



FACULDADE UNIRB ARAPIRACA
BACHARELADO EM BIOMEDICINA

TACIANNE FELISBERTO DE MELO

CLASSIFICAÇÃO DAS VARIANTES DO SISTEMA RH D, E
IMPORTÂNCIA NA DOAÇÃO SANGUÍNEA: UMA REVISÃO
INTEGRATIVA DA LITERATURA

ARAPIRACA

2022

Tacianne Felisberto de Melo

Classificação das variantes do sistema Rh D, e importância na doação
sanguínea: uma revisão integrativa da literatura

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em
Biomedicina da Faculdade UNIRB Arapiraca-Al
apresentado como requisito final para a obtenção do
Título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Caroline Melo dos Santos.

Arapiraca
2022

BIBLIOTECA ZUZA PEREIRA / FACULDADE UNIRB ARAPIRACA

MELO, Tacianne Felisberto

Classificação das variantes do sistema Rh D, importância na doação sanguínea: uma revisão integrativa da literatura/ Tacianne Felisberto de Melo. - Arapiraca AL, 2022.

49f.

Monografia (graduação) do Curso Bacharel Em Biomedicina -
Faculdade UNIRB Arapiraca - UNIRB

Orientador (a): Prof(a): Dr^a. Ana Caroline Melo dos Santos

1. Variantes Rh D, 2. Aloimunização. 3. Antígenos eritrocitários.
I. Título.

CDD:610

Tacianne Felisberto de Melo

Classificação das variantes do sistema Rh D, e importância na doação
sanguínea: uma revisão integrativa da literatura

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em
Biomedicina da Faculdade UNIRB Arapiraca-Al
apresentado como requisito final para a obtenção do
Título de Bacharel em Biomedicina.

Data da aprovação: 20/ 07/ 2022

Prof.^a Dra. Ana Caroline Melo dos Santos
Faculdade UNIRB Arapiraca – UNIRB
(Orientadora)



Prof. Me. Edilson Leite de Moura
Faculdade UNIRB Arapiraca - UNIRB
(Examinador)

Prof.^a Esp. Bruna Brandão dos Santos
Faculdade UNIRB Arapiraca – UNIRB
(Examinadora)

DEDICATORIA

Dedico este trabalho a Deus, que sempre foi o autor da minha vida e do meu destino, meu maior apoio nos momentos difíceis, sem ele eu não teria capacidade para desenvolver este trabalho.

A minha querida avó Maria José dos Santos (in memoriam), cujo empenho em me educar sempre veio em primeiro lugar. Aqui estão os resultados dos seus esforços. Com muita gratidão.

Dedico este trabalho aqueles que me ajudaram ao longo desta caminhada e aos amigos de curso, que assim como eu encerram uma difícil etapa da vida.

Pensando em melhorias para as pessoas que executei este projeto, por isso dedico todos aqueles a quem este trabalho possa ajudar.

AGRADECIMENTOS

Principalmente a Deus, que sempre me guiar, por ser a minha força e por sempre estar comigo, me ajudando a superar os obstáculos por mais impossíveis que eles sejam.

Agradeço também aos meus genitores, Manoel Felisberto e Maria Lenilza, por todo apoio e motivação para seguir estudando e sempre foram meus alicerces meu motivo de nunca desistir.

Amo vocês!

Ao meu irmão Tarcio de Melo, que compartilha as dificuldades da vida acadêmica comigo, que sempre esteve presente nas dificuldades, e está presente na superação, obrigada por sempre está comigo. Amo-te infinitamente!

A professora e orientadora Ana Caroline, pelo empenho e paciência comigo. Muito obrigada!

“Doar o que não vai te faltar é acreditar
que com o mínimo você pode salvar!”

Ivan Lordano

RESUMO

Introdução: Os fenótipos AB, A, B, e O tem muita importância, pois os anticorpos contra A ou B ou ambos os antígenos estão naturalmente presentes no soro de indivíduos cujas hemácias expressam o grupo sanguíneo B, A ou O. O Rh é tido tal como um sistema complexo polimórfico com o antígeno D sendo mais imunogênico. Qualquer mudança no gene RHD só é possível a detecção, com testes utilizando reagentes monoclonais, junto com testes moleculares.

Objetivo: Realizar uma revisão integrativa de literatura sobre a detecção das variantes Rh D e sua importância na prática clínica e transfusional. **Metodologia:** Foi conduzida uma revisão integrativa de literatura nas bases de dados, (PUBMED), (MEDLINE), (LILACS), Google Acadêmico e acervo literário nos últimos vinte anos. **Resultados:** O índice dos casos novos de Rh D parcial superou o de Rh D fraco. Os tipos 1, 2 e 4 de alelos Rh D fraco possuem uma frequência maior no Brasil. Com a implantação de programas para liberação dos laudos com as variantes Rh D que diferencie os fenótipos Rh D resultaria em uma baixa probabilidade de ocorrer aloimunização e economizando sangue Rh D negativo. A conscientização das mulheres a respeito do pré-natal correto, alertando as mães para a sensibilização das hemácias maternas no momento do parto, pode evitar uma futura Doença Hemolítica do recém-nascido na próxima gestação. Os métodos sorológicos não conseguem diferenciar entre o fenótipo Rh D parcial e o Rh D fraco, e não consegue detectar o Rh Del, essa diferenciação requer uma investigação molecular. Estes fenótipos estão com frequência relacionados em quadros de aloimunização anti-D. **Conclusão:** Outras pesquisas sobre os fenótipos variantes Rh D precisam ser realizadas, trazendo importantes contribuições para o avanço da pesquisa, com a finalidade reduzir a porcentagem de paciente com riscos de aloimunização.

Palavras-chave: Fator Rh, variantes Rh D, antígeno Rh D, aloimunização, grupo sanguíneo, doação de sangue e antígenos eritrocitários.

ABSTRACT

Introduction: The AB, A, B, and O phenotypes are very important, as antibodies against A or B or both antigens are naturally present in the serum of individuals whose red blood cells express blood group B, A or O. a complex polymorphic system with the D antigen being more immunogenic. Any change in the RHD gene is only possible for detection, with tests using monoclonal reagents, along with molecular tests. **Objective:** To carry out an integrative review of the literature on the detection of Rh D variants and their importance in clinical and transfusion practice. **Methodology:** An integrative literature review was conducted in the databases, (PUBMED), (MEDLINE), (LILACS) Google Scholar and literary collection in the last twenty years. **Results:** The rate of new cases of partial Rh D surpassed that of weak Rh D. Types 1, 2 and 4 of weak Rh D alleles have a higher frequency in Brazil. negative D. The awareness of women about correct prenatal care, alerting mothers to the sensitization of maternal red blood cells at the time of delivery, can prevent a future Hemolytic Disease of the newborn in the next pregnancy. Serological methods cannot differentiate between partial Rh D phenotype and weak Rh D, and cannot detect Rh Del, this differentiation requires molecular investigation. These phenotypes are frequently related in anti-D alloimmunization pictures. **Conclusion:** Further research on Rh D variant phenotypes needs to be carried out, bringing important contributions to the advancement of research, in order to reduce the percentage of patients at risk of alloimmunization.

Keywords: Rh Factor, Rh D variants, Rh D antigen, Alloimmunization, blood group, blood donation and erythrocyte antigens.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Os sistemas de grupos sanguíneos.....	13
Tabela 2 - Terminologias numéricas, nome e símbolo para os antígenos do sistema Rh.	20
Tabela 3 - Frequência em porcentagem de antígenos D variantes por regiões brasileiras.....	40
Tabela 4 - Características dos estudos inseridos quanto ao autor, ano, objetivo, tipo de estudo, população, método e resultado	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Antígenos e anticorpos do sistema ABO	16
Figura 2 - Cadeias de hidratos de carbono que determinam o grupo sanguíneo ABO.	17
Figura 3 - Membrana eritrocitária da proteína Rh.....	20
Figura 4 - Estrutura do gene RHD e RHCE e seus respectivos polipeptídios.....	21
Figura 5 - Esquema do complexo Rh na membrana eritrocitária	22
Figura 6 - Variantes Rh D nas hemácias	23
Figura 7 - Proteína Rh D parcial.....	24
Figura 8 - Variante Rh D fraco.....	26
Figura 9 - Proteína RhD Del.....	27
Figura 10 - Aglutinação antígeno anticorpo	32
Figura 11 - Método em lâmina.	32
Figura 12 - Método em tubo.....	33
Figura 13 - Método em Gel.	34
Figura 14 - Fluxograma quanto a identificação, triagem, elegibilidade e inclusão dos estudos	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVO	12
2.1. OBJETIVO GERAL	12
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3.1. TRANSFUSÃO SANGUÍNEA, SISTEMA ABO E RH.....	13
3.2. VARIANTES RHD.....	22
3.3. VARIANTE RH D PARCIAL.....	23
3.4. VARIANTE RH D FRACO.....	25
3.5. VARIANTE RH (DEL).....	26
3.6. ALOIMUNIZAÇÃO	27
3.7. MÉTODOS DE RASTREAMENTO	29
3.8. METODOS PARA TIPAGEM SANGUÍNEA	31
4. METODOLOGIA	35
5. RESULTADO E DISCUSSÃO	36
6. CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46

1. INTRODUÇÃO

Uma forma de encontrar a individualidade biológica de um indivíduo é analisando os antígenos presentes na membrana da célula, nelas podemos encontrar sistemas, tais como: ABO e Rh. Definido como o sistema mais complexo, o Rh dentre os demais é visto como o mais polimórfico, formado por aproximadamente 50 antígenos, dois genes homólogos são encarregados pela codificação, sendo o primeiro deles o RHD e o segundo é o RHCE. As hemácias que têm a existência de aglutinogênios são definidas como Rh D positivas, as que não têm a presença deste antígeno são definidas como Rh D negativas, estes antígenos determinam o fenótipo. Dependendo do grupo étnico, a ausência de aglutinogênios, pode variar dependendo da população humana estudada (SABINO, 2008).

Uma gama de glicoproteínas e glicolipídios localizados nos eritrócitos (glóbulos vermelhos) constitui os antígenos dos fenótipos classificados como: AB, A, B, O e o Rh (Rhesus). O sistema ABO tem muita importância, pois os anticorpos contra A ou B ou ambos os antígenos estão naturalmente presentes no soro de indivíduos cujas hemácias expressam o grupo sanguíneo B, A ou O. Uma transfusão sanguínea incompatível é considerada fatal (MAFRA, 2019).

O sistema sanguíneo ABO foi o primeiro sistema de grupos descoberto, e o primeiro sistema polimórfico descrito em nossa espécie, seus antígenos não se restringe aos eritrócitos, mas ocorre também em outros tecidos e secreções, esse sistema é o único dentre os demais que também apresenta anticorpos regulares no plasma. É o único sistema que contém, além dos antígenos A e B, os anticorpos anti-A, anti-B e anti-AB. Assim, indivíduos do grupo A possuem anticorpos anti-B e os do grupo B, anti-A. Os indivíduos do grupo AB não os expressam, mas aqueles do grupo O expressam anti-A, anti-B e anti-AB (LEITE, 2019).

Por ser rico em estruturas, qualquer alteração existente nos aminoácidos em um fragmento da proteína afeta a forma dos epítomos, resultando em variações fenotípicas. Estas variações podem ser: tipo D fraco, que resulta de uma modificação em nucleotídeos, um caso é na substituição em uma proteína na parte intracelular e transmembrana de um aminoácido por outro. Se esta substituição ou rearranjos acontecer, na parte extracelular é definido como uma variante D parcial. Outro fenótipo este, porém, com menor expressão é o DEL, por essa característica sua identificação é impossibilitada por testes sorológicos como os demais, só sendo possível apenas por testes moleculares (MARTINS *et al.*, 2017).

Em fenótipos do tipo Rh D fraco, é possível identificar epítomos completos, entretanto, seus níveis de antígeno Rh D mostra uma redução. Esta diferenciação é devido à modificação

na parte intramembranar. Portadores dessa variante não formam aloanticorpo anti-D, porém podem possuir autoanticorpo anti-D. Hemácias de voluntários a doação, portadores dessa variante não podem misturar com sangue de pacientes Rh D negativos, pois pode provocar uma aloimunização. Se hemácias Rh D positiva forem administradas em um paciente portador de hemácias Rh D negativo, o receptor irá sofrer a aloimunização anti-D e jamais poderá receber hemácias positivas novamente, pois ele formou anticorpos em oposição ao Rh D (MARTINS *et al.*, 2017).

Para prevenir um índice maior na incidência de aloimunização, as variantes D devem ser identificadas, sendo então de muito interesse nas clínicas transfusionais para economizar as bolsas Rh D negativas, evitando uso em paciente que possam receber sem restrições e possibilidades de aloimunização. Contudo, poucos laboratórios utilizam os métodos necessários para constatar as diferentes variantes, por isso tem uma extrema importância a utilização testes (reagente e método) seguros (CASTILHO, 2005; SABINO, 2008; BARROS *et al.*, 2006).

A clínica transfusional tem grande interesse em distinguir as variantes Rh D., contudo, precisam de mais estudos sobre a periodicidade destas variantes, aumentando as chances de aloimunização Rh, que consiste na sensibilidade do Rh D, em doações de com concentrado de hemácias não compatíveis e em gestantes Rh negativo. A miscigenação em todo território brasileiro pode ser um fator para a existência considerável da variante Rh D fraco e Rh D parcial, testes moleculares em laboratório e nos bancos de sangue deve ser usado junto com os sorológicos. Realizar uma revisão integrativa de literatura sobre a as variantes RhD e sua importância na prática clínica e transfusional (NORDOZA *et al.*, 2010).

2. OBJETIVO

2.1. OBJETIVO GERAL

Realizar uma revisão integrativa de literatura sobre a detecção das variantes Rh D e sua importância na prática clínica e transfusional.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar quais os métodos de rastreamento usados para identificar os fenótipos variantes do sistema Rh D.
- Fazer uma busca geográfica sobre os estudos relacionados aos fenótipos do sistema Rh D.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. TRANSFUSÃO SANGUÍNEA, SISTEMA ABO E RH

Transfusão pode ser uma intervenção que salva vidas. Os efeitos transfusionais são definidos pelo Ministério da Saúde como qualquer intercorrência que possa surgir por resultado da transfusão sanguínea, durante ou depois do processo, e se classificam em agudas ou tardias, de causas imunológicas ou não imunológicas. As primeiras reações ocorrem dentro de 24 horas após a hemotransfusão, já as reações tardias, ocorrem após este período. Essas reações devem ser notificadas ao Sistema Nacional de Notificações para a Vigilância Sanitária (NOTIVISA), desenvolvido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para auxiliar profissional da saúde (VILAR *et al.*, 2020).

