

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E  
TOXICOLÓGICAS**

**MARIANA MARTINS GODIN**

**GRUPO SANGUÍNEO “O” PERIGOSO:  
A REALIDADE DA FUNDAÇÃO HEMOMINAS, HEMOCENTRO DE BELO  
HORIZONTE, MINAS GERAIS**

Belo Horizonte – MG  
2015

**MARIANA MARTINS GODIN**

**GRUPO SANGUÍNEO “O” PERIGOSO:  
A REALIDADE DA FUNDAÇÃO HEMOMINAS, HEMOCENTRO DE BELO  
HORIZONTE, MINAS GERAIS**

Dissertação, como requisito parcial, para obter o grau de mestre em Análises Clínicas e Toxicológicas, submetida ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luci Maria Sant' Ana Dusse – UFMG

Colaboradores: Dr<sup>a</sup> Luciana Cayres Schmidt,  
Fundação Hemominas

Dr. Lauro Mello Vieira, UFMG

Belo Horizonte – MG  
2015

G585g Godin, Mariana Martins.  
Grupo sanguíneo "O" perigoso: a realidade da Fundação Hemominas, Hemocentro de Belo Horizonte, Minas Gerais / Mariana Martins Godin. – 2015.  
108 f. il.

Orientadora: Luci Maria Sant' Ana Dusse.  
Colaboradores: Luciana Cayres Schmidt.  
Lauro Mello Vieira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas.

1. Aglutininas – Teses. 2. Grupos sanguíneos – Teses. 3. Sangue – Transfusão – Teses. 4. Reação transfusional hemolítica - Teses. I. Dusse, Luci Maria Sant' Ana. II. Schmidt, Luciana Cayres. III. Vieira, Lauro Mello. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. V. Título.

CDD:615.65



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS

UFMG

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**GRUPO SANGUÍNEO "O" PERIGOSO: A REALIDADE DA FUNDAÇÃO HEMOMINAS, HEMOCENTRO DE BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS**

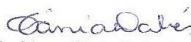
**MARIANA MARTINS GODIN**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS, área de concentração ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS.

Aprovada em 08 de junho de 2015, pela banca constituída pelos membros:

  
Prof(a). Luci Maria Sant Ana Dusse - Orientador  
UFMG

  
Prof(a). Maria Clara Fernandes da Silva Malta  
Fundação Hemominas

  
Prof(a). Tania Mara Pinto Dabes Guimaraes  
UFMG

Belo Horizonte, 8 de junho de 2015.

Dedicamos o grau de Mestre

Aos meus pais, Ismar Godin e Zélia Martins Godin, e às minhas irmãs, Juliana Martins Godin e Adriana Martins Godin.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me capacitar e me conceder saúde para cumprir mais essa etapa da minha vida.

Ao meu pai, Ismar Godin e à minha mãe, Zélia Martins Godin, por acreditarem na minha capacidade e por me apoiarem em todas as situações, ainda que estejam distantes fisicamente.

Às minhas irmãs, Juliana Martins Godin e Adriana Martins Godin, que me incentivaram a encarar mais esse desafio e por me ajudarem sempre, mesmo à distância.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Luci Maria Sant' Ana Dusse, que confiou em mim e me amparou brilhantemente no decorrer desse tempo.

À minha chefe na Fundação Hemominas, Luciana Cayres Schmidt, por me apoiar na execução da pesquisa e me auxiliar em diversos momentos.

Ao bolsista de iniciação científica, Lucas de Oliveira Souza, que trabalhou com comprometimento e que trouxe grande contribuição à pesquisa.

À toda equipe da Central de Imuno-Hematologia, que tanto me ajudou no decorrer da pesquisa, em especial à técnica Marisa Esmeria Torres, por me ajudar no preparo das suspensões de hemácias.

À técnica do setor de Controle da Qualidade da Fundação Hemominas, Maria Lucimar da Silva Abreu, pelo treinamento e presteza na padronização das leituras em tubo.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. João Paulo Haddad e à Dr<sup>a</sup> Rejane S. Diniz, da Faculdade de Veterinária, pelo auxílio e contribuição nas etapas do cálculo amostral e análise estatística.

À Fundação Hemominas, pela oportunidade de desenvolvimento da pesquisa e pelo apoio financeiro.

À FAPEMIG, pela viabilização de um bolsista de iniciação científica.

Ao CNPQ e à CAPES, pelo apoio financeiro.

*“Sempre que ensinares, ensine também a duvidar do que se ensina”  
José Ortega y Gasset*

## RESUMO

A transfusão de sangue e seus componentes é uma terapia eficaz, mas não está isenta de riscos. O termo "Doador Universal Perigoso" refere-se ao potencial de aglutinação das hemácias dos receptores "não-O" frente ao plasma dos doadores do grupo "O". A obtenção de plaquetas por aférese tornou-se rotineira nos bancos de sangue e, sabendo que o concentrado de plaquetas carrega um volume considerável de plasma, surgiu a preocupação com o título de aglutininas anti-A e anti-B do doador universal "O". Dessa forma, a titulação prévia de aglutininas tem sido incentivada visando à prevenção de reações transfusionais. O objetivo deste estudo foi estimar a frequência de doador "O" perigoso no Hemocentro Belo Horizonte, por meio da determinação dos títulos de aglutininas anti-A e anti-B em doadores do grupo sanguíneo "O". Foram analisadas 400 amostras de doadores do grupo "O" pela técnica de titulação em tubo e os títulos de aglutininas anti-A e anti-B das classes IgM e IgG foram obtidos. Foram considerados doadores perigosos aqueles que apresentaram título de aglutinina anti-A e/ou anti-B da classe IgM  $\geq 128$  e/ou título de aglutinina anti-A e/ou anti-B da classe IgG  $\geq 256$ . Os doadores foram caracterizados quanto ao sexo, faixa etária e etnia. As aglutininas foram caracterizadas quanto à especificidade (anti-A e anti-B) e classe do anticorpo (IgG e IgM). A análise estatística dos dados foi feita pelo teste qui-quadrado e teste exato de Fisher. A razão de chances (RC) foi determinada para as variáveis que apresentaram correlação significativa. Das 400 amostras avaliadas, 209 eram de homens (52,3%) e 191 de mulheres (47,7%). Quanto à faixa etária, 169 doadores tinham de 18 a 29 anos (42,2%), 116 de 29 a 39 anos (29,0%), 69 de 39 a 49 anos (17,3%), 36 de 49 a 59 anos (9,0%) e 10 de 59 a 69 anos (2,5%). Com relação à etnia, 208 se autotransclassificaram como pardos (52%), 136 como brancos (34%), 54 como negros (13,5%) e 2 como amarelos (0,5%). A análise dos resultados revelou que 30,5% dos doadores do grupo "O" são "O" perigosos (56,6% do sexo feminino e 43,4%, do masculino). Entre os doadores classificados como "O" perigosos, a frequência das mulheres foi superior à dos homens ( $p=0,019$ ; RC=1,66; IC<sup>95%</sup>=1,08-2,56) e a frequência entre os doadores jovens de 18 a 29 anos foi superior à dos adultos de 49 a 59 anos ( $p=0,015$ ; RC=3,05; IC<sup>95%</sup>=1,22-7,69). A análise dos títulos das aglutininas nas 1600 análises revelou que, em 88 e 84 delas, as aglutininas anti-A e anti-B caracterizaram o doador como perigoso, respectivamente. A análise dos títulos das aglutininas nas 1600 análises revelou que, em 76 e 68 delas, as classes de anticorpos IgM e IgG caracterizaram o doador como perigoso, respectivamente. Para as variáveis etnia, especificidade da aglutinina e classe do anticorpo não houve correlação significativa entre os grupos. O grande mérito do presente estudo foi despertar o interesse da Fundação Hemominas para a questão do doador "O" perigoso. Isso determinou o início da validação da titulação automatizada na Central de Imuno-Hematologia, um passo fundamental para tornar a terapia transfusional mais segura para os pacientes que se beneficiam dos hemocomponentes de doadores do grupo "O".

**PALAVRAS-CHAVE:** Anti-A; Anti-B; IgM; IgG; Doador Universal Perigoso; Reação Transfusional Hemolítica.



## ABSTRACT

Blood transfusion is an effective therapy, although it is associated with risks. The term "Dangerous Universal Donor" refers to the potential of receptors' erythrocytes agglutination due the serum of group "O" donors. Obtaining platelet apheresis has become routine in blood banks. Knowing that the platelet concentrate carries a significant volume of plasma, there was a concern with the titer of anti-A and anti-B agglutinins. Therefore, the prior titration of agglutinins has been encouraged for the prevention of transfusion reactions. The aim of this study was to estimate the "O" dangerous donor frequency from the Blood Center in Belo Horizonte/MG, through the determination of the anti-A and anti-B agglutinins titers in "O" blood group donors. Four hundred "O" blood group samples were analyzed by tube titration technique and the titers of anti-A and anti-B agglutinins IgM and IgG classes were obtained. Dangerous donors were those who had titers of anti-A and/or anti-B IgM $\geq$ 128 and/or titer of anti-A and/or anti-B IgG $\geq$ 256. Donors were characterized by gender, age and ethnicity. The agglutinins were characterized as specificity (anti-A and anti-B) and antibody class (IgG and IgM). The statistical analysis was done by chi-square test and Fisher's exact test. The odds ratio (OR) was determined for the variables that were significantly correlated. Of the 400 samples evaluated, 209 were from men (52.3%) and 191 from women (47.7%). Concerning to the age, 169 donors were 18-29 years old (42.2%); 116, 29-39 years old (29.0%); 69, 39-49 years old (17.3%); 36, 49-59 years (9.0%), and 10, 59-69 (2.5%). Regarding to ethnicity, 208 classified themselves as brown (52%); 136 as caucasian (34%), 54 as black (13.5%) and 2 (0.5%) as asiatic. The results revealed that 30.5% of the "O" blood group donors are "O" dangerous (56.6%, female and 43.4%, male). Among donors classified as "O" dangerous, the frequency of women was higher than men ( $P=0.019$ ;  $OR=1.66$ ,  $RC=1,66$ ;  $CI^{95\%}=1,08-2,56$ ). The frequency among young donors (18 to 29 years old) was greater than in adults (49-59 years old) ( $P=0.015$ ;  $OR=3.05$ ,  $CI^{95\%}=1,22-7,69$ ). The analysis of 1600 titrations showed that in 88 and 84 of them, the anti-A and anti-B agglutinins characterized donors as hazardous, respectively. The analysis of 1600 titrations analyzes revealed that in 76 and 68 of them, IgM and IgG antibody classes characterized donors as hazardous, respectively. For ethnicity, agglutinin specificity and antibody class there were no significant correlations between groups. The great merit of this study was to arouse the interest of Fundação Hemominas for the issue of "Dangerous Universal Donor". This determined the beginning of the standardization of automated titration in the Central de Imuno-Hematologia, an important step toward making transfusion a safer therapy for patients who benefit from the "O" blood group products.

**KEYWORDS:** Anti-A; Anti-B; IgM; IgG; Dangerous Universal Donor; Hemolytic Transfusion Reaction.

## LISTA DE FIGURAS

1 – Microplaca com fundo em “U” (96 cavidades).....	38
2 – Cartela utilizada para testes de aglutinação em gel.....	38
3 – Planejamento experimental do estudo.....	50
4 – Descrição do processo de preparo das suspensões de hemácias.....	54
5 – Suspensões de hemácias A <sub>1</sub> e B utilizadas na titulação das aglutininas.....	55
6 – Metodologia para titulação de aglutininas anti-A e anti-B da classe IgM.....	56
7 - Metodologia para titulação de aglutininas anti-A e anti-B da classe IgG.....	58
8 – Frequência relativa de doadores do grupo “O”, classificados como perigosos e não perigosos, nas 400 amostras analisadas.....	64
9 – Frequência relativa de doadores do grupo “O” perigoso, de acordo com o sexo, nas 400 amostras analisadas.....	65
10 – Frequência absoluta de doadores do grupo “O”, perigosos e não perigosos, segundo o sexo, nas 400 amostras analisadas.....	65
11 – Frequência relativa de doadores avaliados de acordo com a etnia.....	66
12 – Frequência absoluta de doadores do grupo “O”, perigosos e não perigosos, segundo a etnia, nas 400 amostras analisadas.....	66
13 – Frequência relativa de doadores avaliados de acordo com a faixa etária.....	67
14 – Frequência absoluta de doadores do grupo “O”, perigosos e não perigosos, segundo a faixa etária, nas 400 amostras analisadas.....	67
15 – Frequência absoluta dos títulos das aglutininas anti-A e anti-B, nas 1600 titulações realizadas.....	69
16 – Frequência absoluta dos títulos das aglutininas das classes IgM e IgG, nas 1600 titulações realizadas.....	71

## LISTA DE TABELAS

1 – Distribuição (%) dos fenótipos ABO por raça/etnia entre doadores de sangue nos Estados Unidos.....	22
2 – Frequência relativa atual dos fenótipos ABO entre os doadores de sangue do HBH.....	23
3 – Resultados esperados na fenotipagem ABO.....	24
4 – Seleção de grupos sanguíneos alternativos quando inexistem doadores ABO idênticos.....	32
5 – Reação hemolítica aguda após uma transfusão de plaquetas.....	34
6 – Estratégias para <i>screening</i> de doadores de plaquetas por aférese com títulos elevados de aglutininas.....	36
7 – Interpretação das reações de aglutinação em tubo.....	53
8 - Distribuição das aglutininas anti-A e anti-B entre doadores perigosos e não perigosos, nas 1600 titulações realizadas.....	69
9 - Distribuição da classe dos anticorpos IgM e IgG entre doadores perigosos e não perigosos, nas 1600 titulações realizadas.....	70

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AABB – Associação Americana de Bancos de Sangue

ACD – Ácido-citrato-dextrose

AGH – Antiglobulina humana

CEP – Comitê de Ética e Pesquisa

CM – Campo misto

CNS – Conselho Nacional de Saúde

COEP – Comitê de Ética e Pesquisa

CPDA-1 – Citrato-fosfato-dextrose-adenina

CPD – Citrato-fosfato-dextrose

CP2D – Citrato-fosfato-dextrose-dextrose

DHPN - Doença hemolítica perinatal

DTT – *Dithiothreitol*

ELISA – *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*

FUT – Fucosiltransferase

G-CSF – Fator estimulador de colônias granulocíticas

H – Hemólise

HBH – Hemocentro de Belo Horizonte

HbS – Hemoglobina S

HP- Hemólise parcial

IAT – Teste indireto da antiglobulina

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IgA – Imunoglobulina A

IgD – Imunoglobulina D

IgE – Imunoglobulina E

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

Le – Lewis

mL – mililitros

µL – microlitros

PAI – Pesquisa de anticorpo irregular

PBS – *Phosphate-buffered saline*

RC - Razão de chances

RhD – Antígeno D do Sistema Rh

RPM – Rotações por minuto

Se – Secretor

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

TCLE– Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO E RELEVÂNCIA DO TEMA.....</b>	<b>16</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Sistema ABO.....</b>	<b>20</b>
<b>2.2 Anticorpos do sistema ABO.....</b>	<b>23</b>
<b>2.3 Reação imunológica por anticorpos do sistema ABO.....</b>	<b>25</b>
<b>2.4 Características dos anticorpos do sistema ABO.....</b>	<b>27</b>
<b>2.5 Terapia transfusional e hemocomponentes.....</b>	<b>27</b>
<b>2.6 Grupo “O” perigoso.....</b>	<b>33</b>
<b>2.7 Métodos para titulação de aglutininas.....</b>	<b>37</b>
<b>2.8 Considerações sobre a definição do doador “O” perigoso .....</b>	<b>40</b>
<b>2.9 Considerações gerais da doação de sangue.....</b>	<b>41</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>43</b>
<b>3.1 Objetivo geral.....</b>	<b>44</b>
<b>3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>44</b>
<b>4 MATERIAL E METODOS.....</b>	<b>45</b>
<b>4.1 Casuística.....</b>	<b>46</b>
<b>4.1.1 Critérios de inclusão .....</b>	<b>46</b>
<b>4.1.2 Critérios de exclusão.....</b>	<b>46</b>
<b>4.2 Aspectos éticos.....</b>	<b>46</b>
<b>4.3 Amostras biológicas.....</b>	<b>47</b>
<b>4.4 Cálculo amostral.....</b>	<b>48</b>
<b>4.5 Planejamento experimental.....</b>	<b>50</b>
<b>4.5.1 Etapa 1.....</b>	<b>51</b>

4.5.2 Etapa 2.....	51
4.5.3 Etapa 3.....	51
4.5.4 Etapa 4.....	52
4.5.5 Etapa 5.....	52
4.6 Métodos.....	52
4.6.1 Padronização das leituras pela técnica em tubo.....	53
4.6.2 Preparo das suspensões de hemácias.....	53
4.6.3 Titulação de aglutininas da classe IgM.....	55
4.6.4 Titulação de aglutininas da classe IgG.....	57
a. Tratamento prévio do plasma .....	57
b. Obtenção do título .....	57
4.6.5 Controle da qualidade das titulações.....	60
4.6.6 Classificação dos doadores “O” perigosos.....	61
4.7 Análise estatística.....	61
5 RESULTADOS.....	63
5.1 Frequência global de doador “O” perigoso.....	64
5.2 Frequência de doador “O” perigoso de acordo com o sexo.....	64
5.3 Frequência de doador “O” perigoso de acordo com a etnia.....	65
5.4 Frequência de doador “O” perigoso de acordo com a faixa etária	66
5.5 Frequência de doador “O” perigoso de acordo com a especificidade da aglutinina.....	68
5.6 Frequência de doador “O” perigoso de acordo com a classe do anticorpo.....	70
6 DISCUSSÃO.....	72
6.1 Considerações iniciais.....	73
6.2 Aspectos imunes das reações transfusionais.....	74

<b>6.3 Aspectos demográficos e epidemiológicos da população estudada.....</b>	<b>75</b>
<b>6.4 Análise da frequência global de doador “O” perigoso.....</b>	<b>76</b>
<b>6.5 Associação de doador “O” perigoso e sexo.....</b>	<b>79</b>
<b>6.6 Associação de doador “O” perigoso e etnia.....</b>	<b>81</b>
<b>6.7 Associação de doador “O” perigoso e faixa etária.....</b>	<b>83</b>
<b>6.8 Associação de doador “O” perigoso e especificidade da aglutinina.....</b>	<b>85</b>
<b>6.9 Associação de doador “O” perigoso e classe do anticorpo.....</b>	<b>86</b>
<b>6.10 Considerações finais.....</b>	<b>87</b>
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>89</b>
<b>8 PERSPECTIVAS DE ESTUDO.....</b>	<b>92</b>
<b>9 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....</b>	<b>94</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>96</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>102</b>
<b>ANEXO B.....</b>	<b>104</b>
<b>ANEXO C.....</b>	<b>108</b>
<b>ANEXO D.....</b>	<b>109</b>



**1 INTRODUÇÃO E  
RELEVÂNCIA DO TEMA**

O conhecimento do sistema ABO, a partir dos primeiros experimentos de Karl Landsteiner, marcou o início da Medicina Transfusional.

Os anticorpos ABO são potentes IgM ou IgG que se ligam aos antígenos A e B na superfície das hemácias. Podem ativar a cascata do complemento e causar hemólise aguda intravascular.

Indubitavelmente, o sistema ABO é o mais importante sistema de grupos sanguíneos na prática transfusional, uma vez que os anticorpos relacionados podem desencadear reação hemolítica grave.

A doação voluntária de sangue propicia a obtenção de hemocomponentes, como concentrados de hemácias e plaquetas, que serão transfundidos em pacientes que carecem desses elementos para sua recuperação clínica.

O termo “Doador Universal Perigoso” foi primeiramente descrito em 1923, quando foi demonstrado o potencial de aglutinação do soro de doadores do grupo “O”, em diferentes diluições, frente a hemácias “não-O”. Dessa forma, foram caracterizados os doadores do grupo “O” com concentrações plasmáticas elevadas de aglutininas anti-A e anti-B, também chamados de doadores do grupo “O” perigoso.

Diversos relatos de reações hemolíticas por transfusão de hemocomponentes oriundos de doadores do grupo sanguíneo “O” perigoso são encontrados na literatura. O risco associa-se diretamente ao volume residual de plasma presente nesses hemocomponentes, com destaque ao concentrado de plaquetas obtido por aférese.

O uso crescente do concentrado de plaquetas obtido por aférese despertou a preocupação com a concentração de aglutininas anti-A e anti-B, provenientes de doadores do grupo “O”, que serão transmitidos a receptores “não-O”. Dessa forma, o

uso indiscriminado de hemocomponentes do grupo sanguíneo “O” para pacientes não isogrupo é desaconselhado.

Diante disso, a titulação das aglutininas anti-A e anti-B tem sido usada para detectar os doadores classificados como “O” perigosos.

No Brasil, a investigação das aglutininas nos bancos de sangue não é obrigatória. No entanto, a literatura apresenta claras evidências com base em diversas recomendações, tendo como finalidade a segurança transfusional dos receptores. Dentre essas recomendações, destaca-se a avaliação da presença de aglutininas anti-A e anti-B em títulos elevados, na decisão de se transfundir concentrado de plaquetas heterogrupo, visando à segurança transfusional do receptor.

Considerando a importância do grupo “O” perigoso na prática transfusional, a escassez de estudos sobre as complicações associadas no nosso meio, bem como o desconhecimento dos títulos de aglutininas anti-A e anti-B dos doadores do grupo “O” cadastrados no Hemocentro de Belo Horizonte (HBH), este estudo reveste-se de extrema importância. Cumpre ressaltar que o presente projeto constitui um estudo observacional, transversal descritivo, prospectivo e inédito na Fundação Hemominas.

Certamente, a estimativa da frequência de doadores do grupo “O” perigoso constituirá o ponto de partida para a implantação da pesquisa de aglutininas anti-A e anti-B, como parte da rotina da Central de Imuno-Hematologia da Fundação Hemominas. Esta medida indubitavelmente contribuirá para tornar a prática transfusional mais segura para os receptores.

## ***2 REVISÃO DA LITERATURA***

## 2.1 Sistema ABO

Em novembro de 1901, um artigo publicado no *Viennese Weekly Journal of Medicine*, intitulado *Agglutination phenomena of normal human blood*, de Karl Landsteiner, marcou a descoberta dos grupos sanguíneos. Esse estudo continua representando a base da terapia transfusional. Em 1930, Landsteiner foi premiado com o Prêmio Nobel por tamanha contribuição no campo da medicina (FIGL & PELINKA, 2004).

