

# Determinação da frequência dos subgrupos sanguíneos do sistema ABO e Rh em recém-nascidos no Município de Gália, Estado de São Paulo.

Carlos Vicente Bertone

---

## Introdução

Os **grupos sanguíneos** ou **tipos sanguíneos** foram descobertos no início do século XX (cerca de 1900 - 1901), quando o cientista austríaco Karl Landsteiner se dedicou a comprovar que havia diferenças no sangue de diversos indivíduos.<sup>[1]</sup> Historicamente, a classificação de Landsteiner previa os grupos *A*, *B* e *O*; o grupo *AB* foi posteriormente descoberto (1902, von Decastello e Sturli).<sup>[1]</sup> Inicialmente, alguns autores adotaram a terminologia *O* ("zero"). Esta designação não é a mais apropriada, pois assume que os pacientes do grupo *O* não apresentam aglutininas em suas hemácias. Ao bem da verdade, os pacientes do grupo *O* apresentam em todas as suas hemácias a *aglutinina H*, uma precursora da *aglutinina A* e *aglutinina B* exceção feita ao raríssimo fenótipo *O<sub>Bombay</sub>* o qual não apresenta aglutininas para o sistema ABO, embora geneticamente possa pertencer ao subgrupo *O*, *A*, *B* ou *AB* na classificação do Sistema ABO. Hoje o grupo *O* ("zero") é costumeiramente abordado com sendo grupo *O* ("ó").

Esta descoberta por Karl Landsteiner, em 1900, não foi o entendimento completo dos tipos sanguíneos e as questões relacionadas às reações hemolíticas transfusionais. Uma melhoria significativa para esse problema aguardaria a descoberta do fator Rh, ocorrida em 1937, por Alexander Solomon Wiener e Landsteiner, sendo essa importante também para elucidar a causa da doença hemolítica peri-natal. O novo fator de sangue foi nomeado fator Rh, pela maneira como foi descoberto ( utilizou-se coelhos imunizados com hemácias do macaco Rhesus). Estudos posteriores mostraram que o anti-Rh originalmente observado era diferente do anti-Rh humano, como os anticorpos são produzidos especificamente contra determinado antígeno o termo fator anti-Rh para humanos não é o mais adequado, porém é de uso habitual.

Em 1927, mesmo antes da descoberta do Sistema RH, Landsteiner e seu colaborador Philip Levine, identificaram outro sistema, o Sistema MN, na ocasião onde testavam a capacidade de aglutinação de hemácias humanas, por ação de anticorpos produzidos por células de defesa de coelhos, quando estes animais recebiam sangue humano mesmo respeitando o Sistema ABO. Tantos outros sistemas se revelaram desde 1900, e nos dias atuais, temos mais de 30 grupos distintos. Porém nesta pesquisa a identificação do tipo sanguíneo se limitará ao Sistema ABO e Rh, devido sua relevância em processos transfusionais, onde são responsáveis em média por 98% dos casos de incompatibilidade.

## Objetivo

Demonstrar a frequência fenotípica do Sistema ABO e Sistema Rh em recém-nascidos no Município de Gália, Estado de São Paulo, no período compreendido entre 21 de junho de 2010 a 30 de setembro de 2011.

NOTA: 1- Salzano F.M. Genetic polymorphisms in Brazilian populations. In: Salzano F.M.. (ed.): *The ongoing evolution of Latin American Populations*. Springfield: Charles C. Thomas, 1971, p 631-655.

## Casuística e Métodos

## ***Seleção dos Dados***

Foram extraídos do arquivo de dados do Laboratório Vital Saúde Análises Clínicas<sup>3</sup> os dados relativos ao tipo sanguíneo do Sistema ABO e do Sistema Rh referentes aos recém-nascidos entre 21 de junho de 2010 a 30 de setembro de 2011,. Tomaram-se os devidos cuidados para preservação do anonimato e sigilo dos recém-nascidos e seus familiares.

## ***Coleta de Material***

As amostras dos recém nascidos foram colhidas utilizando-se de técnica padrão para sangue colhido diretamente do cordão umbilical, observando-se para um tubo de ensaio de vidro 12x75 mm com EDTA uma amostra de 04 ml de sangue.