Transfusão basicamente consiste na reposição de sangue ou de componentes sanguíneos específicos ao paciente. Trata-se de terapêutica rotineira em hospitais. Na maioria das vezes, quando se transfunde pequena quantia de plasma incompatível, o acúmulo de anticorpo transfundido é mínimo e estes estão diluídos em uma grande quantidade de hemácias, não causando nenhuma reação transfusional. Entretanto, alguns casos de reações hemolíticas graves decorrentes da transfusão com plasma incompatível aparecem na literatura. Transfundir um tipo ABO incorreto pode resultar na morte do paciente, com reação hemolítica intravascular, seguida de alterações imunológicas e bioquímicas (CARMO *et al.*, 2018; VILAR *et al.*, 2020).

Cada sistema sanguíneo constitui um agrupamento de antígenos semelhantes em suas características. Esses antígenos se localizam na membrana dos eritrócitos e são denominados de aloantígenos, sendo herdáveis de forma hereditária e capazes de provocar a liberação de anticorpos que se ligam a eles. A manifestação dos antígenos eritrocitários é chamada de fenótipo eritrocitário. Os sistemas considerados de maior importância clínica são o ABO, Rh (Rhesus), Kell, Kidd, Duffy e MNS, os demais expressos na **Tabela 1**. Dessa forma, a fenotipagem dos principais sistemas é realizada rotineiramente em bancos de sangue (VILAR *et al.*, 2020).

O grupo sanguíneo Kell foi o primeiro a ser descoberto após a introdução do teste da antiglobulina, considerado o terceiro sistema mais potente pela imunogenicidade e por seus antígenos já serem bem desenvolvidos em recém-nascidos. O gene KEL está localizado no braço longo do cromossomo 7 e os polimorfismos existentes se associam a mutações de ponto que substituem aminoácidos na proteína. O sistema Duffy é formado por 5 antígenos, estando o gene FY localizado no braço longo do cromossomo 1 (BARROS *et al.*, 2019; SILVA, 2018).

Tabela 1 - Os sistemas de grupos sanguíneos.

Nº	NOME	SÍMBOLO	NOME DO GENE	Nº DE ANTÍGENOS	LOCALIZAÇÃO DO CROMOSSOMO
1	ABO	ABO	ABO	4	9q34.2
2	MNS	MNS	GYPA, GYPD, (GYPE)	49	4q31.21
3	P1PK	P1PK	A4GALT	3	22q13.2
4	Rh	RH	RHD, RHCE	55	1p36.11
5	Lutheran	LU	BCAM	25	19q13.2
6	Kell	KEL	KEL	36	7q33
7	Lewis	LE	FUT3	6	19p13.3
8	Duffy	FY	ACKR1	5	1q21-q22
9	Kidd	JK	SLC14A1	3	18q11-q12
10	Diego	DI	SLC4A1	22	17q21.31
11	Yt	YT	ACHE	5	7q22
12	Xg	XG	XG, MIC2	2	Xp22.32
13	Scianna	SC	ERMAP	7	1p34.2
14	Dombrock	DO	ART4	10	12p13-p12
15	Colton	CO	AQP1	4	7p14
16	Landsteiner-wiener	LW	ICAM4	3	19p13.2
17	Chido/Rodgers	CH/RG	C4A, C4B	9	6p21.3
18	H	H	FUT1	1	19q13.33
19	Kx	XK	XK	1	Xp21.1
20	Gerbich	GE	GYPC	11	2q14-q21
21	Cromer	CROM	CD55	20	1q32
22	Knops	KN	CR1	9	1q32.2
23	Indian	IN	CD44	6	11p13
24	Ok	OK	BSG	3	19p13.3
25	Raph	RAPH	CD151	1	11p15.5
26	John Milton Hagen	JMH	SEMA7A	6	15q23.3-q23
27	I	I	GCNT2	1	6p24.2
28	Globoside	GLOB	B3GALNT1	2	3q25
28	Gill	GIL	AQP3	1	9p13
30	Rh-associated glycoprotein	RHAG	RHAG	3	6p12.3
31	FORS	FORS	GBGT1	1	9q34.13-q34.3
32	JR	JR	ABCG2	1	4q22.1
33	LAN	LAN	ABCB6	1	2q36
34	Vel	VEL	SMIM1	1	1p36.32
35	CD59	CD59	CD59	1	11p13
36	Augustine	AUG	SLC29A1	4	6p21.2
37	KANNO	KANNO	PRNP	1	20p13
38	Sid	SID	B4GALNT2	1	17q21.32
39	CTL2	CTL2	SLC44A2	2	19p13.2

Fonte: Adaptado de ISBT, 2019.

Os anticorpos contra esse grupo estão relacionados a reações hemolíticas, principalmente em pessoas com anemia falciforme. No sistema Kidd os antígenos não são exclusivamente eritrocitários, podendo ser encontrados nas células endoteliais renais. Os anticorpos formados contra esses antígenos fixam o complemento, geralmente são da classe IgG, associados a casos de reações pós transfusionais graves. Já o grupo MNS, possui mais de 40 antígenos, também considerado um grupo complexo, dentre estes somente cinco tem importância clínica (BARROS *et al.*, 2019; SANTANDER, 2019; SILVA, 2018).

Diversas estratégias alternativas têm sido utilizadas para minimizar ou evitar transfusões sanguíneas. Essas alternativas podem ser utilizadas visando uma diminuição dos custos hospitalares, o tempo de internação, os riscos de reações adversas e transmissão de doenças, proporcionando ao paciente um tratamento mais seguro e com menos riscos. Na **Tabela 1**, são apresentados os sistemas descritos nos estudos baseados na ordem cronológica de sua descoberta, nomes, símbolos, números de antígenos e localização do cromossomo (BARROS *et al.*, 2019; SILVA, 2018).

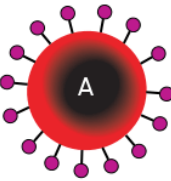
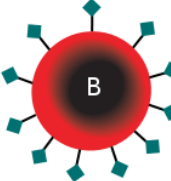
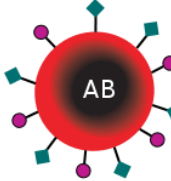
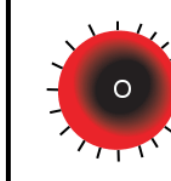
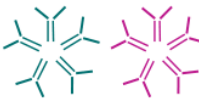
Diante das evidências relatadas na literatura, ainda que o ABO considere-se comum alto grau de importante, existem outros 39 sistemas relacionados aos grupos sanguíneos descritos, os quais abrangem 360 antígenos eritrocitários **Tabela 1**. É necessário o envolvimento interativo permanente com os pacientes que irão se submeter à transfusão, sendo imprescindível a reflexão clínica sobre os riscos do seu uso (RATH *et al.*, 2014).

Os principais alelos do gene ABO são: A1, B e O, que darão origem aos quatro grupos sanguíneos: A, B, AB e O. Eles se caracterizam pela existência ou não de aglutinogênios e de aglutininas no plasma. Os aglutinogênios são substâncias encontradas na membrana plasmática das hemácias, enquanto as aglutininas são anticorpos encontrados no plasma sanguíneo que atuam contra determinados aglutinogênios. Existem dois tipos de aglutinogênios: A e B. “O aglutinogênio A está presente no sangue A, enquanto o B está no sangue tipo B. As pessoas com sangue AB possuem ambos os aglutinogênios: A e B. Já as pessoas de sangue tipo O não possuem aglutinogênios em suas hemácias” (FIGURA 1). (BONIFÁCIO, e NOVARETTI, 2009).

Os aglutinogênios A e B são glicoesfingolípídeos formados por um oligossacarídeo ligado a um esfingolípídeo de membrana (lipídio complexo presente nas membranas celulares). Ambos possuem a mesma estrutura básica, ou precursora, denominada substância H (ou antígeno H) com a mesma sequência de carboidratos (D-galactose, N-acetilglucosamina e L-fucose), e pelo menos 11 aminoácidos, com os mais numerosos resíduos de serina, treonina e prolina (figura 2). A singularidade do aglutinogênio se deve à natureza do último carboidrato

que completa a cadeia oligossacarídica, sendo N-acetilgalactosamina no caso do aglutinogênio A e D-galactose no caso do aglutinogênio B (BONIFÁCIO, e NOVARETTI, 2009, RATH *et al.*,2014).

Figura 1 - Antígenos e anticorpos do sistema ABO

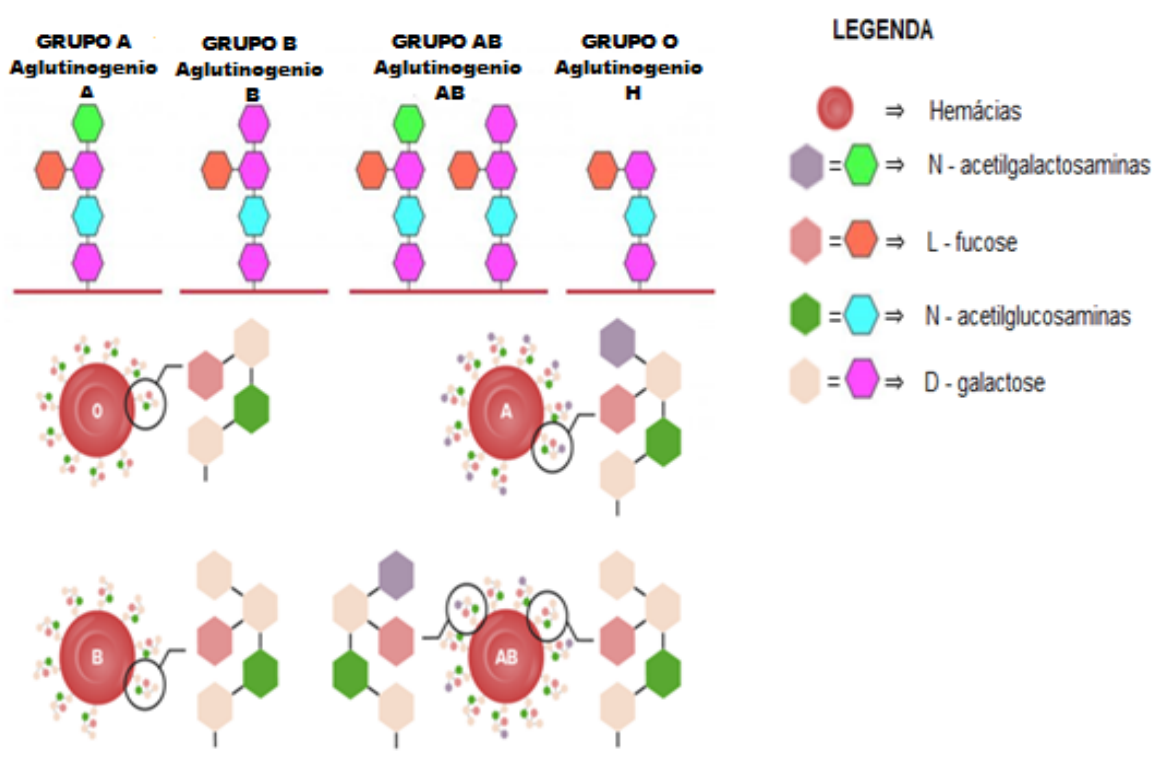
	Grupo A	Grupo B	Grupo AB	Grupo O
Hemácia				
Anticorpos	 Anti-B	 Anti-A	Sem Anticorpo	 Anti-A e Anti-B
Antígenos	 Antígeno A	 Antígeno B	 Antígeno A e B	Sem Antígeno

Fonte: RATH *et al.*,2014.

A diversidade de fenótipos do sistema sanguíneo ABO é devido à diferença estrutural do gene das glicosiltransferases, que são encarregados pela transferência dos resíduos específicos de açúcar, $\alpha 1 \rightarrow 3$ -N-acetil-galactosamina transferase ou $\alpha 1 \rightarrow 3$ -N-galactosil transferase ao substrato H, e os convertem ao antígeno A ou B respectivamente. O grupo sanguíneo AB apresenta a atividade das duas transferases (A e B), enquanto o grupo O não possui as transferases A e B, mas apresenta o antígeno H em grande quantidade na parte superior das hemácias (RATH *et al.*,2014).

Apesar das aglutininas monoclonais anti-A e/ou anti-B reconhecerem e aglutinarem em grande parte dos subgrupos ABO, a determinação daqueles que apresentam baixíssima expressão é laboratorialmente trabalhosa, além de ser uma ferramenta independente no laboratório clínico, a genotipagem ABO é indicada para confirmar existência de um fraco aparecimento, como os dos subgrupos A e/ou B e para excluir marcadores do alelo de fenótipo B como o antígeno B adquirido, por exemplo. Assim, podemos afirmar que a genotipagem ABO é um complemento valioso à determinação correta do grupo sanguíneo do doador e do receptor (BATISSOCO, 2003).

Figura 2 - Cadeias de hidratos de carbono que determinam o grupo sanguíneo ABO.



Fonte: Adaptada de RATH *et al.*, 2014.

A identificação dos mais de 50 antígenos descritos na **Tabela 2** foi feita por uma ordem numérica composta por seis números, três dígitos iniciais que correspondem aos sistemas (O sistema Rhesus é representado pelos números 004), a sequência de três números finais é relacionada à especificidade em questão, para o antígeno D é usado a sequência 001. O Rh D seguido pelo Rh C são os antígenos essenciais, sendo o Rh D o mais imunogênico, 20 vezes mais potente que o C (MAFRA, 2019).

Após o contato de um indivíduo Rh D negativo com hemácias Rh D positivo 80% desses indivíduos produzirão anticorpos anti-D e somente de 7% a 8% não irão responder depois do primeiro contato. Os eritrócitos são células mais especializadas, sendo considerada tradicionalmente como transportadora de oxigênio. Apresentam em sua superfície várias moléculas que são ativadas segundo os processos fisiológicos (NORDOZA *et al.*, 2010).

Várias metodologias são necessárias para diferenciar os antígenos eritrocitários. O método clássico é a fenotipagem, atualmente, realizado por testes de hemaglutinação, que detectam o produto gênico através da ligação de antissoros a antígenos específicos. A limitação dos testes sorológicos é encontrar anticorpos específicos para antígenos eritrocitários raros. Além disso, nem sempre conseguem identificar o fenótipo devido à menor expressão de

antígeno nas hemácias, ou ainda, a transfusões recentes (menos de três meses) (GAMBERO *et al.*, 2004).

