

# Incidência de aloimunização eritrocitária em pacientes poli transfundidos

## Prevalence of erythrocyte alloimmunization in polytransfused patients

Roberto de Oliveira Cruz<sup>1</sup>, Mariza Aparecida Mota<sup>1</sup>, Fabiana Mendes Conti<sup>1</sup>, Ricardo Antônio d'Almeida Pereira<sup>1</sup>, Jose Mauro Kutner<sup>2</sup>, Maria Giselda Aravechia<sup>1</sup>, Lilian Castilho<sup>3</sup>

### RESUMO

**Objetivo:** Determinar a incidência e a taxa de aloimunização eritrocitária em pacientes politransfundidos. **Métodos:** Foram classificados como politransfundidos todos os pacientes que receberam no mínimo 6 unidades de concentrado de hemácias no período de 3 meses. Foram examinados retrospectivamente os prontuários de todos os pacientes (n = 12.904) que receberam transfusões de unidades de hemácias procurados nas bases de dados computadorizados do Hospital Israelita Albert Einstein, em São Paulo (SP), no período de 6 anos, entre 2003 e 2009. **Resultados:** Nesse período foram realizadas 77.049 transfusões de concentrado de hemácias em 12.904 pacientes. Os pacientes politransfundidos totalizaram 3.044, sendo que 227 (7,5%) apresentam anticorpos eritrocitários irregulares. A prevalência da especificidade dos aloanticorpos encontrados nos 227 pacientes politransfundidos foi: Anti-E>anti-D>anti-K>anti-C>anti-Di<sup>a</sup>>anti-c>anti-Jk<sup>a</sup>>anti-S. Em 79 pacientes (34,8%) foram encontradas associações de aloanticorpos e as combinações mais frequentes foram dos anticorpos dos sistemas Rh e/ou Kell. Esses anticorpos têm importância clínica, pois podem causar reações transfusionais hemolíticas tardias e doença hemolítica perinatal. Cerca de 20% dos pacientes apresentavam autoanticorpo IgG isolado ou em associação com aloanticorpos. Um achado interessante neste estudo foi a alta incidência de anticorpos contra antígenos de baixa frequência, com predomínio anti-Di<sup>a</sup>. **Conclusão:** Pacientes politransfundidos têm alta probabilidade de desenvolver aloanticorpos isolados ou em associação com autoanticorpos e anticorpos contra antígenos de baixa frequência. A transfusão de concentrado de hemácias com fenótipo compatível para os antígenos RH (C, E, c), K, Fy<sup>a</sup>, e Jk<sup>a</sup> deve ser recomendada para o grupo de pacientes politransfundidos, com objetivo de evitar a aloimunização e a reação transfusional hemolítica.

**Descritores:** Transfusão de sangue/efeitos adversos; Eritroblastose fetal; Eritrócitos/imunologia

### ABSTRACT

**Objective:** To determine the incidence and the rate of red blood cell alloimmunization in polytransfused patients. **Methods:** A polytransfused patient was defined as having received at least 6 units of red cell concentrates during a 3-month period. The records of all patients (n = 12,904) who had received red blood cell units were examined retrospectively by searching the computer database at Hospital Israelita Albert Einstein in São Paulo, Brazil, over a 6-year period, between 2003 and 2009. **Results:** During this time, 77,049 red cell concentrate transfusions were performed in 12,904 patients. There were 3,044 polytransfused patients, 227 of whom (7.5%) presented with irregular erythrocyte antibodies. The prevalence of alloantibody specificity was: Anti-E>anti-D>anti-K>anti-C>anti-Di<sup>a</sup>>anti-c>anti-Jk<sup>a</sup>>anti-S in 227 polytransfused patients. We found combinations of alloantibodies in 79 patients (34.8%), and the most common specificities were against the Rh and/or Kell systems. These antibodies show clinical significance, as they can cause delayed hemolytic transfusion reactions and perinatal hemolytic disease. About 20% of the patients showed an IgG autoantibody isolated or combined with alloantibodies. Interestingly, a high incidence of antibodies against low frequency antigens was detected in this study, mainly anti-Di<sup>a</sup>. **Conclusion:** Polytransfused patients have a high probability of developing alloantibodies whether alone or combined with autoantibodies and antibodies against low frequency antigens. Transfusion of red blood cells with a phenotype-compatible with RH (C, E, c), K, Fy<sup>a</sup>, and Jk<sup>a</sup> antigens is recommended for polytransfused patients in order to prevent alloimmunization and hemolytic transfusion reactions.

