

JÚLIA MARQUES MONTEIRO

**TESTES IMUNOHEMATOLÓGICOS PRÉ-TRANSFUSÃO
SANGUÍNEA**

A IMPORTÂNCIA DA REALIZAÇÃO DO ABO/RhD, PESQUISA
DE ANTICORPO IRREGULAR E TESTE DE
COMPATIBILIDADE NO RECEPTOR DE
HEMOCOMPONENTE

JÚLIA MARQUES MONTEIRO

**TESTES IMUNOHEMATOLÓGICOS PRÉ-TRANSFUSÃO
SANGUÍNEA**

A IMPORTÂNCIA DA REALIZAÇÃO DO ABO/RhD, PESQUISA
DE ANTICORPO IRREGULAR E TESTE DE
COMPATIBILIDADE NO RECEPTOR DE
HEMOCOMPONENTE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade Pitágoras, como requisito parcial para a
obtenção do título de graduado em Biomedicina.

Orientador: Regiane Costa.

JÚLIA MARQUES MONTEIRO

**TESTES IMUNOHEMATOLÓGICOS PRÉ-TRANSFUSÃO
SANGUÍNEA**

A IMPORTÂNCIA DA REALIZAÇÃO DO ABO/RhD, PESQUISA
DE ANTICORPO IRREGULAR E TESTE DE
COMPATIBILIDADE NO RECEPTOR DE
HEMOCOMPONENTE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade Pitágoras, como requisito parcial
para a obtenção do título de graduado em
Biomedicina.

BANCA EXAMINADORA

Prof(a). Esp. Brendon Ayala da Silva Santos

Belo Horizonte, 16 de novembro de 2022.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pelo dom da vida e por ter me proporcionado chegar até aqui, fazendo com que meus objetivos fossem alcançados durante meus anos de estudo, permitindo que eu tivesse saúde e determinação para não desanimar durante a realização desse trabalho, me guiando para ultrapassar todos os obstáculos encontrados. Agradeço aos meus avós, Maria Antônia e Carlos Alberto, que mesmo com todas as dificuldades me concederam a oportunidade de estudar e ter uma boa formação, devo tudo a vocês. Agradeço aos meus pais, irmãs e familiares pelo apoio, ajuda e incentivo nos momentos difíceis. Agradeço ao meu noivo Bruno, por estar ao meu lado em absolutamente todos os momentos, ouvindo e apoiando meus anseios e acalmando pacientemente minhas ansiedades, obrigada por sonhar junto comigo. Agradeço aos meus amigos que sempre estiveram comigo, em especial minhas amigas de graduação: Ana Julia, Julia e Karen, que convivi intensamente desde o começo compartilhando tantos momentos de estudos, trabalhos, provas, apresentações, estágios. Eu definitivamente não teria conseguido chegar até aqui sem a ajuda e apoio de vocês, obrigada pelo companheirismo e sororidade. Agradeço também ao meu orientador Brendon pelos conselhos e paciência não somente durante a elaboração deste trabalho, mas desde as disciplinas ministradas. Obrigada também a todos os docentes que fizeram parte da minha formação acadêmica. E por fim, agradeço a Faculdade Pitágoras, que apesar das dores de cabeça, foi essencial no meu processo de formação profissional.

MONTEIRO, Júlia Marques. **Testes Imunohematológicos Pré-Transfusão Sanguínea: A Importância da Realização do ABO/RhD, Pesquisa de Anticorpo Irregular e Teste de Compatibilidade em Receptores de Hemocomponente.** 2022. 28 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Faculdade Pitágoras, Belo Horizonte, 2022.

RESUMO

A terapia transfusional está presente no meio medicinal desde o século XVII e consiste na reposição de um hemocomponente ou hemoderivado no organismo de um paciente necessitado, tendo como principal objetivo reduzir a morbimortalidade à oferta inadequada de oxigênio. Para que uma transfusão sanguínea ocorra de forma segura, são realizados testes com intuito de minimizar a possibilidade de intercorrências durante o procedimento. Os processos que precedem e procedem uma transfusão são complexos e devem ser lidados com todo cuidado, pensando nisso, o presente trabalho tem como objetivo esclarecer o que são testes pré-transfusionais e salientar como são realizados, conscientizando sobre a importância de uma boa elaboração para o bem estar e sobrevida do paciente pós transfusão. A metodologia utilizada foi uma revisão literária, com busca em artigos publicados após 2004 nas plataformas de pesquisa Scielo, Pubmed e Google Acadêmico. A partir do estudo realizado, foi possível entender que é de suma importância submeter os receptores de hemocomponente a todos os testes necessários para compatibilidade sanguínea para que não ocorram reações indesejadas, principalmente aqueles que necessitam de transfusão regularmente.

Palavras-chave: Testes pré-transfusionais. História da Transfusão. Tipagem ABO. Fator RhD. Pesquisa de Anticorpo Irregular. Fenotipagem Eritrocitária. Sangue Fenotipado. Teste de Compatibilidade.

MONTEIRO, Júlia Marques. **Immunohaematological tests pre-blood transfusion: The Importance of Performing ABO/RhD, Irregular Antibody Research and Compatibility Test in Blood Component Receptors.** 2022. 28 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Faculdade Pitágoras, Belo Horizonte, 2022.

