

# FREQUÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-A E ANTI-B NOS DOADORES DE SANGUE DO GRUPO “O” DO HEMONÚCLEO DE GUARAPUAVA (PR)

*Frequencies of anti-a and anti-b agglutinins in blood donors of the “o” group the hemonúcleo of Guarapuava (PR)*

Vivian de Souza Cosechen<sup>1</sup>  
Elaine Pittner<sup>2</sup>  
Najeh Maissar Khalil<sup>2</sup>  
Sabrina Horst<sup>2</sup>  
Marta Chagas Monteiro<sup>2</sup>

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a frequência dos títulos de aglutininas anti-A e anti-B em 564 amostras de soro de doadores de sangue do grupo “O” e determinar o sexo e a faixa etária predominante, no Hemonúcleo de Guarapuava (PR). Desses doadores, 45 (7,3%) apresentaram títulos superiores a 1/100 de aglutininas e 519 (92,7%) baixos títulos. No grupo dos doadores de alto título, 20 (44,4%) foram reativos para a aglutinina anti-A, 16 (35,6%) para a aglutinina anti-B e 9 (20%) reativos para ambas. 317 (56,2%) doações foram realizadas por indivíduos do sexo masculino na faixa etária de 18 a 45 anos de idade. As frequências elevadas das aglutininas A, B e AB, no Hemonúcleo de Guarapuava, podem sugerir que é de grande importância a pesquisa dos títulos dessas aglutininas e que há necessidade da implantação de protocolos transfusionais específicos.

**Palavras-chave:** aglutininas; doadores de sangue.

## Abstract

The aim of this work was to evaluate the frequency of titers of anti-A and anti-B agglutinins in 564 serum samples of blood donors of the “O” group and to determine the sex and predominant age, in the Hemonúcleo of Guarapuava/PR. Of these donors, 45 (7,3%) presented high titers than 1/100 of agglutinins and 519 (92%) low titers. In the group of the donors of high titer, 20 (44,4%) had been reactive for agglutinin anti-A, 16 (35,6%) for agglutinin anti-B and 9 (20%) reactive for both. 317 (56,2%) donations were carried by masculine sex individuals between 18 to 45 years of age. frequency of A, B and AB agglutinins in the Hemonúcleo of Guarapuava, we can suggested that it

1 Hemonúcleo de Guarapuava (PR).

2 Depto de Farmácia, Universidade Estadual do Centro-Oeste/UNICENTRO-Guarapuava (PR).

is of great importance the research of these agglutinins titers in the routine of blood banks and that it has necessity of specific transfusionais protocols.

**Key words:** agglutinins; blood donors.

## **Introdução**

A transfusão de um tipo ABO incorreta pode resultar na morte do receptor, por meio de uma reação hemolítica intravascular, seguida de alterações imunológicas e bioquímicas<sup>(1)</sup>. Existem, normalmente, dois tipos de anticorpos no sistema sanguíneo ABO, os de ocorrência natural (completos) e os imune (incompletos)<sup>(2,3)</sup>. Os anticorpos de ocorrência natural começam a aparecer no soro cerca de três a seis meses após o nascimento, cujo surgimento pode ser explicado por estímulos passivos, particularmente da flora bacteriana intestinal<sup>(2)</sup>. Essas bactérias, assim como outras substâncias (poeira, pólen, alimentos, entre outros), podem estimular a formação de anticorpos anti-A e/ou anti-B, classificados como naturais, regulares ou completos<sup>(1)</sup>. Esses anticorpos, em geral, aglutinam eritrócitos em meio salino, em temperatura ambiente (20-25°C), ou mais baixa enquanto, os anticorpos imunes podem ser induzidos principalmente por heteroimunização e aloimunização durante a gestação ou transfusão ABO incompatível, os anticorpos incompletos reagem com o antígeno, porém, não induzem aglutinação de hemácias, visto que recobrem apenas sua superfície. Tendem a exibir melhor reação em temperaturas mais altas como 37°C, e em meio rico em proteínas<sup>(3)</sup>.

