

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ - HEMOCE

*Estudo Comparativo Entre o Polietileno Glicol (PEG)
e o Gel Liss-Coombs na Pesquisa
de Anticorpos Irregulares.*

Carlos Augusto de Sousa

Fortaleza - Ceará

1998

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ - HEMOCE

*Estudo Comparativo Entre o Polietileno Glicol (PEG)
e o Gel Liss-Coombs na Pesquisa
de Anticorpos Irregulares.*

Carlos Augusto de Sousa

*Monografia apresentada ao Curso de
Hematologia e Hemoterapia da Universidade
Federal do Ceará, como requisito para
obtenção do título de especialista.*

Fortaleza - Ceará

1998

***Estudo Comparativo Entre o Polietileno Glicol (PEG)
e o Gel Liss-Coombs na Pesquisa
de Anticorpos Irregulares.***

Carlos Augusto de Sousa

*Monografia apresentada como requisito final do
Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia*

ORIENTADORAS:

Dra. Vilany Franco Pereira da Silva

Dra. Francisca Vânia Barreto de Aguiar Ferreira Gomes

Fortaleza - Ceará

1998

AGRADECIMENTOS

- Ao Dr. José Murilo de Carvalho Martins e a Dra. Francisca Vânia Barreto de Aguiar Ferreira Gomes, em seus esforços para a concretização de nossa tarefa, qual seja a realização do curso, o meu eterno agradecimento.
- Ao Dr. Ormando Rodrigues Campos que esteve sempre presente nos apoiando e incentivando durante esta especialização.
- Ao corpo docente, meus sinceros agradecimentos pelos ensinamentos recebidos.
- Ao Dr. Pergentino Cunha, pela ajuda estatística.
- Aos meus colegas do Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia, minha eterna amizade.
- A todos os profissionais do Hemoce que prestaram sua contribuição para a realização do presente estudo.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

- À Deus, por tudo.
- À Jeyre Anne, Zilma e Agustinho.
- E meus irmãos, Renato, Kátia e Carliane pelo apoio, incentivo, compreensão e carinho a mim dedicados nos momentos mais difíceis.
- À Dra. Vilany Franco Pereira da Silva pela orientação e apoio na parte técnica, bem como pelo material revisado.
- Ao Dr. Mario Rigatto pelo incentivo às pesquisas e pelas valiosas sugestões na realização deste trabalho.

“Não está na natureza das coisas que o homem realize um descobrimento súbito e inesperado, a ciência avança passo a passo e cada um depende do trabalho de seus predecessores”.

Sir Ernest Rutheford

SUMÁRIO

RESUMO	07
1. INTRODUÇÃO	08
2. MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1 Material	12
2.2 Técnica	12
2.3 Análise Estatística	13
3. RESULTADOS	14
4. DISCUSSÃO	20
5. CONCLUSÃO	22
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

RESUMO

Foi realizado 150 testes de triagem e identificação de anticorpos irregulares em pacientes politransfundidos, atendidos no HEMOCE, com a finalidade de fazer um estudo comparativo entre as técnicas de Polietileno Glicol (PEG) e a gel-centrifugação.

Os meios utilizados na investigação são salina PEG a 37°C, antiglobulina humana (AGH) e gel Liss-Coombs.

Tivemos 7 (4,6%) casos positivos, sendo 1 anti-C, 1 anti-D, 1 anti-e, 1 anti-K e 3 anti-E, detectados nos dois métodos.

1 INTRODUÇÃO

A transfusão de sangue e seus componentes é, rotineiramente, um procedimento eficaz para corrigir deficiências hematológicas, embora possa apresentar determinados efeitos indesejáveis ^(03,11).

O sangue, por ser um produto biológico muito complexo, do mesmo modo que o paciente que recebe uma transfusão é um organismo biológico extremamente complexo, é formado por hemácias, leucócitos, plaquetas e substâncias moleculares com milhares de especificidades imunológicas diferentes, o que determina sua heterogeneidade ^(24,37).

Com o reconhecimento da heterogeneidade dos tipos de moléculas, que podem funcionar como anticorpos, que são as imunoglobulinas, os riscos transfusionais atualmente chega a ser infinitamente menor do que no passado ^(06,29).

O conceito de antígenos e anticorpos era desconhecido até 1900, quando o sistema de grupo sangüíneo ABO foi descoberto por Karl Landsteiner e identificado também, suas importâncias no sucesso ou falha das transfusões sangüíneas ^(21,27).

