematológico dos pacientes com doença falciforme politransfundidos	lvii
Quadro 17	Média do incremento de hemoglobina pós transfusional	lviii
Quadro 18	Descrição de DHL	lviii

LISTA DE GRÁFICOS

gráfico 1 Porcentagem da compatibilidade do grupo confirmado com RHT	liv
gráfico 2 Porcentagem da compatibilidade do grupo provável com RHT	lv
gráfico 3 Porcentagem da compatibilidade do grupo possível com RHT	lv
gráfico 4 Porcentagem da compatibilidade do grupo descartado com RHT	lvi
gráfico 5 Frequência do diagnóstico laboratorial de Reação Hemolítica Tardia nos pacientes estudados, agrupados como confirmado, provável, possível e descartado.....	lix

LISTA DE FLUXOGRAMA

Fluxograma 1 – inclusão de paciente e atividade diária do projeto.....xiv

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES DE MEDIDA

AABB - American Association of Blood Banks;

Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

C - Antígeno “C” (denominação verbal: “C grande”, denominação escrita: “C” – em letra maiúscula) pertencente ao sistema Rh;

c - Antígeno “c” (denominação verbal: “c pequeno”, denominação escrita: “c” – em letra minúscula) pertencente ao sistema Rh;

E - Antígeno “E” (denominação verbal: “E grande”, denominação escrita: “E” – em letra maiúscula) pertencente ao sistema Rh;

e - Antígeno “e” (denominação verbal: “e pequeno”, denominação escrita: “e” – em letra minúscula) pertencente ao sistema Rh;

Fy^a – Antígeno “Fy^a” (denominação verbal: “duffy b”, denominação escrita: “Fy^a” – pertencente ao sistema Duffy;

Fy^b – Antígeno “Fy^b” (denominação verbal: “duffy b”, denominação escrita: “Fy^b” – pertencente ao sistema Duffy;

CIVD - Coagulação intravascular disseminada;

CNH - Comissão Nacional de Hemoterapia;

DF – Doença falciforme;

DHL - Desidrogenase láctica; DNA - Ácido desoxirribonucléico;

E - Antígeno “E” (denominação verbal: “E grande”, denominação escrita: “E” – em letra maiúscula) pertencente ao sistema Rh;

e - Antígeno “e” (denominação verbal: “e pequeno”, denominação escrita: “e” – em letra minúscula) pertencente ao sistema Rh;

K - Antígeno “K” (denominação verbal: “Kell”, denominação escrita: “K” – em letra maiúscula) pertencente ao sistema Kell;

k – Antígeno “k” (denominação verbal: “Celano”, denominação escrita “k” – em letra minúscula) pertence ao sistema Kell;

Jk^a - Antígeno “Jk^a” (denominação verbal: “kidd a”, denominação escrita “Jk^a” – pertence ao sistema Kidd;

Jk^b - Antígeno “Jk^b” (denominação verbal: “kidd b”, denominação escrita “Jk^b” – pertence ao sistema Kidd;

M – Antígeno “M” (denominação verbal: “M”, denominação escrita “M” – pertence ao sistema MNS;

N – Antígeno “N” (denominação verbal: “N”, denominação escrita “N” – pertence ao sistema MNS;

Notivisa - Sistema Nacional de Notificação em Vigilância Sanitária;

PAI - Pesquisa de anticorpos irregulares;

RHT - Reação hemolítica tardia;

RST - Reação sorológica tardia;

SH - Síndrome de hiperemólise;

S – Antígeno “S” (denominação verbal: “S grande”, denominação escrita “S” – pertence ao sistema MNS;

s – Antígeno “s” (denominação verbal: “s pequeno”, denominação escrita “s” – pertence ao sistema MNS;

SHOT - Serious Hazards of Transfusion;

SNH - Sistema Nacional de Hemovigilância;

TAD - Teste da antiglobulina direto (Coombs direto);

TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecimento;

TALE – Termo de assentimento livre e esclarecido.

Sumário

1	Introdução	xix
2	Referencial teórico	xxii
2.1	Definições da Doença Falciforme: Etiologia, Epidemiologia e Fisiopatologia ...	xxii
2.1	As reações transfusionais: Definição, classificação e dados epidemiológicos	xxiii
2.2	A transfusão de hemocomponentes em indivíduos portadores de Doença falciforme (DF)	xxv
2.3	As reações transfusionais tardias (RTT)	xxvi
2.3.2	Frequência das reações hemolíticas tardias	xxviii
2.2	Fisiopatologia das reações tardias de aloimunização e hemólise tardia	xxviii
2.3	Diagnóstico das reações tardias de aloimunização e hemólise tardia	xxxi
2.5.1	Alo anticorpos reativos ao calor e ao frio	xxxiii
3	Sistemas de grupos sanguíneos	xxxiii
3.1	Sistema Rh	xxxiv
3.2	Sistema Kell	xxxvi
3.3	Sistema Kidd	xxxvii
3.4	Sistema Duffy	xxxviii
3.4	Sistema MNS	xxxviii
4	Justificativa	xli
5	Objetivos	xlii
Geral	xlii
5.1	Específicos	xlii
6	Metodologia	xliii
6.1	Tipo de estudo	xliiii
6.2	Local de estudo	xliiii
6.3	População de estudo	xliiii
6.4	Critério de inclusão	xliiii
6.5	Critérios de exclusão	xliv
7.1	Coleta de material biológico	xlvi
7.2	Perfil imuno – hematológico	xlvi
7.3	Fenotipagem eritrocitária	xlvii
7.4	Pesquisa e identificação de anticorpos Irregulares a frio, TA e quente/ AGH	xlvii
7.5	Titulação	xlviii
7.6	Tratamento de plasma com Dithiothreitol (DTT)	xlviii
7.7	Autocontrole	xlviii

7.8	Teste da antiglobulina direta (TAD)	xlviii
7.9	Prova cruzada	xlviii
7.10	Perfil imuno – hematológico de aloimunização primária e resposta anamnésica	xlviii
7. 10	Porcentagem de compatibilidade	xlix
7. 11	Registros de resultados	xlix
8	Análises estatísticas	li
9	Resultados	lii
10	Discussão	lx
12	Orçamento	lxvii
13	Equipe do projeto	lxviii
14	Referências bibliográficas	lxix
16	Anexos	lxxvii
16.1	Técnicas de Imuno-hematologia	lxxvii
16.1.1	Pesquisa de anticorpo irregular (técnica de aglutinação em gel)	lxxvii
16.1.2	PAI em meio salino	lxxviii
16.1.3	Teste de antiglobulina Humana	lxxix
16.1.4	Fenotipagem eritrocitário	lxxx
16.1.5	Identificação de anticorpos em meio AGH	lxxxii
16.1.6	Titulação de anticorpos	lxxxii
16.1.7	Procedimento em Tubo Material Reagentes e Equipamentos	lxxxiii
16.1.8	Ditiotreitol (DTT) Princípio	lxxxiv
2	Anexo II	lxxxvi
2.1	Formulários	lxxxvi

1 Introdução

A doença falciforme é um conjunto de hemoglobinopatias genéticas que acometem 100.00 indivíduos nos Estados Unidos e milhões pelo mundo, sendo prevalente na região sub-africana, totalizando 70% de casos de DF. No Brasil, segundo o Programa Nacional de Triagem Neonatal em 2020 foram diagnosticados 964 casos de doença falciforme e 60.094 com hemoglobina S, portador do traço falciforme. Os principais processos patológicos: polimerização de HbS, vaso oclusão e disfunção endotelial mediada por hemólise que comprometem a oxigenação e bem-estar dos pacientes, sendo a transfusão de sangue um recurso terapêutico frequentemente utilizando forma episódica ou programada, em alguns casos recebem transfusão sanguínea ao longo da vida, denominando-os de politransfundidos.^{9,10,11}

Embora, a transfusão sanguínea seja método terapêutico universalmente utilizado aceito e comprovadamente eficaz, expõe o receptor a reações transfusionais definida como um efeito ou resposta indesejável, são classificadas em imediatas e tardias, causa imunológica e não imunológica. As reações transfusionais tardias mais frequentes sob o aspecto imunológico nos receptores com DF politransfundidos são reações de aloimunização, reação hemolítica tardia e síndrome de hiper-hemólise.²⁸

A reação de aloimunização é a detecção de anticorpos irregulares contra antígenos dos sistemas eritrocitários incompatíveis na transfusão de sangue, reagindo a uma exposição primária ou secundárias, induzindo a resposta anamnésica, a qual está associada a reação hemolítica tardia caracterizada pela destruição de hemácias observada pelos sinais de declínio de hemoglobina e sintomas leves e a graves, como a forma crônica da síndrome de hiper-hemólise oferecendo o risco de óbito atribuído a transfusão, em razão do grave e súbito mecanismo hemolítico, levando à lesão aguda do miocárdio, anemia grave e acidente vascular isquêmico.³²

O perfil imuno-hematológico das reações transfusionais tardias baseiam-se principalmente na detecção e identificação de alo anticorpos dirigidos contra antígeno(s) dos principais sistemas de grupos sanguíneos Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS através de testes imuno-hematológicos, enquanto que a reação hemolítica transfusional tardia (RHT), caracteriza-se por sinais clínicos e laboratoriais de hemólise extravascular oriundos da ação imunológica induzida pela presença de um ou mais aloanticorpos detectados ao longo de 28 dias após a transfusão. A diferença primordial entre estas reações fundamenta-se na detecção

de sintomas na reação hemolítica, ao passo que a reação de aloimunização não hemolítica, não compromete o bem-estar do indivíduo.^{23 34}

Os principais marcadores laboratoriais da RHT são teste da antiglobulina humana direta (T.A.D) positivo, eluato, diminuição ou não incremento de hemoglobina, aumento dos valores dos marcadores de lesão tecidual tais quais Desidrogenase Lática (LDH), fosfatase alcalina (FAL) e bilirrubina total e suas frações. Os sintomas da RHT são multifacetados incluindo hipertermia, hipo ou hipertensão, náusea, êmese e dor em diferentes regiões do corpo ou ainda dor localizada indicando comprometimento de órgãos, como na insuficiência renal aguda.³⁰

A transfusão crônica está inclusa no manejo terapêutico para manter a HbS% abaixo de um limite alvo para reduzir a anemia grave, formação de trombos atribuído ao distúrbio no fluxo sanguíneo, conduzindo a quadros vaso-oclusivos, cujas complicações são frequentemente relacionadas à doença falciforme. Embora com benefícios reconhecidos, as politransfusões expõem a diferentes riscos imunológicos, sendo as principais e de maior preocupação as reações tardias de aloimunização e RHT. Os aloanticorpos surgem da capacidade de reação imunológica do receptor, dirigida a epítomos de antígenos alogênicos, presentes na bolsa transfundida, cujas especificidades não são encontradas no background genético do paciente. Entre os sistemas de grupos sanguíneos de maior importância transfusional, destacam-se os sistemas Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS, devido a sua frequência na população, imunogenicidade e polimorfismos genéticos.^{21 23}

Os aloanticorpos podem se apresentar-se com uma considerável diversidade de características imuno-hematológicas, entre estas as classes IgM, IgG/subclasses e raramente IgA, com variação quanto a fixação de proteínas do complemento e quanto a força de ligação ao antígeno específico, dependendo da temperatura em que o mesmo está submetido, sendo estas de 4°C, 22 °C ou 37°C, apresentando ainda diferentes concentrações e diferentes potenciais hemolíticos. Devido a estas variações de características e dependendo da rotina de técnicas imuno- hematológicas utilizadas nos serviços transfusionais, alo anticorpos ativos à temperaturas abaixo de 37°C, porém com alto título e fixadores do sistema complemento, com potencial hemolítico, podem passar despercebidos, sendo considerado ainda que alguns alo anticorpos necessitam de técnicas enzimáticas para sua detecção. Os aloanticorpos mais

frequentemente detectados em estudos com pacientes falciformes, têm sido anti-E; -K; - Jka ; - D; -cE; -C, todos são capazes de induzir a hemólise tardia ².

A RHT é manifestada devido a uma exposição primária, quando há o contato inicial de antígenos não - próprios incompatíveis presentes na unidade de hemocomponentes transfundida. A reação de hiper-hemólise tardia, tem sido o maior risco de mortalidade devido à gravidade e rapidez hemolítica. Quando diagnosticada é relacionada a um tipo de reação chamada anamnésica, que define-se quando há exposições secundárias aos antígenos não - próprios, aumentando exponencialmente o título de anticorpos. Geralmente os títulos destes anticorpos, encontram-se em concentrações indetectáveis nos testes pré transfusionais, dificultando a prevenção de uma hemólise tardia em um paciente politransfundido e por isso negligenciando o risco da resposta anamnésica.³

Por que alguns indivíduos aloimunizados não apresentam hemólise? A apresentação e a gravidade dos sintomas são caso a caso, sendo atualmente a teoria que melhor esclarece, a do estado da doença ser estável, instável ou em crises volêmicas ou inflamatórias. Isso pode explicar a discrepante frequência de reações tardias em politransfundidos, sendo encontrada a aloimunização em 10% e RHT em 1%. Na DF a frequência de aloimunização é de 61% e RHT 1%.^{2,4}

Fatores como subnotificação, desatualização dos relatórios epidemiológicos dos indicadores da transfusão crônica e a falta de grupos de pesquisa que visem estudos para acompanhar os sinais e clínica de RHT, prejudicam a definição do perfil imuno-hematológico das reações tardias e sua epidemiologia. ^{5,6}

A principal justificativa da aloimunização é a escassez de hemocomponentes compatíveis, pois dependendo do estado clínico necessário para a transfusão para a progressão do paciente, cabe a ética do prescritor e do ciclo do sangue propor a escolha componente que aplique a maior beneficência em relação aos prejuízos ao paciente.⁷ O desenvolvimento de um ou mais aloanticorpos é um risco conhecido, no entanto, um risco a ser prevenido pois sabe-se que a cada aloanticorpo desenvolvido, a compatibilidade do concentrado de hemácias torna-se mais difícil, para tanto se faz necessário a fenotipagem de doadores de sangue de repetição buscando-se fenótipos compatíveis para pacientes politransfundidos promovendo maior beneficência da transfusão e segurança transfusional. ^{7,8}

2 Referencial teórico

2.1 Definições da Doença Falciforme: Etiologia, Epidemiologia e Fisiopatologia

A condição de anemia falciforme é uma doença genética autossômica recessiva, causada pela homozigose do alelo beta-S (b^s), localizado no cromossomo 11p15.5, que difere do alelo B do tipo selvagem por um polimorfismo de *miscense* único dbSNP Rs334 (T;T) no qual GTG é substituído por GAG no sexto códon do gene da beta-globina, coincidindo a substituição do aminoácido ácido glutâmico (Glu) pela Valina (Val) na sexta cadeia polipeptídica, expressando a hemoglobina mutada HbS (alfa 2 beta S 2) nas hemácias de indivíduos com doença falciforme, afetando aproximadamente 100.000 pessoas nos Estados Unidos e milhões em todo o mundo tendo a maior prevalência de 70% dos DF é encontrada em indivíduos da etnia africana^{10 15 16}

A DF apresenta-se pela anormalidade eritrocitária em forma de foice. Os processos patológicos principais são: polimerização de HbS, vaso oclusão e disfunção endotelial mediada por hemólise, e recentemente, surgiu uma quarta via a inflamação estéril, que conduzem a doença clínica anemia hemolítica e ciclos de vaso-oclusão microvascular levando a lesão de isquemia – reperfusão de órgão-alvo e infarto.^{15, 17}

As hemácias em foice são susceptíveis a hemólise intravascular e extravascular, causando anemia crônica com níveis de Hb variando de 6-11 g/dL. A hemólise intravascular danifica a parede dos vasos sanguíneos, resultando em estresse adicional ao sistema cardiovascular por aumento do débito cardíaco, dilatação da câmara ventricular e sensibilidade da parede ventricular. A taxa de hemoglobina de anemia hemolítica é relativamente estável em um paciente individual com DF em estado estacionário, sem crise, e é amplamente causado pelo genótipo da hemoglobina (HbS, C) e pelos níveis de hemoglobina fetal (HbF). Pacientes com doença falciforme são mais susceptíveis a hipertensão pulmonar, hipoxemia, disfunção cardíaca diastólica, lesão renal crônica, infartos cerebrais silenciosos, e acidente vascular cerebral (infarto).^{15, 16, 10, 17, 18}

Indivíduos portadores DF sintomática têm a transfusão crônica como medida terapêutica, por mas benefícios explícitos como de reposição da concentração eritrocitária, de hemoglobina e volêmica, as reações tardias como aloimunização são capazes de encurtam a sobrevida das hemácias transfundidas, devido os aloanticorpos absorverem ao redor das hemácias destruindo a membrana celular e provocar reação hemolítica tardia. Estima-se que 1,6% a 11% dos pacientes transfundidos com DF desenvolvem reações transfusionais com

aumento da fadiga, icterícia, urina escura, febre e/ou dor, mas Rts leves são pouco reconhecidas. 6,19

Como a remoção extravascular é o principal mecanismo de depuração de eritrócitos, as RTs podem ocorrer sem sintomas clínicos óbvios. No entanto, a avaliação laboratorial pode demonstrar diminuição da hemoglobina (Hb) ou aumento da % HbS incongruente com transfusão recente, bem como hiperbilirrubinemia acima da linha de base, reticulocitose e/ou teste direto de antiglobulina (TAD) fracamente positivo. A reação de aloimunização também são subestimados, pois a formação de novos anticorpos nem sempre é detectável no momento da apresentação sintomática, ou a anemia e a hemólise podem precipitar a dor e ser diagnosticadas erroneamente como um episódio vaso-oclusivo. ^{20, 21, 22}

2.1 As reações transfusionais: Definição, classificação e dados epidemiológicos

As reações transfusionais são denominadas como reações adversas associadas à transfusão. São divididas em imunes e não imunes, uma reação envolve a resposta contra partículas ou moléculas não-próprias como a aloimunização e a doença do enxerto versus o hospedeiro, já a outra ao comprometimento do funcionamento de órgão associado à transfusão como a Sobrecarga circulatória. São classificadas em imediatas que ocorrem dentro de 24 horas após a transfusão e tardias, após 24 horas da transfusão. ^{8 18}

Quadro 1 classificação das reações transfusionais em relação ao tempo

Classificação	Definição
Imediata	Ocorrência da reação transfusão durante a transfusão ou até 24 horas após o seu início
Tardia	Ocorrência da reação transfusional após 24 horas do início da transfusão

Fonte: Marco Conceitual., 2015

De acordo com o Marco conceitual (2015), às RTs são classificadas quanto a gravidade, classificadas em Grau 1, Grau 2, Grau 3 e Grau – 4 e são registradas mediante a ficha de notificação de Reação Transfusional que é padronizada em nível nacional pelo Sistema Nacional de Hemovigilância. SNH (2015).

