

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JACSON CANDIOTTO

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS IRREGULARES EM PACIENTES
ATENDIDOS PELO HEMEPAR CURITIBA NO ANO DE 2012.

CURITIBA
2013

JACSON CANDIOTTO

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS IRREGULARES EM PACIENTES
ATENDIDOS PELO HEMEPAR CURITIBA NO ANO DE 2012.

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Especialista em Análises Clínicas.

Orientadora: Msc. Caroline Prochaska

CURITIBA

2013

RESUMO

Introdução: A formação de aloanticorpos pode ocorrer durante a gestação ou após uma ou múltiplas transfusões, onde o sangue transfundido possuía um antígeno eritrocitário, o qual o receptor não tinha. **Objetivo:** Este estudo tem como objetivo analisar a aloimunização eritrocitária em pacientes atendidos pelo Hemepar Curitiba e suas agências transfusionais no ano de 2012. **Material e Métodos:** Foi realizada análise retrospectiva dos dados de 209 pacientes aloimunizados entre 20.373 pacientes atendidos no ano de 2012. A frequência de 21 aloanticorpos encontrados foi estimada. **Resultados:** A prevalência de anticorpos irregulares no Hemepar Curitiba em 2012 foi de 1,03%. Os três anticorpos mais encontrados foram anti-D (33,3%), anti-E (14,7%) e anti-K (11,5%). A prevalência de anti-D ($p=0,000$), anti-C ($p=0,005$) e anti-I ($p=0,011$) é significativamente mais alta em mulheres do que em homens. **Conclusão:** Estes resultados mostram a importância dos testes pré-transfusionais e da imunofenotipagem para segurança transfusional e diminuição de formação de aloanticorpos, mesmo sabendo que poucos locais dispõem das técnicas de imunofenotipagem, esta é extremamente útil para evitar a formação de novos anticorpos e ocorrência de reações transfusionais.

PALAVRAS-CHAVE: *aloimunização eritrocitária, anticorpos irregulares, segurança transfusional*

ABSTRACT

Introduction: The formation of alloantibodies can occur during pregnancy or after one or multiple transfusions , where blood transfusion had an erythrocyte antigen , which the receiver does not have. **Objective:** This study aims to analyze the erythrocyte alloimmunization in patients from Hemepar Curitiba and its agencies transfusion in the year 2012. **Material and Method:** retrospective analysis of data from 209 patients alloimmunized among 20,373 patients treated during 2012. The frequency of 21 alloantibodies was found estimate. **Results:** The prevalence of irregular antibodies in Hemepar Curitiba in 2012 was 1.03 % . The three antibodies were found more anti - D (33.3 %) , anti -E (14.7 %) and anti - K (11.5%) . The prevalence of anti-D (p = 0.000) , anti- c (p = 0.005) and anti- I (p = 0.011) was significantly higher in women than in man. **Conclusions:** These results show the importance of preclinical testing -transfusion and transfusion safety for immunophenotyping and decreased formation of alloantibodies , knowing that few places have the techniques imunfenotipagem this extremely is useful to prevent the formation of new antibodies and the occurrence of transfusion reactions.

KEY WORDS: erythrocyte alloimmunization , irregular antibodies , transfusion safety

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Total de aloanticorpos eritrocitários identificados em pacientes atendidos no Hemepar Curitiba e suas agências transfusionais no ano de 2012	9
TABELA 2	Número de anticorpos encontrados por paciente	1 0
TABELA 3	Principais aloanticorpos eritrocitários identificados em pacientes atendidos no Hemepar Curitiba e suas agências transfusionais no ano de 2012, divididos por sexo	1 1

INTRODUÇÃO

A aloimunização por antígenos eritrocitários é uma importante reação transfusional hemolítica tardia que se segue a múltiplas transfusões com sangue alogênico⁽¹⁹⁾. Entre os fatores envolvidos na formação de aloanticorpos eritrocitários estão sexo e idade do receptor, histórico de gestação, data e número de transfusões, fatores genéticos relacionados à resposta antigênica, diagnóstico e tratamento do receptor, além de diferenças raciais entre doadores e receptores⁽²⁾.

