

Frequência de Anticorpos Eritrocitários em Amostras de Doadores de sangue do Estado do Amapá coletadas no Hemocentro Coordenador-HEMOAP

Clayton J. T. Pinheiro

INTRODUÇÃO

A imuno-hematologia consiste em uma especialidade que estuda a classificação dos grupos sanguíneos através de reações imunológicas entre aglutinógenos e anticorpos, definindo as propriedades e reações imunológicas entre os mesmos. A imuno-hematologia encontra-se intimamente relacionada com a medicina transfusional, envolvendo a transfusão de componentes sanguíneos e derivados. Através da realização de exames laboratoriais, avaliação dos resultados e de procedimentos adicionais ela fornece instrumentos necessários para o estudo da patogênese, diagnóstico, prevenção e conduta em situações de imunização (sensibilização) associada à transfusão, gestação e transplante de órgãos (HENRY, 1999). A pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) é rotineiramente utilizada para identificação de anticorpos clinicamente significantes ou não que possam estar presentes no soro de doadores e potenciais receptores de transfusões sanguíneas e consiste na aplicação da técnica indireta da antiglobulina, excluindo-se o ABO. O significado clínico dos anticorpos detectados dependerá da temperatura de reação, potência (grau de reatividade), classe de imunoglobulina e capacidade de ativação do sistema complemento. Geralmente, o anticorpo clinicamente significativo é reativo a 37° C e/ou fase de antiglobulina humana, portanto, sendo anticorpos de classe IgG ou IgM de grande amplitude térmica (GIRELLO, 2011). A identificação dos anticorpos, previamente detectados nos exames de triagem, é realizada através da testagem de um painel de 11 hemácias reagentes contra o soro do receptor utilizando o teste de Coombs indireto. No Brasil, as maiores produtoras fornecem painéis de células reagentes com 11 células, com o objetivo de atingir um intervalo de confiança de 99% na identificação de muitos dos anticorpos comumente encontrados (AABB, 1999). Entretanto, como é difícil assegurar que tenhamos no painel 3 células positivas ou negativas para cada um dos antígenos (Girello, 2002), células adicionais podem ter que ser testadas, e deverão ser obtidas de outros painéis ou células selecionadas, para uma melhor determinação da possível especificidade de certos anticorpos, particularmente aqueles dirigidos contra antígenos de baixa ou alta frequência.

OBJETIVOS

O estudo consistiu na avaliação imuno-hematológica consistindo na identificação e frequência de auto-anticorpos em doadores de sangue.

CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS

Foi avaliado um grupo de 53 doadores de sangue entre homens e mulheres de diversas etnias, atendidos pelo Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá durante o período compreendido entre Janeiro de 2010 e Dezembro de 2011. Os doadores passaram por todo o fluxo preconizado pela RDC 57 que rege a Política Nacional de Sangue Humano.

OBTENÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

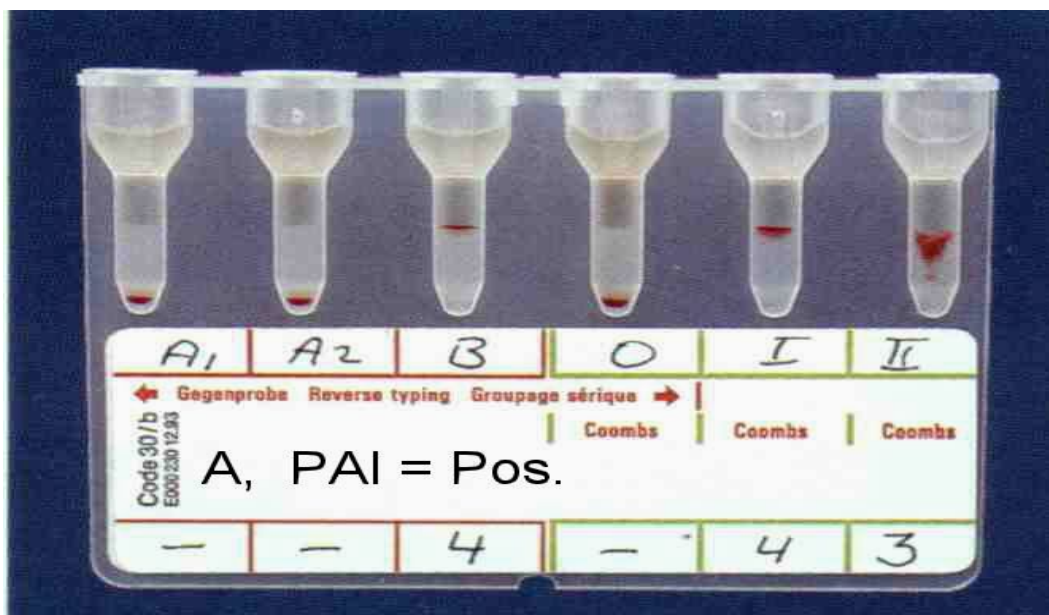
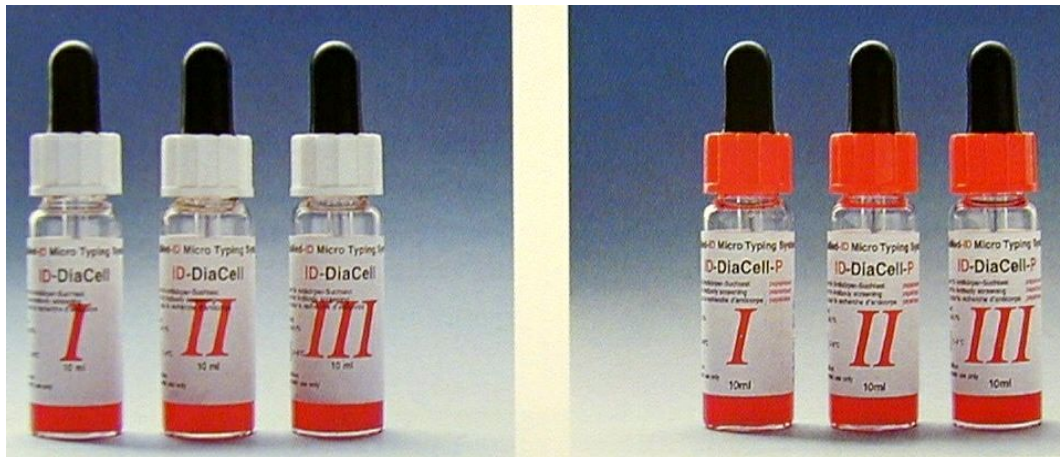
As amostras utilizadas para os exames foram obtidas através das técnicas convencionais de flebotomia, obtendo-se plasma de sangue total em tubo contendo anticoagulante tripotássico (EDTA K3) o qual foi destinado para a pesquisa e identificação dos anticorpos irregulares.