Quadro 2 Classificação e definição das reações transfusionais quanto à gravidade

Classificação	Definição
Grau 1 – Leve	Ausência de risco à vida. Poderá ser requerida intervenção médica, mas a fala desta não resulta em danos permanentes ou em comprometimento de um órgão ou função

Grau 2 – Moderado	Morbidade a longo prazo. Em consequência da reação transfusional houve: <ul style="list-style-type: none"> • Necessidade de hospitalização ou prolongamento desta e/ou • Deficiência ou incapacidade persistente ou significativa ou • Necessidade de intervenção médica ou cirúrgica para evitar danos permanentes ou comprometimento de um órgão ou função
Grau 3 – Grave	Ameaça imediata à vida, em consequência da reação transfusional
	Intervenção médica exigida para evitar a morte
Grau 4 – óbito	Óbito atribuído à transfusão

Fonte: Marco conceitual, 2015

De acordo com guia para uso de hemocomponentes – 2. Ed. Brasília, ministério da saúde, 2015, às reações transfusionais são diferenciadas entre imediatas e tardias, como mostra o quadro abaixo:

Quadro 3 Principais reações transfusionais imediatas e tardias

Reações Transfusionais	Imune	Não Imune
Imediatas	Reação Febril não hemolítica (RFNH)	Sobrecarga circulatória associada à transfusão. (SC/TACO).
	Reação hemolítica aguda imune (RHAI)	Contaminação bacteriana (CB) Sepsis.
	Reação alérgica (Leve, moderada, grave)	Hipotensão relacionada à transfusão (HIPOT) associada a inibição de ACE.
	Lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão. (TRALI – Transfusion Related Acute Lung Injury)	
		Distúrbios metabólicos (DM).
		Embolia aérea
		Hipotermia

Tardias	Aloimunização eritrocitária (ALO/PAI)	Hemossiderose
	Hemolítica	Transmissão de doenças infecciosas. (DT)
	Aloimunização HLA	
	Doença do enxerto-contra-hospedeiro pós-transfusional (DECH/GVHD)	
	Púrpura postransfusional (PTT)	
	Imunomodulação	

Fonte: Marco conceitual, 2015

2.2 A transfusão de hemocomponentes em indivíduos portadores de Doença falciforme (DF)

A indicação de transfusão de hemocomponente deve ser baseada nas avaliações e considerações para o tratamento da anemia na mudança dos níveis hematológicos basais da pessoa e no aparecimento de novos sintomas e/ou sinais de descompensação hemodinâmica, sendo recomendada para tratamento de doença falciforme, concentrado de hemácias fenotipados estendida para os sistemas sanguíneos Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS com o objetivo de prevenir a reação de aloimunização em pacientes politransfundidos, e facilitar a seleção de hemocomponentes para aqueles previamente aloimunizados.^{24, 25}

Apesar de seus benefícios comprovados, as transfusões têm complicações que podem limitar o uso a longo prazo. Indivíduos falcêmicos têm 50% mais chances de desenvolver um aloanticorpo quando comparado a população geral, devido a maior chance de realizar transfusões durante a vida.²⁰

As múltiplas transfusões ou politransfusões expõe aos riscos ao receptor de reações transfusionais que se definem como efeitos ou respostas indesejáveis observadas, associados temporalmente como a administração de sangue ou hemocomponente.²

2.3 As reações transfusionais tardias (RTT)

Após transfusão, transplante ou gravidez, um paciente pode produzir um anticorpo para um antígeno de hemácias que não foi identificado durante o teste pré- transfusional, devido a diminuição de seus níveis do título de anticorpos, ao longo de transfusões de antígeno negativo, e tendo a reação negativo de pesquisa de anticorpo irregular, isto é considerada evanescência, pois os anticorpos estão abaixo do limiar da detecção.

A aloimunização primária ocorre de dias a meses após uma transfusão de hemácias positivas para o antígeno, dependendo da imunogenicidade e quantidades de antígenos nas reações de anticorpos dose-dependentes. Se o receptor for transfundido com o antígeno incompatível, o qual já tem-se o histórico de aloimunização, contudo, tem-se o PAI negativo e TAD negativo, estes fatores contribuem para o contato secundário, estimulando linfócitos B e linfócitos de memória a secretar anticorpos direcionados a eritrócitos, promovendo sua destruição na circulação sanguínea.^{2 26}

O diagnóstico por pesquisa de anticorpo irregular e identificação de anticorpos, conclui o diagnóstico de RHT. Se as hemácias transfundidas ainda estiverem presentes na circulação, o resultado do TAD pode ser positivo. Quando o resultado do TAD for positivo, um eluato deve ser realizado e o anticorpo identificado, permitindo esclarecimentos da causa da hemólise.^{2 15}
27

Em uma RTT, a hemólise é principalmente extravascular, portanto, embora a hemoglobinúria possa ocorrer em casos raros, insuficiência renal aguda e coagulação intravascular disseminada geralmente não estão presentes. Em alguns casos, a hemólise ocorre sem causar sintomas clínicos. Esses pacientes apresentam anemia inexplicada ou não apresentam aumento sustentado esperado nas concentrações de hemoglobina após a transfusão.
2

Aproximadamente 1% a 1,6% das transfusões de hemácias estão associadas à formação de anticorpos, excluindo anticorpos para antígenos no sistema Rh. O sangue D- negativo geralmente é transfundido para pacientes D-negativos, de modo que a frequência atribuível ao anti-D é relativamente baixa. As diretrizes de transfusão em pacientes críticos como receptores politransfundidos, a amostras devem ser coletadas dentro de três dias da data programada da transfusão para assegurar a identificação de quaisquer novos aloanticorpos potenciais.²

Reação hemolítica tardia (RHT) raramente, ou nunca, ocorre como um resultado da imunização primária e geralmente estão associados a transfusões subsequentes. Segundo

Tormey et al (2009) devido à evanescência até 30% a 60% dos aloanticorpos tornam-se indetectáveis ao longo de meses a anos. Anticorpos contra antígenos de alguns sistemas de grupos sanguíneos, como o sistema JK, frequentemente exibem esse comportamento. A transfusão subsequente de uma unidade antigênica positiva desencadeia uma resposta anamnésica, com a produção de anticorpos ocorrendo nos próximos dias ou semanas após a transfusão. A rapidez da produção de anticorpos e o potencial hemolítico do anticorpo combinam-se para influenciar a apresentação clínica. Os anticorpos de grupos sanguíneos mais comumente associados a RHTs/RSTs incluem aqueles direcionados a antígenos dos sistemas JK, FY, KEL e MNS). A aloimunização é frequentemente um fator de risco fisiopatológico para RHT, para a qual a prevenção parcial é possível. A escolha das unidades para transfusão pode ajudar na prevenção da aloimunização.^{2,26, 27, 28}

Os alo anticorpos dirigidos contra os antígenos dos sistemas eritrocitários Rh e Kell, são os mais frequentes em pacientes com DF. A compatibilidade eritrocitária para os fenótipos destes sistemas, deve ser considerada para o tratamento transfusional. No entanto, a importância da correspondência estendida a outros grupos sanguíneos (FY, JK, MNS) e de combinar fenótipos parciais de RH, como são frequentemente encontrados em pacientes com DF, permanece discutida.^{5, 29, 30}

O diagnóstico das Rts não é uma tarefa fácil, devido aos principais sintomas já estarem envolvidos no processo inflamatório da doença. Para isso, são previamente definidos os critérios para correlação das reações transfusionais com evento transfusional realizado.

Quadro 4 Classificação das reações transfusionais quanto a correlação com a transfusão

Tipos de correlação	Critérios
Confirmado	Novo anticorpo é identificado entre 24 horas e 28 dias após a transfusão: E Transfusão realizada na própria instituição é a única causa possível para o aparecimento de anticorpo irregulares
Provável	Quando a investigação já concluída, ou ainda em curso, apresenta evidências (quadro clínico / laboratorial e vínculo temporal) que indicam a correlação com a transfusão, mas há outras causas que podem explicar os sinais e sintomas
Possível	Quando a investigação já concluída, ou ainda em curso, apresenta evidências (quadro clínico / laboratorial / evolução e vínculo temporal) que indicam a correlação dos sinais e sintomas a outras causadas, mas a correlação com a transfusão não pode ser descartada.
Improvável	Quando a investigação já concluída, ou ainda em curso, apresenta evidências (quadro clínico/laboratorial, vínculo temporal) que indicam a correlação do evento adverso a outra(s) causa(s), mas há dúvidas para a sua exclusão

Inconclusiva	Quando a investigação já concluída não encontrou evidências (quadro clínico/laboratorial, vínculo temporal) suficientes para confirmar ou descartar a correlação com a transfusão
Descartada	Quando a investigação já concluída apresenta evidências (quadro clínico/laboratorial, vínculo temporal) que indicam claramente a correlação do evento adverso a outra(s) causa(s) e não à transfusão

Fonte: Marco conceitual, 2015

De acordo com o Sistema Notivisa da Vigilância Sanitária de 2014 (atualizado em 2020), tem aumentado as ocorrências e notificações anuais com aumento exponencial de desde 2002. A partir de 2007, ano de implementação do sistema NOTIVISA, as notificações têm apresentado um incremento médio anual de cerca de 80%.³¹

2.3.2 Frequência das reações hemolíticas tardias

Tal como acontece com as reações transfusionais hemolíticas imediatas, a taxa estimada de reações transfusionais hemolíticas tardias varia muito de estudo para estudo. Parte dessa variação é resultado da prática de considerar RST e RHT como uma categoria.²

Além disso, melhorias nas técnicas laboratoriais contribuiram para um aumento do número de RST detectados.² No entanto, as reações tardias ocorrem com muito mais frequência do que as reações hemolíticas imediatas, com estimativas de aproximadamente 1:2500 transfusões para qualquer tipo de reação tardia, e as reações transfusionais tardias sendo duas vezes mais frequente do que as reações hemolíticas tardias. Essas reações provavelmente serão pouco reconhecidas porque a maioria dos pacientes não é submetida à triagem de anticorpos eritrocitários comuns como nas RHTs após a transfusão.²

A prevalência de aloimunização tem sido estimada de 30% a 50% em pacientes com DF politransfundidos, apresentando 90% de risco para desenvolvimento de RT em comparação com restante da população, devido a terapia de suporte de transfusão ao longo dos anos. Evidências apontam que pacientes com DF aloimunizados têm um risco de 61% maior de produzir seu primeiro anticorpo antes da oitava bolsa de concentrado de hemácias.^{4, 32, 33 34}

2.2 Fisiopatologia das reações tardias de aloimunização e hemólise tardia

A aloimunização primária é o contato inicial de antígenos eritrocitários não – próprios com células da imunidade inata, como macrófagos, neutrófilos e linfócitos B. A aloimunização anamnésica ocorre com a exposição secundária dos antígenos não – próprios tendo a ação de

linfócitos T, auxiliares, linfócito B de memória, ativando os plasmócitos e aumentando os títulos de anticorpos.^{34,35}

A ação dos aloanticorpos de classe IgG abrange desde a ligação aos antígenos eritrocitários, dependendo da sua subclasse (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) a ativação do sistema complemento até a fração C3b que pode causar hemólise extravascular, através da opsonização com macrófagos no baço e fígado sendo a detecção desta proteína da membrana através do teste de antiglobulina direta (TAD), sendo um indicador de hemólise. Considerando além das subclasses também a especificidade antigênica a proteína C3b pode ainda ser clivada por fatores específicos em C3c e C3d, onde C3c não possui ação quimiotática, e C3d a ação de opsonização, sendo a detecção de C3d na membrana eritrocitária um indicador de que não está ocorrendo hemólise das hemácias transfundidas.^{36,37}

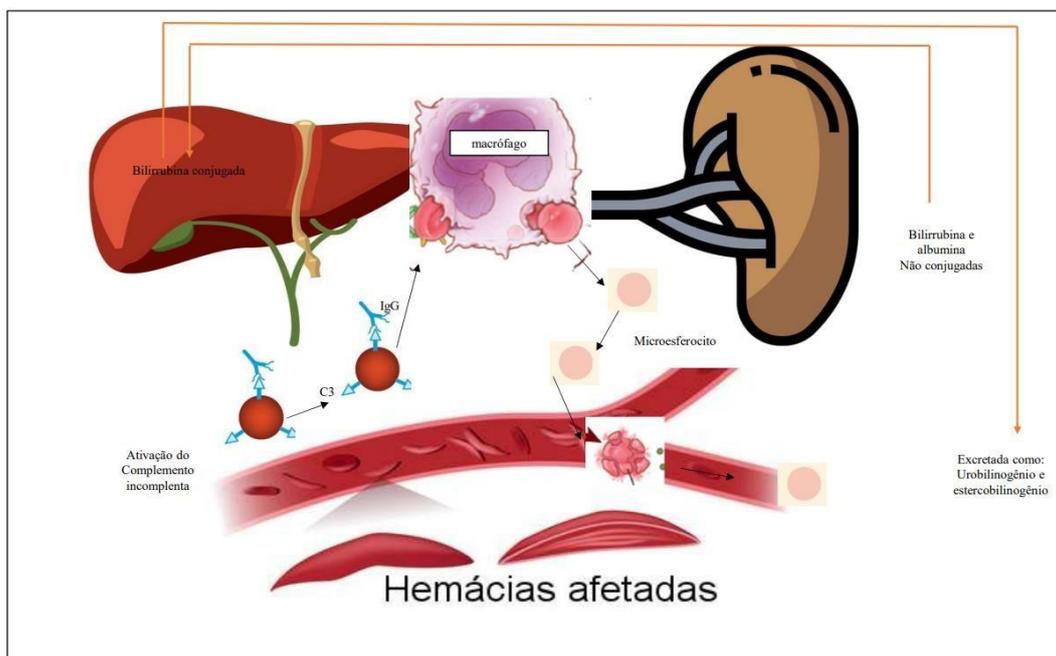


Figura 1 – Ativação do complemento e hemólise das hemácias

Fonte: Adaptada de Panch et al., 2019

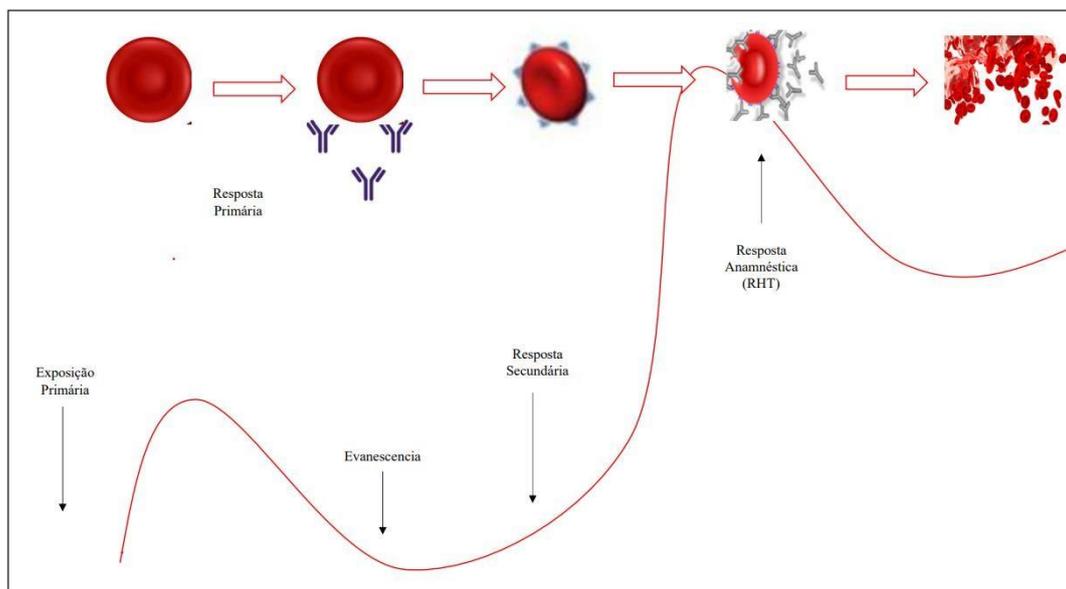


Figura 2 – Exposição primária e secundária a antígenos eritrocitários
 Fonte: Adaptado de Fasano et al., 2019

A hiper-hemólise pode ser subdividida em agudas e tardias, com base no tempo decorrido desde a transfusão até os sintomas clínicos e a formação potencial de aloanticorpos. A hiper hemólise aguda ocorre 7 dias após a transfusão sem formação de aloanticorpos, enquanto a forma tardia ocorre após 7 dias e a formação de aloanticorpos frequentemente ocorre. Múltiplos mecanismos foram propostos, incluindo aumento da hemólise por macrófagos ativados, aumento da exposição de fosfatidilserina as hemácias e supressão da eritropoiese, com ativação do complemento a hemólise pode ocorrer tanto nas hemácias do paciente quanto nas do doador.³

38

De acordo com Fasano (2019), podemos elencar os principais eventos que levam a uma reação transfusional tardia:

- O paciente é exposto a antígenos de grupo sanguíneo que não possui e desenvolve pelo menos um aloanticorpo (aloimunização primária);
- O aloanticorpo sem estímulo, tende a reduzir o título a limiares abaixo da sensibilidade do reagente de anti-globulina e com isto de aglutinação no teste da Pesquisa de Anticorpos Irregulares tornando-se indetectável nos testes convencionais.
- O paciente é reexposto ao antígeno para os quais foi aloimunizado;
- Uma resposta anamnésica (secundária), caracterizada pelo aumento do título de anticorpos, ocorre após a reexposição de hemácias, geralmente de 3 a 14 dias após a transfusão;

- Os anticorpos são produzidos em altos títulos, suficientes para resultar potencialmente na destruição acelerada das hemácias recém transfundidas.