Tabela 2-Terminologias numéricas, nome e símbolo para os antígenos do sistema Rh.

Nº ISBT	NOME	SIMBOLOS	Nº ISBT	NOME	SIMBOLOS
04.001	RH1	D	004.035	RH35	Rh35
004.002	RH2	C	004.036	RH36	Bc^a
004.003	RH3	E	004.037	RH37	Evans
004.004	RH4	C	004.037	RH37	Evans
004.005	RH5	e	004.039	RH39	C-like
004.006	RH6	ceor f	004.040	RH40	Tar
004.007	RH7	Ce	004.041	RH41	Ce-like
004.008	RH8	C^w	004.042	RH42	CeS
004.009	RH9	C^x	004.043	RH43	Crawford
004.010	RH10	V	004.044	RH44	Nou
004.011	RH11	E^w	004.045	RH45	Riv
004.012	RH12	G	004.046	RH46	Sec
004.017	RH17	Hr_0	004.047	RH47	Dav
004.018	RH18	Hr	004.048	RH48	JAL
004.019	RH19	hr^s	004.049	RH49	STEM
004.020	RH20	VS	004.050	RH50	FPTT
004.021	RH21	C^G	004.051	RH51	MAR
004.022	RH22	CE	004.052	RH52	BARC
004.023	RH23	D^w	004.053	RH53	JAHK
004.026	RH26	c-like	004.054	RH54	DAK
004.027	RH27	cE	004.055	RH55	LOCR
004.028	RH28	hr^H	004.056	RH52	CENR
004.029	RH29	Rh29	004.057	RH57	CEST
004.030	RH30	Go^a	004.058	RH58	CELO
004.031	RH31	hr^B	004.059	RH59	CEAG
004.032	RH32	Rh32	004.060	RH60	PARG
004.033	RH33	Rh33	004.061	RH61	CEVF
004.034	RH34	Hr^B	004.062	RH62	CEWA

NOTA: Rh 13 a 16, 24, 25 e 38 são obsoletos

Fonte: Adaptado de (MAFRA, 2019)

Os esforços para diminuir o índice da aloimunização concentram-se na fenotipagem profilática. Essa profilaxia realizada para os antígenos Rh e Kell tem demonstrado diminuição da aloimunização nesses pacientes, no entanto, essas estratégias não são tão eficazes como previsto, pelos estudos terem mostrado que a aloimunização contra antígenos dos sistemas Rh

e Kell continua ocorrendo em portadores de anemia falciforme, apesar das transfusões terem sido de fenótipo compatível. A grande diversidade dos tipos sanguíneos é devido a diferentes mecanismos, o mais frequente identificado é o polimorfismo de único nucleotídeo (SNPs) (BATISSOCO *et al.*, 2003).

Adicionalmente, também pode ocorrer deleção de genes, rearranjo com recombinação e mecanismos de conversão, tipicamente encontrado no sistema Rh que podem disfarçar a expressão dos antígenos. DHPN, doença hemolítica fetal do recém-nascido, mais conhecida como Eritroblastose fetal, causada pela incompatibilidade entre o fator Rh da mãe e o do fator Rh do feto, isso vai acontecer quando a mãe for Rh- e o sangue dela entrar se mistura com o sangue Rh+ do bebê. A mesma acontece quando uma mulher de Rh-, sensibilizada imunologicamente gera um feto Rh +. Por isto a determinação do tipo sanguíneo Rh imprescindível que seja feito nos primeiros meses de gestação (CARVALHO *et al.*, 2001).

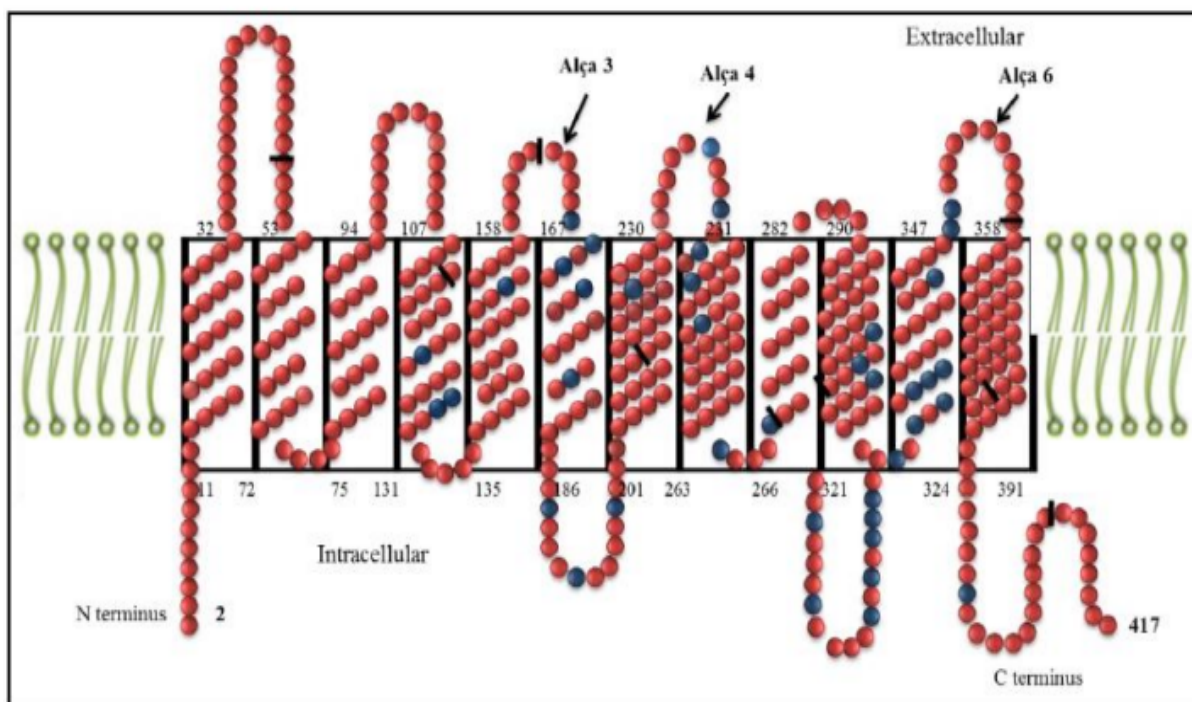
Os anticorpos anti-A e anti-B dos indivíduos B e A, respectivamente, de classe IgM e, em pequena quantidade, IgG. Os anticorpos anti-A e anti-B de indivíduos de grupo O são da classe IgG e podem estar presentes em altos títulos. Recém-nascidos, filhos de mães O têm, portanto, maior chance de desenvolver DHRN por incompatibilidade ABO. Rhesus, é um sistema complexo, imunogênico e polimórfico conhecido como Rh e classificado como o sistema mais importante em sequência com o ABO. Também fazem parte dos grupos dos fundamentais na prática clínica os: D(RH1), (RH2), E(RH3), c(RH4) e e(RH5)(CASTILHO *et al.*, 2007).

O Rh D se apresenta como antígeno de maior imunogenicidade em sequência tem os demais c, E, C, e. O antígeno D diferencia o Rh positivo do negativo e a ausência ou a existência do mesmo, entretanto as duas têm os antígenos C/c e E/e. Alterando a sequência da expressão dos aminoácidos temos como resultado os fenótipos D parciais, DEL e D fraco, a alteração mostrada na parte dos epítomos, que são denominadas as variantes do sistema Rh, elas podem criar epítomos ou modificar sua sequência. RHD e a RHCE são proteínas formadas por aminoácidos, hidrofóbicas, transmembrana, carreadoras dos antígenos Rh, não glicosiladas. (Figura 3) (SABINO, 2008).

Cada aminoácido é representado por um círculo e os círculos em azul representam os aminoácidos que diferem a proteína RHD da RHCE. As mudanças na forma das hemácias, principalmente as com fenótipos Rh-nulo, indicam uma forte interação entre o complexo Rh e o citoesqueleto. Os dois genes (RHD e RHCE) podem ser encontrados na parte do braço curto do cromossomo (Figura 4). São genes altamente homólogos (93,8%), contendo cada um 10 éxons, com uma sequência total em torno de 60.000 pb. A maior diferença está no intron 4, em

que o RHD exibe uma deleção de 600 pb comparado ao RHCE. Eles estão em orientação opostas pelos terminais 3 e distantes por 30.000pb (NARDOZZA *et al.*, 2010, MARTINS, 2007).

Figura 3 - Membrana eritrocitária da proteína Rh



Fonte: MARTINS, 2007.

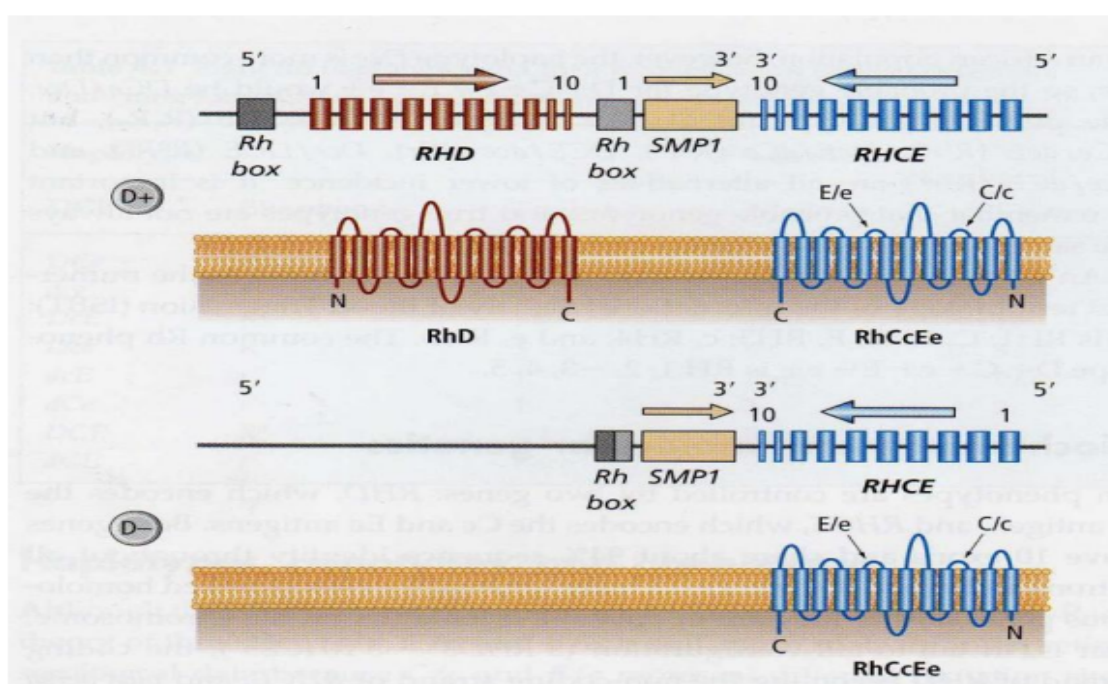
As hemácias D negativas não expressam a proteína RhD inteiramente na membrana do eritrócito. São conhecidos em três os mecanismos moleculares que definem o RHD: Deleção (todo gene RHD), Pseudogene e por último o gene híbrido, a frequência varia dependendo da população em questão. Nos caucasianos, encontrado em 15% a 17% da população, o mecanismo de deleção RHD (NARDOZZA *et al.*, 2010).

O gene RHD encontra-se flanqueado por duas sequências altamente homólogas “caixas Rhesus” (Rh boxes) 5’ e 3’ com cerca de 9 Kb (98,6% de identidade) e que são críticas nos fenômenos de deleção do gene RHD, dando origem à maior parte dos fenótipos RhD negativos nos Caucasianos. Um outro gene SMP1, que codifica uma pequena membrana de proteína, está localizado entre os genes Rh (WAGNER; FLEGEL, 2004; DANIELS *et al.*, 2007).

A variante mais comum nos asiáticos D negativo é fenótipo Del RHD (K409K), ou seja, 10% a 30% possuem o gene RHD intacto. Vários mecanismos contribuem para o vasto número de alelos de Rh não funcionantes. Nos afrodescendentes com fenótipo RhD negativo, a pseudogene RHD (RHD ψ) é encontrada com mais frequência, junto ao alelo ce no RHCE (NARDOZZA *et al.*, 2010).

Na Figura 4 observa-se os 10 exões dos genes RHD e RHCE em orientações opostas, as regiões Rh boxes (regiões de identidade), e o gene SMP1. Por baixo estão representadas as proteínas evidenciando o N- e C-terminal os domínios das 12 membranas e as 6 espirais extracelulares. Os polimorfismos C/c e E/e são determinados principalmente por substituições de aminoácidos no segunda e quarta (a partir N-terminal) espirais extracelulares na proteína RhCcEe. Em cima: caracterização D+. Em baixo: caracterização D – (têm uma completa deleção de RHD) (MARTINS, 2007).

Figura 4 - Estrutura do gene RHD e RHCE e seus respectivos polipeptídios.