À medida que ampliou-se o conhecimento sobre a descoberta do sistema ABO, novos sistemas de grupo sangüíneo surgiram e, o mesmo também ocorreu com a pesquisa de métodos mais sensíveis para testes de compatibilidade no estágio pré-transfusional. ⁽²⁷⁾.

A prova cruzada passou então a ser utilizada a partir de 1940, quando os bancos de sangue passaram a pesquisar anticorpos no soro do paciente, capazes de destruir as hemácias do doador, ou no soro do doador capazes de destruir as hemácias do paciente. A partir de então, correlacionou-se a hemólise in vitro com a hemólise intravascular nos pacientes ^(18,21).

Apesar do cruzamento ABO, a transfusão sangüínea continuava a resultar em morbidade e mortalidade. Só após 1939, descobriu-se um anticorpo, produzido por cobaias e coelhos, quando imunizados com eritrócitos de macaco Rhesus. O anticorpo aglutinava 85% das hemácias humanas, definindo assim, as diferenças nos eritrócitos e denominado de fator Rh ⁽³⁰⁾.

Os antígenos do sistema ABO são herdados como caracteres mendelianos simples, dependentes de três genes alelomórficos, A, B e O, cuja combinação, formam os fenótipos A, B, AB e O. A presença desses antígenos eritrocitários, na superfície dos glóbulos vermelhos podem ser identificados pelos anticorpos específicos ^(05,06).

A presença de anticorpos que reagem com antígenos A ou B é achado regular no soro dos indivíduos que não possuam esses antígenos na superfície dos seus glóbulos vermelhos ⁽⁰⁶⁾.

Estas aglutininas, também denominadas anticorpos naturais regulares, frente ao antígeno correspondente, são capazes de causar hemólise intra-vascular. A destruição dos glóbulos vermelhos transfundidos, segue as alterações imunológicas e bioquímicas das quais resultam grave reação transfusional, por vezes fatal ⁽⁰²⁾.

Os anticorpos são proteínas fabricadas no sistema imunitário do organismo, por linfócitos B, em resposta a estímulos por substâncias estranhas ^(09,13). Nos outros sistemas de grupos sanguíneos os anticorpos irregulares podem aparecer por aloimunização, após transfusões ou gestações ou espontaneamente como nos sistemas Lewis e Rh ⁽⁰⁵⁾.

Conforme a bioquímica, os anticorpos são classificados em IgM, IgA, IgG, IgD e IgE sendo mais importantes em transfusão, IgM e IgG principalmente ^(14,21,28).

As IgM são os anticorpos produzidos em maior quantidade nas primeiras etapas de uma resposta primária de anticorpos. O plasma é o único fluido humano que contém quantidades significantes de IgM. As IgM são anticorpos de caráter "completo" ou "regular" e, portanto, com capacidade para produzir aglutinação espontânea dos eritrócitos tanto in vivo como in vitro (crioaglutininas). Estes auto-anticorpos fixam sempre o complemento e sua união à superfície eritrocitária se realiza entre 4°C e 20°C (auto-anticorpos frios) ^(24,31).

As IgG são anticorpos quentes, com atividade melhor a 37°C, de caráter "incompleto" ou irregular, não produzem aglutinação espontânea dos eritrócitos, e tem ou não capacidade de ativar o complemento (C₃b) ^(01,08,31).

No plasma, normalmente existe uma força de repulsão entre as hemácias por apresentarem em sua superfície uma carga negativa resultante do elevado conteúdo de ácido siálico⁽²⁶⁾.

Quando as hemácias estão suspensas em soluções eletrolíticas como de cloreto de sódio (NaCl), forma-se ao seu redor uma nuvem dupla de cátions. A diferença na densidade de carga entre as camadas interna e externa da nuvem iônica, cria um potencial eletrostático denominado potencial zeta^(14,19).

A força de repulsão entre as hemácias depende do potencial zeta e pode ser diminuída de duas maneiras: alterando-se o meio no qual as hemácias estão suspensas durante o teste e, reduzindo-se diretamente a carga negativa da hemácia^(19,26).

A aglutinação de uma suspensão de hemácias pelo anticorpo específico, ocorre quando os determinantes antigênicos, na membrana da hemácia combinam-se com o sítio antígeno-combinante nas regiões variáveis das cadeias pesada e leve das imunoglobulinas⁽¹⁴⁾.