Inicialmente, Landsteiner discriminou os grupos sanguíneos em A, B e C (posteriormente denominado O). Ele demonstrou que o soro de uma pessoa possuía anticorpos voltados contra os antígenos ausentes em suas hemácias. O quarto grupo sanguíneo, AB, foi descrito um ano mais tarde por Decastello & Sturli (STORRY & OLSSON, 2009).

Jansky e Moss propuseram, em 1907 e 1910, respectivamente, nomenclatura numérica romana para a denominação dos fenótipos A, B, AB e O. Porém, os mesmos números referiam-se a diferentes fenótipos. Somente em 1927, com o objetivo de universalizar a denominação, Landsteiner sugeriu a nomenclatura A, B, AB e O. O sistema ABO é considerado, do ponto de vista transfusional, o de maior importância. Os mais graves acidentes transfusionais são decorrentes de transfusões ABO incompatíveis e podem, inclusive, evoluir para óbito (COZAC, 2007).

A teoria para a herança dos grupos sanguíneos ABO foi proposta, inicialmente, por Bernstein, em 1924. Ele demonstrou que cada indivíduo herda um gene *ABO* de cada um dos progenitores e que esses dois genes determinam quais antígenos ABO estarão presentes na membrana das hemácias. Uma posição, ou *locus*, em cada cromossomo 9 é ocupada por um gene *A*, *B* ou *O*. O gene *O* é considerado amorfo, já que nenhum antígeno detectável é produzido. A herança dos antígenos ABO, portanto, segue a genética mendeliana simples. Como a maioria dos outros sistemas de grupos sanguíneos, a expressão do sistema ABO é codominante, sendo que os alelos  $I^A$  e  $I^B$  são dominantes sobre o alelo *i* (HARMENING & FIRESTONE, 2006).

Para expressão dos antígenos A e B, é necessária a expressão do antígeno H. O antígeno H pertence ao sistema Hh e os antígenos A e B ao sistema ABO. Os antígenos A, B e H não são produtos primários dos genes *ABO* e *H*, mas resultado da transferência de uma molécula de açúcar de um substrato doador a uma substância precursora. O gene *H* (*locus FUT-1*) codifica a enzima fucosiltransferase, responsável pela transferência de uma L-fucose, preferencialmente, à estrutura precursora do tipo 2, formando assim o antígeno H. Indivíduos que apresentam o alelo *h* não expressam o antígeno H e são denominados Bombay. Indivíduos com esse fenótipo, apesar de apresentarem fenótipo semelhante ao tipo "O", possuem anticorpo anti-H reativo a 37°C. Dessa forma, se esses indivíduos receberem transfusão com hemácias do tipo "O" apresentarão grave reação pós-transfusional (COZAC, 2007).

A expressão dos alelos *ABO\*A* ou *ABO\*B* resulta na produção de transferases responsáveis pela adição de açúcares à estrutura H. O alelo *ABO\*A* codifica uma N-acetil-galactosamina transferase, que determina a transferência da N-acetil D-galactosamina ao antígeno H e o alelo *ABO\*B* codifica uma N-galactosil transferase, responsável pela adição da D-galactose ao mesmo antígeno. A função dos antígenos do sistema ABO ainda é desconhecida. Os antígenos H, A e B podem ser expressos na forma solúvel (na saliva e em todas as secreções teciduais, exceto no líquido) sempre que o gene *Se* (secretor) estiver presente, seja em homozigose ou heterozigose. Esses indivíduos são chamados *secretores* e correspondem a 80% da população em geral. Os antígenos H, A e B podem ser expressos apenas nos tecidos (em hemácias, linfócitos, plaquetas e na maioria das células epiteliais e endoteliais) quando o gene *Se* estiver ausente (gene *se* em homozigose). Nesse caso, são denominados *não secretores* (COZAC, 2007).

Os antígenos do sistema ABO estão expressos nos precursores eritroides desde a quinta ou sexta semana de vida intrauterina. A expressão máxima desses antígenos é alcançada entre dois e quatro anos de idade (KLEIN & ANSTEE *et al.*, 2005).

A frequência dos fenótipos do sistema ABO e dos alelos comuns varia de acordo com a etnia e a população estudada, o que se justifica pela migração populacional e miscigenação, além da seleção natural decorrente da associação de determinados fenótipos com doenças, o que pode ter resultado em vantagem seletiva para indivíduos do grupo sanguíneo “O”. (ANSTEE, 2010; GIRELLO & KÜHN, 2011;).

O fenótipo “O” do sistema ABO é o mais prevalente entre a população indígena sul-americana (90 a 100%) (GIRELLO & KÜHN, 2011).

O fenótipo “O” é também o mais frequente entre a população africana, como descrito em estudos oriundos de diferentes regiões da África (HAMED *et al.*, 2012; ENOSOLEASE & BAZUAYE, 2008; NDOULA *et al.*, 2014).

Os dados das frequências de grupos sanguíneos entre populações são escassos. A seguinte distribuição é estimada entre doadores de sangue de diferentes grupos étnicos nos Estados Unidos:

**Tabela 1 – Distribuição (%) dos fenótipos ABO por etnia entre doadores de sangue nos Estados Unidos**

Etnia	Fenótipos			
	O	A	B	AB
Branços não hispânicos	45,2	39,7	10,9	4,1
Hispânicos*	56,5	31,1	9,9	2,5
Negros não hispânicos	50,2	25,8	19,7	4,3
Asiáticos§	39,8	27,8	25,4	7,1
Índios norte-americanos	54,6	35,0	7,9	2,5

\*Hispânicos incluem mexicanos (68,6%), porto-riquenhos (5,0%), cubanos (1,6%) e outros doadores hispânicos (24,6%).

§Asiáticos incluem chineses (29,8%), filipinos (24,1%), indianos (13,8%), japoneses (12,7%), coreanos (12,5%) e vietnamitas (7,1%)

Fonte: GARRATY *et al.*, 2004.

Um estudo em um grande hemocentro brasileiro da região sudeste apresentou a frequência fenotípica do sistema ABO em doadores de sangue caucasoides, mulatos e negros. O grupo sanguíneo “O” foi o mais prevalente nesses doadores, o que estava em concordância com dados já publicados anteriormente, no Brasil e na Europa (NOVARETTI *et. al.*, 2000).

A frequência relativa atual dos fenótipos ABO entre os doadores de sangue do HBH da Fundação Hemominas está descrita na **Tabela 2**.

**Tabela 2 – Frequência relativa atual dos fenótipos ABO entre os doadores de sangue do HBH**

Fenótipo ABO	Frequência de doadores
O	47,8%
A	36,3%
B	12,1%
AB	3,8%

Fonte: Sistema de Informação do HBH da Fundação Hemominas, 2015.

Cabe ressaltar a possível super-representação do grupo “O” devido às campanhas públicas e estratégias de captação desses doadores junto à comunidade de Belo Horizonte.

## 2.2 Anticorpos do sistema ABO

Ottenberg também contribuiu de forma valiosa para o início da prática transfusional, utilizando-se do conhecimento prévio dos grupos sanguíneos, descritos por Landsteiner, para estabelecer a compatibilidade entre doador e receptor. Ele apontou que a ocorrência de reações transfusionais depende, dentre outros fatores, da concentração da aglutinina no soro do doador (OTTENBERG, 1911).



Duas correntes buscam explicar o desenvolvimento de anticorpos do sistema ABO. A primeira descreve que esses são desenvolvidos em decorrência de mecanismos genéticos, envolvidos na produção de moléculas de imunoglobulinas com especificidade de anticorpo. A segunda descreve que os anticorpos anti-A e anti-B são produzidos após estímulo antigênico, desencadeado por substâncias presentes em microrganismos, como bactérias, que sejam muito similares quimicamente aos antígenos A e B. Recém-nascidos não produzem IgG anti- A e anti-B, sendo produzidas apenas pequenas quantidades de IgM. Portanto, o início da detecção de anticorpos da classe IgG ocorre somente entre 3 e 6 meses de vida e o pico máximo de produção é dos 5 aos 10 anos (COZAC, 2007).

O sistema ABO é o único em que a fenotipagem consiste, além da pesquisa direta do antígenos na superfície da hemácia, da prova reversa, isto é, da pesquisa do anticorpo no soro ou plasma. Essa particularidade refere-se ao fato de que, necessariamente, deve haver aglutinina quando há ausência do antígeno correspondente. Ambas as provas são obrigatórias e devem ser concordantes para a correta interpretação do fenótipo, como mostra a **Tabela 3** (COZAC, 2007).

**Tabela 3 - Resultados esperados na fenotipagem ABO**

Prova Direta			Prova Reversa		Fenótipo ABO
Anti-A	Anti-B	Anti-A,B	Hemácia A1	Hemácia B	
0	0	0	+	+	O
+	0	+	0	+	A
0	+	+	+	0	B
+	+	+	0	0	AB

**0= ausência de aglutinação; += presença de aglutinação**

**Fonte: COZAC, 2007**

Na prática, discordâncias entre a prova direta e a reversa podem ocorrer devido a fatores fisiológicos, como idade do paciente ou subgrupos, ou condições patológicas, como no quadro de imunossupressão. Tais casos podem ser resolvidos com o uso de técnicas complementares específicas para cada caso.

### 2.3 Reação imunológica por anticorpos do sistema ABO

As imunoglobulinas são moléculas proteicas produzidas em resposta a um imunógeno ou antígeno e têm atividade específica para o agente que inicialmente desencadeou seu desenvolvimento. Essas moléculas possuem como principais funções biológicas a opsonização de agentes para facilitar a fagocitose, a neutralização de substâncias tóxicas e a fixação do complemento. As imunoglobulinas foram classificadas como IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, de acordo com a estrutura química da cadeia pesada da molécula. Além das diferenças na estrutura da cadeia pesada, as classes de imunoglobulinas variam também em outras características, como concentração no soro, peso molecular, atividade biológica, porcentagem de conteúdo de carboidratos e meia-vida plasmática. A imunoglobulina encontrada em maior concentração no soro é a IgG, que compõe aproximadamente 80% do total de imunoglobulinas séricas; 13% são IgA (mais abundante em secreções do corpo, como a saliva); 6% corresponde a IgM; 1% corresponde a IgD e IgE está presente apenas em pequenas quantidades (LEWIS & MARTIN, 2006).

O sistema do complemento denota um grupo de aproximadamente 25 proteínas séricas e de membrana celular que têm uma variedade de funções dentro da resposta imune. Um papel importante do sistema do complemento é a lise direta de células, bactérias e vírus encapsulados. Outra capacidade desse sistema é a mediação da opsonização, por meio da qual substâncias estranhas são cobertas com complemento para facilitar a fagocitose. Uma terceira função é a produção de produtos fendidos, que são fragmentos de peptídios capazes de dirigir certas operações de respostas inflamatória e imune como permeabilidade vascular aumentada, contração de músculo liso, quimiotaxia fagocitária, migração e aderência (LEWIS & MARTIN, 2006).

A maior parte dos componentes do complemento circula na forma inativa e são ativados sequencialmente por meio de duas vias principais, as vias clássica e alternativa. A via clássica é ativada pela ligação do antígeno com o anticorpo da classe IgM ou IgG subclasses IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> ou IgG<sub>3</sub>. Componentes do complemento são numerados sequencialmente de C<sub>1</sub> a C<sub>9</sub>, em ordem de descoberta, não

necessariamente na sequência de ativação. A via alternativa é ativada por polissacarídeos e lipopolissacarídeos que podem ser encontrados nas superfícies de certas células-alvo, como bactérias, fungos, parasitas e células tumorais. Ambas as vias resultam na formação de um complexo de ataque à membrana, com a formação de um pequeno canal transmembrana, destruindo a integridade da membrana celular. A lise osmótica por fim causa destruição total da célula (LEWIS & MARTIN, 2006).

A presença natural dos anticorpos ABO cria uma situação de alerta sempre que for necessária uma transfusão de sangue ou um transplante de órgão. Se hemácias do grupo B forem transfundidas a um indivíduo do grupo A, cujo soro contém anti-B, as hemácias do doador serão destruídas quase que imediatamente, sendo lisadas a uma velocidade de aproximadamente 1mL por minuto. Isso resulta em uma reação transfusional muito grave, podendo, inclusive, ser fatal. Em algumas situações, quando são transplantados órgãos com incompatibilidade ABO, pode haver um fenômeno de rejeição imediata (HARMENING & FIRESTONE, 2006).

A reação imune é determinada pela resposta do hospedeiro, assim como por características da substância estranha. Fatores como tamanho, complexidade, conformação, carga, acessibilidade e composição química do antígeno influenciam a quantidade e tipo da resposta imune. Antígenos de grupo sanguíneo podem ser proteínas, glicolipídios ou glicoproteínas. Nem todas as substâncias de grupo sanguíneo são igualmente imunogênicas *in vivo* (LEWIS & MARTIN, 2006).

As reações transfusionais imunes hemolíticas podem ser classificadas em imediatas, que ocorrem em até 24 horas após o início da transfusão (intra ou extravascular) e tardias (extravascular). Na reação hemolítica imediata intravascular, há ativação do sistema do complemento com formação do complexo de ataque à membrana, o que leva à destruição das hemácias em cerca de 10 minutos após o início da transfusão. Na reação hemolítica imediata extravascular, o sistema do complemento é ativado somente até C<sub>3</sub> e marcam as hemácias para fagocitose pelos macrófagos do baço e fígado. Finalmente, a reação hemolítica tardia é caracterizada pela hemólise

extravasular e pode ocorrer em até 20 dias após a transfusão (BRASIL, 2013; GIRELLO & KÜHN, 2011).

#### **2.4 Características dos anticorpos do sistema ABO**

Os anticorpos ABO geralmente pertencem à classe IgM. Caracteristicamente, os anticorpos IgM são anticorpos de reação a frio e não atravessam a placenta. A maioria dos anticorpos anti-A de um indivíduo do grupo B e de anticorpos anti-B de um indivíduo do grupo A são, predominantemente, da classe IgM, com pequenas quantidades de IgG e IgA, ou mesmo não detectáveis. O soro dos indivíduos do grupo O contém, além de anti-A e anti-B, também anti-A,B. A atividade do anticorpo anti-A,B, originalmente considerada uma mistura de anti-A e anti-B, não pode ser separada por especificidade pura quando adsorvida com outras células A ou B. Por exemplo, o anti-A,B adsorvido com células A e depois eluído ainda reagirá com as células A e B. O anti-A,B de indivíduos O consiste em uma mistura de IgG e IgM, ou IgG, IgM e IgA. O anti-A,B atravessa a placenta com mais frequência que anti-A e anti-B, confirmando a presença de IgG. Os anticorpos IgG anti-A e anti-B se desenvolvem de modo mais frequente em indivíduos do grupo O do que em indivíduos do grupo A ou B (HARMENING & FIRESTONE, 2006).

Existe uma ampla variação nos títulos das aglutininas ABO em uma população aleatória. Geralmente, anti-A de um indivíduo do grupo O apresenta um título mais elevado do que anti-A de um indivíduo do grupo B; anti-A de um indivíduo do grupo B geralmente apresenta um título mais elevado do que anti-B de indivíduos do grupo A; anti-A,B de indivíduos do grupo O apresenta maior título de anti-A e anti-B do que o encontrado em indivíduos do grupo B e A, respectivamente. Isso faz o anti-soro A,B um reagente de uso conveniente na detecção de antígenos ABO fracos (HARMENING & FIRESTONE, 2006).

#### **2.5 Terapia transfusional e hemocomponentes**

A transfusão de sangue e seus componentes, quando criteriosamente avaliada e corretamente indicada, é uma terapia eficaz, mas não está isenta de riscos, sejam

imediatos ou tardios. Os efeitos desfavoráveis podem ser classificados em não imunológicos, como transmissão de doenças, sobrecarga circulatória e reações alérgicas, e riscos imunológicos, representados principalmente pela hemólise devido à formação de complexo antígeno-anticorpo (DE MELO, 2007).

Durante a Segunda Guerra Mundial, as vítimas recebiam, em sua maioria, sangue total e plasma do grupo O, obrigando os pacientes dos grupos A, B e AB a receberem aglutininas incompatíveis no decorrer da transfusão (EBERT & EMERSON, 1946).

O sangue e os componentes sanguíneos são considerados medicamentos devido ao seu uso no tratamento de doenças e de traumas. Sendo assim, efeitos adversos podem ocorrer, o que implica na consideração cuidadosa da terapia a ser indicada. A transfusão de células do sangue é também considerada um transplante, tendo em vista que as células precisam sobreviver e serem funcionais após a transfusão, para que possam exercer o efeito terapêutico. A transfusão de hemácias é a forma melhor tolerada, mas pode causar rejeição, como ocorre na reação hemolítica transfusional. A rejeição de plaquetas, demonstrada por pacientes refratários à transfusão de plaquetas, é relativamente comum em pacientes politransfundidos (KENNEDY & EHSAN, 2006).

A terapia transfusional é utilizada principalmente no tratamento da capacidade inadequada de transporte de oxigênio devido à anemia (ou perda de sangue) e da insuficiência das proteínas da coagulação para proporcionar hemostasia adequada. Cada paciente deve ter seu próprio plano individualizado, que refletirá o seu estado clínico dinâmico, a perda de sangue antecipada, a capacidade de estabelecer mecanismos de compensação e os resultados de exames laboratoriais. Alguns pacientes não necessitam de transfusão, mesmo em casos de anemia ou trombocitopenia, porque seus estados clínicos são estáveis e têm pouco ou nenhum risco de resultados adversos na ausência da transfusão. A terapia de componentes sanguíneos é a transfusão do componente específico necessitado pelo paciente. É possível tratar vários pacientes com o sangue de um mesmo doador (KENNEDY & EHSAN, 2006).

O concentrado de hemácias é preparado mediante a retirada de aproximadamente 80% do plasma de uma unidade de sangue total. Os regulamentos vigentes exigem que o hematócrito final de uma unidade de hemácias não ultrapasse 80%. O hematócrito médio situa-se entre 65–80% e teor de hemoglobina acima de 45g por unidade (250–300 mL). Todos os componentes eritrocitários devem ser armazenados à temperatura de 2 a 6°C (exceto hemácias congeladas) e possuem validade de 21 dias em Ácido-Citrato-Dextrose (ACD), Citrato-Fosfato-Dextrose (CPD) e Citrato-Fosfato-Dextrose-Dextrose (CP2D), de 35 dias em Citrato-Fosfato-Dextrose-Adenina (CPDA-1) e de 42 dias em solução aditiva. O volume de plasma presente varia de 20 a 35% (WRIGHT & HUGHES, 2006; BRASIL, 2013).

A transfusão de plaquetas para pacientes com hematopoiese prejudicada, com aplasia de medula óssea induzida por quimioterapia e com uma variedade de desordens relacionadas ao número e função das plaquetas representa uma terapia de suporte à vida (KLEIN, 2005).

O concentrado de plaquetas é um dos principais produtos obtidos durante a conversão rotineira de sangue total em concentrado de hemácias. Concentrados de plaquetas preparados a partir de sangue total são geralmente referidos como plaquetas de “doador aleatório” ou randômicas, para diferenciá-las das plaquetas de doador único obtidas pela separação do componente por aférese. Concentrados de plaquetas de doador aleatório contêm pelo menos  $5,5 \times 10^{10}$  plaquetas, que são estocados à temperatura ambiente de 20 a 24°C, com agitação contínua e têm prazo de validade de três a cinco dias. As plaquetas devem estar suspensas em volume suficiente de plasma (40 a 70 mL), de tal maneira que o pH seja maior ou igual a 6,4 no último dia de validade do produto. (WRIGHT & HUGHES, 2006; BRASIL, 2013).

Os concentrados de plaquetas de doador único podem ser obtidos por aférese. O termo aférese ou hemaférese deriva da língua grega e significa separar ou remover. Em um procedimento de aférese, o sangue é retirado de um doador ou paciente e separado em seus componentes. Retém-se um ou mais dos componentes e os constituintes remanescentes são recombinados e devolvidos ao indivíduo. É

possível remover qualquer componente do sangue, havendo procedimentos específicos para o componente selecionado. O processo de remoção de plaquetas é chamado de plaquetoférese ou trombocitaférese. Em um procedimento de plaquetoférese, parte das plaquetas e do plasma do doador é removida e hemácias, leucócitos e o restante do plasma são devolvidos. As plaquetas são seletivamente separadas do sangue total e retidas numa bolsa de coleta manufaturada especialmente para estocagem. São armazenadas à temperatura de 22 a 24°C, com agitação suave e constante. Contêm, no mínimo, 200mL de plasma ou solução aditiva (40mL por  $5,5 \times 10^{10}$  plaquetas). Segundo as normas da AABB (Associação Americana de Bancos de Sangue), 75% dos produtos obtidos por plaquetoférese testados devem conter um mínimo de  $3,0 \times 10^{11}$  plaquetas, um valor de aproximadamente seis vezes o de um concentrado plaquetário randômico. Se a contaminação por hemácias no produto for desprezível (menos de 5mL), não haverá necessidade de testes de compatibilidade, mas recomenda-se que o plasma do doador seja compatível com o do receptor para o sistema ABO, sobretudo no caso de neonatos (WRIGHT & HUGHES, 2006; BRASIL, 2013; RODWIG, 2006).

Segundo a Portaria Nº 2.712, de 12 de novembro de 2013 (Regulamento Técnico de Procedimentos Hemoterápicos), em relação à seleção de sangue e componentes para transfusão, devem ser observados os seguintes critérios, dentre outros:

- O sangue total e os concentrados de hemácias devem ser ABO compatíveis.
- Os receptores "RhD-positivo" podem receber sangue total ou concentrado de hemácias "RhD-positivo" ou "RhD-negativo".
- Os receptores "RhD-negativo" devem receber sangue total ou hemácias "RhD-negativo", exceto em circunstâncias justificadas e desde que não apresentem sensibilização prévia.
- As transfusões de plasma não necessitam de provas de compatibilidade e devem ser ABO compatíveis com as hemácias do receptor;
- As transfusões de crioprecipitado não necessitam de provas de compatibilidade e, em crianças até 10 anos ou 35Kg, devem ser isogrupo ou ABO compatíveis;

- O plasma contido nos concentrados de plaquetas deve ser ABO compatível com as hemácias do receptor. Se isso não for possível, recomenda-se avaliar o volume de plasma do componente sanguíneo e a presença de anti-A e anti-B de relevância clínica na decisão de transfundir concentrado de plaquetas não isogrupo;
- As hemácias presentes nos concentrados de granulócitos devem ser ABO compatíveis com o plasma do receptor;
- Para as transfusões de concentrados de granulócitos colhidos em doadores estimulados pelo fator estimulador de colônias granulocíticas (G-CSF), deve ser feita uma prova de compatibilidade maior com o soro do receptor e as hemácias do doador antes de se iniciar a administração do G-CSF ao doador.