Os anticorpos ABO ou aglutininas podem ser das classes IgM e IgG, são capazes de ativar o sistema complemento provocando hemólise intravascular. Os anticorpos anti-A e anti-B de indivíduos

do tipo sanguíneo B e A, respectivamente, são em sua maioria IgM e em pequena quantidade IgG, diferentemente dos indivíduos do grupo sanguíneo "O", cuja a classe predominante é IgG<sup>(1)</sup>. Indivíduos do grupo "O" possuem títulos elevados de anticorpos anti-A e anti-B quando comparados a indivíduos do tipo sanguíneo A e B<sup>(3)</sup>. Com isso, o conceito de que indivíduos do grupo "O" são doadores universais deve ser questionado, visto que em seu soro/plasma contém anticorpos anti-A, anti-B ou anti-AB (aglutininas), que em caso de doações de hemocomponentes para outro indivíduo não isogrupo pode ocasionar reações transfusionais sérias<sup>(1)</sup>. Principalmente, se o doador apresentar títulos elevados de aglutininas (superior 1/100), considerado indivíduo "perigoso" para transfusões em receptores de outros grupos sanguíneos, visto que favorece as reações transfusionais<sup>(1)</sup>. Indivíduos do grupo "O" com altos títulos de aglutininas são importantes principalmente em duas situações: i) gestações, quando a gestante for do grupo "O" e tiver um filho do grupo A ou B haverá imunização da mãe, com isso, pode ocorrer a doença hemolítica do recém-nascido por incompatibilidade ABO na próxima gestação, e ii) transfusão de hemocomponentes provenientes de indivíduos do grupo "O" em receptores não isogrupos, ainda que seja de concentrado de hemácias, ainda há certa quantidade de plasma presente<sup>(2)</sup>.

Uma das reações transfusionais mais relatadas, com hemocomponentes de doadores do grupo "O" com altos títulos, é ocasionada por concentrados de plaquetas,

visto que em bolsas de concentrado de plaquetas há geralmente certa quantidade de plasma (cerca de 50ml/unidade de plaquetas) e alguns leucócitos que favorecem as reações transfusionais nos receptores<sup>(3)</sup>. A vida útil do concentrado de plaqueta é limitada há cinco dias e considerada uma prática transfusional diária, e em algumas situações torna-se necessária a transfusão de concentrado de plaquetas não-isogrupos, cuja implantação da pesquisa dos títulos de aglutininas em doadores do grupo “O” permite evitar reações hemolíticas decorrentes dessas transfusões<sup>(3)</sup>. Assim, é de grande importância estudos relacionados a esses anticorpos na prática transfusional, visto que não é obrigatória a titulação de aglutininas nos soros de doadores do grupo sanguíneo “O” em bancos de sangue. Com isso, esse estudo tem como objetivo avaliar a frequência das aglutininas anti-A e Anti-B em doadores do grupo sanguíneo “O”, assim como determinar o sexo e faixa etária desses doadores do Hemonúcleo de Guarapuava (PR).

## Material e Métodos

Foram analisadas 564 amostras de soros de doadores de sangue voluntários do Hemonúcleo de Guarapuava, no período de 09 a 11/2006. De cada doador, foram coletados quatro tubos a vácuo, continha 10ml de sangue venoso. Um tubo com EDTA foi encaminhado ao laboratório de imuno-hematologia, para os procedimentos operacionais padrão do setor, tais como classificação do sistema ABO e Rh, pesquisa dos antígenos RhD, D fraco e C, D, E; pesquisa e identificação de anticorpos irregulares e

pesquisa de hemoglobina S<sup>(4)</sup>. O soro de uma das três amostras sem anticoagulante foi reservado à identificação dos grupos sanguíneos, sendo que os soros dos doadores do tipo “O” foram separados para a realização das titulações. Nas titulações, foram utilizadas hemácias A<sub>1</sub> e B (previamente fenotipadas), produzidas no próprio Hemonúcleo/Guarapuava. As hemácias foram lavadas com solução de cloreto de sódio a 0,9% por cinco vezes e ressuspensas em salina 3% para a realização das titulações. A metodologia utilizada baseou-se na Técnica de Hemaglutinação em microplaca, a qual é realizada na rotina do Laboratório de Imuno-hematologia do Doador do Hemocentro de Botucatu<sup>(5)</sup>.