Os anticorpos incompletos ou não aglutinantes, podem aglutinar hemácias quando se altera o meio de reação. Podem também ser convertidos em uma aglutinina salina efetiva, através de clivagem ou redução química da molécula de imunoglobulina.

O equilíbrio da ligação antígeno-anticorpo é influenciado por efeito da força iônica, da temperatura e do pH, que para a maioria dos anticorpos deve ser ligeiramente ácido, 6,7 a 7,5⁽¹⁴⁾.

Há vários meios utilizados para potencializar as reações antígenos-anticorpos como: a solução de baixa força iônica (Liss); o polibrino e; o polietileno glicol (PEG). E as enzimas proteolíticas, tais como a papaína, a bromelina, ficina ou tripsina por destruírem a camada superficial do ácido siálico podem ser usadas com globulina anti-humana^(14,12,19,27).

O polietileno glicol (PEG) uma substância hidrossolúvel, se polariza no campo elétrico das hemácias e diminui a força de repulsão entre os glóbulos pela neutralização de parte das cargas negativas que provocam a repulsão. O PEG

aumenta a constante dielétrica do meio, reduz o potencial zeta e favorece a aglutinação (19).

A técnica de uso do PEG a 20% tem sido desenvolvida para detectar e potencializar reações que identificam anticorpos fracos (22). É também proposto que o PEG adicionado ao teste da antiglobulina indireta, aumenta a reatividade de maior número de aloanticorpos em testes de compatibilidade de rotina. E, a anti-IgG é usada juntamente ao PEG para evitar um número elevado de resultados falsos positivos obtidos com o uso da antiglobulina humana poliespecífica (32).

O gel-centrifugação é um método para pesquisa e identificação de anticorpos irregulares que apresenta uma forma de leitura das reações de aglutinação, de fácil interpretação. É um sistema de cartões, com seis microtubos de reações em gel sephadex 100, contendo antiglobulina humana e Liss.

No gel antiglobulina (para pesquisa e identificação de anticorpos), as hemácias são sensibilizadas por anticorpos durante a fase de incubação e retidas pela antiglobulina humana no gel, durante a centrifugação. Somente as hemácias sensibilizadas serão retidas na parte superior do microtubo, pelo gel que contém antiglobulina humana, caso contrário, atravessarão o gel sedimentando-se no fundo do microtubo (10).

O objetivo do presente trabalho é fazer um estudo utilizando o método do polietileno glicol (PEG) e compará-lo com método de gel-centrifugação (Liss-Coombs), na identificação de anticorpos irregulares, em função da especificidade e sensibilidade verificada pela intensidade de aglutinação. Afim de ser utilizada uma técnica rápida, sensível e economicamente viável nas agências transfusionais e em Bancos de Sangue.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido durante o período de setembro a dezembro de 1997 no Laboratório de Imunohematologia do Hemoce, onde foram realizados 150 testes de pesquisa e identificação de anticorpos irregulares, em plasma de paciente politransfundidos, seguindo as técnicas do PEG e do gel-centrifugação em paralelo.

2.1 Material

Amostras colhidas por punção venosa com anticoagulante EDTA.

Reagente para potencialização de anticorpos, Gamma PEG, do laboratório Gamma.

Reagentes de células vermelhas I e II, para detecção de anticorpos, Duet, do laboratório Gamma.

Reagentes de células vermelhas, ID-Diacell I e II, do laboratório Diamed de Belo Horizonte.

Reagentes de células vermelhas para identificação de anticorpos, painel 11 e 15, dos laboratórios Diamed e Gamma, respectivamente.

Globulina anti-humana (anti-IgG) do laboratório Gamma.

Cartões de gel-centrifugação, contendo anti-IgG, C₃d e solução de Liss modificado, do laboratório Diamed.

2.2 Técnica

A técnica do PEG para a pesquisa de anticorpos irregulares baseia-se na metodologia do Laboratório Gamma Biologicals (EUA): misturar 2 gotas de plasma com uma gota de hemácias do painel de triagem I e II; centrifugar e ler; acrescentar 2 gotas de PEG; incubar a 37°C por 15 minutos e observar se há hemólise; lavar por 3 vezes com solução salina a 0,9%; adicionar 2 gotas de globulina anti-humana, centrifugar por 15 minutos e ler para aglutinação; nas amostras com resultados negativos, colocar 1 gota de controle de Coombs

(hemácias sensibilizadas com IgG), centrifugar e ler. Nesta fase deverá ocorrer aglutinação para confirmar a veracidade do teste.