Caso a prova de compatibilidade resulte incompatível, a doação não deve ser efetuada (BRASIL, 2013).

Em quase todos os casos, deve ser selecionado para transfusão o componente sanguíneo com tipagens ABO e RhD idênticas às do paciente. Em ocasiões nas quais não haja disponibilidade do sangue ou hemocomponente do tipo do paciente, ou haja alguma outra razão que não permita seu uso, as unidades selecionadas não devem conter nenhum antígeno contra o qual o paciente tenha anticorpo significativo. Por outro lado, é completamente aceitável usar hemocomponentes que não contenham todos os antígenos existentes nas próprias hemácias do paciente, isto é, concentrado de hemácias dos grupos A ou B podem ser administrados com segurança a receptores do grupo AB (NIX, 2006).

No caso de transfusões de um hemocomponente do grupo ABO diferente do receptor, deve-se utilizar concentrado de hemácias em vez de sangue total, que contém anticorpos plasmáticos que são incompatíveis com as hemácias do paciente. Concentrado de hemácias do grupo O pode ser usado com segurança para todos os pacientes, contudo, a conservação de um suprimento limitado de sangue do grupo O



deve fazer com que seu uso em pacientes de outro tipo ABO ocorra apenas em circunstâncias especiais. Se não houver disponibilidade de sangue ABO-específico, ou se o volume disponível for inferior ao necessário, devem ser escolhidos grupos sanguíneos alternativos, como apresentado resumidamente na **Tabela 4** (NIX, 2006).

**Tabela 4 – Seleção de grupos sanguíneos alternativos quando inexitem doadores ABO idênticos**

<b>Grupo sanguíneo do paciente</b>	<b>Grupo sanguíneo alternativo (administração na forma de concentrado de hemácias)</b>
O	Nenhum
A	O
B	O
AB	A, B, O*

**\*São aceitáveis concentrados de hemácias de qualquer grupo, mas apenas um dos três deve ser utilizado, se possível. O grupo A é mais facilmente obtido e, portanto, é preferível seu fornecimento, em lugar do grupo B.**

**FONTE: NIX, 2006**

Sob circunstâncias ideais, os pacientes deveriam receber plaquetas ABO compatíveis. Entretanto, na prática transfusional, muitas vezes é necessária transfusão de concentrado de plaquetas do grupo sanguíneo “O” para receptores “não-O”, especialmente no suporte transfusional de urgência e emergência, bem como nas situações em que há estoques limitados desse hemocomponente (NOVARETTI, 2008; FUNG *et al.*, 2007).

As plaquetas, assim como as hemácias e outros tecidos, expressam em sua superfície antígenos ABH. Esses antígenos são determinados de duas maneiras: aqueles adsorvidos do plasma, que está sob o controle do gene *Se* (Secretor) e *Le* (Lewis) e aqueles determinantes intrínsecos representados por glicoproteínas e glicolípídeos (MOLLICONE *et al.*, 1988).

A chamada incompatibilidade ABO maior refere-se à exposição do receptor a um antígeno ABH que não está presente na sua hemácia (por exemplo, doador de plaquetas do grupo “A” para um receptor do grupo “O”). A incompatibilidade ABO menor refere-se à infusão, no receptor, de um anticorpo, juntamente com o hemocomponente (por exemplo, plaquetas de um doador do grupo “O” para um paciente do grupo “A”) (LOZANO & CID, 2003).

Geralmente, a grande discussão acerca de transfusão de plaquetas incompatíveis com relação ao grupo sanguíneo é o risco de reações transfusionais hemolíticas agudas com incompatibilidade ABO menor (COOLING, 2007)

## **2.6 Grupo “O” perigoso**

O termo “Doador Universal Perigoso” foi primeiramente descrito em 1923, por Levine & Mabee. Nesse estudo, os autores demonstraram o potencial de aglutinação do soro de doadores do grupo “O” (diluições de 1:2, 1:5 e 1:10) frente a hemácias “não-O” (LEVINE & MABEE, 1923).

A primeira experiência sistemática para investigar o efeito da transfusão de hemocomponente contendo plasma incompatível foi realizada em 1942. Esse importante estudo determinou o título de aglutininas anti-A e anti-B em um grupo de 250 doadores do grupo “O”. A transfusão de plasma do grupo “O”, contendo títulos elevados de aglutinina anti-A (512 ou mais), para 12 pacientes pertencentes ao grupo “A”, não resultou em reações hemolíticas graves ou fatais, mas houve algumas evidências de destruição de hemácias no receptor, com manifestação de sintomas em alguns casos. Nesse estudo foram observados graus variados de hemoglobinemia, aglutinação intravascular e hiperbilirrubinemia, seguidas por uma redução progressiva da contagem de hemácias (AUBERT *et al.*, 1942).

Nas últimas décadas, o uso crescente de transfusão de plaquetas obtidas por aférese trouxe a preocupação com a concentração de anti-A e anti-B nesse hemocomponente. Diante disso, a titulação de anti-A e anti-B tem sido usada com o intuito de detectar os doadores do grupo “O” com concentrações plasmáticas

elevadas desses anticorpos, também chamados de doadores de grupo “O” perigoso (NOVARETTI, 2008).

Nos últimos anos, houve muitos relatos de reações hemolíticas agudas graves decorrentes de transfusão de plaquetas com incompatibilidade ABO menor, conforme mostrado na **Tabela 5**. Além disso, é reconhecido que o índice de desconhecimento e/ou subnotificação dessa complicação é provavelmente muito significativo (LOZANO & CID, 2003).

**Tabela 5 – Reação hemolítica aguda após uma transfusão de plaquetas**

Autor, Ano	Receptor		Plaquetas		Título das aglutininas		Desfecho/ ↓Hb(%)
	Idade	ABO	Tipo	ABO	Salina	AGH	
Zoes, 1977	44	AB	Pool	O	Anti-A: 256 Anti-B: 64	NR	NR
McLeod, 1982	45	A	Aférese	O	1280	10240	NR
Conway, 1984	15	A	Aférese	O	8192	NR	NR
Pierce, 1985	2,5 58	A B	Aférese Pool	O	512 512	32000 16384	*50,4% 42,6%
Ferguson, 1988	66	A	Pool	O	256	> 4000	2,6 g/dL
Reis, 1989	56	B	Aférese	O	NR	4096	53,9%
Murphy, 1990	30	A	Aférese	O	256	1024	47,3%
Mair, 1998	28	A	Aférese	O	128	NR	30,9%
MacManigal, 1999	72	AB	Aférese	O	NR	NR	NR
Larsson, 2000	44	A	Aférese	O	16384	NR	§29,8%
Valbonesi, 2000	51 16	A A	Aférese	O	>800	NR	37,2% *39,7%
Anonymous, 2002	36 45	A A	Aférese	O	NR NR	2048 4096	22,5% 15,3%

**NR: não reportado; AGH: antiglobulina humana**

**\*Levou o receptor à morte**

**§ Declínio medido depois de receber 2 unidades de concentrados de hemácias**

**Fonte: LOZANO & CID, 2003.**

O concentrado de plaquetas deve ser compatível com relação ao grupo sanguíneo ABO, sempre que possível, particularmente para aqueles pacientes que requerem suporte transfusional a longo prazo. O uso crescente de concentrado de plaquetas obtidas por aférese, no qual todo o plasma é de um único doador, tem levantado

preocupação com relação à transfusão de plaquetas incompatíveis pelo sistema ABO. Muitas estratégias têm sido implementadas no sentido de minimizar o risco de reação transfusional, tais como (COOLING, 2007):

- Identificação dos doadores perigosos: Essa prática é relativamente comum na Europa. Com raras exceções, doadores identificados como contendo títulos elevados de aglutininas ainda podem doar. Entretanto, seus produtos devem ser segregados e identificados com um aviso para ser transfundido somente a pacientes do grupo “O” (isogrupo).
- Redução de plasma e uso de soluções aditivas: Constitui um método comum para reduzir o risco de reação transfusional por incompatibilidade plasmática. Combina redução do plasma com ressuspensão em soluções aditivas ou plasma do grupo AB. Tal procedimento pode reduzir o risco, mas não eliminará completamente a chance de reação hemolítica aguda no caso de doadores com títulos elevados de aglutininas.
- Limitação da infusão de plasma: Alguns serviços monitoram e limitam o volume de plasma incompatível que um paciente pode receber. As quantidades diferem entre as Instituições, variando de 300 a 500 mL de plasma por dia a 1000 mL de plasma por semana. Nos Estados Unidos, aproximadamente 10% de um total de 255 instituições pesquisadas limitam a quantidade de plasma incompatível transfundido em pacientes adultos.
- Identificação de doadores do grupo “A<sub>2</sub>” como “Doadores Universais de Plaquetas”: Os doadores do grupo A<sub>2</sub> possuem pouco ou nenhum antígeno A nas membranas de suas plaquetas. Por essa razão, as plaquetas são ideais para serem transfundidas em pacientes críticos, como os que foram submetidos à transfusão de medula óssea com incompatibilidade ABO maior.

Com relação à identificação de doadores perigosos, não há consenso sobre qual título pode ser considerado crítico. Uma visão geral da prática corrente mostra um *cut-off* no título de 32 a 200 para testes salínicos e de 250 a 512 para testes AGH, conforme mostrado na **Tabela 6**. Não há, ainda, uniformização do método ideal para

a titulação de anti-A e anti-B. Diversos métodos podem ser utilizados para a detecção de anticorpos anti-A e anti-B, dos quais se destacam a hemaglutinação pelas técnicas em tubo, microplaca ou gel-teste, o método ELISA e a citometria de fluxo. Quando da escolha do método para a titulação de aglutininas, deve-se levar em conta a rapidez, a facilidade, a reprodutibilidade, a sensibilidade e, obviamente, o custo (NOVARETTI, 2008; COOLING, 2007).

**Tabela 6 – Estratégias para *screening* de doadores do grupo “O” perigoso, na doação de plaquetas por aférese**

<b>País</b>	<b>Método</b>	<b>Título crítico</b>	<b>% de doadores</b>
<b>Estados Unidos</b>	Tubo, Gel	1:50 – 1:200	3 – 28%
<b>Inglaterra</b>	Automatizado Tubo	1:100 1:128	3 – 10%
<b>Escócia</b>	--	1:50	--
<b>Itália</b>	Gel IAT	1:64 1:256	-- --
<b>Alemanha</b>	Tubo, salina	1:64	5%
<b>Rep. Tcheca</b>	Tubo, salina	1:64	--
<b>Noruega</b>	IAT	1:250	--
<b>Suécia</b>	Tubo, salina IAT	1:100 1:400	-- --
<b>Suíça</b>	Hemólise	1:16	--
<b>Finlândia</b>	Tubo, salina	1:32	5,7%
<b>Japão</b>	IAT	1: 512	--

**IAT: teste indireto da antiglobulina**

**Fonte: COOLING, 2007**

A literatura sobre a frequência de doadores do grupo “O” perigoso é relativamente escassa e muitos estudos são oriundos de populações africanas ou melanésias (ROSA *et al.*, 2004). No Brasil, poucas pesquisas foram feitas até o momento e não é conhecida a frequência de complicações relativas às transfusões envolvendo doadores do grupo “O” perigoso (NOVARETTI, 2008).

Nesse contexto, considerando a importância que esses anticorpos apresentam na prática transfusional e a necessidade de se utilizar concentrados de hemácias ou plaquetas de doadores do grupo "O" para pacientes de outros grupos sanguíneos, faz-se necessário conhecer o perfil desses doadores quanto aos títulos de aglutininas anti-A e anti-B com o objetivo de garantir a segurança da terapia transfusional.

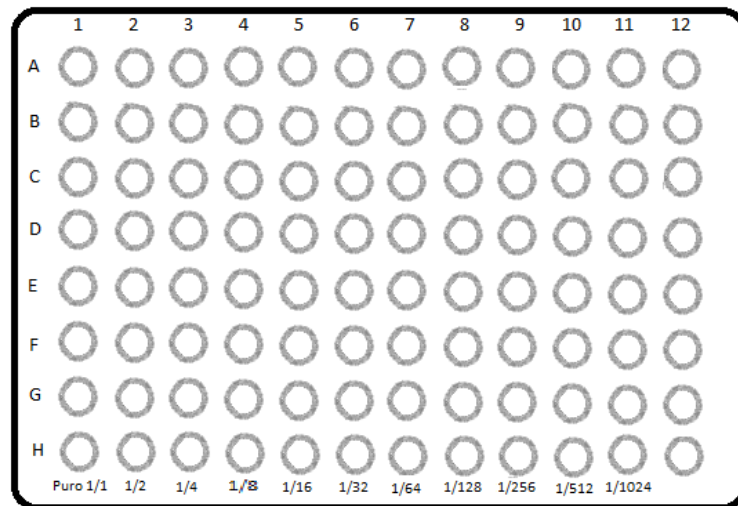
A legislação brasileira atual recomenda a realização do teste de hemolisina para transfusão de plaquetas não isogrupo utilizando-se um método qualitativo com incubação a 37°C. Os componentes sanguíneos com resultados de hemólise total ou parcial devem ser evitados em transfusões não isogrupo (BRASIL, 2013). O presente estudo não avaliou a atividade hemolítica dos anticorpos do sistema ABO (hemolisinas), mas focou na avaliação das aglutininas anti-A e anti-B em títulos elevados.

## **2.7 Métodos para titulação de aglutininas**

A titulação é um método semi-quantitativo utilizado para determinar a concentração de anticorpos em uma amostra de soro ou para comparar a força de expressão de um antígeno em diferentes amostras de hemácias. O título é dado como a maior diluição que produz uma aglutinação macroscópica de 1+ (ROBACK *et al.*, 2011).

O método de escolha de alguns estudos brasileiros para a titulação de aglutininas anti-A e anti-B é o método de hemaglutinação utilizando microplacas (GAMBERO *et al.*, 2004; ROSA *et al.*, 2004; FERNANDES *et al.*, 2008; COSECHEN *et al.*, 2009).

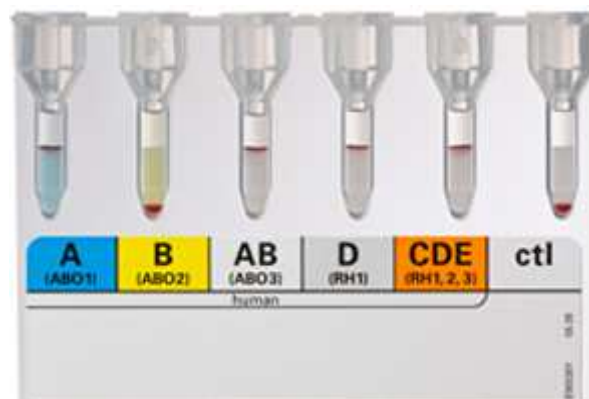
As técnicas em microplaca podem ser usadas para pesquisa de antígenos em hemácias e anticorpos no soro. A microplaca é a uma matriz de 96 pequenas cavidades, conforme demonstrado na **Figura 1**. Os princípios que se aplicam ao método de hemaglutinação em tubo também se aplicam aos testes em microplacas (ROBACK *et al.*, 2011). No entanto, a padronização de leituras das intensidades das reações nessa matriz é complexa.



**Figura 1- Microplaca com fundo em “U” (96 cavidades).**  
Adaptada de GAMBERO *et al.*, 2004

Diferentes técnicas têm sido empregadas para titulação de anticorpos, dentre as quais a técnica convencional em tubo e a técnica em gel-teste são as mais frequentemente utilizadas (CHENG & HAO, 2011)

A técnica em gel-teste emprega um cartão de gel, que mede aproximadamente 5 X 7 cm, constituído por seis microtubos especiais preenchidos com uma mistura de gel de dextrana-acrilamida, tampão e reagente (se aplicável), conforme demonstrado na **Figura 2**.



**Figura 2- Exemplo de cartão utilizado para fenotipagem ABO, RhD e CDE**

Dependendo do teste a ser executado, é possível utilizar gel neutro ou gel específico que contém reagente, como anti-IgG, anti-A, anti-B, anti-D, entre outros. Uma suspensão de hemácias ou uma mistura de hemácias e soro é centrifugada através do gel, sob condições precisas. Em reações negativas, as hemácias atravessam o gel e se depositam no fundo do microtubo. Em reações positivas, as hemácias ficam presas ao gel e a reação pode ser lida após horas. A técnica em gel-teste apresenta inúmeras vantagens. É de fácil execução, sensível, reprodutivo, fornece reações claras e estáveis, o que melhora a interpretação dos resultados. (HARMENING & WALKER, 2006; LAPIERRE *et al.*, 1990). Uma importante desvantagem é o custo elevado.

As reações de aglutinação no teste em gel são graduadas de modo semelhante ao utilizado na hemaglutinação em tubo de ensaio. A interpretação é realizada conforme segue abaixo (HARMENING & WALKER, 2006):

- Reação 4+: caracterizada por uma banda sólida de hemácias aglutinadas na parte superior ou no topo da coluna de gel. Habitualmente, não há hemácias visíveis no fundo do microtubo;
- Reação 3+: caracterizada por uma quantidade predominantemente de hemácias aglutinadas mais na direção do topo da coluna de gel, com poucos aglutinados oscilando por baixo da banda mais espessa. A maior parte dos aglutinados é observada na metade superior da coluna de gel;
- Reação 2+: caracterizada por aglutinados de hemácias dispersos por toda a coluna de gel, com poucos aglutinados no fundo do microtubo. Os aglutinados devem estar distribuídos pelas metades superior e inferior do gel;
- Reação 1+: caracterizada por aglutinados de hemácias predominantemente observados na metade inferior da coluna do gel, com hemácias também no fundo. Essas reações podem ser fracas, em que alguns aglutinados permanecem na área do gel imediatamente acima do botão hemático no fundo do microtubo;
- Reação negativa: caracterizada por hemácias que formam um botão bem delineado no fundo do microtubo. O gel acima do botão está transparente e isento de aglutinados.



## 2.8 Considerações sobre a definição do doador “O” perigoso

Existe uma deficiência de concordância na literatura sobre qual título é clinicamente importante e qual tipo de anticorpo IgM ou IgG é mais significativo. Além disso, não há estratégia de padronização nos Estados Unidos para evitar reação hemolítica *in vivo*. Em outros países, entretanto, as práticas variam. Alguns decidiram aplicar princípios de precaução que determinam que, quando há suspeita razoável de possível injúria, a falta de um consenso científico não deve justificar a falta de ação preventiva. Por exemplo, o Reino Unido utiliza um título de 100 como valor de *cut-off* para a aglutinina anti-A classe IgM em doadores do grupo “O” (JOSEPHSON *et al.*,2004; SAUNDERS, 2000).

JOSEPHSON *et al.* (2004) instituíram uma diretriz para o título de anti-A/A,B em todos os doadores de plaquetas por aférese pertencentes ao grupo “O”: se título maior que 64 para IgM ou maior que 256 para IgG utilizando-se a técnica em gel, o concentrado de plaquetas não é transfundido para pacientes “não-O”. Essa diretriz foi determinada arbitrariamente, mas representou um primeiro passo na prevenção danos ao paciente advindos da transfusão.

COOLING *et al.* (2007) investigaram os títulos de anti-A e anti-B em concentrados de plaquetas randômicas ou obtidas por *pool*. Os pesquisadores encontraram uma média de títulos de anti-A e anti-B nesses hemocomponentes do grupo “O” de 16 e 8 com a técnica em tubo, enquanto que utilizando a técnica em gel, os títulos aumentam para 64 e 32, respectivamente ( $p < 0,0001$ ). Os pesquisadores discutiram, ainda, que um título de 64 é muito conservador e resultaria em um alto número de unidades de plaquetas do grupo “O” rotuladas como “perigosas”, reduzindo ainda mais a sua disponibilidade. O estudo recomenda um título de 128 – 200 a ser considerado crítico para a técnica em gel.

Os resultados das duas investigações acima citadas mostram as dificuldades encontradas na padronização de um título para rotular os hemocomponentes de plaquetas de doadores pertencentes ao grupo “O” perigoso.

A padronização de práticas e de políticas envolvendo a transfusão de plaquetas incompatíveis é um desafio em muitos níveis. No topo dessa discussão está a falta de um método padronizado para a titulação e da determinação de títulos críticos que servirão para proteger os receptores “não-O”. Simultaneamente, essas práticas não podem colocar em risco a disponibilidade de plaquetas por meio da identificação falsa dessas unidades como potencialmente capazes de causar reações hemolíticas transfusionais agudas nos receptores (JOSEPHSON *et al.*, 2010).

Em contraste, a Europa respondeu a uma ordem na década de 90, que preconizava a realização de testes e a instituição de uma política nos laboratórios para evitar a transfusão de sangue de doadores com altos títulos de anticorpos anti-A e anti-B para pacientes “não-O”. Especificamente no Reino Unido, a automatização é utilizada como um facilitador para triagem desses doadores. Títulos de anti-A e anti-B acima de 100 têm sido amplamente aceitos como equivalente a um título de 128 pela técnica manual em tubo (teste de aglutinação salínico). Ainda assim, essa estratégia europeia de instituir um único *cut-off* para o título não isenta o risco de ocorrência de reações (JOSEPHSON *et al.*, 2010; WIN, 2011).

## **2.9 Considerações gerais da doação de sangue**

O procedimento de coleta de sangue é realizado por profissionais de saúde treinados e capacitados, trabalhando sob a supervisão de enfermeiro ou médico. A punção venosa para a coleta de sangue causa leve dor local, podendo haver formação de hematoma e edema locais e discreto sangramento. É possível, também, a ocorrência de tonturas.

De acordo com a Portaria nº 2.712, de 12 de novembro de 2012 (Regulamento Técnico de Procedimentos Hemoterápicos), são adotados cuidados com o doador após a doação, a fim de garantir sua integridade:

- É ofertada hidratação oral ao doador depois da doação, antes que o mesmo se retire da Instituição;
- É aconselhável a oferta de lanche ao doador;

- É recomendável que o doador permaneça, no mínimo, 15 (quinze) minutos no Serviço de hemoterapia antes de ser liberado.

Os doadores são instruídos para que:

I - Façam o veículo parar imediatamente no caso de, após deixarem o Serviço de Hemoterapia, ocorrer mal estar ao serem transportados por motocicletas ou conduzirem veículos automotores.

II - Aguardem, pelo menos, 60 minutos antes de consumir cigarros, cigarrilhas, charutos, cachimbos ou quaisquer outros produtos fumígenos, derivados ou não do tabaco.

III - Aguardem aproximadamente 12 horas antes de realizar qualquer esforço físico, especialmente com o membro relacionado a doação.