ABSTRACT

Transfusion therapy has been present in the medicinal environment since the 17th century and consists of the replacement of a blood component or blood derivative in the body of a patient in need, with the main objective of reducing morbidity and mortality to inadequate oxygen supply. In order for a blood transfusion to occur safely, tests are carried out in order to minimize the possibility of complications during the procedure. The processes that precede and proceed a transfusion are complex and must be handled with great care, thinking about it, the present work aims to clarify what pre-transfusion tests are and describe how they are performed, raising awareness of the importance of good elaboration for the well-being and survival of the post-transfusion patient. The methodology used was a literary review, with a search in articles published after 2004 on the Scielo, PubMed and Google Academic search platforms. From the study carried out, it was possible to understand that it is of paramount importance to submit blood component receptors to all the tests necessary for blood compatibility and so that unwanted reactions do not occur, especially in patients who need transfusion regularly.

Keywords: Pre-transfusion Tests. History of Blood Transfusion. Typing ABO. RhD factor. Irregular Antibody Research. Erythrocyte Phenotyping. Phenotyped Blood. Compatibility Test.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Aparelho de Agote.....	13
Figura 2 – Resultados da reação de hemaglutinação direta e reversa para diferentes grupos sanguíneos do sistema ABO.	18
Figura 3 – Interpretação da Tipagem RhD realizada em tubo.....	20

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PAI	Pesquisa de Anticorpo Irregular
SciELO	Biblioteca Científica Eletrônica Online
ADVS	Associação de Doadores Voluntários de Sangue
CNH	Comissão Nacional de Hemoterapia
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HTLV	Vírus Linfotrópico da Célula T Humana
CH	Concentrado de Hemácias

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. HISTÓRIA DA TRANSFUÇÃO SANGUÍNEA.....	11
3. EXAMES PRÉ-TRANSFUSIONAIS.....	16
4. FENOTIPAGEM ERITROCITÁRIA.....	24
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	26
REFERÊNCIAS.....	27

1. INTRODUÇÃO

A transfusão sanguínea consiste na reposição de hemocomponentes ou hemoderivados no organismo de um paciente necessitado, com objetivo de manter ou aumentar a capacidade do transporte de oxigênio, volume sanguíneo e, por fim, chegar a hemostasia. Para que essa prática ocorra de forma segura, uma série de exames, conhecidos como testes pré-transfusionais são realizados.

Os testes tem como principal função a compatibilização sanguínea do doador e receptor, garantindo assim, sucesso em uma transfusão. Dentre os diversos testes existentes, os mais comuns são tipagem ABO, RhD, Teste de Compatibilidade e Pesquisa de Anticorpo Irregular (PAI).

A indicação de uma transfusão sanguínea depende das condições físicas e clínicas de um paciente e não somente de resultados laboratoriais, que não inibem a ocorrência de reações. Pacientes politransfundidos normalmente desenvolvem anticorpos na superfície dos eritrócitos, e necessitam na maioria das vezes de um tipo de sangue especial, conhecido como sangue fenotipado, para evitar certas complicações.

Os processos que precedem e procedem uma transfusão são bem complexos e devem ser lidados com todo cuidado, pensando nisso, o presente trabalho realizou-se com o intuito de descrever a apresentação dos testes pré-transfusionais, salientou sobre a importância da realização dos mesmos em receptores de hemocomponentes, apresentou-se as etapas e processos para uma boa elaboração, visando o bem estar e sobrevivência do paciente, principalmente quando é preciso utilizar uma bolsa fenotipada.

A metodologia utilizada foi revisão literária, onde foram pesquisados em livros, dissertações e artigos científicos selecionados através de busca em bibliotecas virtuais e sites como Biblioteca Científica Eletrônica Online (SciELO), PubMed e Google Acadêmico. Foram realizadas pesquisas em artigos publicados a partir de 2004, com palavras chave como: Testes pré-transfusionais, História da Transfusão sanguínea, Tipagem ABO, Fator RhD, Pesquisa de Anticorpo Irregular, Fenotipagem Eritrocitária, Sangue Fenotipado e Teste de Compatibilidade.

2. HISTÓRIA DA TRANSFUSÃO SANGUÍNEA

A terapia transfusional consiste na reposição de um hemocomponente ou hemoderivado no organismo de um paciente necessitado, e tem como principal objetivo reduzir a morbimortalidade à oferta inadequada de oxigênio (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). Essa prática está presente no meio medicinal desde o século XVII, quando, pela primeira vez, foi realizado experimentalmente transfusões sanguíneas em animais por Richard Lower, em demonstração para a faculdade de Oxford em 1665 (FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE).

Dois anos mais tarde em Paris, Jean Baptiste Denis, um professor de filosofia e matemática de Montpellier e médico do rei Luiz XIV, realizou a primeira experiência transfusional em humanos, onde foram transfundidos sangue de carneiro a partir de um tubo de prata em Antoine Mauroy, um doente mental que andava pelas ruas da cidade. Antonie resistiu a duas transfusões, mas acabou falecendo em decorrência da terceira (FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE).

As transfusões de sangue naquela época eram heterólogas, ou seja, realizadas entre animais de espécies diferentes. Denis defendia a prática argumentando que ao contrário do humano, o sangue dos animais estaria menos contaminado de vícios e paixões. Considerada criminosa, a transfusão homóloga, realizada entre animais da mesma espécie, foi proibida em alguns lugares do mundo. Mas, embora proibida, as experiências não foram abandonadas (FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE).

Em 1788, após várias tentativas fracassadas de transfusões heterólogas, foram testadas transfusões homólogas, onde foram obtidos resultados positivos e concluiu-se que elas poderiam ser benéficas e inclusive salvar vidas. A primeira transfusão com sangue humano foi realizada em 1818, por James Blundell, que após ter sucesso em experimentos com animais, transfundiu sangue humano em mulheres com hemorragia pós parto. (FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE).

