

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

Validation Assessment of Irregular Antibodies Investigation at the Regional Blood Center in *Montes Claros* City

Evaluación de la Validación de la Búsqueda de Anticuerpos Irregulares em la Región Hemocentro de Montes Claros

Karina Marini Aguiar^{1*}; Débora Cristina de Jesus Mota²; Larúbia Cordeiro Rocha³; Caroline Nogueira Maia e Silva⁴; Giovani de Souza Loures⁵; Rafael Candido Alves Aguiar⁶

Como citar este artigo:

Aguiar KM, Mota DCJ, Rocha LC, *et al.* Avaliação da Validação da Pesquisa de Anticorpos Irregulares no Hemocentro Regional de Montes Claros. Rev Fund Care Online.2019.11(n. esp):285-288. DOI: <http://dx.doi.org/10.9789/2175-5361.2019.v11i2.285-288>

ABSTRACT

Objective: The study's purpose has been to assess the validation of irregular antibodies investigation using the Coombs control reagent in blood samples collected over the period from February 2015 to August 2016.

Methods: It is a observational, retrospective and prospective study, which presents technical procedures bearing a documentary character, and that was performed at the Laboratory of Immunohematology from the Regional Blood Center in *Montes Claros*-MG. **Results:** During the research, it was observed that after the non-validation of some tests and its repetition was then performed alone; the validation was not verified and once again a repetition was necessary until this sample was defined as validated. This fact raises the possibility of other interferences beyond those both known and discussed; bearing in mind that the repetition was carried out in isolation and also all stages of the process were performed under scrutiny. **Conclusion:** The low percentage of non-validated results ratifies that the antiglobulin validation test is a good method to confirm the result of the search for irregular antibodies.

Descriptors: Antibodies, Validation, Blood Donors, Coombs' Test.

¹ Biomedicina pela Universidade de Uberaba / Uniube. Minas Gerais. Brasil. Doutoranda em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Montes Claros / Unimontes. Minas Gerais. Brasil. Mestre em Biotecnologia da Universidade Estadual de Montes Claros / Unimontes. Minas Gerais. Brasil. Biomédica. Hemocentro Regional de Montes Claros. Minas Gerais. Brasil. Fundação Hemominas. Hemocentro Regional de Montes Claros. Fundação Hemominas.

² Farmácia pelas Faculdades Integradas do Norte de Minas / Funorte. Minas Gerais. Brasil. Estagiária. Hemocentro Regional de Montes Claros. Minas Gerais. Brasil. Fundação Hemominas. Hemocentro Regional de Montes Claros. Fundação Hemominas.

³ Farmácia pelas Faculdades Integradas do Norte de Minas / Funorte. Minas Gerais. Brasil. Estagiária. Hemocentro Regional de Montes Claros. Minas Gerais. Brasil. Fundação Hemominas. Hemocentro Regional de Montes Claros. Fundação Hemominas.

⁴ Farmácia pela Universidade Federal de Minas Gerais / UFMG. Minas Gerais. Brasil. Mestre em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Montes Claros / Unimontes. Minas Gerais. Brasil. Farmacêutica/ Bioquímica. Hemocentro Regional de Montes Claros. Minas Gerais. Brasil. Fundação Hemominas. Hemocentro Regional de Montes Claros. Fundação Hemominas.

⁵ Farmácia da Faculdade de Saúde Ibituruna / Fasi. Minas Gerais. Brasil. Bolsista de Iniciação Científica / Fapemig. Hemocentro Regional de Montes Claros. Minas Gerais. Brasil. Fundação Hemominas. Hemocentro Regional de Montes Claros. Fundação Hemominas.

⁶ Farmacêutico/Bioquímico. Hemocentro Regional de Montes Claros. Minas Gerais. Brasil. Fundação Hemominas. Hemocentro Regional de Montes Claros. Fundação Hemominas.

Apoio financeiro: FAPEMIG.

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Funorte:
nº 7468116.0.3001.5118.

Avaliação da validação da pesquisa de anticorpos irregulares no Hemocentro Regional de Montes Claros. No ano 2016. Apresentado na Faculdades Integradas do Norte de Minas – FUNORTE.

RESUMO

Objetivo: Analisar a validação da pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) através da utilização do reagente Controle de *Coombs* em amostras sanguíneas coletadas de Fevereiro de 2015 à Agosto de 2016. **Métodos:** Estudo de natureza observacional, retrospectiva e prospectiva, apresentando procedimentos técnicos de caráter documental, a ser realizado no Laboratório de Imunohematologia do Hemocentro Regional de Montes Claros - MG. **Resultados:** 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. **Conclusão:** 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.