As amostras positivas na triagem sérica são em uma segunda etapa, submetidas a um painel de identificação, contendo antígenos fenotipados para outros sistemas de grupo sanguíneos. Submetendo-se a reação as mesmas fases utilizadas na pesquisa de anticorpos irregulares.

Os resultados positivos são dados em cruces (+ a +++) de acordo com a intensidade de aglutinação ⁽¹⁷⁾.

Com um antigrama, verifica-se a correspondência entre a distribuição das reações positivas e negativas, com a presença ou ausência de um antígeno. A seqüência de aglutinação obtida, correspondendo com a presença de determinados antígenos, demonstrará a especificidade do anticorpo em cada amostra.

Para a pesquisa de anticorpo em gel-centrifugação ⁽¹⁰⁾: usar uma gota do painel I e II nos microtubos; adicionar 25 microlitros do plasma; incubar a 37°C por 10 minutos; centrifugar por 10 minutos a baixa rotação (1030 rpm) e observar a aglutinação.

As amostras positivas foram identificadas num painel de 1 a 11 antígenos conhecidos, usando-se a mesma metodologia da triagem acima referida.

O painel é acompanhado de um antigrama contendo 11 antígenos conhecidos, onde são identificados os anticorpos da amostra.

2.3 Análise Estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguidos por um procedimento de múltipla comparação (Student-Newman-Keuls Test), utilizando-se o programa Statview de um computador Macintosh.

O nível de significância foi estabelecido em 5%.

3 RESULTADOS

De 150 amostras sanguíneas pesquisadas, que correspondiam ao total de pacientes politransfundidos, 07 (4,66%) apresentaram resultados positivos para anticorpos irregulares antieritrocitários. Todos os anticorpos foram identificados como mostra a tabela III.

As sete amostras positivas no método do polietileno glicol e no gel-centrifugação, apresentaram os seguintes anticorpos: 1 anti-C, 1 anti-D, 1 anti-e, 1 anti-K e 3 anti-E. (Tabela III)

Os resultados obtidos na identificação de anticorpos foram semelhantes em ambos procedimentos (PEG e gel-centrifugação), sendo encontrado os mesmos anticorpos nas amostras positivas da triagem. (Tabelas I e II)

Na amostra que apresentou positividade para anti-e, não houve nenhuma aglutinação na fase de temperatura ambiente (T.A.) (Tabela I)

Após a adição do PEG e incubação das amostras a 37°C por 15 minutos, não houve presença de hemólise. Entretanto, a intensidade de aglutinação aumentou de uma a duas cruzes entre as fases T.A. e AGH (antiglobulina humana). (Tabela I)

Em 6 casos (4,0%), as reações foram positivas nas fases T.A. e AGH da metodologia do PEG, assim como em gel-centrifugação. E apenas um caso (0,66%) reagiu somente na antiglobulina e no gel. (Tabelas I e II)

No total de amostras analisadas, 86 eram de pacientes do sexo feminino e 64 do sexo masculino. Sendo dos pacientes femininos, 34 (39,5%) casos eram do grupo sanguíneo A, 6 (7,0%) casos do grupo B, 4 (4,6%) casos do grupo AB e 42 (48,9%) casos do grupo O. Na população masculina, 25 (39,0%) pacientes pertenciam ao grupo sanguíneo A, 3 (4,7%) casos ao grupo B, 1 (1,6%) ao grupo AB e 35 (54,7%) casos ao grupo O. (Tabela IV)

Quanto a classificação do fator Rh, 135 pacientes (90,0%) eram Rh positivos e 15 (10,0%) Rh negativos. (Tabela V)

Das 150 amostras estudadas, 50 (33,33%) pertenciam a pacientes portadores de neoplasias diversas, 33 (22,0%) a pacientes anêmicos e 16 (10,66%) a

pacientes leucêmicos. O restante das amostras foram colhidas de pacientes com as mais diferentes patologias. (Tabela VI)

Além da detecção aumentada dos anticorpos relacionados ao sistema Rh, o PEG e gel-centrifugação detectaram os mesmos anticorpos e, em alguns casos, apresentando intensidade de reação igual. No entanto houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as habilidades do PEG e gel-centrifugação (Liss-Coombs) para detectar o anticorpo anti-e (Tabelas I e II)

As reações envolvendo o anti-e foram significativamente mais fortes ($p < 0,05$) entre as próprias fases do método PEG (T.A. e AGH). (Tabela I)

TABELA I

Disposição dos anticorpos irregulares e intensidade de hemaglutinação (+a++++) pelo PEG nos pacientes hematológicos politransfundidos do HUWC-UFC/HEMOCE.

