



TIPAGEM SANGUÍNEA ABO/Rh: DISCREPANCIAS ENTRE A TÉCNICA EM TUBO E EM LÂMINA

BONMANN, Tainara Jungton¹; MARAFIGA, Larissa¹; MALHEIROS, Adriane¹;
DALL'ALBA, Jordana¹; BORCHARTT, Loani¹; DA ROCHA, Márcia¹; AMADO, Taíse¹;
MENDES, Guilherme; WEBER, Douglas; COMPARSI, Bruna²

Palavras-chave: Tipagem sanguínea. Grupos sanguíneos. Imuno-hematologia.

1 INTRODUÇÃO

O sistema ABO, descoberto por Landsteiner em 1901, é representado por quatro grupos principais, A, B, AB e O. Um dos testes mais importantes em imuno-hematologia é a tipagem sanguínea, com pesquisa de antígenos presentes na membrana do eritrócito e anticorpos livre no soro. O sistema ABO relaciona-se à gravidade das reações transfusionais hemolíticas e a reações de incompatibilidade materno-fetal, que acontecem devido à presença no plasma do receptor/mãe de anticorpos "naturais" contra os antígenos A e B (GIRELLO; KUHN, 2013; HEMOCENTRO DE CAMPINAS, 2014).

Seguido do sistema ABO, o sistema Rh apresenta grande interesse nas áreas de medicina transfusional e materno-fetal. Por apresentar grande variabilidade em sua expressão, a identificação do antígeno D em testes laboratoriais é complexa.

Vários métodos estão disponíveis para fenotipagem eritrocitária, como por exemplo, tipagem em lâmina, tubo, gel, microplaca e genotipagem. Entretanto, o método em lâmina é o que apresenta maior difusão na rotina laboratorial de análises clínicas, por ser de fácil execução, rápido e barato. Sabe-se que este método apresenta algumas desvantagens em relação aos outros métodos disponíveis, como a sensibilidade reduzida, resultado em testes falsos resultados positivos, reações mais fracas e de difícil interpretar. Diante da gravidade das reações que podem ocorrer em devido à tipagem sanguínea incorreta, o presente trabalho tem como objetivo comparar a técnica de tipagem em lâmina com a técnica em tubo,

¹Acadêmicos do curso de Graduação em Biomedicina pelo Instituto Cenecista de Ensino Superior de Santo Ângelo.

² Mestre e doutoranda em ciências biológicas: Bioquímica Toxicológica. Professora do Instituto Cenecista de Ensino Superior de Santo Ângelo.



identificando a porcentagem de discrepância e os antígenos envolvidos nas reações em desacordo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se 100 amostras de sangue total com anticoagulante EDTA provenientes do Laboratório Escola de Biomedicina do IESA no período de julho a agosto de 2014. As amostras foram submetidas às técnicas de tipagem em tubo e em lâmina para os sistemas ABO e RhD. Tanto a prova direta ABO quanto a prova do RhD foram realizadas inicialmente em lâmina e posteriormente analisadas através da técnica de tipagem direta em tubo e pesquisa do fenótipo D-fraco para as amostras RhD negativas. Caso alguma discrepância entre a técnica em lâmina e em tubo fosse detectada, a amostra era submetida a uma nova análise através da técnica em tubo, considerada confirmatória neste caso. Para sistema ABO e RhD, foram consideradas discrepantes as amostras que apresentaram discordância entre as tipagens direta em lâmina e tubo.

Ambos os métodos, em lâmina e tubo, eram baseados do método de aglutinação. Para a técnica de tipagem em lâmina, foram utilizados reagentes Anti-A monoclonal, Anti-B monoclonal, e Anti-D monoclonal todos da Empresa Ebram. Para a técnica de tipagem em tubo utilizou-se utilizados reagentes Anti-A monoclonal, Anti-B monoclonal, Anti-AB monoclonal e Anti-D monoclonal todos da Empresa Ebram. Para confirmação ou exclusão do fenótipo D-fraco todas as amostras que foram negativas na análise do RhD em tubo foram submetidas a pesquisa do fenótipo D-fraco utilizando Soro de Coombs. Não foi realizada pesquisa de fenótipo D parcial, uma vez que sua identificação não é possível através das técnicas convencionais. A análise dos dados obtidos foi baseada na estatística descritiva. Ainda, foi realizada uma análise comparativa entre os dados obtidos utilizando o teste exato de Fisher com significância de $p < 0,05$, com o objetivo de observar diferenças estatisticamente significativas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram analisadas 100 amostras de sangue total, entre elas pode-se observar através da técnica de tipagem direta em tubo que 53% das amostras analisadas quanto ao sistema ABO pertenciam ao grupo O, 36% ao grupo A, 6% ao grupo B e 5% ao grupo AB. Ao pesquisar o RhD, 83% das amostras foram consideradas positivas e 17% negativo, ou seja, apresentaram