Descritores: Anticorpos, Validação, Doadores de Sangue, Teste de *Coombs*.

RESUMEN

Objetivo: Analizar la validación de la detección de anticuerpos irregulares (PAI) mediante el uso del reactivo de control de *Coombs* en muestras de sangre tomadas de Febrero 2015 a Agosto 2016. **Métodos:** Estudio de naturaleza observacional, retrospectivo y prospectivo, con los procedimientos técnicos de carácter documental, que se sucederá em Laboratorio de Inmunohematología del Hemocentro Regional de Montes Claros - MG. **Resultados:** Se observó durante la encuesta que después de la no validación de algunos testes y sucedida la repetición del mismos individuos, no se ha encontrado la validación, por lo tanto requeiendo otra repetición hasta que la validación de la muestra. Esto plantea la posibilidad de interferencia que no sea el conocido y discutido, ya que la repetición se realiza aisladamente el análisis crítico de todos los pasos del proceso. **Conclusión:** El bajo porcentaje de resultados no validados ratifica la prueba de validación antiglobulínico es un buen método para confirmar el resultado de la búsqueda de anticuerpos irregulares.

Descriptorios: Anticuerpos, Validación, Los Donantes de Sangre, Prueba de *Coombs*.

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.¹ De acordo com a Sociedade Internacional de Transfusão de Sangue, 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 aná-

lise estrutural e funcional dos antígenos expressos em hemácias e em tecidos não-eritróides.¹

Existem vários tipos de anticorpos irregulares em diferentes formas. Após a descoberta dos grupos sanguíneos, A, B, O em 1900 por Karl Landsteiner, encontrou-se vários antígenos e anticorpos nas membranas dos eritrócitos. Esses anticorpos foram classificados como significativos quando eles aglutinaram os glóbulos vermelhos do sangue, reduzindo a sobrevivência dos mesmos; e insignificante quando aglutinados, pois não afetou a sobrevivência no organismo.²

Esses anticorpos foram nomeados como sistema Rh, Kell, MNs, Lewis, Duffy e Kidd; eles são identificados no soro ou plasma de doadores e em pacientes submetidos a transfusões sanguíneas. Isto, porque cada um desses antígenos têm funções biológicas que são capazes de causar reações aos eritrócitos e quando em contato com o antígeno humano provoca reações imediatas, tardias ou a morte súbita do paciente.³ Os sistemas Rh, MNS e KELL são os mais complexos, e possuem 54, 48 e 35 antígenos, respectivamente.⁴

Quando o indivíduo é exposto a substâncias estranhas ao organismo, como antígenos eritrocitários, pode ocorrer ativação do sistema imune com formação de anticorpos irregulares, surgindo como resposta, antígenos contidos em hemocomponentes transfundidos. Os anticorpos irregulares ocorrem em aproximadamente 0,3 a 2,0% da população em geral, 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.⁵⁻⁶

A 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.⁷⁻⁸

Os anticorpos irregulares ocorrem em até 3% dos pacientes transfundidos, mas, em certos pacientes, esse risco é mais significativo cerca de 7 a 10 % em politransfundidos, 6 a 36% em indivíduos falciformes e 3 a 10% em talassêmicos.⁹ Alguns autores já relataram até mais de 30% de aloimunização nestes pacientes.⁹

A frequência de anticorpos irregulares em população politransfundida mostra a prevalência em pacientes onco-hematológicos, anemia aplástica (AA), leucemia mieloide aguda (LMA) de 11-16%, com doenças crônicas como insuficiência renal crônica (IRC) e hemorragia digestiva alta (HDA), com resultados 11-16%, pacientes com hemoglobinopatias, como a anemia falciforme a aloimunização expresse uma percentagem de 33,4%.¹⁰⁻¹¹

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.¹²

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 Fevereiro 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.

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 nº466/2012 da CNS (Conselho Nacional de Saúde), após consentimento do responsável pelo Hemocentro e aprovação do comitê de ética em pesquisa das Faculdades Integradas do Norte de Minas, sob o número 57468116.0.0000.5141.

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 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**.