2.3 Diagnóstico das reações tardias de aloimunização e hemólise tardia

A presença de anticorpo irregular em indivíduos ocorre após a exposição a uma incompatibilidade sanguínea como na gestação, transfusão, transplantes de medula óssea ou órgãos sólidos. O desenvolvimento de aloanticorpos, portanto, complica e limita a terapia transfusional, contribuindo não apenas para complicações na compatibilidade doador – receptor, mas também para a morbidade e mortalidade. O teste de antiglobulina direta (TAD) é baseado no método desenvolvido por Coombs, Mourant e Race, para a detecção de anticorpos ligados às hemácias. O teste de antiglobulina indireta (TAI), foi inicialmente usado para demonstrar anticorpos no soro, mas foi posteriormente aplicado para demonstrar o revestimento *in vivo* de eritrócitos com anticorpos ou componentes do complemento (o TAD).^{1 2 15}

A pesquisa de anticorpo irregular é feita com o reagente de antiglobulina que tem como resultado a hemaglutinação. Como os reagentes poli específicos geralmente são misturados, e as condições de teste para a detecção ideal de IgG e C3d em glóbulos vermelhos podem diferir, alguns laboratórios realizam o TAD inicialmente com reagentes anti-IgG e anti C3d separadamente. Se o reagente poliespecífico for policlonal, proteínas diferentes de IgG ou C3d (por exemplo, IgM, IgA ou outros componentes do complemento) podem ocasionalmente ser detectadas; entretanto, reagentes específicos para distinguir essas outras proteínas por técnicas sorológicas não estão prontamente disponíveis. Se as amostras do sangue do cordão umbilical devem ser testadas, é apropriado usar apenas anti-IgG, porque a doença hemolítica peri natal resulta da sensibilização das hemácias fetais com anticorpos IgG de origem materna, e a ativação do complemento raramente ocorre.^{1 2}

O diagnóstico da reação transfusional tardia baseia-se na história do paciente e testes laboratoriais tais como: Hemograma observando o nível de hemoglobina e a formação de esferócitos e microsferócitos, contagem de reticulócitos, pesquisa de anticorpos irregulares e teste de antiglobulina direto (caso positivo pode aplicar a técnica de Eluato) para detectar novos aloanticorpos e / ou auto anticorpos eritrocitários, exames bioquímicos como bilirrubina sérica (total e indireta) e desidrogenase láctica para avaliar o aumento da hemólise e avaliar haptoglobina que deve estar diminuída devido a ligação com hemoglobina livre decorrente da hemólise e uma amostra de urina para avaliar a hemoglobinúria. Para pacientes com doença

falciforme é interessante realizar ainda eletroforese de hemoglobina, demonstrando a destruição das hemácias transfundidas.³⁹

Um resultado positivo de TAD em um paciente com anemia hemolítica é sugestivo das anemias hemolíticas imunes. Os termos hiper-hemólise e hemólise são usados para descrever RHTs em pacientes com DF quando ocorre hemólise grave e a Hb diminui para menos do que os níveis pré-transfusionais. Isso sugere hemólise das próprias hemácias do paciente, além das células transfundidas. A diminuição do impulso eritropoiético endógeno após a transfusão também pode exacerbar a anemia associada à RHT. Hemólise grave pode ocorrer sem anticorpo identificável e um TAD negativo. No entanto, o reconhecimento é fundamental, pois as amostras devem ser testadas por métodos mais sensíveis e transfusões adicionais devem ser evitadas, se possível, pois a hemólise pode piorar e potencialmente levar à fatalidade.^{5,6, 26, 42, 44}

No entanto, o resultado do TAD pode ser positivo, coincidentemente, em pacientes com anemia hemolítica que não é imuno mediado. Por outro lado, alguns pacientes com anemia hemolítica imunológica apresentam resultados TAD negativos.⁴⁴

Quadro 5 Algumas causas de resultados de TAD positivos

· Autoanticorpos para antígenos eritrocitários
· Reações transfusionais hemolíticas
· Doença hemolítica perinatal
· Anticorpos induzidos por drogas
· Aloanticorpos passivos (plasma, hemoderivados ou imunoglobulinas)
· Proteínas adsorvidas não especificamente (hipergamaglobulinemia, alta dose de imunoglobulina intravenosa, modificação da membrana por algumas drogas)
· Ativação do sistema complemento devido a infecção bacteriana, autoanticorpos ou aloanticorpos
· Anticorpos produzidos por linfócitos de passagem (Órgãos transplantados, componentes hematopoiéticos)

Fonte: AABB, 2020

A interpretação de um resultado positivo de TAD deve levar em consideração o histórico do paciente, dados clínicos e resultados de outros exames laboratoriais. As investigações iniciais de reação transfusional incluem um TAD em uma amostra pós- transfusão. Dentro presença de hemólise imune imediata do resultado TAD pode ser positivo se vermelho

sensibilizado as células não foram destruídas, ou negativas se ocorreram hemólise e depuração rápida.^{1 2}

Se o resultado do TAD for positivo na amostra após reação, um TAD também deve ser realizado na amostra pré-transfusional para comparação e interpretação adequada. As reações hemolíticas tardias (RHT) podem ser induzidas por alo anticorpos reativos ao calor e ao frio.²

2.5.1 Alo anticorpos reativos ao calor e ao frio

Uma das características dos anticorpos anti-eritrocitários consiste na sua natureza físico-química: em sua maioria (80 a 90%), eles reagem mais favoravelmente com seus alvos em temperaturas que giram em torno de 37°C, sendo esses anticorpos denominados alo anticorpos quentes. Os demais, chamados frios, são aglutininas frias, ou crioglobulinas, que reagem com seus alvos em temperaturas abaixo de 37°C, apresentando reatividade ótima entre 0°C e 5°C. Os anticorpos quentes são a vasta maioria, contra os principais sistemas de grupos sanguíneos ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS.⁴² Já os anticorpos frios de importância transfusional são anti – I, -i, e subclasses do grupo A. Anti-A1, Anti-A2. De modo geral, a ação hemolítica das subclasses da IgG abrange um espectro de elevado a reduzido, na seguinte ordem: IgG3>IgG1>IgG2>IgG4.^{43 44 45 46}

3 Sistemas de grupos sanguíneos

Historicamente, a medicina transfusional é classificada em três fases: no século XVII, a era empírica que marca a descoberta da circulação sanguínea pelo médico britânico William Harley. (Souza & Ribeiro, 2014). A segunda fase no início do século XX, a era pré-científica que marca a descoberta do grupo sanguíneo ABO pelo lendário pesquisador Karl Landsteiner. A terceira fase, a era científica, é continuidade dos estudos por Landsteiner, e descoberta e classificações dos novos sistemas sanguíneos, e marca o Prêmio Nobel a Landsteiner pela descoberta do grupo sanguíneo ABO, sendo considerado o Pai da Hemoterapia. A relevância científica é aplicada nas práticas transfusionais até os dias atuais.⁴⁷

Os sistemas de grupos sanguíneos são oficialmente definidos como sistemas de um ou mais antígenos governados por um único gene ou complexo de dois ou mais genes homólogos intimamente ligados. Cada sistema é geneticamente distinto de todos os outros sistemas de grupos sanguíneos. Para que um sistema de grupo sanguíneo e seus antígenos sejam

reconhecidos, a variação genética subjacente deve ser identificada, sequenciada e confirmada para definir o fenótipo.⁴⁸

Antígenos são sítios específicos em diferentes proteínas, glicoproteínas ou glicolípídeos que formam partes da membrana eritrocitária com a qual o sistema imunológico pode interagir. Essas proteínas têm inúmeras funções como: transportadores de membrana (Diego, Kidd), moléculas receptoras e de adesão (Duffy, Lutheran), glicoproteínas reguladoras do complemento (Cromer, Knops), enzimas (Yt, Kell, Dombrock), componentes estruturais (Diego, Gerbich) ou componentes do glicocálice (MNS).⁴⁹

O Grupo de Trabalho da Sociedade Internacional de Transfusão de Sangue (ISBT) para Imunogenética de Células Vermelhas e Terminologia de Grupo Sanguíneo (ISBT WP) mantém um registro oficial de todos os sistemas de grupos sanguíneos atualmente reconhecidos. Existem atualmente 45 sistemas de grupos sanguíneos reconhecidos contendo 392 antígenos de glóbulos vermelhos. Os 45 sistemas são determinados geneticamente por 49 genes, três categorias para antígenos que ainda não foram associados a sistemas de grupos sanguíneos, 200 séries de antígenos, 2 séries de antígenos.⁴⁸

O quadro abaixo apresenta a classificação dos sistemas Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS;

Quadro 6 Classificação dos sistemas eritrocitários

Número	Sistema	Símbolo	Nome do gene	Locus	Antígenos	Localização	Grupo de diferenciação
002	MNS	MNS	<i>GYPA, GYPB</i> , , (<i>GYPE</i>)	793; 794	50	4q31.21	CD235a CD235b
004	Rh	RH	<i>RHD, RHCE</i>	796; 797	56	1p36.11	CD240
006	Kell	KEL	<i>KEL</i>	799	38	7q33	CD238
008	Duffy	FY	<i>ACKRI</i>	801	5	1q21-q22	CD234
009	Kidd	JK	<i>SLC14A1</i>	802	3	18q11-q12	

Fonte: ISBT, 2022

3.1 Sistema Rh

Em 1939, Levine e Stetson investigavam uma reação hemolítica em gêmeos recém nascidos, o anticorpo encontrado resultou de uma transfusão de sangue que a mãe recebeu de seu marido e que hemolisou as hemácias dos recém nascidos, sendo que um dos filhos foi natimorto. Mais tarde, em 1943 Race e colaboradores identificaram quatro antissoros de Rh de especificidades diferentes, que foram definidos por sete alelos. Em Nova Iorque, Wiener identificou três antissoros que poderiam definir seis alelos. Após 20 anos, Levine e

colaboradores tiveram a confirmação da relação da incompatibilidade entre do antígeno RhD entre a mãe e o feto foi a causa da Doença hemolítica perinatal (DHPN). Hoje, o fenótipo Rh das futuras mães é verificado durante a gravidez para identificar o risco de hemólise peri natal. Além disso, todas as transfusões de sangue têm o status Rh respeitado.^{50, 51, 52}

Os 56 antígenos do sistema Rh estão localizados em duas proteínas expressas na membrana dos eritrócitos e seus precursores imediatos: RhD (CD240D) e a RhCE (CD240CE), que carregam respectivamente os antígenos D(Rh1) e os C, c, E, e (Rh2- Rh5) em várias combinações (ce, cE, Ce e CE).⁵³

A maioria dos anticorpos Rh são IgG, mas podem ter um componente IgM. Normalmente, os anticorpos Rh não ativam o Sistema Complemento, embora raras exceções foram relatadas. Assim, em uma transfusão reação envolvendo anticorpos Rh, a hemólise é primariamente extravascular em vez de intravascular. Os anticorpos Rh têm o potencial de causar HDRN clinicamente significativo. Anti-c pode causar HDRN grave, mas anti-C, -E e -e geralmente não causam HDRN e, quando o fazem, é geralmente leve a moderado. Para investigações de anticorpos, os anticorpos Rh são aprimorados por enzimas, tratamento de glóbulos vermelhos, e a maioria é otimamente reativa a 37 °C.^{51,53, 54, 56, 57}

Quadro 7 Classificação dos anticorpos Rh

Anticorpo	classe	Reatividade			PAI	Papaína/Ficina	DTT	Associa com:
		4°C	22°C	37°C				
								RHT
Anti-D	IgG>IgM (IgA raro)		alguns	alguns	a maioria	resistente	resistente	Sim
Anti-C	IgG>IgM		alguns	alguns	a maioria	resistente	resistente	Sim
Anti-E	IgG>IgM	alguns	alguns	a maioria	resistente	resistente	sim	
Anti-c	IgG>IgM	alguns	alguns	a maioria	resistente	resistente	sim	
Anti-e	IgG>IgM	alguns	alguns	a maioria	resistente	resistente	sim	

fonte: AABB, 2020

3.2 Sistema Kell

O sistema de grupo sanguíneo Kell foi descoberto em 1946. Foi nomeado em homenagem à Sra. Kelleher, uma paciente em que anticorpos anti-Kell levou a uma doença hemolítica perinatal (DHPN). Desde então, um total de 25 antígenos Kell foram descobertos e são expressos em diferentes frequências e em diferentes populações.^{58,59}

Atualmente, o sistema Kell é constituído por 35 antígenos, dentre esses, sete antígenos têm características imunogênicas e com relações alélicas: K original e k (antigamente conhecidos como Kell e Celano, respectivamente) e ainda Kp^a, Kp^b, Kp^c; Js^a e Js^b; K11 e K17 (Wk^a); KEL14 and KEL24; KEL25 and KEL28; KEL31 and KEL38. Recentemente, foram adicionados 17 antígenos de alta frequência e 3 antígenos de baixa frequência.^{47,58}

Os anticorpos do sistema Kel são geralmente IgG e predominantemente IgG1. Devem considerar potencialmente clinicamente significativo do ponto de vista de causar DHRN e RHT graves. Os pacientes com anticorpos do sistema KEL devem receber sangue com antígeno negativo sempre que possível.^{47,60}

Além dos anticorpos dos sistemas ABO e Rh, os anticorpos Kel são os mais comuns apresentando um terço de todos os anticorpos imunes aos eritrócitos não Rh investigados são anti-K. Um teste de antiglobulina é geralmente o método de escolha para detectar anti-K, embora amostras ocasionais possam aglutinar eritrócitos diretamente. A maioria dos anti-K parece ser induzida por transfusão de sangue. Anticorpos para K, k, Kp^a, Kp^b, Js^a, Js^b, Ku, U1^a, K¹¹, K¹⁹, K²² e KE^{al} são todos implicados RHT agudos ou tardios. Anticorpos que imitam as especificidades do sistema KEL têm sido responsáveis por Anemia hemolítica auto-imune aguda (AHAI).^{56, 58, 60}

Quadro 8 Classificação dos anticorpos Kell

Anticorpo	Classe	Reatividade			PAI	Papaína/ficina	DTT	Associado com:
		4°C	22°C	37°C				
Anti-K	IgG>IgM		alguns		a maioria	resistente	sensível	sim
Anti-k	IgG>IgM		alguns		a maioria	resistente	sensível	sim
Anti-Kp^a	IgG				a maioria	resistente	sensível	sim

Anti-Kp^b	IgG>IgM	a maioria	resistente	sensível	sim
Anti-Js^a	IgG>IgM	a maioria	resistente	sensível	sim
Anti-Js^b	IgG	a maioria	resistente	sensível	sim

fonte: AABB, 2020

3.3 Sistema Kidd

Em 1951, descobriu-se que uma paciente chamada Sra. Kidd havia produzido anticorpos direcionados contra um então desconhecido antígeno de eritrócitos durante a gravidez.⁶¹

Os antígenos Jk^a e Jk^b do sistema Kidd são produtos do polimorfismo alélico em todas as populações testadas. Os alelos Jk^a/Jk^b são a substituição polipeptídica onde a troca de aminoácido ácido aspártico por asparagina na posição 280 (Asp280Asn) na região codificante da glicoproteína Kidd.⁶¹

Anti-Jk^a e -Jk^b são geralmente IgG1 e IgG3, mas alguns são parcialmente IgG2, IgG4 ou IgM. Anti-Jk^a e Jk^b são frequentemente encontrados com outros anticorpos e cerca de 50% se ligam ao complemento. Embora o anti-Jk^a seja imunogênico, o título do anti-Jk^a e anti-Jk^b geralmente diminui impossibilitando detecção nas técnicas sorológicas, tendo algumas reações com aglutinação fracamente. Geralmente, um teste antiglobulina é necessário, e o uso de células tratadas com enzimas pode ser necessário para detectar anticorpos mais fracos. Os anticorpos JK podem causar RHT agudas ou tardias graves. Eles são uma causa muito comum de RHT tardias, porque não foram em testes pré-transfusionais.^{2 60 62}

Quadro 9 Classificação dos anticorpos Kidd

Anticorp o	Classe	Reatividade			PAI	Papaína/Fic ina	DTT	Associad o com:
		4°C	22°C	37°C				
Anti-Jk^a	IgG>IgM				a maioria	resistente	resistent e	sim

Anti-Jk^b	IgG>IgM	a maioria	resistente	resistente	sim
----------------------------	---------	--------------	------------	------------	-----

fonte: AABB, 2020

3.4 Sistema Duffy

O grupo sanguíneo Duffy foi descoberto em 1950. Foi nomeado para um paciente com hemofilia que recebeu múltiplas transfusões de sangue e foi o primeiro produto imunológico conhecido de anti-Fy^a. Um ano depois, o anti-Fy^b foi descoberto em uma mulher que teve vários filhos. Os antígenos Duffy restantes (Fy³, Fy⁴, Fy⁵ e Fy⁶) foram descobertos 20 anos depois, mas destes, apenas Fy³ parece ser clinicamente significativo.⁶³

Os antígenos Fy^a e Fy^b são produtos dos alelos *FY*A* e *FY*B* originam três fenótipos comumente em pessoas brancas. Os fenótipos Fy (a+b-), Fy (a+ b+) e Fy (a- b+).⁶¹

Os anticorpos contra os antígenos Fya e Fyb são das subclasses de IgG IgG1, sendo de baixíssima a frequência do anti-Fyb. Apesar de raramente detectados, Anti-Fya e anti-Fyb podem causar RHT agudas ou tardias, estes episódios geralmente são leves, mas as reações anamnéticas provaram ser fatais. O Anti-Fy3 tem sido responsável por RHT agudas e tardias, e anti-Fy5 por RHT tardias, este excepcionalmente foi encontrado apenas em indivíduos de ascendência africana que receberam múltiplas transfusões.^{2 15, 62 63, 64, 65}

Quadro 10 Classificação dos anticorpos Duffy

Aticorpo	Classe	Reatividade			PAI	Papaína/ficina	DTT	Associa com:
		4°C	22°C	37°C				
Anti-Fy_a	IgG>IgM				maioria	sensível	resistente	sim
Anti-Fy^b	IgG>IgM				a maioria	sensível	resistente	sim

fonte: AABB, 2020

3.4 Sistema MNS

O sistema MNS foi o segundo grupo sanguíneo a ser descoberto por Landsteiner e Levine, em 1927, ao imunizar coelhos com células vermelhas. Os antígenos M N foram os

primeiros a serem identificados, vinte anos antes dos antígenos ‘S’ e ‘s’ serem nomeados. Atualmente, mais de 40 antígenos foram identificados nesse sistema sanguíneo, porém M, N, S continuam sendo os mais comuns. Wiener, em 1953, relatou a existência do antígeno U, o qual acabou sendo incluído no sistema, já que foi observado que todas as hemácias U negativas também eram ‘S’ e ‘s’ negativas.^{45, 47, 66, 67,68}

Anti-M é um anticorpo comum, enquanto anti-N é menos frequente. Ocasionalmente, o anti-M tem sido implicado causa de RHT agudas e tardias. No entanto, na ausência de hemólise, a especificidade de um auto anticorpo geralmente não é significativa. Anti-S e -s são geralmente anticorpos IgG e reagem à temperatura ambiente de 37°C. Se imunizados, em indivíduos com o fenótipo (S–s–U–) e desenvolver anti-U, tem um alto risco de apresentar RHT grave.^{2, 15,62, 69}

Quadro 11 Classificação dos anticorpos MNS

Anticorpo	classe	Reatividade	PAI	Papaina/ficina	DTT	Associa com:	
		4 °C	22 °C	37°C		RHT	
Anti-M	IgG>IgM	a maioria	a maioria	raros	sensível	resistente	raro
Anti-N	IgG>IgM	a maioria	a maioria	raros	sensível	resistente	raro
Anti-S	IgG>IgM		a maioria	a maioria	variável	resistente	sim
Anti-s	IgG>IgM			a maioria	variável	resistente	sim
Anti-U	IgG			a maioria	resistente	resistente	sim

fonte: AABB,2020

Os aloanticorpos mais frequentes foram encontrados direcionados aos seguintes sistemas de grupos sanguíneos, RH (D, C, E, c e e), KELL (K), Duffy (FY) (Fya e Fyb), Kidd (JK) (Jka e Jkb), MNS (M, S e s).^{26,37}

4 Justificativa

Este projeto justifica-se pela possibilidade de produzir importantes informações quanto ao registro de reações transfusionais tardias que resultem em aloimunização, hemólise e suas consequências para o estado clínico do paciente, sendo possível observar o impacto da transfusão de antígenos incompatíveis, a formação de anticorpos irregulares e sua importância clínica, contribuindo com a segurança transfusional de pacientes politransfundidos sugerindo protocolos imuno-hematológicos que possam minimizar ao máximo os impactos das reações transfusionais tardias.

