

# **IMPORTÂNCIA DOS EXAMES IMUNO-HEMATOLÓGICOS NA TRANSFUÇÃO SANGUÍNEA**

## **IMPORTANCE OF IMMUNOHEMATOLOGICAL TESTS IN BLOOD TRANSFUSION**

Ketury Caroline Gusmão Galdino

Tatiane Ferreira Petroni Correio

### **1. Introdução**

O sangue é um tecido vivo produzido na medula óssea dos ossos chatos, costelas, quadril, vértebras, crânio e esternos, podendo também ser produzido nos ossos longos como o fêmur, em crianças. O sangue é composto por hemácias, leucócitos, plaquetas e plasma e tem a função de transportar oxigênio e nutrientes a todos os órgãos. Foram necessários anos de estudo e pesquisa a fim de descobrir a importância e o uso terapêutico do sangue na medicina (FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE HEMOCENTRO DE SÃO PAULO, 2013).

As transfusões sanguíneas são tratamentos hemoterápicos decorrentes de pesquisas e estudos realizados para a medicina terapêutica e consistem em procedimentos para atender pacientes com anemias, leucemias, hemorragias e traumatismo em situações em que há grande perda de sangue, bem como restaurar ou manter a capacidade de transporte de oxigênio e a hemostasia do organismo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

A transfusão de sangue, no mundo, teve dois períodos: um empírico, que vai até 1900, e outro científico, de 1900 em diante (JUNQUEIRA et al., 2005). Foi Karl Landsteiner quem primeiro descobriu o grupo sanguíneo ABO em 1900 e rhesus (Rh) mais tarde. Hoje, a transfusão de sangue segura é muito atribuída aos esforços pioneiros de Karl Landsteiner em grupos sanguíneos humanos (LANDSTEINER, 1990, 1901).

O procedimento de transfusão sanguínea teve início na década de vinte durante a primeira e segunda guerra mundial, em uma época em que não havia o conhecimento de estocagem de sangue e a transfusão era direta, utilizando a artéria do doador e a veia do receptor, conhecida como transfusão braço-a-braço. O responsável por este procedimento eram os cirurgiões e havia o registro de um corpo de doadores para quando houvesse necessidade (SANTOS et al., 1991).

No ano de 1937 foi composto o primeiro banco de sangue nos Estados Unidos (SANTOS et al., 1991). No Brasil, os médicos Pedro Clovis Junqueira e Osvaldo Mellone

foram os precursores na criação dos primeiros bancos de sangue na década de quarenta (SARAIVA, 2005). Porém sabe-se que na década anterior já existiam no país vários serviços de transfusão, destacando-se o Serviço de Transfusão de Sangue do Rio de Janeiro, fundado em 1933 por um grupo de médicos, liderados por Nestor Rosa Martins (JUNQUEIRA et al., 2005).

A transfusão de hemocomponentes é indicada, após avaliação clínica e laboratorial do paciente, em situações de perdas de sangue ou alterações na produção das hemácias, plaquetas ou nas proteínas que ajudam na coagulação sanguínea (BRUNETTA, 2015). O hemocomponente a ser transfundido depende da condição clínica do paciente. Em pacientes com anemias é indicado o uso de concentrado de hemácias (CH); em situações de perda de sangue ou hemorragia com queda do número de plaquetas, é indicado o uso de concentrado de plaquetas (CP); para pacientes com problemas de coagulação ou até mesmo queimaduras, o concentrado de Plasma fresco congelado (PFC), o qual contém fatores de coagulação, ao passo que o Crio é indicado em casos de deficiência do fator VIII (hemofilia A) e de fator IX (hemofilia B) (IB USP, 2003).

Os procedimentos realizados de maneira adequada em uma transfusão sanguínea são de extrema importância para o paciente, considerando que o não cumprimento dos protocolos pode trazer consequências desagradáveis ao paciente ou até mesmo o óbito. Portanto, é esperado que os profissionais de saúde envolvidos sejam capacitados e cumpram os protocolos estabelecidos pela Instituição. Cada banco de sangue precisa construir sua organização setorial para garantir que o trajeto do sangue ocorra de forma correta, resultando em um tratamento seguro e eficaz para o paciente (VILA; ROSSI, 2002).

O trajeto do sangue dentro de um Banco de sangue inicia-se com a captação e cadastro do doador e termina com a liberação da bolsa para um receptor. É importante destacar que no momento da coleta de sangue, uma alíquota é obtida para realização dos ensaios de Sorologia e Imuno-Hematologia. A garantia da qualidade dos ensaios realizados nesta etapa irá prevenir a ocorrência de infecções, dentre elas HIV 1 e 2, HTLV I e II, Hepatite B, Hepatite C, sífilis e malária (se for área endêmica), bem como reduzir a ocorrência de reações transfusionais por incompatibilidade de sistema ABO e Rh. O profissional biomédico pode atuar nestes setores e deve garantir a qualidade dos resultados para a segurança do processo transfusional.

