

TESTE DE HAM OU TESTE DA ACIDIFICAÇÃO DO SORO⁽¹⁾

Paulo Cesar Naoum

Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto, SP

PRINCÍPIO:

Os eritrócitos da pessoa suspeita de ter HPN (Hemoglobinúria Paroxística Noturna) são expostos às reações com soro normal e soro inativado a 37°C, sem acidificação e com acidificação. Se houver hemólise (geralmente moderada a intensa) no tubo contendo os eritrócitos suspeitos de HPN e com soro normal acidificado, o teste será considerado positivo para HPN.

REAGENTE:

HCl 0,2N (1,6 ml de HCl q.s.p. 100 ml de H₂O destilada)

AMOSTRAS DE SANGUE:

1- Sangue (3 ml) da pessoa com suspeita de ser portadora de HPN, coletado com anticoagulante (EDTA, heparina, etc). Deve ser lavado três vezes com solução salina 0,8% e, em seguida, o volume de eritrócitos deve ser dobrado com a adição da mesma solução salina, por exemplo: 1,0 ml de eritrócitos + 1,0 ml de solução salina (**Eritrócitos suspeito de HPN diluídos a 50% = E/HPN 50%**).

2- Sangue “normal” (valores hematimétricos normais) 3 ml, coletado com o mesmo anticoagulante. Fazer o mesmo procedimento de lavagem e diluição descrito no item 1. (**Eritrócitos normais diluídos a 50%= E/Normal 50%**). *Observação importante: o grupo sanguíneo ABO deve ser o mesmo que o da pessoa com suspeita de ser portadora de HPN.*

3- Soro “normal”(de pessoa que não seja suspeita de ter HPN). *Observação importante: este soro não pode ser da pessoa suspeita de HPN e independe de grupo sanguíneo ABO.*

4- Soro inativado”. Use uma parte do soro “normal” acima (ex.: 1,0 ml). Para inativa-lo coloque o tubo que o contém a 56°C por 20 minutos, tempo suficiente para desnaturar proteínas e anticorpos séricos.

MÉTODO

a) Numerar seis tubos de 1 a 6. Os tubos 1, 2 e 3 serão os tubos testes. Os tubos 4, 5 e 6 serão os tubos controles.

b) Proceder conforme a instrução técnica abaixo:

Reagentes/Amostras	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Tubo 6
Soro normal	0,5 ml	0,5 ml	0	0,5 ml	0,5 ml	0
Soro normal inativado	0	0	0,5 ml	0	0	0,5 ml
HCl 0,2N	0	0,05 ml	0,05 ml	0	0,05 ml	0,05 ml
E/HPN 50%	0,05 ml	0,05 ml	0,05 ml	0	0	0
E/Normal 50%	0	0	0	0,05ml	0,05ml	0,05 ml

c) Homogenizar levemente cada tubo e coloca-los em banho-maria a 37°C por uma hora.

d) Após a incubação acima centrifugar os seis tubos e observar se há hemólise.

INTERPRETAÇÃO

Tubos	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Tubo 6
Hemólise Normal	-	-	-	-	-	-
Hemólise HPN	+	+++	-	-	-	-

REFERÊNCIA

1- DACIE JV; LEWIS SM- Practical Haematology. Churchill Livingstone Publisher, Edinburgh, 8th edition, 1995, pg: 289-290.