ausência do antígeno D, destas nenhum apresentou reação positiva para a pesquisa de D-fraco. Ao comparar os resultados obtidos nas técnicas em lâmina e tubo, percebeu-se que quanto à pesquisa de antígenos do sistema ABO, não foram observadas discrepâncias entre as técnicas. Porém observou-se discrepâncias do sistema RhD entre a tipagem em lâmina e em tubo, sendo que 5 amostras (6,02%) apresentaram reações discrepantes. Percebeu-se que os resultados após a análise em lâmina foram negativos e a técnica em tubo revelou reação positiva para o antígeno D. Isso pode ter relação com alguns fatores variáveis presentes na técnica em lâmina. Esses fatores de discrepâncias podem ocorrer pelo fato de que na lâmina possa ocorrer uma não equivalência entre o soro e o sangue, acarretando assim que se tenha mais anticorpos do que antígenos, ou vice versa. No tubo as chances disso ocorrer são menores já que ocorre uma diluição com salina (0.9% NaCl). Outro fator importante é o encontro do antígeno com anticorpo que na lamina ocorre por acaso, e uma má homogeneização induzirá a uma não aglutinação. Já no tubo essa homogeneização é feita na centrifuga, aumentando a chance de aglutinação antígeno-anticorpo (GIRELLO; KUHN, 2013).

Sabe-se que a expressão do antígeno D apresenta grande variabilidade, diante disso, dados da literatura indicam que este é notadamente polimórfico e imunogênico. O antígeno D pode ser expresso tanto normalmente, quanto fracamente, esta expressão fraca é identificada em 0,2% a 1% na população caucasiana, fato que não deve ser negligenciado, e tomado medidas para técnicas de tipagem seguras para que evitem equívocos na liberação no laudo, e consequentemente aloimunizações em pacientes transfundidos. (NARDOZZA, 2010). Em estudo realizado em 2012 por LIU, onde foram comparados os procedimentos de tipagem de semiautomação e manual no Banco de Sangue do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, encontrou-se uma taxa de discrepância de 0,25%, sendo que aumentou a taxa de discrepância após a automação em comparação com a técnica manual, a taxa de discrepância de Rh foi de 0,18%, não tendo diferença significativa entre as técnicas manuais e de automação.

Estudos comparando discrepância entre tipagem em lâmina e em tubo são escassos na literatura e diante da grande utilização do método em lâmina entre os laboratórios de análises clínicas, estudos como este são fundamentais para gerar um quadro teórico sobre os prós e contras de cada técnica. Este estudo avaliou um número reduzido de amostras, isso foi uma das limitações encontradas, mais amostras precisam ser analisadas para elucidar melhor este quadro.



4 CONSIDERAÇÕES FINAIS OU CONCLUSÃO

Cada técnica tem suas vantagens e desvantagens, sendo a tipagem sanguínea em lâmina a menos vantajosa pelo fato de haver uma menor sensibilidade e ainda estar sujeito a erros como uma homogeneização incorreta ou ineficiente, também ocorre o fato de que reações fracas são difíceis de serem visualizadas, já a técnica feita em tubos é mais eficaz pelo fato de que a homogeneização é feita em centrífuga fazendo assim com que as reações mais fracas sejam observadas. Cabe ao bom senso do analista clínico escolher uma das técnicas para ser realizada na rotina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GIRELLO, Ana; KUHN Telma, **Fundamentos de imuno-hematologia** eritrocitária. São Paulo: Senac, 2013.

HEMOCENTRO DE CAMPINAS. **Manual básico de orientações transfusionais**. Disponível em: <http://www.hemocentro.unicamp.br/pdfs/manualtecnicotransfusional-2010.pdf>. Acesso em: 15/09/2014.

NARDOZZA, Luciano Marcondes Machado et al. Bases moleculares do sistema Rh e suas aplicações em obstetrícia e medicina transfusional. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, p. 724-8, 2010.

LIU.I.P. *Análises de Resultados da Tipagem Sanguínea Antes e Após a Implantação da Técnica de Semiatomção*, 2012. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/72412/000882081.pdf?sequence=1>. Acesso em: 29/09/2014.