O antígeno D é o mais imunogênico. Após transfusão em pacientes imunocompetentes, mais de 80% destes formarão anti-D, embora a incidência seja muito menor em pacientes imunocomprometidos. Anticorpos contra os sistemas de grupos sanguíneos Rh e Kell são os mais frequentemente encontrados em pacientes aloimunizados na Europa Ocidental e nos Estados Unidos^(12,3,16,9). Diversos estudos demonstraram que o índice de aloimunização varia de 0,21 a 2,4%^(12,19,18,20,1,11,8). Em pacientes politransfundidos a taxa de aloimunização eritrocitária é da faixa de 5-30%^(15,14,17,12,3,16,9).

O Hemepar é uma Unidade da Secretaria Estadual da Saúde (SESA) que desenvolve ações no intuito de fornecer produtos e serviços de hematologia e hemoterapia de forma sustentável para a rede assistencial visando garantir a cobertura transfusional para os pacientes atendidos pelo Sistema Único de Saúde – SUS. Conforme preceito da política nacional do sangue, do Ministério da Saúde, o Hemepar está presente nas 22 Regionais de Saúde do Estado, sob a forma de Hemorrede com distintos níveis de complexidade.

O Hemocentro Coordenador, de alta complexidade, está localizado em Curitiba, os quatro Hemocentros Regionais estão localizados em Londrina, Maringá, Cascavel e Guarapuava e oito Hemonúcleos e nove Unidades de Coleta e Transfusão estão distribuídos por todo o Estado do Paraná.

Dentre as políticas públicas de saúde, de responsabilidade da SESA, a Política Estadual do Sangue tem a finalidade de atender a demanda nas áreas de Hemoterapia e Hematologia, mediante o planejamento, programação, coordenação e supervisão das atividades da captação de doadores, coleta de sangue, análise laboratorial, produção e distribuição de hemocomponentes, bem como a assistência à saúde dos portadores de hemoglobinopatias e coagulopatias hereditárias.

Na estrutura organizacional do HemePar Curitiba, encontra-se a Divisão de Produção – DVPRO - que é responsável pelo planejamento, coordenação, supervisão e controle de atividades relacionadas ao processamento do sangue, armazenamento, rotulagem, controle de qualidade de hemocomponentes, testes pré-transfusionais e imunohematologia especializada.

A aloimunização geralmente é detectada quando o paciente necessita de uma transfusão sanguínea e geralmente é decorrente de transfusão prévia ou gestação. A fenotipagem eritrocitária contribui para a redução do índice de aloimunização em pacientes politransfundidos e aumento da segurança transfusional. A fenotipagem eritrocitária estendida foi introduzida no HemePar Curitiba em 1990 através da técnica em tubo, a partir de 1996, com a adoção da técnica de gel teste, houve maior facilidade em fazer um maior número de testes, conseqüentemente, um maior alcance. A grande importância da imunofenotipagem é observada, além dos fatos acima mencionados, quando verificamos o alto índice de aloimunização em pacientes politransfundidos (5 a 35 %) , contra valores indiretos no nosso serviço, abaixo de 1 %, tendo pacientes ambulatoriais com talassemia e anemia falciforme que recebem transfusões a mais de 20 anos e não possuem nenhum aloanticorpo.

OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo determinar a prevalência e especificidade dos anticorpos encontrados em pacientes com pesquisa de

anticorpos irregulares positiva no Hemepar Curitiba e suas agências transfusionais no ano de 2012.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

No ano de 2012 foram atendidos 20.373 pacientes em 42 hospitais de Curitiba e Região Metropolitana diretamente pelo Hemepar Curitiba como por suas 8 agências transfusionais. Destes, 209 pacientes apresentaram pesquisa de anticorpos irregulares positiva e suas amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Imunohematologia e Dificuldade Transfusional do Hemepar Curitiba, que é referência para a hemorrede estadual e para outros bancos de sangue. Foi realizado um estudo retrospectivo das fichas de dificuldade transfusional destes 209 pacientes no ano de 2012. Tipagem ABO, RhD e gênero estavam disponíveis a todos os pacientes aloimunizados.