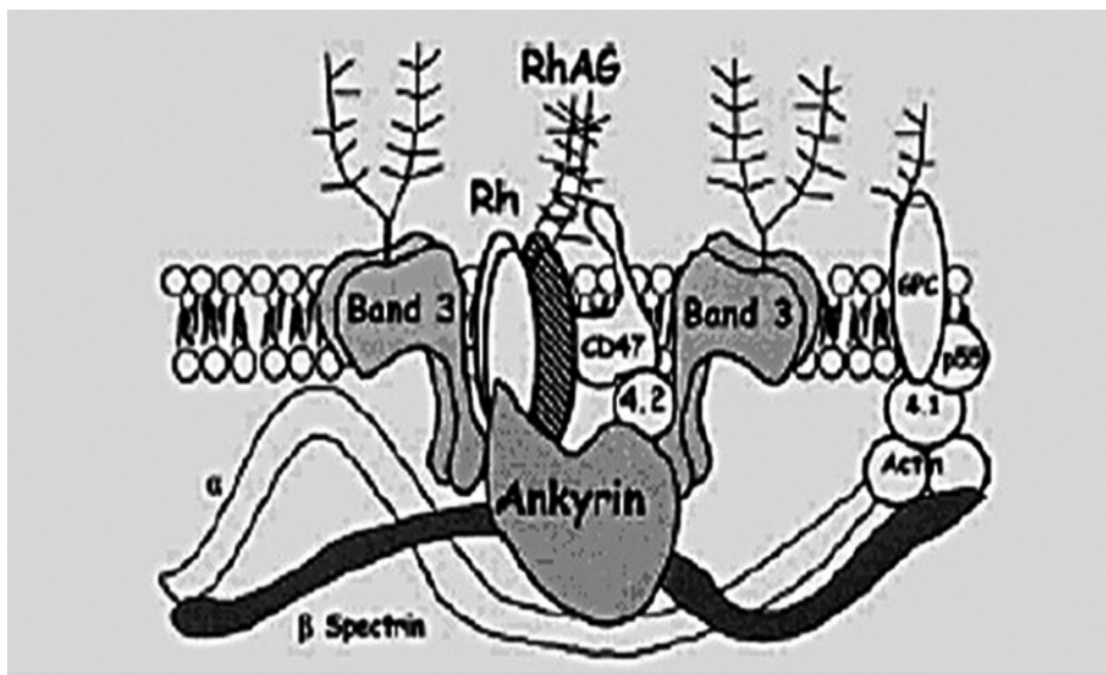
Fonte: Adaptado de VALENTE, 2009

Nas hemácias podemos encontrar um complexo de proteínas localizado na membrana do eritrócito, onde são expressos os antígenos RH. RHD, RHCE e CD47, são proteínas e que integram este complexo, a glicoforina B, as glicoproteínas RhAG, Duffy, panda e LW, (Figura 5). Genes variantes de RHD e RHCE são comuns em negros africanos e pessoas de etnias mistas. A prevalência de alelos RH que codificam antígenos D, C e e mutados nesse grupo de pacientes explica o porquê de pacientes com doença falciforme desenvolverem aloimunização contra o sistema Rh apesar de transfundirem unidades fenótipo compatível (WESTHOFF *et al.*, 2006).

Duas variantes, D parcial e D fraco são classificadas por pontos mutados, múltiplas missense ou alelos híbridos de genes RHD e RHCE. Dentro dos D variantes, DAR, DIII^a, DVI^a e vários tipos de DAU podem desencadear aloimunização anti- D em africanos com doença

falciforme. Algumas variantes são associadas com o gene RHCE como os antígenos C parcial e e parcial. Alelos RH alterados codificam a expressão fraca e/ou parcial dos antígenos D, C e e, menos frequentemente, c e E. O termo parcial descreve células vermelhas que não possuem alguns epítomos comuns associados a existência do antígeno (BONIFACIO, 2009).

Figura 5 - Esquema do complexo Rh na membrana eritrocitária



Fonte: NARDOZZA *et al.*, 2010

Poucos casos podem resultar de rearranjos gênicos ou mutação de pontos, levando a códon de parada. O gene RHD pode ainda não ser expresso devido a um códon de parada prematuro, inserções de nucleotídeos, ou RHD/CE híbrido. Quatorze diferentes alelos D- são descritos com uma frequência de 1/1500 na população caucasiana (WESTHOFF *et al.*, 2006).

A deleção do gene RHD é encontrada em apenas 18% da população afrodescendente e 60% dos asiáticos, sendo que nesta última, o gene RHD é encontrado em menos de 1% da população. A variante mais comum nos asiáticos D negativo é fenótipo Del RHD (K409K), ou seja, 10% a 30% possuem o gene RHD intacto¹⁸. Vários mecanismos contribuem para o vasto número de alelos de Rh não funcionantes (WESTHOFF *et al.*, 2006).

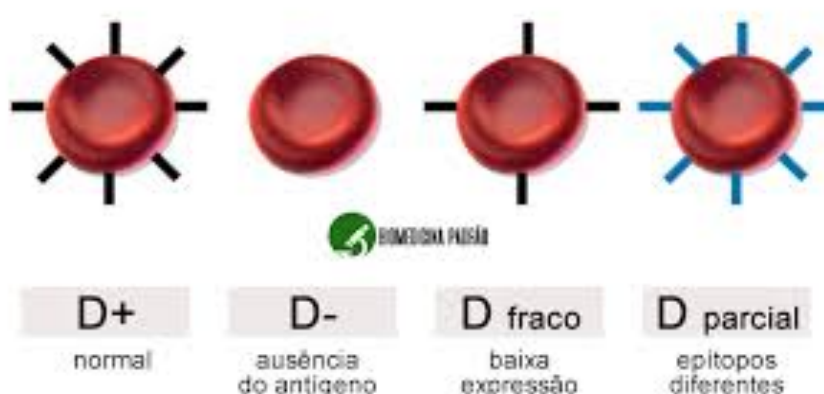
3.2. VARIANTES RHD

Num complexo de proteínas na membrana das hemácias encontramos os antígenos RH expressos como parte desse complexo (Figura 6). Identificar e diferenciar as variantes D fracos

e parcial contribuem para evitar imunoprofilaxia anti-D nas grávidas Rh-negativas que possui um tipo de D fraco específico bem como em gestantes D parciais que apresentam alta probabilidade de aloimunização e tem a necessidade de imunoprofilaxia Rh. Sendo também muito relevante para evitar muitas complicações e reações após as transfusões (MARTINS, 2005).

Para determinar a tipo de RhD o primeiro método é baseado na técnica de aglutinação, que pode ser realizada através de tubo, gel e em microplaca, porém dificulta a definição da variante RhD fraco nessa última técnica. O fenótipo RhD positivo fraco se caracteriza pela redução quantitativa da densidade antigênica da proteína RhD da membrana dos eritrócitos decorrente de mutações de único polimorfismo (SNPs) no gene. Visto que as mutações resultam em alterações na quantidade da proteína e não nos epítomos, os indivíduos acometidos geralmente não desenvolvem anti-D (CARMO *et al.*, 2018).

Figura 6 - Variantes Rh D nas hemácias



Fonte: Adaptado de Biomedicina padrão, 2019

- A 1ª hemácia número adequado de antígenos e epítomos D: representa uma hemácia Rh D normal.
- A 2ª hemácia representa uma hemácia com o fenótipo negativo.
- A 3ª hemácia quantidade a quantidade apresenta-se reduzida o que caracteriza o D fraco.
- A 4ª hemácia possui o fenótipo Rh D parcial, onde há epítomos alterados nestes antígenos.

3.3. VARIANTE RH D PARCIAL

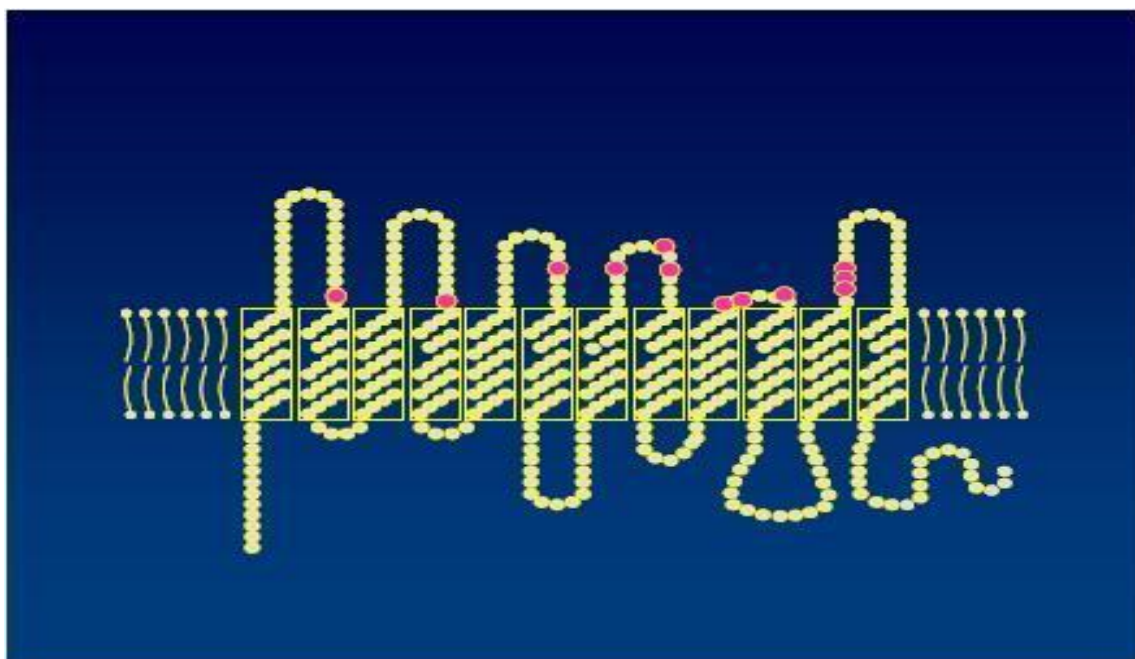
Indivíduos classificados com Rh D parcial são aqueles testados com testes sorológicos como RhD-positivos, mas que expressam uma variante qualitativa do antígeno D, de modo que,

caso expostos ao antígeno RhD correspondentes a transfusões ou gestações prévias, podem desenvolver o anticorpo correspondente. A aloimunização se deve à inexistência de epítomos D em efeito a variantes alélicas secundárias a mutações de ponto ou a conversões gênicas (MARTINS *et al.*, 2009).

Na investigação de rotina, esses pacientes são definidos como RhD-positivos e, portanto, estão sujeitos a transfusões incompatíveis (RhD-positivas). A suspeita de tal fenótipo apenas é possível quando o paciente, mesmo sendo RhD-positivo, desenvolve anti-D após exposição antigênica. Outra via de diagnóstico se dá quando o indivíduo ainda não se encontra aloimunizado, mas, por apresentar tipagem RhD duvidosa ou discrepante, é submetido a uma investigação para a pesquisa da ocorrência do antígeno D parcial (MAFRA, 2019).

Tem sido bastante discutida a aplicação de protocolos distintos para a tipagem sanguínea de pacientes, voluntários a doação, gestantes e recém-nascidos com o objetivo de diferenciar o fenótipo RhD normal do D parcial categoria VI- um subtipo de D parcial no qual há inserção de éxons homólogos do gene RHCE, gerando uma proteína RhD híbrida, haja vista sua alta prevalência (SABINO, 2008).

Figura 7 - Proteína Rh D parcial.



Fonte: Adaptado de MARTINS, 2007.

Todavia o uso de dois soros anti-D distintos é necessário para tipagem RhD, ou seja, um capaz de reagir com hemácias que expressem o fenótipo D parcial categoria VI e outro incapaz de fazê-lo, tem a vantagem de sugerir o fenótipo D parcial em indivíduos não aloimunizados, o que traz dois grandes benefícios clínicos (MARTINS *et al.*, 2009).

A inexistência de epítomos da proteína D, podendo ser mais de um, ou não, caracteriza a variante D parcial do sistema Rh, Pontos nas alças extracelular indicando os locais das alterações nos epítomos da **Figura 7**. Os epítomos podem apresentar-se com uma expressão fraca do antígeno D, ou essa expressão pode não existir, o que dificulta selecionar entre D fraco e D parcial. Segundo a biologia molecular 4 fatores genéticos têm como resultado o fenótipo Rh D parcial: 1º aminoácidos trocados, 2º RHD/RHCE genes híbridos, 3º mutações, 4º deleções. todas ocorrem na parte extracelular da proteína, diferenciando a variante da normal, a ponto de causar a produção de alo anti-D e não ser identificados por alguns reagentes (RODRIGUES, 2005).

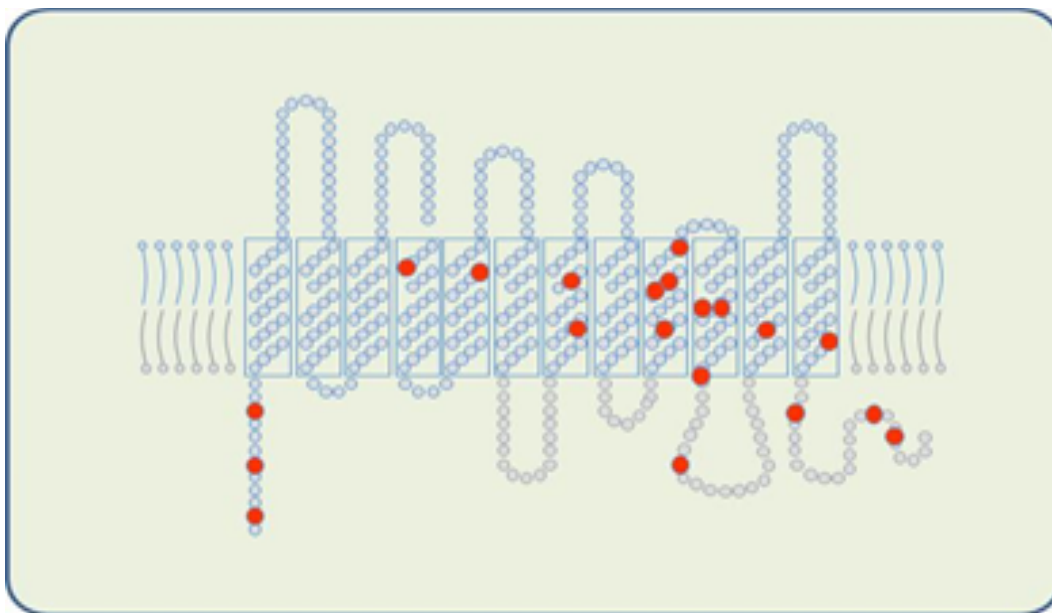
Indivíduos D parciais quando exposto a uma proteína completa podem reagir produzindo anti-D em oposição aos epítomos alterados. No campo da Obstetrícia permite desvendar o fenótipo Rh negativo nas gestantes, auxiliando a entender a correlação entre o fenótipo, genótipo e a aloimunização Rh. Apesar de existir alta concordância entre a fenotipagem e a genotipagem na população caucasiana, são observados resultados falso-positivos em afrodescendentes e asiáticos, que podem frequentemente ocorrer, dependendo da estratégia utilizada. (NARDOZZA *et al.*, 2010).

3.4. VARIANTE RH D FRACO

É uma variante que expõe mais baixa revelação eritrocitária da proteína RhD, pertinente a mutações pontuais nas regiões não só intracelular, mas também transmembranares (figura 8), os pontos na cor vermelha identificam que as alterações desta variante são em regiões transmembranares e intracelular da proteína (CRUZ, 2011). O mecanismo de inserção e redução na membrana da hemácia é afetado em hemácias de pacientes portadores da variante Rh D fraco, reduzindo os sítios antigênicos, fato que também dificulta a identificação em sorologias, essa variante é a inexistência de aloanticorpos anti-D. Contudo, para identificar esta variante deve-se usar métodos moleculares para complementar os sorológicos (WESTHOFF, 2005).