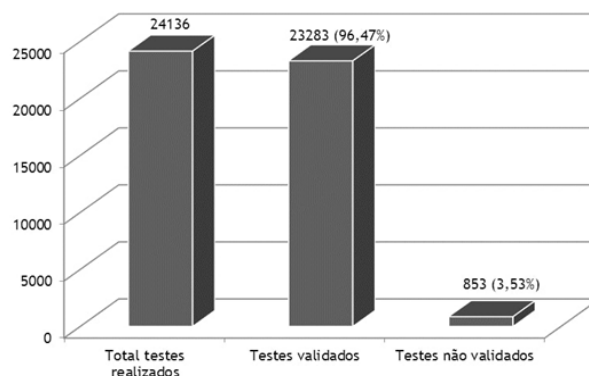


Figura 1 – Quantitativo da Pesquisa e Validação de Anticorpos Irregulares. Hemocentro Regional de Montes Claros, Brasil, Fevereiro/2015 a Agosto/2016.

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**.

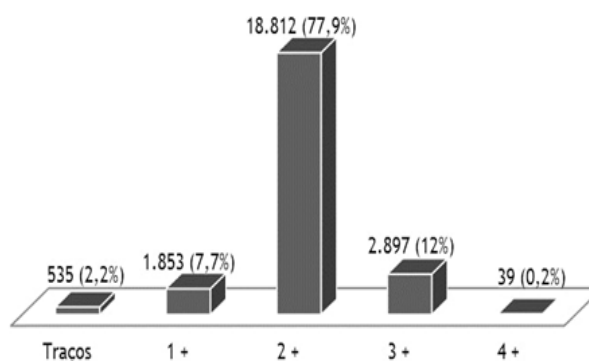


Figura 2 – Intensidade e aglutinação da Pesquisa de Anticorpos Irregulares. Hemocentro Regional de Montes Claros, Brasil, Fevereiro/2015 a Agosto/2016.

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.

Diante dos 853 testes não validados após a adição das hemácias Controle de *Coombs*, correspondendo à 3,53% dos testes realizados, podem ser justificadas por vários fatores que 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.

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.¹²

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.¹²

Frente ao exposto, 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.

Observou-se 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.

CONCLUSÕES

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 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

1. ISBT. Blood Group Allele Terminology [monograph on the internet]. [Acesso em 11 maio 2016]. Disponível em: <http://www.isbtweb.org/working-parties/red-cell-immunogenetics-and-blood-group-terminology/blood-group-terminology/blood-group-allele-terminology/>.
2. Lima PR, Destefani AC. Irregular Antibodies Identified Previously In Blood Transfusions: A Review Of The 21st Century. *Open Science Journal* 2(1); Jan 2017.
3. Castilho L. O futuro da aloimunização eritrocitária. *Ver Bras Hematol Hemoter*. 2008;30(4).
4. Castilho L, PELLEGRINO JÚNIOR J, REID ME. Fundamentos de Imunohematologia. São Paulo: Atheneu; 2015.
5. Brecher ME. Technical Manual of American Association of Blood Banks. 15^o ed. Copyright 2005 Bethesda, Maryland (USA).
6. Girello AL, Kuhn TIB. Fundamentos de imuno-hematologia eritrocitária. São Paulo: Editora SENAC. São Paulo; 2002.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 158 de 04 de fevereiro de 2016. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Brasília, 2016 [Acesso em 11 nov 2016]. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br>.
8. BRASIL, Ministério da Saúde. Resolução nº 34 de 11 de junho de 2014. Dispõe sobre as boas práticas no Ciclo da Sangue. Brasília, 2014 [Acesso em 03 fev 2016]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>.
9. Aguiar KM, Maia CN, Teles LF, Oliveira TRGM, Ruas MO. Identificação de anticorpos irregulares no Hemocentro Regional de Montes Claros, MG. *EFDeportes.com, Revista Digital. Buenos Aires*; Jan 2013.
10. Blumberg N, Peck K, Ross K, Avila E. Immune response to chronic red blood cell transfusion. *Vox Sang*; 1983; 44: 212-17.
11. Coles SM, Klein HG, Holland PV. Alloimmunization in two multitransfused patient Populations. *Transfusion*; 1981; 21: 462-66.
12. Harmening DM. Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão. 4^o ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2006.

Recebido em: 25/04/2017

Revisões requeridas: Não houveram

Aprovado em: 16/05/2017

Publicado em: 15/01/2019

***Autor Correspondente:**

Karina Marini Aguiar

Rua São Vicente de Paula, 186
Roxo Verde, Minas Gerais, Brasil

E-mail: k_marini@hotmail.com

Telefone: +55 38 3221-9994

CEP: 39.400-370