Teste sorológicos

O teste de antiglobulina indireto é realizado como rotina para as amostras de pacientes que necessitam de transfusão de hemocomponentes. Nas agências transfusionais as amostras de plasma heparinizado foram triadas para a presença de aloanticorpos contra antígenos eritrocitários através de hemácias-teste para técnica em tubo (Triacel I,II, Fresenius-Kabi, SP, Brasil). As amostras de pacientes atendidos diretamente pelo Hemepar Curitiba tiveram a pesquisa de anticorpos realizadas através de hemácias-teste para técnica de gel centrifugação (ID-DiaCell I-II, Bio-Rad, MG, Brasil). Amostras com qualquer grau de aglutinação em temperatura ambiente ou em fase antiglobulina humana (AGH) para a técnica em tubo ou em fase de AGH para a técnica em gel centrifugação foram consideradas positivas e enviadas ao

Laboratório de Imunohematologia e Dificuldade Transfusional do HemePar Curitiba para confirmação.

Amostras com suspeita de anticorpos frios foram testadas contra painel de hemácias para técnica em tubo (Fresenius-Kabi, SP, Brasil). Para a identificação de anticorpos quentes, as amostras foram testadas contra painel de hemácias para técnica em gel centrifugação (ID-DiaPanel, ID-DiaPanel P, Bio-Rad, MG, Brasil).

Pacientes foram considerados aloimunizados quando um ou mais anticorpos contra antígenos eritrocitários foram identificados. Os anticorpos pesquisados foram:

D, C, E, c, e, Cw, K, k, Kpa, Kpb, Jsa, Jsb, Fya, Fyb, Jka, Jkb, Lea, Leb, P1, M, N, S, s, Lua, Lub e Dia.

Estatística e análise

A frequência de cada aloanticorpo foi verificada na base de dados da população em estudo, assim como o sexo. Teste Z foi utilizado para determinar a diferença na distribuição de anticorpos por sexo. Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados significativos. A análise foi realizada com o programa planilha eletrônica Microsoft Excel, versão 2000, segundo Levine, Berenson e Stephan.

RESULTADOS

Dos 20.373 pacientes pesquisados, 209 (1,03%) apresentaram anticorpos irregulares, sendo 161 (77%) do sexo feminino e 48 (23%) do sexo masculino, com idade média de $47,2 \pm 21,7$ anos.

Vinte e um aloanticorpos diferentes foram encontrados. De maneira geral, os anticorpos mais encontrados foram anti-D (33,3%), anti-E (14,6%), anti-K (11,5%), anti-C (9,3%), anti-c (5,4%), anti-Di^a (5,0%) e anti-I (4,7%). Quando excluídas as gestantes (n=36), a frequência do anti-D caiu para 20,4%,

ainda sendo o anticorpo mais encontrado, seguido de 16,8% para anti-E, 13,2% para anti-K, 10,7% para anti-C, 6,2 para anti-c, 5,8% para anti-Di^a e 5,3% para anti-I e a prevalência de anticorpos irregulares caiu para 0,85%. Houve associação de anticorpos em 52 pacientes (24,9%), sendo as mais frequentes de anti-D + anti-C em 18 (8,6%), anti-E + anti-K em 6 (2,9%), além de anti-E + anti-c e/ou outro anticorpo em 7 indivíduos (3,4%)(Tabela 1).

Tabela 1: Total de aloanticorpos eritrocitários identificados em pacientes atendidos no HemePar Curitiba e suas agências transfusionais no ano de 2012

Sistema antigênico/ Coleção de grupo sanguíneo	Antígeno	Frequência do antígeno em Caucasianos ⁶	Anticorpos identificados			
			Amostra total		Amostra sem gestantes	
			n	%	n	%
Rh	D	0,85	93	33,3	57	23,5
	C	0,70	26	9,3	26	10,7
	c	0,80	15	5,4	15	6,2
	E	0,30	41	14,7	41	16,9
	e	0,98	1	0,4	1	0,4
	C ^w	0,01	1	0,4	1	0,4
Kell	K	0,09	32	11,5	32	13,2
	Kp ^a	0,02	3	1,1	3	1,2
Duffy	Fy ^a	0,65	3	1,1	3	1,2
Kidd	JK ^a	0,77	4	1,4	4	1,7
	JK ^b	0,73	5	1,8	5	2,1
Lewis	Le ^a	0,22	7	2,5	7	2,9
	Le ^b	0,72	2	0,7	2	0,8
	Le ^x	*	1	0,4	1	0,4
P	P1	0,79	2	0,7	2	0,8
Diego	Di ^a	0,001**	14	5,0	14	5,8
Lutheran	Lu ^a	0,08	2	0,7	2	0,8
MNSs	M	0,78	10	3,6	10	4,1
	S	0,57	1	0,4	1	0,4
I	I	1,00	13	4,7	13	5,3