IV - Mantenham a compressão no local da punção em caso de sangramento ou hematomas.

V - Comuniquem ao Serviço de Hemoterapia caso apresente qualquer sinal ou sintoma de processo infeccioso, como febre ou diarreia, até sete dias após a doação.

### **3 OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo geral**

Estimar a frequência de doador “O” perigoso no Hemocentro Belo Horizonte, por meio da determinação dos títulos de aglutininas anti-A e anti-B em doadores do grupo sanguíneo “O”.

### **3.2 Objetivos específicos**

- Estimar a frequência de doadores do grupo “O” perigoso.
- Comparar a frequência obtida com a de outros bancos de sangue brasileiros e de outros países.
- Correlacionar os títulos observados com as variáveis sexo, etnia, faixa etária, especificidade da aglutinina e classe do anticorpo.
- Alertar a Fundação Hemominas – Hemocentro de Belo Horizonte a respeito da importância do doador do grupo “O” perigoso, visando à adoção de medidas que viabilizem sua identificação na rotina do Hemocentro, de forma a aumentar a segurança transfusional dos receptores.

## ***4 MATERIAL E MÉTODOS***

## **4.1 Casuística**

O presente estudo foi conduzido na Fundação Hemominas, Hemocentro de Belo Horizonte (HBH), na Central de Imuno-Hematologia, onde são realizados os exames imuno-hematológicos para qualificação do sangue do doador, a fim de garantir a eficácia terapêutica e a segurança da doação. Foram avaliados doadores de sangue do grupo sanguíneo “O”, novos ou frequentes no Hemocentro.

### **4.1.1 Critérios de inclusão**

- ✓ Doadores do grupo sanguíneo “O”, que apresentaram Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI) negativa e Pesquisa de Hemoglobina S (HbS) negativa, independentemente do fenótipo RhD, da etnia, da faixa etária e do sexo.

### **4.1.2 Critérios de exclusão**

- ✓ Doadores do grupo sanguíneo “O” que apresentaram PAI positiva e/ou HbS positiva.
- ✓ Doadores pertencentes aos grupos sanguíneos A, B, AB e subgrupos.

## **4.2 Aspectos éticos**

O presente estudo foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Fundação Hemominas e pelo Comitê de Ética e Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), por meio do cadastro na base nacional e unificada de registros de pesquisas envolvendo seres humanos (Plataforma Brasil).

O presente estudo foi executado, também, em acordo com a Resolução 466/12, do Conselho Nacional de Saúde, que aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

Uma vez que as amostras biológicas utilizadas no estudo foram coletadas no ato da doação de sangue, previamente consentida e não acarretou qualquer incômodo adicional ou risco ao doador, não foi necessária a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) especificamente para o presente projeto.

Segundo a Portaria Nº 2.712, de 12 de novembro de 2013, que redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos, o candidato à doação de sangue deve assinar TCLE, no qual declara expressamente consentir com a realização de todos os testes de laboratório exigidos pelas leis e normas técnicas vigentes.

O sigilo das informações prestadas pelo doador antes, durante e depois do processo de doação de sangue foi absolutamente preservado, respeitadas outras determinações previstas na legislação vigente.

A participação na pesquisa poderia causar risco de quebra de sigilo de informações pessoais dos doadores, pois se fez necessário consultar dados como sexo, idade e etnia para cada doador avaliado. Para garantir a confidencialidade das informações cedidas pelos doadores, a pesquisadora e o bolsista de iniciação científica tinham acesso ao Sistema de Doadores do HBH mediante utilização de usuário e senha para evitar o acesso não autorizado a tais informações.

Finalmente, a pesquisadora e o bolsista envolvidos na execução do presente estudo assumiram, por meio de assinatura em termo de compromisso, o conhecimento e cumprimento dos requisitos da Resolução 466/12 e suas complementares.

### **4.3 Amostras biológicas**

No ato da doação de sangue foram coletados, além da bolsa, amostras para exames laboratoriais, sendo um tubo de sangue em anticoagulante EDTA para exames imuno-hematológicos, um tubo em EDTA para testes de ácidos nucleicos (NAT) e dois tubos sem anticoagulante para testes sorológicos.



A Central de Imuno-Hematologia recebeu uma amostra em EDTA de cada doador para realização da fenotipagem ABO/ RhD automatizada no equipamento PK Olympus 7200, da PAI pela técnica em gel-teste e da pesquisa de HbS pela técnica de precipitação em microplacas, utilizando-se como agente redutor o ditionito de sódio.

Após a realização dos testes descritos, solicitou-se a um dos técnicos do setor que separasse todos os dias, aleatoriamente, quatro amostras de doadores pertencentes ao grupo “O”, que apresentassem PAI negativa e HbS negativa, para utilização do plasma em EDTA no processo de titulação das aglutininas anti-A e anti-B pela técnica em tubo.

A PAI deveria ser negativa para que outros anticorpos não interferissem na titulação das aglutininas de interesse. As amostras que apresentaram HbS positiva não foram incluídas porque tais tubos eram encaminhados para teste confirmatório por eletroforese em outro setor.

#### **4.4 Cálculo amostral**

O cálculo do número de amostras necessário para estimar a frequência de doadores “O” perigosos no HBH considerou o número de doadores do grupo sanguíneo “O” atendidos no Hemocentro no ano de 2012 (34.647 doadores), a prevalência de doadores do grupo “O” perigoso em estudos realizados no Brasil (média aproximada de 10%), e o nível de significância de 5%. A seguinte fórmula foi utilizada, baseada no erro amostral, no tamanho da população e no nível de confiança dos resultados (BARNETT, 1982):

$$n \geq \frac{N}{\left\{ 1 + \frac{(N-1)}{PQ} \times \left( \frac{d}{Z^{\alpha/2}} \right)^2 \right\}}$$

Onde:

- N= tamanho populacional
- P=proporção do evento em estudos similares (prevalência)
- d= erro amostral da estimativa
- $Z^{\alpha/2}$ =valor da tabela normal padrão
- Q=( 1 - P)
- PQ= variância da proporção

Este cálculo resultou em um “n” de, no mínimo, 131 doadores.

Posteriormente, foi avaliado o número de amostras necessário para utilização da regressão logística para análise multivariada dos dados obtidos. O cálculo foi realizado considerando-se a prevalência de doadores do grupo “O” perigoso em estudos realizados no Brasil (média aproximada de 10%) e o número de variáveis avaliadas no estudo (sexo, etnia e faixa etária). A seguinte fórmula foi empregada para calcular o número de casos-desfecho (HAIR *et al.*, 2009):

Casos-desfecho = 10 x (P + 1), sendo: P = número de variáveis

Casos-desfecho = 10 x (3 + 1) = 40

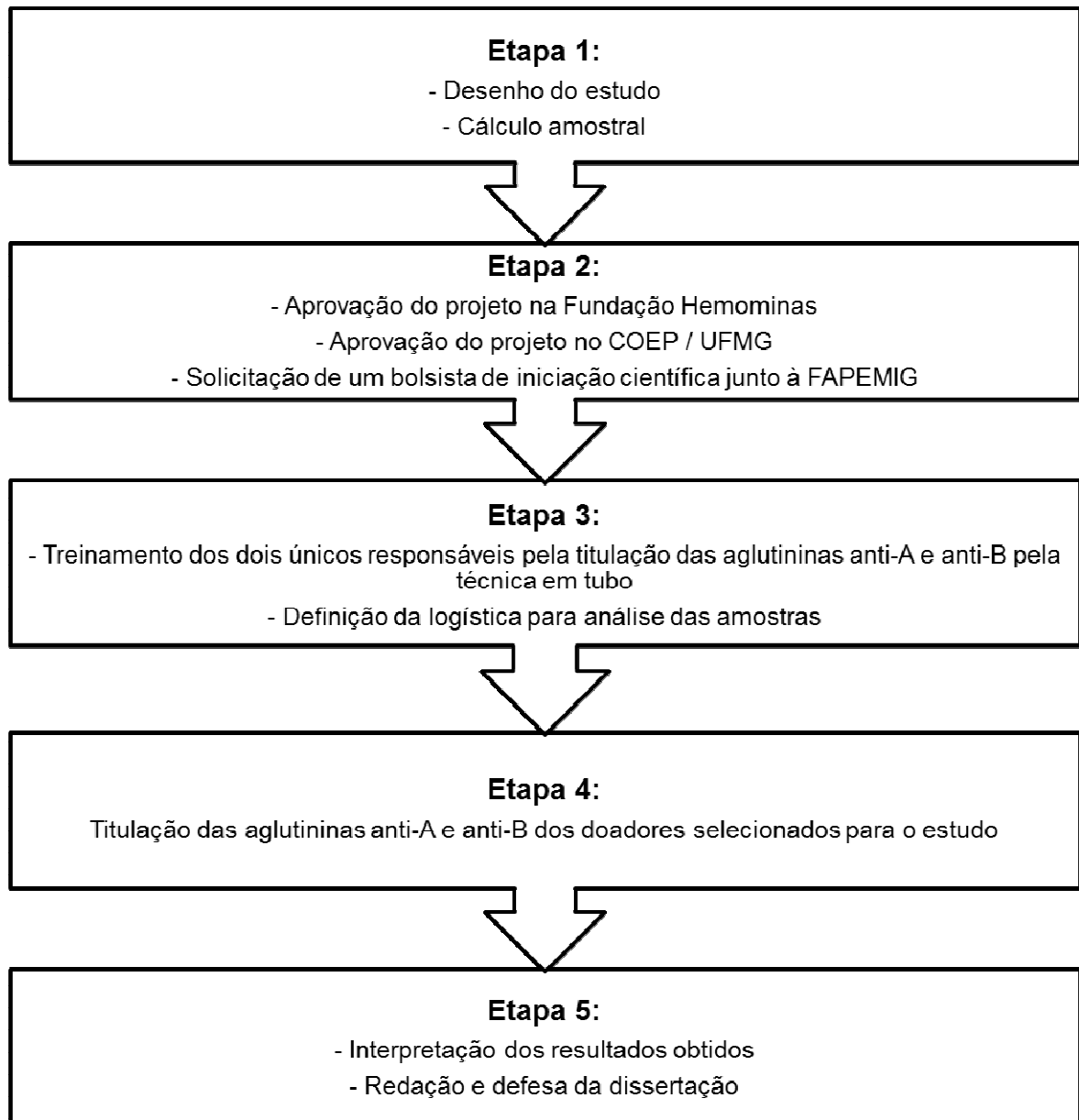
O número de casos-desfecho correlaciona-se com a prevalência de doadores “O” perigosos em outros estudos brasileiros (média aproximada de 10%):

$$\begin{array}{r} 10\% \text{ ----- } 40 \text{ casos-desfecho} \\ 100\% \text{ ----- } \quad \quad \quad x \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad x = 400 \end{array}$$

Este cálculo resultou em um número mínimo de 400 amostras, que foi o número estabelecido neste estudo.

#### 4.5 Planejamento experimental

O planejamento experimental do estudo foi executado conforme o fluxograma apresentado na **Figura 3**:



**Figura 3 – Planejamento experimental do estudo**

### 4.5.1 Etapa 1

- Desenho do estudo:
  - ✓ Estudo observacional, visando a estimar parâmetros de uma população;
  - ✓ Estudo transversal, cujos dados foram avaliados em um único ponto no decorrer do tempo;
  - ✓ Estudo descritivo, cujas características da população foram descritas por meio das variáveis em estudo;
  - ✓ Estudo prospectivo, visto que as amostras analisadas foram coletadas ao longo do período de execução do estudo.
  
- Cálculo amostral: conforme descrito no item 4.4.

### 4.5.2 Etapa 2

- Aprovação prévia do projeto pela Câmara do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG (**ANEXO A**), pela Fundação Hemominas (**ANEXO B**) e pelo COEP da UFMG (**ANEXO C**).
  
- Solicitação e obtenção de um bolsista de iniciação científica à FAPEMIG para auxiliar o desenvolvimento prático do estudo.

### 4.5.3 Etapa 3

- Treinamento especializado, feito pela pesquisadora e pelo bolsista de iniciação científica, da técnica de titulação em tubo no Setor de Controle da Qualidade da Fundação Hemominas, visando à padronização das leituras das titulações e minimização/eliminação do caráter subjetivo dessa.
  
- Padronização da logística de análise de amostras. Foi definida a titulação de quatro amostras por dia, de forma a alcançar o número total de 400 amostras necessárias ao estudo, em cerca de onze meses.

#### 4.5.4 Etapa 4

- Execução da parte prática do estudo. A titulação das aglutininas anti-A e anti-B das 400 amostras de doadores de sangue do grupo sanguíneo “O” foi realizada no período de março de 2014 a janeiro de 2015.

#### 4.5.5 Etapa 5

- Contabilização dos dados e inclusão em tabelas de classificação cruzada, de acordo com cada variável, para posterior análise estatística.
- Análise dos dados utilizando-se os programas *GraphPad Prism* 5.0 e *Minitab* versão 17. Os testes Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ) e Teste Exato de Fisher foram empregados. Um nível de significância de 5% foi adotado.
- Interpretação e discussão dos resultados com base em dados da literatura.

#### 4.6 Métodos

A titulação das aglutininas anti-A e anti-B foi feita pela técnica em tubo, que é considerada padrão (JOSEPHSON *et al.*, 2010) e o que tornou o estudo economicamente viável.

A padronização de leitura da aglutinação é necessária para minimizar/eliminar o caráter subjetivo da leitura da intensidade de reação (ROBACK *et al.*, 2011).

A **Tabela 7** apresenta a interpretação das reações de aglutinação em tubo (ROBACK *et al.*, 2011).

**TABELA 7 – Interpretação das reações de aglutinação em tubo**

<b>Achados macroscópicos observados</b>	<b>Designação</b>
Um aglutinado sólido	4+
Vários aglutinados grandes	3+
Aglutinados de médio tamanho – fundo limpo	2+
Aglutinados pequenos – fundo turvo	1+
Aglutinados muito pequenos – fundo turvo	1+ <sup>w</sup>
Aglutinação escassamente visível (fraca) – fundo turvo	w+ ou +/-
Ausência de aglutinação	0

**W = weak (fraco)**

Fonte: ROBACK *et al.*, 2011

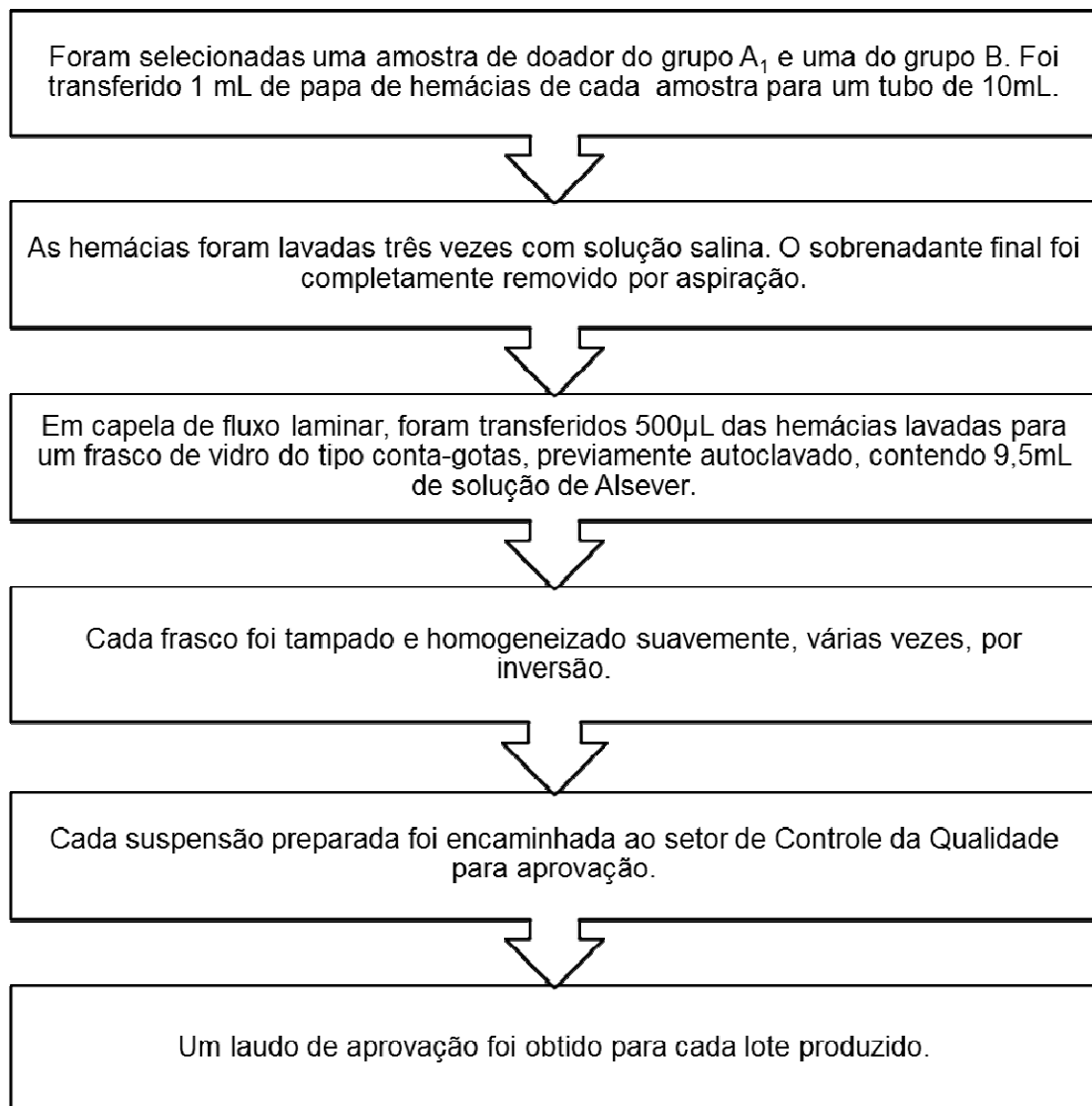
#### **4.6.1 Padronização das leituras pela técnica em tubo**

Inicialmente, foi realizado um treinamento para padronização das leituras das aglutinações pela técnica em tubo no setor de Controle da Qualidade da Fundação Hemominas, quando a pesquisadora e o bolsista de iniciação científica executaram a titulação de anticorpos conforme orientação de uma das experientes técnicas desse setor, que sanou as dúvidas quanto ao uso do negatoscópio e treinou as leituras dos diversos padrões de aglutinação.

#### **4.6.2 Preparo das suspensões de hemácias**

Para a titulação das aglutininas anti-A e anti-B, foram preparadas suspensões a 5%, de hemácias A<sub>1</sub> e B de doadores, previamente fenotipados, conforme a técnica descrita no Manual Técnico da Associação Americana de Banco de Sangue (ROBACK *et al.*, 2011) e adaptada para o presente estudo (**Figura 4**).

Como solução preservadora das hemácias, foi utilizada a solução de Alsever, que é um preservador isotônico do sangue composto de glicose, citrato de sódio, cloreto de sódio, água deionizada e antibióticos. O uso desta solução faz com que o tempo de armazenamento das suspensões seja de 28 dias, conforme validação interna da Central de Imuno-Hematologia.



**Figura 4 – Descrição do processo de preparo das suspensões de hemácias**

Cada suspensão de hemácias preparada (**Figura 5**) foi enviada para o setor de Controle da Qualidade da Fundação Hemominas, onde foi submetida aos testes de especificidade, reatividade e análise visual. Cada suspensão foi aprovada mediante a emissão de um laudo (**ANEXO D**).



**Figura 5** – Suspensões de hemácias A<sub>1</sub> e B utilizadas na titulação das aglutininas

#### **4.6.3 Titulação de aglutininas da classe IgM**

A técnica descrita no Manual Técnico da Associação Americana de Banco de Sangue (ROBACK *et al.*, 2011) foi adaptada para o presente estudo (**Figura 6**).



	<p>Para titulação da aglutinina anti-A, 12 tubos foram identificados com o número da amostra (exemplo: amostra 1), com as diluições sucessivas a serem preparadas em salina (primeiro tubo: amostra sem diluir; último tubo: diluição 1:2048) e com a letra correspondente à suspensão de hemácia “A1” a ser adicionada a cada tubo.</p>
	<p>Para titulação da aglutinina anti-B, 12 tubos foram identificados com o número da amostra (exemplo: amostra 1), com as diluições sucessivas a serem preparadas em salina (primeiro tubo: amostra sem diluir; último tubo: diluição 1:2048) e com a letra correspondente à suspensão de hemácia “B” a ser adicionada a cada tubo.</p>
	<p>Para o preparo das diluições, 50µL de salina foram pipetados e dispensados a partir do segundo tubo (diluição 1:2) e até o último tubo (diluição 1:2048), que foi considerado o tubo de reserva, caso fosse necessário continuar as diluições; Foram pipetados 50µL do plasma puro nos tubos “A-1”, “A-2”, “B-1” e “B-2”. Foram transferidos 50µL da diluição 1:2 (tubos “A-2”/“B-2”) para o próximo tubo (tubos “A-4” /“B-4”), homogeneizando-se e desprezando-se a ponteira em seguida. Esse procedimento foi repetido até os tubos “A-2048” e “B-2048”.</p>
	<p>Foram acrescentados 50µL (1 gota) da suspensão de hemácias A1 a 5% a todos os tubos contendo a letra “A” e 50µL (1 gota) da suspensão de hemácias B a 5% a todos os tubos contendo a letra “B”, exceto aos dois últimos tubos de reserva. Todos os tubos foram homogeneizados suavemente e incubados por 15 minutos a temperatura ambiente.</p>
	<p>Todos os tubos foram centrifugados a 1000rpm por 1 minuto. O botão de hemácias de cada tubo foi ressuspensionado suavemente e a aglutinação foi avaliada visualmente de acordo com a padronização para técnica em tubo. O título obtido para anti-A IgM e o título obtido para anti-B IgM foram registrados para cada amostra testada, sendo esse definido como o inverso da última diluição que apresentou uma reação de 1+.</p>

**Figura 6 – Metodologia para titulação de aglutininas anti-A e anti-B da classe IgM**

#### 4.6.4 Titulação de aglutininas da classe IgG

##### a. Tratamento prévio do plasma

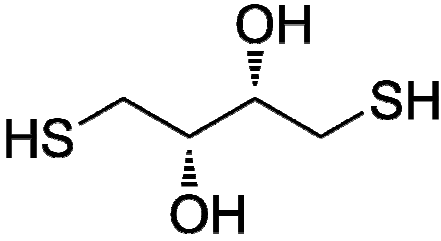
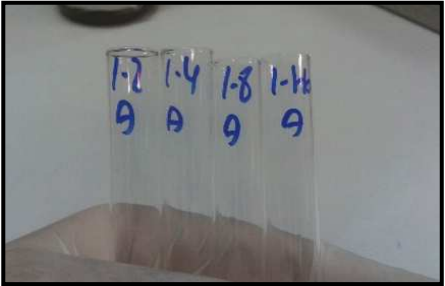


O plasma foi previamente tratado com o reagente DTT (Dithiothreitol -  $C_4H_{10}O_2S_2$  – Fabricante: Sigma-Aldrich) 0,01M, conforme técnica descrita no Manual Técnico da Associação Americana de Banco de Sangue (ROBACK *et al.*, 2011), para anular a atividade das imunoglobulinas da classe IgM, permitindo a detecção de imunoglobulinas da classe IgG coexistentes. O DTT é um forte agente redutor que age rompendo as ligações dissulfeto presentes na estrutura das imunoglobulinas da classe IgM.