MÉTODOS

1 - PESQUISA DE ANTICORPOS IRREGULARES

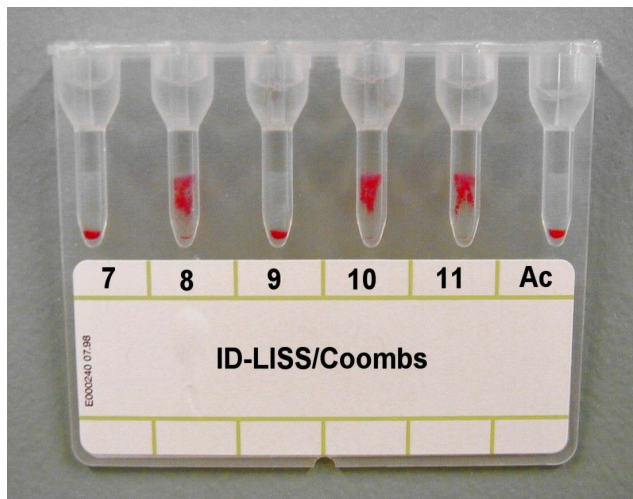
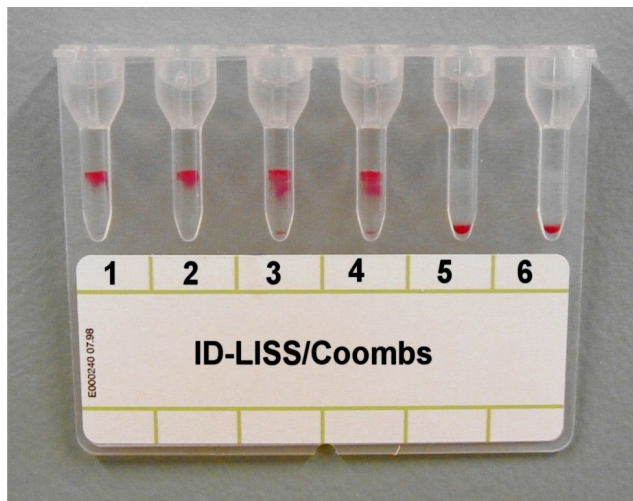
Realizada através da técnica de microplacas que consiste em executar a reação antígeno-anticorpo utilizando o soro ou plasma do doador juntamente com uma solução de hemácias fenotipadas e magnetizadas, dispensando o processo de centrifugação. Foram usadas as hemácias reagentes (Fresenius Kabi) e o plasma do doador (de acordo com protocolo específico) para a Pesquisa de Anticorpos Irregulares e microtubo contendo o soro antiglobulina humana, suspenso no gel (cartão ID-Liss/Coombs-Diamed) e posterior fase de incubação a 37°C para Identificação de Anticorpos Irregulares, após fase de incubação, realizar centrifugação padronizada, leitura e interpretação dos resultados.

Os anticorpos eventualmente presentes no plasma dos doadores se ligarão aos seus respectivos antígenos existentes nas hemácias reagentes durante a fase de incubação. Durante o procedimento de centrifugação a antiglobulina humana, presente no anti-soro reagente, efetuará ligações às frações constantes destes anticorpos, formando um complexo, o qual permanecerá retido na matriz do gel não se sedimentando no fundo do microtubo após o processo de centrifugação, evidenciando uma reação positiva que poderá apresentar diferentes intensidades, de acordo com escala de aglutinação padronizada, variando de 1+ a 4+.



2 - IDENTIFICAÇÃO DE ANTICORPOS IRREGULARES

Realização da técnica indireta de antiglobulina humana, conforme descrito anteriormente na pesquisa de anticorpos irregulares, utilizando-se painel de hemácias de 11 células (ID-Diapanel-Diamed). Posteriormente, os resultados são comparados com o padrão fenotípico constante do antigrama que acompanha os eritrócitos reagentes, para que se encontre uma combinação de resultados que determine a possível especificidade do(s) anticorpo(s). Positivo: reação positiva para as hemácias reagentes. Segue-se comparação dos resultados com o padrão fenotípico constante no antigrama das hemácias reagentes (ID-Diapanel-Diamed) para possível determinação da(s) especificidade(s) do(s) anticorpo(s). Negativo: reação negativa para as hemácias reagentes.



Rh-hr	Donors	Rh-hr			Kell					Duffy			Kidd		Lewis		P		MNSs			Luth		Xg		Special Types	Resultat/Resultat/Resultat LISS/ Coombs Enzym Enzyme 4°C	Bemerkungen Remarks Remarques			
		D	C	E	e	C ^u	K	k	K ^{pa}	K ^{pb}	J ^s	J ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	M	N	S	s	L ^u	L ^b				Xg ^a	Xg ^b	
1	C ^u CD.ee R ₁ ^u R ₁	615836	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0			
2	CCD.ee R ₁ R ₁	615830	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0			
3	ccD.EE R ₂ R ₂	713723	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+				
4	Ccddee r'r	213668	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
5	ccddEe r'r	215211	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		Bg ^a +			
6	ccddeee rr	107599	0	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
7	ccddeee rr	115822	0	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
8	ccD.ee R _{or}	314192	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	+					
9	ccddeee rr	115697	0	0	0	+	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0					
10	CcD.EE R ₂ R ₂	915685	+	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+				
11	ccD.ee R _{or}	313473	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					