	HI	1,00	3	1,1	3	1,2
Total			279		243	100

*raro em caucasianos, frequência antigênica de 0,03 em asiáticos.⁹

**frequência antigênica de 0,0001 para população em geral e 0,36 para índios americanos.⁹

Um total de 75,1% (157) da população estudada apresentou um único aloanticorpo, 19,1% (40) dois aloanticorpos, 4,8% (10) três aloanticorpos e 0,96% (2) apresentaram quatro aloanticorpos (Tabela 2).

Tabela 2: Número de anticorpos encontrados por paciente

Anticorpos (nº)	Pacientes (nº)	Porcentagem (%)
1	157	75,12
2	40	19,14
3	10	4,78
4	2	0,96

A frequência de desenvolvimento de aloanticorpos eritrocitários foi maior entre mulheres. Anti-D, anti-C e anti-I foram mais frequentes entre pacientes do sexo feminino com pesquisa de anticorpos irregulares positiva. Anti-D foi identificado no plasma de 87 (40,8%) das mulheres aloimunizadas comparadas com apenas 6 (9,1%) dos homens que formaram anti-D. Anti-C foi identificado no plasma de 20 (9,4%) mulheres aloimunizadas comparadas com 6 (9,1%) homens e anti-I estava presente em 11 (5,2%) mulheres comparadas com 2 (3,0%) homens aloimunizados (Tabela 3).

Tabela 3: Principais aloanticorpos eritrocitários identificados em pacientes atendidos no HemePar Curitiba e suas agências transfusionais no ano de 2012, divididos por sexo

Sistema antigênico	Anticorpo	Homens		Mulheres		p*	Mulheres (sem gestantes)		p**
		n	%	n	%		n	%	
Rh	Anti-D	6	9,1	87	40,8	0,000	51	32,2	0,000
	Anti-C	6	9,1	20	9,4	0,005	20	11,3	0,005
	Anti-c	5	7,6	10	4,7	0,195	10	5,6	0,195
	Anti-E	15	22,7	26	12,2	0,084	26	14,7	0,083

Kell	Anti-K	11	16,7	21	9,9	0,075	21	11,9	0,075
Kidd	Anti-Jk ^a	2	3,0	2	0,9	1,000	2	1,1	1,000
	Anti-Jk ^b	2	3,0	3	1,4	0,655	3	1,7	0,654
Lewis	Anti-Le ^a	1	1,5	6	2,8	0,057	6	3,4	0,057
Diego	Anti-Di ^a	4	6,1	10	4,7	0,107	10	5,6	0,107
MNSs	Anti-M	6	9,1	4	1,9	0,527	4	2,2	0,527
	Anti-I	2	3,0	11	5,2	0,012	11	6,2	0,011

*valores de p para comparação da prevalência de anticorpos entre os sexos na população total em estudo

**valores de p para comparação da prevalência de anticorpos entre os sexos excluindo as gestantes (n=36)

Os anticorpos frios, que reagem a temperatura ambiente, apesar de serem considerados clinicamente insignificantes, foram incluídos neste estudo por interferir nos testes pré-transfusionais e por vezes complicar e atrasar a transfusão.

Com relação aos grupos sanguíneos ABO, o grupo sanguíneo mais comum foi o A (45,8%), seguido de O (38,3%), B (9%) e AB (7%). Em relação ao Rh(D), 110 indivíduos eram Rh(D) positivo (54,7%) e 91 eram Rh(D) negativo (45,3%).