NÚMERO DAS HEMÁCIAS DO PAINEL	ANTICORPOS IRREGULARES																	
	ANTI-C			ANTI-D			ANTI-e**			ANTI-k			ANTI-E			ANTI-I		
	PEG			PEG			PEG			PEG			PEG			PEG		
	T.A.	*37°C	AGH	T.A.	*37°C	AGH	T.A.	*37°C	AGH	T.A.	*37°C	AGH	T.A.	*37°C	AGH	T.A.	*37°C	AGH
1	2+	-	3+	0	-	3+	0	-	2+	0	-	0	0	-	0	0	-	0
2	2+	-	3+	0	-	3+	0	-	3+	2+	-	4+	0	-	0	0	-	0
3	2+	-	3+	0	-	2+	0	-	2+	0	-	0	1+	-	2+	2+	-	3+
4	0	-	0	0	-	3+	0	-	0	0	-	0	2+	-	3+	3+	-	4+
5	0	-	0	0	-	3+	0	-	0	0	-	0	2+	-	3+	3+	-	4+
6	0	-	0	2+	-	3+	0	-	2+	0	-	0	0	-	0	0	-	2+
7	0	-	0	0	-	0	0	-	2+	0	-	0	0	-	0	0	-	0
8	0	-	0	0	-	0	0	-	3+	0	-	0	2+	-	3+	3+	-	4+
9	0	-	0	0	-	0	0	-	3+	2+	-	4+	0	-	0	0	-	0
10	0	-	0	0	-	0	0	-	2+	0	-	0	0	-	0	0	-	0
11	2+	-	3+	0	-	0	0	-	3+	3+	-	3+	0	-	0	0	-	0
12	0	-	0	0	-	0	0	-	2+	0	-	0	0	-	0	0	-	0
13	0	-	0	0	-	0	0	-	2+	0	-	0	0	-	0	0	-	0
14	0	-	0	0	-	3+	0	-	2+	0	-	0	0	-	0	0	-	0
15	0	-	0	0	-	3+	0	-	2+	0	-	0	0	-	0	0	-	0

T.A. : Temperatura Ambiente

AGH: Antiglobulina Humana

* Ausência de hemólise à 37°C

** Diferença significativa entre T.A. e AGH (p<0,05; Student-Neuman-Keuls Test)

TABELA II

Disposição dos anticorpos irregulares e intensidade de hemaglutinação (+a++++) pelo Gel (Liss Coombs) nos pacientes hematológicos politransfundidos do HUWC-UFC/HEMOCE.

NÚMERO DAS HEMÁCIAS DO PAINEL	ANTICORPOS IRREGULARES													
	ANTI-C		ANTI-D		ANTI-e*		ANTI-k		ANTI-E					
	GEL	LISS/COOMBS	GEL	LISS/COOMBS	GEL	LISS/COOMBS	GEL	LISS/COOMBS	GEL	LISS/COOMBS				
1	3+		3+		2+		0		2+		0		0	
2	3+		3+		2+		3+		0		0		0	
3	0		3+		0		0		3+		4+		4+	
4	3+		0		2+		0		3+		0		0	
5	0		0		2+		0		3+		4+		4+	
6	0		0		2+		3+		0		0		0	
7	0		0		2+		0		0		0		0	
8	0		3+		2+		0		0		0		0	
9	0		3+		0		3+		3+		4+		4+	
10	0		0		1+		0		0		0		0	
11	0		3+		1+		0		0		0		0	

P<0,05 comparado com o PEG (Student-Neuman-Keuls Test)

TABELA III

Anticorpos irregulares encontrados nos pacientes politransfundidos estudados no HEMOCE, no período de setembro a dezembro de 1997.

ANTICORPOS	NÚMERO DE ANTICORPOS	PACIENTES SENSIBILIZADOS %	PACIENTES ESTUDADOS %
Anti-C	01	14,28	0,66
Anti-D	01	14,28	0,66
Anti-E	03	42,86	2,00
Anti-e	01	14,28	0,66
Anti-K	01	14,28	0,66
TOTAL	07	100,00	4,66

TABELA IV

Distribuição do número de pacientes politransfundidos relacionados com o sexo e o grupo sanguíneo.