Apesar do avanço nas transfusões homólogas, ao final do século 19, problemas relacionados à coagulação e outras reações adversas relacionadas ao sangue começaram a exigir mais atenção dos cientistas. Para tentar-se resolver essas inesperadas complicações, chegou-se a utilizar leite e até mesmo sangue de cadáver em transfusões, porém a falta de sucesso dessa experiência fez com que ela fosse logo abandonada (FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE).

Foram desenvolvidos equipamentos para a realização das transfusões indiretas, além de técnicas cirúrgicas para permitir uma possível transfusão direta, utilizando a artéria do doador e a veia do receptor. Essa técnica ficou conhecida mundialmente como transfusão “braço-a-braço” (FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE).

Inúmeros acontecimentos no mundo da hematologia e hemoterapia ocorreram com o passar do tempo, e então o imunologista austríaco Karl Landsteiner, em 1900, observou que o soro do sangue de algumas pessoas muitas das vezes coagulava ao entrar em contato com o de outras. A partir disso, ele iniciou uma variedade de testes entre amostras de plasma e eritrócitos, resultando na descoberta do mais importante sistema de grupo sanguíneo existente no organismo, o sistema ABO (SILVA; FERREIRA, 2021).

Em 1907, um cirurgião americano chamado Reuben Ottenberg sugeriu que o sangue do receptor e doador fossem compatibilizados antes das transfusões para evitar possíveis incompatibilidades (SILVA; FERREIRA, 2021).

A hemoterapia, no mundo, é dividida em dois períodos: período empírico, que tem início no século XVII após a descoberta da circulação sanguínea pelo médico britânico William Harvey, e tem duração até o início do século XX, quando o pesquisador austríaco Landsteiner descobre o grupo sanguíneo ABO. E o período científico, que tem início no século XX e chega até os dias atuais (HEMOMINAS, 2014).

2.1 HEMOTERAPIA NO BRASIL

No período pré-científico surgiu o primeiro relato acadêmico sobre Hemoterapia no Brasil. Tratava-se de uma tese de doutorado apresentada à Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, em 1879. Rejeitada por ser muito polêmica foi, entretanto, sustentada na Faculdade de Medicina da Bahia. Esta tese é uma monografia descrevendo experiências empíricas realizadas até aquela época sobre a transfusão de sangue, onde se discute se a melhor transfusão seria a do animal para o homem ou entre os seres humanos (JUNQUEIRA PC, et. al,2005).

No período científico, após a descoberta dos grupos sanguíneos, os primeiros a realizarem a prática transfusional foram os cirurgiões. O primeiro relato de transfusão sanguínea no Brasil ocorreu em outubro de 1915, no Hospital Santa Izabel da Santa Casa da Bahia, onde o médico João Américo Garcez Froes transfundiu 129

ml de sangue total em uma paciente com um quadro de hemorragia provocada por um pólipó uterino (SILVA; FERREIRA, 2021).

A transfusão ocorreu utilizando um aparelho desenvolvido pelo médico argentino Luís Agote. Na figura 1 apresentada abaixo podemos observar a anatomia do aparelho, que consistia em duas bombas de sucção, uma para sugar o líquido, outra para injetá-lo, e uma mangueira por onde o sangue corria. Doador e receptor ficavam de braço esticado, um de frente para o outro. A inovação da técnica de Agote é que evitava a coagulação (SILVA; FERREIRA, 2021).

Figura 1 – Aparelho de Agote



Fonte: JUNQUEIRA PC; et. al, 2005.

Com o sucesso da primeira transfusão, Froes realizou outros procedimentos, onde o aparelho de Agote foi muito utilizado, mas o com o passar do tempo foi sofrendo alterações para melhor utilização. O caso mais grave que Froes presenciou ocorreu em julho de 1916, quando um homem de 31 anos com quadro de icterícia agravado por uma blenorragia estava sendo transfundido apresentou sinais de rejeição. Ele foi tratado com banhos hidroterápicos em altas e baixas temperaturas até se estabilizar (SILVA; FERREIRA, 2021).

Na década de 40, a hemoterapia começou a ser vista como especialidade médica e vários bancos de sangue foram inaugurados em capitais brasileiras. O primeiro banco de sangue público foi criado na cidade de Porto Alegre, em 1941. Em seguida, inaugurou-se no Rio de Janeiro e Recife, em 1942 (HEMOMINAS, 2014).

Ao contrário da Europa, o sistema transfusional brasileiro baseava-se na doação remunerada, onde doadores dos bancos de sangue públicos e privados recebiam pagamento. A prática favoreceu a proliferação de bancos de sangue, mas trouxe também o recrutamento de pessoas doentes, alcoólatras, mendigos e anêmicos. Insurgiu-se, então a Associação de Doadores Voluntários de Sangue (ADVS), dirigida por Carlota Osório, que apoiava a doação não remunerada e a distribuição de sangue pelo Estado a quem precisasse (HEMOMINAS, 2014).

Em outubro de 1964, por determinação do então presidente da República, Marechal Humberto de Alencar Castelo Branco, institui-se no Ministério da Saúde a Comissão Nacional de Hemoterapia (CNH) que estabelece a Política Nacional de Sangue. A Comissão, extinta em 1976, deveria organizar a distribuição do sangue, a doação voluntária, a proteção ao doador e ao receptor, o disciplinamento da atividade industrial, o incentivo à pesquisa e o estímulo à formação de recursos humanos (HEMOMINAS, 2014).

