

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO

RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

Autor(es): RAFAEL CÂNDIDO ALVES AGUIAR, DÉBORA CRISTINA DE JESUS MOTA

Avaliação da Validação da Pesquisa de Anticorpos Irregulares no Hemocentro Regional de Montes Claros

Introdução

A identificação dos antígenos eritrocitários e a definição de sua importância na prática transfusional e na doença hemolítica do recém-nascido ocorreram na primeira metade do século XX, caracterizando avanços em pesquisas na área médica. De acordo com a Sociedade Internacional de Transfusão de Sangue (ISBT), existem cerca de 340 antígenos, 308 dos quais são agrupados em 36 sistemas de grupos sanguíneos, sendo que continuam ocorrendo muitos progressos no entendimento e na análise estrutural e funcional dos antígenos expressos em hemácias e em tecidos não-eritróides (ISBT, 2016).

Quando o indivíduo é exposto a substâncias estranhas ao organismo, como os antígenos eritrocitários, pode ocorrer ativação do sistema imune com formação de anticorpos irregulares, surgindo como resposta a estes antígenos contidos em hemocomponentes transfundidos. Os anticorpos irregulares ocorrem em aproximadamente 0,3 a 2,0% da população em geral e podem ser encontrados no soro/plasma dos indivíduos ou ligados à membrana eritrocitária. Após a constatação da presença de anticorpos irregulares, deve-se identificar a especificidade destes utilizando-se painel de hemácias com fenótipos conhecidos nos sistemas imunogênicos (GIRELLO, KÜHN, 2002; BRECHER, 2005).

A pesquisa de anticorpos anti-eritrocitários irregulares (PAI) deve ser realizada no sangue de doadores utilizando métodos capazes de detectar a presença de anticorpos relevantes clinicamente, conforme determinam a Resolução nº 34, de 11 de junho de 2014 e a Portaria nº 158, de 04 de fevereiro de 2016, as quais aprovam o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. (BRASIL, 2014; BRASIL, 2016)

A ocorrência de resultados negativos quando a concentração do anticorpo está abaixo de limites detectáveis representa limitação ao teste de detecção de anticorpos. Geralmente, isto ocorre em pessoas idosas ou naquelas não expostas ao antígeno correspondente. (HARMENING, 2006).

O presente estudo teve como objetivo analisar a validação da PAI através da utilização do reagente Controle de *Coombs*, em amostras sanguíneas de doadores que compareceram ao Hemocentro Regional de Montes Claros no período de março de 2015 a agosto de 2016, bem como investigar possíveis causas para a não validação dos testes e discutir modos para minimizar divergências nos resultados.

Material e métodos

Trata-se de um estudo de natureza observacional, retrospectiva e prospectiva, que apresentou procedimentos de caráter documental, desenvolvido no Laboratório de Imunohematologia do Hemocentro Regional de Montes Claros – MG. Para a coleta de dados foram utilizadas informações acerca dos resultados da validação da pesquisa de anticorpo irregular dos doadores de sangue, catalogadas nas planilhas “Serviço de imunohematologia” e “Validação da pesquisa de anticorpos irregulares” no período compreendido entre 2015 e 2016. Realizou-se a análise descritiva utilizando uma planilha por meio do programa Microsoft Office Excel versão 2010. O desenvolvimento da pesquisa foi de acordo com a Resolução CNS (Conselho Nacional de Saúde) 196/96, após consentimento do responsável pelo hemocentro e aprovação do comitê de ética em pesquisa das Faculdades Integradas do Norte de Minas, sob o número 7468116.0.3001.5118.

