UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO PROFISSIONAL EM HEMOTERAPIA E BIOTECNOLOGIA

Guia Nacional para Implantação de Banco de Sangue com Fenótipos Raros:

Uma Proposta para a Hemorrede Pública Brasileira

EVERALDO JOSÉ SCHÖRNER

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Hemoterapia e Medicina Transfusional.

Orientador: PROF. DR. GIL CUNHA DE SANTIS

- RIBEIRÃO PRETO, SP – 2015 -

EVERALDO JOSÉ SCHÖRNER

Orientador: Prof. Dr. Gil Cunha de Santis

Guia Nacional para Implantação de Banco de Sangue com Fenótipos Raros: Uma Proposta para a Hemorrede Pública Brasileira

RIBEIRÃO PRETO, SP – 2015

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Documentação
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

S374 Schörner, Everaldo José

Guia Nacional para Implantação de Banco de Sangue com Fenótipos Raros: Uma Proposta para a Hemorrede Pública Brasileira

Número de folhas: 37 páginas

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.
Área de concentração: Hemoterapia e Medicina Transfusional.

Orientador: Prof. Dr. Gil Cunha de Santis

1. Sangue raro 2. Doador de sangue 3. Banco de sangue raro

CDD 23. ed. 612.11825

FOLHA DE APROVAÇÃO

SCHÖRNER, Everaldo José

Guia Nacional para Implantação de Banco de Sangue com Fenótipos Raros:

Uma Proposta para a Hemorrede Pública Brasileira

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.
Área de concentração: Hemoterapia e Medicina Transfusional

Aprovado em:

Banca examinadora

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____ Assinatura:_____

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____ Assinatura:_____

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____ Assinatura:_____

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____ Assinatura:_____

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____ Assinatura:_____

GUIA NACIONAL PARA IMPLANTAÇÃO DE BANCO DE SANGUE COM FENÓTIPOS RAROS

Uma Proposta para a Hemorrede Pública Brasileira

Apresentação

Em situações especiais, os laboratórios de imuno-hematologia dos serviços de hemoterapia encontram dificuldade em selecionar hemocomponentes compatíveis para os receptores que possuem anticorpos contra antígenos eritrocitários de alta frequência na população, ou ainda múltiplos anticorpos. Essa dificuldade pode ser minimizada com a utilização de um sistema nacional de informações sobre o fenótipo ou genótipo de doadores com características raras, conhecido como Programa de Doadores Raros.

Assim, dentro dessa perspectiva, espera-se que esse Guia, elaborado como um dos requisitos para a obtenção do título de "Mestre em Ciências - Área de Concentração em Hemoterapia" possa servir como orientação aos serviços de hemoterapia de todo o país quando houver demanda transfusional para pacientes que apresentem a necessidade de hemocomponentes com fenótipos raros, auxiliando dessa forma na criação de um Banco de Sangue de Fenótipos Raros na Hemorrede Pública Brasileira.

A apresentação gráfica desse manual segue a formatação dos manuais elaborados pela Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados (CGSH) do Ministério da Saúde.

Sumário

	Página
Apresentação	03
Lista de abreviaturas	05
Lista de ilustrações	06
Introdução	07
Aloimunização Eritrocitária	09
Definição de Sangue Raro	12
Programas de Cadastro de Doadores de Sangue Raro	13
Estrutura de um Banco de Doadores de Sangue de Fenótipos Raros	15
Proposta para Implantação do Banco de Sangue Raro no Brasil	16
Marco Inicial para a Criação do Programa de Cadastro Nacional de Sangue de Doadores com Fenótipos Raros	17
Como Identificar Fenótipos Raros	18
Composição Étnica da População Brasileira	20
Testes Realizados pelo Laboratório de Imuno-hematologia	21
Responsabilidades dos Serviços Locais, Regionais e Nacionais	22
Critérios para Cadastro de Doadores Raros no Programa	26
Captação e Fidelização de Doadores de Sangue Raro	27
Transporte de Amostras e Hemocomponentes	28
Procedimentos para a Solicitação de Sangue Raro	29
Conclusão e Perspectivas	30
Anexo I	31
Anexo II	32
Anexo III	33
Referências Consultadas	34
Lista de Endereços	36

Lista de Abreviaturas

AABB: American Association of Blood Banks/Associação Americana de Bancos de Sangue

CGSH: Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

HEMOAM: Hemocentro do Amazonas

HEMORIO: Hemocentro do Rio de Janeiro

HEMOSC: Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina

IBGRL: International Blood Group Reference Laboratory/Laboratório Internacional de Referência em Grupos Sanguineos

IRDP: Identification Rare Donor Panel/Painel Internacional de Doador de Sangue Raro

ISBT: International Society of Blood Transfusion/Sociedade Internacional de Transfusão Sanguinea

MIAS: Marcadores Informativos de Ancestralidade

MS: Ministério da Saúde

WHO: World Health Organization/Organização Mundial da Saúde

Lista de Ilustrações

	Página
Quadro 1 - Características de doadores de sangue raro com fenótipo negativo para antígenos de alta frequência de acordo com o sistema sanguineo	19
Figura 1 - Fluxograma apresentando processo para obtenção de sangue raro nos diferentes níveis de serviços	25

Introdução

Os sistemas de grupos sanguíneos são caracterizados pela presença ou ausência de antígenos com características polimórficas bem definidas na membrana eritrocitária. Os antígenos de grupos sanguíneos são herdados geneticamente e constituem-se em proteínas que podem ou não estar ligadas a carboidratos ou lipídios.

A transfusão de unidades concentrado de hemácias é uma atividade terapêutica que proporciona muitos benefícios aos pacientes que necessitam aumentar a capacidade de transporte de oxigênio, mas também possui riscos inerentes. Um desses riscos é a aloimunização, caracterizada pela formação de anticorpos contra antígenos presentes nos componentes eritrocitários transfundidos. Esses riscos de aloimunização são elevados quando os pacientes a serem transfundidos apresentam a ausência de antígenos de alta frequência (tipos sanguíneos raros).

A disponibilidade de unidades de concentrado de hemácias compatíveis para pacientes que são fenótipo negativo para antígenos de alta frequência e possuem os respectivos anticorpos, bem como para pacientes com uma complexa combinação de aloanticorpos contra antígenos comuns, permanece como um desafio na medicina transfusional. Painéis nacionais e internacionais de doadores e bancos de unidades de concentrados de hemácias congeladas de doadores raros têm sido estabelecidos para facilitar o fornecimento de hemácias compatíveis para esses pacientes.