A região Norte é a segunda região que menos têm oferecido dados de ocorrência e notificação por ano, tendo o estado do Pará seguido do Acre as maiores frequências e notificações. O Estado do Amazonas tem mostrado considerável adequação ao SNVS, totalizando 321 notificações (2002 – 2013).

Como discutido no decorrer do trabalho, pacientes com DF politransfundidos são 60% mais propensos a desenvolver um ou mais aloanticorpos, o principal responsável pela hemólise tardia. Apesar das reações tardias de aloimunização e hemólise serem frequentes em pacientes politransfundidos, estas reações transfusionais são subnotificadas em razão da necessidade de um sistema de acompanhamento do paciente nos 28 dias após a transfusão, disponibilização de hemácias fenotipadas e insumos específicos para identificação de diversos anticorpos irregulares de baixo título, alta frequência e droga induzido e ainda a necessidade de integração de informações dos históricos de resultados dos exames imuno-hematológicos a disposição dos solicitantes do hemocomponentes.

O presente estudo é motivado por dados epidemiológicos internacionais como da associação americana de banco de sangue (*AABB e SHOT REPORT*) que apontam que os riscos em até 70% de aloimunização para os sistemas de grupos sanguíneos como Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS para os pacientes como hemoglobinopatias como talassemias e doença falciforme. Com intuito de investigar na população de pacientes com doença falciforme politransfundidos do Hemocentro do Amazonas a frequência de reações tardias de aloimunização e hemólise, observando a prevalência de aloimunização, - assim como sinais e sintomas de hemólise tardia. Estes dados epidemiológicos consolidados poderão contribuir para a segurança transfusional dos pacientes com DF do Hemocentro do Amazonas.

5 Objetivos

Geral

Caracterizar o perfil imuno-hematológico das reações transfusionais tardias em pacientes com doença falciforme politransfundidos no hemocentro do Amazonas.

5.1 Específicos

- Descrever o fenótipo dos sistemas sanguíneos Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS dos pacientes falciformes politransfundidos incluídos no projeto;
- Determinar a porcentagem de compatibilidade entre os doadores e pacientes, considerando os sistemas sanguíneos Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS;
- Descrever a frequência de alo imunização primária e anamnésica e dos alo anticorpos detectados em pacientes com doença falciforme politransfundidos;
- Identificar as reações hemolíticas tardias com base em marcadores laboratoriais de lesão tecidual e celular.

6 Metodologia

6.1 Tipo de estudo

Tratou-se de um estudo descritivo longitudinal prospectivo, onde foi examinado o perfil imuno-hematológico das reações tardias em pacientes com doença falciforme politransfundidos.

6.2 Local de estudo

O estudo foi realizado na cidade de Manaus, Estado do Amazonas, e desenvolvido na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM).

6.3 População de estudo

Pacientes com diagnóstico de doença falciforme expressando hemoglobina SS (Hb^{SS}) com protocolo terapêutico a transfusão crônica de concentrado de hemácias seja hemocomponente tradicional, especial como concentrado de hemácias lavado (CHL), concentrado de hemácias filtrado (CHF), concentrado de hemácias irradiado (CHI) e concentrado de hemácias fenotipados. Assim como técnicas de hemocomponentes conjugadas como concentrado de hemácias filtrado e irradiado (CHFI).

6.4 Critério de inclusão

Foram incluídos como participantes da pesquisa tais pacientes com doença falciforme (Hb^{SS}), crianças, adolescentes, adultos, tanto homens e mulheres, que estivessem em terapia transfusional crônica da modalidade programada que tenham recebido três ou mais unidades de concentrado de hemácias no período de doze meses, em comum acordo com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) destinado aos adultos e o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) para crianças e adolescentes menores de 18 anos. Os critérios aplicam -se à disponibilidade no banco de dados na plataforma de lançamento de exames do hemocentro – *Hemosys*, o histórico de transfusões, exames imuno-hematológicos, hematológicos e bioquímicos anteriores e/ou atualizados. Assim como informações clínicas do formulário do acompanhamento do projeto de pesquisa para investigar principais sintomas de RHT entre os dias D7, D14, D21 e D28.

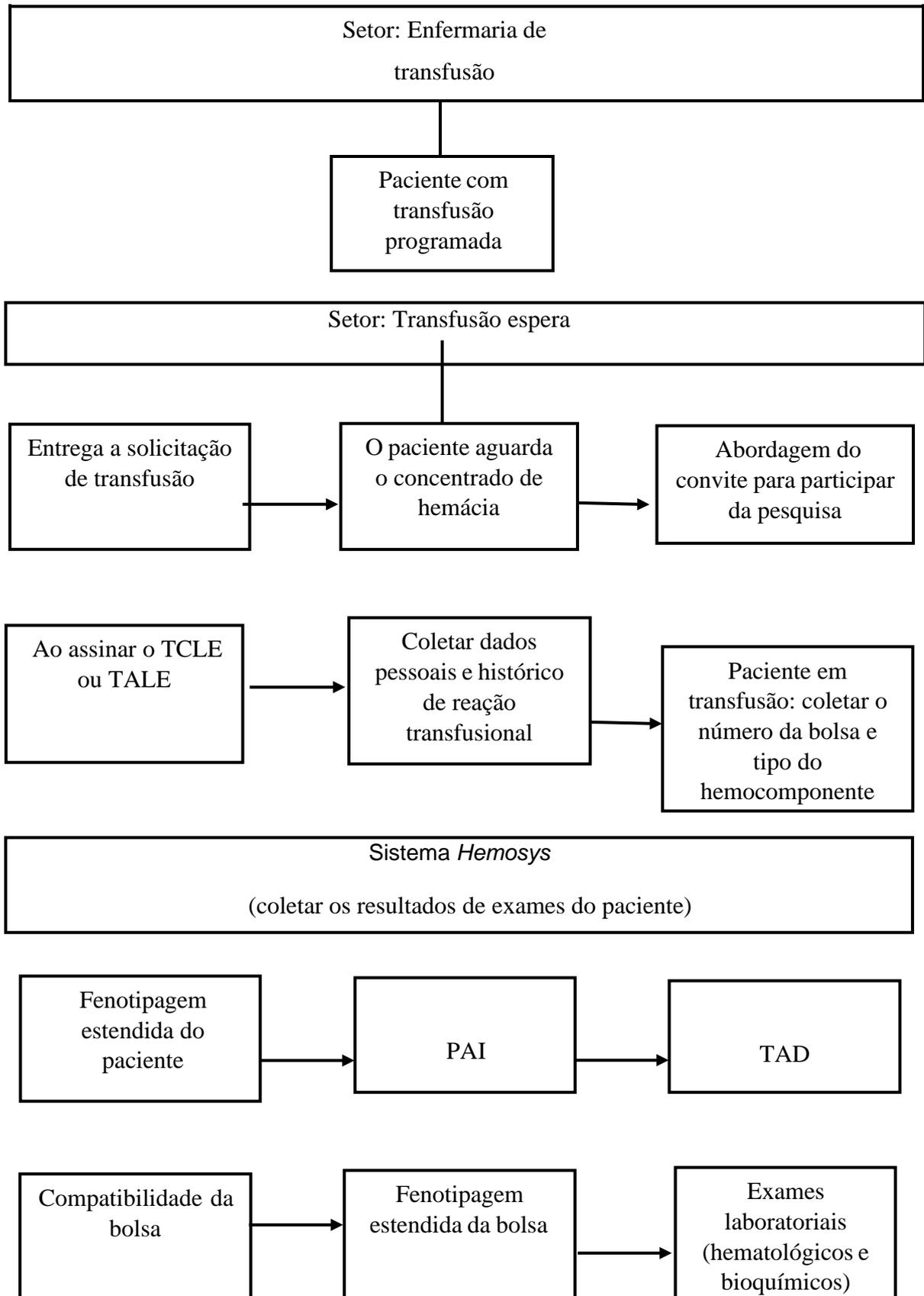
6.5 Critérios de exclusão

Foram excluídos do projeto, os pacientes que não assíduos na programação de transfusão, um óbito registrado e aqueles com registros incompletos nos prontuários, tornando inviável a busca ativa nos sistemas hospitalares utilizados nesta pesquisa.

6.6 Fluxograma das atividades do projeto de pesquisa

Os pacientes com doença falciforme politransfundidos em modalidade transfusão programada, ao entregar a solicitação de hemocomponente na enfermaria de transfusão e estar aguardando na sala de transfusão a coleta de exames pré – transfusionais ou o concentrado de hemácia previamente compatibilizados e com os resultados imuno-hematológico lançados. Neste momento, o paciente será abordado respeitosamente por um membro da equipe deste projeto, quando explicado os objetivos do estudo, foi convidado a participar no projeto de pesquisa mediante ao assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para adultos e maiores de 18 anos e Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) para crianças e adolescentes menores de 18 anos. Quando aceitou ser participante da pesquisa, o pesquisador coletou dados pessoais (Nome, data de nascimento, idade e telefone para contato) e uma breve investigação se este paciente recorda de reação transfusional. Saliento que as informações de histórico transfusional foram confirmadas nos prontuários de histórico de reação transfusional se sim ou se não, sendo item visualizado na solicitação de hemocomponente do serviço.

Fluxograma 1 – inclusão de paciente e atividade diária do projeto



7 Acompanhamento pós transfusional

Após o término do ato transfusional, o paciente permanece em observação aproximadamente 30 minutos no leito, antes de retornar à sua residência. Neste período ele é orientado pela equipe de enfermagem a entrar em contato com o serviço de urgência e emergência do HEMOAM caso apresente sinais e sintomas de reação transfusional. Ao cumprir os retornos de consultas clínicas foi verificado de seu estado geral, registrado qualquer intercorrência clínica apresentado pelo paciente de acordo com o formulário de sinais e sintomas que encontram-se nos anexos, sendo assim intercorrências, quando detectadas, foram informadas ao serviço médico para que as devidas intervenções sejam tomadas, ou seja, convocação do paciente para investigação médica da provável reação hemolítica tardia. Diante de nenhuma queixa clínica nos contatos realizados após a transfusão, aguardamos o retorno desse paciente ao HEMOAM para o agendamento da nova transfusão e seguindo o protocolo do estudo, no dia anterior à transfusão, foi realizada uma nova entrevista para verificação de alguma intercorrência clínica neste retorno quando, se necessário foi coletado nova amostra para exame de hemograma, sendo estes os parâmetros pós-transfusoriais que foram comparados com os resultados pré-transfusoriais, continuado o mesmo acompanhamento transfusional como descrito acima.

7.1 Coleta de material biológico

As amostras de sangue periférico foram coletadas por punção venosa em tubo com anticoagulante ácido etileno diamino tetracético (EDTA) (*BD Vacutainer® EDTA K2*).

7.2 Perfil imuno – hematológico

O perfil imuno – hematológico incluem os seguintes exames:

Quadro 12 Perfil imuno-hematológico

Identificação de anticorpos irregulares 4°C (IAI/Frio)
Pesquisa de Anticorpos Irregulares à Temperatura Ambiente (PAI/TA)
Identificação de anticorpos irregulares à Temperatura Ambiente (IAI/TA)
Pesquisa de Anticorpos Irregulares à 37°C/AGH (PAI/AGH)

Identificação de anticorpos irregulares à 37C/AGH (IAI/AGH)
Titulação
Tratamento do plasma com DTT (Ditiotreitól)
Auto Controle (AC)
Teste da Antiglobulina Direta (TAD)
Prova Cruzada (PC).
Exame
Fenotipagem Estendida Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS
Pesquisa de Anticorpos Irregulares à 4°C (PAI/Frio)

Fonte: acervo autor, 2022

Técnicas descritas no anexo I

7.3 Fenotipagem eritrocitária

Realizada pela técnica de gel centrifugação (BioRad) utilizando anticorpos para os principais antígenos dos sistemas Rh (D, C,c E, e), Kell (K,k), kidd (Jka, Jkb), Duffy (Fya, Fyb) e MNS (M,N,S,s) e amostra de eritrócitos do paciente e doador suspensos em meio salino. (Técnica em anexo).

7.4 Pesquisa e identificação de anticorpos Irregulares a frio, TA e quente/ AGH

A pesquisa e identificação de anticorpos Irregulares foi realizada utilizando plasma e hemácias de triagem (BioRad) suspensas em meio salino e incubadas nas diferentes temperaturas de 4°C, TA (20° – 25°C), 37°C utilizando anti-globulina humana. Os testes à 4°C e TA detectam alo anticorpos irregulares que agem abaixo de 37°C, mas que se os mesmos estiverem em título acima de 64 podem causar reação transfusional; O teste a 37°C utilizando Antiglobulina Humana (AGH) buscam detectar anticorpos potencialmente hemolíticos. As

identificações dos alo anticorpos detectados são realizadas através da testagem do plasma do paciente com um painel de 10 hemácias (BioRad), 16 hemácias (fresenius).

7.5 Titulação

Foram realizadas por diluições sucessivas do plasma do paciente em que foi detectado o anticorpo. Esta verificação é importante para quantificar a concentração de anticorpos no plasma do paciente. Os títulos podem variar de 1:2 a valores superiores a 1:1024, através da leitura da intensidade de reação em cruces, o que possibilita ainda a definição de um score que pode diferenciar a concentração de dois alo anticorpos com o mesmo título.

7.6 Tratamento de plasma com Dithiothreitol (DTT)

Teve o objetivo de verificar a classe do anticorpo detectado, pois este reagente desnatura as ligações dissulfeto da cadeia juncional das classes IgM.

7.7 Autocontrole

É um controle dos testes de Pesquisa e identificação de aloanticorpos, pois indicam a presença de auto anticorpos além do anticorpo detectado.

7.8 Teste da antiglobulina direta (TAD)

Foi realizado para detectar a presença de anticorpos e/ou proteínas do sistema complemento ligados à membrana eritrocitária do indivíduo, podendo ser alo ou auto anticorpos originados de diversos processos de reação imunológica, inclusive anticorpos droga induzidos.

7.9 Prova cruzada

Foi realizada através do método de coombs indireto à 37°C utilizando o plasma do paciente e os eritrócitos do doador com o objetivo de detectar anticorpos potencialmente hemolíticos antes da transfusão que tornem a transfusão incompatível. Quando detectado torna-se possível evitar uma reação Transfusional imediata.

7.10 Perfil imuno – hematológico de aloimunização primária e resposta anamnésica

Perfil de uma Resposta anamnésica:

PAI negativo (Frio, TA e quente/AGH) nos testes pré transfusionais da transfusão atual;

Detecção de aloanticorpo no período de até 30 dias após a transfusão atual.

Observação da presença do mesmo anticorpo detectado após a transfusão atual, em testes pré transfusionais de transfusões anteriores, o que será comprovado em uma avaliação retrospectiva.

Perfil de alo imunização primária:

- PAI negativo (Frio, TA e quente/AGH) nos testes pré transfusionais da transfusão atual;
- Detecção de alo anticorpo no período de até 30 dias após a transfusão atual;

Observação do resultado de PAI negativo em todos os testes pré transfusionais de transfusões anteriores, o que será comprovado em uma avaliação retrospectiva.

7. 10 Porcentagem de compatibilidade

Trata-se de um indicador de porcentagem de compatibilidade elaborado e validado para este estudo que envolveu a oferta de uma bolsa com os mesmos antígenos negativos (compatíveis) que o paciente possuir, ou seja: Rh (D, C, c, E, e) ; Kell (K, k); Kidd (Jk^a, Jk^b) ; Duffy (Fy^a, Fy^b) e MNS (M, N, S, s), perfazendo um total de 15 antígenos a serem respeitados.

Esse percentual possibilitou conhecermos a chance percentual do paciente desenvolver uma reação tardia de aloimunização, a partir do momento que recebeu algum destes antígenos que não os possua em sua fenotipagem. Para tanto elaboramos a seguinte fórmula:

Fórmula do indicador de compatibilidade.

$$\text{Porcentagem de compatibilidade (\%)} = \frac{\text{n. De antígenos negativos da bolsa}}{\text{n. de antígenos negativos no paciente}} * 100$$

Observamos ainda, de forma descritiva, o impacto da imunogenicidade dos antígenos incompatíveis e a capacidade ou debilidade do sistema imunológico do paciente para a produção de um anticorpo com especificidade para algum antígeno incompatível. Esta constatação foi verificada através da detecção e identificação de alo anticorpos irregulares na amostra colhida após a transfusão.