## ***Testes Laboratoriais***

Para se chegar aos dados deste trabalho foram respeitadas as metodologias que seguem. Todos os testes laboratoriais imuno-hematológicos foram realizados no laboratório Vital Saúde Análises Clínicas da Cidade de Gália, Estado de São Paulo. A tipagem eritrocitária foi realizada emprego da técnica em tubo, usando reagentes monoclonais PROTHEMO: anti-A, anti-B e anti-AB na prova direta para o sistema ABO. Devido à composição do sangue de recém-nascido a prova reversa do sistema ABO não foi executada, pois o soro do recém-nascido não contém os esperados anticorpos Anti-A e Anti-B, podendo inclusive ocorrer à aquisição passiva de anticorpos Anti-A e Anti-B da circulação materna. Desta forma a prova reversa não deve ser realizada no sangue do recém-nascido por não fornecer o resultado confirmatório esperado. As hemácias de recém-nascido podem também não apresentar expressão total dos antígenos A e B e assim resultar em reações ligeiramente mais fracas. Já para o Sistema RH, também emprego da técnica em tubo com reagentes monoclonais PROTHEMO: Anti-D, Soro Controle Rh<sup>-</sup>, Anti-Gama e não Gama, Globulinas humanas e Albumina bovina 22%%. Todos os reagentes foram empregados conforme recomendações dos respectivos fabricantes. A tipagem ABO, foi feita com leitura à temperatura ambiente; para a tipagem Rh, foi leitura à temperatura ambiente em fase de anti-globulina direta. Para os outros antígenos foram testados em fase de anti-globulina indireta após 30 minutos de incubação. Todos os testes laboratoriais foram realizados dentro de 24 horas após a coleta e quando necessário foram conservados a 4°C.

## ***O Princípio do Teste***

Tipagem sanguínea é um teste realizado por profissionais de saúde em laboratório de análises clínicas e ou de pesquisa, além de hemocentros, hospitais entre outros. O princípio do teste é baseado na compatibilidade antígeno (hemácias) – anticorpo (soro), capaz de gerar uma aglutinação visível das hemácias, este fenômeno pode ser observado a olho nu, possibilitando após a conclusão do teste, a determinação, para cada um dos pacientes testados, de um resultado final para o sistema ABO e Rh. Todos os possíveis resultados para o sistema ABO e Sistema Rh se encontram descritos na [tabela 1](#).

<b>Tabela 1.</b> Possíveis resultados para o sistema ABO e Sistema Rh				
TIPOS	SISTEMA ABO		SISTEMA Rh	
	AGLUTINOGÊNIO (HEMÁCIAS)	AGLUTININA (SORO)	AGLUTINOGÊNIO (HEMÁCIAS)	AGLUTININA (SORO)
A +	FATOR – A	Anti – B	FATOR – Rh	-
A –	FATOR – A	Anti – B	-	Anti – Rh
B +	FATOR – B	Anti – A	FATOR – Rh	-
B –	FATOR – B	Anti – A	-	Anti – Rh
AB +	FATOR – A e FATOR – B	-	FATOR – Rh	-
AB –	FATOR – A e FATOR – B	-	-	Anti – Rh
O +	-	Anti – A e Anti – B	FATOR – Rh	-
O –	-	Anti – A e Anti – B	-	Anti – Rh

### **A metodologia dos testes**

Em tubo com soro fisiológico a 0,9 %, deve ser preparada uma suspensão de hemácias com teor de aproximadamente 5 %. São adicionados, a um mesmo tubo, uma gota do reagente teste e uma gota da suspensão de hemácias, a seguir faz-se uma homogeneização suave, centrifugação e ressuspensão para observar a presença ou ausência de **aglutinação** de acordo com a bula do reagente empregado.

### **Procedimento para tipagem ABO**

Tipagem ABO – Prova Direta – Kit PROTHEMO<sup>3</sup>

- 1 - Preparar uma suspensão a 3-5% do glóbulo a ser testado em solução salina a 0,9%.
- 2 - Adicionar uma gota de reagente Anti-A, Anti-B e Anti-AB respectivamente em três tubos de ensaio e identificá-los.
- 3 - Acrescentar uma gota da suspensão de hemácias 3-5% a cada tubo
- 4 - Homogeneizar suavemente e centrifugar por 15 segundos a 3400 rpm.
- 5 - Ressuspender delicadamente o botão de hemácias e examinar a presença ou não de aglutinação [tabela 2](#).