**Keywords:** Blood transfusion/adverse effects; Erythroblastosis, fetal; Erythrocytes/immunology

Trabalho realizado no Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE, São Paulo (SP), Brasil.

<sup>1</sup> Hemoterapia, Hospital Israelita Albert Einstein - HIAE - São Paulo (SP), Brasil.

<sup>2</sup> Hemoterapia, Hospital Israelita Albert Einstein - HIAE - São Paulo (SP), Brasil; Hematologia e Transplante de Medula Óssea, Hospital Israelita Albert Einstein - HIAE - São Paulo (SP), Brasil.

<sup>3</sup> Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP - Campinas (SP), Brasil.

Autor correspondente: Mariza Aparecida Mota – Avenida Albert Einstein, 627 – Morumbi – CEP 05651-901 – São Paulo (SP), Brasil – Tel.: 11 2151-0445 –

e-mail: marizamota@einstein.br

Data de submissão: 22/7/2010 – Data de aceite: 20/12/2010

Conflitos de interesse: Não

## INTRODUÇÃO

Um dos riscos de transfusão sanguínea é a formação de anticorpos contra um ou mais antígeno eritrocitário (RBC) que resulta das disparidades genéticas entre doador e receptor<sup>(1)</sup>. O risco depende da exposição do receptor ao antígeno estranho e de sua imunogenicidade<sup>(2)</sup>, definida como a capacidade de um dado antígeno de estimular a produção de anticorpos em um paciente que não tem o antígeno<sup>(3)</sup>. A reação ou não do sistema imunológico do receptor depende de genética ou dos fatores adquiridos relacionados ao paciente, dose, número e frequência de transfusões<sup>(4-6)</sup>. Aloanticorpos eritrocitários clinicamente significantes se desenvolvem em mais de 30% dos pacientes que recebem múltiplas transfusões, o que pode representar graves problemas no caso de terapia transfusional de longa duração. Vários autores descobriram que a aloimunização eritrocitária ocorre principalmente após as primeiras transfusões<sup>(7,8)</sup>. O conhecimento das condições clínicas que predisõem à aloimunização é importante por dois motivos: ele pode influenciar o tratamento de um paciente e pode levar a uma melhor compreensão da etiologia da reação transfusional<sup>(9)</sup>.

Quando são detectados anticorpos não-ABO clinicamente significantes no plasma de pacientes que requerem transfusões de hemácias, os serviços de transfusão têm de encontrar e administrar eritrócitos sem os antígenos correspondentes. Assim, em medicina transfusional, muito tempo e esforço são gastos na detecção e na identificação de anticorpos de grupos sanguíneos. Além de ABO, os anticorpos com maior importância clínica são aqueles nos sistemas de grupos sanguíneos Rh, Kell, Duffy e Kidd<sup>(10)</sup>.

Quando desaparecem os anticorpos de um grupo sanguíneo não-ABO, os pacientes correm risco de receber, por engano, transfusões de hemácias não compatíveis e desenvolver reações hemolíticas transfusionais tardias (RHTTs). As RHTTs são provavelmente o tipo de reação transfusional menos reconhecido e menos relatado, em parte por causa de sua dissociação temporal da transfusão causal<sup>(11)</sup>.

A prevalência de aloanticorpos de grupos sanguíneos foi descrita em várias populações de estudo, incluindo pacientes confinados ao hospital, pacientes com distúrbios hematológicos que exigem terapia transfusional crônica e doadores de sangue<sup>(9,12)</sup>.