7. 11 Registros de resultados

Todos os pacientes que foram incluídos no projeto receberam uma numeração sequencial e única para cada paciente, tratados no projeto com seu número de identificação (ID). Todo resultado dos testes imuno-hematológicos (perfil) foi registrado em planilha

eletrônica específica do projeto, assim como o impacto clínico ou não durante ou após a transfusão no paciente.

Quadro 13 Reações tardias e indicadores hematológicos, Bioquímicos e imuno-hematológicos.

Reação	Exames	Indicadores
Hemolítica	Hemograma	Redução de Hemoglobina
		Aumento de esferócitos
	Contagem de reticulócitos	Aumento de reticulócitos
	Teste da Antiglobulina Direta (TAD)	Positivo
	Dosagem de haptoglobina	Redução de haptoglobina
	Dosagem de LDH	Aumento de LDH
Alo Imunização	Pesquisa de Anticorpos Irregulares à frio, TA e quente.	Presença de alo anticorpo

Fonte: acervo autor, 2023

8 Análises estatísticas

Os dados laboratoriais e características clínicas dos indivíduos do estudo foram apresentados em formas de quadros, tabelas e gráficos, elaboradas com o programa Excel 2020 (*Microsoft Corporation*). A análise estatística convencional dos dados obtidos será realizada utilizando o software *GraphPad Prism* (v.5.0). As variáveis numéricas foram expressas por média \pm desvio padrão ou mediana (intervalo) pela ausência de distribuição normal.

Variáveis categóricas são expressas por valor absoluto (n) e frequência relativa (%). A análise estatística entre grupos independentes, variáveis qualitativas e variáveis quantitativas contínuas foi realizada pelo teste de estatística descritiva.

9 Resultados

Foi realizada a investigação do perfil imuno hematológico de 44 pacientes com Doença falciforme portadores de HbSS, residentes em Manaus e politransfundidos. Todos de acordo em participar com a pesquisa pela assinatura do TCLE e TALE aceitos pelos pais ou responsáveis das crianças. Os participantes da pesquisa foram maioria do gênero feminino (54,5), adultos (40,9) e dentre o grupo sanguíneo tipo O (61,3).

Quadro 14 Dados categóricos da população de estudo

Características	Pacientes (n=44)	
	n	%
Gênero		
Masculino	18	40,9
Feminino	24	54,5
Idade (mediana)	18,5 (2-72)	
2-11	13	29,5
12-17	13	29,5
18-39	11	25
40-59	5	11,3
>60	2	4,5
Residência		
Manaus	44	100
Grupo ABO		
A	14	31,8
B	1	2,2
AB	2	4,5
O	27	61,3
No de Transfusão		
mínimo	3	
máximo	37	
média	16,68	

(Fonte: acervo autor, 2023)

Todos os indivíduos da pesquisa integram o fluxo de transfusão programada mensal, este planejamento pode ser alterado, caso o médico hematologista avalie que o paciente está com condições saudáveis o suficiente para não ser transfundido naquele mês.

Frequência dos fenótipos dos sistemas Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS

Os fenótipos dos sistemas eritrocitários Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS foram coletados do banco de dados do Hemosys e do livro de registro do laboratório de imuno-hematologia. São 44 receptores com Doença falciforme que integram o fluxo de transfusão programada.

Quadro 15 Frequência fenotípica dos principais antígenos dos sistemas Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS e receptores com Doença falciforme politransfundidos (N=44)

Sistemas de grupos sanguíneos	n (%)
Rh	
R1R1 (DCE/DCE)	11 (24,4)
R1R2 (Dce/DCE)	10 (22,2)
R2R2 (DCE/DCE)	2 (4,4)
R2r (DcE/dce)	1 (2,2)
R0r (Dce/dce)	4 (8,8)
RZRZ (DCE/DCE)	12 (26,6)
rr (dce/dce)	3 (6,6)
R1 wR1	1 (2,2)
Kell	
K-k+	27 (61,3)
K+k-	2 (4,5)
K+k+	2 (4,5)
Kp (a-b+)	13 (29,5)
Kidd	
Jk ^(a+b+)	17 (37,7)
Jk ^(a+b-)	11 (25)
Jk ^(a-b+)	8 (17,7)
Duffy	
Fy ^(a+b-)	11 (25)
Fy ^(a+b+)	15 (34)
Fy ^(a-b+)	11 (25)
Fy ^(a-b-)	1 (2,2)
MNS	
M+N+S-s+	5 (11,3)
M+N+S+s+	7 (15,9)
M-N+S-s+	1 (2,2)
M+N-S+s+	14 (31,8)
M+N-S-s+	2 (4,5)
M-N+S+s+	4 (9,0)
M+N-S+s-	4 (9,0)
M+N+S+s-	2 (4,5)
M-N-S+s+	1 (2,2)

(Fonte: acervo autor, 2023)

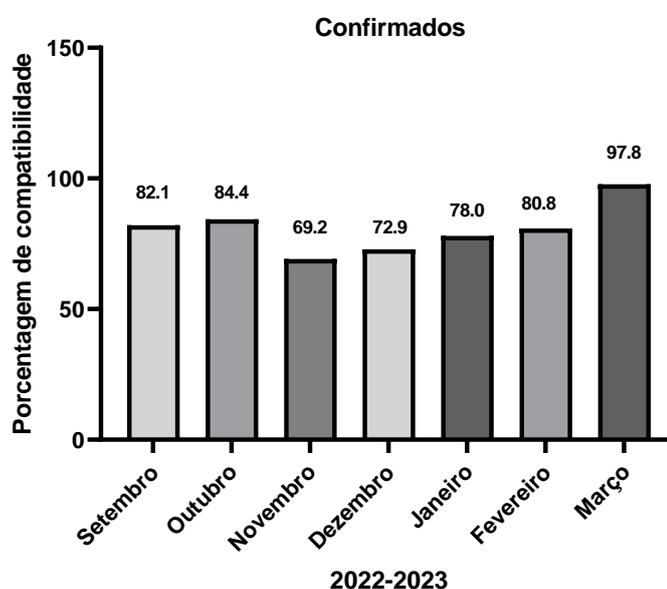
Todos os pacientes no projeto incluídos foram fenotipados para os sistemas Rh e Kell (100%), no entanto apenas 70,7% para o sistema Kidd, 38% para o sistema Duffy e 96,7% para

o sistema MNS. Entre os dados mais significados apresentados no quadro 15, pode-se observar a frequência de 26,6% do fenótipo RZRZ (DCE/DCE) e um paciente com mutação no *RHCE* (R1 Wr1) com os antígenos ‘e’ parcial e a frequência de 4,5% com o fenótipo K+k-.

Porcentagem de compatibilidade entre o hemocomponente e receptor quanto aos sistemas Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS

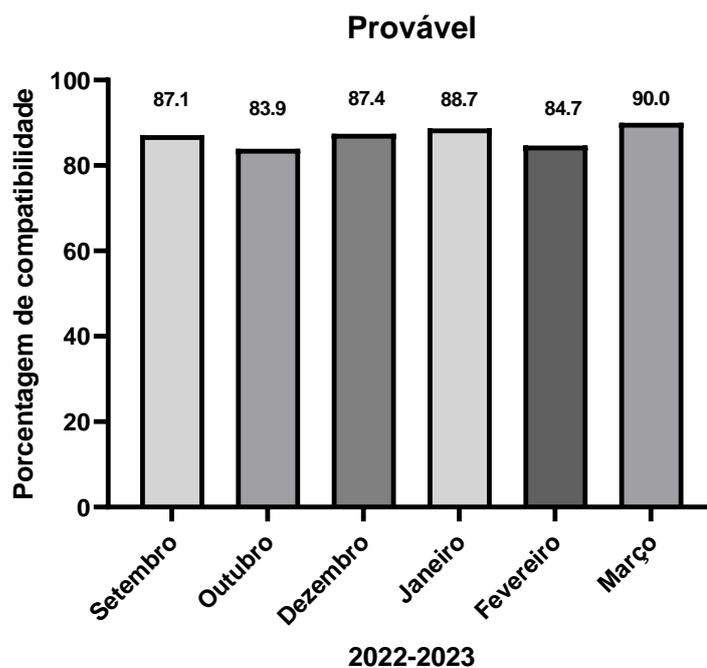
Foi observado que os grupos ‘provável’, ‘possível’ e ‘descartado’ possuíam 80% - 90% de compatibilidade e apenas o grupo ‘confirmado’ com percentual menor que 70%. Com objetivo de tratar estes resultados em grupos e correlacionar entre eles, utilizamos dos casos de RHT e seus desfechos clínicos segregados para demonstrar em grupos como: confirmado, provável, possível e descartado.

gráfico 1 Porcentagem da compatibilidade do grupo confirmado com RHT



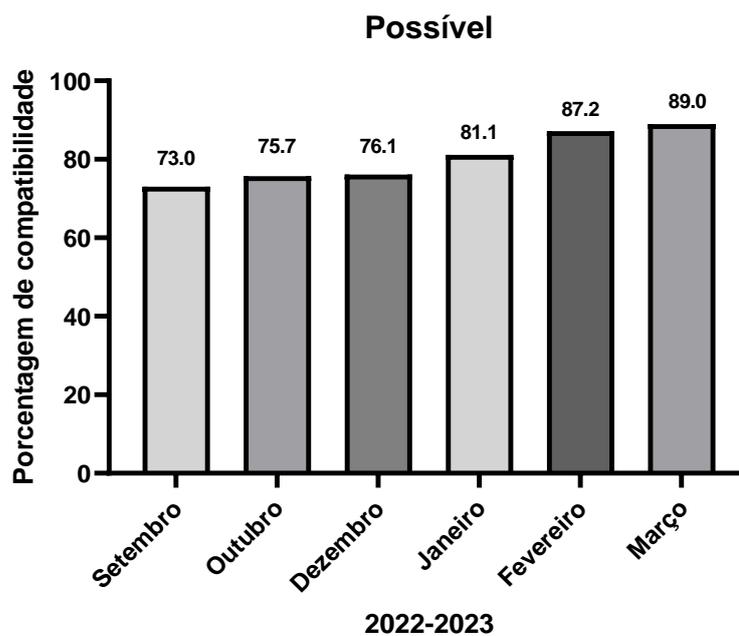
(Fonte: acervo autor, 2023)

gráfico 2 Porcentagem da compatibilidade do grupo provável com RHT



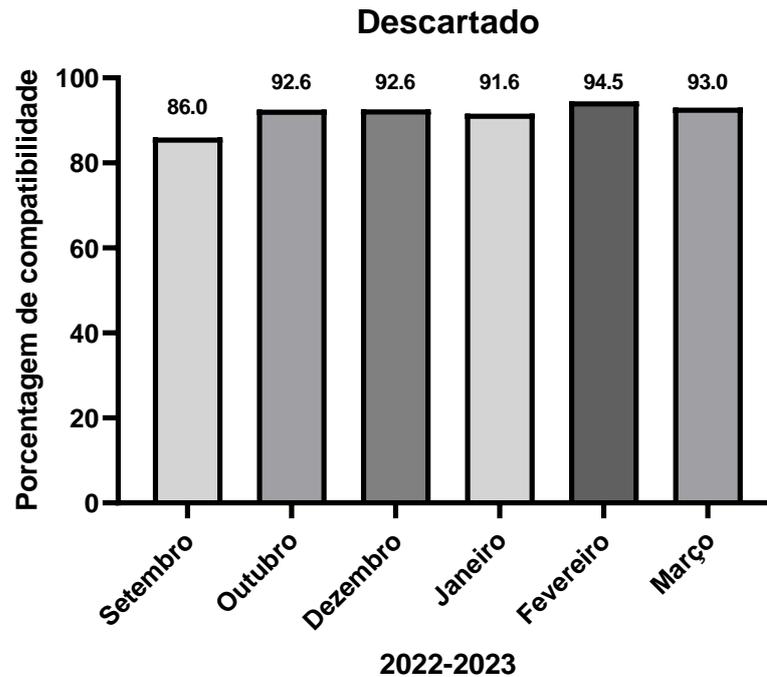
(Fonte: acervo autor, 2023)

gráfico 3 Porcentagem da compatibilidade do grupo possível com RHT



(Fonte: acervo autor, 2023)

gráfico 4 Porcentagem da compatibilidade do grupo descartado com RHT



(Fonte: acervo autor, 2023)

Nos gráficos explicitados, observa-se no grupo ‘confirmado’ o declínio de porcentagem de compatibilidade de 84.4% dos níveis percentuais de 69.2%, 72.9% e 78% dos meses de novembro, dezembro de 2023 e janeiro de 2023, respectivamente.

Frequência de aloimunização primária e anamnésica e autoanticorpos

Ao iniciarmos este projeto, foi realizado uma busca ativa retrospectiva dos registros de presença de aloanticorpos e autoanticorpos nos pacientes estudados no laboratório de imunohematologia para serem identificados os pacientes com doença falciforme que cumprem a programação de transfusão para tomarmos ciências dos receptores previamente aloimunizados, se identificado o aloanticorpo ou não identificados, teste da antiglobulina direta positivo e/ou autocontrole positivo com identificado de autoanticorpo.

Abaixo está exposto em quadro 15 as reações tardias investigadas que são definidas pelos testes pré-transfusionais os quais são aloimunização primária, anamnésica e autoanticorpos. Estão presentes abaixo, os resultados de perfil imuno-hematológico que contribuíram para os desfechos dessas reações tardias acima explicitadas.

Quadro 16 Descrição do perfil imuno-hematológico dos pacientes com doença falciforme politransfundidos

Reações		ID Pacientes								
		31	60	63	74	78	81	91	92	93
Alo imunização	anticorpo	K	N.I	N	**RhD	N.I	***e ; E; Di ^a	Jk ^b	S	E
	Titulação	1:16	1:8	1:8	1:128	1:8	1:64	1:16	1:16	1:64
	Classe	IgG		IgM	IgG		IgG/IgM	IgG	IgG	IgG
	PAI 37°C	sim	Não	sim	sim	Não	sim	sim	Não	sim
	PAI 4°C	Não	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	Não
	AC*	não	não	não	não	não	sim	sim	sim	sim
	Titulação	sim	não	não	1:64	não	1:64	1:16	1:8	1:16
anamnástica	Resultado	sim	não	não	sim	não	sim	sim	Não	Não

(Fonte: acervo autor, 2023)

Legenda

*Testes de autocontrole

** Anti-RhD

*** Anti-e

Conforme demonstrado no quadro 16 acima, pode-se observar uma frequência de 9 pacientes de Reação Tardia de aloimunização (20,4%) destacando-se os respectivos anticorpos identificados, exceto no caso dos pacientes ID-60 e ID-78 cujas especificidades não foram identificadas utilizando os kits de painéis de hemácias de rotina. Neste mesmo quadro é possível verificar que 4 pacientes (9%) apresentaram também autoanticorpos demonstrado pelos resultados positivos dos testes de auto controle, além dos aloanticorpos identificados. Podemos verificar ainda que 4 pacientes (9%) apresentaram reação anamnástica.

Destaca-se no quadro 16 ainda o paciente ID-74, *RHD* variante com anti-RhD e o paciente ID-81, *RHCE* variante, identificado com o fenotipo R1 wR1 apresentando anti-e, anti-E e anti-Di^a.

Identificação das reações hemolíticas tardias

Os parâmetros aplicados para diagnóstico de RHT foram baseados nos critérios conceituados no Marco conceitual de 2015 no quadro 4, e o artigo do autor Gerritsma J E colaboradores (2021) realizado no Canadá que tem em seus resultados a análise estatística de exames laboratoriais para fins diagnóstico de hemólise tardia.

Os exames laboratoriais foram resgatados no *software Softlab* utilizado no serviço laboratorial para liberação de exames do laboratório de Análises Clínicas (LAC) e organizados no banco de dados do projeto.

Para análise dos testes de hemoglobina pós transfusional, os pacientes testados foram distribuídos em quatro grupos, sendo estes: ‘confirmado’, ‘possível’, ‘provável e ‘descartada’, analisados caso a caso para se verificar se houve reação de imunomodulação e se o hemocomponente transfundido resultou no incremento de hemoglobina esperado comparado ao exame pré-transfusional.

O hemograma foi o exame mais solicitado para todos os pacientes pelos médicos hematologistas, por isso o parâmetro explicitado para base de comparação pré e pós transfusional.

Quadro 17 Média do incremento de hemoglobina pós transfusional

Hemoglobina	Confirmados	Provável	Possível	Descartado
n	6	9	9	13
Pré-transfusional	5.9 ± 1.2	6.8 ± 2.1	5.9 ± 1.3	6.7 ± 1.3
Pós-transfusional	6.35 ± 1.2	7 ± 1.4	6.3 ± 0.9	8.4 ± 1.1

Fonte: acervo autor, 2023

No quadro 17 acima chama a atenção que em 24 pacientes (54,5%) distribuídos nos grupos ‘confirmado’, ‘provável’ e ‘possível’, o incremento de hemoglobina pós transfusional ficou abaixo de 1g/dL, abaixo do esperado após a transfusão de um concentrado de hemácias.

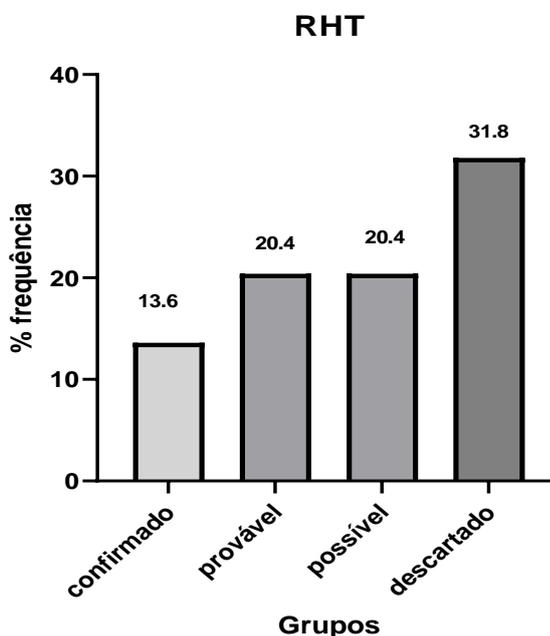
Quadro 18 Descrição de DHL

DHL (U/L) Valor de referência (200-480)	
ID	Confirmado
74	814
78	1429
81	770
91	317
ID	Provável
59	1484
60	1086
66	665
ID	Possível
40	1061
48	324
67	668
73	1457
ID	Descartado
46	576
86	564
88	772

(Fonte: acervo autor, 2023)

No quadro 18 observa-se que em 14 pacientes (31,8%) testados, o exame DHL pós-transfusional apresentou-se bem acima do valor de referência que varia entre 125,00 U/L e 200,00 U/L.

gráfico 5 Frequência do diagnóstico laboratorial de Reação Hemolítica Tardia nos pacientes estudados, agrupados como confirmado, provável, possível e descartado.