Devido à dificuldade em localizar unidades compatíveis, em algumas situações o laboratório de imuno-hematologia necessita do auxílio de outros serviços de hemoterapia para auxiliá-lo na busca de unidades de hemocomponentes adequadas, na quantidade necessária para o atendimento às necessidades transfusionais do paciente.

Desde a década de 60, a partir de uma reunião de um grupo de trabalho com profissionais da área de Imuno-hematologia em Estocolmo - Suécia, promovida pela ISBT (*International Society of Blood Transfusion*), é reconhecida pelos serviços de hemoterapia a necessidade de se estabelecer um caminho para suprir as necessidades transfusionais de pacientes que apresentam tipos sanguíneos raros.

Dependendo da complexidade do serviço de hemoterapia, pode existir muita dificuldade no suprimento de sangue para um paciente que apresenta anticorpos contra antígenos de alta frequência, já que a chance de obtenção de hemocomponentes compatíveis pode ser uma em um mil ou menor. Programas regionais ou nacionais de doadores de sangue raro podem auxiliar a suprir essa demanda transfusional.

No Brasil, pela inexistência de um programa nacional, quase todo paciente portador de um fenótipo raro e que necessita de transfusão sanguínea tem atraso em seu atendimento transfusional ou até mesmo acaba recebendo transfusões de sangue incompatíveis. Nessas ocasiões, a disponibilidade de doadores de sangue com fenótipos raros é de grande auxílio e importância.

Aloimunização eritrocitária

O efeito indesejável de uma transfusão é o que resulta em hemólise do sangue transfundido devido a anticorpos previamente formados presentes no plasma do receptor. O significado clínico dos anticorpos antieritrocitários depende da frequência do antígeno na população, variando de acordo com origens étnicas, de sua imunogenicidade e de situações clínicas específicas.

A ocorrência de anticorpos irregulares em pacientes politransfundidos estimulou vários pesquisadores a determinar a frequência da aloimunização em populações distintas, levando em consideração as diferenças étnicas existentes entre elas, diagnóstico, idade e os fatores de risco que levam à aloimunização. Em 1977, Giblett estimou que a probabilidade de um indivíduo de produzir um ou mais anticorpos antieritrocitários é de aproximadamente 1% por unidade de sangue transfundida; por outro lado, um estudo realizado por Redman e colaboradores (1996) indicou uma taxa de 8,4%, índice esse muito maior que pode ser devido à sensibilidade dos métodos utilizados nos estudos com pacientes. Os anticorpos mais implicados na reação transfusional hemolítica tardia são os dirigidos contra os antígenos D, K, E, Fy^a e Jk^a.

Na prática transfusional atual, devido ao risco associado às transfusões e gestações futuras, tem-se procurado minimizar as chances de um indivíduo formar aloanticorpos antieritrocitários. A transfusão de sangue fenotipicamente compatível com os antígenos eritrocitários mais imunogênicos tem sido recomendada.

A fenotipagem eritrocitária é útil também na confirmação e exclusão de aloanticorpos e facilita a identificação de anticorpos que podem ser formados no futuro. No entanto, os procedimentos de fenotipagem são dispendiosos e dependem da disponibilidade de soros raros que, associados a outros fatores de ordem técnica, ainda dificultam a sua utilização rotineira.

O artigo 123 da Portaria nº 2712 de 12/11/2013 do Ministério da Saúde, que regulamenta as atividades hemoterápicas no Brasil, recomenda a realização da fenotipagem de antígenos eritrocitários dos sistemas Rh (D, C, c, E, e) e Kell (K1) nas amostras de sangue de doadores, conforme as demandas do serviço de hemoterapia. Já o

artigo 176 § 18 da mesma portaria recomenda a realização da fenotipagem para os antígenos eritrocitários no sangue do receptor dos sistemas Rh (E, e, C, c), Kell (K), Duffy (Fy^a, Fy^b), Kidd (Jk^a, Jk^b) e MNS (S, s) para pacientes aloimunizados contra antígenos eritrocitários ou que estão ou poderão entrar em esquema de transfusão crônica, com o objetivo de auxiliar a identificação de possíveis anticorpos antieritrocitários irregulares ou de evitar a formação de outros anticorpos.

Como a transfusão sanguínea constitui um transplante temporário, há riscos de aloimunização decorrentes da exposição a antígenos estranhos contidos nas hemácias do doador que podem causar a formação de anticorpos irregulares.

O desenvolvimento desses aloanticorpos pode causar complicações adversas incluindo reações transfusionais hemolíticas agudas e tardias, bem como a doença hemolítica do feto e recém-nascido, assim como achados laboratoriais de reações transfusionais tardias sorológicas e um teste da antiglobulina direto positivo. Além disso, transfusões alogênicas também predispõem o paciente à formação de autoanticorpos, os quais podem contribuir para o desenvolvimento da anemia hemolítica autoimune.

A busca pela redução do índice de aloimunização e das reações hemolíticas, sem dúvida alguma passa pela implantação de um programa de hemácias fenotipadas na rotina transfusional. O programa de hemácias fenotipadas e, em especial, a manutenção de um estoque de sangue fenotipado, continua sendo ainda questionado devido ao custo e trabalho que demanda.

A decisão da implantação do programa deve levar em consideração o índice de aloimunização nos pacientes transfundidos e a dificuldade na obtenção de sangue fenótipo compatível no momento da transfusão.

Vale a pena salientar que a fenotipagem de doadores, quando realizada na rotina utilizando-se microtécnicas, muitas vezes automatizadas, leva a uma redução de custos e maior qualidade no procedimento. Atualmente a genotipagem também tem se mostrado uma ferramenta útil e eficiente na determinação de antígenos de grupos sanguíneos.

Apesar de existirem ainda algumas questões não respondidas em relação à resposta imune a antígenos eritrocitários, a implantação de protocolos seguros e eficientes de fenotipagem e/ou genotipagem de grupos sanguíneos pode reduzir drasticamente os

riscos de desenvolvimento de aloanticorpos em pacientes que recebem transfusão sanguínea.

No futuro, a utilização de plataformas automatizadas e seguras de fenotipagem e/ou genotipagem em larga escala poderá representar um grande avanço na redução dos riscos de aloimunização, aumentando assim a segurança transfusional.

Definição de Sangue Raro

O conceito de “sangue raro” pode ser entendido sobre dois aspectos principais:

I - Indivíduos que apresentam ausência de antígenos de alta frequência: os antígenos de alta frequência são encontrados nas hemácias de quase todas as pessoas. Se um paciente com fenótipo negativo para algum desses antígenos for previamente imunizado por esse antígeno, encontrar sangue compatível pode não ser uma tarefa fácil.