Giblett calculou a imunogenicidade relativa de vários antígenos eritrocitários em comparação ao antígeno K. O autor comparou a frequência com que certos anticorpos são encontrados com a probabilidade de exposição calculada. Com base em seus cálculos, a probabilidade

relativa de formação de um grupo sanguíneo não-D é de  $K(0,05) > c(0,0205) > E(0,0169) > Fy^a(0,0023) > Jk^a(0,0007)$ <sup>(3)</sup>.

Este estudo retrospectivo relata a prevalência e a taxa de aloimunização em pacientes politransfundidos no Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), em São Paulo (SP).

## OBJETIVO

Determinar a incidência e a taxa de aloimunização eritrocitária em pacientes politransfundidos.

## MÉTODOS

Os prontuários de todos os pacientes ( $n = 12.904$ ) que receberam unidades de hemácias foram examinados retrospectivamente, por meio de busca no banco de dados do HIAE, um hospital geral com 530 leitos, localizado na cidade de São Paulo (SP), ao longo de 6 anos, de 2003 a 2009.

O paciente politransfundido foi definido como aquele que recebeu pelo menos 6 unidades de hemácias em 3 meses. Selecionaram-se todos os pacientes com autoanticorpos e/ou aloanticorpos eritrocitários. Os dados coletados incluíam idade do paciente, sexo, história de transfusão de hemácias e gravidez, tipagem estendida de eritrócitos e resultados de anticorpos eritrocitários detectados.

## Testes imuno-hematológicos

As amostras sanguíneas de pacientes submetidos à transfusão sanguínea foram escolhidas quanto a aloanticorpos eritrocitários usando um conjunto de três células selecionado de reagentes eritrocitários para detecção de anticorpos. A técnica para detecção de anticorpos envolveu o uso de 25  $\mu\text{L}$  de soro e de 50  $\mu\text{L}$  de eritrócitos a 0,8% em testes de solução de gel com baixa potencia iônica (DiaMed AG, Cressier, Suíça, e Grifols, Barcelona, Espanha). Sempre que necessária, a identificação de anticorpos foi realizada com painéis comerciais de células testadas por métodos similares ou técnicas adicionais (por exemplo, polietilenoglicol e enzima). Se a especificidade não pudesse ser determinada de maneira clara, a amostra sanguínea era enviada ao nosso laboratório imuno-hematológico de referência para análises adicionais. Os resultados, tanto da triagem de anticorpos quanto da identificação, foram válidos por 72 horas (um episódio de transfusão). Foi realizada prova cruzada completa, incluindo uma fase antiglobulina indireta.

### Análise estatística

Os dados foram avaliados usando análises estatísticas descritivas por meio de frequências absolutas e porcentagens, e os resultados foram organizados em tabelas.

## RESULTADOS

### Características dos pacientes

Durante o período do estudo, foram examinados 12.904 pacientes que haviam recebido 77.049 unidades de hemácias. Destes, 3.044 pertenciam à categoria selecionada de pacientes politransfundidos, 227 (7,5%) dos quais desenvolveram aloanticorpos e/ou autoanticorpos. Encontramos mais aloanticorpos em homens do que em mulheres naquela população, incluindo pacientes que já tinham anticorpos eritrocitários antes de sua primeira transfusão nesse hospital. O risco de aloimunização, definido como o número total de aloanticorpos dividido pelo número total de unidades transfundidas, foi 0,3%. A idade dos pacientes não influenciou na taxa de aloimunização.