(Fonte: acervo autor, 2023)

O gráfico 5 mostra a população de estudo com respectivos desfechos clínicos agrupados como confirmado, provável, possível, descartado e suas determinadas frequências (%).

Nas entrevistas realizadas, registramos que o paciente *RHCE* variante, aloimunizado com anti-e, posteriormente anti-E e anti-Di^a, apresentou 14 dias após a transfusão, intensa palidez, tortura e dor de cabeça e dois episódios de urina escura, sendo estes sintomas relatados aos médicos hematologistas, os quais recomendaram a intenção até que o quadro geral do paciente fosse restabelecido.

10 Discussão

Nossos resultados mostram quanto as fenotipagens realizadas nos 44 pacientes incluídos, que 26,6% apresentaram o fenótipo de RZRZ (DCE/DCE) o que constitui uma grande dificuldade para se realizar transfusões compatíveis no sistema Rh nestes pacientes, pois o estado do Amazonas conta com alta frequência de doadores de sangue com o antígeno ‘e’ positivo (94,53%) e o antígeno ‘c’ positivo (79,1%), de acordo com os dados da Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amazonas. Em estudo realizado na França, Thonier V cita que os pacientes DF são grande parte do fenótipo rr e R0R0 apesar destes fenótipos raramente serem encontrados na Europa, sendo prevalente em pessoas com ascendência africana.

Em nosso estudo foram encontrados 02 pacientes, (4,5%) de variantes dos genes *RHD* e *RHCE*, sendo que o primeiro apresentou anti-RhD, apesar de ser RhD positivo e o segundo identificado com R1 wR1 (‘e’ parcial) apresentou anti-e. Durante a realização desta pesquisa, o Hemocentro do Amazonas ainda não havia realizado a identificação do *RHD* variante, no entanto o *RHCE* variante teve o fenótipo identificado com a colaboração da Fundação Pró Sangue/São Paulo.

Fasano RM e colaboradores em estudo de coorte com 403 pacientes DF falciforme, encontraram RH1(D), 20,8% RH2(C) e 3,5% RH5(e), com as respectivas frequências de aloimunização: 17,6% RhD variante, 14,3% C-variante e 7,1% e-variante. Em Gana, a pesquisa com 154 pacientes falcêmicos objetivando encontrar variantes *RHD* e *RHCE* obtiveram resultados 3 pacientes com múltiplos anticorpos contra os antígenos do sistema Rh, tais como anti-RhD, anti-C e anti-e). Tais pacientes possuíam o RhD positivo apresentando genotipagem de deleção *RHD* e *RHCE*.

Em nossos resultados encontramos o fenótipo do sistema K+k- em 4,5% dos pacientes, o que torna difícil a busca de doadores fenotipados, pois a maioria no Estado do Amazonas, 92,39% são positivos para o antígeno ‘k’ justificando-se a necessidade de um o programa de fenotipagens de doadores de sangue cada vez mais amplo.

Quanto ao estudo de compatibilidade, verificou-se o menor índice de porcentagem de compatibilidade no grupo de pacientes aloimunizados nos meses de novembro (69.2%) e dezembro (72.9%). Essa baixa porcentagem de compatibilidade encontrada atribui-se à dificuldade de disponibilidade de doadores fenotipados do paciente, considerando os sistemas Rh, Kidd, Kell, Duffy e MNS. Situações especiais como no caso do R1 - wR1 com antígeno e-

parcial torna-se especialmente difícil, pois necessita-se de um doador raro que também possua ‘e’ parcial com a mesma mutação no mesmo epítopo para uma transfusão compatível neste paciente. As incompatibilidades observadas estavam relacionadas aos sistemas Duffy, Kidd e MNS, porém sem ocorrência de aloimunização, o que conduz a questionar os motivos pelos quais os pacientes não desenvolvem aloanticorpos. O artigo de revisão do autor Hendrickson e colaboradores (2019) pontua critérios que favorecem ao desenvolvimento de aloanticorpos que além do receptor tenha ao menos um contato imunológico de antígeno não-próprio, e ter uma ligação ao HLA capaz de apresentar uma porção do antígeno não-próprio.

No estudo realizado por Rodrigues C e colaboradores na Universidade de Campinas, foram incluídos 128 pacientes politransfundidos, dos quais 44 aloimunizados e 128 não – aloimunizados, sendo discutido a atuação de moléculas HLA Classe II, as quais processam e apresentam antígenos eritrocitários em células apresentadoras de antígenos (APCs) para receptores de células T (TCR), que por sua vez, ativam células T auxiliares CD4. Isso envolve a interação entre as células T e B e a diferenciação das células B em células plasmáticas. As células T regulatórias CD4+ (Tregs) são moduladoras da resposta imune; A ativação das células T ativa Tregs para suprimir a proliferação de vários tipos de células. Jackson D E e colaboradores descreveram que a função supressiva de Treg é reduzida em respondedores de anticorpos em pacientes com DF. Portanto, resultando em aloimunização para antígenos de hemácias. Supõe-se que herdar certos alelos HLA pode predispor os pacientes à aloimunização de hemácias.

No artigo de revisão de trabalhos realizados com doadores e receptores franceses, Thonier V de 2019, estima que >99% dos indivíduos transfundidos devem ser capazes de produzir pelo menos 2 aloanticorpos de hemácias com base em incompatibilidades de antígenos de hemácias doador/receptor e taxas gerais de prevalência de antígenos de hemácias. A porcentagem de pacientes aloimunizados aumenta até certo ponto com a carga de transfusão, mas se estabiliza uma vez que um determinado indivíduo foi exposto à maioria dos antígenos de grupos sanguíneos “não próprios”. Estudos prospectivos documentam níveis mais altos de aloimunização de hemácias, assim como estudos de populações de pacientes ou condições.⁷⁰

Os autores Torney, CA, Hendrickson J em estudo de pesquisa de aloimunização com politransfundidos de 2019 advertem que o fator a ser considerado é limitação da técnica pois com a metodologia atual de banco de sangue, os anticorpos que estão em baixo título podem não ser detectados ou ainda em casos da presença de múltiplos aloanticorpos são mais

complexos de serem identificados a considerar a intensidade e nitidez da reação e pode ter impactado na frequência de aloimunizados na população de estudo.

Em nossos resultados detectamos a frequência de aloimunização de 20,4% nos pacientes estudados, observa-se anticorpos dirigidos contra o sistema Rh: anti-E, anti-e, anti-RhD variante; anti-K do sistema Kell; anti-Jk^b do sistema Kidd; anti-N, anti-S do sistema MNS e anti-Di^a do sistema Diego, demonstrando frequência importante de reações de aloimunização em pacientes Doença falciforme politransfundidos, como visto no estudo de Silvy M e colaboradores de 2014, onde encontraram 33,5% de aloimunização dirigidos contra o sistema Rh em 198 pacientes politransfundidos. O estudo Boateng AL de 2019, um estudo realizado no Canadá com 150 pacientes DF de Gana, encontraram a frequência de 25% de aloimunização de anticorpos anti-RhD, anti-RhD, anti-C, anti-E, anti-e detectados através de testes sorológicos e confirmando através de testes de genotipagem.

Quanto aos anticorpos desenvolvidos em pacientes com variantes *RHD* e *RHCE* observados em nossos resultados, sendo estes anti Rh-D, anti-e respectivamente, o manual da AABB (Ed.2020) aponta três mecanismos envolvidos: Primeiramente, muitos tipos de variantes RhD inicialmente reconhecidos como categorias D foram desenvolvidos devido ao alelo (*RHD-CE-D*) que codificam proteínas *RhD* sem aminoácidos de especificidade RhD em certas proteínas. Em segundo lugar, as substituições de aminoácidos nos segmentos de éxons da proteína *RhD* têm um impacto menor e pode levar a fenótipos difíceis de discriminar do RhD padrão ou fracamente expressos. Em casos raros, deleções ou inserções em fragmentos de um único aminoácido têm um impacto semelhante. Em terceiro aponta-se, que, muitas vezes, numerosas substituições de aminoácidos estão dispersas ao longo da proteína, como em *DIIIa*, *DIVA* e *DAR*. Tais RhD variantes são especialmente frequentes em indivíduos de ascendência africana. Em contraste com os tipos RhD fracos, alterações RhD são previstas para estar localizado na superfície externa da membrana ou, alternativamente, pode ser interno da membrana, mas alteram epítomos extracelulares.

Em nossa pesquisa detectamos 4 pacientes (9%) que apresentaram resposta anamnésica, ou seja, possuíam registros de aloanticorpos identificados previamente, mas que não foram detectados durante os testes pré-transfusionais, devido a uma queda de titulação em decorrência de transfusões de Concentrados de hemácias negativos para o antígeno que o paciente possuía o anticorpo. Tais pacientes apresentaram novamente o anticorpo previamente registrado após transfusão durante este estudo, caracterizando uma resposta anamnésica. Tais

pacientes foram identificados como ID-31 com anti-K, ID-74 com anti-RhD, ID-81 e com anti-E e ID-91 com anti-JK^b. Fasano R e colaboradores confirmaram este tipo de reação, descrevendo que ao longo de algumas transfusões com antígenos negativos, este anticorpo fica sem estímulo, reduzindo o título a limiares abaixo da sensibilidade do reagente de anti-globulina e com isto, o teste de pesquisa de anticorpos irregulares, torna-se indetectável.

Andrade CG e colaboradores de 2022 estudaram 3.178 pacientes tratados no hemocentro do Nordeste do Brasil, todas as frequências dos anticorpos 5% Jk^b, 14% anti-S e 29% Di^a. O estudo de Ferreira de 2015 com 204 receptores de Brasília, encontrou anti-N em 3%, achados que corroboram com nossos resultados considerando as devidas proporções das amostras estudadas, tanto em o (n) amostral, quanto em diferenças regionais,

De acordo com o Manual técnico AABB de 2020, O anticorpo Jk^b do sistema Kidd são difíceis de identificar devido o título destes anticorpos diminuir rapidamente, o que dificulta a detecção desses nos testes sorológicos pré-transfusionais, apesar de ser considerado um anticorpo quente, exclusivamente este é o único caso no projeto que foi somente detectado na reação 4°C sem ocorrência do PAI 37°C, o que levanta a hipótese deste anticorpo ser classe IgM com ocorrência de baixa frequência. Os anticorpos 'N 'S' do sistema MNS aumentaram o range de temperatura de reação, sendo também detectados no PAI 37°C. O anti-N e anti-S geralmente não são ativos a 37°C e por isso não são clinicamente significativos, sendo muitas vezes ignorados na prática de transfusão.

Entre os pacientes aloimunizados, 4 (9%) identificados como ID-81, ID-91, ID-92 e ID-93, apresentaram autoanticorpos, além dos aloanticorpos identificados nos mesmos, sendo importante referir o número total de transfusões realizadas, sendo: 6, 17, 22 e 15, respectivamente, até o presente momento, podendo ser um estágio da doença falciforme, provável Reação Transfusional Tardia de imunomodulação em virtude de múltiplas transfusões levando a prováveis mimetismo imunológicos, sendo considerada uma alta frequência, diante dos resultados de 3,4% de autoanticorpos descritos na publicação científica do REDS-III desenvolvido nos hemocentros do Estados Unidos. O estudo de 2013 Rouquette CA e colaboradores corrobora com o desenvolvimento de autoanticorpos envolvidos o estágio de hipoesplenia funcional, déficit nos componentes do complemento, comprometimento da fagocitose, defeito na opsonização, e na eliminação de complexos imunes.⁷³ Anormalidades nas populações de linfócitos, tais como células T reguladoras e células T assassinas naturais, também poderiam desempenhar um papel. Balbuena M e Hendrickson JE em estudo com

pacientes DF de 2019, afirmaram que auto anticorpos são, na verdade, aloanticorpos em pacientes com variantes Rh e imuno-modulação.

Além da evidência imuno-hematológica de identificação dos anticorpos para designar a confirmação para RHT, os parâmetros laboratoriais possibilitam a compreensão do mecanismo hemolítico. Em nossos resultados identificamos a frequência de 13.6% dos pacientes estudados com indicações de Reações Hemolíticas Tardias, com obtenção de baixo incremento de hemoglobina (54,5%) e elevados índices nos resultados de DHL (31,8%) apresentando sinais de hemólise extravascular, corroborando com os resultados encontrados no artigo científico desenvolvido por Gerritsma J e colaboradores de 2021, os quais acompanharam 664 pacientes DF com estratégia de acompanhamento transfusional, tratados no centro médico na Holanda. Os autores aplicaram os critérios laboratoriais para diagnóstico de hemólise tardia, tais como: incremento de hemoglobina menor que 1,5 g/dL após a transfusão ou hemoglobina menor que a pré-transfusão, urina escura, resultado de DHL alterados e recorrência de crise vaso-oclusiva, os resultados obtidos de frequência foram 60% dos pacientes apresentam pelo menos um sinais dos critérios explicitados durante o acompanhamento transfusional, a média de DHL foi 2552 U/L e hemoglobina 7,7 g/dL baseando-se neste parâmetros determinaram incidência de 13,6% RHT confirmados.

Em nossos resultados, os grupos denominados de ‘possível’ e ‘provável’ também apresentaram índices de DHL elevados, constituindo sinais de hemólise extravascular. É tendo estes parâmetros tão elevados que evidenciam hemólise extravascular. É importante frisar, que estes pacientes não apresentaram reação de aloimunização. Tal fato pode ser explicado devido às sensibilidades das técnicas sorológicas utilizadas no laboratório de imuno-hematologia. Alguns serviços têm utilizado testes de quimiluminescência, ensaio de monocamada de monócito (MMA) e citometria de fluxo, como descrito no estudo de Dolatkah R e colaboradores de 2013 com pacientes do Irã com β -talassemia intermediária que desenvolveram múltiplos anticorpos, tais como anti-S; Anti-N; anti-K; e autoanti-Jk^b; detectados pela técnica de monocamadas de monócitos. Atualmente os serviços de imuno-hematologia utilizam ainda os métodos de genotipagem que possibilitam a verificação de variações antigênicas, e com isso redução de reação hemolítica tardia.

O Registro obtido em uma das entrevistas no período pós transfusional, da mãe do paciente com *RHCE* variante aloimunizado com anti-e parcial e posteriormente anti-E e anti-Di^a é extremamente problemático pois o mesmo, apresentou 14 dias após a transfusão, intensa

palidez, tontura e dor de cabeça e dois episódios de urina escura, sendo estes sintomas relatado aos médicos hematologistas, os quais recomendaram a internação até que o quadro geral fosse restabelecido, sendo este um importantíssimo relatado de sintomas de Reação Hemolítica Tardia. No estudo de relato de caso em 2019, realizado por Pirrene F e colaboradores descreveram sintomas presentes em reação hemolítica tardia, tais como febre, tontura, vômito (emese), dor de cabeça, icterícia em pele e mucosa, e em casos graves, urina escura e convulsão.

11 Conclusão

1. Os resultados deste estudo demonstram a caracterização do perfil imunohematológico de Reações Transfusionais Tardias de aloimunização, hemolítica e de provável reação de imunomodulação em pacientes com Doença Falciforme politransfundidos tratados na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas, constituindo-se dados inéditos obtidos durante acompanhamento clínico-laboratorial até 28 dias após as transfusões;

2. Os achados no grupo de pacientes estudados, demonstra a necessidade do acompanhamento clínico-laboratorial pós transfusional, principalmente com os exames de PAI, DHL e Hemoglobina nos dias D7, D14, D21 e D28 dos pacientes politransfundidos a fim de se contornar possíveis consequências de reações transfusionais tardias;

3. Os resultados demonstram a necessidade da ampliação do programa de doadores fenotipados, implantação de novas tecnologias no serviço de imunohematologia para a detecção de genótipos difíceis e raros, tanto em pacientes como em doadores de sangue.

12 Orçamento

Pela presente, apresentamos e submetemos à apreciação de V.Sa., Proposta de Preços para os produtos da marca Bio-Rad.

Item	Código do Produto	Produto	Validade Produto	Procedência	QTD	UND	Valor Unit. (R\$)	Valor Total (R\$)
1	004851VI	ID-DC Screening I (IgG-IgA-IgM-C3c-C3d-ctf) (1x12)	6 meses	Importado	3	Caixa	368,00	1.104,00
2	004043VI	ID DAT IgG1/IgG3 (1x12)	7 meses	Importado	3	Caixa	568,00	1.704,00
3	007221VI	ID-DiaClon Anti-Lea (LE1) (1x12)	5 meses	Importado	5	Caixa	608,00	3.040,00
4	007231VI	ID-DiaClon Anti-Leb (LE2) (1x12)	5 meses	Importado	5	Caixa	625,00	3.125,00

Valor Total da Proposta	R\$	8.973,00
<i>Valor por Extenso (Oito Mil Novecentos e setenta e tres reais)</i>		

Informamos que nos preços ofertados nesta proposta estão incluídos todos os impostos, seguros, taxas ou qualquer outro encargo, bem como as despesas relativas ao frete, descarga, embalagem, acondicionamento e outras por ventura incidentes sobre o objeto ofertado.

CONDIÇÕES GERAIS DE FORNECIMENTO:

Validade da Proposta: 30 (trinta) dias.

Prazo de pagamento: 30 (trinta) dias.

Frete: CIF.

IPI: quando presente, incluso nos preços acima.