Para o preparo do DTT 0,01 M, 0,154g de DTT foram dissolvidos em 100mL de solução tampão PBS (pH=7,3). Alíquotas de 1mL foram armazenadas à temperatura de -20°C. Para o controle da qualidade desse reagente, uma amostra de soro comercial que continha anticorpos da classe IgM (soro Anti-Jka – Fabricante Fresenius) foi tratada, conforme técnica a seguir e foi constatada a destruição desses anticorpos após serem confrontados com o painel de hemácias empregado na Central de Imuno-Hematologia.

Para o tratamento da amostra com o DTT 0,01M, um tubo de plástico foi identificado com o número da amostra e a sigla “DTT” e 200µL do plasma a ser tratado foram dispensados. Em seguida, 200 µL de DTT 0,01M foram adicionados. O tubo foi tampado, homogeneizado e incubado a 37°C por 30 minutos. Após os primeiros 15 minutos de incubação, o tubo foi novamente homogeneizado e foi investigada se havia a presença de gelatinização da amostra, o que invalidaria a análise da mesma.


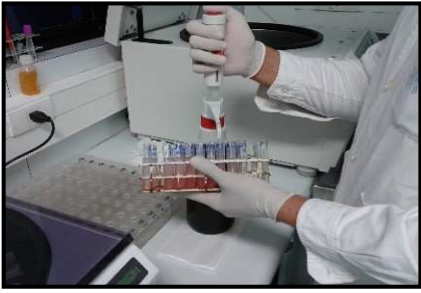


##### b. Obtenção do título

Essa técnica está descrita no Manual Técnico da Associação Americana de Banco de Sangue (ROBACK *et al.*, 2011) e foi adaptada para o presente estudo (**Figura 7**):

	<p>Para o tratamento prévio do plasma com DTT 0,01M, um tubo de plástico foi identificado com o número da amostra e a sigla “DTT” e 200µL de plasma foram dispensados. Foram adicionados 200µL de DTT 0,01M, após seu completo descongelamento. O tubo foi tampado, homogeneizado e incubado a 37°C, por 30 minutos. Após os primeiros 15 minutos de incubação, os tubos foram novamente homogeneizados e a presença de gelatinização da amostra foi avaliada, o que invalidaria a sua análise.</p>
	<p>Para titulação da aglutinina anti-A, 10 tubos foram identificados com o número da amostra (exemplo: amostra 1) e com as diluições sucessivas a serem preparadas (primeiro tubo: diluição 1:2; último tubo: diluição 1:1024). Para o primeiro tubo (diluição 1:2), não foi utilizada salina como diluente, mas o próprio DTT que foi usado no tratamento do plasma. Cada tubo recebeu a identificação com a letra “A”, correspondente à suspensão de hemácia “A1” a ser adicionada.</p>
	<p>Para titulação da aglutinina anti-B, 10 tubos foram identificados com o número da amostra (exemplo: amostra 1) e com as diluições sucessivas a serem preparadas (primeiro tubo: diluição 1:2; último tubo: diluição 1:1024). Para o primeiro tubo (diluição 1:2), não foi utilizada salina como diluente, mas o próprio DTT que foi usado no tratamento do plasma. Cada tubo recebeu a identificação com a letra “B”, correspondente à suspensão de hemácia “B” a ser adicionada.</p>
	<p>Para o preparo das diluições, 100µL da amostra tratada com o DTT 0,01M foram pipetados nos tubos “A-2” e B-2” (diluição 1:2). Foram pipetados 50µL de salina em todos os outros tubos, até o último tubo (1:1024), que foi considerado o tubo de reserva, caso fosse necessário continuar as diluições. Foram transferidos 50µL da diluição 1:2 (tubos “A-2”/“B-2”) para o próximo tubo (tubos “A-4” /“B-4”), homogeneizando-se e desprezando-se a ponteira em seguida. Esse procedimento foi repetido até os tubos “A-1024” e “B-1024”.</p>

**Figura 7 – Metodologia para titulação de aglutininas anti-A e anti-B da classe IgG**

- Continua

	<p>Foram acrescentados 50µL (1 gota) da suspensão de hemácias A1 a 5% a todos os tubos contendo a letra “A” e 50µL (1 gota) da suspensão de hemácias B a 5% a todos os tubos contendo a letra “B”, exceto aos dois últimos tubos de reserva. Cada tubo foi homogeneizado suavemente e incubado por 15 minutos em banho-maria a 37°C.</p>
	<p>As suspensões de hemácias de todos os tubos foram lavadas três vezes com salina, decantando-se bem o último sobrenadante com o auxílio de gaze ou papel toalha.</p>
	<p>Foram adicionados 100µL (duas gotas) de soro anti-IgG (soro de Coombs monoespecífico – Fabricante: Lorne®) a todos os tubos que foram, em seguida, homogeneizados suavemente e centrifugados a 1000rpm por 1 minuto.</p>
	<p>O botão de hemácias de cada tubo foi ressuspensionado suavemente e a aglutinação foi avaliada visualmente, de acordo com a padronização para técnica em tubo. O título obtido para anti-A IgG e o título obtido para anti-B IgG foi registrado para cada amostra testada, sendo esse definido como o inverso da última diluição que apresentou uma reação de 1+.</p>

**Figura 7 – Metodologia para titulação de aglutininas anti-A e anti-B da classe IgG**

(conclusão)

#### 4.6.5 Controle da qualidade das titulações

Visando a um melhor controle da qualidade das titulações executadas ao longo de 11 meses, foi padronizado um controle negativo e um controle positivo a serem realizados em todas as execuções da pesquisa de aglutininas.

O controle negativo foi realizado utilizando-se plasma “AB” de doador previamente fenotipado, sendo submetido a tratamento idêntico às amostras de doadores. Esta amostra foi selecionada semanalmente e era mantida sob refrigeração (2 a 8°C) ao longo dos 5 dias em que foi utilizada. O objetivo deste processo foi avaliar a especificidade das reações, uma vez que o resultado esperado era sempre o negativo, devido à ausência das aglutininas anti-A e anti-B. Ao longo de todo o período de análise das amostras, os resultados dos controles negativos adotados se mostraram de acordo com o esperado, ou seja, negativos para a presença de aglutininas anti-A e anti-B.

O controle positivo foi realizado utilizando-se uma amostra já titulada para as aglutininas anti-A e anti-B. O objetivo deste processo foi avaliar a reprodutibilidade das reações de titulações. Optou-se por implementar este controle, pois não há um controle de exatidão disponível para ser utilizado. Todos os dias em que houve a titulação de amostras, uma delas foi separada para ser repetida no experimento seguinte, preferencialmente uma amostra de doador classificado como perigoso, para avaliar a reprodutibilidade da titulação. Esta amostra selecionada era mantida sob refrigeração (2 a 8°C) até que fosse titulada novamente e, em seguida, era substituída por outra do último experimento. Ao longo de todo o período de análise das amostras, os resultados dos controles positivos adotados se mostraram de acordo com o esperado, tolerando-se uma variação de mais ou menos uma diluição, desde que não alterasse a classificação prévia da amostra do doador.

Dessa forma, a partir da aprovação dos controles positivo e negativo, os resultados das titulações das aglutininas nas amostras dos doadores foram validados.

Destaca-se, ainda, que as leituras das titulações foram realizadas apenas pela pesquisadora e pelo bolsista de iniciação científica envolvidos na execução do estudo, que receberam o mesmo treinamento inicial, o que permitiu melhor padronização na interpretação das leituras.

#### **4.6.6 Classificação dos doadores “O” perigosos**

Não há um consenso internacional padronizado para os títulos a partir dos quais um doador seria classificado como perigoso. A maioria das autoridades nesse assunto aceita títulos de anti-A e anti-B menores que 100 para anticorpos da classe IgM e 400 para anticorpos da classe IgG. Esses níveis também coincidem com os utilizados no Reino Unido, na maioria dos países europeus e nos Estados Unidos (STRANDENES *et al.*, 2014)

Foram considerados como doadores O perigosos aqueles que tiverem título de anti-A ou anti-B da classe IgM maior que 128, de acordo com a recomendação do estudo de Cooling *et al.* (2007) e/ou anti-A ou Anti-B da classe IgG maior que 256, segundo propôs o estudo de JOSEPHSON *et al.* (2004). Para a proposta de automatização, foi considerado um *cut-off* de 100 para os títulos de anti-A e anti-B, conforme adotado no Reino Unido e por ter sido considerado comprovadamente comparável ao título salínico de 128 (WIN, 2011).

#### **4.7 Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se os programas *GraphPad Prism* versão 5.0 e *Minitab* versão 17. O cálculo da frequência percentual das amostras analisadas foi realizado, sendo o resultado obtido expresso em porcentagem de doadores do grupo “O”, classificados como perigosos. A análise da associação entre os títulos de aglutininas encontrados e as variáveis sexo, etnia e faixa etária, foi realizada utilizando-se o teste Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ). Quando os valores esperados foram menores do que 5, foi empregado o Teste Exato de Fisher para verificar as associações. As análises estatísticas foram realizadas considerando um nível de significância de 5%.

Para as variáveis que apresentaram associação com os títulos de aglutininas, foi calculada a Razão de Chances (RC) ou *Odds Ratio*, cujo objetivo é determinar a razão entre a chance de um doador ser classificado como perigoso em dois grupos distintos. Foram calculados, também, os intervalos de confiança de 95% (IC<sup>95%</sup>) para cada razão de chances encontrada.

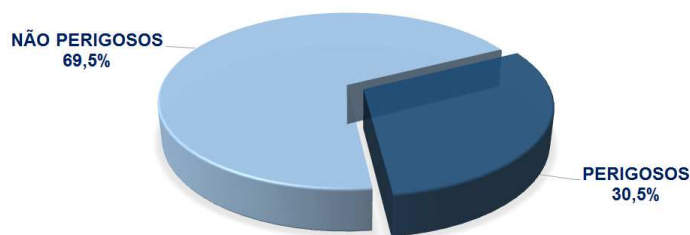
## ***5 RESULTADOS***



### 5.1 Frequência global de doador “O” perigoso

Para classificação do doador como perigoso, foi empregado o *cut-off* com base nos títulos de anticorpos anti-A/ anti-B da classe IgM maior ou igual a 128 e/ou anti-A/ anti-B da classe IgG maior ou igual a 256. Esses títulos permitem classificar o doador como perigoso.

Das 400 amostras de doadores do grupo sanguíneo “O” analisadas, 122 (30,5%) apresentaram título de aglutininas anti-A e/ou anti-B superior ou igual ao *cut-off* estabelecido, independentemente da classe do anticorpo. Em 278 amostras (69,5%) o título das aglutininas anti-A e/ou anti-B foi inferior ao *cut-off* (**Figura 8**).

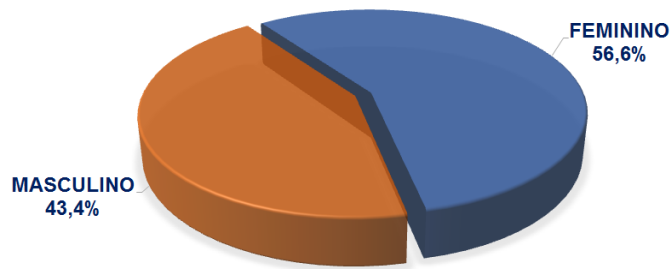


**Figura 8** – Frequência relativa de doadores do grupo “O” classificados como perigosos e não-perigosos nas 400 amostras analisadas

### 5.2 Frequência de doador “O” perigoso de acordo com o sexo

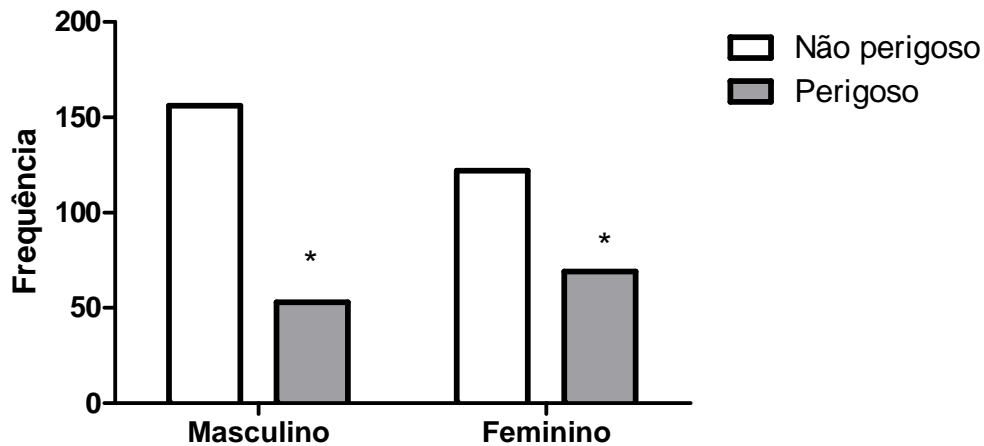
Das 400 amostras avaliadas, 209 eram de homens (52,3%) e 191 de mulheres (47,7%). Dentre os homens, 53 (25,3%), foram classificados como doadores perigosos e 156 (74,7%), não-perigosos. Dentre as mulheres, 69 (36,1%), foram classificadas como doadoras perigosas e 122 (63,9%), não-perigosas.

Das 122 amostras de doadores perigosos, 53 (43,4%) eram de homens e 69 (56,6%) eram de mulheres (**Figura 9**).



**Figura 9** – Frequência relativa de doadores do grupo “O” perigoso, de acordo com o sexo, nas 400 amostras analisadas

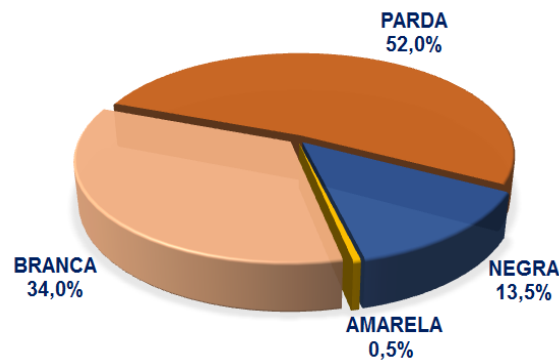
A análise estatística, pelo teste qui-quadrado, revelou que o percentual de doador “O” perigoso foi significativamente superior entre as mulheres ( $p=0,019$ ) (**Figura 10**).



**Figura 10** – Frequência absoluta de doadores do grupo “O”, perigosos e não-perigosos, segundo o sexo, nas 400 amostras analisadas

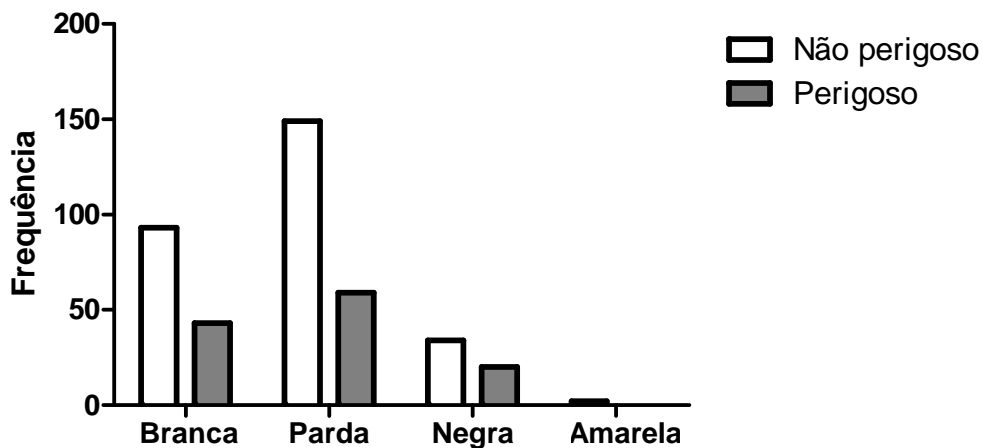
### 5.3 Frequência de doador “O” perigoso de acordo com a etnia

Com relação à etnia, dos 400 doadores incluídos na pesquisa, 136 se auto classificaram como brancos (34%), 208 como pardos (52%), 54 como negros (13,5%) e 2 como amarelos (0,5%) (**Figura 11**).



**Figura 11 – Frequência relativa de doadores avaliados de acordo com a etnia**

Dos 122 doadores classificados como perigosos, 43 (35,2%) se autocalificaram como brancos, 59 (48,4%) como pardos, 20 (16,4%) como negros e nenhum doador amarelo foi incluído nessa classificação (**Figura 12**)



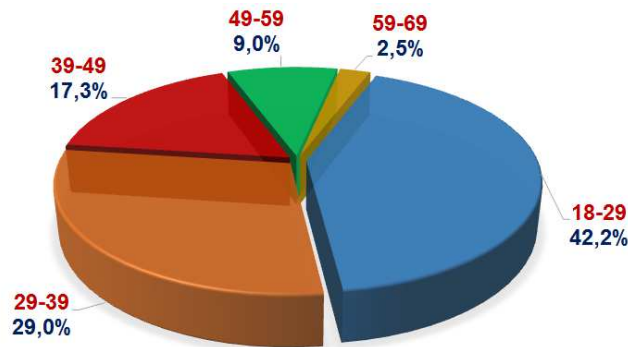
**Figura 12 – Frequência absoluta de doadores do grupo “O”, perigosos e não-perigosos, segundo a etnia, nas 400 amostras analisadas**

A análise estatística, pelo teste qui-quadrado e pelo teste exato de Fisher, revelou que não houve diferença significativa entre os grupos.

#### **5.4 Frequência de doador “O” perigoso de acordo com a faixa etária**

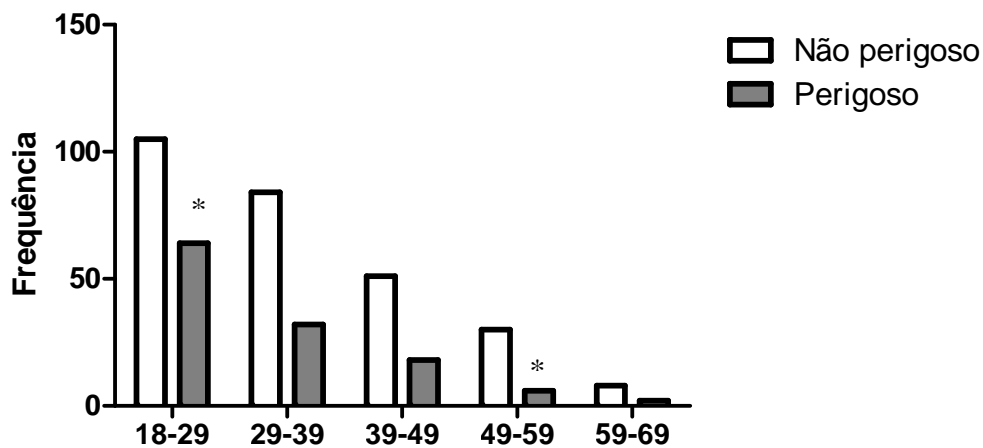
Com relação à faixa etária, dos 400 doadores incluídos na pesquisa, 169 (42,2%) doadores pertenciam à faixa etária de 18 a 29 anos, 116 (29,0%) de 29 a 39 anos,

69 (17,3%) de 39 a 49 anos, 36 (9,0%) de 49 a 59 anos e 10 (2,5%) de 59 a 69 anos (Figura 13).



**Figura 13 – Frequência relativa de doadores avaliados de acordo com a faixa etária**

Dos 122 doadores classificados como perigosos, 64 (52,4%) pertenciam à faixa etária de 18 a 29 anos, 32 (26,2%) de 29 a 39 anos, 18 (14,8%) de 39 a 49 anos, 6 (5,0%) de 49 a 59 anos e 2 (1,6%) de 59 a 69 anos (Figura 14).



**Figura 14 – Frequência absoluta de doadores do grupo "O", perigosos e não-perigosos, segundo a faixa etária, nas 400 amostras analisadas**

A análise estatística, pelo teste qui-quadrado, revelou que, dentre os doadores considerados perigosos, nas diferentes faixas etárias, houve diferença significativa somente na comparação dos integrantes dos grupos de 18 a 29 anos e 49 a 59 anos ( $p= 0,015$ ).

Para o grupo de 59 a 69 anos, a análise estatística foi feita pelo teste exato de Fisher e não houve diferença significativa comparando-o aos demais grupos.

### **5.5 Frequência de doador “O” perigoso de acordo com a especificidade da aglutinina**

No presente estudo considerou-se que, para cada amostra, foram realizadas quatro titulações: anti-A IgM, anti-B IgM, anti-A IgG e anti-B IgG. Dessa forma, foram realizadas 800 titulações para a aglutinina anti-A (IgM e IgG) e 800 para a aglutinina anti-B (IgM e IgG), totalizando 1600 titulações para as 400 amostras analisadas.

Para a aglutinina anti-A, considerou-se o *cut-off* de 128 quando esta pertencia à classe IgM e 256 quando pertencia à classe IgG. O mesmo critério foi aplicado com relação à aglutinina anti-B.