Em 1980, cria-se o Programa Nacional de Sangue e Hemocomponentes (Pró-Sangue) com a finalidade de regularizar a situação da hemoterapia brasileira. Surgem os Centros de Hematologia e Hemoterapia – os hemocentros, entre os muitos desafios, o de implantar a doação sistemática de sangue, pondo fim à doação remunerada (HEMOMINAS, 2014).

Em 1988, foram estabelecidas medidas para facilitar o processo de transfusão de sangue e seus componentes, vedando todo tipo de comercialização. As mudanças do padrão de controle e segurança no que diz respeito à doação de sangue no Brasil ocorreram principalmente com a chegada da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Cerca de 2% dos casos de contaminação pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) era por meio da transfusão de sangue e 50% dos hemofílicos se apresentavam como portadores do vírus (FERREIRA; VELOSO, 2020).

Após o aumento do número de contaminações vindas a partir de transfusões sanguíneas, passou-se a priorizar a realização de exames para análise do sangue antes de toda e qualquer prática transfusional, tanto de doadores, quanto de

receptores. O seguinte capítulo irá abordar o conceito de exames pré-trasfusionais e a importância de sua realização para um procedimento seguro.

3. EXAMES PRÉ-TRANSFUSIONAIS

Os exames pré-transfusionais consistem em uma série de testes realizados em amostras de sangue com intuito de minimizar o risco de ocorrências de reações adversas indesejadas durante uma transfusão, além disso, têm como principal objetivo identificar, classificar e direcionar o perfil sanguíneo do receptor para a bolsa de sangue que ele deverá receber. Sendo de extrema importância submeter o paciente à realização dos mesmos no momento que antecede o recebimento do hemocomponente (FREIRE; CUNHA; ANDRADE; 2015).

No Brasil, a Portaria 1376/93, reforçada pela resolução nº 343 MS/2001, determina a realização de triagem laboratorial nos serviços de hemoterapia. São realizados testes sorológicos para sífilis, Doença de Chagas, Hepatite B e C, AIDS, Vírus Linfotrópico da Célula T Humana (HTLV) e Malária em doadores de sangue. E, quanto aos receptores, a referida portaria determina a realização de testes imunohematológicos ABO/Rh, Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI) e Teste de Compatibilidade (Carrazone CFV; et al. 2004).

No ano de 2011, o Ministério da Saúde estabeleceu cadastro obrigatório dos doadores de sangue e elaborou diretrizes para a realização de exames laboratoriais no sangue coletado para prevenção da propagação de doenças. Assim, tornou-se compulsória a realização de testes de alta sensibilidade a cada doação (FERREIRA; VELLOSO, 2020).

Quando os resultados dos testes pré-transfusionais demonstrarem que não há concentrado de hemácias compatível para o receptor, o serviço de hemoterapia comunicará este fato ao médico solicitante e, em conjunto com este, realizará a avaliação clínica do paciente, cabendo ao médico a decisão de transfundir concentrado de hemácias incompatível, com justificativa por escrito e assinatura do hemoterapeuta e/ou médico assistente do paciente (GALDINO; PETRONI, 2018).

3.1 GRUPOS SANGUÍNEOS

Um dos avanços mais importantes na área medicina transfusional foi a descoberta dos antígenos eritrocitários na metade do século XX. Os sistemas de grupos sanguíneos são caracterizados por antígenos na membrana eritrocitária, com características funcionais e polimórficas definidas. Desde que o sistema ABO foi

descoberto, foram descritos mais de 250 antígenos eritrocitários, organizados em sistemas, séries e coleções (SILVA; FERREIRA, 2021).

O grupo sanguíneo é herdado geneticamente, porém não existe um gene específico que codifique os sistemas, e sim um gene que codifica açúcares que formarão os antígenos. Os antígenos eritrocitários variam em imunogenicidade e significado clínico, a detecção e descrição destes ainda é feita através de testes sorológicos (SILVA; FERREIRA, 2021).

Os grupos mais utilizados para tipagem sanguínea são os grupos ABO e RhD em decorrência da sua alta taxa de imunogenicidade, entretanto, é importante lembrar que existem outros sistemas sanguíneos que também tem a sua importância biológica: MNS, H, P, Lewis, Kell, Duffi, Kid, Lutheran, Diego, dentre outros (FREIRE; CUNHA; ANDRADE; 2015).

Os anticorpos mais importantes no estudo hemoterápico são as aglutininas, proteínas presentes no plasma humano. Quando os tipos sanguíneos não são compatíveis, as aglutininas anti-A e anti-B são misturadas com os aglutinogênios A ou B, fazendo com que ocorra um processo que forma grumos celulares, conhecido como processo de aglutinação (FREIRE; CUNHA; ANDRADE; 2015).

O controle de qualidade na imunohematologia visa o monitoramento da prevenção de erros nos procedimentos pré-transfusionais. Todo procedimento médico que necessite de transfusões só deve ser realizado mediante a realização prévia dos testes imunohematológicos, pois a ocorrência de possíveis reações está ligada principalmente a falhas nos testes pré-transfusionais (FREIRE; CUNHA; ANDRADE; 2015).

3.2 TESTE ABO

A tipagem ABO é determinada pela presença de antígenos na superfície das hemácias que podem ser de natureza bioquímica variada, podendo ser compostos por carboidratos, lipídeos, proteínas ou uma combinação desses compostos. É o mais importante sistema de tipagem sanguínea, pois se relaciona com a gravidade das reações transfusionais hemolíticas (FERREIRA; VELLOSO, 2020).