<b>TABELA 2.</b> Possíveis resultados para tipagem sanguíneo do grupo ABO					
PROVA DIRETA			PROVA REVERSA		RESULTADO
Anti-A (A)	Anti-B (B)	Anti-A,B (AB)	Antígeno A (HA)	Antígeno B (HB)	Classificação ABO
+	0	+	0	+	A
0	+	+	+	0	B
+	+	+	0	0	AB
0	0	0	+	+	O

*Não foram observados casos de discrepância entre a prova direta e reversa.*

*Não foi considerado a possibilidade do Fenótipo de Bombaim (Bombay phenotype).*

*Prova direta: (+) = Ocorrência de reação Aglutinogênio (Hemácia/paciente) - Aglutinina (Reagente) .*

*Prova reversa: (+) = Ocorrência de reação Aglutinina (Soro/paciente) - Aglutinogênio (Reagente).*

*Prova direta ou reversa: (0) = Não ocorrência de reação aglutinina - aglutinogênio.*

A prova reversa para a sistema ABO não foi realizada devido a composição do sangue de recém-nascido inviabilizar tecnicamente o procedimento. Por uma questão didática demonstramos na tabela 2 como seria o resultado esperado em uma prova reversa para tipagem do sistema ABO.

### **Procedimento para tipagem Rh**

#### Tipagem Rh – KIT PROTHEMO<sup>3</sup>

1. Preparar uma suspensão a 5% das hemácias a serem tipadas em solução salina a 0,9%.
2. Colocar uma gota do reagente Anti-D IgM + IgG “Prothemo” em um tubo devidamente identificado. Em um segundo tubo (controle negativo), colocar uma gota do Controle Rh “Prothemo”.
3. A cada tubo acrescentar uma gota da suspensão de glóbulos. Misturar bem o conteúdo.
4. Centrifugar\* os tubos.
5. Ressuspender delicadamente o botão de hemácias e observar a presença ou não de aglutinação [tabela 3](#).

#### Teste de Coombs Indireto – KIT PROTHEMO<sup>3</sup>

- 1- Colocar em um tubo de ensaio de vidro uma gota de suspensão de hemácias a 5% escolhidas para o teste, previamente preparadas em solução salina a 0,9%.
- 2 - Adicionar duas gotas de soro a ser testado.
- 3 - Acrescentar duas gotas de Albumina Bovina a 22% “Prothemo”. Misturar bem.
- 4 - Incubar o tubo em Banho-Maria durante 15-30 minutos a 37°C.
- 5 - Lavar as hemácias do tubo por três vezes com solução salina a 0,9% secando bem as bordas do tubo na última lavagem para retirar toda a solução.
- 6 - Acrescentar duas gotas do Soro Anti-Humano “Prothemo”. Misturar bem.
- 7 - Centrifugar imediatamente a 3 400 rpm por 15 segundos.
- 8 - Agitar suavemente o tubo para pesquisar a presença ou não de aglutinação [tabela 3](#).

<b>TABELA 3. Possíveis resultados para tipagem sanguínea do grupo Rh</b>			
<b>PROVA DIRETA</b>	<b>CONTROLE Rh</b>	<b>PROVA DE COOMBS INDIRETO</b>	<b>RESULTADO (Classificação Rh)</b>
+	0	Não testado	<b>POSITIVO</b>
0	0	+	<b>POSITIVO</b>
0	0	0	<b>NEGATIVO</b>

*Não foram observados casos de controle Rh positivo.*

*Prova direta: (+) = Ocorrência de reação Aglutinogênio (Hemácia/paciente) - Aglutinina (Reagente) .*

*Controle Rh: (+) = falha, requer repetição do teste.*

*Coombs Indireto:(+) = Ocorrência de reação Aglutinogênio (Hemácia/paciente) - Aglutinina (Reagente).*

*Prova direta, controle ou coombs: (0) = Não ocorrência de reação aglutinina - aglutinogênio.*

NOTA 3: Técnica seguida rigorosamente segundo as orientações do fabricante do reagente (PROTHEMO).