ID-DiaPanel-Zellen 1-11 (wenn unter der Rubrik «spezielle Antigene» nicht anders vermerkt) sind: PR: P (T₁) V^u (Vanwayst) Die farblich gekennzeichneten Antigene können im Enzymtest unterdrückt oder zerstört werden. s = stark/strong/fort
 ID-DiaPanel cells 1-11 (except as indicated under «special types») are: Dr: V^w (Wright) W^r (Wright) Shaded columns indicate antigens destroyed or diminished in reactivity by enzyme treatment. w = schwach/weak/faible
 Les hématies ID-DiaPanel 1-11 (exceptées celles qui sont indiquées sous «antigènes particuliers») sont: U Dr: La réaction peut être inhibée avec les anticorps des systèmes MNSs, Duffy et Xg, si les hématies sont traitées aux enzymes protéolytiques. nt = nicht getestet / pas testé

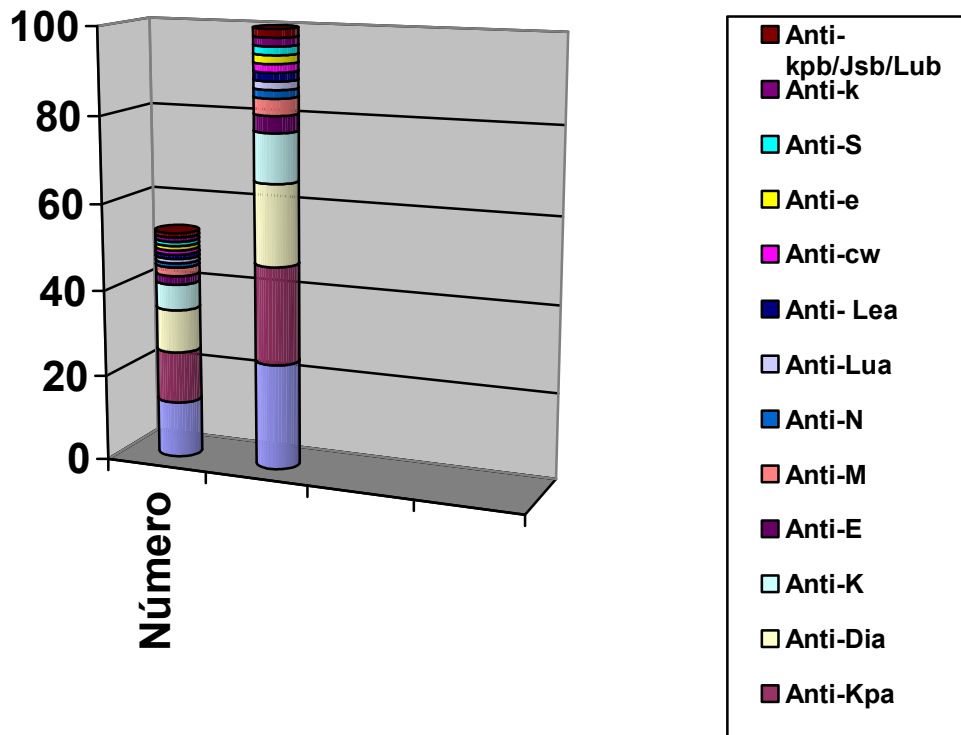
Name/name/nom _____	Blutgruppe + Antigene Bloodgroup + antigens Groupe de sang + antigènes	Interpretation Interpretation Interprétation	Untersuchungsdatum Examined on Date de l'analyse
---------------------	--	--	--

RESULTADOS

Foram testadas 53 amostras PAI positivo do Laboratório de Imuno-hematologia, sendo 34 amostras do período de Janeiro/10 a Dezembro/10 e 19 amostras do período de Janeiro/11 a Dezembro/11. Estes doadores apresentam positividade na pesquisa de anticorpos irregulares (técnica indireta da antiglobulina humana pelo método de microplaca).