Nesse caso, doadores de sangue com ausência desses antígenos são conhecidos como “doadores antígeno de alta frequência negativos”. O sangue a ser transfundido nesse caso necessita ser obtido de doadores com ausência desses antígenos. Eles podem ser encontrados na razão de 1/1000 doadores ou menos. São exemplos de antígenos de alta frequência negativos os fenótipos Vel- e U-.

II - Indivíduos que apresentam combinação de múltiplos antígenos comuns negativos: alguns pacientes podem desenvolver anticorpos contra múltiplos antígenos eritrocitários e produzirem anticorpos com diferentes especificidades.

Encontrar hemocomponentes compatíveis para um ou eventualmente dois antígenos comuns não é complicado. Porém existem casos em que a combinação de múltiplos anticorpos pode dificultar o processo de seleção de unidades compatíveis. Um exemplo de doador desta categoria seria do grupo “O” e C-, e-, K-, Fy(a-), Jk(a-), S- .

Cabe salientar que a definição de sangue raro pode diferir entre as populações, pois depende das frequências de tipos raros em um determinado país. Por exemplo, nos países asiáticos sangue com fenótipo Rh(D) negativo é considerado muito raro. Outro exemplo é o fenótipo Fy(a-b-) que é muito difícil de encontrar na França, mas é encontrado mais facilmente em doadores afro-americanos nos Estados Unidos da América (NANCE, 2013).

Programas de Cadastro de Doadores de Sangue Raro

A necessidade de doações de sangue raro para atender as demandas transfusionais de pacientes com anticorpos contra grupos sanguíneos incomuns ou múltiplos anticorpos foi reconhecida em 1959 quando a Associação Americana de Bancos de Sangue (AABB) criou um banco de dados para doadores raros, seguida pela França em 1965 (MOURANT, 1965). No mesmo ano, a ISBT instituiu o IRDP – *International Rare Donor Panel* através da cooperação do *International Blood Group Reference Laboratory* (IBGRL) atualmente situado em Bristol, Inglaterra. O IRDP é composto por registros de doadores de sangues raros de vários países, em sua maioria, originários do Reino Unido, Estados Unidos da América e Japão. Para coordenar essa demanda, um grupo de trabalho para doadores de sangue raro da *International Society of Blood Transfusion* (ISBT) foi criado em 1985. Desde então, esse grupo tem sido ativo em promover informações sobre os doadores raros existentes, procedimentos e métodos para execução de testes, embalagem, transporte e entrega de sangue raro internacionalmente. Este grupo tem uma estreita relação com o IBGRL que mantém o Painel Internacional de Doadores de Sangue Raro (IRDP) da Organização Mundial da Saúde (WHO). A disponibilidade desse painel permite uma localização rápida e precisa das unidades de sangue raro.

O grupo de trabalho da ISBT para doadores de sangue raro realiza estudos, atende à demanda por quesitos técnicos e atua em educação. Isto pode auxiliar países que estão melhorando seus serviços de hemoterapia, dando a eles um melhor esclarecimento sobre a ajuda internacional que está disponível quando surgir um paciente difícil de transfundir.

A expectativa do grupo é de que, no futuro, um número maior de países contribua para o IRDP, pois é previsto que, com o aumento de movimentos populacionais através do mundo e chance em potencial do desenvolvimento de anticorpos raros ou mistura de anticorpos, a necessidade da disponibilidade de doadores de sangue raro continuará.

Para entender a importância da demanda de sangue raro, basta conhecer o número de unidades utilizadas em transfusões de sangue raro: em média, 1800 unidades de

hemocomponentes de sangue raro são transportadas anualmente para serem transfundidas. Esse quantitativo pode ser maior devido à dificuldade em se manter registro único de todos os dados referentes à utilização de componentes com fenótipos raros.

Estrutura de um Banco de Doadores de Sangue de Fenótipos Raros

Um banco de doadores de sangue raro é formado por um sistema de informações e composto:

a) pelo cadastro de doadores de sangue fenotipados e genotipados e que apresentam antígenos raros ou múltiplos antígenos negativos;
b) pelo cadastro de unidades de hemocomponentes congeladas;
c) pela possibilidade de busca de doadores compatíveis, após a inserção dos resultados de fenotipagem/genotipagem do receptor;
d) local definido onde se localiza o Coordenador Nacional;
e) financiamento por parte do governo federal dos reagentes, equipamentos, transporte e treinamento da equipe do laboratório;
f) métodos de *screening* dos doadores e pacientes padronizado;
g) manutenção de um sistema de informática a nível nacional;
h) sistemas de congelamento de componentes;
i) recrutamento dos doadores de sangue raro.

Devido à finalidade deste manual, alguns aspectos relacionados acima não foram abordados.

Proposta para Implantação do Programa de Sangue Raro no Brasil

Apesar de todo o avanço brasileiro na área de hemoterapia nas últimas décadas, nosso país ainda não possui um programa de sangue raro a nível nacional, abrangendo todas as unidades do território.

A possibilidade de acesso rápido a um cadastro nacional com informações referentes aos doadores de sangue com fenótipo raro poderá proporcionar vários benefícios, como uma maior rapidez na localização de concentrados de hemácias compatíveis para pacientes aloimunizados e diminuição dos custos para sua triagem. Futuramente, esses registros poderão compor o cadastro mundial de doadores com fenótipos raros (IRDP), aumentando as chances de se localizar fenótipos compatíveis para os pacientes aloimunizados de outros países.

Marco Inicial para a Criação do Programa de Cadastro Nacional de Sangue de Doadores com Fenótipos Raros

Em 2011 a Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados do Ministério da Saúde (CGSH-MS) assinou convênio com o Hospital Israelita Albert Einstein com o objetivo de proporcionar apoio à implantação de bancos de concentrados de hemácias e plaquetas raras genotipadas e congeladas.

Esse projeto teve a duração de 02 anos (período de 01 de janeiro de 2012 a 31 de dezembro de 2014, sendo possível devido a PORTARIA SE/MS Nº 611/2011).