A técnica consistiu em diluições seriadas do soro, e os resultados foram expressos em título de anticorpos correspondente a mais alta diluição do soro com reação positiva<sup>(6)</sup>. O teste foi realizado em microplaca de base em “U” de 96 escavações, em duplicata para as diferentes hemácias (A<sub>1</sub> e B). As análises foram feitas utilizando diluições seriadas em solução salina estéril a partir de 1:2 até 1:1024, em volumes de 100µl. Após as diluições, acrescentou-se 50µl da suspensão das hemácias em solução salina a 3% em todos os poços. Em seguida, a microplaca foi centrifugada a 1000 rpm durante um minuto e posteriormente colocada no agitador automático por trinta segundos. A leitura foi realizada por avaliação macroscópica de aglutinação, obedecendo-se um intervalo de intensidade de uma a quatro cruzes e o grau de reações de aglutinação positiva foi relatado como recomenda a *American Association of Blood Banks* (AABB).

**Quadro 1** - Grau de intensidade de aglutinação das hemácias

Intensidade	Interpretação
++++	Um Agregado sólido de eritrócitos
+++	Vários agregados grandes
++	Agregados de tamanho médio de fundo claro
+	Pequenos agregados, fundo turvo, avermelhado, ou somente gregados microscópicos.
1W	Agregados finos, fundo turvo avermelhado, ou somente gregados microscópicos.

Este projeto foi aprovado pelo comitê de ética da universidade Estadual do Centro-Oeste/UNICENTRO e os participantes desse estudo não tiveram conflito de interesse.

## Resultados

Nesse trabalho foram analisadas 564 amostras de soros de doadores de sangue voluntários do Hemonúcleo de Guarapuava (PR). A tabela 1 mostra a frequência de doadores de sangue do tipo

baixo título e 45 (7,3%) apresentaram alto título de aglutininas (considerados perigosos). Na tabela 2, pode-se observar que desses 45 doadores com altos títulos, 20 (44,4%) foram reativos para aglutininas do tipo anti-A, 16 (35,6%) para anti-B e 9 (20%) para aglutininas anti-A e anti-B.

As figuras 1 e 2 mostram as frequências de positividade nas titulações para aglutininas anti-A e anti-B, respectivamente. Os resultados demonstraram que das 564 amostras de

**Tabela 1** - Frequência de doadores com baixo e alto títulos de aglutininas no Hemonúcleo de Grarapuava (PR)

	Frequencia	
	Número	Porcentagem
Baixo título	519	92,7%
Alto título	45	7,3%
Total de doadores	564	

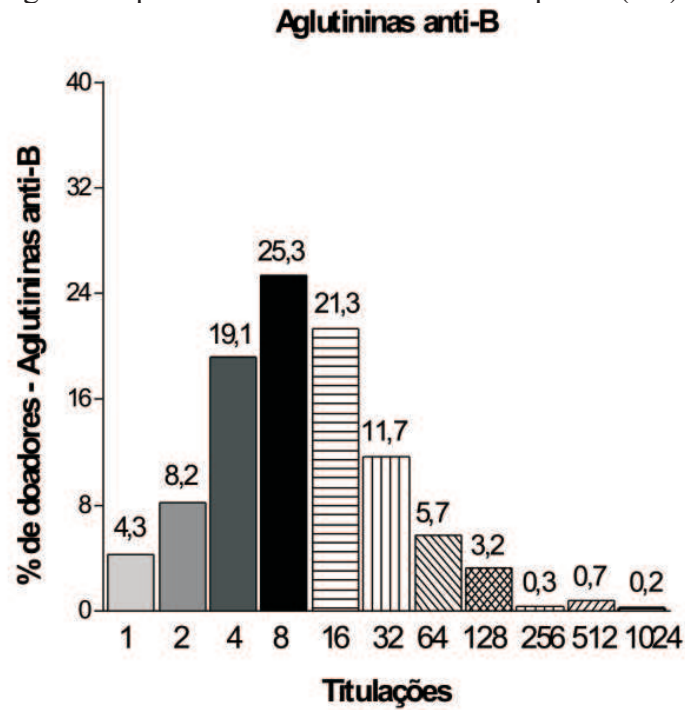
**Título 2** - Frequência de aglutininas anti-A e anti-B dentre os doadores do hemonúcleo