Resultados e discussão

O Hemocentro Regional de Montes Claros-MG é responsável por toda demanda transfusional, pública e privada, da macrorregião do norte de Minas. Atende em média cerca de 2000 candidatos a doação por mês, onde são coletadas cerca de 1500 bolsas de sangue/mês. De acordo com a Portaria nº 158, de 04 de fevereiro de 2016 e a Resolução nº 34, de 11 de junho de 2014 a pesquisa de anticorpos irregulares deve ser realizada no sangue de doadores, a cada doação, utilizando métodos capazes de detectar a presença de anticorpos relevantes clinicamente. Essa técnica é desenvolvida no Laboratório de Imunohematologia que participa do controle de qualidade externo da Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia com resultados gerenciados e satisfatórios, além de possuir protocolo de controle de qualidade interno diário. A PAI dos doadores de sangue é feita conforme procedimento operacional padrão, em centrífugas calibradas e validadas para lavagem e leituras dos resultados, sendo executada pela metodologia em tubo, utilizando polietilenoglicol como agente potencializador. As leituras de aglutinação são realizadas a partir da adição do

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO

RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

soro de antiglobulina humana (AGH) e, depois de verificado resultado negativo, estes são validados empregando o reagente controle de *Coombs*. Caso alguma amostra não seja validada, repete-se o teste.

Foram levantados dados de fevereiro de 2015 a agosto de 2016, por um período de 19 meses entre os dois anos. Durante este período foram realizados 24.136 testes de pesquisa de anticorpos irregulares, onde 853 testes não validaram após a adição das hemácias controle de *Coombs*, o que correspondeu a 3,53% dos testes realizados, observado na Figura 1.

Vários fatores podem influenciar a não validação do teste de *Coombs* indireto, e esses fatores somados a uma extensa rotina pode ocasionar falsos resultados na pesquisa de anticorpos irregulares.

Segundo Harmening (2006), cada etapa do teste deve ser executada cuidadosamente a fim de garantir resultados fidedignos. A incubação das hemácias com antissoros permite que as moléculas de anticorpo se liguem ao antígeno presente na membrana das hemácias, sendo importante monitorar a temperatura ideal de incubação do teste que é ótima a 37°C para maior parte dos anticorpos IgG.

Outro fator que também pode contribuir para não validação dos testes é a lavagem com salina para retirar todas as globulinas livres residuais que podem neutralizar o reagente de AGH (HARMENING, 2006).

Diante de uma rotina muito extensa, o executante da técnica pode não perceber que as três lavagens obrigatórias foram realizadas e seguir para a próxima etapa sem concluir a lavagem adequada das hemácias. É fundamental descartar todo o sobrenadante depois da lavagem final e proceder com a secagem dos tubos, pois o restante de salina dilui o reagente de AGH e diminui a sensibilidade do teste.

Foi observado durante a pesquisa que após a não validação de alguns testes e realizada a repetição dos mesmos isoladamente, não foi constatado a validação sendo necessário outra repetição até que essa amostra validasse. Esse fato levanta a possibilidade de outras interferências além das conhecidas e discutidas, uma vez que a repetição foi realizada isoladamente analisando criticamente todas as etapas do processo.

Foram levantados também os dados referentes à intensidade de aglutinação dos testes validados. 535 testes aglutinaram com traços, o que corresponde a 2,2% dos testes realizados; 1.853 testes aglutinaram com intensidade de 1+, equivalente a 7,7% do total de testes realizados no período avaliado; 18.812 testes aglutinaram com intensidade de 2+, correspondendo a 77,9% do total de testes; 2.897 testes aglutinaram com 3+, o que equivale a 12% dos testes; e 39 testes aglutinaram com 4+ correspondendo a 0,2% dos testes, conforme ilustra a Figura 2.

Os resultados obtidos quanto à intensidade de aglutinação em que a maioria dos testes aglutinaram com 2 ou 3+, estão em conformidade com a bula do reagente utilizado, a qual estabelece essa como sendo a graduação especificada.

Considerações finais

O baixo percentual de resultados não validados ratifica que o teste de validação antiglobulínico é um bom método para confirmar o resultado da pesquisa de anticorpos irregulares. Além disso, o resultado negativo, quando presente, pode ser ocorrer devido a interferentes relacionados ao processo que influenciam a técnica.