### Anticorpos eritrocitários

A incidência de formação de anticorpos e as especificidades dos anticorpos estão apresentadas na tabela 1. As especificidades prevalentes de anticorpos encontrados naqueles 227 pacientes politransfundidos foram anti-E > anti-D > anti-K > anti-C > anti-Di<sup>a</sup> > anti-c > anti-Jk<sup>a</sup> > anti-S. Os anticorpos únicos mais prevalentes foram: anti-E (20%), anti-D (12%), anti-K (11%) e anti-C (8%). (Figura 1) Combinações de anticorpos estiveram presentes em 79 (34,8%) pacientes. Quarenta e quatro pacientes (19,4%) tiveram 2 anticorpos; 20 (8,8%) tiveram 3; 6 (2,6%) tiveram 4; 5 (2,2%) tiveram 5; e 4 (1,7%) tiveram mais de 5 anticorpos (Figura 2). As combinações mais frequentes foram encontradas dentro das especificidades do sistema Rh e/ou anti-K e responderam por mais de 20% das combinações de anticorpos (Tabela 2). Quarenta e nove (21,6%) pacientes apresentaram um autoanticorpo IgG isolado ou em combinação com aloanticorpos.

Neste estudo retrospectivo, observamos 57 (3,1%) anticorpos para antígenos de baixa incidência (ABI-Ac) isolados ou em combinação e o anti-Di<sup>a</sup> foi o anticorpo mais prevalente encontrado (Tabela 3). O único ABI-Ac encontrado foi desenvolvido após a primeira transfusão do paciente.

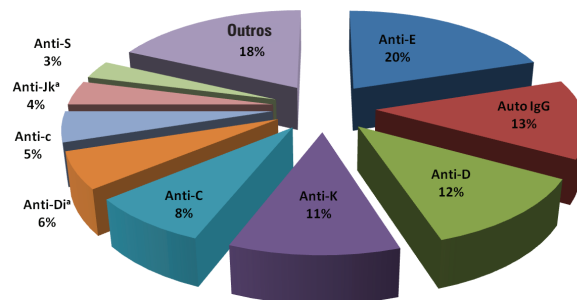


Figura 1. Incidência de hemácias em pacientes com transfusão múltipla no HIAE no período de 2003 a 2009

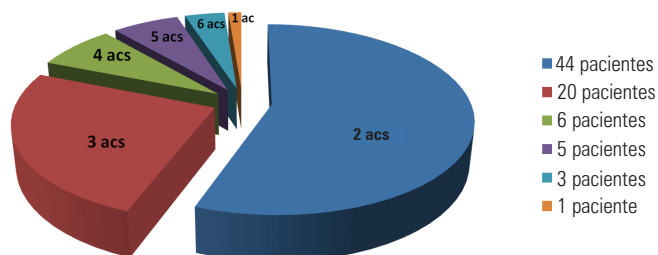


Figura 2. Anticorpos associados em pacientes politransfundidos

Tabela 1. Especificidade e frequência de anticorpo em 227 pacientes aloimunizados

Especificidade do anticorpo	Frequência	
	Número	Porcentagem
E	77	22,06
D	46	13,18
K	41	11,75
C	32	9,17
Diª	21	6,02
c	19	5,44
Jkª	15	4,3
S	11	3,15
Kpª	10	2,86
C <sup>w</sup>	10	2,86
Luª	7	2
Jsª	6	1,72
M	6	1,72
Hi	6	1,72
I	5	1,43
Fyª	5	1,43
G	5	1,43
P <sub>1</sub>	5	1,43
Leª	4	1,17
e	3	0,86
Yt <sup>b</sup>	3	0,86
V	3	0,86
Jk <sup>b</sup>	2	0,57
N	2	0,57
Co <sup>b</sup>	2	0,57
Goª	1	0,29
H	1	0,29
f	1	0,29
Total	349	100