GRUPO SANGUÍNEO	SEXO MASCULINO	%	SEXO FEMININO	%	TOTAL	%
A	25	39,0	34	39,5	59	39,3
B	03	04,7	06	07,0	09	06,0
AB	01	01,6	04	04,6	05	03,3
O	35	54,7	42	48,9	77	51,4
TOTAL	64	100,0	86	100,0	150	100,0

TABELA V

Distribuição do número de pacientes politransfundidos relacionados com o Grupo Sanguíneo e Fator Rh.

GRUPO SANGUÍNEO	Rh POSITIVO	%	Rh NEGATIVO	%	TOTAL	%
A	54	40,0	05	33,3	59	39,3
B	09	06,7	00	00	09	06,0
AB	05	03,7	00	00	05	03,3
O	67	49,6	10	66,7	77	51,4
TOTAL	135	100,0	15	100,0	150	100,0

TABELA VI

Distribuição percentual das patologias que representa a população estudada no HEMOCE, no período de setembro a dezembro de 1997.

PATOLOGIA	NÚMERO DE CASOS	PERCENTUAL %
Leucemias	16	10,66
Anemias	33	22,00
S.M.D.	15	10,00
L.N.H.	07	04,66
Neoplasias	50	33,33
D. Hodgkin	05	03,33
M. Múltiplo	08	5,33
Policitemia Vera	01	0,7
Outros	15	10,00
TOTAL	150	100,00

4 DISCUSSÃO

A facilidade e segurança da transfusão constitui um alcance científico importante. Uma prática transfusional adequada requer, além de um prévio estudo imunohematológico bem feito, uma constante e crítica avaliação clínica. As indicações médicas devem ser avaliadas de forma criteriosa em cada transfusão para garantir sua eficácia terapêutica ⁽³⁾.

Os anticorpos irregulares anti-eritrocitários ou imunes de grupos sanguíneos, estão sendo melhor pesquisados, como forma de aumentar a segurança transfusional.

Nos testes pré-transfusionais é muito importante ter em mente a história clínica do paciente quando surgirem eventuais problemas como: a presença de autoanticorpo, níveis elevados de globulinas e formação de rouleaux. Algumas causas como idade, sexo, transfusão sanguínea anterior, anemia hemolítica autoimune e neoplasias, devem ser relacionadas com o resultado do teste⁽²⁴⁾.

Em nossa pesquisa foram considerados alguns fatores, tais como transfusões anteriores, patologias, grupo sanguíneo ABO, fator Rh e sexo. De 150 pacientes politransfundidos, 50 casos (33,33%) eram de diferentes neoplasias submetidos a tratamento quimioterápico e 33 casos (22,00%) com anemias.

Em pacientes politransfundidos portadores de anemias e em portadores de outras patologias, foi detectado apenas um anticorpo irregular em cada paciente, enquanto que nos portadores de neoplasias em tratamento quimioterápico não detectou-se nenhum anticorpo irregular. A baixa incidência, provavelmente é influenciada por agentes quimioterápicos, que tem atividade imunossupressora ⁽²⁸⁾.

As amostras analisadas de 3 (42,86%) pacientes sensibilizados apresentavam anticorpo anti-E. (Tabela III). Alguns autores citam que a taxa de reconhecimento de anticorpos Rh aumenta mais que duas vezes com o procedimento do PEG. Este aumento é devido à habilidade do PEG de detectar anti-D adquirido passivamente, após a administração de imunoglobulina (Rhogan) parenteral (Rh-IgG). Entretanto, a detecção do anti-E e anti-C também aumenta significativamente, reduzindo a necessidade do uso de enzimas ^(33, 34).

A tabela I mostra que houve um aumento na intensidade de aglutinação entre as fases T.A. e AGH. Segundo a literatura, o teste da antiglobulina indireta é potencializado pela adição do PEG ^(34, 35). Aumentando a sensibilidade deste para a detecção de anticorpos clinicamente significantes ^(23, 25, 33).

Na fase a 37°C não foi verificado hemólise, o que indicaria uma reação antígeno-anticorpo. Mais frequentemente, anticorpos capazes de produzir hemólise têm especificidade nos sistemas de grupos sanguíneos ABO, P, Lewis e Kid. É também bem conhecido que a incubação de soro e hemácias em meio iônico reduzido aumenta a taxa de ligação entre anticorpos do soro e os sítios antigênicos receptores nas células ^(4, 15, 16, 20, 36).