Os alelos RHD dos tipos 1, 2 e 4 possuem uma assiduidade maior no Brasil, a variação na presença desses alelos em algumas populações se dá devido a miscigenação (CAMPOS, 2016). No Brasil a variante D fraco tipo 4 tem uma maior repetição (tipo mais presente em descendentes africanos), o tipo 3 da variante D fraco é mais encontrado na Europa (CREDIDIO *et al.*, 2011).

Figura 8 - Variante Rh D fraco.



Fonte: Adaptado de MARTINS, 2007

Em literatura é relatada a caracterização de uma quantidade acima de 80 tipos variantes de D Fraco, a os vários tipos de variantes do fenótipo Rh D fraco ajudou a determinar que alguns tipos podem aloimunizar quando misturar com hemácias de um receptor RhD normal. Nas doações de sangue para os tipos 1, 2 e 3 de variantes, segundo a literatura não há registro de aloimunização para esses tipos, tornando o tipo sanguíneo RhD positivo seguro, diferente dos tipos 4.0, 4.2, 2, 11, e 15 que devem receber o tipo sanguíneo Rh D negativo, pois podem produzir anti-D, o uso da imunoprofilaxia em gestantes com essas variantes deve ser considerado, aloimunização ocorre se um indivíduo Rh D negativo receber sangue com essas variantes (BARROS *et al.*, 2006).

3.5. VARIANTE RH (DEL)

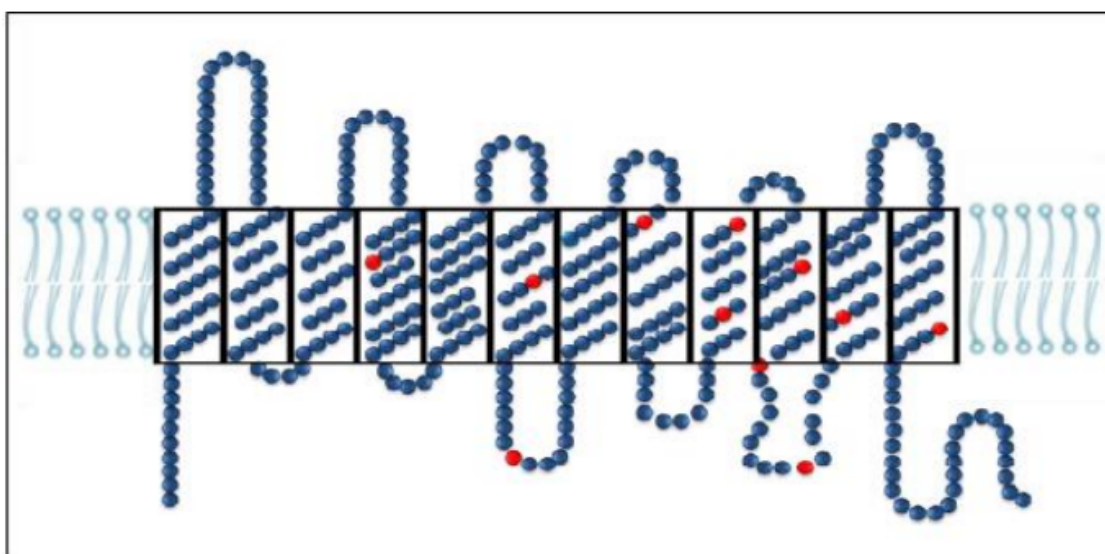
Também caracterizada como uma variante do fenótipo Rh D, o Rh Del é definido como uma variante de baixa expressão quantitativa do antígeno Rh D, a identificação deste fenótipo não é possível por métodos sorológicos, estudos moleculares ou adsorção e eluição de anti-D são os métodos mais adequados para o Rh Del (OJOK *et al.*, 2017).

Classificada como um dos fenótipos variantes que fazem parte do sistema Rh, o RhD DEL se diferencia das demais por apresentarem uma expressão mais reduzida que as outras do antígeno RhD, caracterizada como uma variante difícil de encontrar, com densidade dos antígenos por hemácias menor que 50. Os distintos alelos RhD DEL subdivide-se em grupos, o DEL parcial é um grupo que tem redução de epítopos D ocasionada por genes híbridos RHD-

CED e pode ser por mutação de ponto no gene RHD que afeta o aparecimento do DEL coma presença dos epítomos D expressos na membrana da hemácia (figura 9), formando uma reação completa(CREDIDIO, 2010).

Em descendentes da Ásia é observado com maior frequência a presença destas variantes. Uma porcentagem de aproximadamente 30% de fenótipos DEL é observada na população chinesa em portadores do RhD negativo. Em testes de mapeamento dos epítomos o alelo RHD(IVS3+1g>a) é mais encontrado em variantes RhD parcial, os RHD(K409K), RHD(IVS5-38del4), RHD(X418L) e RHD(M295I) com epítomos completos em D(CREDIDIO, 2010).

Figura 9 - Proteína RhD Del



Fonte: Adaptada de MARTINS, 2007.

O fenótipo Del é causado por Inserções, deleções, alelos híbridos, stop códon e por mutações missenses, alterando os sítios de splicing. Esta variante tem uma alta taxa de causar aloimunização anti-D, por este fator que sua identificação é de interesse mundial, pois muitos doadores com fenótipo Del positivo ainda são caracterizados como Rh D negativo, com o teste de genotipagem sendo feito nos doadores de sangue observa-se a frequência maior do fenótipo Del descartando este doador como Rh negativo (BATISTETI *et al.*,2007).

3.6. ALOIMUNIZAÇÃO

A formação de anticorpos contra os antígenos eritrocitários é denominada aloimunização, é a formação de anticorpos quando há a ocorrência de exposição do indivíduo a antígenos não próprios, reações que ocorrem em transfusões de sangue incompatíveis, e nas gestantes, cujos fetos expressam em suas células sanguíneas antígenos exclusivamente de

origem paterna, os quais podem chegar à circulação materna durante a gestação ou no parto (ALVES *et al.*, 2012).

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

Todos os anticorpos que reagem em um teste de antiglobulina indireto (teste de Coombs indireto), a 37 °C, têm potencial para levar a DHPNO sistema Rhesus (Rh) de grupo sanguíneo é responsável por 95% dos casos da DHPN, as variações RhD para pacientes obstétricas se dá devido que pacientes D fraco, dos subtipos 1, 2 e 3, que compreende 90% desta ocorrência, não formam anti-D e, com isso, essas pacientes podem ser transfundidas com hemácias Rh positivo e não precisarão usar profilaxia da aloimunização RhD na gestação, para prevenir estas alterações deve-se compreender mais sobre o assunto.(CRUZ *et al.*, 2011).

Entre nós, o antígeno Rh (D) está presente em torno de 85% dos indivíduos da raça branca, em 90 a 95% dos negros e praticamente em 100% dos amarelos e índios em aproximadamente 30% dos pacientes poli transfundidos ocorre a aloimunização, detectar variantes do sistema Rh é de grande importância para diminuir cada vez mais estes números, permitindo uma transfusão de sangue segura (BATISTETI *et al.*, 2007).

Atualmente, é impossível prever o risco de aloimunização individual, portanto, a imunogenicidade do antígeno é um fator importante que orienta as decisões na medicina transfusional, juntamente com as possíveis consequências clínicas da aloimunização. A metodologia por genotipagem eritrocitária é indispensável em uma rotina no banco de sangue tanto para doadores quanto para os receptores, esta metodologia oferece segurança por conseguir identificar casos complexos das variantes e evitar a aloimunização desnecessária (MARTINS *et al.*, 2009).

Os exames de grupo sanguíneo ABO-Rh e o Coombs indireto (CI) devem ser feitos nos primeiros meses de gestação. As mulheres portadoras da variante Rh D fraco são consideradas positivas e as que possuem a variante D parcial e DEL como Rh negativas. Grávidas com Rh negativo e CI negativo devem ser informadas sobre a possibilidade de incompatibilidade sanguínea com seus respectivos parceiros, sendo importante a identificação do tipo sanguíneo do mesmo, para identificar se está gestante vai fazer o uso da imunoglobulina anti-Rh, caso o recém-nascido seja fator Rh+ e qual a dose necessária (BAIOCHI *et al.*, 2009).

Em casos de transfusões incompatíveis com sangue Rh positivo, também deve ser utilizado a imunoglobulina anti-D. Para transfusões incompatíveis acima de 900 ml, em homens ou mulheres com prole constituída, nada deve ser feito. Naquelas que desejam engravidar, entretanto, deverá ser feita inicialmente exsanguíneo transfusão de 1,5 volumes, com sangue ABO compatível, Rh negativo, seguida de aplicação de anti-D na dose suficiente para neutralizar 25% do volume de sangue incompatível transfundido. No Brasil, o Ministério da Saúde não tem qualquer normatização para a realização de testes para surpreender casos de hemorragias feto-materna excessivos, embora preconizado por alguns autores (BAIOCHI, 2005).

3.7. MÉTODOS DE RASTREAMENTO

A identificação de fenótipos é muito útil para clínica médica e transfusional, para os doadores e receptores é de grande valia essa identificação evitando assim a aloimunização, com isso deve-se ter critérios na escolha do reagente e método utilizados. Existe uma porcentagem alta de doador portador de um tipo de fenótipo variante, por isso fundamental que a triagem que antecede uma doação seja sensível suficientemente para detectar essas variações com expressão menor, junto com técnicas sensíveis. A detecção em quem precisa de sangue deve levar em consideração o risco de aloimunização anti-D. Duas variantes associadas a aloimunização anti-D são frequentemente encontradas na população brasileira, a DAR e DIIIa (CASTILHO *et al.*, 2005).

Pesquisas com dados da Europa (Reino Unido) mostrou que para teste em duplicata é utilizado um método com um anti-D monoclonal de classe IgM. Possibilitando a detecção de quase todos os tipos de D fraco, com exceção a DVI pois são consideradas como Rh negativo. Nos voluntários para doação é utilizado mais de um reagente com clones não iguais, os resultados inconclusivos e discrepantes precisam de confirmação, e se reconhece como um Rh D positivo (MARTINS *et al.*, 2009).

Em voluntários brasileiros, é utilizado um soro que contém anticorpos anti-Rh D para define o antígeno. Em reações negativas é feito testes com mais de um soro com anticorpos anti-Rh D, que devem ser distintos, sendo que um deles devem conter anticorpos de classe IgG, é feito testes também com a antiglobulina humana (AGH). Em resultados positivos do D fraco, a amostra é classificada como “Rh D positivo”, entretanto com os dois testes negativos, deve-se considerar a amostra como “Rh D negativo” (BRASIL, 2014).

Nos pacientes que não for feito o teste Rh D fraco, os doadores devem ser considerados “Rh D negativos” se precisarem de doação. Em relação ao tipo de antígeno D parcial é de

fundamental importância a utilização de um anticorpo monoclonal para detecção segura. Em caso de resultados que houver divergência entre os dois reagentes usados, é fundamental que se tenha uma atenção maior a essas amostras considerando uma investigação para D parcial ou D fraco (BRASIL, 2017).

Estudos feitos por Credido (2011) com 306 amostras voluntários brasileiros, mostrou que a existência de mutações na proteína resultando em variantes distintas relacionadas ao sistema RH são um problema em testes rotineiros não moleculares devido à presença dos fenótipos de fraco e de parcial. Esses fenótipos são causados por muitos alelos RHD diferentes que codificam a proteína D. Populações miscigenadas apresentam uma alta diversidade de alelos, a prevalência dessas variantes no Brasil varia de 5% a 12%, o estudo mostrou um resultado de 54,2% da variante D fraco e 44,4% da variante D parcial e 1% da variante Del, 0,3%, variante DHAR (CREDIDO *et al.*, 2011).

Entre os anos de 2004 e 2012 foi realizada uma pesquisa com 289 prontuários de gestantes diagnosticadas como RH negativas no centro de referência estadual os resultados das entrevistas permitiram explorar as causas do problema da persistência de aloimunização. Ainda que essa persistência não seja tão contundente por ter um percentual menor de RH negativo na população Brasileira, resulta em um problema menos visível quanto do existem as formas de prevenção que permitem enfrentar adequadamente o problema porém não são usados regularmente pelos profissionais de saúde, chegada tardia das gestantes a inadequada capacidade dos profissionais, a perda da oportunidade do uso da imunoglobulina em tempo adequado, esses fatores auxiliam na persistência do problema (BESERRA *et al.*, 2016).

A demais também há influência na rede de referência e contrarreferência, peregrinação desnecessária da paciente tem como consequências irreversíveis o óbito fetal neonatal em praticamente todas as categorias predominou o não uso da imunoglobulina em eventos anteriores seja gravidez ou aborto. Com os estudos moleculares, Mais de 360 antígenos são conhecidos e estão organizados em 36 sistemas reconhecidos pela ISTB sociedade Internacional de transfusão sanguínea. Além das diversidades estruturais muitas funções importantes têm sido correlacionadas com os aglutinogênios eritrocitários (POLYCARP *et al.*, 2017).

O estudo realizado com 1298 amostras em 22 províncias equatorianas teve um resultado na tipagem sanguínea de 73% com D positivo e 22% D negativo 5% com fenótipo de fraco. Ainda foi identificado 20 fenótipos diferentes, foi determinado que há uma distribuição heterogênea dos fenótipos do sistema Rh. Comparando aos dados de outros estudos é possível mostrar que as frequências e prevalências de antígenos eritrocitário são específicas para cada

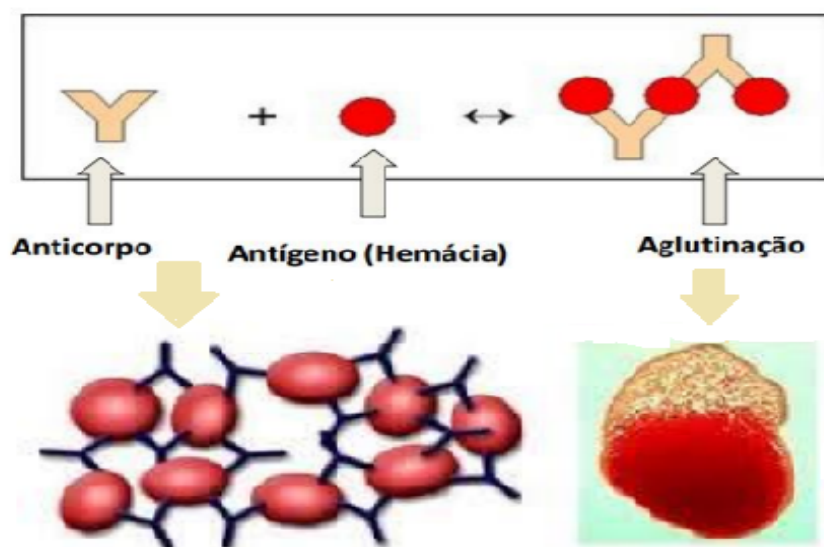
população e seu grupo étnico, mostrando a importância de novas políticas e protocolos em medicina transfusional, dado crucial no momento de uma transfusão de sanguínea (MARREO *et al.*, 2005).