**Tabela 2.** Especificidades combinadas de anticorpo encontradas em 28 pacientes

Especificidade do anticorpo	Pacientes
Anti-E, -C <sup>w</sup>	1
Anti-E, -K	1
Anti-E, -Jk <sup>a</sup>	1
Anti-E, -Le <sup>a</sup>	1
Anti-D, -C	1
Anti-C, -e	1
Anti-C, -Le <sup>a</sup>	1
Anti-c, -Kp <sup>a</sup>	1
Anti-D, -C, -E	2
Anti-E, -K, -Lu <sup>a</sup>	1
Anti-E, -C <sup>w</sup> , -Di <sup>a</sup>	1
Anti-e, -K, -Fy <sup>a</sup>	1
Anti-D, -C, -E, -S	2
Anti-E, -c, -Jk <sup>a</sup> , -Fy <sup>a</sup>	1
Anti-D, -C, -E, -Jk <sup>a</sup>	1
Anti-E, -c, -C <sup>w</sup> , -Di <sup>a</sup>	1
Anti-E, -Jk <sup>b</sup> , -Di <sup>a</sup> , -Yt <sup>b</sup>	1
Anti-E, -c, -S, -P1, -Co <sup>b</sup>	1
Anti-D, -E, -C <sup>w</sup> , -Kp <sup>a</sup> , -Js <sup>a</sup>	1
Anti-E, -c, -K, -Kp <sup>a</sup> , -H	1
Anti-E, -K, -Jk <sup>a</sup> , -S, -Di <sup>a</sup>	1
Anti-D, -C, -E, -Le <sup>a</sup> , -Co <sup>b</sup>	1
Anti-E, -C <sup>w</sup> , -K, -Kp <sup>a</sup> , -Lu <sup>a</sup> , -I	1
Anti-C, -E, -K, -Jk <sup>a</sup> , -S, -Di <sup>a</sup>	1
Anti-D, -C, -E, -K, -Jk <sup>a</sup> , -V	1
Anti-C, -Kp <sup>a</sup> , -Js <sup>a</sup> , -Di <sup>a</sup> , -Lu <sup>a</sup> , -Go <sup>a</sup> , -V	1

## DISCUSSÃO

Este estudo retrospectivo foi conduzido a fim de determinar a incidência de formação de anticorpos após transfusão de hemácias. Demonstramos 349 anticorpos inesperados em 3.044 pacientes caracterizados como politransfundidos.

Nenhuma influência da idade foi demonstrada; entretanto, foi observada maior prevalência de aloimunização entre homens, com uma proporção de 1,5 homens para 1 mulher. A alta prevalência de anticorpos dentro da população masculina foi inesperada, levando em conta que a gravidez como estímulo de aloimunização não seja considerada um fator<sup>(1,3,6)</sup>. Como mencionado, a maioria dos anticorpos detectados nos pacientes masculinos já existia antes, e a maioria dos pacientes apresentava histórico anterior de cirurgia. De todos os pacientes, 7,5% formaram anticorpos após transfusões consecutivas, e 35% daqueles mostraram uma combinação de dois ou mais anticorpos. Anticorpos com o sistema Rh (anti-E, -D, -C) combinados com anti-K foram as especificidades mais comuns encontradas. Anti-E esteve implicado em 16/20 pacientes com múltiplos anticorpos.