	Frequencia	
	Número	Porcentagem
Aglutinina anti-A	20	44,6%
Aglutinina anti-B	16	35,6%
Aglutinina anti-A e anti-B	9	20%
Total de doadores	45	

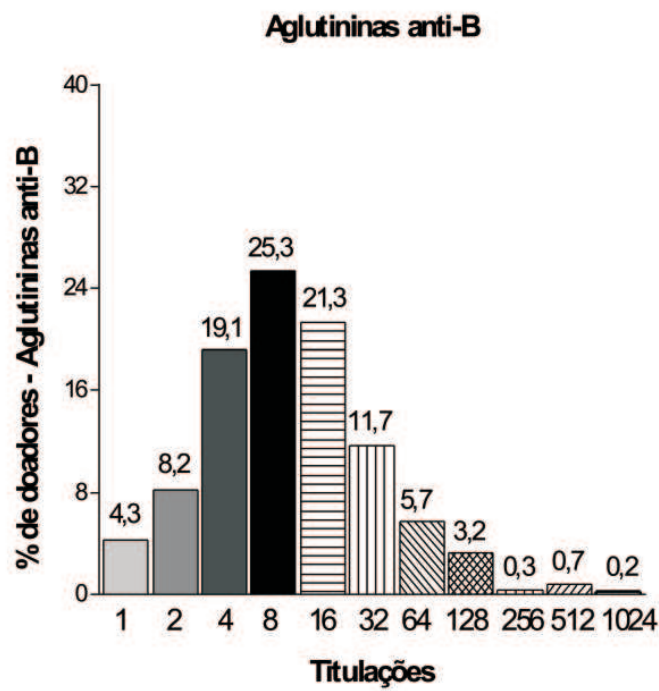
"O" que apresentaram baixos títulos de aglutininas ( $\leq 1/100$ ) e altos títulos ( $\geq 1/100$ ). Nos resultados, observa-se que dos 564 doadores de sangue do grupo "O", 519 (92,7%) doadores apresentaram

doadores do grupo "O" tituladas, a maioria apresentou positividade principalmente entre as titulações 4 a 32 tanto para aglutininas anti-A quanto anti-B (79,6 e 77,5%, respectivamente). Além disso,

**Figura 1** - Frequência de positividade nas titulações para Aglutininas anti-A nos doadores de sangue do tipo O do Hemonúcleo de Guarapuava (PR).



**Figura 2** - Frequência de positividade nas titulações para Aglutininas anti-B nos doadores de sangue do tipo O do Hemonúcleo de Guarapuava (PR)



observa-se que a frequência das altas titulações ( $\geq 128$ ) para aglutininas anti-A<sub>1</sub> foi de (5,2%) e anti-B (4,4%), entre os doadores de sangue do tipo "O". A tabela 3 mostra que dos doadores do grupo "O", 376 (66,7%) pertenciam ao sexo masculino e 188 (33,3%) ao feminino.

## Discussão

No presente estudo, pode-se observar que das 564 amostras de doadores de sangue do grupo "O", 519 (92,7%) apresentaram baixos títulos de aglutinina ( $\leq 1/100$ ) e 45 (7,3%)