Esse projeto teve como objetivos:

a) Implantação de genotipagem eritrocitária e plaquetária em larga escala por tecnologia de *microarray*;
b) Implantação de técnica de congelamento de hemácias e plaquetas;
c) Implantação de técnica de descongelamento de hemácias e plaquetas;
d) Elaboração de protocolo de genotipagem eritrocitária e plaquetária por tecnologia de *microarray*;
e) Elaboração de protocolo de congelamento e descongelamento de hemácias e plaquetas;
f) Elaboração de plano de controle de qualidade dos hemocomponentes genotipados;
g) Elaboração de banco de dados de doadores genotipados;
h) Desenvolvimento e implantação de um sistema de informática para gerenciar o banco de produtos genotipados e;
i) Implantação de programa de treinamento de recursos humanos com capacidade para três técnicos simultaneamente, provenientes de diferentes regiões do Brasil:

Os hemocentros brasileiros que inicialmente fizeram parte desse projeto são: HEMOSC (Santa Catarina), HEMOAM (Amazonas), HEMORIO (Rio de Janeiro).

Como Identificar Fenótipos Raros

Há várias maneiras de identificar doadores de sangue raro. Em algumas circunstâncias, o próprio paciente pode ser o doador, como em cirurgias eletivas ou gestação. Após certo evento transfusional e recuperação do paciente, o mesmo pode ser considerado para candidato à doação autóloga ou alogênica. Caso isso não seja possível, pode-se realizar investigação em familiares, especialmente em irmãos, para verificar se os mesmos também poderão ser doadores de sangue raro. Em casos de anticorpos contra antígeno de alta frequência, um irmão terá no mínimo 25% de chance de ser fenótipo negativo para o antígeno correspondente.

Outra maneira de se encontrar doadores raros é rastreá-los no próprio serviço de hemoterapia, utilizando técnicas laboratoriais de fenotipagem ou genotipagem de doadores de sangue, podendo ser utilizados desde testes sorológicos em tubo, gelcentrifugação ou microplacas, manuais ou automatizados, até testes moleculares em larga escala. Essa estratégia pode ser escolhida de acordo com os recursos e padronizações de cada laboratório e com a etnia da população local, concentrando esforços para determinar fenótipos com maiores chances de apresentarem antígenos raros.

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

Para atender a maioria dos receptores, é desejável que a fenotipagem leve em conta o grupo ABO e as buscas concentrem-se principalmente em doadores do tipo “O” e “A”. Para melhor eficácia do programa, recomenda-se que os doadores sejam fenotipados a partir de três doações, buscando-se doadores de repetição e que possam estar mais facilmente disponíveis para nova doação em caso de convocação posterior.

O quadro a seguir exemplifica os fenótipos raros mais comumente investigados nos diferentes sistemas sanguíneos.

Quadro 1 - Características de doadores de sangue raro com fenótipo negativo para antígenos de alta frequência, de acordo com o sistema sanguíneo (Morelati et al 2007)

Sistema	**Fenótipos**
Rh	CCDEE, CCdee, ccdEE, CCdEE, deleções
KEL	K_0, Kp(a-b-), Kp(b-), Js(b-)
JK	Jk (a-b-)
FY	Fy (a-b-)
LW	LW (a-b+), LW (a-b-)
DO	Do(a-), Hy-, Gy (a-)
IN	In(b-)
MNS	U-, En(a-), S-s-
CO	Co(a-b-), Co(a-)
LU	Lu(a-b-), Lu(b-)
SC	Sc:-1,-2, Sc:-1
GE	Ge:-2,-3, Ge:-2,3
CROM	Cr(a-), Es(a-), Tc(a-)
YT	Yt(a-)
DI	Di(b-), Wr(b-)
H	O_h
JMH	JMH-
Outros	Vel-, Lan-, At(a-), Jr(a-), Ok(a-), I-, i-

Composição Étnica da População Brasileira

A partir de 1500, com a descoberta do Brasil, houve a migração de portugueses, espanhóis e africanos e mais recentemente, no início do século XX, também de italianos, alemães e japoneses ao território nacional. Além da migração de origem externa, ocorre no Brasil migração interna. Essas migrações contribuíram, ao longo do tempo, para um elevado percentual de miscigenação, tornando a população brasileira única do ponto de vista antropológico.

Estudos utilizando marcadores informativos de ancestralidade (MIA's) mostraram que a população brasileira é uma das mais heterogêneas do mundo, sendo resultante do processo de miscigenação tri-híbrida de mais de 500 anos ocorrido entre indivíduos africanos, indígenas e europeus.

O estudo publicado por Alves-Silva *et al* em 2000, realizado através da técnica de DNA mitocondrial, mostra que a população brasileira é composta por 33% de indígenas, 28% de africanos e 39% de europeus. Essa frequência varia de acordo com a região do Brasil, onde se observa que a região Sul apresenta 66% da população de origem europeia, contrastando com 22% da região Nordeste. Já a região Norte apresenta 54% de indígenas e a região Nordeste é composta por 44% de indivíduos de origem africana.

O conhecimento da frequência fenotípica e/ou genotípica dos vários grupos sanguíneos na população brasileira é essencial pra estimar a disponibilidade de sangue compatível para pacientes que apresentem anticorpos contra antígenos eritrocitários.

Testes Realizados pelo Laboratório de Imuno-hematologia

A) Fenotipagem eritrocitária

A fenotipagem de doadores de sangue e implantação de cadastro local de doadores fenotipados é de grande importância nos serviços de hemoterapia.

A determinação do perfil de antígenos eritrocitários em doadores de sangue e pacientes que recebem transfusão sanguínea é importante na prevenção de aloimunização.

Para todos os testes devem ser utilizados reagentes inspecionados e realização de controles internos, sendo que os testes sorológicos devem ter sido realizados no mínimo por duas vezes.

B) Genotipagem

A determinação do fenótipo eritrocitário por técnicas de hemoaglutinação em pacientes aloimunizados pode ser longa, complexa e produzir resultados difíceis de interpretar. A elucidação das bases moleculares para a maioria dos antígenos de grupos sanguíneos recentemente permitiu o uso de testes moleculares para determinar a presença ou ausência de alelos para vários grupos sanguíneos e predizer o respectivo fenótipo nas hemácias.

A genotipagem pode ser utilizada para resolução de casos complexos onde a determinação sorológica de dado fenótipo é prejudicada tanto pela falta de reagentes como por outras limitações da hemaglutinação, como por exemplo, devido a transfusões recentes. Nestes casos, a determinação do genótipo ajuda a predizer os antígenos que podem ser expressos na membrana, permitindo uma caracterização mais detalhada do tipo sanguíneo.

É importante conhecer o *background* de alelos local e estabelecer uma estratégia eficiente e segura para os testes moleculares para predizer um antígeno. O mesmo genótipo pode ter diferentes *backgrounds* genéticos, como por exemplo, o fenótipo Jk Null.

Responsabilidades dos Serviços Locais, Regionais e Nacionais

A qualificação técnica é de grande importância para o sucesso do programa. Para tanto, todos os serviços participantes devem atender os requisitos sanitários legais, e é desejável que tenham certificado de proficiência técnica em programas nacionais ou internacionais de qualidade.