**Tabela 3.** Baixa incidência de anticorpo (ABI-Ac) especificidade única ou combinada encontrada em 44 pacientes

Especificidade ABI-Ac		Pacientes
ABI-Ac	Anticorpos associados	
C <sup>w</sup>		1
C <sup>w</sup>	E	2
C <sup>w</sup>	E + K	1
C <sup>w</sup>	E + c	1
C <sup>w</sup>	E + c + Di <sup>a</sup>	1
C <sup>w</sup>	E + Di <sup>a</sup> + auto IgG	1
C <sup>w</sup>	D + E + Kp <sup>a</sup> + Js <sup>a</sup>	1
C <sup>w</sup>	E + K + Kp <sup>a</sup> + Lu <sup>a</sup> + I	1
C <sup>w</sup>	c + Jk <sup>b</sup> + auto IgG	1
Di <sup>a</sup>		4
Di <sup>a</sup>	E	2
Di <sup>a</sup>	C	1
Di <sup>a</sup>	G	1
Di <sup>a</sup>	S	1
Di <sup>a</sup>	Lu <sup>a</sup>	1
Di <sup>a</sup>	Fya	1
Di <sup>a</sup>	E + Kp <sup>a</sup>	1
Di <sup>a</sup>	C + S	1
Di <sup>a</sup>	C + E	1
Di <sup>a</sup>	E + K + Jk <sup>a</sup> + S	1
Di <sup>a</sup>	E + Jk <sup>b</sup> + Yt <sup>b</sup> + auto IgG	1
Di <sup>a</sup>	C + E + K + Jk <sup>a</sup> + S	1
Di <sup>a</sup>	C + Kp <sup>a</sup> + Js <sup>a</sup> + Lu <sup>a</sup> + Go <sup>a</sup> + V	1
Kp <sup>a</sup>	c	1
Kp <sup>a</sup>	K	1
Kp <sup>a</sup>	E + K	1
Kp <sup>a</sup>	E + V	1
Kp <sup>a</sup>	E + K + auto IgG	1
Kp <sup>a</sup>	E + c + K + H	1
Lu <sup>a</sup>		3
Lu <sup>a</sup>	E + K + auto IgG	1
Js <sup>a</sup>		1
Js <sup>a</sup>	E	1
Js <sup>a</sup>	E + K	1
Js <sup>a</sup>	E + auto IgG	1
Yt <sup>b</sup>		2

ABI-Ac: antígenos de baixa incidência.

Os anticorpos Kidd representaram 5% dos anticorpos encontrados (17 pacientes) e foram mais frequentes que anti-Fy<sup>a</sup> (5 pacientes). Quinze pacientes desenvolveram anti-Jk<sup>a</sup> logo após a transfusão, sugerindo uma rápida resposta imune primária. Em dois pacientes, a presença de anti-Jk<sup>a</sup> foi demonstrada no eluato, indicando que esses indivíduos provavelmente apresentaram hemólise. Heddle et al. estudaram de modo prospectivo a aloimunização após transfusão em 2.082 pacientes e encontraram 32 novas especificidades de anticorpos RH, K, FY, JK ou MNS, dos quais 9 (28%) foram anti-Jk<sup>a</sup>, detectados após um tempo mediano de 4 dias (intervalo de 1 a 94 dias) após a



transfusão. Foi encontrado um teste antiglobulina positivo em 31% dos pacientes recentemente aloimunizados. Apenas três pacientes demonstraram hemólise, dos quais um foi um caso anti-Jk<sup>a</sup>(13). Schonewille et al. identificaram 2,8% de anti-Kidd em 1.795 pacientes com 2.257 anticorpos(14).

Esses achados diferem daqueles encontrados por Schonewille et al. a respeito da aloimunização ao antígeno Fy<sup>a</sup>. Foi encontrada uma prevalência de 1% de anti-Fy<sup>a</sup> enquanto esses autores relataram taxa de 7,3% de anti-Duffy em seu estudo(14).

Vinte pacientes (8,8%) desenvolveram múltiplos anticorpos. Vários estudos relatam a presença de múltiplos anticorpos eritrocitários em pacientes transfundidos cronicamente, com risco aumentado em até quatro vezes de múltiplos anticorpos em comparação ao risco geral de formação de anticorpos(15-20).

A alta incidência de aloimunização eritrocitária encontrada por diferentes autores tem levantado dúvida sobre o fato de esses pacientes que são dependentes de transfusão por um longo período, como os com anemia falciforme ou talassemia, devem receber sangue pareado por antígenos diferentes de ABO e D, na tentativa de evitar a formação de aloanticorpos eritrocitários(21-24). A incidência de aloimunização em pacientes que recebem transfusões eritrocitárias extensas com antígenos pareados foi citada como sendo de 0 a 6,4%. O pareamento estendido de antígenos (por exemplo, c, E e K) para prevenção da formação da maioria dos anticorpos eritrocitários em pacientes cronicamente transfundidos tem sido recomendado para populações selecionadas de pacientes. Alguns relatórios que aplicam essa política mostraram uma queda significativa na taxa de aloimunização e reações hemolíticas transfusionais tardias(25,26).