### Resultado e Análise Estatística

As frequências fenotípicas dos respectivos tipos sanguíneos, ABO e Rh, referentes aos recém-nascidos no Município de Gália, Estado de São Paulo, ficaram assim, tabuladas [tabela 4](#):

TABELA 4. Frequência Fenotípica ABO e Rh									
Tipos sanguíneos	A <sup>+</sup>	A <sup>-</sup>	B <sup>+</sup>	B <sup>-</sup>	AB <sup>+</sup>	AB <sup>-</sup>	O <sup>+</sup>	O <sup>-</sup>	TOTAL
Nº de recém-nascidos	11	2	9	1	2	0	32	2	59
Porcentagem (%)	18,64	3,39	15,25	1,69	3,39	0,00	54,24	3,39	100,00

GRÁFICO 1: Resultado do Sistema ABO

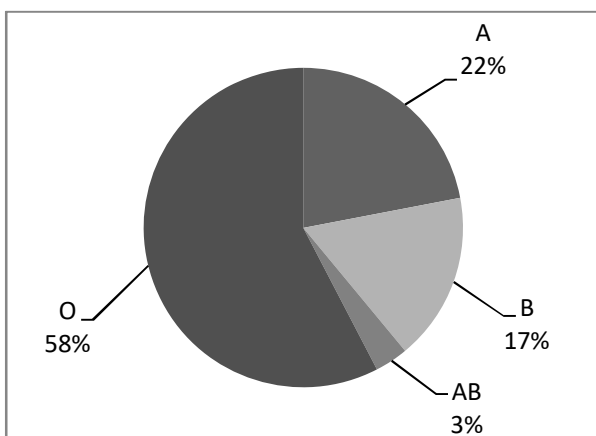


GRÁFICO 2: Resultado do Sistema Rh

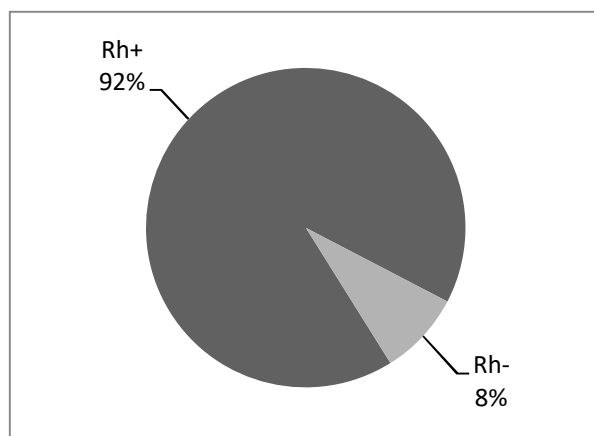
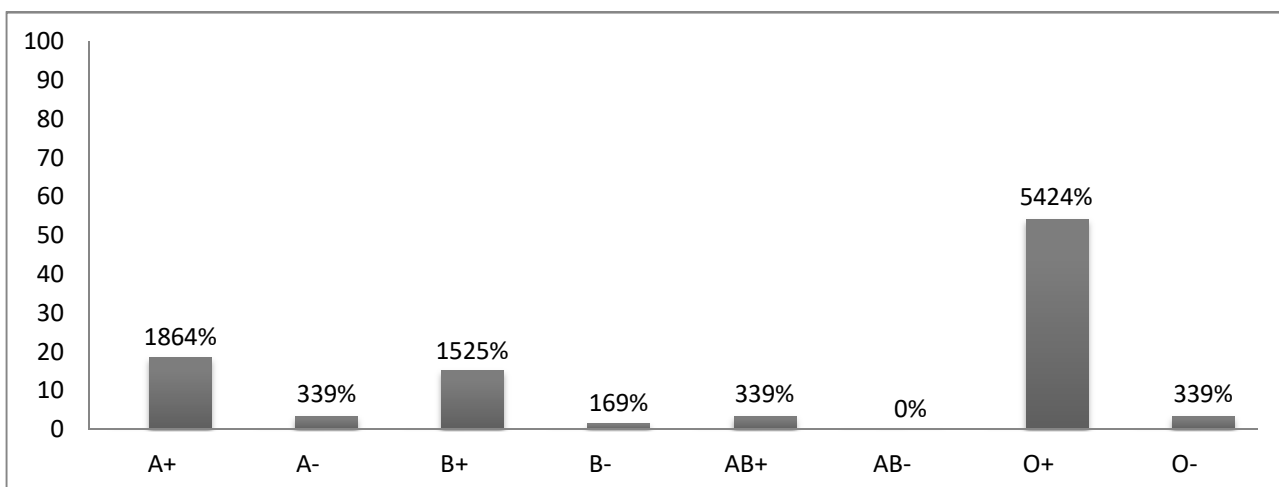


GRÁFICO 3: Análise do Sistema ABO e Rh



### Discussão

As frequências fenotípicas ABO e Rh são apresentadas na [tabela 4](#). A [tabela 4](#) lista o percentual de indivíduos estudados para os sistemas ABO e Rh em recém-nascidos no Município de Gália, Estado de São Paulo. Os [gráficos 1 e 2](#) mostram as frequências fenotípicas relativas aos sistemas de grupos sanguíneos ABO e Rh respectivamente. O [gráfico 3](#) mostra um comparativo percentual da frequência, quando os parâmetros fenotípicos ABO e Rh são analisados juntos.