Possuem três alelos diferentes de um único gene: IA, IB e i, que são os responsáveis por garantir na espécie humana a presença de quatro fenótipos: sangue A, sangue B, sangue AB e sangue O. Esses quatro grupos são

caracterizados pela presença ou ausência de aglutinogênios em suas hemácias e de aglutininas no plasma sanguíneo. O alelo IA é responsável por garantir que o sangue tenha aglutinogênio A, enquanto o alelo IB é responsável pelo aglutinogênio B. O alelo i é responsável pela não produção de aglutinogênio.

A determinação do grupo sanguíneo deve ser realizada através de dois testes confirmatórios: a tipagem direta e a reversa. A tipagem direta é realizada em amostras de sangue total, onde se testa as hemácias com reagentes contendo aglutininas anti-A e anti-B, após alguns minutos observa-se a presença ou ausência de aglutinação. Se houver aglutinação, sabe-se que ocorreu uma reação antígeno-anticorpo. A tipagem reversa é realizada em amostras de soro ou plasma, e são utilizados reagentes de antígenos conhecidos contendo hemácias tipo A e hemácias tipo B (FREIRE; CUNHA; ANDRADE; 2015).

Para maior compreensão, a figura 2 abaixo de GALDINO e PETRONI (2004) mostra, de forma ilustrativa, como deverão ser observados os resultados de uma reação de hemaglutinação direta e reversa para diferentes grupos sanguíneos.

Figura 1 – Resultados da reação de hemaglutinação direta e reversa para diferentes grupos sanguíneos do sistema ABO.

	Soro Anti-A	Soro Anti-B	Soro Anti-A+B	Hemácia A	Hemácia B
Grupo A	○	●	○	●	○
Grupo B	●	○	○	○	●
Grupo AB	○	○	○	●	●
Grupo O	●	●	●	○	○

● Ausência de aglutinação ○ Presença de aglutinação

Fonte: GALDINO; PETRONI, 2018.

A tipagem direta (colunas soro anti-A, soro anti-B e soro anti-A+B) pesquisam os antígenos presentes na membrana eritrocitária, ao contrário da tipagem reversa (colunas Hemácia A e Hemácia B) que pesquisam os anticorpos naturais presentes no plasma. E, por não apresentarmos anticorpo natural para antígeno presente nas hemácias, o resultado da reversa é o oposto da tipagem direta. A realização da tipagem reversa é uma das formas da garantia da qualidade do resultado do sistema ABO liberado (GALDINO; PETRONI, 2018).

A determinação do grupo sanguíneo ABO era originalmente realizada em lâminas limpas de microscopia. Atualmente, as provas de aglutinação são

realizadas através da utilização de métodos mais precisos, podendo ser utilizados os métodos em microplacas escavadas, tubos de ensaio, ou gel-centrifugação, mais recentes (LIU, 2012).

Cada técnica apresenta suas vantagens e desvantagens, sendo, portanto, mais indicadas em diferentes situações. A técnica de tipagem sanguínea em lâmina de microscopia, por exemplo, é a menos vantajosa, em virtude da rapidez com que a mistura de reação seca favorece a agregação das células. Além disso, as reações são mais fracas e apresentam maior dificuldade na interpretação. Essa técnica não é recomendada para utilização rotineira, mas pode ser utilizada em tipagens ABO de emergência, sempre devendo ser suplementada por alguma das outras técnicas citadas (LIU, 2012).

A técnica em tubo apresenta mais vantagens e é mais sensível que a técnica em lâmina para tipagem do sistema ABO. Algumas de suas vantagens incluem a possibilidade de incubação por tempo relativamente longo, sem secagem do conteúdo dos tubos, simplicidade de leitura e classificação dos resultados, além de ser mais limpa e higiênica (LIU, 2012).

É necessário ficar atento a qualquer discrepância observada entre as tipagens direta e reversa, não rotulando ou liberando o hemocomponente até que a discrepância tenha sido resolvida. Vários estados patológicos podem causar discrepâncias entre a classificação direta e reversa (LIU, 2012).

3.3 TESTE RhD

O sistema Rh foi inicialmente descoberto ao estimular uma reação transfusional, que foi investigada por Levine e Stetson, em 1939, um ano antes de Landsteiner e Wiener descreverem um anticorpo obtido por meio da imunização de cobaias com hemácias de macacos rhesus. Este soro, recém descoberto, aglutinava cerca de 85% das hemácias humanas testadas e o determinante correspondente foi denominado fator Rh (LIU,2012).

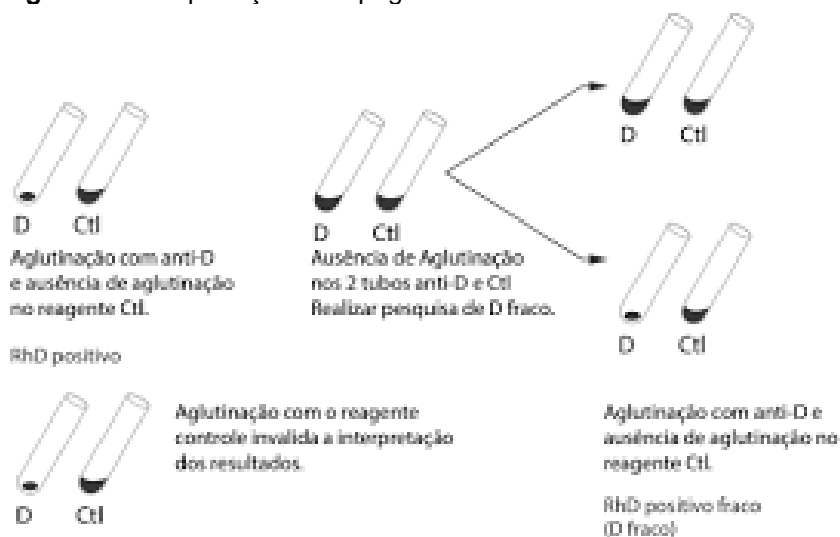
O Sistema Rh é altamente polimórfico e, atualmente, sabe-se que é constituído por mais de 49 antígenos, sendo o antígeno RhD, juntamente com outros quatro antígenos principais desse sistema, os responsáveis por 99% dos problemas clínicos associados ao fator Rh. Os outros antígenos principais compreendem dois pares de antígenos antitéticos: C/c e E/e. O antígeno RhD, por

ser o antígeno eritrocitário não-ABO mais significativo clinicamente, vem sendo implicado amplamente na etiologia de reações transfusionais hemolíticas, e, portanto, é considerado altamente imunogênico (LIU, 2012).