Neste estudo, tivemos uma alta incidência de autoanticorpos IgG (22% dos pacientes) isolados ou em combinação com aloanticorpos. Uma paciente do sexo feminino desenvolveu um autoanticorpo eritrocitário após uma transfusão sanguínea alogênica e aloimunização, levando a hemólise imune temporária *bystander*. Ela apresentava uma história de duas gestações havia muito tempo e sua triagem de anticorpos era negativa. O anti-c foi identificado no seu soro e eluato. Naquela ocasião, ela recebeu mais duas unidades de sangue compatível com seu fenótipo. O teste direto de antiglobulina foi positivo e um autoanticorpo IgG foi identificado no eluato(27). Vichinsky et al. reconheceram um efeito de hemólise *bystander* em pacientes com hemoglobinopatias, anemia falciforme e talassemia(25).

Cinquenta e sete (3,1%) casos de ABI-Ac, isolado ou em combinação, foram observados. É interessante notar que anti-Di<sup>a</sup> (6%) foi o anticorpo mais prevalen-

te na nossa população. O antígeno Di<sup>a</sup> é um antígeno de baixa incidência encontrado predominantemente em povos indígenas e asiáticos. O anti-Di<sup>a</sup> tem sido implicado em graves reações transfusionais imediatas ou tardias; entretanto, o encontro de sangue compatível nos casos de presença desse anticorpo não é um problema(28). Em 16 pacientes, anti-Di<sup>a</sup> foi encontrado associado a outros anticorpos. Segundo Schonewille et al., a prevalência de ABI-Ac variou entre 0,3 e 10% e eles não encontraram anti-Di<sup>a</sup>. Anti-Wr<sup>a</sup> foi o anticorpo encontrado mais frequentemente neste estudo(14).

## CONCLUSÃO

Pacientes politransfundidos têm alta probabilidade de formar aloanticorpos eritrocitários isolados ou em combinação, autoanticorpos, e anticorpos contra antígenos de baixa incidência, e nossos achados são consistentes com muitos estudos publicados anteriormente. O pareamento estendido para antígenos de RH (C, E, c), K, Fy<sup>a</sup>, e Jk<sup>a</sup> deve ser considerado para esse grupo de pacientes a fim de evitar a aloimunização e reações transfusionais hemolíticas.

## REFERÊNCIAS

1. Fluit CRMG, Kunst VAJM, Drenthe-Schonk AM. Incidence of red cell antibodies after multiple blood transfusion. *Transfusion*. 1990;30(6):532-5.
2. Schonewille H, Haak HL, van Zijl AM. Alloimmunization after blood transfusion in patients with hematologic and oncologic diseases. *Transfusion*. 1999;39(7):763-71.
3. Schonewille H, van de Watering LMG, Loomans DSE, Brand A. Red blood cell alloantibodies after transfusion: factors influencing incidence and specificity. *Transfusion*. 2006;46(2):250-6.
4. Bauer MP, Wiersum-Osselton J, Schipperus M, Vandenbroucke JP, Briët E. Clinical predictors of alloimmunization after red blood cell transfusion. *Transfusion*. 2007;47(11):2066-71.
5. Reid ME. Applications of DNA-based assays in blood group antigen and antibody identification. *Transfusion*. 2003;43(12):1748-57.
6. Tormey CA, Stack G. The persistence and evanescence of blood group alloantibodies in men. *Transfusion*. 2009;49(3):505-12.
7. Rosse WF, Gallagher D, Kinney TR, Castro O, Dosik H, Moohr J, et al. Transfusion and alloimmunization in sickle cell disease. *Blood*. 1990;76(7):1431-7.
8. Giblet ER. A critique of the theoretical hazard of inter vs. intra-racial transfusion. *Transfusion*. 1961;1:233-8.
9. Tormey CA, Fisk J, Stack G. Red blood cell alloantibody frequency, specificity and properties in a population of male military veterans. *Transfusion*. 2008;48(10):2069-76.
10. Blumberg N. Beyond ABO and D antigen matching: how far and for whom. *Transfusion*. 1990;30(6):482-4.
11. Vamvakas EC, Blajchman MA. Blood still kills: six strategies to further reduce allogeneic blood transfusion related mortality. *Transfus Med Rev*. 2010;24(2):77-124.