O método de gel-centrifugação (Liss-Coombs) pela sua composição, forma de leitura das reações, elevada sensibilidade e racionalização do tempo de trabalho, tem comprovado sua eficácia na detecção de anticorpos clinicamente significantes ⁽¹⁰⁾.

O uso somente do PEG em rotina de banco de sangue, tem fornecido resultados clínicos confiáveis ⁽³⁴⁾. Em sorologia de grupo sanguíneo, além da especificidade e sensibilidade dos seus reagentes, temos que considerar o seu custo financeiro. O PEG por ser uma técnica simples, em tubo, torna menor os custos da pesquisa de anticorpos.

O PEG pode também ser usado quando testando eluatos. Coombs e Telen observaram que a sensibilidade do teste algumas vezes potencializava de modo a tornar possível a detecção de anticorpos em um eluato que era indetectável pelos métodos convencionais ⁽⁰⁷⁾.

De acordo com os nossos resultados, confirmou-se o aumento na potencialização da reação antígeno-anticorpo, pela intensidade de aglutinação, verificando-se que o PEG foi tão sensível quanto o gel-centrifugação (Liss-Coombs).

5 CONCLUSÃO

O estudo mostrou que o polietileno glicol (PEG) é um excelente método usado na detecção e identificação de anticorpos irregulares anti-eritrocitários, clinicamente significantes.

Apresentou boa sensibilidade, especificidade e confiabilidade, na rotina para a detecção de anticorpos irregulares em prova pré-transfusional no serviço de hemoterapia.

Foi eficaz na potencialização da reação antígeno-anticorpo e ao mesmo tempo equivalente ao método de gel-centrifugação já utilizado em banco de sangue.

ABSTRACT

It was performed 150 tests of screening and identification of irregular antibodies in politransfused patients, given attention at HEMOCE, with the aim to carry on a comparative study between the polyethylene glycol (PEG) and of the gel centrifugation techniques. The means put po use in the invertigation were saline, PEG at 37°C, human antiglobulin (AGH) and gel Liss-Coombs. We had 7 (4,6%) positive cases, being 1 anti-C, 1 anti-D, 1 anti-e, 1 anti-K and 3 anti-E, detected by both methods.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ABBAS, A.K., LICHTMAN, A.H., POBER, J.S. Imunologia celular e molecular. Rio de Janeiro: Revinter, 1995. 440p., cap. 3, p.51-60.
02. ANDRÉ, R., DREYFUS, B., SALMON, C.H. Incidents et accidents de La transfusion sanguine. Paris: Masson, 1956. p.3.
03. ASOCIACION AMERICANA DE BANCOS DE SANGRE. Manual técnico. 10.ed. Barcelona, 1992. 785p. p. 403-440, 487.
04. AUSTIN, R. An evaluation of a rapid Coombs technique. NZJ. Med. Lab. Tech., v. 30, p.51, 1976.
05. AUCLERC, G. Mini Enciclopédia de Hematologia. São Paulo: Andrei, 1985. p.38-41.
06. CARVALHO, P.V. Acidentes transfusionais por incompatibilidade sanguínea. In: Soerensen, B. Os riscos da transfusão sanguínea. São Paulo: Sarvier, 1995. cap. 3, p. 63-72.
07. COOMBS, M.R., TELEN, M.J. Testing eluates in polyethylene glycol (PEG): A sensitive technique for detecting early alloimmunization. (Abstract) Transfusion, v.29, supplement, 1989, p. 58 S.
08. CORRONS, J.L.V. Hematologia clínica. 3 ed. Madrid: Mosby-Doyma, 1995. 614p. cap. 10. P. 195-197.
09. DAVIES. D.R., METZGER, H. Structural basis of antibody function. Ann Rev. Immunol., v. 1, p. 87-118, 1983.
10. DIAMED-ID Microtyping System. Manual de técnicos. Belo Horizonte, IEA, 1994. 45p., p. 24-32.