Foi possível identificar aloimunização em doadores Rh D negativo com frequência maior no sexo feminino, os riscos para esta maior frequência podem ser caracterizados como aborto gravidez e transfusões incompatíveis a descrição dos fenótipos de um sistema RH constitui um auxílio na identificação dos antígenos presentes em indivíduos portadores de variantes de fraco ou de parcial por fim torna-se necessário incluir na tipagem sanguíneas novas metodologias (BESERRA *et al.*, 2016).

3.8. METODOS PARA TIPAGEM SANGUÍNEA

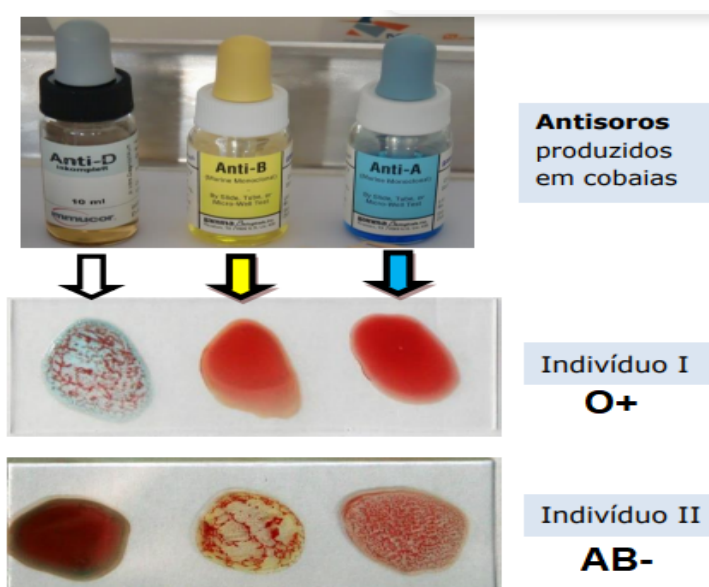
Os testes de tipagem sanguínea são realizados mediante técnicas que promova reação entre o antígeno (aglutinogênio) e o anticorpo (aglutinina), (Figura 10). A partir da reação de hemaglutinação direta entre amostras e reagentes com anticorpos contra o tipo A ou B além do fator Rh. As técnicas utilizadas podem ser: Método em lâmina, Método em tubo, e Método em gel. Entre estes a tipagem reversa é outra técnica para confirmação que consiste na reação da amostra (soro) com hemácias sabidamente pertencentes ao tipo A ou B. os testes de microplacas e em gel apresentam vantagem de automatização da rotina e maior segurança no processo (NORDOZZA *et al.*, 2010).

A técnica de microplaca ganhou popularidade devido ao alto volume de trabalhos nos bacos de sangue e a disponibilidade de sistemas automatizados. Nesta técnica são utilizados pequenos volumes e baixa concentração de soro e hemácias ao mesmo tempo em que há aumento da quantidade de amostras testadas, garantindo maior custo-benefício. A técnica pode, ainda, ser automatizada através da captura online de dados, que podem promover redução dos erros de leitura e transcrição, economia de tempo, utilização de códigos de identificação para armazenamento de dados (BLOODINDEX. 2012).

Figura 10 - Aglutinação antígeno anticorpo

Fonte: Adaptado de conceitos básicos em imunohematologia.

O método em lâmina (figura 11), apresenta uma maior probabilidade de erros na execução e interpretação dos resultados, sendo recomendado a técnica em tubo (figura 12). Conhecida também como método Schiff, a técnica em tubo tem maior sensibilidade, é considerada mais rápida e segura, é feita a mistura da amostra com soro, aguarda o tempo de reação de 5 minutos e em seguida pela centrifugação da amostra o resultado será avaliado como negativo em casos que não aglutinarem, ou como positivo quando houver a aglutinação das hemácias.

Figura 11 - Método em lâmina.

Fonte: Adaptado de Vieira, 2013

Figura 12 - Método em tubo.

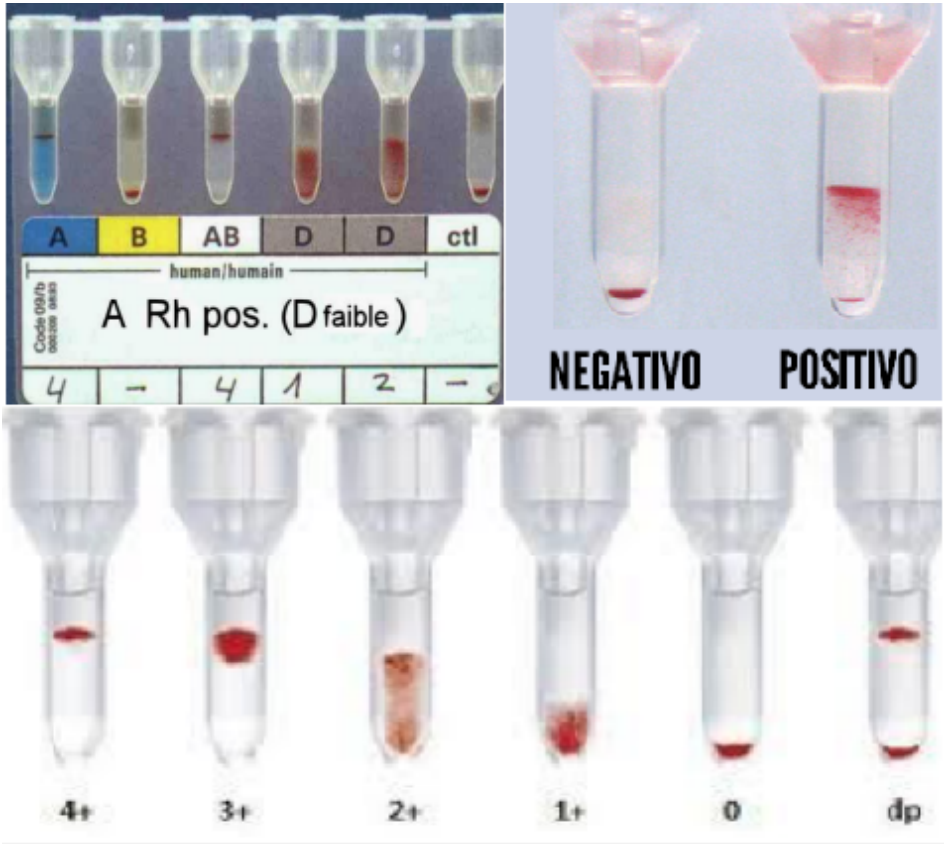


Fonte: Adaptado de Vieira, 2013.

A técnica em gel (figura 13), apresenta maior segurança pois utiliza gel tamponado que separa as hemácias suspensas no meio durante a centrifugação, de forma que a reação negativa resulta na forma de um botão de hemácias enquanto a reação positiva é caracterizada por um aglutinado de células na porção superior do tubo ou mesmo através do gel. Esta técnica demonstrou maior sensibilidade frente às outras técnicas permitindo a identificação de anticorpos clinicamente significantes (MARTINS *et al.*, 2009).

O gel aprisiona os agregados de hemácias funcionando como um filtro durante a centrifugação de forma que se tem um resultado positivo quando a aglutinação é classificada de 1+ a 4+. A maioria dos D fracos sorológicos são detectados quando mulheres grávidas, potenciais receptores de transfusão ou doadores de sangue possuem uma tipagem para RhD com fraca aglutinação ($\leq 2+$), usando reagentes anti-D potentes. A pesquisa de anticorpos irregulares PAI, É realizada testando-se o soro do receptor contra hemácias tipo O, com fenotipagem conhecida para os + importantes sistemas sanguíneos; PAI tem como finalidade detectar possíveis Ac's clinicamente significativos (Vieira, 2013).

Figura 13 - Método em Gel.



Fonte: adaptada de Everaldo, 2012

4. METODOLOGIA

Foi conduzida uma revisão integrativa da literatura sobre a identificação das formas variantes do antígeno eritrocitário Rh D. Para incrementar na construção da revisão, foram feitas pesquisas em sites Scientific Electronic Library Online (SCIELO), buscando artigos de revistas. Além de outros sites como: (PUBMED), (MEDLINE), (LILACS) Google Acadêmico e acervo literário. Utilizaram-se as palavras-chaves: Fator Rh, variantes Rh D, antígeno Rh D, aloimunização, grupo sanguíneo, doação de sangue e antígenos eritrocitários. Realizou-se uma busca por artigos que interessasse na pesquisa fazendo uma análise exploratória para escolher os artigos, que abordasse o tema proposto, nos idiomas português espanhol e inglês, adotou-se como métodos exclusão, artigos que excederem o período de 2000 a 2021, pesquisas feitas com animais, artigos pagos, duplicados e com outra temática.

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

A cada ano a imuno-hematologia como tantas outras áreas têm um considerável avanço graças às pesquisas realizadas. Possibilitando a descoberta de técnicas para que se tenha um melhor entendimento e definição em testes moleculares e sorológicos para as variantes do fenótipo Rh D. Estudando as bases moleculares formadoras do antígeno D foi possível detectar a existência de rearranjos gênicos e mutações na membrana eritrocitária, causadores das variações do antígeno D (BARROS, 2006).

Com isso foi possível entender a sobre aloimunização por anti-D nos pacientes portadores do Rh D positivo, dado essencial para a rotina transfusional. Torna-se evidente a necessidade da utilização de uma nova metodologia para a fenotipagem Rh D de receptores, doadores, gestantes e recém-nascidos, tentando evitar aloimunização anti-D desnecessárias mantendo uma maior segurança transfusional (BARROS, 2006).

O sistema ABO não mostrou relação com a existência ou não do fenótipo D fraco ou RhD parcial. Existe uma prevalência do sexo masculino no fenótipo Rh D parcial e um equilíbrio em relação a ambos os sexos no fenótipo Rh D fraco. Há uma maior incidência da raça branca em variantes Rh D, o que se torna evidente no estudo citado é a necessidade de um programa de computador para liberação dos resultados da tipagem Rh D que diferencie os fenótipos Rh D parcial e Rh D fraco dos fenótipos Rh D positivos e Rh D negativos, como resultado a baixa probabilidade de ocorrer aloimunização e economizaria amostras Rh D negativas (SABINO, 2008).

Com um estudo histórico, feito por Batisteti (2007), foi observado que as ideias que nortearam a proposta do fator Rh não estavam prontas ou surgiram de forma repentina, mas foram resultados de um acúmulo de conhecimentos acerca da estrutura proteica, das individualidades sorológicas e das reações envolvidas entre antígenos e anticorpos. O conhecimento da causa das reações transfusionais intragrupo não surgiu de forma inesperada e não foi fruto de produção de único indivíduo, mas passou por dificuldades e tentativas, em que houve a formação de conceitos, que foram desenvolvidos de modo gradual e lento, apresentando muitas mudanças e contando com a participação de vários indivíduos ao longo de vários anos (BATISTETI *et al.*, 2007).

Todos os países devem ter estratégias próprias na seleção dos métodos utilizados e dos reagentes para realização da tipagem sanguínea, pelo fato da população ser miscigenada. Devido aos tipos de reatividade apresentados pelos antígenos Rh D fraco e Rh D parcial dois

tipos de reagentes anti-D monoclonais devem ser usados, junto com testes moleculares em resultados diferentes. (MARTINS, 2017).

O uso da imunoglobulina anti-Rh D no tempo adequado para as gestantes Rh negativo tem sido dificultado por alguns fatores, tais como: Procura tardia das gestantes pelo acompanhamento, capacitação inadequada de profissionais o que acarreta o não diagnóstico no tempo necessário. A frequência discreta em que ocorre a aloimunização comparado a outros agravos, devido um percentual menor de Rh negativos existente na população brasileira, torna um problema menos visível e com isso os resultados se tornam irreversíveis. Contudo ações interdisciplinares no pré-natal junto com uma atenção à saúde da mulher podem amenizar o problema. (ALVES, 2012).

Estudo realizado em 2016 por Zacarias, em mais de 350 doadores, com o objetivo de estabelecer a uma porcentagem de voluntários doadores portadores de algum tipo de variante D fraca, Del, ou parcial, em nível molecular, mostrou que nesta população brasileira mista, os tipos D fracos mais frequentes foram 1, 4, 3 e 2 e D parcial uma porcentagem de 2,90% de amostras portadoras do gene RHD. A porcentagem com tipagem RhD inconclusiva, foi de 53,33% delas apresentaram RHD fraca e parcial, e 43,75% apresentaram concomitantemente mais de uma variante RHD (ZACARIAS., 2016).

Na intenção de minimizar a aloimunização, a genotipagem foi introduzida no Brasil em 2002 para o tratamento de pacientes com doença falciforme que necessitam de múltiplas transfusões, permitindo a determinação do genótipo do grupo sanguíneo verdadeiro, auxiliando na identificação de aloanticorpos suspeitos e ajudando a diminuir o risco de reações transfusionais, especialmente reações tardias a aloanticorpos existentes e para evitar a aloimunização (CASTILHO, 2018).

Em uma pesquisa realizada, foi obtido dados com relação a 4.447 doadores de sangue dos grupos selecionados, 171 (3,8%) foram classificados como perigosos por apresentarem em seu soro elevados títulos de hemolisinas A (anti-A) e B (anti-B). foi impossibilitado estabelecer a porcentagem de doadores reativos para a hemolisina A e B porque os hemocentros não fornecem estes dados individuais, esta foi uma limitação do estudo (BATISSOCO., 2003).

A identificação molecular das variantes, pesquisada em 103 doadores de um hemocentro na região centro-oeste do Brasil. Observou-se um total de 1,29% das variantes, nesta população (MAFA *et al.*, 2019), também foi realizado a pesquisa dessa variante na região sudeste do Brasil, com o resultado uma de 0,3% das variantes (CAMPOS *et al.*, 2016), outros estudos também na região sudeste mostrou uma frequência de 0,52% em (ARNON *et al.*, 2016) e 0,8% em (CRUZ

et al.,2012). Entretanto no estado do Paraná foi registrado à frequência de 9,75% das variantes (ZACARIAS *et al.*, 2016).