12. Brand A, Schonewille H. Does an alloimmune response to strong immunogenic red blood cell antigens enhance a response to weaker antigens. *Transfusion*. 2008;48(5):958-63.
13. Heddle NM, Soutar RL, O'Hoski PL, Singer J, McBride JA, Ali MA, et al. A prospective study to determine the frequency and clinical significance of alloimmunization post transfusion. *Br J Hematol*. 1995;91(4):1000-5.
14. Schonewille H, van Zijl AM, Wijermans PW. The importance of antibodies against low incidence RBC antigens in complete and abbreviated cross-matching. *Transfusion*. 2003;43(7):939-44.
15. Redman M, Reagn F, Contreras M. A prospective study of the incidence of red cell alloimmunization following transfusion. *Vox Sang*. 1996;71(4):216-20
16. Brantley SG, Ramsey G. Red cell alloimmunization in multitransfused HLA-typed patients. *Transfusion*. 1988;28(5):463-6.
17. Blumberg N, Peck K, Avila E. Immune response to chronic red blood cell transfusion. *Vox Sang*. 1983;44(4):212-7.
18. Fluit CR, Kunst VA, Drenthe-Schonk AM. Incidence of red cell antibodies after multiple blood transfusion. *Transfusion*. 1990;30(6):532-5
19. Schonewille H, Haak HL, van Zijl AM. Alloimmunization after blood transfusion in patients with hematologic and oncologic diseases. *Transfusion*. 1999;39(7):763-71.
20. Vichinsky EP, Earles A, Johnson RA, Hoag MS, Williams A, Lubin B. Alloimmunization in sickle cell anemia and transfusion of racial unmatched blood. *N Engl J Med*. 1990;322(23):1617-22.
21. Blumberg N, Ross K, Avilla E, Peck K. Should chronic transfusion be matched for antigen other than ABO and Rh0(D)? *Vox Sang*. 1984;47(3):205-8.
22. Spanos T, Karageorga M, Ladis V, Peristeri J, Hatziliami A, Kattamis C. Red cell alloantibodies in patients with thalassemia. *Vox Sang*. 1990;58(1):50-5.
23. Moreira G Jr, Bordin JO, Kuroda A, Kerbauy J. Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease; the influence of racial and antigenic pattern differences between donors and recipients in Brazil. *Am J Hematol*. 1996;52(3):197-200.
24. Tahhan HR, Holbrook CT, Braddy LR, Brewer LD, Christie JD. Antigen-matched donor blood in the transfusion management of patients with sickle cell disease. *Transfusion*. 1994;34(7):562-9.
25. Vichinsky EP, Luban NL, Wright E, Olivieri N, Driscoll C, Pegelow CH, Adams RJ; Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia. Prospective RBC phenotype matching in a stroke prevention trial in sickle cell anemia: a multicenter transfusion trial. *Transfusion*. 2001;41(9):1086-92.
26. Young PP, Uzielo A, Trulock E, Lublin DM, Goodnough LT. Autoantibody formation after alloimmunization: are blood transfusions a risk factor for autoimmune hemolytic anemia? *Transfusion*. 2004;44(1):67-72.
27. Mota M, Bley C, Aravechia AG, Hamerschlak N, Sakashita A, Kutner JM, et al. Autoantibody formation after alloimmunization inducing bystander immune hemolysis. *Immunohematology*. 2009;25(1):9-12.
28. Poole J. The Diego blood group system – an update. *Immunohematology*. 1999;15(4):135-41.