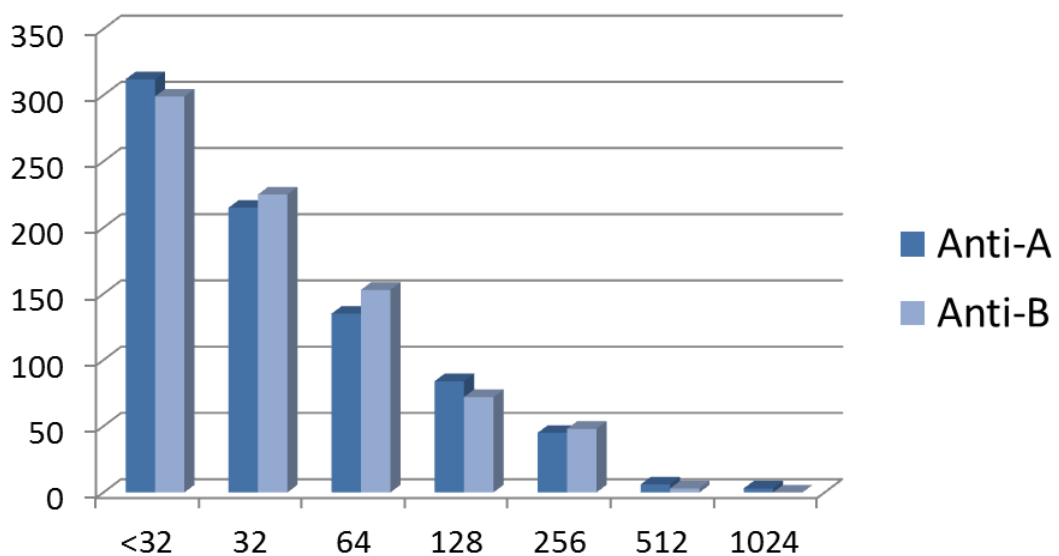
Considerando a aglutinina anti-A, foi observado que em 88 testes os resultados foram superiores ao *cut-off*, ou seja, esta aglutinina caracterizou o doador como perigoso, e em 712 testes os resultados foram inferiores. Para a aglutinina anti-B, em 84 testes os resultados foram superiores ao *cut-off*, ou seja, esta aglutinina caracterizou o doador como perigoso, e em 716 testes os resultados foram inferiores (**Tabela 8**).

**Tabela 8 – Distribuição das aglutininas anti-A e anti-B entre doadores perigosos e não perigosos, nas 1600 titulações realizadas.**

Especificidade da Aglutinina	Doador Perigoso?		Total de Titulações	Valor-p
	SIM	NÃO		
Anti-A	88	712	800	0,7468
Anti-B	84	716	800	
<b>Total de Titulações</b>	172	1428	1600	

A análise univariada revelou que não houve associação significativa entre as variáveis “especificidade da aglutinina” e “ser classificado como perigoso”.

A **Figura 15** mostra as frequências absolutas dos títulos de aglutininas anti-A e Anti-B obtidos nas 800 titulações para anti-A (IgM e IgG) e 800 para anti-B (IgM e IgG).



**Figura 15 – Frequência absoluta dos títulos das aglutininas anti-A e anti-B, nas 1600 titulações realizadas**

## 5.6 Frequência de doador “O” perigoso de acordo com a classe do anticorpo

No presente estudo considerou-se que, para cada amostra, foram realizadas quatro titulações: anti-A IgM, anti-B IgM, anti-A IgG e anti-B IgG. Dessa forma, foram realizadas 800 titulações para aglutininas da classe IgM (anti-A e anti-B) e 800 para aglutininas da classe IgG (Anti-A e Anti-B), totalizando 1600 titulações para as 400 amostras analisadas. Considerou-se o *cut-off* de 128 para as aglutininas da classe IgM e 256 para as aglutininas da classe IgG.

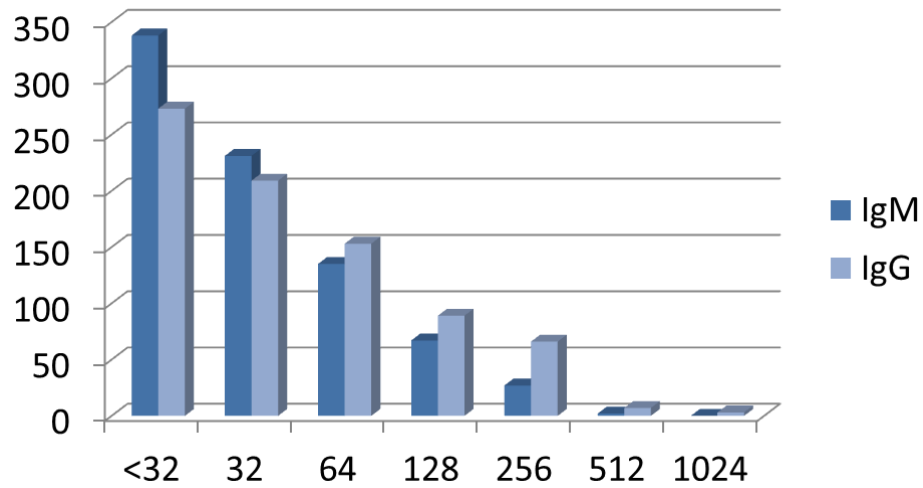
Considerando o número total de 800 titulações para aglutininas IgM, foi observado que em 76 testes os resultados foram superiores ao *cut-off* (128), ou seja, esta classe de anticorpos caracterizou o doador como perigoso, e em 724 testes foram inferiores. Para a aglutinina IgG, em 68 testes os resultados foram superiores ao *cut-off* (256), ou seja, esta classe de anticorpos caracterizou o doador como perigoso, e em 732 testes foram inferiores (**Tabela 9**).

**Tabela 9 – Distribuição da classe dos anticorpos IgM e IgG entre doadores perigosos e não perigosos, nas 1600 titulações realizadas**

Classe dos Anticorpos	Doador Perigoso?		Total de Titulações	Valor-p
	SIM	NÃO		
IgM	76	724	800	0,4846
IgG	68	732	800	
<b>Total de Titulações</b>	144	1456	1600	

A análise univariada revelou que não houve associação significativa entre as variáveis “classe do anticorpo” e “ser classificado como perigoso”.

A **Figura 16** mostra as frequências absolutas dos títulos encontrados para as aglutininas das classes IgM e IgG nas 800 titulações para IgM (anti-A e anti-B) e 800 para IgG (anti-A e anti-B).



**Figura 16** – Frequência absoluta dos títulos das aglutininas das classes IgM e IgG, nas 1600 titulações realizadas



## **6 DISCUSSÃO**

## 6.1 Considerações iniciais

Desde o século 19, a transfusão de sangue alogênico tem sido cada vez mais utilizada em todo o mundo. No entanto, o sangue é um recurso terapêutico esgotável e evidências mostram que atualmente há uma redução nas doações de sangue em todo o mundo, o que tem resultado na escassez dos estoques de sangue nos bancos de sangue (SOJKA & SOJKA, 2008).

Esta situação tende a piorar, especialmente nos países desenvolvidos, uma vez que o número de doações de sangue não tem sido proporcional à necessidade de transfusão, o que indica a possibilidade futura de escassez deste recurso terapêutico essencial em diversas condições clínicas (NOVARETTI, 2007).

É crescente a preocupação dos profissionais de saúde, especialmente a partir de 2008, com o paciente que está sangrando e não há sangue disponível para transfusão. Embora esforços venham sendo envidados para a obtenção do sangue artificial, a realidade desse é certamente muito remota e inúmeros obstáculos terão de ser vencidos para obtê-lo (MACKENZIE & SHANDER, 2008; HIROYAMA *et al.*, 2011)

A partir do surgimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), uma intensa reflexão acerca da indicação de transfusão do sangue vem sendo feita e a transfusão de sangue total não é recomendada. No entanto, a transfusão de componentes do sangue, de acordo com a necessidade do paciente, tem ampla indicação clínica, incluindo o tratamento de anemia com comprometimento hemodinâmico, a prevenção e tratamento de sangramentos devido à trombocitopenia, portadores de doenças hematológicas que estão em tratamento quimioterápico, pacientes que necessitam de procedimentos cirúrgicos de grande porte e vítimas de traumatismos. O sucesso da transfusão de sangue e a recuperação clínica do paciente dependem, fundamentalmente, da escolha do hemocomponente compatível com relação ao sistema ABO (HEAL & BLUMBERG, 2004; UKO *et al.*, 2013).

Embora a legislação brasileira vigente preconize a transfusão de hemocomponentes de doadores para receptores que apresentem o mesmo grupo sanguíneo, ou seja,

transfusão isogrupo, isto nem sempre é possível. Como o estoque de sangue disponível é frequentemente limitado e, em geral, há maior disponibilidade de hemocomponentes oriundos de doadores do grupo “O”, certamente o consumo desses na prática transfusional é maior, comparando aos demais grupos sanguíneos.

Cumprе destacar que, para pacientes politransfundidos, o sistema ABO não é o único a ser compatibilizado. Além disso, em situações de emergências e para procedimentos de exsanguineotransfusão em recém-nascidos portadores de Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) é preconizada a utilização de hemácias “O”, fator Rh negativo (BRASIL, 2013).

De modo geral, o número de publicações acerca das reações transfusionais hemolíticas devido à presença de plasma incompatível é reduzido, provavelmente, pela subnotificação dos eventos adversos ou à falta de associação entre a manifestação clínica e a presença de aglutininas em títulos elevados nos hemocomponentes transfundidos (FUNG *et al.*, 2007).

O conhecimento da frequência de doadores do grupo sanguíneo “O” perigoso nos bancos de sangue é essencial para o desenvolvimento e a implantação de protocolos transfusionais específicos e voltados para a realidade local, de maneira a proteger o receptor de possíveis reações adversas.

## **6.2 Aspectos imunes das reações transfusionais**

A transfusão de sangue constitui um procedimento terapêutico que acarreta tanto benefícios quanto riscos ao receptor. Entre os riscos, destaca-se a reação transfusional, definida como qualquer intercorrência resultante da transfusão sanguínea, durante ou após a sua administração. O efeito imune indesejável mais grave diretamente associado às transfusões é aquele que resulta em hemólise (GIRELLO & KÜHN, 2011).

Em se tratando da transfusão de plasma ABO incompatível, a reação hemolítica imediata contribui significativamente para morbidade e mortalidade em situações de emergência transfusional, sendo que a gravidade está relacionada ao título do

anticorpo transfundido. Para minimizar os riscos das reações transfusionais causadas por incompatibilidade ABO, todos os hemocomponentes que contêm plasma deveriam ser provenientes de doadores com título baixo de aglutininas anti-A e anti-B (STRANDENES *et al.*, 2014).

No entanto, é oportuno ressaltar as dificuldades associadas à definição do título para rotular o doador do grupo “O” como perigoso, considerando a inexistência de uma concordância com relação à técnica para a titulação de aglutininas anti-A e anti-B e determinação de títulos críticos para os receptores “não-O”.

### **6.3 Aspectos demográficos e epidemiológicos da população estudada**

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Censo demográfico de 2010 revelou que o município de Belo Horizonte apresenta, uma população residente de 2.375.151 pessoas, sendo 1.113.513 homens e 1.261.638 mulheres. A população estimada em 2014 foi de 2.491.109 pessoas.

Instituída em 26 de dezembro de 1989, por meio da Lei nº 10.057, a Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais, com personalidade jurídica própria, de direito público, vincula-se à Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais e tem por finalidade assegurar unidade de comando e direção às políticas estaduais relativas à hematologia e hemoterapia, garantindo à população a oferta de sangue e hemoderivados de qualidade.

A Fundação Hemominas desenvolve atividades nas áreas de prestação de serviço, assistência médica, ensino, pesquisa, desenvolvimento tecnológico, produção, controle de qualidade e educação sanitária, atuando nas áreas de hematologia, hemoterapia, células e tecidos com excelência e responsabilidade social.

O HBH foi criado em 02/06/1999 e tem o papel de fornecer hemocomponentes e hemoderivados aos estabelecimentos de saúde (hospitais, clínicas, ambulatórios) de Belo Horizonte e região para atendimento a pacientes com necessidade de transfusão.

Para cumprir esta função, o HBH recebe doadores voluntários e possui, atualmente, um total de 729.561 doadores cadastrados, sendo 38,9% mulheres e 61,1% homens.

A Central de Imuno-Hematologia da Fundação Hemominas localiza-se no HBH e recebe amostras provenientes de diversas unidades do estado de Minas Gerais. Neste setor são realizados todos os testes imuno-hematológicos que qualificam as amostras dos doadores (fenotipagem ABO/RhD, pesquisa de variantes do antígeno D, pesquisa e identificação de anticorpos irregulares, triagem para detecção de hemoglobina S, teste de Coombs direto em concentrados de hemácias, pesquisa de subgrupos do sistema ABO). A centralização dos exames nas amostras dos doadores permite uma melhor padronização dos testes e otimização dos custos, o que torna a implementação de novas tecnologias viável na prática laboratorial, contribuindo, assim, para análise de um maior número de amostras de doadores em Minas Gerais.

#### **6.4 Análise da frequência global de doador “O” perigoso**

No presente estudo, foram avaliadas 400 amostras de doadores do grupo sanguíneo “O” e 30,5% desses apresentaram títulos superiores ao *cut-off* estabelecido para aglutininas da classe IgM (128) e/ou classe IgG (256) sendo, portanto, classificados como doadores do grupo “O” perigoso (**Figura 8**). No Brasil, poucos estudos investigaram a frequência de doadores do grupo “O” perigoso em bancos de sangue. Comparando com o presente estudo, as frequências descritas em outros estudos encontradas na literatura foram inferiores à obtida no HBH.

Em Botucatu, São Paulo, a avaliação de 600 amostras do banco de sangue local revelou uma frequência de 12,8% de doadores classificados como “O” perigosos, sendo 58,4% dos doadores perigosos devido à aglutinina IgM anti-A em títulos elevados, 14,2% devido à aglutinina IgM anti-B e 27,2% devido a ambas. Os pesquisadores não avaliaram aglutininas da classe IgG (GAMBERO *et al.*, 2004).

Em São José dos Campos, São Paulo, um estudo que incluiu 6.210 amostras de doadores da cidade revelou uma frequência de 13,6% de doadores classificados

como “O” perigosos para aglutininas IgM anti-A e anti-B. No entanto, não foi feita a distinção da influência de cada aglutinina e não foram avaliadas aglutininas da classe IgG (ROSA *et al.*, 2004).

Nas cidades de Itapeva e Ourinhos, São Paulo, um estudo incluindo 4447 amostras de doadores encontrou uma frequência de 1,2% de doadores classificados como perigosos em Itapeva e 5,3% em Ourinhos, por apresentarem em títulos elevados de aglutinina IgM anti-A e anti-B, sem distinguir a influência de cada aglutinina e sem avaliar aglutininas da classe IgG (FERNANDES *et al.*, 2008).

Na cidade de Guarapuava, Paraná, a frequência encontrada de doadores classificados como “O” perigosos foi de 7,3% sendo que, desses, 44,4% possuíam títulos elevados de aglutinina IgM anti-A, 35,6% de aglutinina IgM anti-B e 20% ambas. Esses pesquisadores também não avaliaram aglutininas da classe IgG (COSECHEN *et al.*, 2009).

Todos esses estudos apresentam características comuns, principalmente no que tange à técnica utilizada. Empregaram a titulação em microplaca, após diluição das amostras em salina e adotaram um título acima de 100 para classificar os doadores como perigosos. Dessa forma, avaliaram somente as aglutininas da classe IgM, o que pode explicar a frequência reduzida de doadores classificados como perigosos, comparando à frequência de 30,5% encontrada no presente estudo. Além disso, diferenças nas características inerentes às populações estudadas, considerando a dimensão territorial e populacional do Brasil, poderiam justificar essa diferença. No entanto, vale ressaltar a dificuldade metodológica para se graduar as intensidades de reações de hemaglutinação em microplaca, o que poderia ser melhor padronizado com o emprego da metodologia em tubo.

Dois estudos recentes empregaram a técnica da titulação em tubo em meio salínico como forma de caracterizar doadores do grupo “O” quanto ao título de aglutininas. O primeiro, realizado na cidade de São Paulo, envolveu 603 doadores frequentes do grupo “O”, que faziam aférese ou cujos hemocomponentes seriam destinados a recém-nascidos. A frequência reportada foi de 13% de doadores com títulos

elevados de aglutininas. Os pesquisadores consideraram títulos superiores a 64 como elevados e, nesses casos, os hemocomponentes eram sinalizados no rótulo e no sistema informatizado (FRANCA *et al.*, 2011). Aglutininas da classe IgG não foram avaliadas, o que pode explicar a diferença entre a frequência de doadores perigosos nesse hemocentro e a frequência encontrada no presente estudo, além de diferenças nas características inerentes à população estudada.

O segundo estudo, realizado na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, incluiu 610 doadores do grupo "O" que faziam doação de plaquetas por aférese e revelou uma frequência de 50,7% de doadores com títulos elevados de aglutinina anti-A e 41,5% de aglutinina anti-B. A metodologia empregada nesse estudo foi a leitura da aglutinação do soro desses doadores, diluídos 1:100 em salina, frente a hemácias A<sub>1</sub> e B, pela técnica em tubo (VARGAS *et al.*, 2012). Esses resultados estão mais próximos da frequência encontrada no presente estudo, o que pode estar relacionado ao emprego da mesma técnica de hemaglutinação em tubo, apesar dos pesquisadores também não terem avaliado aglutininas da classe IgG.

Em comparação com dados de estudos internacionais, é possível observar que a frequência de doadores perigosos do presente estudo é próxima àquela obtida em um estudo italiano, realizado em 1977 e que incluiu 504 amostras de doadores de um centro transfusional. Neste estudo, os pesquisadores encontraram uma frequência de 27,7% de doadores "O" perigosos, empregando também a técnica de titulação em tubo após diluições sucessivas das amostras em salina. Cumpre ressaltar que este estudo foi elaborado de forma a incluir a avaliação não somente do título das aglutininas anti-A e anti-B, mas também da atividade hemolítica desses anticorpos por meio da pesquisa de hemolisinas a 37°C (DE BARTOLLO, 1977).

Outro estudo de grande importância nesse contexto foi realizado com doadores do grupo "O" da Tailândia. Os pesquisadores avaliaram os títulos de aglutininas anti-A e anti-B das classes IgM e IgG e adotaram um título mínimo de 64 para classificarem os doadores como perigosos. A frequência de doadores perigosos para anti-A IgM foi de 75,7% e para anti-B IgM, 80,0%, enquanto a frequência de doadores perigosos para anti-A IgG foi de 93,0% e anti-B IgG, 95,3%. Os pesquisadores associaram a

frequência elevada de doadores perigosos a fatores ambientais, diferenças na composição da microbiota intestinal, presença de parasitas intestinais, ampla vacinação e exposição a outros antígenos. Destacaram, ainda, que o número de doadores do sexo feminino havia crescido nos últimos anos, o que pode ter refletido na proporção elevada de doadores perigosos, visto que a gestação é um fator que contribui para a elevação do título das aglutininas (KHAMPANON *et al.*, 2012). Cabe ressaltar que o *cut-off* adotado nesse estudo foi inferior ao adotado na maioria dos demais, o que pode ter refletido no número elevado de doadores perigosos nesse hemocentro.

Estudos envolvendo populações africanas foram feitos visando a determinar a atividade hemolítica dos anticorpos anti-A e anti-B, por meio da pesquisa de hemolisinas reativas a 37°C. Alguns desses correlacionaram a atividade hemolítica com o título das hemolisinas. Um estudo com 250 doadores do grupo “O” na Nigéria encontrou uma frequência de hemolisinas em 23,2%. Outro estudo realizado no Zimbábue relatou que mais de 60% das amostras avaliadas apresentavam atividade hemolítica e possuíam títulos elevados de anticorpos da classe IgG (maior ou igual a 64). Os pesquisadores correlacionaram esses achados com características da população estudada, como a alta incidência da DHPN e histórico de transfusão prévia (OLAWUMI & OLATUNJI, 2001; ADEWUYI *et al.*, 1994).

Certamente, diferenças metodológicas especialmente associadas à execução de diluições seriadas das amostras ou apenas uma diluição a 1:100 em salina, o tempo de incubação das reações antes da leitura, os aspectos relacionados a calibração de equipamentos como centrífugas e pipetas e a subjetividade nas leituras das aglutinações para definição do título de cada amostra analisada justificam as diferenças encontradas no presente estudo e nos demais publicados na literatura.

### **6.5 Associação de doador “O” perigoso e sexo**

O presente estudo avaliou 400 doadores de ambos os sexos, sendo que o número de homens avaliados foi discretamente maior que de mulheres (razão homens: mulheres=1:1,09). Um percentual significativamente superior de doador “O” perigoso



foi obtido para as mulheres (56,6%), comparando-se aos homens (43,4%),  $p=0,019$  (**Figura 10**)

Os títulos mais elevados para aglutininas das classes IgG e IgM foram provenientes de mulheres em idade fértil, sendo o título de IgG anti-A=1024, em duas mulheres de 27 anos e 33 anos e o título de IgM anti-A=512 em uma mulher de 19 anos.

Sabe-se que os anticorpos anti-A e anti-B pertencem, predominantemente, à classe IgM nos indivíduos dos grupos "A" e "B". No entanto, em indivíduos do grupo "O", os anticorpos anti-A e anti-B se apresentam também na forma de IgG. A imunoglobulina IgG é a única capaz de atravessar a placenta (KLEIN & ANSTEE, 2005).

Denomina-se incompatibilidade ABO entre mãe e feto quando uma mulher do grupo "O" gera um feto de outro grupo sanguíneo (A, B ou AB). Admite-se que, no período gestacional, ocorre a passagem de hemácias do feto para a circulação materna. Quando o feto é ABO incompatível com a mãe, ainda que a quantidade de hemácias fetais detectadas na circulação materna seja pequena, essas são capazes de estimular o sistema imunológico materno no sentido de neutralizar os antígenos A e B presentes nas hemácias fetais. Dessa forma, é admitida a ocorrência da DHPN por incompatibilidade ABO, pela transferência de imunoglobulinas maternas anti-A e anti-B da classe IgG pela placenta. Embora a IgG materna possa promover a lise das hemácias fetais, a DHPN clinicamente importante é relativamente rara, principalmente porque os antígenos A e B não estão completamente expressos no feto. Além disso, esses antígenos não são exclusivamente eritrocitários, o que possibilita que os anticorpos IgG sejam adsorvidos em outros tecidos e fluidos corporais. A DHPN é, em geral, mais grave em indivíduos negros comparando-se a brancos, devido à forte expressão dos antígenos do sistema ABO em negros e também ao maior potencial hemolítico dos anticorpos advindo da influência de fatores ambientais, como constituição da microbiota intestinal (KLEIN & ANSTEE, 2005).

Sabe-se que a presença de aglutininas em títulos elevados no plasma de mulheres do grupo "O" pode ser determinada, dentre outras causas, pela gestação de filhos incompatíveis com relação ao sistema ABO (DE BARTOLLO, 1977), o que poderia

explicar a maior frequência de mulheres classificadas como doadoras perigosas no presente estudo, em comparação aos homens. Além disso, há evidências de que se a DHPN por incompatibilidade ABO for grave na primeira gestação, provavelmente o segundo feto incompatível também será acometido pela doença. Isto reforça a teoria de que os títulos das aglutininas anti-A e anti-B da mulher podem permanecer elevados ao longo do tempo (KLEIN & ANSTEE, 2005).