Ressaltamos a priori, que não houve frequência fenotípica AB<sup>-</sup>. Este fato deve-se ao pequeno número de recém-nascidos da amostragem, porém o ocorrido não inviabiliza o estudo, sobretudo quando observamos a média nacional Tabela 5. Nota-se que os fenótipos mais frequentes e menos frequentes estão em consonância com a média nacional, o que nos permite concluir, apoiado na média nacional, na frequência do estudo apresentado e devido à raridade do fenótipo AB<sup>-</sup> que se tivéssemos um número maior de recém-nascidos, mantendo-se as proporções dos demais fenótipos, encontraríamos uma mínima quantidade de fenótipo AB<sup>-</sup> nas amostras.

## Conclusão

Percebe-se claramente um predomínio da manifestação Rh / Positivo em relação à manifestação do Rh / Negativo, esta estatística prevalece em todas as manifestações dos subgrupos do sistema ABO, ou seja, a frequência A<sup>+</sup> supera frequência A<sup>-</sup> e assim por diante, vejamos, B<sup>+</sup> supera B<sup>-</sup>, AB<sup>+</sup> supera AB<sup>-</sup> e O<sup>+</sup> supera O<sup>-</sup>. Entre os subgrupos do Sistema ABO nota-se uma maior frequência do fenótipo O, seguidos em ordem decrescente, respectivamente, pelos fenótipos A, B e AB. Um fato curioso pode-se constatar neste estudo, acompanhando a média nacional, o fato de que o fenótipo receptor universal é o menos frequente já o fenótipo doador universal é o mais frequente.

<b>TABELA 5.</b> <i>Frequência Fenotípica Brasileira ABO e Rh</i>									
Tipos sanguíneos	A <sup>+</sup>	A <sup>-</sup>	B <sup>+</sup>	B <sup>-</sup>	AB <sup>+</sup>	AB <sup>-</sup>	O <sup>+</sup>	O <sup>-</sup>	TOTAL
Porcentagem (%)	34	8	8	2	2,5	0,5	36	9	100

Fonte: [www.abhh.com.br](http://www.abhh.com.br)

## Referência Bibliográfica

1. Salzano F.M. Genetic polymorphisms in Brazilian populations. In: Salzano F.M.. (ed.): *The ongoing evolution of Latin American Populations*. Springfield: Charles C. Thomas, 1971, p 631-655.
2. BEIGUELMAN, B. **Os Sistemas Sanguíneos Eritrocitários**. FUNPEC – Editora, Ribeirão Preto-SP, 3ª Edição, 234p, 2003.
3. NOVARETTI M..C.Z.et al. **Estudo de grupos sanguíneos em doadores de sangue caucasoides e negroides na cidade de São Paulo**. Rev.bras.hematol.hemoter.São Paulo, 22(1):23-32, 2000
4. COLAGROSSI, P. B.F.; CUNHA-LAURA, A.L.; ZORZATTO, J.R. **Hemosul De Campo Grande, Ms - Levantamento Do Perfil Socioeconômico, Cultural, Tipagem Abo E Do Fator Rh Dos Doadores De Sangue**: Ensaio e Ciência, Vol. 10, Núm. 1, abril-sin mes, 2006, pp. 75-87.
5. VENTURELLI, L.E.; MORAES, M.H.B. **Frequências gênicas dos Sistemas ABO, MNSs e Rh em caucasoides e negroides da cidade de Campinas, SP**. Rev. Brasil. Genet. IX, 1, 179-185 (1986)
6. FEDERAL INTERNATIONAL DAS SOCIEDADES DA CRUZ VERMELHA E DO CRESCENTE VERMELHO. Fazendo a diferença: captando doadores de sangue voluntários, não remunerados/Federação Internacional das Sociedades da Cruz Vermelha e do Crescente

Vermelho: coordenação da edição em português de Nelly Marin. – Brasília: Organização Pan – Americana da Saúde; 2004.