## **2. Objetivo**

O objetivo deste trabalho foi revisar os ensaios imuno-hematológicos realizados nos Bancos de Sangue, possíveis interferentes e estratégias para garantia da qualidade dos resultados.

### **3. Metodologia**

Trata-se de um estudo descritivo, baseado em revisão da literatura por meio de busca eletrônica de publicações científicas nas bases de dados: SCIELO, LILACS e PubMed. Foram utilizados os descritores immunohematology, Blood Transfusion e Blood Group Antigens, em inglês e português. Restringindo-se a apenas publicações de artigos de acesso completo livre (free full text), entre os anos de 2000 a 2016, excluindo artigos repetidos e que não compreendam as delimitações relevantes para esse estudo.

### **4. Desenvolvimento**

A transfusão de sangue e hemocomponentes é uma tecnologia relevante na terapêutica moderna. Usada de forma adequada em condições de morbidade ou mortalidade significativa, não sendo prevenida ou controlada efetivamente de outra maneira, pode salvar vidas e melhorar a saúde dos pacientes (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2009).

No Brasil, a Portaria MS/GM 158 de 04/02/2016 regulamenta a atividade hemoterápica no País, de acordo com os princípios e diretrizes da Política Nacional de Sangue, Componentes e Derivados, no que se refere à captação, proteção ao doador e ao receptor, coleta, processamento, estocagem, distribuição e transfusão do sangue, de seus componentes e derivados, originados do sangue humano venoso e arterial, para diagnóstico, prevenção e tratamento de doenças (BRASIL, 2016).

De acordo com a Resolução CFB nº 78, 29 de abril de 2002, Resolução CFBm nº 227, de 7 de maio de 2013, RDC Anvisa nº 57, de 16 de dezembro de 2010, a Lei nº 10.205, de 21 de março de 2001, o profissional biomédico com habilitação em Análises Clínicas e Banco de Sangue tem competência legal para assumir e executar o processamento de sangue, suas sorologias e exames pré-transfusionais e é capacitado legalmente para assumir chefias técnicas, assessorias e direção destas atividades, bem como assessorar e executar atividades relacionadas ao processamento semi-industrial e industrial do sangue, hemoderivados e

correlatos, estando capacitado para assumir chefias técnicas e assessorias destas atividades (CONSELHO REGIONAL DE BIOMEDICINA 1º REGIÃO, 2016).

Conforme a Portaria nº 158 de 2016, o serviço de hemoterapia deverá realizar os exames imuno-hematológicos para qualificação do sangue do doador, a fim de garantir a eficácia terapêutica e a segurança da futura doação, as quais incluem tipagem ABO, tipagem RhD e pesquisa de anticorpos antieritrocitários irregulares (BRASIL, 2016). 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 (BRASIL, 2016).

A tipagem ABO será realizada testando-se as hemácias com reagentes anti-A, anti-B e anti-AB, sendo que, no caso de serem usados antissoros monoclonais, a utilização do soro anti-AB não é obrigatória. A tipagem reversa deve ser sempre realizada, testando-se o soro ou plasma de amostra da doação com suspensões de hemácias conhecidas A1 e B e, opcionalmente, A2 e O, não podendo nenhum componente sanguíneo ser rotulado e liberado até que qualquer discrepância entre os resultados das provas direta e reversa sejam resolvidos. (BRASIL, 2016).

	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

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

Fonte: Geoff Daniels, 2008

Conforme observado na Figura 1 acima, a tipagem direta (colunas soro anti-A, soro anti-B e soro anti A+B) pesquisam os antígenos presentes na membrana eritrocitária; ao passo que a tipagem reversa (colunas Hemácia A e Hemácia B) pesquisam os anticorpos naturais presentes no plasma; e por não apresentarmos anticorpo natural para antígeno presente nas