A frequência de alelos variantes D, nos Estados Unidos foi identificada em 2,2% (WANG *et al.*,2010). Na Tunísia, norte da África a frequência foi de 0,5% (OUCHAR *et al.*,2018). Tais dados são representados na tabela 3 considerando a região geográfica, país, porcentagem, autor e ano. Um dos fatores que podem ocasionar a divergência em resultados das variantes D é a qualidade de reagentes utilizados e principalmente os métodos e técnicas empregados (BARROS; CASTILHO, 2006; DANIELS, 2013b).

Outro fator que também pode ocasionar a divergência nos resultados é a imigração nas regiões estudadas devido ao fato da raça e etnia influenciar nessas variantes. O sudeste e centro-oeste brasileiro, tem altas taxas de miscigenação (africanas, indígenas e europeias) diferente da região sul que possui um grau maior de caucasianos devido às imigrações europeias (MARREEO *et al.*,2005).

No estudo feito por Mafra (2018), com 103 doadores de sangue mostrou um resultado de 26,21% das amostras são de fraco, sendo que, 16,1% são D fraco tipo 3, tipo 2 (5,83%), tipo 1 (1,94%), tipo 38 (0,97%), tipo 145 (0,97%). A variante D parcial obteve maior frequência em relação a variante D fraco representando uma porcentagem de (68,93%), do total de amostras analisadas, esta frequência maior da variante D parcial, indica a presença da ancestralidade africana na população brasileira, 1,94% foi a porcentagem de Rh D discrepantes, com fraco resultado (MAFRA, 2018).

Tabela 3- Frequência em porcentagem de antígenos D variantes por regiões brasileiras.

REGIÃO/PAIS	PORCENTAGEM (%)	AUTOR E ANO
Centro-oeste/ Brasil	1,29%	MAFRA <i>et al.</i> , 2019
Sudeste/ Brasil	0,3%	CAMPOS <i>et al.</i> , 2016
Sudeste/ Brasil	0,52%	ARNONI <i>et al.</i> , 2016
Sudeste/ Brasil	0,8%	CRUZ <i>et al.</i> , 2012
Sul/ Brasil	9,75%	ZACARIAS <i>et al.</i> ,2016
Estados Unidos	2,2%	WANG <i>et al.</i> , 2010
Norte/África	0,5%	OUCHAR <i>et al.</i> , 2018

Fonte: A autora (2022).

Foi possível concluir com o estudo acima citado que do total analisado 98% apresentaram os antígenos D variantes, mostrando alterações moleculares. Deste a porcentagem

total 68,93% são definidas como D parcial e possui alto grau de significância clínica por estarem associadas a aloimunização anti-D (MAFRA, 2018).

Em uma pesquisa realizada no ano de 2019, foram encontrados os tipos D fracos 1 e 2 que não reagiram na prova de fenótipo, utilizando vários reagentes anti-D, esse resultado indica uma baixa quantidade de antígenos, nesses casos a detecção é feita em AGH. Os tipos 38 e 145 de alelos RHD fraco tiveram a mesma resposta. Do total de amostras, 22 (21,36%) não houve reação nos resultados sorológicos realizados, os quais foram usados em fenotipagem para o antígeno D, ainda 28 (27,18%) do total não reagiram ao menos em um dos dois reagentes e, somente foram assertivamente fenotípicas para o antígeno D quando levadas até à fase em AGH a 37°C, sem a realização da fase da AGH amostras poderiam ser classificadas erroneamente como RhD negativo (MAFRA et al., 2019).

Com o passar dos anos e com as pesquisas realizadas, o setor de imuno-hematologia foi beneficiado com dados importantes que possibilitou inovar nos testes, principalmente nos moleculares, estes estudos permitiram a diferenciar e entender melhor as variantes do fenótipo Rh D. Com informações moleculares a respeito das bases que formam o antígeno D, ficou esclarecido a presença de rearranjos e mutações, que resulta na conformação polimorfismo eritrocitário, o resultado desses estudos possibilitou compreender sobre a aloimunização por anti-D receptores com fenótipo Rh D positivo, nos quais a identificação é muito relevante para uma transfusão segura.

Fica evidente que testes confirmatórios para o D fraco em qualquer rotina imuno-hematológica, e nos doadores de sangue são indispensáveis, pelo fato que portadores de sangue RhD negativos correrem o risco de aloimunização por anti-D. Já foi esclarecido que apenas com testes sorológicos não é possível identificar e diferenciar fenótipos D parcial e D fraco, por ambos apresentarem padrões semelhantes de reatividade com os mesmos reagentes (ZACARIAS *et al.*, 2016).

Reações sorológicas definidas como inconclusivas, que houve diferença nos resultados com o uso dos reagentes IgM e IgM/IgG sendo utilizado a mesma metodologia confirmaram que o uso de reagentes que detecte as variantes do antígeno D é muito importante. Na realização da fenotipagem para caracterizar os antígenos Rh, C, c, E e e, realizada em todas as amostras do estudo, contribuiu para identificar que antes os fenótipos têm um que prevalece o ccee com 67% (67/103) e, contudo, foi fenótipo mais encontrado associado aos fenótipos variantes RhD (MAFRA, 2019; ZACARIAS, 2016).

Tabela 4 - Características dos estudos inseridos quanto ao autor, ano, objetivo, tipo de estudo, população, método e resultado

Autor / ano	Objetivo	Tipo de estudo e local	População e amostra	Método de identificação	Resultado
Oodi <i>et al.</i>, 2020	Determinar a frequência de alelos variantes RHD entre doadores e pacientes.	Prevalência/Irã	Em 100 doadores de sangue.	Genotipagem RHD PCR-SSP Sequenciamento de DNA	15 amostras eram do tipo D fraco. 18 amostras Variantes de D parcial. As demais outras variantes.
Credidio <i>et al.</i>, 2011	Avaliar métodos sorológicos, moleculares, e reagentes atualmente utilizados. Para identificar variantes D..	Descritivo transversal/Brasil	Foram analisadas 306 amostras de sangue de doadores brasileiros.	Sorologia Fenotipagem	Métodos moleculares podem ajudar a diferenciar entre D parcial e D fraco e caracterizar os tipos D fracos, fornecendo informações adicionais de valor na determinação de fenótipos D.
Zacarias <i>et al.</i>, 2016	Estabelecer a frequência de doadores de sangue portadores de alguma RHD fraca e parcial, em nível molecular.	Incidência/Paraná, Sul do Brasil.	430 doadores de sangue.	Sorologia fenotipagem do sistema Rh	Os tipos D fracos mais frequentes foram 1, 4, 3 e 2 total de 8,41%, D parcial foi encontrado em 2 doadores. 53,33% RHD fraca e parcial, e 43,75% apresentaram mais de uma variante RHD.
Sabino <i>et al.</i>, 2008	Identificar os pacientes, gestantes e doadores que apresentam fenótipo Rh D fraco e/ou Rh D parcial.	Incidência /Brasil	13.616 amostras o total de 8.772 amostras de doadores e 4.844 amostras de pacientes e gestantes.	fenotipagem Pesquisa de Anticorpos Irregulares painel de reagentes monoclonais	11.835 amostras (86,92%) Rh D positiva 1.709 amostras (12,55%) Rh D negativa. 72 amostras (0,53%) com antígeno Rh D fraco ou Rh D parcial.

Autor / ano	Objetivo	Tipo de estudo e local	População e amostra	Método de identificação	Resultado
Mafra <i>et al.</i>, 2019	Caracterizar por métodos moleculares, antígenos Rh D variantes em amostras de doadores de sangue, que tenham fraca expressão do fator Rh D.	Incidência/Ribeirão preto	Foi utilizado 103 amostras de sangue periférico, obtidas de doadores voluntários.	FenotipagemRhD Extração de DNA PCR-AE PCR- RFLP PCR-SSP	As frequências dos alelos RHD fraco tipos 1, 2 e 3 foram estabelecidas respectivamente em: 1,94%(2/103); 5,83%(6/103); 16,5% tipo 38 em 0,97% (1/103). A frequência de alelos RHD parcial foi de 68,93%, sendo que os alelos RHD*DAR (65,05%) foram os mais encontrados.
Barros <i>et al.</i>, 2006	contribuir na seleção adequada do reagente anti-D utilizado na rotina de fenotipagem do antígeno RhD para evitar aloimunização.	Descritivo /Campinas-SP, Brasil	Foram analisados anti-sorosanti-D monoclonais, o em 56 amostras de sangue caracterizadas como D fraco.	FenotipagemRhD Extração de DNA Genotipagem RHD	Das 56 amostras, 40 (71%) foram confirmadas molecularmente como D fraco, 11 (20%) como RhD parcial e 5 (9%) apresentaram associações de RhD parcial e RhD fraco
WANG <i>et al.</i>, 2010	Determinação de RhD em mulheres grávidas.	Descritivo /	501 pacientes pré-natais, do banco de sangue de.	Sorologias Genotipagem.	Testes sorológicos discordantes foram encontrados em 11 casos. As variantes D fraca (n = 5) e D parcial (n = 5) foram confirmadas por genotipagem molecular em todos, exceto em 1 caso. As variantes RhD, confirmadas molecularmente, ocorrem em 2,2% da nossa população multiétnica.

Fonte: A autora (2022).

Observou-se que o método de reação em cadeia da polimerase (PCR), foi feita e obtido êxito de 85%, as amostras foram caracterizadas e identificado os polimorfismos, para classificar as variantes. O método de Sanger obteve um melhor auxílio, porém teve limitações do uso em que muitos laboratórios, mesmo com um custo considerado baixo, e de apresentarem confiança nos seus resultados, sendo também bom nos estudos com genes específicos, o fato de não possibilitar automação perde qualidade (MAFRA,2019; ZACARIAS,2016; SABINO,2008; BARROS,2006).

Alguns pontos foram cruciais na identificação de algumas amostras com dificuldade na identificação, sem o uso da técnica indireta da AGH. Escolher reagentes e metodologia para aplicar nos testes de classificação dos fenótipos anti-D deve-se ter um critério rigoroso para obter um resultado sem dúvidas. Diante de tamanha importância sobre a detecção das variantes do sistema Rh, se faz necessário a pesquisa de mais estudos relacionados ao assunto. Um fato também importante é a necessidade de um banco de dados com essas informações do doador e paciente portador de uma das variantes do sistema Rh, para que quando eles vierem a precisar não correr o risco de aloimunizar (MAFRA,2019).

Observou-se que a escolha dos métodos e reagentes para esses testes é um fator primordial para um diagnóstico preciso, e que todos os países devem ter estratégias próprias na seleção dos métodos utilizados e dos reagentes para realização da tipagem sanguínea Rh D, pelo fato da população ser miscigenada e pela presença das variantes do sistema Rh D. As técnicas sorológicas não diferenciam o fenótipo D fraco do D parcial, testes moleculares são superiores para esta diferenciação (BARROS *et al.*, 2019).

As vantagens do estudo molecular é evitar a imunoprofilaxia anti-D nas gestantes Rh D negativo com tipo específico de D fraco, outra vantagem é a identificação de D parcial em gestantes que apresentam alta probabilidade de aloimunização e necessidade de imunoprofilaxia Rh. Na Medicina Transfusional evitaria muitas complicações e reações após as transfusões (BARROS *et al.*,2006).

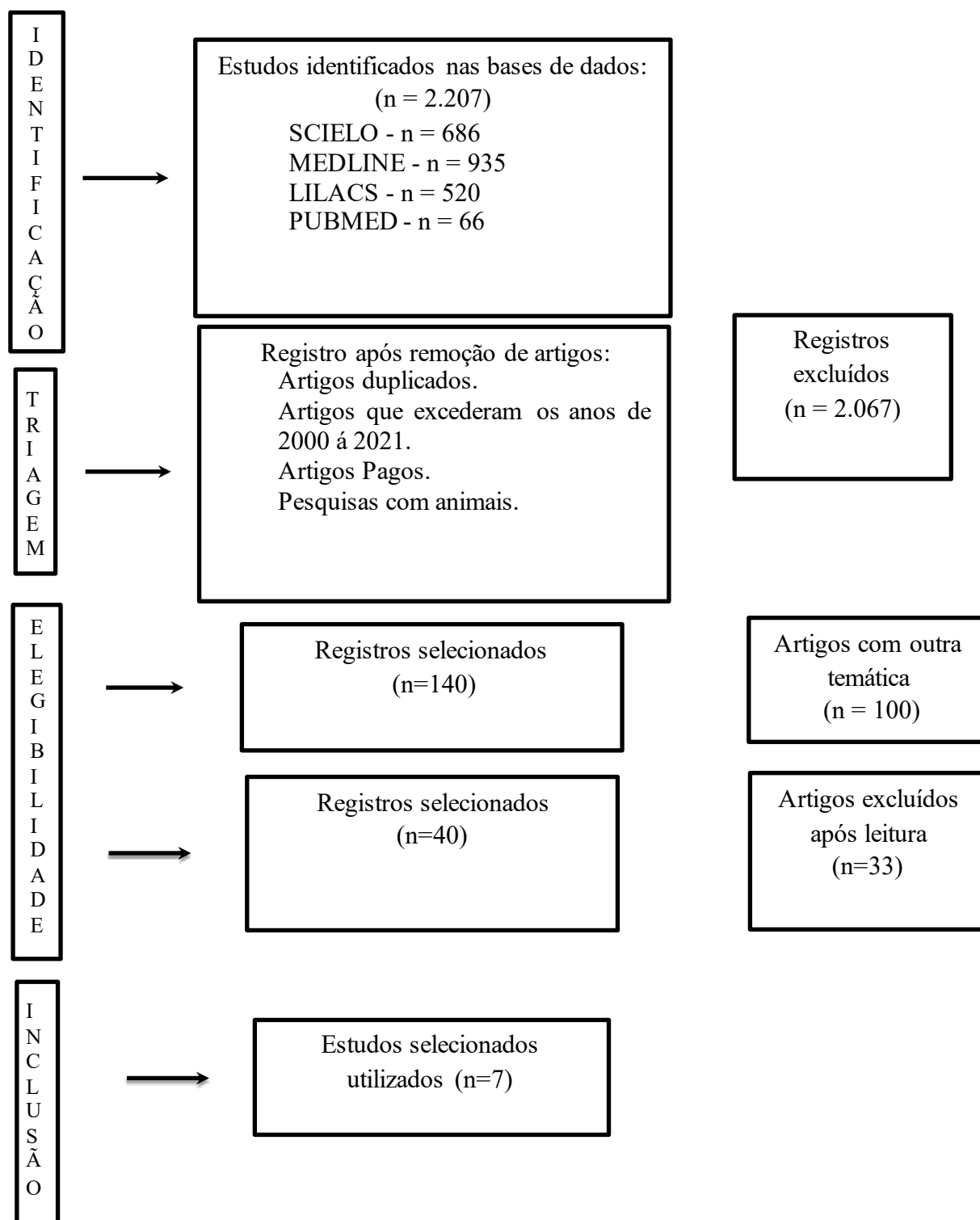
Com os dados obtidos é possível citar que a incidência de Rh D parcial foi maior que a incidência de Rh D fraco em apenas um dos estudos analisados (OODI. 2020), e que os demais apresentaram uma porcentagem maior da variante RhD fraco. Reagentes monoclonais Blend (Diamed e Fresenius) analisados foram mais eficientes na detecção de variantes Rh D em relação ao reagente policlonal (Fresenius) (ZACARIAS,2016).