Os membros participantes devem ter compromisso em registrar doadores com fenótipo raro quando encontrados, realizar triagem de rotina para antígenos de alta frequência em amostras de doadores de sangue, proceder a estudos familiares para identificar doadores raros e disponibilizar soros contra antígenos de alta ou baixa frequência para outros membros, caso haja necessidade. Todos deverão manter seus cadastros de doadores raros atualizados com frequência mínima de seis meses.

Serviços Locais

Os serviços locais serão responsáveis pela realização das seguintes atividades:

a) Implantar e manter programa de fenotipagem de doadores para os antígenos C, c, E, e, K (Rh + Kell);
b) Cadastro dos resultados de fenotipagens realizadas em sistema informatizado, permitindo o acesso rápido às informações;
c) Envio periódico de amostras com fenotipagem R_1R_1 (CCDee), R_2R_2 (ccDEE), R_0 (ccDee) e rr (ccddee) ao serviço regional para fenotipagem estendida;
d) Envio de amostras de pacientes com anticorpos contra antígeno de alta frequência ao serviço regional, para confirmação da especificidade dos anticorpos;
e) Contato com doadores e parentes para realização de estudos familiares;
f) Cadastro de doadores raros, quando caracterizados, em seu próprio sistema informatizado;
g) Captação dos doadores raros cadastrados, conforme demanda local, regional ou nacional;
h) Manter todos os registros exigidos para participação no programa atualizados e disponíveis, além de elaborar relatórios ao programa, quando solicitado.

Como exemplo desse tipo de serviço, temos os hemocentros regionais ou hemonúcleos.

Serviços Regionais

Os serviços regionais serão responsáveis pela realização das seguintes atividades, além das já estabelecidas para os serviços locais:

a) Confirmação da fenotipagem Rh + Kell das amostras enviadas pelos serviços locais e realização de fenotipagem de doadores estendida para os antígenos Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s;

b) Análise de casos de amostras de pacientes com anticorpos contra antígenos de alta frequência reportados pelo serviço local, com o objetivo de confirmar a especificidade dos anticorpos;

c) Uso de amostras/reagentes de anticorpos contra antígenos de alta frequência para busca sistematizada de fenótipos negativos, de acordo com disponibilidade e características étnicas da população;

d) Manter todos os registros exigidos para participação no programa atualizados e disponíveis, além de elaborar relatórios ao programa, quando solicitado.

Como exemplo deste tipo de serviço, temos os hemocentros coordenadores estaduais.

Serviços Nacionais

Os serviços nacionais serão responsáveis minimamente pela realização das seguintes atividades, além das já estabelecidas para os serviços locais e regionais:

a) Confirmação dos resultados de fenotipagem das amostras enviadas pelos serviços regionais;

b) Realização de genotipagem estendida para os diversos polimorfismos disponíveis;

c) Elucidação de casos de amostras de pacientes com anticorpos contra antígenos de alta frequência reportados pelos serviços regionais,

d) Investigação de discrepâncias entre fenotipagem/genotipagem;
e) Cadastro do doador e envio de hemácias para congelamento, se necessário;

f) Envio dos dados para cadastro de doador raro ao serviço regional;

g) Análise das solicitações de sangue raro;

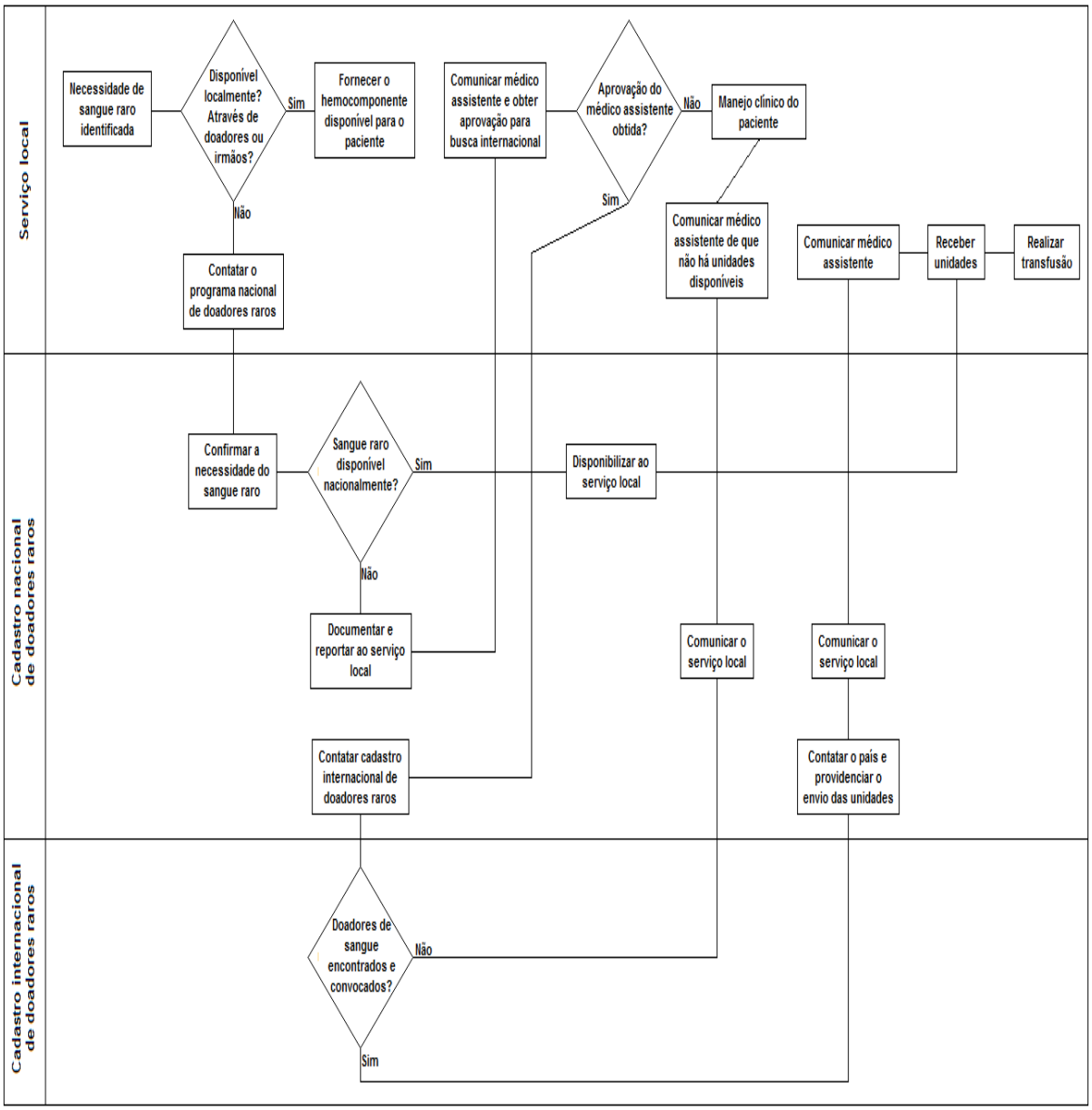
h) Manter todos os registros exigidos para participação no programa atualizados e disponíveis, além de elaborar relatórios ao programa, quando solicitado.