13 Equipe do projeto

Integrantes do projeto	categoria	instituição	formação	função
Sergio Roberto Lopes Albuquerque	Doutor	HEMOAM	Farmacêutico/ Bioquímico	Orientador
Lorena Alves Santos	Mestranda	PPGH- UEA/HEMOAM	Biomédica	Aluna do mestrado responsável pelo projeto
Marcelo Reis do Nascimento	Doutorando	PPGIBA- UFAM/HEMOAM	Biomédico	colaborador

14 Referências bibliográficas

1. Harmening D. cap. 5 Teste da antiglobulina direta. In 2019.
2. AABB. Tech Manual AABB 2020 (1). 2020;
3. Fasano RM, Miller MJ, Chonat S, Stowell SR. Clinical presentation of delayed hemolytic transfusion reactions and hyperhemolysis in sickle cell disease. *Transfusion Clinique et Biologique*. 2019 May 1;26(2):94–8.
4. Balbuena-Merle R, Hendrickson JE. Red blood cell alloimmunization and delayed hemolytic transfusion reactions in patients with sickle cell disease. *Transfusion Clinique et Biologique*. 2019 May 1;26(2):112–5.
5. Nickel RS, Hendrickson JE, Fasano RM, Meyer EK, Winkler AM, Yee MM, et al. Impact of red blood cell alloimmunization on sickle cell disease mortality: a case series. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2022 Jun 26];56(1):107–
6. Vidler JB, Gardner K, Amenyah K, Mijovic A, Thein SL. Delayed haemolytic transfusion reaction in adults with sickle cell disease: a 5-year experience. *Br J Haematol* [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2022 Jun 26];169(5):746–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25753472/>
7. Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde Departamento de Atenção B. Guia para uso de hemocomponentes. [cited 2022 May 10]; Available from: www.saude.gov.br
8. Marília F, Mendes R, Steagall M, Fernando De Oliveira P, Leão C, Lúcia R, et al. Marco conceitual e operacional da hemovigilância: Guia para a hemovigilância no Brasil. In 2015.
9. Sundd P, Gladwin MT, Novelli EM. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. *Annu Rev Pathol* [Internet]. 2019 [cited 2022 May 10];14:263. Available from: [/pmc/articles/PMC7053558/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35558/)
10. Piel FB, Patil AP, Howes RE, Nyangiri OA, Gething PW, Dewi M, et al. Global epidemiology of sickle haemoglobin in neonates: a contemporary geostatistical model-based map and population estimates. *Lancet* [Internet]. 2013 Jan 1 [cited 2022 Oct 8];381(9861):142. Available from: [/pmc/articles/PMC3547249/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/249/)
11. View of Prevalência da anemia falciforme em crianças no Brasil / Prevalence of sickle cell anemia in children in Brazil [Internet]. [cited 2022 Oct 8].

- Available from:
<https://brazilianjournals.com/ojs/index.php/BJHR/article/view/40446/pdf>
12. Pinto dos Santos M, Patrícia da Silva Ribeiro Menezes C, Cristina Couto Oliveira Costa D, Lopes Custódio Psicóloga L, Pena Batista Silva D, Rodrigues Afonso L, et al. Perfil epidemiológico de casos notificados da doença falciforme no Ceará / Epidemiological profile of notified cases of sickle cell disease in Ceará. Brazilian Journal of Development [Internet]. 2021 Jan 20 [cited 2022 May 10];7(1):6840 – 52. Available from: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/23371>
 13. HEMOAM - Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas [Internet]. [cited 2022 May 10]. Available from: http://hemoam.am.gov.br/?secao=viewnoticia&codigo_noticia=554
 14. Ware RE, de Montalembert M, Tshilolo L, Abboud MR. Sickle cell disease. The Lancet [Internet]. 2017 Jul 15 [cited 2022 May 10];390(10091):311–23. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S0140673617301939/fulltext>
 15. Darbari DS, Sheehan VA, Ballas SK. The vaso-occlusive pain crisis in sickle cell disease: Definition, pathophysiology, and management. Eur J Haematol [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2022 May 10];105(3):237–46. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ejh.13430>
 16. Verduzco LA, Nathan DG. Sickle cell disease and stroke. Blood [Internet]. 2009 Dec 10 [cited 2022 May 10];114(25):5117–25. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/114/25/5117/26508/Sickle-cell-disease-and-stroke>
 17. Darbari DS, Kple-Faget P, Kwagyan J, Rana S, Gordeuk VR, Castro O. Circumstances of death in adult sickle cell disease patients. Am J Hematol [Internet]. 2006 Nov 1 [cited 2022 May 10];81(11):858–63. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.20685>
 18. Talano JAM, Hillery CA, Gottschall JL, Baylerian DM, Scott JP. Delayed hemolytic transfusion reaction/hyperhemolysis syndrome in children with sickle cell disease. Pediatrics [Internet]. 2003 [cited 2022 Jun 26];111(6 Pt 1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12777582/>
 19. Pirenne F, Yazdanbakhsh K. How I safely transfuse patients with sickle-cell disease and manage delayed hemolytic transfusion reactions. Blood. 2018;131(25):2773–81.

21. Thonier V. Immuno-hematological findings in Delayed Hemolytic Transfusion Reaction (DHTR). *Transfusion Clinique et Biologique* [Internet]. 2019;26(2):102–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2019.02.006>
22. Balbuena-Merle R, Hendrickson JE. Red blood cell alloimmunization and delayed hemolytic transfusion reactions in patients with sickle cell disease. *Transfusion Clinique et Biologique*. 2019 May 1;26(2):112–5.
23. Hilliard LM, Kulkarni V, Sen B, Caldwell C, Bemrich-Stolz C, Howard TH, et al. Red blood cell transfusion therapy for sickle cell patients with frequent painful events. *Pediatr Blood Cancer*. 2018;65(12).
24. Thonier V. Immuno-hematological findings in Delayed Hemolytic Transfusion Reaction (DHTR). *Transfusion Clinique et Biologique*. 2019 May 1;26(2):102–8.
25. de Montalembert M, Dumont MD, Heilbronner C, Brousse V, Charrara O, Pellegrino B, et al. Delayed hemolytic transfusion reaction in children with sickle cell disease. *Haematologica* [Internet]. 2011 [cited 2022 May 10];96(6):801. Available from: [/pmc/articles/PMC3105640/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/215640/)
26. Thein SL, Pirenne F, Fasano RM, Habibi A, Bartolucci P, Chonat S, et al. Hemolytic transfusion reactions in sickle cell disease: Underappreciated and potentially fatal. *Haematologica*. 2020;105(3):539–44.
27. Nickel RS, Hendrickson JE, Fasano RM, Meyer EK, Winkler AM, Yee MM, et al. Impact of red blood cell alloimmunization on sickle cell disease mortality: A case series. *Transfusion (Paris)*. 2016 Jan 1;56(1):107–14.
28. Schonewille H, van de Watering LMG, Brand A. Additional red blood cell alloantibodies after blood transfusions in a nonhematologic alloimmunized patient cohort: is it time to take precautionary measures? *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2006 Apr 1 [cited 2022 May 27];46(4):630–5. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1537-2995.2006.00764.x>
29. Relatório de Hemovigilância - 2007 e 2008.
30. Carter-Graham S, Tuckley V, Flannagan J, Baker P, Mark Bellamy P, Bentley A, et al. Serious Hazards of Transfusion (SHOT) Haemovigilance Data Manager Ms Debbi Poles Patient Blood Management Practitioner Mrs Emma Milser Clinical Incidents Specialist Steering Group (SG) during 2020 Requests for further information should be addressed to: Non-infectious hazards Infectious hazards SHOT Office. [cited 2022 May 10]; Available from: www.e-arc.co.uk/environment

31. Narbey D, Habibi A, Chadebech P, Mekontso-Dessap A, Khellaf M, Lelièvre JD, et al. Incidence and predictive score for delayed hemolytic transfusion reaction in adult patients with sickle cell disease. *Am J Hematol* [Internet]. 2017 Dec 1 [cited 2022 May 10];92(12):1340–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.24908>
32. Coleman S, Westhoff CM, Friedman DF, Chou ST. Alloimmunization in patients with sickle cell disease and underrecognition of accompanying delayed hemolytic transfusion reactions. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2022 Jun 26];59(7):2282. Available from: [/pmc/articles/PMC8177758/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31672341/)
33. Tormey CA, Stack G. The persistence and evanescence of blood group alloantibodies in men. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2009 Mar 1 [cited 2022 May 27];49(3):505–12. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1537-2995.2008.02014.x>
34. Chonat S, Quarmyne MO, Bennett CM, Dean CL, Joiner CH, Fasano RM, et al. Contribution of alternative complement pathway to delayed hemolytic transfusion reaction in sickle cell disease. *Haematologica* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2022 May 10];103(10):e483–5. Available from: <https://haematologica.org/article/view/8644>
35. Schonewille H, van de Watering LMG, Loomans DSE, Brand A. Red blood cell alloantibodies after transfusion: factors influencing incidence and specificity. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2006 Feb 1 [cited 2022 May 18];46(2):250–6. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1537-2995.2006.00708.x>
36. Roumenina LT, Bartolucci P, Pirenne F. The role of Complement in Post-Transfusion Hemolysis and Hyperhemolysis Reaction. *Transfus Med Rev* [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2022 May 10];33(4):225–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31672341/>
37. Pirenne F, Bartolucci P, Habibi A. Management of delayed hemolytic transfusion reaction in sickle cell disease: Prevention, diagnosis, treatment. *Transfus Clin Biol* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2022 May 10];24(3):227–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28669521/>
38. de Oliveira MC, Segatti Ido AA. Main erythrocyte antigens involved in the alloimmunization process. *Open Science Journal*. 2020;5(2):1–10.
39. Chou ST, Flanagan JM, Vege S, Luban NLC, Clark Brown R, Ware RE, et al. Whole-exome sequencing for RH genotyping and alloimmunization risk in children with sickle cell anemia. *Blood Adv*. 2017;1(18):1414–22.

40. Rottenberg Y, Yahalom V, Shinar E, Barchana M, Adler B, Paltiel O. Blood donors with positive direct antiglobulin tests are at increased risk for cancer. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2009 May 1 [cited 2022 May 24];49(5):838–42. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1537-2995.2008.02054.x>
41. Win N. Hyperhemolysis syndrome in sickle cell disease. <http://dx.doi.org/10.1586/ehm092> [Internet]. 2014 [cited 2022 Jun 26];2(2):111–5. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1586/ehm.09.2>
42. AABB. AABB. American Red Cross Blood Services. 2020.
43. Petersen J, Jhala D. A cold scare: Formation of cold reactive anti-A1 coinciding with gross hemolysis. *Pract Lab Med* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2022 May 25];12:e00100. Available from: </pmc/articles/PMC6041429/>
44. AABB. C H A P T E R 2 2 Noninfectious Complications of Blood Transfusion. 2020. Mitra R, Mishra N, Rath GP. Blood groups systems. *Indian J Anaesth* [Internet]. 2014 Sep 1 [cited 2022 May 10];58(5):524. Available from: </pmc/articles/PMC4260296/>
45. Storry JR, Clausen FB, Castilho L, Chen Q, Daniels G, Denomme G, et al. International Society of Blood Transfusion Working Party on Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology: Report of the Dubai, Copenhagen and Toronto meetings. *Vox Sang* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2022 May 10];114(1):95–102. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/vox.12717>
46. Daniels G. 5. The ABO blood group. In: *Human blood groups*. 2013. p. Jan.
47. Shaz BH. Rh Blood Group System. *Transfusion Medicine and Hemostasis*. 2009 Jan 1;123–7.
48. The Rh blood group - Blood Groups and Red Cell Antigens - NCBI Bookshelf [Internet]. [cited 2022 May 10]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2269/>
49. Sachan D, Kumar AS. Delayed hemolytic transfusion reaction due to anti-D in Rh (D) positive patient. *Asian J Transfus Sci* [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2022 May 10];10(2):165. Available from: </pmc/articles/PMC4993092/>
50. Daniels G. cap. Rhesus. In: *Human of blood group*. 2013. p. Jan.
51. Ipe TS, Wilkes JJ, Hartung HD, Westhoff CM, Chou ST, Friedman DF. Severe hemolytic transfusion reaction due to anti-D in a D+ patient with

- sickle cell disease. *J Pediatr Hematol Oncol* [Internet]. 2015 Mar 6 [cited 2022 May 10];37(2):e135. Available from: [/pmc/articles/PMC4333075/](#)
52. Nardoza L, Szulman A, Barreto J, Junior E. Bases moleculares do sistema rh e suas aplicações em obstetrícia e medicina transfusional. 2010.
53. Nardoza LMM, Szulman A, Barreto JA, Junior EA, Moron AF. Bases moleculares do sistema Rh e suas aplicações em obstetrícia e medicina transfusional. *Rev Assoc Med Bras* [Internet]. 2010 [cited 2022 May 10];56(6):724–8. Available from: <http://www.scielo.br/j/ramb/a/BB8fpp4Gb9y3SVChyHwMDps/?lang=pt>
54. Ghorbani M, Niazkar HR, Ghorbani M, Maleki MS, Jahangir H, Homapour F, et al. CASE REPORT Acute Hemolytic Transfusion Reaction Due to Anti-c Rhesus Antibody in a Patient With Subdural Hematoma: A Case Report Emphasizing the Shortcoming of Spin Cross-Match. Vol. 58, *Acta Med Iran*. 2019.
55. Daniels G. 7 Kell and Kx Blood Group Systems. In: *Human blood groups*. 2013. p. Jan.
56. The Kell blood group - Blood Groups and Red Cell Antigens - NCBI Bookshelf [Internet]. [cited 2022 May 10]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2270/Mattaloni> SM, Arnoni C, Céspedes R, Nonaka C, Boggione CT, Brajovich MEL, et al. Clinical Significance of an Alloantibody against the Kell Blood Group Glycoprotein. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2017 Jan 1;44(1):53–7.
57. Daniels G. 9 Kidd Blood Group System. In 2013.
58. Dolatkah R, Esfahani A, Torabi SE, Kermani IA, Sanaat Z, Ziaei JE, et al. Delayed hemolytic transfusion reaction with multiple alloantibody (Anti S, N, K) and a monospecific autoanti-JKb in intermediate β -thalassemia patient in Tabriz. *Asian J Transfus Sci* [Internet]. 2013 Jul [cited 2022 May 10];7(2):149. Available from: [/pmc/articles/PMC3757777/](#)
59. Daniels G. 8 Duffy Blood Group System. In: *Human blood groups*. 2013. p. Jan.
60. Owaidah AY, Naffaa NM, Alumran A, Alzahrani F. Phenotype Frequencies of Major Blood Group Systems (Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS, P, Lewis, and Lutheran) Among Blood Donors in the Eastern Region of Saudi Arabia. *J Blood Med* [Internet]. 2020 [cited 2022 May 10];11:59. Available from: [/pmc/articles/PMC7025674/](#)

61. The Duffy blood group - Blood Groups and Red Cell Antigens - NCBI Bookshelf [Internet]. [cited 2022 May 10]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2271/>
62. Halawani AJ, Habibullah MM, Dobie G, Alhazmi A, Bantun F, Nahari MH, et al. Frequencies of MNS Blood Group Antigens and Phenotypes in Southwestern Saudi Arabia. *Int J Gen Med* [Internet]. 2021 [cited 2022 May 10];14:9315. Available from: [/pmc/articles/PMC8650831/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34650831/)
63. Anti-B Anti-A AA, Anti-N Anti-S Anti-s Anti-U AM, Anti-C Anti-C Anti-E Anti- c AD. Antibodies to Low-Incidence Antigens in the MNS Blood Group System Antibodies to High-Incidence Antigens in the MNS Blood Group System.
64. Daniels G. cap. MNS. In: *Human of blood groups*. 2013. p. Jan.
65. Kalyanaraman M, Heidemann S, Sarnaik A, Meert K, Sarnaik S. Anti-s Antibody- Associated Delayed Hemolytic Transfusion Reaction in Patients With Sickle Cell Anemia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 1999;21(1):October-16.
66. Ministério da Saúde. Guia do cadastro nacional de sangue raro (Vol. 1). 2022. Disponível: www.saude.gov.br
67. Pirrene F, Floch A, Anoosha H. How to avoid the problem of erythrocyte alloimmunization in sickle cell disease. *Blood*. 2022.
68. Torney, CA, Hendrickson JE. Transfusion-related red blood cell alloantibodies: induction and consequences. *Blood*. 2019.
69. Gerritsma J, Bongaerts V, Biemond H. Extended phenotyping does not preclude the occurrence of delayed haemolytic transfusion reaction in sickle cell disease. *British Journal of Haematology*. 2021.
70. Rodrigues C, SELL A M. HLA Polymorphisms and risk of red blood cell alloimmunisation in polytransfused patients with sickle cell anaemia. *Transfuse Medice* 2016.
71. Cécile T, Rouquette A M. High titers of autoantibodies in patients with sickle-cell disease. *The Journal of Rheumatology*. 2011.
72. CG Andrade, EP Araujo, Valvasori M, LFF Dalmazzo, SD Vieira. Frequência de anticorpos irregulares em pacientes atendidos pelos laboratórios de referência em imuno-hematologias no nordeste do Brasil. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*. 2022.
73. Ferreira B M, Milton P J. Determination of the frequency irregular antibodies in post transfusion. *Acervo: Universidade de Ciências da Saúde, Brasília*. 2019.

74. Habibi A, Dessap A M, Guillaud Michael M, Razari K, Khellaf M, Chami B, Bachir D, Rieux C, Melica G, Godeau B, Galacteros F, Bartolucci P, Pirenne. Delayed hemolytic transfusion reaction in adult sickle-cell disease: presentations, outcomes, and treatments of 99 referral center episodes. (REDS-III). *American Journal of Hematology*. 2016.
75. Bohatzuk J G. Patient with rare ccee phenotype (rzzz) - case report. *Hematology, Transfusion and Cell Theray*. 2022.
76. Silvy M, Tournamille C, Babinet J, Pakdaman S, Cohen S, Chiaroni J, Galactéros F, Bierling P, Bailly P, Pirenne F. Red blood cell immunization in sickle cell disease: evidence of a large responder group and a low rate of anti-Rh linked to partial Rh phenotype. *Haematologica*. 2014.
77. Kieguer J R. Perfil transfusional e desafios na compatibilização de hemocomponentes em portadores de doença falciforme atendidos na hemorrede de Santa Catarina. Acervo: Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, 2022

16 Anexos

16.1 Técnicas de Imuno-hematologia

16.1.1 Pesquisa de anticorpo irregular (técnica de aglutinação em gel)

Princípio da técnica: Através da técnica de aglutinação em gel verificar a presença/ausência de anticorpos irregulares pelo método indireto da antiglobulina humana.