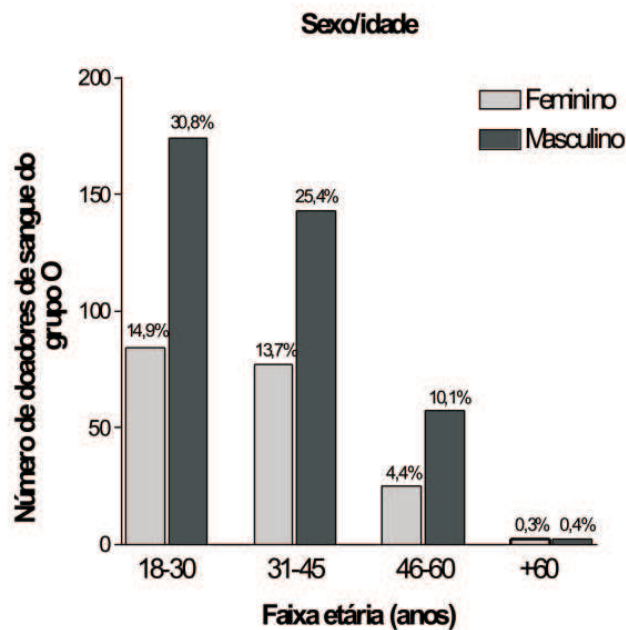
**Tabela 3** - Distribuição em sexo masculino e feminino entre os doadores de sangue do grupo "O" do Hemonúcleo de Guarapuava (PR)

Sexo	Frequencia	
	Número	Porcentagem
Masculino	376	66,7%
Feminino	188	33,3%
Total de doadores	564	

Na figura 3, observa-se que a maioria dos doadores do sexo masculino e feminino se encontrava entre as faixas etárias 18 a 30 (45,7%), seguido de 31 a 45 anos de idade (39,1%). A partir da faixa etária de 46 anos, observa-se um menor número de doadores de ambos os sexos (14,5%).

altos títulos ( $\geq 1/100$ ). Fato que é importante observar, visto que esses títulos oferecem risco de causar hemólise por incompatibilidade em receptores do grupo sanguíneo A, B e AB. Os resultados realizados no Hemonúcleo de Guarapuava apresentaram porcentagens

**Figura 3** - Distribuição por faixa etária e sexo dos doadores de sangue do grupo O do Hemonúcleo Guarapuava (PR).





mais baixas que às obtidas em estudos realizados em outros hemocentros<sup>(7-8)</sup>, em seiscentos amostras de soro no Hemocentro de Botucatu e 6210 amostras de soro no Serviço de Hemoterapia de São José dos Campos. Nesses estudos foram encontrados 12,8% e 13,6% de positividade em títulos superiores a 1/100 nas amostras de soro, respectivamente.

Em relação ao número de amostras com títulos elevados para aglutininas anti-A e anti-B, nossos dados mostraram que dos 45 doadores com altos títulos, 20 (44,4%) foram positivas para aglutininas anti-A, 16 (35,6%) para anti-B e 9 (20%) para anti-A e anti-B. O alto percentual de positividade para aglutinina anti-A também foi observada em outro estudo<sup>(7)</sup>, onde 58,4% das amostras apresentavam altos títulos para essa aglutinina, e somente 14,2% de amostras positivas para aglutinina anti-B, dado que foi diferente do obtido nesse estudo, que apresentou 35,6% das amostras com altos títulos para aglutinina anti-B. No entanto, em estudos realizados com 509 doadores do tipo "O" da Nigéria<sup>(9)</sup>, mostraram a frequência de 53,6% de aglutininas anti-A, 62,7% de anti-B e 47,9% de ambas (anti-A e anti-B). O alto nível de hemolisinas (aglutininas) encontrado nessa população e em nossos estudos pode estar relacionado com a alta incidência de doenças hemolíticas do recém-nascido ou elevado caso de transfusão de hemocomponentes nestas localidades.

Vários casos de reações hemolíticas por transfusão de hemocomponentes provenientes de doadores do grupo sanguíneo "O" são encontrados na literatura. Casos da prática transfusional

em crianças que receberam plasma fresco e/ou plaquetas do grupo sanguíneo "O", esses casos mostraram evidências clínicas e laboratoriais de reações hemolíticas após transfusão<sup>(10)</sup>. Há o relato de uma reação hemolítica severa em um homem de 38 anos, do grupo sanguíneo "A", que foi transfundido com concentrado de hemácias do grupo "O" com título de 1024 para aglutinina anti-A<sup>(11)</sup>.