Como exemplo deste tipo de serviço temos os hemocentros coordenadores de destaque nacional, responsáveis pela realização de testes de genotipagem em larga escala e congelamento de hemácias raras.

O país ainda deverá contar um centro que coordene todos os serviços locais, regionais e nacionais, possuindo ainda o apoio de um laboratório de referência nacional em grupos sanguíneos (LRGS) para dar suporte técnico, tanto para elucidação de casos de amostras de pacientes com anticorpos contra antígenos de alta frequência ou misturas incomuns de múltiplos anticorpos, como para investigar e resolver discrepâncias entre fenotipagem/genotipagem não solucionadas pelos serviços nacionais.

Na figura a seguir está apresentada de forma esquemática a proposta de fluxo de informações para a localização de componentes com fenótipos raros. Esse fluxograma foi adaptado e traduzido do proposto por NANCE (2009) o qual, descreve o funcionamento dos diferentes níveis conforme elaborado pelo Grupo de Trabalho de Doadores Raros da ISBT.

Figura 1 - Fluxograma apresentando processo para obtenção de sangue raro nos diferentes níveis de serviços (adaptado de Nance, 2009 e ISBT Rare Donor Working Party)



Fonte: www.isbtweb.org/fileadmin/user_upload/WP_on_Rare_Donors/FlowchartRareBloodRequest.pdf. Acesso em 27 nov. 2014.

Critérios para Submissão de Doadores Raros ao Programa

Para ser qualificado como portador de sangue raro, o doador deve atender a um dos seguintes critérios:

I – Ausência de antígenos de alta frequência (encontrado em menos que um em mil doadores testados):

a) Devem ter seu grupo ABO determinado;

b) Devem ser fenotipados no mínimo para os antígenos D, C, c, E, e, K, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s, com reagentes inspecionados e realização de controles internos;

c) O serviço deverá realizar os testes na mesma amostra na qual os resultados foram enviados;

d) Os testes sorológicos devem ter sido realizados no mínimo por duas vezes, e caso sejam moleculares ao menos uma vez.

II - Múltiplos antígenos comuns negativos, devendo seguir um dos critérios abaixo:

a) R_1, R_2, R_0 ou rr; K-; Fy(a-) ou Fy(b-); Jk(a-) ou Jk(b-); S- ou s- dos grupos O ou A; ou

b) R_1, R_2 ou rr; K-; Fy(a-b-) dos grupos O ou A.

O serviço deverá realizar os testes na mesma amostra na qual os resultados foram enviados. Os testes sorológicos devem ter sido realizados no mínimo por duas vezes, e caso sejam moleculares ao menos uma vez. Os testes deverão ser realizados utilizando reagentes inspecionados e realização de controles internos.

Os dados deverão ser encaminhados ao serviço nacional, representado pelo seu respectivo hemocentro de referência regional, através do formulário para esta finalidade (Anexo II).

Captação e Fidelização dos Doadores de Sangue Raro

Os doadores de sangue raro devem ser informados sobre a importância da sua condição. Tais doadores, cadastrados como doadores raros, receberão carta explicando sua condição e carteirinha de doador raro (Anexo I), bem como o convite para participar do cadastro nacional de doadores raros.

O cadastro dos doadores raros deve manter-se atualizado, sendo os doadores contatados ao menos semestralmente para confirmação dos dados, principalmente número do telefone, endereço residencial e endereço eletrônico.

Receberão todo o tipo de informação disponível e poderão sair do programa por livre vontade a qualquer momento.

Caso necessitem de transfusão sanguínea, devem portar a carteirinha de doador (Anexo I) e apresentá-la à equipe médica assistente.

Programas educacionais e de incentivo a doação devem ser implementados nos diferentes serviços de hemoterapia.

Transporte de Amostras e Hemocomponentes

Na execução da rotina de fenotipagem e/ou genotipagem em amostras de doadores e pacientes pelos laboratórios de imuno-hematologia de referência, bem como, quando da localização de unidades de hemocomponentes compatíveis, poderá haver a necessidade de realização do transporte do material biológico.

No caso do envio de hemocomponentes para outros estados brasileiros, caberá ao serviço de hemoterapia remetente informar à Vigilância Sanitária local sobre o envio dos produtos e o destinatário, bem como a finalidade de uso das amostras ou hemocomponentes.

O acondicionamento para o transporte das amostras e hemocomponentes destinados à transfusão deverá ser realizado conforme determina a Portaria Conjunta nº 370 de 07 de maio de 2014 (MS/ANVISA) ou legislação que venha a substituí-la.

As amostras devem ser acondicionadas de modo a não perderem suas características biológicas, sendo que as amostras destinadas às provas de compatibilidade deverão chegar ao destinatário em tempo inferior a 72 horas. Sendo o prazo entre a coleta e o envio superior a esse, não mais é possível realizar os testes de compatibilidade, de acordo com o artigo 173 da Portaria MS nº 2712 de 12 de novembro de 2013, ou legislação que venha a substituí-la.

Os tubos que contiverem as amostras deverão ser identificados com o nome do paciente, nome do profissional coletador, data e horário da coleta e procedência, conforme disposto no artigo 172 da Portaria MS nº 2712 de 12 de novembro de 2013 ou legislação que venha a substituí-la.

Caberá ao remetente das amostras e o destinatário dos hemocomponentes arcar com os custos relativos ao acondicionamento e transporte.

Procedimentos para a Solicitação de Sangue Raro

Para solicitação de unidades de sangue raro, deverá ser preenchido o formulário específico (Anexo III), fornecendo todos os dados necessários para a confirmação dos testes laboratoriais previamente realizados e posterior seleção dos hemocomponentes adequados. O formulário preenchido será enviado ao serviço coordenador local.