Posteriormente, foi efetuada a identificação dos anticorpos, inicialmente detectados no plasma, utilizando-se um painel de hemácias reagentes pela metodologia do gel teste e foram obtidos os seguintes resultados: foram identificados os seguintes aloanticorpos: 13 (24,5%) anti-D, 12 (22,6%) anti-Kpa, 10 (18,8%) anti-Dia, 6 (11,3%) anti-K, 2 (3,8%) anti-E, 2 (3,8%) anti-M, 1 (1,9%) anti-Kpb/Jsb/lub, 1 (1,9%) anti-N, 1 (1,9%) anti-Lua, 1 (1,9%) anti-Lea, 1 (1,9%) anti-cw, 1 (1,9%) anti-e, 1 (1,9%) anti-S e 1 (1,9%) anti-k.

Tabela 1. Avaliação das especificidades dos anticorpos detectados no Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá durante o período de Janeiro de 2010 a Dezembro de 2011.



CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos foi possível observar a incidência de anticorpos c/ significância clínica. Os anticorpos correspondentes aos antígenos do sistema Rh apresentaram maior frequência (32,1%) dos anticorpos detectados, sendo 13 anti-D, 1 anti-E, 1 anti-e e 1 anti-cw. Estes anticorpos reagem otimamente a 37° C e fase de antiglobulina humana (Girello, 2011), ocasionando reações hemolíticas tardias, e às vezes severas, desta forma a utilização deste plasma é inviável. Em 22,6% dos casos o anticorpo detectado foi o anti-Kpa (12 anti-Kpa) do sistema Kell, os quais são reativos a 37° C e fase de antiglobulina humana, podendo ocasionar reações transfusionais (Henry, 1999). Em caráter de observação verifica-se a presença de 10 (18,8%) de anti-Dia que possui alta frequência em índios americanos, japoneses e coreanos sendo raros em caucasóides, e como a região Norte tem como prevalência a etnia indígena, percebe-se a presença significativa desse anticorpo. O índice de auto-anticorpos promove interferências nos exames pré-transfusionais, dificultando a caracterização dos principais antígenos da membrana eritrocitária, sendo

necessário nestas situações o uso de técnicas adicionais (cloroquina e/ou bloqueio) para a dissociação de auto-anticorpos IgG (Perdomo, 2003).

CONSIDERAÇÕES FINAIS.

O monitoramento imuno-hematológico, através da triagem e identificação de aloanticorpos e auto-anticorpos anti-eritrocitários em doadores serve para melhor conhecimento da incidência de anticorpos irregulares que podem ocasionar reações transfusionais inesperadas devido a sua antigenicidade e/ou imunogenicidade e viabilizar o atendimento com a finalidade de estabelecer a homeostase.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FERREIRA, A.W.; ÁVILLA, S.L.M. Diagnóstico Laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 1ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 302p.
- HENRY, J.B. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 19ª ed., São Paulo: Manole, 1999. 1552p.
- GIRELLO, A.L. Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária. 3ª ed., São Paulo: SENAC, 2011. 205p.
- ANTONIO JR, F. Indicações e cuidados nas transfusões de hemocomponentes e hemoderivados. São Paulo: JC Line, 2001. 37p.
- L. MELO; J.A. SANTOS. "Sistema Rh", em STD, vol. 5, Belo Horizonte, 1996.
- VENGELEN- TEYLER V. Technical Manual 12 ed. Bethesda, American Association of Blood Banks, 1996. p 135-56..
- RUIZ, LEONARDO G. PLAZAS. Frecuencia de Auto-Anticorpos e Alo-Anticorpos em Pacientes Politransfundidos atendidos pelo Hemonúcleo de Cantaduva (Hemorrede-Funfarme). 2002.