Nesse sentido, é sabido que altos títulos de aglutininas aumentam a chance de risco hemolítico no receptor devido uma maior fixação do sistema complemento, tendo como critério utilizado para definir esses doadores de altos títulos à presença de títulos superiores a 1/100<sup>(11)</sup>. No entanto, não há nenhuma lei que justifique e obrigue a investigação das aglutininas nos bancos de sangue antes das transfusões, e por isso não há protocolos específicos para os procedimentos a serem tomados nessa investigação. Alguns bancos de sangue mantêm certa quantidade de sangue do grupo "O" negativo de baixo título para uso em emergências, mas o uso de hemocomponentes do grupo sanguíneo "O" indiscriminadamente é desaconselhado<sup>(12)</sup>.

Após titulação do soro dos 564 doadores de sangue do grupo "O" obtivemos que 5,2% das amostras apresentaram altos títulos ( $\geq 128$ ) para aglutinina anti-A e 4,4% para aglutinina anti-B. Dados que se diferenciam dos resultados expressos na tabela 2, os quais foram obtidos através do teste de triagem do laboratório por apresentar títulos de hemolisinas inferiores a 1/100 na presença de hemácias A<sub>1</sub> e B. Em estudos<sup>(7)</sup>, o teste de triagem do laboratório (hemolisinas

inferiores a 1/100) e titulação também apresentou diferenças significativas entre os resultados, das amostras classificadas como perigosas (altos títulos), 58,4% apresentaram títulos  $\geq 1/100$  durante a triagem para aglutininas anti-A, mas somente 12,4% dos doadores obtiveram títulos acima de 1/128 para essas aglutininas. A não concordância entre os nossos resultados pode ser devido às condições de armazenamento e processamento dos soros, bem como a técnica utilizada e também a diferenças quanto ao perfil da população de doadores. As condições técnicas podem interferir da seguinte forma: as hemolisinas anti-A e anti-B são anticorpos da classe IgG e IgM, sendo que IgG são mais reativas a 37°C e as IgM a 4°C ou temperatura ambiente. O teste utilizado na rotina de triagem seguiu os procedimentos<sup>(7)</sup>, no qual a técnica foi realizada em meio salino à temperatura ambiente com objetivo de detectar maior quantidade de anticorpos da classe IgM, visto que essa classe de imunoglobulina são as principais ativadoras do sistema complemento, provocando hemólise intravascular. No entanto, não descartamos a possibilidade da detecção concomitante de anticorpos tanto da classe IgG quanto IgM durante o procedimento de triagem, ocasionando aumento no percentual de amostras consideradas perigosas. Para a realização das diluições seriadas, as amostras permaneceram estocadas a temperatura de 4°C, por cerca de 24 horas, até a identificação do grupo ABO, em seguida realizou-se os procedimentos de titulação. Esse fato pode explicar as diferenças encontradas na detecção da presença das hemolisinas no teste de

triagem e sequência de titulação feita com as mesmas amostras.

Em um estudo, foram utilizadas hemácias pré-tratadas com soro albumina bovina (22%) por trinta minutos a 37°C, papaína e o teste de antiglobulina indireta com soros específicos anti-IgG e anti-IgM<sup>(13)</sup>. Os autores observaram que das 296 amostras de soros de doadores negros de Zimbábue pertencentes ao grupo, "O" aproximadamente 1/5 foram consideradas perigosas para as aglutininas anti-A, B ou ambas. Em análise de 5380 amostras de soro de doadores do grupo "O", na Nigéria<sup>(14)</sup> e destas 1739 (32,3%) causavam lises completas em células A, B ou ambas. Nesse sentido, a frequência da doença hemolítica por incompatibilidade do sistema ABO é maior em negros do que em brancos<sup>(1)</sup>, fato que pode explicar o número elevado de doadores com altos títulos<sup>(13-14)</sup>.

O estudo da frequência de aglutininas anti-A e anti-B nos doadores de sangue do grupo "O" do Núcleo de Hemoterapia e Hematologia de Guarapuava mostrou que 7,3% desses doadores foram considerados perigosos, por apresentarem alto título de aglutininas no soro. Dessas aglutininas, 44,4% foram reativos para aglutininas anti-A, 35,6% para aglutininas anti-B e 20% para ambas as aglutininas. Além disso, os dados mostraram que a frequência dos títulos permaneceu mais alta entre as titulações de 4 a 32, tanto com o uso das hemácias A<sub>1</sub> quanto B. As avaliações de faixa etária e sexo dos doadores demonstraram que a maior parte das amostras era proveniente de indivíduos do sexo masculinos entre 18 a 45 anos de idade.