Em concordância com os resultados obtidos no presente estudo, outras publicações no Brasil e em outros países também revelaram maior frequência de aglutininas anti-A e/ou anti-B entre as mulheres (FERNANDES *et al.*, 2008; FRANÇA *et al.*, 2011; MAZDA *et al.*, 2007; VARGAS *et al.*, 2012).

O cálculo da Razão de Chances (RC) revelou que, no HBH, a chance de uma mulher ser classificada como doadora “O” perigosa é 1,66 vezes maior que de um homem (RC=1,66; IC<sup>95%</sup>=1,08-2,56).

## **6.6 Associação de doador “O” perigoso e etnia**

Dos 400 doadores incluídos na pesquisa, 52% se autotransclassificaram como pardos, 34% como brancos, 13,5% como negros e 0,5% como amarelos (**Figura 11**).

Considerando os 122 doadores classificados como perigosos 48,4% se autotransclassificaram como pardos, 35,2% como brancos, 16,4% como negros e nenhum como amarelo (**Figura 12**)

O elevado percentual de indivíduos que se autotransclassificaram como pardos reflete a grande heterogeneidade da população brasileira. O Brasil é considerado o país que possui uma das mais heterogêneas populações do mundo. Isto resulta da miscigenação de diferentes populações oriundas de três continentes, os colonizadores europeus, representados principalmente pelos portugueses, os escravos africanos e os ameríndios. Além disso, o amplo território e o deslocamento de diferentes grupos populacionais por diferentes regiões do país propiciou uma heterogeneidade filogeográfica considerável (PARRA *et al.*, 2003).

A análise estatística revelou que não houve diferença significativa na frequência de doadores “O” perigosos, em relação aos diferentes grupos étnicos. Dados da literatura revelam que em indivíduos brancos, o título da aglutinina anti-A tende a ser maior que o da aglutinina anti-B, tanto comparando indivíduos do grupo “B” com aqueles do grupo “A”, quanto comparando os títulos das aglutininas anti-A e anti-B em indivíduos do grupo “O”. Nos indivíduos negros, os títulos das aglutininas anti-A e anti-B tendem a ser maiores que nos brancos (KLEIN & ANSTEE, 2005).

No entanto, no presente estudo não houve diferença nos títulos de aglutininas, comparando-se os diversos grupos étnicos, o que provavelmente reflete a definição equivocada da etnia, que é em geral feita com base nas convicções psicológicas e sociais de cada indivíduo.

Na realidade, no Brasil, tecer considerações, fazer interpretações, análises e reflexões sobre as características étnico-raciais tem sido algo complexo na medida em que diversas categorias sociais são postas em concorrência e em diálogo constante, sobretudo porque trazem conceitos, palavras e terminologias estruturadas pelo imaginário europeu para estabelecer e explicar as diferenças entre os povos com a finalidade de exercer e justificar o domínio de alguns grupos sobre outros. Dessa maneira, a noção de raça ainda permeia o conjunto de relações sociais, atravessa práticas e crenças e determina o lugar e o status de indivíduos e grupos na sociedade. Nesse sentido, a pessoa pode ser identificada, classificada, hierarquizada, priorizada ou subalternizada a partir de uma cor/raça/etnia ou origem a ela atribuída por quem a observa (PETRUCCELLI, 2013).

Um estudo visando determinar a ancestralidade genômica africana na população brasileira revelou que a cor da pele empregada isoladamente apresenta baixo valor preditivo para caracterizar a ancestralidade africana dos indivíduos. A análise do genoma de indivíduos provenientes de quatro regiões do Brasil, inclusive da região sul do país, habitada predominantemente por imigrantes europeus, evidenciou a presença de ancestralidade africana para habitantes de todas as regiões avaliadas, o que inviabiliza a classificação dos brasileiros como brancos ou negros (PARRA *et al.*, 2003).

FRANÇA *et al.* (2011) destacaram a dificuldade de relacionar os títulos de aglutininas de doadores de um hemocentro em São Paulo com as características étnicas de cada grupo avaliado, justamente por falta de informações relativas aos ancestrais dos indivíduos.

Outro estudo realizado com doadores na cidade de Ourinhos, no estado de São Paulo, FERNANDES *et al.* (2008) encontraram maior frequência de doadores perigosos dentre os indivíduos que se autodeclararam brancos, o que contradiz os dados da literatura, que revelam maior prevalência de doadores perigosos entre os negros. Esses pesquisadores destacaram como limitação do estudo a dificuldade na classificação do negro, do mestiço e do amarelo, o que certamente comprometeu a análise dos dados.

Cumprе ressaltar que embora alguns estudos tenham demonstrado frequência elevada de hemolisinas anti-A e anti-B em populações africanas, é possível que diferenças entre a intensidade e característica hemolítica dos anticorpos do sistema ABO estejam mais fortemente associadas a fatores ambientais do que necessariamente com fatores étnicos (KLEIN & ANSTEE, 2005).

### **6.7 Associação de doador “O” perigoso e faixa etária**

O doador mais jovem no presente estudo tinha 18 anos e o mais velho, 69 anos. A maioria dos doadores eram jovens ou adultos jovens, sendo 42,2% na faixa etária de 18 a 29 anos, 29,0% de 29 a 39 anos, 17,3% de 39 a 49 anos, 9,0% de 49 a 59 anos e 2,5% de 59 a 69 anos (**Figura 13**).

Considerando os doadores classificados como perigosos, 52,4% pertenciam à faixa etária de 18 a 29 anos, 26,2% de 29 a 39 anos, 14,8% de 39 a 49 anos, 5,0% de 49 a 59 anos e 1,6%, de 59 a 69 anos, o que mostra que mais da metade desses eram jovens até 29 anos e mais de 78% até 39 anos.

A comparação estatística, pelo teste do qui-quadrado, entre as quatro primeiras faixas etárias revelou que houve diferença significativa entre os grupos ( $p= 0,035$ ), o

que confirma a associação entre ser classificado como perigoso e a faixa etária a que pertence o doador. Posteriormente, o teste do qui-quadrado, comparando os grupos dois a dois revelou associação significativa somente entre a faixa etária de 18 a 29 anos e o elevado título de aglutininas, comparando-se aos doadores de 49 a 59 anos ( $p=0,015$ ) (**Figura 14**).

A faixa etária de 59 a 69 anos não foi incluída nesta análise porque o valor esperado para o número de indivíduos classificados como perigosos nesta categoria foi menor do que cinco. Nesse caso, a análise estatística foi feita pelo teste exato de Fisher e não houve diferença significativa comparando-o aos demais grupos.

Na maioria dos indivíduos, a produção das aglutininas anti-A e anti-B se inicia entre os três e seis meses de vida. O título desses anticorpos alcança níveis máximos entre o 5° e 10° ano de vida. Um declínio progressivo das aglutininas é observado à medida que o indivíduo envelhece, sendo comum a presença de títulos baixos em pessoas acima de 80 anos. No entanto, estudos mais recentes mostram que nem sempre ocorre a queda do título de aglutininas com o avanço da idade (KLEIN & ANSTEE, 2005).

São raros os estudos na literatura que correlacionam os títulos das aglutininas anti-A e anti-B e a idade dos indivíduos. No Brasil, um estudo no hemocentro de São Paulo revelou uma correlação entre título de aglutininas inferior a 32 e idade do doador superior a 50 anos (FRANÇA *et al.*, 2011).

Na Tailândia, um estudo demonstrou a associação entre o decréscimo da aglutinina anti-B com o avanço da idade, independentemente do sexo (KHAMPANON *et al.*, 2012).

Na Nigéria, não foi obtida correlação entre os títulos das hemolisinas anti-A e anti-B e a idade dos indivíduos avaliados (UKO *et al.*, 2013).

O cálculo da Razão de Chances (RC) revelou que, no HBH, a chance de um indivíduo jovem de 18 a 29 anos ser classificado como doador “O” perigoso é 3,05

vezes maior que a chance de um indivíduo adulto de 49 a 59 anos (RC=3,95; IC<sup>95%</sup>=1,22-7,69).

### 6.8 Associação de doador “O” perigoso e a especificidade da aglutinina

No presente estudo, o título mais elevado dentre os doadores avaliados foi 1024 para classe IgG e 512 para classe IgM, ambas para aglutinina anti-A.

Sabe-se que o título da aglutinina anti-A tende a ser maior no plasma de indivíduos do grupo “O”, em comparação à aglutinina anti-B (AUBERT *et al.* 1942; KLEIN & ANSTEE, 2005).

A análise dos títulos da aglutinina anti-A nas 800 titulações revelou que, em 88 delas, esta aglutinina caracterizou o doador como perigoso. Para os títulos da aglutinina anti-B nas 800 titulações, em 84 dessas o doador foi caracterizado como perigoso. Não houve associação significativa entre as variáveis “especificidade da aglutinina” e “ser classificado como perigoso” (**Figura 15**)

Em Guarapuava, Paraná, dados de um estudo semelhante realizado com 564 mostraram que, entre os doadores classificados como “O” perigosos, 44,4% foram perigosos para aglutinina anti-A, 35,6% para aglutinina anti-B e 20% para ambas (COSECHEN *et al.*, 2009). No entanto, a análise de associação entre as variáveis não foi realizada, apesar da proporção de doadores perigosos para aglutinina anti-A ser superior àquela obtida para outras categorias.

Em Botucatu, São Paulo, dados de um estudo realizado com 600 doadores revelaram que, entre os doadores classificados como perigosos, 58,4% foram perigosos para aglutinina anti-A, 14,2% para anti-B e 27,2% para ambas (GAMBERO *et al.*, 2004). No entanto, a análise de associação entre as variáveis também não foi realizada, apesar da proporção de doadores perigosos para aglutinina anti-A ser superior à das outras categorias.

FRANCA *et al.* (2011) analisaram amostras de 603 doadores do banco de sangue de São Paulo e evidenciaram títulos perigosos para aglutinina anti-B (acima de 128) em mulheres jovens, comparando à aglutinina anti-A ( $p=0,002$ ).

Na Tailândia, KHAMPAON *et al.* (2012) analisaram amostras de 300 doadores de um hemocentro. A investigação da relação do título das hemolisinas anti-A e anti-B com o grau de hemólise *in vitro* revelou títulos elevados da hemolisina anti-A em mulheres ( $p<0,05$ ), em comparação aos homens.

A análise da distribuição dos títulos assumidos pelas aglutininas anti-A e anti-B mostrou que no título inferior a 32 e iguais a 128, 512 e 1024 a aglutinina anti-A predominou, enquanto houve predomínio da aglutinina anti-B nos títulos de 32, 64 e 256 (**Figura 16**).

### **6.9 Associação de doador “O” perigoso e classe do anticorpo**

A análise dos títulos das aglutininas da classe IgM nas 800 titulações revelou que, em 76 delas, esta classe de aglutinina caracterizou o doador como perigoso. Na classe IgG, em 68 dessas o doador foi caracterizado como perigoso. Não houve uma associação significativa entre as variáveis “classe do anticorpo” e “ser classificado como perigoso” (**Figura 17**).

A análise automatizada pelo equipamento Olympus PK-7200 permite a titulação apenas das aglutininas da classe IgM, por se tratar de uma reação em meio salínico e que não necessita da fase de Coombs. A titulação das aglutininas da classe IgG é uma técnica mais complexa, pois exige a etapa de lavagem das hemácias que foram adicionadas às diluições e, também, a adição do soro da antiglobulina humana monoespecífico (anti-IgG).

Em geral, o objetivo da titulação automatizada de aglutininas anti-A e anti-B é pesquisar apenas anticorpos da classe IgM pois, além de ser uma análise tecnicamente viável e rápida, existe respaldo da literatura a favor da associação significativa entre títulos elevados de anti-A e anti-B da classe IgM e a presença de

hemólise *in vitro* ( $p < 0,05$ ), o que não foi observado para as aglutininas da classe IgG. Por esse motivo, no caso de transfusão de plaquetas incompatíveis, especialmente oriundas de doadores do sexo feminino por aférese, a titulação das aglutininas anti-A e anti-B da classe IgM é recomendada (KHAMPANON *et al.*, 2012).

No Reino Unido, a titulação automatizada de aglutininas anti-A e anti-B da classe IgM também é recomendada para todos os doadores, independentemente do grupo sanguíneo, como forma de detectar e sinalizar os hemocomponentes que não são indicados para transfusão heterogrupo (WIN, 2011).

A análise estatística dos dados do presente estudo não demonstrou associação significativa a favor das aglutininas IgM em se tratando do doador “O” perigoso, apesar do número absoluto de titulações que atingiram o *cut-off* para anticorpos da classe IgM ter sido maior em comparação aos anticorpos da classe IgG.

A análise da distribuição dos títulos assumidos pelas aglutininas da classe IgM e IgG mostrou que no título inferior a 32 e igual a 32, as aglutininas da classe IgM predominaram, enquanto que para as aglutininas da classe IgG houve predomínio nos títulos superiores a 64 até 1024 (**Figura 18**).

## 6.10 Considerações finais

A plaquetaférese é um método seguro que permite coletar até oito unidades de plaquetas de um único doador. Esse tipo de doação beneficia, em especial, os pacientes com leucemia ou que estão sendo submetidos à quimioterapia. O concentrado de plaquetas por aférese também é indicado para pacientes que possuam antecedentes de reação febril não hemolítica ou quando estiver indicada a profilaxia da aloimunização a antígenos leucocitários.

A grande vantagem da plaquetaférese é o rendimento, quando uma única doação pode resultar em um elevado número de plaquetas por unidade coletada, da ordem de  $10^{11}$ . Além disso, o intervalo mínimo entre duas plaquetaféreses em um doador é



de quarenta e oito horas, podendo um mesmo doador realizar até vinte e quatro doações por ano. Por outro lado, se um doador de plaquetas por aférese doar uma unidade de sangue total, deverão transcorrer, pelo menos, quatro semanas antes que um novo procedimento de plaquetaférese seja realizado (BRASIL, 2013).

Essas vantagens justificam o incentivo às campanhas de captação de doadores de plaquetas por aférese.

Cumprе destacar, no entanto, que o concentrado de plaquetas, especialmente quando obtido por aférese, é acompanhado de um significativo volume de plasma. Se o receptor apresentar incompatibilidade ABO menor com relação ao doador, os títulos de aglutininas anti-A e anti-B do doador assumem grande importância. Dessa forma, apesar das vantagens da plaquetaférese, a doação não isogrupo pode constituir um problema grave. Por outro lado, a decisão por transfundir plaquetas somente quando doadores e receptores são ABO compatíveis é arriscada, visto que o estoque de plaquetas nos hemocentros é, frequentemente, limitado, além da maior frequência de doadores do grupo “O”.

Cumprе também ressaltar que a falta de padronização para os títulos críticos de aglutininas anti-A e anti-B é uma dificuldade enfrentada pelos hemocentros, tanto no Brasil quanto em outros países. No entanto, é essencial o estabelecimento de um *cut-off* nacional para os títulos de aglutininas anti-A e anti-B, a partir dos quais o uso de hemocomponentes advindos de doadores do grupo “O” seria desaconselhado para receptores não isogrupo. Sabe-se que diferenças técnicas no processo de titulação de cada laboratório também dificultam a comparação de dados obtidos em diferentes regiões no Brasil e em outros países.

O grande mérito do presente estudo foi despertar o interesse da Fundação Hemominas para a questão do doador “O” perigoso. Isso determinou o início da padronização da titulação automatizada na Central de Imuno-Hematologia, um passo fundamental para tornar a terapia transfusional mais segura para os pacientes que se beneficiam dos hemocomponentes de doadores do grupo “O”.

## **7 CONCLUSÕES**

Os dados obtidos permitem concluir que:

- A frequência de doadores do grupo “O” perigoso em doadores de Belo Horizonte é de 30,5%.
- A frequência de 30,5% de doadores do grupo “O” perigoso em Belo Horizonte é superior às frequências descritas na maioria dos estudos semelhantes realizados em outras cidades brasileiras, sendo comparável a frequências descritas em alguns estudos internacionais.
- A frequência de doadores do grupo “O” perigoso em mulheres é maior do que em homens, o que possivelmente reflete a imunização prévia por meio da gestação de filhos não isogrupo com relação ao sistema “ABO”.
- Não foi observada uma correlação significativa entre ser classificado como doador do grupo “O” perigoso e pertencer a determinada etnia (negra, parda, branca ou amarela).
- Foi observada uma correlação significativa entre ser classificado como doador do grupo “O” perigoso e pertencer à faixa etária mais jovem (18 a 29 anos), quando comparada à faixa etária adulta (49 a 59 anos), o que possivelmente reflete o decréscimo da concentração das aglutininas com o avanço da idade.
- Não foram observadas, na população de doadores de sangue de Belo Horizonte, diferenças entre os doadores classificados como “O” perigosos quanto à especificidade (anti-A e anti-B) ou classe (IgG e IgM) das aglutininas.
- Os concentrados de plaquetas, em especial aqueles obtidos por aférese, oriundos de doadores “O” perigosos, devem ser identificados e prioritariamente transfundidos em receptores isogrupo, visando prevenir a ocorrência de reação transfusional.

- Os resultados obtidos corroboram para a necessidade da implantação de protocolo transfusional específico para transfusão heterogrupo, bem como a sinalização de hemocomponentes advindos desses doadores.

## **8 PERSPECTIVAS DE ESTUDO**

- Estudo retrospectivo visando à busca ativa de dados clínicos e laboratoriais de pacientes heterogrupo que receberam os hemocomponentes oriundos dos doadores classificados como “O” perigosos do presente estudo, para conhecer a repercussão clínica dessas transfusões.
- Estudos que correlacionem os títulos das aglutininas anti-A e anti-B com a atividade hemolítica *in vitro* desses anticorpos, visando estabelecer o *cut-off* ideal para prevenir reações hemolíticas em receptores heterogrupo.

## **9 LIMITAÇÕES DO ESTUDO**

- A titulação manual das aglutininas, pois é sabido que a automatização permite melhor padronização das leituras.
- A dificuldade da classificação étnica da população brasileira, o que pode ter comprometido as conclusões acerca da associação da “etnia” e “ser doador perigoso”.



## REFERÊNCIAS

- ADEWUYI, J.O.; GWANZURA, C.; MVERE, D. Characteristics of anti-A and anti-B in black Zimbabweans. *Vox Sanguinis*, v. 67, n. 3, p. 307-9, 1994.
- ANSTEE, D. J. The relationship between blood groups and disease. *Blood*, v.115, n. 23, p. 4635 – 4643, 2010.
- AUBERT, E. F.; DODD, B. E.; BOORMAN, K. E.; LOUTIT, L. F. The universal donor with high titre iso-agglutinins – the effect of anti-A iso-agglutinins on recipients of group A. *British Medical Journal*. p. 659 – 664, 1942.
- BARNETT, V. *Sample Survey: principles and methods*. London: Arnold, 1982.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria MS nº 2712, de 12.11.2013. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Disponível em <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt2712\\_12\\_11\\_2013.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt2712_12_11_2013.html)> Acesso em: 10 abr 2015.
- CHENG, D.; HAO, Y. Comparative evaluation of the microcolumn gel card test and the conventional tube test for measurement of titres of immunoglobulin G antibodies to blood group A and blood group B. *Journal of International Medical Research* , v.39, p. 934 – 944, 2011.
- COOLING, L. ABO and platelet transfusion therapy. *Immunohematology*, v. 23, n. 1, p. 20 - 33, 2007.
- COSECHEN, V. S.; PITTNER, E.; KHALIL, N. M.; HORST, S.; MONTEIRO, M. C. Frequência de aglutininas anti-A e anti-B nos doadores de sangue do grupo “O” do Hemonúcleo de Guarapuava (PR). *Revista Salus-Guarapuava (PR)*, v. 3, n.1, p. 39 – 48, 2009.
- COZAC, A.P.C.N.C. Sistema de Grupo Sanguíneo ABO. In: COVAS, D. T.; JÚNIOR, D. M. L.; BORDIN, J. O. *Hemoterapia Fundamentos e Prática*. São Paulo: Editora Atheneu, 2007. p. 125 -136.
- DE BARTOLO, M.; GIORDANO, F.; VIOLANTE, A.; BONOMI, P. Laboratory tests applied to transfusion problems. Identification of dangerous universal donors and their frequency. *Ann Sclavo*, v. 19, n. 5, p.1092-102, 1977.
- EBERT, R. V.; EMERSON, C. P. J. A clinical study of transfusion reactions: the hemolytic effect of group-O blood and pooled plasma containing incompatible isoagglutinins. *European Theatre of Operations, U. S. Army*. p. 627 – 638, 1946.
- ENOSOLEASE, M. E.; BAZUAYE, G. N. Distribution of ABO and RhD blood groups in the Benin area of Niger-Delta: Implication for regional blood transfusion. *Asian Journal of Transfusion Science*, v.2, n.1, p. 3 – 5, 2008.

- FERNANDES, V. C.; BORGATTO, A. F.; FILHO, S. B.; TOLEDO, M. I.; LOPES, L. C. Frequência de hemolisinas anti-A e anti-B em doadores de sangue de Itapeva e Ourinhos. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 30, n. 6, p. 453 – 456, 2008.
- FIGL, M.; PELINKA, L. E. Karl Landsteiner, the discoverer of blood groups. *Resuscitation*, v. 63, p. 251–254, 2004.
- FRANÇA, N. D. G.; POLI, M. C. C.; RAMOS, P. G. A.; BORSOI, C. S. R.; COLELLA, R. Titers of ABO antibodies in group O blood donors. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 3, n. 4, p. 259-62, 2011.
- FUNG, M. K.; DOWNES, K. A.; SHULMAN, I. A. Transfusion of platelets containing ABO-incompatible plasma – A survey of 3156 north American laboratories. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, v. 131, p. 909 – 916, 2007.
- GAMBERO, S.; SECCO, V. N. D. P.; FERREIRA, R. R.; DEFFUNE, E.; MACHADO, P. E. A. Frequência de hemolisinas anti-A e anti-B em doadores de sangue do Hemocentro de Botucatu. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 26, n. 1, p. 28 – 34, 2004.
- GARRATY, G.; GLYNN, S. A.; McENTIRE, R. ABO and Rh(D) phenotype frequencies of different racial/ethnic groups in the United States. *Immunohematology*, v. 44, p. 703 – 706, 2004.
- GIRELLO, A. L.; KÜHN, T. I. B. B. *Fundamentos da Imuno-Hematologia Eritrocitária*. 3.ed. São Paulo: Ed. SENAC, 2011. 303 p.
- HAIR, J. F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C.; BABIN, B.J. ; *Análise Multivariada de Dados*. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.
- HAMED, C. T.; BOLLAHI, M. A.; ABDELHAMID, I., MAHMOUD, M. M. A.; BA.B.; GHABER, S.; HABTI, N.; HOUMEIDA, A. Frequencies and ethnic distribution of ABO and Rh(D) blood groups in Mauritania: results of first nationwide study. *International Journal of Immunogenetics*, v. 39, 151–154, 2012.
- HARMENING, D. M.; FIRESTONE, D. Sistema Sanguíneo ABO. In: HARMENING, D. M. *Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão*. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2006. p. 90 – 125.
- HARMENING, D. M.; WALKER, P. S. Tecnologias alternativas nos testes de rotina no banco de sangue. In: HARMENING, D. M. *Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão*. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2006. p. 545 – 558.