O antígeno RhD será determinado colocando-se as hemácias com antissoro anti-RhD (Anti-D), realizando-se paralelamente o soro-controle compatível com o antissoro utilizado e do mesmo fabricante do anti-D. No caso dos antissoros anti-D produzidos em meio salino, o uso do controle é dispensável (GALDINO; PETRONI, 2018).

A Figura 3 abaixo traz a interpretação da tipagem do fator RhD em tubo. Pode ser observado que a aglutinação do tubo contendo anti-D e a ausência de aglutinação do tubo controle classifica a amostra como RhD positivo. Em caso de não haver aglutinação em nenhum dos tubos (anti-D e controle), deve ser realizada a pesquisa de D fraco. Os antígenos D fracos são variações quantitativas do antígeno RhD e todos os epítomos estão íntegros na membrana eritrocitária, porém expressos fracamente (GALDINO; PETRONI, 2018).

Figura 3 – Interpretação da Tipagem RhD realizada em tubo.



Fonte: GALDINO; PETRONI, 2018.

Para a realização da pesquisa de antígeno D-fraco, recomenda-se a utilização de, no mínimo, dois antissoros anti-D, sendo que, pelo menos um desses antissoros contenha anticorpos da classe IgG. Quando a tipagem RhD ou a pesquisa do antígeno D-fraco resultar positiva, o sangue deve ser rotulado como

"RhD positivo". E se ambas as provas resultarem negativas, o sangue deve ser rotulado como "RhD negativo" (GALDINO; PETRONI, 2018).

É importante destacar que em caso da reação com o soro-controle de RhD for positiva, a tipagem RhD é considerada inválida e o componente sanguíneo só deve ser rotulado e liberado para uso após a resolução do problema (GALDINO; PETRONI, 2018).

A classificação rotineira do RhD refere-se somente à presença ou ausência do antígeno RhD. Contrariamente ao sistema ABO, não há prova reversa, pois os indivíduos não apresentam naturalmente anticorpos séricos contra o antígeno RhD (GALDINO; PETRONI, 2018).

3.4 TESTE DE COMPATIBILIDADE

O teste de compatibilidade, também conhecido como prova cruzada, tem como objetivo a verificação *in vitro* da compatibilidade das hemácias do doador e do receptor, ou seja, consiste na mistura do soro do receptor com as hemácias do doador, com a finalidade de investigar no soro ou plasma do receptor, a presença de anticorpos contra os antígenos de grupos sanguíneos presentes nas hemácias do doador (FREIRE; CUNHA; ANDRADE; 2015).

A prova cruzada, assim como a PAI, pode ser realizada com a adição de substâncias potencializadoras. Um resultado positivo (incompatível) na prova cruzada requer maiores estudos, sendo que o paciente não deverá ser transfundido até que a causa da incompatibilidade tenha sido completamente esclarecida (GALDINO; PETRONI, 2018).

As principais causas dos resultados positivos em uma prova cruzada podem ser Tipagem ABO incorreta do paciente ou doador; presença de aloanticorpo no soro do paciente reagindo com antígeno correspondente nas hemácias do doador; autoanticorpo no soro do paciente que reage com antígeno correspondente nos eritrócitos doadores; anticorpos aderidos aos eritrócitos do doador; anormalidades no soro do paciente e contaminação dos reagentes, amostras e/ou vidrarias (GALDINO; PETRONI, 2018).

3.5 PESQUISA DE ANTICORPO IRREGULAR

A Pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) tem como objetivo pesquisar no soro do paciente a presença de anticorpos irregulares voltados contra antígenos clinicamente significantes de importância transfusional. Esses anticorpos são importantes devido ao potencial poder de causar reações hemolíticas (FREIRE; CUNHA; ANDRADE; 2015).

O teste que deve ser realizado obrigatoriamente pelo PAI, é a pesquisa de antiglobulina humano indireto (Coombs). Os testes de detecção de anticorpos podem ser realizados por diferentes técnicas, empregando-se métodos que evidenciem a presença de anticorpos clinicamente significativos (FREIRE; CUNHA; ANDRADE; 2015).

Os anticorpos clinicamente significantes são os anticorpos contra antígenos eritrocitários (principalmente contra os sistemas Rh, Kell, Duffy, Kidd, Lewis, MNSs), estando eles associados à diminuição da sobrevivência de hemácias transfundidas e a reações transfusionais (GALDINO; PETRONI, 2018).

As técnicas de rotina normalmente utilizadas podem ser realizadas em tubo ou gel, e em diferentes meios como LISS, PEG e ENZIMAS, os quais têm por finalidade aumentar a sensibilidade do teste. Os testes positivos devem ser encaminhados para laboratório especializado para realização da identificação do anticorpo. Neste caso, a transfusão de hemácias deve ser célula antígeno-negativo para o anticorpo identificado (GALDINO; PETRONI, 2018).