A partir desses dados, em conjunto, podemos verificar uma alta ocorrência de altos títulos de aglutininas anti-A e anti-B em doadores de sangue do grupo "O" provenientes do Hemonúcleo de Guarapuava (PR). Fato que sugere a necessidade da implantação de protocolos transfusionais específicos que padronize a pesquisa desses anticorpos de altos títulos e torne a prática transfusional ainda mais segura. Além disso, ressaltamos que as diferenças encontradas nos resultados descritos na literatura e os dados de

altas titulações de aglutininas obtidas neste estudo podem ser resultados de parâmetros relacionados a diferenças raciais e/ou procedimentos técnicos laboratoriais.

### **Agradecimentos**

Ao Núcleo de Hematologia e Hemoterapia de Guarapuava, pela autorização da utilização de seu banco de gerenciamento de dados - Sistema Hemovida.

### **Referências**

- 1 - Girello AL, Kuhn, TIBB. Fundamentos da Imuno-Hematologia Eritrocitaria. Senac, São Paulo, 2002.
- 2 - Harmening D (Ed.). Técnicas modernas em Banco de Sangue e Transfusão. Revinter, Rio de Janeiro, 1992.
- 3 - Ravel R. Laboratório Clínico: aplicações clinicas dos dados laboratoriais. 6 ed Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1997.
- 4 - Verdasca ICS. Procedimento operacional padrão do Laboratório de imuno-hematologia do doador. Núcleo de Hematologia e Hemoterapia de Guarapuava, 2006.
- 5 - Deffune E. Procedimento operacional padrão dos Laboratórios de imuno-hematologia do doador e controle de qualidade, rotina transfusional, hemobiologia perinatal. Hemocentro de Botucatu, Hospital das Clinicas, Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, 2000.
- 6 - Bohatzuk MIT, Araújo CC. Procedimentos operacionais padrão na triagem sorológica de doadores e pacientes sorológicos. Núcleo de Hematologia e Hemoterapia de Guarapuava, 2006.
- 7 - Gambero S, Secco VNDP, Ferreira, RR, Deffune E, Machado PEA. Frequência de hemolisinas anti-A e anti-B em doadores de sangue do Hemocentro de Botucatu. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, 26: 28-34, 2004.
- 8 - Rosa ES, Melo DB, Melo CMTP, Felipe LF. 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, 26: 224, 2004.

*Frequência de aglutininas anti-a e anti-b nos doadores de sangue do grupo "o" do hemonúcleo de Guarapuava (PR)*

9 - Okafor LA, Enebe S. Anti-A anti-B haemolysins, dangerous universal blood donors and the risk of ABO antagonism in a Nigerian community. *Trop Geogr Med* 37: 270-272, 1985.

10 - Duguid JKM, Minards J, Bolton-Maggs PHB. Incompatible plasma transfusions and haemolysis in children. *British Medical Journal* 318: 176-177, 1999.

11 - Barjas-Castro ML, Locatelli MF, Carvalho MA, Gilli SO, Castro V. Severe Immune Haemolysis in a group A recipient of a group O red blood cell unit. *Transfusion Medicine* 13: 239-241, 2003.

12 - Diniz EMA, Albiero AL, Ceccon ME, Vaz FAC. Uso de sangue, hemocomponentes e hemoderivados no recém-nascido. *Jornal de Pediatria* 77: 104-114, 2001.

13 - Adewuyi JO, Gwanzura C, Mvere D. Characteristics of anti-A and anti-B in black Zimbabweans. *Vox Sang* 67:307-309, 1994.

14 - Kulkarni AG, Ibazebe R, Fleming AF. High frequency of anti-A and anti-B haemolysins in certain ethnic groups of Nigeria. *Vox Sang* 48: 39-41, 1985.