Conclusão e Perspectivas

Um cadastro nacional com informações referentes aos doadores de sangue com fenótipo raro poderá proporcionar vários benefícios, como maior rapidez na localização de concentrados de hemácias compatíveis para pacientes aloimunizados, diminuição dos custos para sua triagem e composição do cadastro mundial de doadores com fenótipos raros, o que aumentaria as chances de se localizar fenótipos compatíveis com esses pacientes.

A organização de programas de fenotipagem e genotipagem a nível nacional e a disponibilização desses dados poderão trazer avanços significativos, tanto para reestruturação de laboratórios de imuno-hematologia como para a capacitação técnica dos profissionais que atuam nesta área. Esse cadastro poderá ser utilizado futuramente como estratégia para seleção de concentrado de hemácias a serem congeladas no país.

Anexo I

Carteira de identificação dos doadores a ser disponibilizada aos doadores cadastrados.

Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados do Ministério da Saúde

DOE SANGUE
DOE VIDA

Cadastro Nacional de Doadores de Sangue com Fenótipos Raros

Doador:

Grupo sanguíneo:

Fenótipo:

Data de emissão:

Anexo II

Programa Brasileiro de Doadores com Fenótipos Raros
Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados – CGSH – MS

Ficha de Entrada de Dados de Doadores no Sistema Nacional

I - Identificação dos Doadores	
Unidade hemoterápica de procedência do doador:	
Número do doador no sistema local/regional:	Código do doador no sistema nacional:
Nome completo sem abreviações:	
Endereço completo:	
CEP:	Estado:
Gênero: ( ) masculino ( ) feminino	Telefones para contato:
Data de nascimento:	Nome da mãe:
CPF:	RG:

II – Testes realizados na amostra do doador:
Tipo ABO/RhD do Doador
Os antígenos pesquisados foram confirmados com dois antissoros ou metodologias diferentes e/ ou avaliados através de técnicas moleculares? ( ) Sim ( ) Não

III – Resultados dos fenótipos dos Doadores (preencher com "+" ou "0":									
D	C	c	E	e	C^{W}	V	VS	K	k
Kp^{a}	Kp^{b}	Js^{a}	Js^{b}	Fy^{a}	Fy^{b}	Jk^{a}	Jk^{b}	Le^{a}	Le^{b}
Pl	M	N	S	s	Co^{a}	Co^{b}	Co3	Ge2	Ge3
Gy^{a}	Hy	Jo^{a}	I	Jk3	Lan	Lu^{a}	Lu^{b}	Lu3	P
P^{k}	U	U^{var}	Vel	Vel^{var}	Yt^{a}	Do^{a}	Do^{b}	LW^{a}	Lw^{b}
Sc1	Rh46	hr^{B}	hr^{S}	Yt^{a}	Jr^{a}	JMH			

Data: _____Responsável pelo preenchimento: _____

Anexo III

Programa Brasileiro de Doadores com Fenótipos Raros
Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados – CGSH – MS

Solicitação de Unidades de Sangue Raro – Concentrado de Hemácias

I - Informações do paciente

Número de unidades de concentrado de hemácias necessárias: ___

Número do receptor no sistema local/regional:	Código do receptor no sistema nacional:
Nome completo sem abreviações:	
Gênero: ( ) masculino ( ) feminino	Data de nascimento:
Diagnóstico:	Médico responsável:
Hemoglobina/hematócrito:	Telefone de contato:
Identificação do Serviço de Hemoterapia	Contato:

II - Fenótipo necessário (Circule quais os antígenos devem ser negativos na(s) unidade(s) de concentrado de hemácias)

D	C	c	E	e	C^W	V	VS	K	k
Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b
Pl	M	N	S	s	Co^a	Co^b	Co3	Ge2	Ge3
Gy^a	Hy	Jo^a	I	Jk3	Lan	Lu^a	Lu^b	Lu3	P
P^k	U	U^{var}	Vel	Vel^{var}	Yt^a	Do^a	Do^b	LW^a	Lw^b
Sc1	Rh46	hr^B	hr^S	Yt^a	Jr^a	JMH			

Se necessitar de unidades negativas para Le^a, Le^b, M, N, ou Pl, os anticorpos são clinicamente significativos? ( ) Sim ( ) Não
Observações:

Aceita D+ caso o paciente seja D-? ( ) Sim ( ) Não

Aceita somente unidades leucorreduzidas? ( ) Sim ( ) Não

Aceita somente unidades negativas para Hb S?( ) Sim ( ) Não

Data: _____Responsável pelo preenchimento: _____

Referências Consultadas

AMERICAN RARE DONOR PROGRAM. Standard Operating Manual, 2006.

ALVES-SILVA, et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. *The American Society of Human Genetic.*2000, 67:444-461.

BADJIE, KSW et al. Red blood cell phenotype matching for various ethnic groups. *Immunohematology*, 2011, 27(1):12-19.

BRASIL. Ministério da Saúde. SAS. Portaria 2712 de 13 de novembro de 2013. Redefine o regulamento técnico dos procedimentos hemoterápicos. Diário Oficial da União, n.221, p106, 2013.

BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria Conjunta ANVISA/SAS Nº 370, de 07 de maio de 2014. Dispõe sobre o regulamento técnico-sanitário para o transporte de sangue e componentes. Diário Oficial da União n. 86, p47-49, 2014.

CASTILHO L. O futuro da aloimunização eritrocitária. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 2008, 30(4):261-262.

FLICKINGER C. In search of red blood cells for alloimmunized patients with sickle cell disease. *Immunohematology.* 2006, 22(3):136-42.

GILBETT E. R. (1977), Blood Group Alloantibodies: An Assessment of Some Laboratory Practices. *Transfusion*, 17: 299–308. doi: 10.1046/j.1537-2995.1977.17477216857.x

ISBT Rare Donor Working Party. Flow Chart to Request Rare Blood from International Rare Donor Panel (IDP). Disponível em: www.isbtweb.org/fileadmin/user_upload/WP_on_Rare_Donors/FlowchartRareBloodRequest.pdf. Acesso em 27 nov. 2014.

LEVENE C, ASHER O, SHINAR E, YAHALOM V. Rare blood donors: a personal approach. *Immunohematology.* 2006, 22(2):64-65.

MENY GM, FLICKINGER C, MARCUCCI C. The American Rare Donor Program. *Journal of Critical Care.* 2013, 28(1):110.e9-110.e18.

MORELATI C, et al. Strategies for the transfusion of subjects with complex red cell immunisation: the Bank of rare blood donors of the Region of Lombardy. *Blood Transfusion.*2007, 5: 217-26.