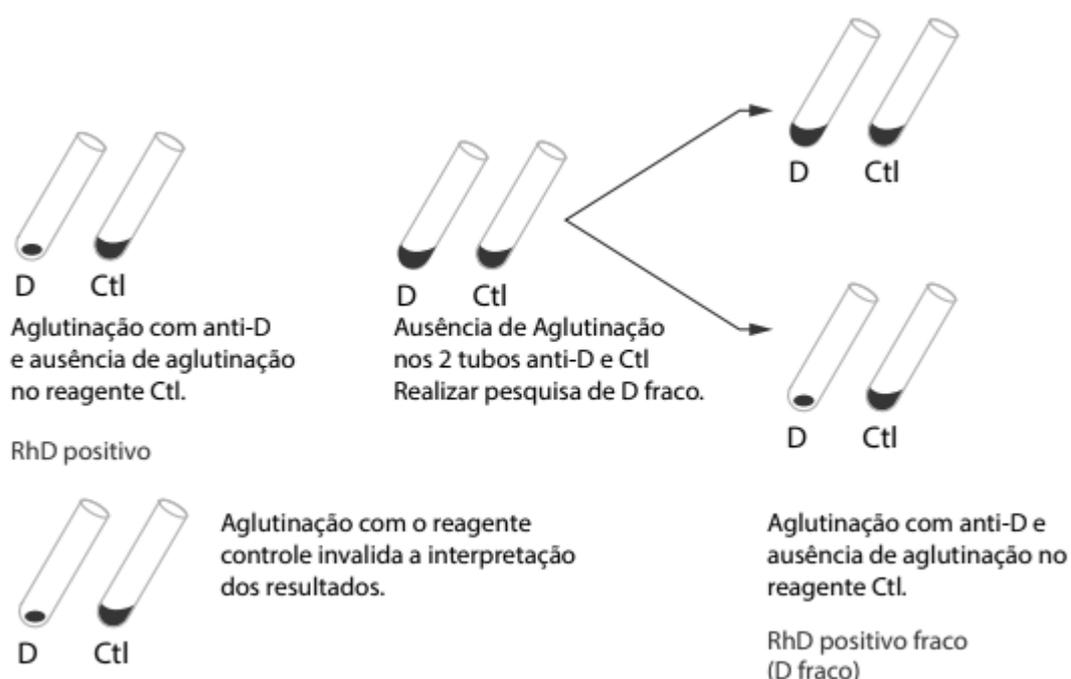
hemácias, é que o resultado da reversa é o oposto da tipagem direta. A realização da tipagem reversa é uma das formas da garantia da qualidade do resultado do sistema ABO liberado.

O profissional biomédico deve estar atento a possíveis interferentes na prova direta, dentre eles, a) presença de antígenos A e B fracos, em que os antígenos correspondentes só podem ser demonstrados por técnica de fixação e eluição, pela pesquisa de substâncias ABH na saliva, por estudo genético ou por pesquisa de transferases séricas; b) Poliaglutinação de hemácias, fenômeno imunológico em que um antígeno é exposto ou existe anormalmente na superfície da hemácia e é reconhecido por um anticorpo: anti-T, anti-Tn, etc.; c) Aglutinação inespecífica pela presença de geléia de Wharton em amostras de sangue de cordão. Neste caso em especial, vale a pena lembrar que na determinação do grupo ABO em recém-nascidos só podemos realizar a classificação direta, porque os anticorpos naturais nesse momento ainda não são detectáveis; e d) Fenômeno rouleaux, que trata-se do empilhamento das hemácias, tornando todas as reações falsamente positivas na determinação ABO, inclusive os controles, sendo comum em casos de macroglobulinemias, nos mielomas, nas hiperfibrinemias (BRASIL, 2014). Problemas também podem ocorrer na prova reversa, dentre eles destacam-se a ausência ou diminuição de anticorpos naturais anti-A e anti-B, possivelmente em recém-nascidos, idosos e imunodeprimidos; Presença de anticorpo irregular no plasma ou soro; Presença de autoaglutinina fria na amostra; ou até mesmo um subgrupo de A e AB com presença de anti-A<sub>1</sub> (BRASIL, 2014).

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 (BRASIL, 2016).

A Figura 2 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 ctl), deve ser realizada a pesquisa de D fraco. Os antígenos D fracos são variações quantitativas do antígeno RhD e todos os epítomos (regiões reconhecidas por anticorpos) estão íntegros na membrana eritrocitária, porém expressos fracamente (BRASIL, 2014).

Para a realização da pesquisa de antígeno D-fraco, recomenda-se a utilização de, no mínimo, dois antissoros anti-RhD (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". 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 (BRASIL, 2016).



**Figura 2. Interpretação da tipagem RhD**

Ilustração de Shirley Lopes de Castilho (BRASIL, 2014)

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 (BRASIL, 2014).

A Pesquisa de anticorpos irregulares (P.A.I.) tem como objetivo pesquisar no soro do paciente a presença de aloanticorpos irregulares voltados contra antígenos clinicamente significantes de importância transfusional e/ou gestacional (Hemocentro de Campinas, 2010). De acordo com artigo 122 da RDC 158 de 2016, a pesquisa de anticorpos antieritrocitários

irregulares deve ser realizada no sangue dos doadores, empregando-se métodos que evidenciem a presença de anticorpos clinicamente significativos (BRASIL, 2016). 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 (Hemocentro de Campinas, 2010). 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.