Amostra: Amostras de sangue coletadas em tubos com anticoagulante EDTA ou sem anticoagulante.

- Equipamentos e reagentes:
- Centrífuga para amostras;
- Incubadora para cartões;
- Centrífuga para cartões;
- Pipeta semi-automática;
- Ponteiras – Cartão LISS/Coombs.

Todos os cartões devem estar centrifugados e os reagentes e amostras devem permanecer em temperatura ambiente no mínimo 15 minutos antes do início dos testes. Realizar então os seguintes passos:

- Centrifugar a amostra de sangue durante 5 minutos a 3400 rpm;
 - Retirar o lacre do cartão; - Marcar um microtubo como “I” e outro microtubo como “II”;
 - Dispensar uma gota de hemácias OI e OII nos respectivos microtubos do cartão LISS/Coombs;
 - Dispensar 25uL de plasma/soro do paciente/receptor nos mesmos microtubos;
 - Incubar por 15 min a 37 C; - Centrifugar de acordo com instruções do fabricante.
- Resultados.

Através da presença ou ausência de aglutinação determinar o resultado da pesquisa de anticorpos irregulares de acordo com os quadros a seguir:

- Negativo ou 0 Faixa de glóbulos vermelhos no fundo da coluna, sem aglutinações visíveis Positivo +/- Escassas aglutinações de tamanho pequeno na metade inferior da coluna;
- 1+ Algumas aglutinações de tamanho pequeno na parte inferior da coluna 2+ Aglutinações de tamanho pequeno ou mediano na extensão da coluna 3+ Aglutinações de tamanho médio na parte superior da coluna 4+ Faixa de glóbulos vermelhos aglutinados na parte superior da coluna.

Figura 3 Perfil de resultados de pesquisa de anticorpo irregular



(Controllab, 2018)

16.1.2 PAI em meio salino

O meio salino é utilizado na pesquisa de anticorpos irregulares quando se pretende detetar anticorpos que reagem predominantemente a frio ou à temperatura ambiente. É também usado quando se pretende utilizar reagentes enzimáticos.

O card “NaCl/enzyme test” contém gel neutro em suspensão. As técnicas salinas são utilizadas no receptor de anticorpos que reagem sobretudo a 4°C ou a 18-25°C (temperatura ambiente), tais como anti-M, anti-N, etc.

Procedimento

- Colocar os reagentes à temperatura ambiente antes de usar; Identificar o card ID-Card “NaCl/enzyme test”;
- Com o número de identificação da amostra;
- Com o número da célula referente a cada célula reagente; Nota: Para salino a 4°C e salino a temperatura ambiente utilizar células ID DiaCell I-II-III.

- Remover a folha de alumínio (proteção) dos micropoços que forem utilizados;
- Inverter suavemente todos os frascos de células reagentes, as vezes necessárias até conseguir uma ressuspensão completa dos eritrócitos;
- Pipetar uma gota (50 μ L) de cada célula reagente, correspondente a teste pretendido, para os respectivos micropoços do ID-Card “NaCl/enzyme test”;
- Adicionar 25 μ L de plasma (ou 25 μ L de eluído) em cada micropoço; Incubar o card:
 - Salino a 4°C – durante 30 minutos a 2-4°C em ambiente refrigerado; ou
 - Salino à temperatura ambiente – durante 15 minutos à temperatura ambiente (18-25°C); ou Teste enzimático com células papainizadas – durante 15 minutos a \pm 37°C na ID – Incubadora;
- Centrifugar o card durante 10 minutos na ID-centrífuga; Ler, registrar e interpretar os resultados.

16.1.3 Teste de antglobulina Humana

Em Gel Material, Reagentes e Equipamentos:

- Marcador
- Tubos de hemólise
- Suporte
- Pipetas de Pasteur
- Centrífuga
- Cronómetro
- Amostra colhida em EDTA
- ID – Card Liss/Coombs
- Pipeta “Multi-dispenser” Biorad
- Pontas Pipeta

ID-Centrífuga

Procedimento

- Colocar os reagentes à temperatura ambiente antes de usar;
- Identificar o card com o número de identificação da amostra;
- Remover a folha de alumínio (proteção) do(s) micropoço(s) que forem utilizados;
- Preparar uma suspensão de 0,8% de células da amostra em diluente 2:
- Pipetar 1000 μL de diluente 2 para o tubo de hemólise;
- Adicionar 10 μL de células concentradas ou 25 μL de sangue total;
- Homogeneizar a suspensão;
- Pipetar 50 μL da suspensão para o respetivo micropoço do card “Liss coombs”;
- Centrifugar o card durante 10 minutos da ID – centrífuga;
- Ler e interpretar os resultados.

NOTA: No caso de um resultado positivo no TAD, é necessário continuar o estudo, classificando-o. Para tal, existem cards que possibilitam executar esta etapa:

- DC-Screening I
- TAD IgG1/IgG3 TAD IgG-Dilution
Perante um teste de antiglobulina direto positivo, é necessário proceder à sua classificação, de forma a saber se a sensibilização in vivo é causada por imunoglobulinas ou complemento

16.1.4 Fenotipagem eritrocitária

- Controlos positivo e negativo: glóbulos vermelhos comprovadamente positivos e negativos pelo antígeno, testados em simultâneo com os glóbulos vermelhos da amostra, IH QC: Controlo serológico de grupo sanguíneo.
- Controlo da amostra (apenas glóbulos vermelhos da amostra).
- Reagentes necessários: Frascos com hemácias fenotipadas biotecnologicamente inserido e estabilizado na membrana celular para os sistemas de grupos sanguíneos Rh, Kell, Kidd, Kell e MNS

Procedimento

- Todos os reagentes devem ser equilibrados à temperatura ambiente antes da utilização. Por centrifugação separar o plasma dos glóbulos vermelhos da amostra a analisar.
- a) Preparação de suspensão de glóbulos vermelhos para cada amostra:
- Distribuir 1 ml de Scan Liss num tubo descartável identificado;
 - Adicionar 10 µl de fundo globular da amostra;
 - Misturar;
 - A suspensão de glóbulos vermelhos está pronta a ser utilizada.
- b) Técnica
- Para cada amostra, identificar um microtubo pelo nome ou número de amostra correspondente e o identificador do soro-teste utilizado e um microtubo pelo nome ou número da amostra (controle de amostra). Retirar a totalidade da lingueta de alumínio das cards. Ressuspender as hemácias antes da sua utilização.
 - Depositar 50 µl de cada suspensão de glóbulos vermelhos no poço dos microtubos correspondentes.
 - Adicionar imediatamente 25 µl de soro-teste no poço dos microtubos correspondentes (excepto nos microtubos que servem de controlo da amostra). O tempo de espera entre a distribuição dos glóbulos vermelhos e a do soro-teste não deverá, em caso algum, exceder os 10 minutos;
 - Incubar durante 15 minutos, a +37°C na ScanGel Incubator;
 - Centrifugar durante 10 minutos, na ScanGel Centrifuge;
 - Ler as reações de aglutinação e definir painel de eritrocitário. Resultados e interpretação
 - A presença de aglutinados (à superfície ou dispersos no gel) ou de uma hemólise corresponde a um resultado positivo.
 - Um fundo de glóbulos vermelhos concentrados na base do microtubo e a ausência de hemólise corresponde a um resultado negativo.
 - Os resultados são válidos unicamente se os controlos positivo e negativo fornecerem os resultados esperados.

16.1.5 Identificação de anticorpos em meio AGH

O card utilizado é o ID Card “LISS/Coombs”, este card contém antiglobulina humana poliespecífica (anti-IgG de coelho e anti-C3d monoclonal). É utilizado por rotina um painel de 11 células comerciais, ID-DiaPanel, de origem humana com perfil antigênico conhecido, numa suspensão de 0,8%.

Procedimento:

- Colocar os reagentes à temperatura ambiente antes de usar;
- Identificar os cards:
- Com o número de identificação da amostra;
- Com o número da célula referente a cada célula reagente;
- Remover a folha de alumínio (proteção) dos micropoços que forem utilizados;
- Inverter suavemente todos os frascos de células reagentes, as vezes necessárias até conseguir uma ressuspensão completa dos eritrócitos;
- Pipetar uma gota (50 µL) de cada célula reagente, para o respetivo micropoço;
- Adicionar 25 µL de plasma da amostra (ou 25 µL de eluído) em cada micropoço;
- Incubar os cards durante 15 minutos a $\pm 37^{\circ}\text{C}$ na ID – Incubadora;
- Centrifugar os cards durante 10 minutos na ID-centrífuga
- Ler, registar e interpretar os resultados na folha que acompanha o “ID – Dia Panel” / “ID-DiaPanel P”.

16.1.6 Titulação de anticorpos

A titulação de anticorpos permite determinar a concentração relativa de um determinado anticorpo em circulação. Depois de um determinado anticorpo ser identificado, e no caso de suspeita de este anticorpo ser causador de hemólise eritrocitária, é importante verificar se a sua concentração relativa poderá ser considerada crítica. Este é um método semi quantitativo, no qual são efetuadas diluições sucessivas da amostra em estudo. De acordo com as características do anticorpo em causa, pode efetuar-se o teste em diferentes meios: salino a frio, Coombs a 37°C ou teste enzimático com células papaínizadas a 37°C .

16.1.7 Procedimento em Tubo Material Reagentes e Equipamentos

- Marcador
- Tubos de hemólise

- Suporte
 - Pipetas de Pasteur
 - Soro fisiológico
 - Centrífuga
 - Cronómetro
 - Soro de Coombs
 - Células controlo de Coombs
 - Amostra colhida em EDTA
1. Colocar os reagentes à temperatura ambiente antes de usar;
 2. Preparar diluições geométricas do soro ou plasma com soro fisiológico;
 3. Identificar os tubos de hemólise:
 - Com o n.º de identificação da amostra;
 - Com o n.º da célula referente a cada célula reagente;
 4. Pipetar soro fisiológico, plasma e seguir o esquema de transferência conforme a tabela para preparação de diluições;
 - Recomenda-se a substituição das pontas da pipeta após cada diluição;
 5. Guardar a última diluição para continuar a titulação, se necessário

Figura 4 Esquematização de técnica de titulação

Título/diluição	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	Etc
Soro fisiológico (tubo) ou Dil. 2 (Gel)	—	100µL	Etc							
Soro ou plasma	200µL									Etc
Transferir	100µL	Etc								



(Bio had, 2018)

16.1.8 Ditiotreitól (DTT) Princípio

O Ditiotreitól (DTT) é um agente redutor eficiente que pode romper a estrutura terciária das proteínas, reduzindo irreversivelmente as ligações dissulfeto a grupos sulfidríla livres. Sem estrutura terciária, os antígenos contendo proteínas não podem mais se ligar a anticorpos específicos para eles. Os glóbulos vermelhos tratados com DTT não é reativo com anticorpos no sistema de grupo sanguíneo KEL, a maioria dos anticorpos no sistema KN ou a maioria dos exemplos de anti-Lwa, -Yta, -Ytb, -Doa, -Dob, -Gya, -Hy, e -Joa.

Essa técnica de inibição pode ser útil para identificar alguns desses anticorpos ou para determinar se um soro contém aloanticorpos subjacentes adicionais.

Reagentes

- 1- Prepare DTT 0,2 M dissolvendo 1 g de pó de DTT em 32 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS), pH 8,0. Faça a divisão em volumes de 1 mL e congele alíquotas a -18 C ou mais frio.
- 2- Solução salina tamponada com fosfato (PBS) a pH 7,3.
- 3- Prepare AET 6% dissolvendo 0,6 g de AET em 10 mL de água destilada e leve o pH para 8 adicionando lentamente NaOH 5 N.
- 4- Glóbulos vermelhos conhecidos como positivos para o antígeno em questão e, como controle, glóbulos vermelhos conhecidos como positivos para K, que é constantemente interrompido por DTT.
- 5- Anti-K, seja na forma de reagente ou fortemente reativo em uma amostra de soro.

Procedimento

- Combine quatro volumes da solução de DTT preparada (0,2 M DTT, pH 8,0) com um volume de glóbulos vermelhos lavados com PBS a serem tratados.
- Incubar a 37 C por 30 a 45 minutos.
- Lave quatro vezes com PBS. Pode ocorrer hemólise leve; se a hemólise for excessiva, repita o procedimento usando hemácias frescas e um volume menor de DTT (por exemplo, dois ou três volumes).
- Ressuspender as células para uma suspensão de 2% a 5% em PBS.
- Teste as células tratadas com DTT com soro contendo o anticorpo em questão. Teste os glóbulos vermelhos K⁺ com anti-K.

Interpretação

- 1- As hemácias K⁺ controle devem apresentar reações negativas quando testadas com anti-K; caso contrário, o tratamento com DTT foi inadequado. Outros antígenos no sistema KEL também podem servir como controle.

- 2- Se a reatividade do soro de teste for eliminada, a suspeita de especificidade do anticorpo pode ser confirmada. Amostras de eritrócitos suficientes devem ser testadas para excluir a maioria dos outros aloanticorpos clinicamente significativos. Prova de compatibilidade (Prova cruzada)
- 3- A prova de compatibilidade consiste em pôr em contacto o soro do receptor com as células do(s) potenciais doadores(es), de modo a detectar no receptor anticorpos suscetíveis de destruir as células do dador. Ou seja, tem por objetivo verificar “in vitro” a compatibilidade eritrocitária entre o dador e o receptor. Para preparar uma transfusão sanguínea é necessário selecionar o componente sanguíneo mais adequado ao receptor da transfusão. Assim, uma prova de compatibilidade deve ser precedida por um estudo pré- transfusional.

Limitações:

- não consegue prever alo-imunização; não detecta erros Rh.

Procedimento

- Em card
- O card utilizado (“LISS/Coombs”) contém antiglobulina humana (AGH) poliespecífica (anti-IgG de coelho e anti-C3d monoclonal), ou seja, é uma prova de compatibilidade em meio AGH.
- Colocar os reagentes à temperatura ambiente antes de usar;
- Retirar o segmento da tubuladura da (s) unidade (s) de concentrado eritrocitário selecionado;
- Identificar um tubo com o número da unidade;
- Perfurar o segmento da tubuladura para que o seu conteúdo fique no tubo;
- Identificar o card: a. Com o número de identificação da amostra; b. Com o número da (s) unidade (s) selecionada (s);
- Remover a folha de alumínio (proteção) dos micropoços que forem utilizados;
- Preparar uma suspensão de eritrócitos das tubuladuras das unidades a 0,8% em diluente 2:
- Dispensar 1 mL de diluente 2 para um tubo de hemólise;
- Adicionar 10 µL de células concentradas;
- Homogeneizar a suspensão;
- Pipetar 50 µL da suspensão anterior para o respetivo micropoço;
- Adicionar 25 µL da amostra (receptor) em cada micropoço;
- Incubar o card durante 15 minutos a $\pm 37^{\circ}\text{C}$ na ID-Incubadora;
- Centrifugar o card durante 10 minutos na ID-centrífuga;
- Ler, interpretar e registar os resultados.

2 Anexo II

2.1 Formulários

Quadro 01 – Dados do paciente

Nome Completo:			
Prontuário/Registro HEMOAM	do	paciente	no
Diagnóstico			
Data do diagnóstico			
Identificação no projeto			
Sexo	() Masculino / () Feminino		
Data de Nascimento	/	/	Idade
Endereço			
Telefone WhatsApp: 01 /		Telefone 02	
e-mail			

Quadro 02 Exames a serem solicitados

Hematologia	Bioquímica	Bilirrubinas
Hemograma	Haptoglobina	BNP
Contagem de Reticulócitos	Ferritina	Uréia
Imuno-hematologia	LDH	Creatinina
TAD	Ionograma	
PAI	Transaminases	
	Fosfatase alcalina	

Quadro 03 - Reações transfusionais

Sentiu algum dos seguintes sintomas após ter iniciado a terapia Transfusional							
Febre		Alteração de PA		Infarto e derrame		agitação	
Calafrios		Anúria		Sangramento		Hepatite B	
tremor		Edema		bolhas com sangue		Hepatite C	
Dispneia		Náusea e vômitos		Icterícia		HIV	
tosse		dor		cansaço		HTLV	
cianose		Diarreia		fraqueza		Sífilis	
pápulas		Alteração renal		Mal estar em geral		doença de chagas	
Rubor		alteração hepática		zumbidos			

Coceira		Trombose		ansiedade			
---------	--	----------	--	-----------	--	--	--

Comentário:

Quadro 04 – Perfil Imuno-Hematológico do Paciente

Fenotipagem Eritrocitária					
ABO:	Rh:	Kell:	Kidd:	Duffy	MNS
Lewis		<i>FUT2</i>		Secretor ABH	
Estudo Sorológico					
PAI:	IAI:	AC:	TAD:		
Comentário:					

Quadro 05 -Transfusão CH

Data		Número da bolsa			PCM	
ABO:	Rh:	Kell:	Kidd:	Duffy	MNS	
Taxa de compatibilidade		Alo imunização			Anticorpos:	

Quadro 06 - Transfusão de CP

Data	Número da bolsa	ABO	Secretor

Quadro 07 – Sinais Vitais

Sinais vitais	Antes	Durante	Após
Pressão arterial			
Temperatura			
Pulso			
Respiração			
Nível de consciência			
Estado geral			

Quadro 08 – Dados pós transfusionais

Intercorrências	Comentários	Exames coletados
24h		
D7		
D14		
D21		
D28		

Quadro 09 – Sinais e sintomas

Febre		Alteração de PA		Infarto e derrame		agitação	
Calafrios		Anúria		Sangramento		Hepatite B	
tremor		Edema		bolhas com sangue		Hepatite C	
Dispneia		Náusea e vômitos		Icterícia		HIV	
tosse		dor		cansaço		HTLV	
cianose		Diarreia		fraqueza		Sífilis	
pápulas		Alteração renal		Mal estar em geral		doença de chagas	
Rubor		alteração hepática		zumbidos			
Coceira		Trombose		ansiedade			

Quadro 10 Exames a serem solicitados

Hematologia	Bioquímica	Bilirrubinas
Hemograma	Haptoglobina	BNP
Contagem de Reticulócitos	Ferritina	Uréia
Imuno-hematologia	LDH	Creatinina
TAD	Ionograma	