MOURANT AE. Establishment of an International Panel of Blood Donors of Rare Types. *Vox Sanguinis*, 10: 129–132. doi: 10.1111/j.1423-0410.1965.tb04330.x

NANCE ST. How to find, recruit and maintain rare blood donors. *Current Opinion in Hematology.* 2009,16:503-08.

NANCE, ST, Global definitions of rare donors. ISBT Science Series, 8: 23–27, 2013. doi: 10.1111/voxs.12006

PEYRARD T, PAHM BN, LE PENNEC , ROUGER P. Les phenotypes érythrocytaires rares: un enjeu de santé publique. *Transfusion Clinique et Biologique.* 2008,15:109–19.

POOLE, J. The Screening, Identification and Use of Rare Blood. *Vox Sanguinis.* 2002,83(1): 99-100.

REDMAN M, REGAN F, CONTRERAS M. A prospective study of the incidence of red cell alloimmunization following transfusion. *Vox Sang*. 1996;71(4):216-20

REESINK, et al. Donors with a rare pheno (geno) type. *Vox Sanguinis***.** 2008, 95:236-53.

SELTSAM A, WAGNER FF, SALAMA A, FLEGEL. Antibodies to high-frequency antigens may decrease the quality of transfusion support: an observational study. *Transfusion*. 2003, 43: 1563-66.

WOODFIELD, GMB. Rare Blood Donors: The past and future. *Vox Sanguinis.* 2002,83 (suppl.1): 93-97.

Lista de Endereços

Instituição	Endereço	Telefone
CGSH	SAF/Sul,Trecho 02, Ed. Premium, Torre 02, ala B, 2ª andar Brasilia - DF	(61) 3315-6169
HEMOAL	Av. Jorge de Lima, nº 58 Trapiche da Barra – Maceió – AL	(82) 3315-2102 (82) 3315-2106
HEMOBA	Ladeira do Hospital Geral 2º Brotas Salvador–BA	(71) 3316-5602 (71) 3316-5603
HEMOCE	Av. José Bastos, nº 3390 - Rodolfo Teófilo - Fortaleza – CE	(85) 3101-2275 (85) 3101-2273
HEMOMAR	Rua 5 de Janeiro, s/n – Jordoá São Luiz – MA	(98) 3216-1139 (98) 3216-1100 (98) 3216-1102
HEMOIBA	Av. D. Pedro II, nº 1119 – Torre João Pessoa – PB	(83) 3226-1388 (83) 3218-5690 (83) 3218-7600
HEMOPE	Av. Rui Barbosa, nº 375 – Graças Recife – PE	(81) 3182-4912
HEMONORTE	Av. Alexandrino de Alencar, nº 1800 Tirol Natal – RN	(84) 3232-6702 (84) 3232-6703
HEMOPI	Rua 1º de Maio, nº 235 – Centro Teresina – PI	(86) 3221-8319 (86) 3221-8320
HEMOSE	Av. Tancredo Neves, s/n Aracaju – SE	(79) 3259-3191 (79) 3259-3195
HEMOACRE	Av. Getulio Vargas, nº 2787 - Vila Ivonete Rio Branco – AC	(68) 3248-1377 (68) 3228-1494
HEMOAP	Av. Raimundo Aires da Costa, s/n - Jesus de Nazaré - Macapá – AP	(96) 3212-6289
HEMOAM	Av. Constantino Nery, nº 4397 – Chapada Manaus – AM	(92) 3655-0225 (92) 3655-0223
HEMOPA	Trav. Padre Eutíquo, nº 2109 - Batista Campos - Belém – PA	(91) 3225-2404
FHEMERON	Av. Circular II, s/n – Setor Industrial Porto Velho - RO	(69) 3216-5490 (69) 3216-5491
HEMORAIMA	Av. Brigadeiro Eduardo Gomes, nº 3418 Boa Vista – RR	(95) 2121-0859 (95) 2121-0861 (95) 2121-0866
HEMOTO	Quadra 301 Norte, Conjunto 2 Lote I Palmas – TO	(63) 3218-3285 (63) 3218-3287
Fundação Hemocentro de Brasília	SMHN, Quadra 3 Conj A bloco 3 Asa Norte Brasília – DF	(61) 3327-4447 (61) 3327-4462
HEMOGO	Av. Anhanguera, nº 5195 - Setor Coimbra Goânia – GO	(62) 3201-4858 (62) 3201-4588
HEMOMAT	Rua 13 de Junho, nº 1055 - Centro Cuiabá – MT	(65) 3624-1016 (65) 3321-0351 (65) 3623-0044
HEMOSUL	Av. Fernando Correa da Costa, nº1304, Centro Campo Grande – MS	(67) 3312-1502 (67) 3312-1501

HEMOES	Av. Marechal Campos, nº1468 Maruípe Vitória – ES	(27) 3137-2459 (27) 3137-2461 (27) 3137-2462
HEMOMINAS	Alameda Ezequiel Dias, nº321 - Santa Efigênia - Belo Horizonte – MG	(31) 3248-4500 (31) 3248-4531
HEMORIO	Rua Frei Caneca, nº 8 – Centro Rio de Janeiro – RJ	(21) 2332-8620 (21) 2332-8611
Fundação Pró-Sangue	Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, nº 555 1º Andar São Paulo– SP	(11) 3061-5544 (11) 3085-2355
Hemocentro de Marília	Rua Lourival Freire, nº 240 – Fragata Marilia – SP	(14) 3402-1868 (14) 3402-1866
Hemocentro da UNICAMP	Rua Carlos Chagas, nº 480 Cidade Universitária Prof. Severino Vaz Campinas – SP	(19) 3521-8740 (19) 3521-8736
Hemocentro de Botucatu	Faculdade de Medicina de Botucatu Distrito de Rubião Junior, s/n Botucatu – SP	(14) 3211-6041
Hemocentro de Ribeirão Preto	Rua Tenente Catão Roxo, nº 2501 Monte Alegre Ribeirão Preto – SP	(16) 2101-9311 (16) 2101-9300
Hemocentro da UNIFESP	Rua Napoleão de Barros, nº 715 4º Andar São Paulo – SP	(11) 5539-7289 (11) 5539-2804
HEMEPAR	Travessa João Prosdócimo, nº 145 Alto da Quinze - Curitiba – PR	(41) 3281-4024 (41) 3281-4000
HEMORGS	Av. Bento Gonçalves, nº 3722 Partenon Porto Alegre – RS	(51) 2225-6755
HEMOSC	Av. Prof. Othon Gama D'Eça, nº 756 Centro Florianópolis – SC	(48) 3251-9741 (48) 3251-9800