Para a identificação de anticorpos é realizado a fenotipagem dos eritrócitos do receptor para o antígeno que corresponde ao anticorpo identificado, e deve ser realizada em pacientes que estão há 90 dias sem receber transfusão. Se for positivo indica que o paciente possui o anticorpo em questão e assim a bolsa transfundida tem que ter a mesma fenotipagem para que o paciente não venha a desenvolver os demais anticorpos (GALDINO; PETRONI, 2018).

Por isso este teste tem que ser realizado antes do ato da transfusão sanguínea, pois ele previne que o receptor com um anticorpo irregular seja transfundido com hemácias com antígenos correspondentes, e possa destruí-las, aumentando a possibilidade de desenvolver mais anticorpos irregulares e dificultando o processo de seleção de bolsas compatíveis em transfusões posteriores (GALDINO; PETRONI, 2018).

É imprescindível a atenção na realização dos testes imunohematológicos, a fim de evitar graves consequências para o paciente. No próximo capítulo será abordado o conceito de fenotipagem eritrocitária e quando ela deve ser realizada.

4. FENOTIPAGEM ERITROCITÁRIA

Após um resultado positivo na Pesquisa de Anticorpo Irregular, um laboratório especializado é acionado para a realização da Fenotipagem Eritrocitária, que consiste em um teste para a identificação dos anticorpos presentes na membrana do eritrócito do paciente.

Além dos tipos A, B, AB e O, existem outras variações de características no sangue de cada pessoa. Essas mudanças acontecem devido às proteínas presentes em cada hemácia. A classificação do fenótipo eritrocitário corresponde à presença ou ausência de determinados antígenos na membrana das hemácias (FERREIRA; JUNIOR, 2015).

Os anticorpos ABO são de classe IgM e são extremamente importantes nas provas de compatibilidade realizadas nos hemocentros. Por possuírem estrutura pentamérica são capazes de aglutinar as hemácias em meio salino e por essa razão também são chamados de completos. São chamados de naturais ou regulares por já serem esperados que estejam presentes no plasma dos indivíduos sem a necessidade de uma prévia sensibilização (SANTANDER, 2019).

Apesar da incompatibilidade ABO ser extremamente perigosa por causar reações hemolíticas agudas, os anticorpos desse sistema não são o foco da fenotipagem justamente por não se tratarem de anticorpos irregulares, que são assim chamados porque não se espera que eles estejam presentes no plasma do indivíduo. Eles aparecem normalmente após transfusão sanguínea ou gestação cujos antígenos eritrocitários não-próprios são expostos ao sistema imune (SANTANDER, 2019).

Por não estarem presentes nas hemácias do paciente, os antígenos presentes nas hemácias do doador são considerados estranhos ao organismo e essa sensibilização estimula a produção de anticorpos direcionados contra esses antígenos (SANTANDER, 2019).

Quando uma substância é reconhecida como não própria ao seu organismo, como os antígenos eritrocitários, se tem a formação de anticorpos irregulares ou aloanticorpos pela resposta imune específica, cuja principal função consiste na eliminação do antígeno (FERREIRA; JUNIOR, 2015).

Os antígenos de grupos sanguíneos são estruturas macromoleculares localizados na superfície extracelular da membrana dos eritrócitos herdados

geneticamente de um ou de ambos os pais, podendo ser um carboidrato, proteína ou lipídeo, sendo capazes de provocar reação imunitária e reagir com anticorpos ou linfócitos sensibilizados, a partir de uma resposta primária, secundária ou patológica (FERREIRA; JUNIOR, 2015).

Esse tipo de sensibilização antígeno-anticorpo ocorre principalmente em pacientes politransfundidos, com anemia falciforme e anemia talassêmica, em que se tem aumento do risco de aloimunização pelas bolsas de sangue por isogrupos diferentes (FERREIRA; JUNIOR, 2015).

A presença de anticorpos irregulares em pacientes politransfundidos dificulta a obtenção de concentrado de hemácias compatíveis e pode acarretar em reações transfusionais imediatas (agudas) ou tardias (SANTANDER, 2019).

O objetivo da fenotipagem é evitar a aloimunização em pacientes que irão ser submetidos a múltiplas transfusões e evitar reações transfusionais hemolíticas naqueles já sensibilizados (aloimunizados). O Programa de Hemácias Fenotipadas consiste na utilização de Concentrado de Hemácias (CH) tipados para antígenos de outros sistemas, além do ABO, para pacientes sensibilizados ou profilaticamente (MANUAL DE MEDICINA TRANSFUSIONAL; 2019).

Os sistemas mais imunogênicos são o Rh, Kell, Duffy e Kidd, e têm como objetivo evitar que pacientes politransfundidos cronicamente sejam aloimunizados contra antígenos eritrocitários. Dependendo do caso, poderá ser estendida a fenotipagem para os sistemas Duffy, Kidd, MNS e Diego (MANUAL DE MEDICINA TRANSFUSIONAL; 2019).

Devido à presença de anticorpos hemolíticos, devem ser realizadas sempre que possível transfusão de isogrupos e, quando estas não forem possíveis, realizar transfusões de heterogrupos respeitando o esquema clássico de compatibilidade, ou seja, não transfundir hemácias portadoras de antígenos que possam ser reconhecidos pelos anticorpos do receptor (FERREIRA; JUNIOR, 2015).