- HEAL, J. M.; BLUMBERG, N. Optimizing platelet transfusion therapy. *Blood Reviews*, v. 18, p. 149–165, 2004.
- HIROYAMA, T.; MIHARADA, K.; KURITA, R.; NAKAMURA, Y. Plasticity of Cells and Ex Vivo Production of Red Blood Cells. *Stem Cells International*, v. 2011, p. 1 – 8, 2011.
- JOSEPHSON, C. D.; CASTILLEJO, M. I. ; GRIMA, K.; HILLYER, C. D. ABO-mismatched platelet transfusions: strategies to mitigate patient exposure to naturally occurring hemolytic antibodies. *Transfusion and Apheresis Science*, v. 42, p. 83 – 88, 2010.
- JOSEPHSON, C. D.; MULLIS, N. C.; DEMARK, C. V.; HILLYER, C. D. Significant numbers of apheresis-derived group O platelet units have “high-titer” anti-A/A,B: implications for transfusion policy. *Transfusion*, v. 44, p. 855 – 808, 2004.
- KENNEDY, M. S.; EHSAN, A. Terapia Transfusional. In: HARMENING, D. M. *Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão*. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2006. p. 343 – 361.
- KHAMPANON, K.; CHANPRAKOP, T.; SRIWANITCHRAK, P.; SETTHAKARN, M.; OOTA, S.; NATHALANG, O. The Characteristics of ABO Antibodies in Group O Thai Blood Donors. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, v. 26, p. 223–226, 2012.
- KLEIN, H. G.; ANSTEE, D. J. (Ed). *Mollison’s Blood Transfusion in Clinical Medicine*. 11<sup>th</sup> ed., 2005. 891 p.
- LAPIERRE, Y.; RIGAL D.; ADAM J. The gel test: a new way to detect red cell antigen–antibody reactions. *Transfusion*, v. 30, n. 2, p. 109 – 113, 1990.
- LEVINE, P.; MABEE, J. A dangerous “universal donor” detected by the direct matching of bloods. *Journal of Immunology*, v. VIII, n. 6, p. 425 – 431, 1923.
- LEWIS, V.N.; MARTIN, S. Fundamentos em Imunologia para o Banco de Sangue. In: HARMENING, D. M. *Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão*. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2006. p. 36 – 70.
- LOZANO, M.; CID, J. The clinical implications of platelets transfusions associated with ABO or Rh(D) incompatibility. *Transfusion Medicine Reviews*, v. 17, n. 1, p. 57-68, 2003.
- MACKENZIE, C.F.; SHANDER, A. What to do if no blood is available but the patient is bleeding? *Southern African Journal of Anaesthesia and Analgesia*, v. 14, n. 1, p. 39-43, 2008.

- MAZDA, T.; YABE, R.; NATHALANG, O.; THAMMAVONG, T.; TADOKORO, K. Differences in ABO antibody levels among blood donors: a comparison between past and present Japanese, Laotian, and Thai populations. *Immunohematology*, v. 23, n. 1, p. 38 – 41, 2007.
- MELO, L. Teste de Compatibilidade Sanguínea. In: COVAS, D. T.; JÚNIOR, D. M. L.; BORDIN, J. O. *Hemoterapia Fundamentos e Prática*. São Paulo: Editora Atheneu, 2007. p.171 – 176.
- MOLLICONE, R.; CAILLARD, J.; PENDU, J. L.; FRANCOIS, A.; SANSONETTI, N.; VILLARROYA, H.; ORIOL, R. Expression of ABH and X (Lex) antigens on platelets and lymphocytes. *Blood Journal*, v. 71, n. 4, p. 1113-19, 1988.
- NDOULA, S. T.; NOUBIAP, J. J. N.; NANSSEU, J. R. N.; WONKAM, A. Phenotypic and allelic distribution of the ABO and Rhesus (D) blood groups in the Cameroonian population. *International Journal of Immunogenetics*, v. 41, p. 206–210, 2014.
- NIX, M. P. Testes de Compatibilidade. In: HARMENING, D. M. *Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão*. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2006. p.277 – 296.
- NOVARETTI, M. C. Z. Hemolisinas anti-A e anti-B na prática transfusional. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 30, n. 6, p. 433 – 436, 2008.
- NOVARETTI, M. C. Z.; DORLHIAC-LLACER, P. E.; CHAMONE, D. A. F. Estudo de grupos sangüíneos em doadores de sangue caucasóides e negróides na cidade de São Paulo. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.*, v. 22, n. 1, p. 23 – 32, 2000.
- NOVARETTI, M.C.Z. Importância dos carreadores de oxigênio livre de células. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 29, n. 4, p. 394-405, 2007.
- OLAWUMI, H.O.; OLATUNJI, P.O. Prevalence and titre of alpha and beta haemolysins in blood group 'O' donors in Ilorin. *African Journal of Medical and Health Sciences.*, v. 30, n. 4, p. 319-21, 2001.
- OTTENBERG, R. Studies in isoagglutination – Transfusion and the question of intravascular agglutination, p. 425 – 438, 1911. Disponível em <<http://jem.rupress.org/content/13/4/425.long>> Acesso em: 15 set. 2013.
- PARRA, F. C.; AMADO, R. C.; LAMBERTUCCI, J. R.; ROCHA, J.; ANTUNES, C. M.; PENA, S. D. J. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Genetics*, v. 100, n. 1, p. 177 – 182, 2003.

- PETRUCCELLI, J. L. Raça, identidade, identificação: abordagem histórica conceitual In: *Características Étnico-raciais da População: Classificações e identidades*. Rio de Janeiro: IBGE, 2013. Disponível em: <<http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv63405.pdf>> Acesso em: 24 abr. 2015.
- PRAT, N.; SAILLIOL, A.; GONZALES, R.; SIMON, C. D. ; NESS, P. ; DOUGHTY, H. A.; SPINELLA, P. C.; KRISTOFFERSEN, E. K. Low titer group O whole blood in emergency situations. *Shock*, v. 41, p. 70 - 75, 2014.
- ROBACK, J. D.; GROSSMAN, B. J.; HARRIS, T. HILLYER, C. D. (Ed). *Technical Manual*. 17<sup>th</sup> ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 2011.
- RODWIG, F. R. Aférese. In: HARMENING, D. M. *Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão*. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2006. p. 362 – 378.
- ROSA, E. S.; MELO, D. B.; MELO, C. M. T. P.; FELIPE, L. F. Frequência de doadores O com hemolisinas em altos títulos: experiência do Serviço de Hemoterapia de São José dos Campos. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 26, n. 3, p. 224, 2004.
- SAUNDERS, P. T. Use and abuse of the precautionary principle. London: Institute of Science in Society, 2000. Disponível em: <<http://www.isis.org.uk/prec.php>> Acesso em: 18 nov. 2013.
- SOJKA, B.N.; SOJKA, P. The blood donation experience: self-reported motives and obstacles for donating blood. *Vox Sanguinis*, v. 94, n. 1, p. 56-63, 2008.
- STORRY, J. R.; OLSSON, M.L. The ABO blood group system revisited: a review and update. *Immunohematology Journal of Blood Group Serology and Education*, v. 25, n. 2, p. 48-59, 2009.
- STRANDENES, G. ; BERSÉUS, O.; CAP, A. P.; HERVIG, T.; READE, M.; UKO, E. K.; ERHABOR, O.; AHMED, H. M.; ISAAC I. Z.; ABDULRAHAMAN, Y.; WASE, A.; EZIMAH, A.; AGHEDO, F.; IKUENBOR, D. B.; UDOMAH, F. P.; IWEKE, I. P.; ADIAS, T. C. Prevalence of high titre alpha and beta haemolysins among blood donors in Sokoto, North Western Nigeria. *International Journal of Medical Sciences and Health Care*, v. 1, n. 11, p. 1 – 7, 2013.
- VARGAS, L. D.; GARCIA, L.O.; BONACINA, F.; BLOS, B.; GALVÃO, A. C.; ONSTEN, T.G. Análise de títulos de aglutininas em doadores de plaquetas por aférese no Serviço de Hemoterapia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre – HCPA. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 34, n. 2, p. 380, 2012.

- WIN, N. High titre anti-A/B testing of donors within NHS Blood and Transplant (NHSBT) (Internet). London: NBS; 2011 June. Disponível em: <<http://hospital.blood.co.uk/library/pdf/INF178.pdf>> Acesso em: 20 nov. 2013.
- WRIGHT, P. A.; HUGHES, V. C. Seleção do doador e preparação dos componentes. In: HARMENING, D. M. *Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão*. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2006. p. 214 – 252.

**ANEXO A – Parecer favorável de aprovação do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFMG**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS  
GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
DEPTO. ANÁLISES CLÍNICAS E  
TOXICOLÓGICAS



Parecer elaborado pela Comissão de Pesquisa do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, designada através da portaria nº ACT/006/2013, para análise e parecer do projeto de pesquisa intitulado “Grupo sanguíneo “O” perigoso: a realidade da Fundação Hemominas, Hemocentro Belo Horizonte, Minas Gerais”, visando seu encaminhamento para aprovação em Câmara Departamental do ACT e Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.

**Interessado:**

Professora Luci Maria Dusse do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas (DACT) da Faculdade de Farmácia da UFMG. Como colaboradores do projeto têm: o Prof Lauro Mello Vieira, locado também no Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas (DACT) da Faculdade de Farmácia da UFMG, Mestranda Luciana Cayres Schmidt.

**Assunto:**

Avaliação e parecer do Projeto de Pesquisa “Grupo sanguíneo “O” perigoso: a realidade da Fundação Hemominas, Hemocentro Belo Horizonte, Minas Gerais”.

**Relatora:**

Profa Tânia Mara Pinto Dabés Guimarães

**Histórico:**

Recentemente foi encaminhado para a relatora Profa Tânia Mara Pinto Dabés Guimarães, o projeto de pesquisa acima referido para análise e emissão de parecer consubstanciado visando posterior envio à Câmara Departamental e Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.

O termo “Doador Universal Perigoso” foi descrito em 1923, por Levine & Mabee., que demonstraram o potencial de aglutinação do soro de doadores do grupo O (diluições de 1/2, 1/5 e 1/10) frente a hemácias não-O.

A presença natural dos anticorpos ABO cria uma situação de alerta sempre que for necessária uma transfusão sanguínea ou um transplante de órgãos, uma vez que, se for feito um transplante com incompatibilidade ABO, poderá haver um fenômeno de rejeição imediata. É necessário para uma transfusão sanguínea ou de hemocomponentes, que a tipagem ABO e RhD sejam idênticas às do paciente.

Apesar da frequência de doadores do grupo O perigoso ser relativamente escasso no Brasil torna-se necessário conhecer o perfil de doadores quanto aos títulos de hemolisinas anti-A e anti-B com o objetivo de garantir a segurança transfusional.

Porém, ainda é controverso na literatura, qual o título e o tipo de anticorpo IgM ou IgG que é mais significativo.

## ANEXO A (conclusão)

Considerando a importância do grupo O perigoso na prática transfusional, a escassez de estudos e o desconhecimento dos títulos de hemolisinas anti A e anti B dos doadores do grupo O cadastrados na Fundação Hemominas, este estudo se justifica. Seu objetivo geral é determinar os títulos de hemolisinas anti A e anti B em doadores do grupo sanguíneo O cadastrados na Fundação Hemominas de Belo Horizonte.

É um estudo exequível pelo grupo de pesquisadores envolvidos. A presente solicitação irá consolidar uma linha de pesquisa que compõe a estrutura científica do novo Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas implantado no Departamento, além do consequente incremento da produção científica.

Este projeto em análise será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - Belo Horizonte, MG, tendo em vista que este órgão passou a exigir um parecer consubstanciado pela Câmara Departamental, para que possa então ser aprovado.

### Parecer:

Além do mérito do projeto ressaltado anteriormente, do ponto de vista acadêmico-científico, a presente pesquisa se reveste de grande importância considerando que o desenvolvimento da mesma possibilitará a oferta de oportunidades para qualificação de alunos ao nível de iniciação científica, mestrado e doutorado, possibilitando a formação de recursos humanos, além de ser ferramenta importante para a investigação das aglutininas

Quanto à exequibilidade do projeto, não foram observadas dificuldades maiores que não possam ser superadas.

Dessa forma, somos favoráveis, s.m.j., à aprovação do projeto **“Grupo sanguíneo ‘O’ perigoso: a realidade da Fundação Hemominas, Hemocentro Belo Horizonte, Minas Gerais”** pela Câmara do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG e de seu encaminhamento para aprovação em Câmara Departamental do ACT.

Belo Horizonte, 25 de fevereiro de 2014.

*Câmica Dabés*  
 Profa Tânia Mara Pinto Dabés Guimarães  
 (Relatora)


Aprovado "ad referendum"  
 Câmara Departamental  
 Em 24/02/2014

*Bruno F. Mota*  
 Chefe do ACT

*pl* Prof. Adriano de Paula Sobrinho  
 Chefe do Departamento de  
 Análises Clínicas e Toxicológicas





## ANEXO B – Aprovação do projeto de pesquisa pela Fundação Hemominas


	CADASTRO DE PESQUISA	Folha: 1 / 4 CCD: _____
<p>1. Título:</p> <p>GRUPO SANGUÍNEO "O" PERIGOSO: A REALIDADE DA FUNDAÇÃO HEMOMINAS, HEMOCENTRO BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS</p>		
<p>2. Resumo:</p> <p>No Brasil, a investigação das aglutininas nos bancos de sangue antes das transfusões não é obrigatória. No entanto, existe uma clara recomendação do Ministério da Saúde referente à avaliação do volume de plasma do hemocomponente e da presença de hemolisinas anti-A e anti-B em altos títulos na decisão de transfundir concentrado de plaquetas heterogrupo, visando à segurança transfusional do receptor.</p> <p>Diversos relatos de reações hemolíticas por transfusão de hemocomponentes oriundos de doadores do grupo sanguíneo "O" perigoso são encontrados na literatura. O risco associa-se diretamente ao volume residual de plasma presente nesses hemocomponentes, com destaque ao concentrado de plaquetas obtido por aférese. Além disso, há também relatos de reações transfusionais relacionadas à transfusão de concentrados de hemácias e de plaquetas randômicas provenientes desse grupo de doadores. Dessa forma, o uso indiscriminado de hemocomponentes do grupo sanguíneo "O" para pacientes dos outros grupos é desaconselhado.</p> <p>Considerando a importância do grupo O perigoso na prática transfusional, a escassez de estudos sobre as complicações associadas no nosso meio, bem como o desconhecimento dos títulos de hemolisinas anti-A e anti-B dos doadores do grupo O cadastrados na Fundação Hemominas, este estudo reveste-se de extrema importância. Cumpre ressaltar que o presente projeto constitui um estudo observacional, transversal descritivo, retrospectivo e inédito na Fundação Hemominas.</p> <p>Certamente, a determinação da frequência de doadores do grupo O perigoso constituirá o ponto de partida para a implantação da pesquisa de hemolisinas anti-A e Anti-B, como parte da rotina da Central de Imuno-Hematologia da Fundação Hemominas. Esta medida indubitavelmente contribuirá para tornar a prática transfusional mais segura para os pacientes.</p>		
<p>3. Palavras chave (5 palavras, no máximo):</p> <p><i>Doadores "O" perigosos; hemolisinas; reação hemolítica</i></p>		
<p>HM-T.GDT-20</p>		

- Continua

## ANEXO B (continuação)

	CADASTRO DE PESQUISA	Folha: 2 / 4
		CCD: _____
4. Pesquisador responsável: Mariana Martins Godin		4.1. Maior titulação: Graduação
4.2. Endereço: Rua Profª Domicio Murta, 45 – Aptº203, Bloco 1 – Bairro Ouro Preto – Belo Horizonte - MG		
4.3. Telefone: ( 31 ) 9264-3171/ (31) 3768-4563.	4.4. E-mail: <a href="mailto:mariana.godin@hemominas.mg.gov.br">mariana.godin@hemominas.mg.gov.br</a>	
4.4. Instituição à qual pertence: Faculdade de Farmácia da UFMG e Fundação Hemominas	4.5. Setor: Central de Imuno-Hematologia	
<p>5. Lista de todos os membros da equipe /instituição à qual pertencem:</p> <p>Profª Drª Luci Maria Sant'Ana Dusse (Orientadora) – Professora e pesquisadora os cursos de Farmácia e Biomedicina da Faculdade de Farmácia da UFMG.</p> <p>Prof. Dr. Lauro Mello Vieira (Colaborador) – Professor do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG.</p> <p>MSc Luciana Cayres Schimdt (Colaboradora) – Chefe da Central de Imuno-Hematologia da Fundação Hemominas.</p> <p>Mariana Martins Godin – Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG/ Analista de Hematologia e Hemoterapia da Central de Imuno-Hematologia da Fundação Hemominas.</p>		
6. Instituição Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS	6.1. Unidade/Órgão: FACULDADE DE FARMÁCIA	
6.2. Endereço (Rua, n.º, bairro, CEP): AV. PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS, 6627		
6.3. Cidade (UF): BELO HORIZONTE	6.4. Fone: ( 31 ) 3409-6830	
<p>7. Outras instituições participantes:</p> <p>NÃO HÁ</p>		
8. Participação Estrangeira: ( ) Sim ( X ) Não	9. Multicêntrico: ( ) Sim ( X ) Não ( X ) Nacional ( ) Internacional	
<p>10. Setor(es) da Fundação HEMOMINAS envolvido(s) na pesquisa/home do contato</p> <p>Central de Imuno-Hematologia/ Luciana Cayres Schimdt (contato: 3768-4593)</p>		
<p>HM-T.GDT-20</p> 		

## ANEXO B (continuação)

	CADASTRO DE PESQUISA	Folha: 3 / 4
		CCD: _____

11. Produtos finais pretendidos	Número
Artigos em revistas especializadas	01
Publicações eletrônicas indexadas	01
Trabalhos completos em Anais de Congresso	01
Resumos publicados	01
Apresentação de trabalhos em congressos	-----
Tese de doutorado	-----
Dissertação de mestrado	01
Orientação de BIC	01
Outros (especificar)	-----


12. Cronograma:	
Data de início da pesquisa: Março de 2014	Data prevista para conclusão: Julho de 2015

Ano 1 (2014)						
Atividades	meses					
	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12
Elaboração do Projeto	X	x				
Submissão do projeto à Plataforma Brasil, ao Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG (COEP) e à Fundação Hemominas		x				
Desenho estatístico do estudo com determinação do número amostral			x			
Padronização do método de titulação em gel e da logística de seleção e análise das amostras pós tipagem ABO/RhD			x			
Execução das análises propostas			x	x	x	x
Análise estatística dos resultados obtidos						x

Ano 2 (2015)						
Atividades	meses					
	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12
Elaboração de manuscrito para publicação	X	x	x			
Redação da dissertação e apresentação	X	x	x			



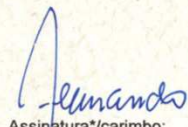
## ANEXO B (conclusão)

 Fundação Centro de Hemodiálise e Transplante de Músculo Cardíaco <b>HEMOMINAS</b>	CADASTRO DE PESQUISA	Folha: 4 / 4
		CCD: _____

13. Financiamento
13.1. <input checked="" type="checkbox"/> Solicitado <input type="checkbox"/> Não solicitado
13.2. Nome do patrocinador: <b>FUNDAÇÃO HEMOMINAS</b>
13.3. Tipo de financiamento: <input checked="" type="checkbox"/> Material de Consumo <input type="checkbox"/> Material permanente <input type="checkbox"/> Bolsa <input type="checkbox"/> Estágio Remunerado <input checked="" type="checkbox"/> Outros. Especificar: estagiário bolsista para participação no projeto

Concordância da Instituição:

Declaro que conheço o projeto apresentado e que esta instituição tem condições que permitem o desenvolvimento deste projeto. Autorizo sua execução, após cumprimento de todas as normas para o desenvolvimento de pesquisas na Fundação Hemominas.

  
Assinatura\*/carimbo:

Data: 19.02.2014

(\* ) coordenador do Hemocentro ou, na sua ausência/impedimento, Gerente Técnico

**ANEXO C – Aprovação do projeto de pesquisa pelo COEP/UFMG**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

**Projeto: CAAE - 25818814.4.0000.5149**

**Interessado(a): Profa. Luci Maria Sant Ana Dusse**  
**Departamento de Análises Clínicas e**  
**Toxicológicas**  
**Faculdade de Farmácia- UFMG**

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 26 de março de 2014, o projeto de pesquisa intitulado "**Grupo sanguíneo o perigoso no hemocentro Belo Horizonte**".

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

  
**Profa. Maria Teresa Marques Amaral**  
**Coordenadora do COEP-UFMG**

**ANEXO D – Laudo de validação das suspensões de hemácias A<sub>1</sub> e B**

 <b>FUNDAÇÃO HEMOMINAS</b>	<b>Laudo de Validação Nº 83 Reagentes Imuno-hematológicos</b>	CCD:
--	---	------

Produtos: Hemácias “A” a 5% - Lote: 11HmA <sub>5</sub> 1425 Hemácias “B” a 5% - Lote: 11HmB <sub>5</sub> 1425	
Fabricante: Central de Imuno-Hematologia	Validade: 25/12/2014
Liberação do laudo: 27/11/2014	

Parâmetros analisados:	Conforme	Não conforme
1-Especificidade	X	
2- Reatividade	X	
3- Análise Visual	X	

**Observações:**

Foram realizados os testes de fenotipagem ABO utilizando plasmas conhecidos dos grupos sanguíneos “A”, “B”, “AB” e soro comercial anti-A e anti-B.

Este laudo tem validade até o vencimento dos reagentes, desde que conservados em temperatura indicada pelo fabricante e transportados adequadamente.

**Resultado: Reagente**     **Aprovado**     **Reprovado**

Ângela Melgaço Ferreira  
 Elisângela Eliene de Almeida  
 Responsáveis Técnicos  
 T.GCQ- Laboratório IH

Flávia Naves Givisiez  
 Gerente T.GCQ