O fenótipo variante de classe RhD positivo obteve a porcentagem de aproximadamente 95% na população da África subsaariana, 85% de caucasianos e na parte da Ásia oriental 99,5%.

Diante da alta taxa de RhD⁺ e RhD⁻, a membrana pode se mostrar com mutações genéticas qualitativas e quantitativa, devido a mecanismos genéticos variados (BARROS; CASTILHO, 2006; WESTHOFF, 2005).

O estudo apresentou limitações quando a busca geográfica restrita principalmente na região nordeste do Brasil. Uma das limitações foi a quantidade de artigos pagos encontrados, pois eles não foram inseridos nesta revisão. Com dificuldade de encontrar estudos mais detalhados sobre o tema proposto em vários estados, não foi possível estender os resultados para todo o país. Os conteúdos aqui apresentados demonstram que outras pesquisas sobre as variantes do sistema Rh devem ser realizadas, em todos os estados trazendo importantes contribuições para o avanço da pesquisa.

Figura 14 - Fluxograma quanto a identificação, triagem, elegibilidade e inclusão dos estudos



Fonte: A autora (2022).

6. CONCLUSÃO

Diante dos dados oriundos de uma revisão integrativa na literatura, com objetivo de classificar as variantes Rh, foi possível verificar a dificuldade de encontrar estudos mais detalhados sobre o tema proposto no estado de Alagoas. Os dados encontrados para as variantes apresentaram uma porcentagem de, 26,21% (27/103) para D fraco dos tipos 1, 2, 3, 38 e 145. Entre eles o alelo 3 foi mais frequente, representando (17/103) do total. Os alelos D parciais, apareceu em 68,93% das amostras.

Diante dos resultados é possível citar que a incidência de Rh D parcial foi superior que a incidência de Rh D fraco. Em apenas um dos estudos analisados, e os demais apresentaram uma porcentagem maior da variante RhD fraco. Reagentes monoclonais Blend (Diamed e Fresenius) analisados foram mais eficientes comparado ao reagente policlonal (Fresenius).

Contudo esta revisão de literatura apresenta a importância das variantes para evitar a aloimunização. O principal fato é não existir muitos estudos registrados destes fenótipos na região nordeste do Brasil. Necessitando de mais estudos sobre as variantes e as populações de cada região abrangente dos hemocentros de doações de sangue.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Vitor Mendonça et al. Pesquisa de aloimunização após transfusão de concentrados de hemácias em um estudo prospectivo. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 34, p. 206-211, 2012.
- BARROS, Clayton et al. Avaliação de reagentes anti-D na detecção dos antígenos D fraco e D parcial. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 28, p. 269-274, 2006.
- BARROS, R. *et al.* Transfusão de hemácias em pacientes falcêmicos. **ScireSalutis**, v. 9, n. 1, p. 50-61, 2019.
- BATISSOCO, Ana Carla; NOVARETTI, Marcia Cristina Zago. Aspectos moleculares do sistema sanguíneo ABO. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 25, p. 47-58, 2003.
- BATISTETI, Caroline Belotto et al. O sistema de grupo sanguíneo Rh. **Filosofia e História da Biologia**, v. 2, n. 1, p. 85-101, 2007.
- BESERRA, Ana Heloisa Nascimento; ARTMANN, Elizabeth; SANTOS, Maria Cristina Pessoa dos. Aloimunização RhD em gestantes no Estado do Rio de Janeiro, Brasil: perspectivas e desafios. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, p. e00005516, 2016.
- BONIFÁCIO, Silvia L.; NOVARETTI, Marcia CZ. Funções biológicas dos antígenos eritrocitários. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, p. 104-111, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Immuno Hematologia laboratorial**. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. Brasília: da Saúde, 2014. 60 p. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/imuno_hematologia_laboratorial.pdf. Acesso em: 16.ago. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação n. 5, de 28 de setembro de 2017. **Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, set. 2017. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html. Acesso em: 16 ago. 2022.
- CASTILHO, L. Sistema de grupo sanguíneo Rh. **Bordin JO, Langhi Junior DM, Covas DT, editors. Hemoterapia: Fundamentos e Prática**. São Paulo: Atheneu, p. 438-44, 2007.
- CHIRIBOGA-PONCE, Rosa F. Frecuencia de fenotipos del sistema Rh en donantes voluntarios de sangre. **Acta bioquímica clínica latinoamericana**, v. 52, n. 3, p. 331-337, 2018.
- CREDIDIO D.C., *et al.* Caracterização sorológica e molecular de variantes D em brasileiros: impacto para tipagem e estratégia transfusional. **Imunohematologia** v. 27, p. 6-11, 2011.
- CRUZ, Roberto de Oliveira; MOTA, Mariza Aparecida; CONTI, Fabiana Mendes; *et al.* Prevalence of erythrocyte alloimmunization in polytransfused patients. **Einstein** (São Paulo), v. 9, n. 2, p. 173-178, 2011.

DANIELS, G. Variantes de RhD - testes atuais e consequências clínicas. **British Journal of Hematology**, v. 161, n. 4, p. 461-470, 2013.

DANIELS, Geoff et al. Fetal blood group genotyping: present and future. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1075, n. 1, p. 88-95, 2006.

DE CARVALHO, Manoel. Tratamento da icterícia neonatal. **J Pediatr**, v. 77, n. Supl 1, p. s71-s80, 2001.

FERNANDES, Vanessa C.; BORGATTO, Adriano F.; BARBERATO FILHO, Silvio; *et al.* Frequência de hemolisinas anti-A e anti-B em doadores de sangue de Itapeva e Ourinhos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, p. 453-456, 2008.

FLEGEL, Willy A. The genetics of the Rhesus blood group system. **Blood transfusion**, v. 5, n. 2, p. 50, 2007.

KLEIN, Harvey G.; ANSTEE, David J. **Mollison's blood transfusion in clinical medicine**. John Wiley & Sons, 2014.

KUMAR, H; MISHRA, Dk; SARKAR, Rs; *et al.* Difficulties in Immunohaematology : The Weak D Antigen. **Medical Journal Armed Forces India**, v. 61, n. 4, p. 348-350, 2005.

LEITE, Larissa Espíndola. **Genotipagem dos antígenos Rh (C, c, E, e) e Kell (K, k) como estratégia na redução da aloimunização em pacientes com doença falciforme tratados no Hospital de Base do Distrito Federal**. 2019. 52f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP/USP), Ribeirão Preto, 2019.

LOBATO, Gustavo; REICHENHEIM, Michael Eduardo; COELI, Claudia Medina. Sistema de informações hospitalares do sistema único de saúde (SIH-SUS): uma avaliação preliminar do seu desempenho no monitoramento da doença hemolítica perinatal Rh(D). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 3, p. 606-614, 2008.

MAFRA, Ana Luisa Alves. **Caracterização molecular de antígenos RhD variantes em doadores de sangue da Fundação Hemocentro de Brasília - Distrito Federal**. Dissertação(Mestrado em Hemoterapia e Medicina Transfusional) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17155/tde-05082019-112346/>>. Acesso em: 19 abr. 2022.

MARIANO GISLON DA SILVA, Rafael; KUPEK, Emil; PERES, Karen Glazer. Prevalência de doação de sangue e fatores associados em Florianópolis, Sul do Brasil: estudo de base populacional. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 29, n. 10, p. 2008-2016, 2013.

MARRERO, A. R. *et al.* Heterogeneidade da Ancestralidade Genética de Indivíduos Classificados como Brancos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **American Journal Of Human Biology**, v. 17, p. 496-506, 2005.

MARTINS, Marina L.; CRUZ, Karina V. D.; SILVA, Maria Clara F.; *et al.* Uso da genotipagem de grupos sanguíneos na elucidação de casos inconclusivos na fenotipagem eritrocitária de pacientes atendidos na Fundação Hemominas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 4, p. 252-259, 2009.

MITRA, Ranadhir; MISHRA, Nitasha; RATH, Girija Prasad. Blood groups systems. **Indian journal of anaesthesia**, v. 58, n. 5, p. 524, 2014.

MOTA, L.P., et ai. Sistema Rh e associação com doença hemolítica do recém-nascido. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 9, n. 9, 2020.

MOTA, M. *et al.* Aloimunização anti-D por glóbulos vermelhos tipo 1 fracos com uma densidade de antígeno muito baixa. **Vox Sang**, v.88, p. 1, 2017

NARDOZZA, Luciano Marcondes Machado; SZULMAN, Alexandre; BARRETO, Jose Augusto; *et al.* Bases moleculares do sistema Rh e suas aplicações em obstetrícia e medicina transfusional. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 6, p. 724–728, 2010.

OJOK, Polycarp; OYET, Caesar; WEBBO, Fred; *et al.* Prevalence of RhD variants among blood donors at Gulu Regional Blood Bank, Gulu, Northern Uganda. **Journal of Blood Medicine**, v. 8, p. 151–154, 2017.

OODI, Arezoo; DANESHVAR, Zahra; GOUDARZI, Samira; et ai. Genotipagem RHD de fenótipos sorológicos D fracos em doadores de sangue e pacientes iranianos. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 59, n. 5, 2020. Disponível em:<[https://www.trasci.com/article/S1473-0502\(20\)30175-0/abstract](https://www.trasci.com/article/S1473-0502(20)30175-0/abstract)>. Acesso em: 20 abr. 2022.

OUCHARI, M. *et al.* Estratégia de transfusão para D fraco tipo 4.0 com base em alelos RHD e haplótipos RH na Tunísia. **Transfusão**, v. 58, n. 2, pág. 306-312, 2018.

PESSOA, Rosângela Duarte de Medeiros; ARNONI, Carine Prisco; MUNIZ, Janaína Guilhem; et ai. Estratégia sorológica na detecção de alelos de RHD alterados em doadores de sangue brasileiros. **Hematologia, Transfusão e Terapia Celular**, v. 42, n. 4, pág. 365-372, 2020.

POLICARPO, Ojok; CAESAR, Oyet; FRED, Webbo; et ai. Prevalência de variantes RhD entre doadores de sangue no Banco Regional de Sangue de Gulu, Gulu, norte de Uganda. **Journal of Blood Medicine**, v. 8, p. 151-154, 2017.

SABINO, Janine Schincariol. Universidade Estadual Paulista “Julio De Mesquita Filho” Faculdade De Medicina De Botucatu Hospital Das Clínicas – Divisão Hemocentro Programa De Pós-Graduação Em Pesquisa E Desenvolvimento Biotecnologia Médica. p. 68, 2008.

SANTANDER, N. **Principais anticorpos irregulares em politransfundidos: uma revisão de literatura**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

SCHMIDT, Luciana Cayres; CASTILHO, Lilian; VIEIRA, Otávio Vinicius Neves; et ai. Impacto de um teste RhD confirmatório na tipagem sorológica correta de doadores de sangue. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 37, n. 5, pág. 302-305, 2015.

SILVA, C. *et al.* O Uso De Técnicas Alternativas Utilizadas Em Cirurgia Sem Transfusão De Sangue E Hemoderivados: Uma Revisão De Literatura. **CIPEEX**, v. 2, p. 1013-1026, 2018.

SILVA, Constanza Thaise Xavier et al. O Uso De Técnicas Alternativas Utilizadas Em Cirurgia Sem Transusão De Sangue E Hemoderivados: Uma Revisão De Literatura. **CIPEEX**, v. 2, p. 1013-1026, 2018.

Singleton BK, Green CA, Avent ND, Martin PG, Smart E, Daka A, *et al.* **The presence of an RHD pseudogene containing a 37 base pair duplication and a non sense mutation in Africans with the Rh negative blood group phenotype.** *Blood*. 2000; 95:12-18.

VILAR, V.M. *et al.* Fatores associados às reações transfusionais imediatas em um hemocentro universitário: estudo analítico retrospectivo. **Medicina** (Ribeirão Preto), v. 53. n. 3, p. 275-82, 2020.

WAGNER, F. F.; FLEGEL, W. A. the molecular basis of the Rh blood group phenotypes. **Immunohematology**, v. 20, n. 1, p. 23-36, 2004.

WAGNER, F.F.; FLEGEL, W. A. O Sítio Rhesus. **Medicina Transfusional e Hemoterapia**, v. 41, n. 5, p. 357-363, 2014.

WAGNER, F.F.; FLEGEL, W. A. Revisão: **As bases moleculares dos fenótipos do grupo sanguíneo Rh.** *Imunohematologia*, v. 20, n. 1, pág. 23-36, 2004.

WAGNER, Franz F.; FLEGEL, Willy A. RHD gene deletion occurred in the Rhesus box. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 95, n. 12, p. 3662-3668, 2000.

WANG, D.; LANE, C.; QUILLEN, K. Prevalência de variantes RhD, confirmadas por genotipagem molecular, em uma população pré-natal multiétnica. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 134, n. 3, p. 438-442, 2010.

Zacarias, J.M.V., Pereira, E.M. de F., Visentainer, J.E.L., Guelsin, G.A.S., de Melo, F.C., Sell, A.M.. Frequência de variantes de RHD em doadores de sangue brasileiros do Estado do Paraná, Sul do Brasil. **Transusão. Apher. Sci. Fora. J. Mundo Apher. Associação Fora. J.Eur. Soc. Hemaférese** v. 55, p. 120-124, 2016.