A fenotipagem eritrocitária é uma ferramenta essencial para a profilaxia da aloimunização, onde essa técnica pode proporcionar aos pacientes politransfundidos uma maior segurança minimizando as possíveis reações transfusionais, que por muitas vezes são graves (SILVA; FERREIRA, 2021).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo permitiu realizar um levantamento bibliográfico onde foi evidenciado a importância da realização dos testes imunohematológicos pré-transfusionais em receptores de hemocomponentes para a terapia transfusional, e foi possível concluir que o simples fato de ter o conhecimento sobre a classificação ABO/RhD não são suficientes.

Pacientes que necessitam de transfusões regulares poderão apresentar aloimunização ou reações transfusionais graves decorrentes da presença de anticorpos irregulares presentes na membrana dos eritrócitos, sendo de suma importância submeter esses pacientes ao teste de pesquisa de anticorpo irregular, e se necessário a fenotipagem eritrocitária, para se encontrar o hemocomponente ideal e compatível com seu tipo sanguíneo.

É imprescindível a constante atualização de profissionais da saúde que trabalhem em serviços de hemoterapia a fim de garantir a qualidade dos serviços e conseqüentemente a segurança no processo transfusional, minimizando possíveis reações que possam culminar em graves conseqüências para o paciente.

REFERÊNCIAS

Carrazone, C. F. V. et al. **Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue.** 2004. Departamento de Imunologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fiocruz – Cidade Universitária 50670-420 – Recife-PE, Brasil. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/mHbRYPqBDBZH4nC8WJH3BFQ/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 01 mai. 2022.

FERREIRA, Bárbara Mendes; JUNIOR, Milton R de Paula. **Determinação da Frequência de Anticorpos Irregulares Pós-transfusionais.** 2015. Centro Universitário de Brasília – Brasília, DF. Disponível em: <https://www.publicacoesacademicas.uniceub.br/cienciasaude/article/view/3294>. Acesso em 27 out. 2022.

FERREIRA, Rafael André; VELLOSO, Ricardo Viana. **Prática transfusional de sangue: História, desafios e principais exames de triagem nos serviços de hemoterapia.** 2020. Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. Disponível em: <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/saude/pratica-transfusional>. Acesso em 13 out. 2022.

Fundação Hemominas. **Sangue – breve história.** 2014. Belo Horizonte, MG. Disponível em: <http://www.hemominas.mg.gov.br/doacao-e-atendimento-ambulatorial/hemoterapia/sangue-breve-historia>. Acesso em 14 out. 2022.

Fundação Pró-sangue. **História do Sangue.** São Paulo. Disponível em: <http://prosangue.sp.gov.br/artigos/estudantes.html#:~:text=As%20transfusões%20de%20sangue%20tiveram,tarde%20em%201667%2C%20em%20Paris>. Acesso em: 22 set. 2022.

FREIRE, M. R. L. C. et al. **Importância dos Testes Imuno-Hematológicos em Receptores de Sangue e a Ocorrência das Reações Transfusionais.** 2015. Instituto Educacional Santa Catarina – IESC, Guará-TO, Brasil. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/REF/article/view/40839/pdf>. Acesso em 01 mai. 2022.

GALDINO; PETRONI. **Importância dos Exames Imune-hematológicos na Transfusão Sanguínea.** 2018. Revista Saúde UniToledo, Araçatuba, SP. Disponível em: <http://www.ojs.toledo.br/index.php/saude/article/view/2779/317>. Acesso em 26 out. 2022.

Grupo GSH – Especialista em Hemoterapia. **Manual de Medicina Transfusional.** 2019. Disponível em: https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:8uBbVUso81YJ:https://www.espacomedicovivale.com.br/area-aberta/documentos/download/137/Manual_de_Medicina_Transfusional_do_Grupo_GHS&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br&client=opera-gx. Acesso em 27 out. 2022.

JUNQUEIRA PC; et.al. **História da Hemoterapia no Brasil**. 2005. São Paulo, SP. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/rbhh/a/KPf53b35B5jDZqSkmtJKkZj/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em 13 out. 2022.

LIU, Isabella Parussini. **Análise de Resultados da Tipagem Sanguínea Antes e Após a Implantação da Técnica de Semiautomação**. 2012. Porto Alegre, RS. Disponível em:
<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/72412/000882081.pdf?sequence=1#:~:text=As%20técnicas%20mais%20conhecidas%20de,com%20a%20morte%20do%20receptor>. Acesso em 26 out. 2022.

Ministério da Saúde. **Imuno-Hematologia Laboratorial**. 2014. Brasília-DF, Brasil. Disponível em:
https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/imuno_hematologia_laboratorial.pdf. Acesso em 25 mai. 2022.

PATRICIA SELTENREICH. **TESTES PRÉ TRANSFUSIONAIS: Fluxo de amostra até a liberação de hemocomponentes para transfusão**. Hospital das Clínicas, Porto Alegre – RS, Brasil. Disponível em:
<https://saude.rs.gov.br/upload/arquivos/carga20190515/03151546-testes-pre-transfusionais.pdf>. Acesso em 01 mai. 2022.

SANTANDER, Nathalia Caroline Lopes Ferreira. **Principais Anticorpos Irregulares em Politransfundidos: uma revisão literária**. 2019. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Disponível em:
https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/43202/1/PrincipaisAnticorposIrregulares_Santander_2019.pdf. Acesso em 27 out. 2022.

SILVA; FERREIRA. **A importância da fenotipagem eritrocitária na prevenção da aloimunização**. 2021. Centro Universitário UNA. Belo Horizonte, MG. Disponível em:
<https://repositorio.animaeducacao.com.br/bitstream/ANIMA/14444/1/A%20importancia%20da%20fenotipagem%20eritrocitaria%20na%20prevencao%20da%20aloimunizacao.pdf>. Acesso em 22 set. 2022.