11. FABRON, A.J. Efeitos adversos da transfusão de sangue e derivados. In: Soerensen, B. Os riscos da transfusão sanguínea. São Paulo: Sarvier, 1995. cap. 4, p. 73.
12. HUGHES-JONES, N.C. Optimal conditions for detecting blood groups antibodies by the antiglobulin test. Vox Sang., v.9, n.1, p.385-395, 1964.
13. JUNQUEIRA, P.C. Manual prático de transfusão sanguínea. São Paulo: Andrei, 1988. 309p. cap.5. p.135-136.
14. KAGAN, E. Fundamentals of blood group immunology. In: PITTIGLIO, D.H.; BADWIN. A.S.; SOHMER, P.R. Modern blood banking and transfusion practices. 2. ed. Philadelphia: F.A. Davis, 1984. cap.3, p.58-66.
15. LINCOLN, P.J., DODD, B.E. The use of low ionic strength solution (LISS) in elution experiments and in combination with papain-treated cells for the titration of various antibodies, including eluted antibody. Vox Sang., v.34, p.221-226, 1978.
16. LÖW, B., MESSETER, L. Antiglobulin test in low ionic strength salt solution for rapid antibody screening and crossmatching. Vox Sang., v.26, p.53-61, 1974.
17. MARSH, W.L. Scoring of hemagglutination reactions. Transfusion, v.12, n.5, p.352-353, 1972.
18. MCKEEVER, B.G. Compatibility testing. In: PITTIGLIO, D.H. Modern blood banking and transfusion practices. Philadelphia: F.A. Davis, 1983. 580p. cap. 11, p. 243-266.
19. MELO, L., SANTOS, J.A. Imunohematologia eritrocitária. Belo Horizonte: IEA, 1996. 245p. cap.2, p.39-48.
20. MOORE, H.C., MOLLISON, P.L. Use of a low-ionic-strength medium in manual tests for antibody detection. Transfusion. v.16, p.291-306, 1976.
21. MOLLISON, P.L. Blood transfusion in clinical medicine. 7.ed. Oxford: Blackwell

Scientific, 1983. 988p., cap.6, p.191-268.

22. NANCE, S., GARRATTY, G. A new technique to enhance antibody reactions using polyethylene glycol. (Abstract). Transfusion., v.25, p. 475, 1985.
23. _____. A new potentiator of red blood cell antigen-antibody reactions. Am J Clin. Pathol., v.87, p.633-635,1987.
24. OLIVEIRA, H.P. Hematologia clínica, 3.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1990. 609p. p.197-210, 420-430.
25. O'SHEA, K., SLATER, J., LOGA, D., WOJTYNIAK, L. Polyethylene glycol: its use as a special technique for antibody investigation. Can Assoc. Immunohematol., v.8, p.176-179, 1988.
26. PELLIZZA, S.M., BERTHIER, M.E.O., GONZAGA, A.L. Manual de imunohematologia. Rio de Janeiro: Centro de Hematologia Santa Catarina, 1977. v.1, p.15-16.
27. RAICHLE, L.T. Testes de compatibilidade. In: HARMENING, D. Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão. Rio de Janeiro: Revinter. 1992. 445p. cap.12, p.226-241.
28. RAPAPORT, S.I. Hematologia. 2.ed. São Paulo: Roca, 1990. cap.20, p.276-281.
29. ROITT, I.M. Imunologia, 2.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1976. 299p. cap.2, p.23-48, 203-205.
30. SALMON, C. Os grupos sanguíneos. In: Bach, J. Imunologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogn. 1982. 585p. cap.22, p.357-360.
31. SOLOMON, J.M. Behavior of incomplete antibodies in quantitative hemagglutination reactions. Transfusion, v.4, n.1, p.101-111, 1964.
32. SLATER, J.L., GRISWOLD, D.J., WOJTYNIAK, L.S. Reisling, M.J. Evaluation of the

- polyethylene glycol-indirect antiglobulin test. Transfusion, v.29, p.686-688, 1989.
33. VENGELEN-TYLER, V., CHOY, C.A. Comparative study of antibody enhancement techniques. (Abstract). Transfusion, v.26, p.570, 1986.
34. WENZ, B., APUZZO, J. SHAH, D.P. Evaluation of the polyethylene glycol-potentiated indirect antiglobulin test. Transfusion, v.30, p.318-321, 1990.
35. WENZ, B., APUZZO, J. Polyethylene glycol the indirect antiglobulin test. Transfusion, v.29, p.218-220, 1989.
36. WICKER, B., WALLAS, C.H. A comparison of a low ionic strength saline medium with routine methods for antibody identifications. Transfusion, v.16, p.469-472, 1976.
37. WIDMANN, F.K. Efeitos adversos da transfusão sanguínea. In: HARMENING, D. Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão. Rio de Janeiro: Revinter, 1992. 445p. cap.17, p.300-315.