Agradecimentos

Agradecemos ao Hemocentro Regional de Montes Claros - MG e aos servidores do Laboratório de Imunohematologia do doador: Adenilson Teixeira de Melo, Maria Eunice Gonçalves Lima e Antônio Carlos Dias Souto; e da Farmácia: Anne Carolline Amaral Batista.

Referências bibliográficas

- SBT – Blood Group Allele Terminology [monograph on the internet]. Disponível em: <http://www.isbtweb.org/working-parties/red-cell-immunogenetics-and-blood-group-terminology/blood-group-terminology/blood-group-allele-terminology/>. Acesso em: 11/05/2016
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 158 de 04 de fevereiro de 2016. **Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos**. Brasília, 2016. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 11 nov. 2016.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Resolução nº 34 de 11 de junho de 2014. **Dispõe sobre as boas práticas no Ciclo da Sangue**. Brasília, 2014. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 03 fev. 2016.
- BRECHER, M. E. (ed). **Technical manual of American Association of Blood Banks**. 15. ed., Copyright 2005 Bethesda, Maryland USA.
- GIRELLO, A. L.; KÜHN T. I. B. **Fundamentos de imuno-hematologia eritrocitária**. São Paulo: Editora SENAC São Paulo; 2002.
- HARMENING, D.M. **Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão**. 4. ed., Rio de Janeiro: Revinter, 2006.



Figura 1: Quantitativo da Pesquisa e Validação de Anticorpos Irregulares. Hemocentro Regional de Montes Claros, Brasil, Fevereiro/2015 a Agosto/2016.

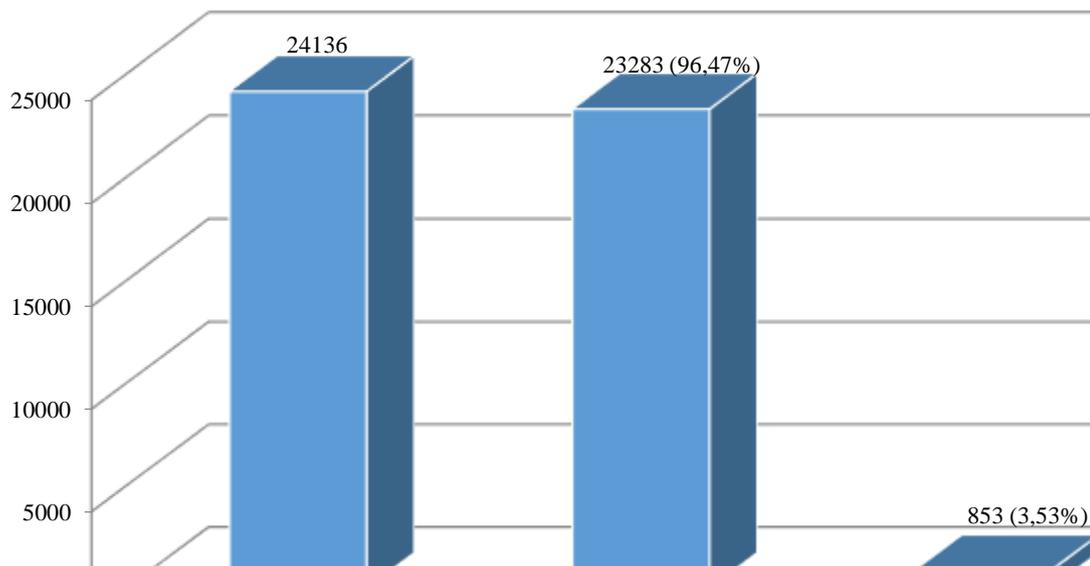


Figura 2: Intensidade de aglutinação da Pesquisa de Anticorpos Irregulares. Hemocentro Regional de Montes Claros, Brasil, Fevereiro/2015 a Agosto/2016.