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(s) do(s) anticorpo(s). Neste caso, a transfusão de hemácias deve ser célula antígeno(s) - negativo(s) para o anticorpo identificado (HEMOCENTRO UNICAMP, 2010).

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 (INSTITUTO PORTUGUÊS DE SANGUE, 2008).

A prova de compatibilidade 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. A prova cruzada, assim como a PAI, pode ser realizada com a adição de substâncias potencializadoras, geralmente solução de PEG a 20% (HEMOCENTRO UNICAMP, 2010). Um resultado positivo na prova cruzada requer maiores estudos, sendo que o paciente não deverá ser transfundido até que a causa da incompatibilidade tenha sido completamente esclarecida. As principais causas dos resultados positivos em uma prova cruzada são 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, vidrarias. É imprescindível a atenção na realização dos testes imunohematológicos, a fim de evitar graves consequências para o paciente (SALLES et al, 2014).

## 5. Considerações finais

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

## Referências

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada. 2009. Guia para uso de componentes. 140 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_uso\\_hemocomponentes.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_uso_hemocomponentes.pdf). Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. **Imuno-hematologia laboratorial**. Brasília, 2014. **Portaria nº 158, de 04 de fevereiro de 2016**. DOU de 05/02/2016, nº 25, Seção 1, pág. 37.

BRUNETTA, D M; 2015. **Protocolo de transfusão segura de sangue e hemocomponentes**. Disponível em: <http://www.ebserh.gov.br/documents/214336/1109990/Cap%C3%ADtulo-1-Transfus%C3%A3o-Segura-de-Sangue-e-Hemocomponentes.pdf/378a8a6e-2acd-4640-b92b-0ecaf7b7b524>. Acesso em 30 de Agosto de 2017.

FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE HEMOCENTRO DE SÃO PAULO. 2013. Disponível em: [www.prosangue.sp.gov.br/artigos/estudantes](http://www.prosangue.sp.gov.br/artigos/estudantes). Acessado em 30 de Agosto de 2017.

GEOFF DANIELS, 2008 In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. **Imuno-hematologia laboratorial**. Brasília, 2014.

Hemocentro de Campinas. **Manual Básico de Orientações transfusionais**. Serviço de Transfusão do Laboratório de Compatibilidade. 2010.

IB (Instituto de Biociências USP). 2003. **Doação de sangue**. Disponível em: <http://www.ib.usp.br/microgene/files/biblioteca-18-PDF.pdf>. Acessado em 9 de maio de 2017.

JUNQUEIRA, PC; ROSENBLIT, J; HAMERSCHLAK, N. 2005. **História da Hemoterapia no Brasil**. Rev. bras. hematol. Hemoter. 27(3):201-207.

LANDSTEINER, K. 1900. In: Mujahid, A.; Dickert, F.L. Blood Group Typing: From Classical Strategies to the Application of Synthetic Antibodies Generated by Molecular Imprinting. Review. Sensors 2016, 16, 51.

LANDSTEINER, K. 1901. In: Mujahid, A.; Dickert, F.L. Blood Group Typing: From Classical Strategies to the Application of Synthetic Antibodies Generated by Molecular Imprinting. Review. Sensors 2016, 16, 51.

Resolução CFB nº 78, 29 de abril de 2002 In: Conselho Regional de Biomedicina 1º Região. 2016. **Atuação-do-biomédico**. Disponível em: <https://crbm1.gov.br/atuacao-do-biomedico/>. Acessado em 09 de Setembro de 2017.

SALLES, R F.; STURN, J O.; BECK, M. 2014. **Reações Transfusionais imediatas**. Protocolo Assistencial Hosp. Uni. Santa Maria.

SANTOS, LAC; MORAES, C; COELHO, VSP. 1991. **A Hemoterapia no Brasil de 64 a 80-PHYSIS** - Revista de Saúde Coletiva. Vol. 1 nº 1.

SARAIVA, JCP. 2005. **A história da Hemoterapia no Brasil**. Ver. Bras. Hematol. Hemoter. São José do Rio Preto. Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v27n3/v27n3a04.pdf>. Acessado em 02 de Setembro de 2017.

Vila, V.S.C.; ROSSI, L.A. 2002. **O significado cultural do cuidado humanizado em unidade de terapia intensiva: "muito falado e pouco vivido"**. Rev. Latino-Am. Enfermagem, Ribeirão Preto, v. 10, n. 2.