DISCUSSÃO

A prevalência de aloimunização nos pacientes atendidos pelo Hemepar Curitiba e suas agências transfusionais no ano de 2012 foi de 1,03% para a amostra total e 0,85% quando retirado o grupo de gestantes. Este dado é semelhante ao encontrado em alguns trabalhos^(11,8,18), superior a outros^(1,20) e muito inferior a outros.^(13,12)

Neste estudo, os anticorpos mais frequentes foram do sistema Rh (anti-D, anti-E, anti-C, anti-c), Kell (anti-K), semelhante ao encontrado na literatura^(12,18,13,21,1) e Diego (anti-Dia). O anticorpo mais encontrado foi o anti-D, também mais frequente em outros estudos.^(8,19,1)

Em relação ao sexo, as mulheres representaram 77% da população com pesquisa de anticorpo irregular positiva, semelhante ao encontrado em outros estudos^(8,20,21). Isso provavelmente se deve ao histórico de gestações. No sexo feminino o anti-D foi o aloanticorpo mais frequente (n=87, 40,8%), dado que pode ser atribuído à sensibilização por gestação ou pela utilização de imunoglobulina anti-D por volta da 28ª semana de gestação e/ou 72 horas após o parto. Mesmo após a retirada das gestantes (n=36) do grupo em estudo, o anti-D permaneceu como aloanticorpo mais frequente nas mulheres (n=51, 32,2%). A prática na rotina do HemePar Curitiba e suas agências transfusionais é a de liberação de concentrado de hemácias Rh(D) negativos para pacientes Rh (D) negativos. Nos casos de tipagem Rh(D) fraco, quando paciente do sexo feminino em idade gestacional ou criança, também é tratado como Rh (D) negativo. Desta forma, alto índice de anti-D entre os pacientes atendidos provavelmente se deva à sensibilização durante a gestação ou aloimunização ocorrida em outros serviços.

O segundo aloanticorpo mais frequente foi o anti-E (n=41, 14,7%), semelhante ao encontrado na literatura^(1,8). Já em outros estudos, o anti-E é o anticorpo mais frequente^(15,21).

Quando comparados em relação ao sexo, a prevalência de anti-D, anti-C e anti-I mostraram-se significativamente maiores entre as mulheres em relação aos homens (p=0,000; 0,005 e 0,011, respectivamente). A mesma relação foi observada nas amostras de não gestantes. Possivelmente devido à imunização pela gestação, onde se observa ocorrência maior de anticorpos contra o sistema Rh. O anti-I geralmente é da classe IgM e não possui significado clínico. Sua produção pode ser estimulada por microorganismos que contêm antígenos similares em sua superfície, como *Mycoplasma pneumoniae* ⁽⁵⁾.

Apesar de este estudo não ter classificado os pacientes de acordo com sua doença de base, a realização da fenotipagem eritrocitária estendida para pacientes em esquema de transfusão crônica (renais crônicos, talassêmicos, falciformes, entre outros) seguramente tem contribuído para diminuição dos índices de aloimunização, fato também verificado por outros serviços⁽⁶⁾.

A pesquisa de anticorpos irregulares após a transfusão não é realizada de forma rotineira. Nos casos em que aloanticorpos são identificados pela primeira vez no momento da solicitação de uma nova transfusão, ou ainda tornaram-se indetectáveis, existe o risco de atraso na liberação da transfusão ou até mesmo de uma reação transfusional hemolítica tardia. O uso de fenotipagem estendida em larga escala para doadores e receptores pode diminuir a ocorrência de dificuldades transfusionais nos hemocentros, porém ainda não é uma realidade. A realização de pesquisa de anticorpos irregulares a intervalos determinados após a transfusão, deve ser uma metodologia a ser adotada, assim que se torne economicamente viável.

CONCLUSÃO

Os resultados demonstram maior predominância de aloimunização em mulheres em relação aos homens. Anti-D, anti-E, anti-C e anti-K foram os anticorpos clinicamente significativos de maior prevalência na população em estudo. Anti-D e anti-C também foram significativamente de maior prevalência entre as mulheres. Os nossos resultados demonstraram que o nosso índice de aloimunização e a prevalência de anticorpos são semelhantes à vários estudos nacionais e internacionais. Também confirmou a importância da imunofenotipagem para os serviços de transfusão, o que segundo nosso entendimento deve ser ampliado cada vez mais, para diminuir o número de reações transfusionais e a formação de aloanticorpos.

REFERÊNCIAS

1. AMEEN, R. et al. Frequency of Red Blood Cell Alloantibody in Kuwaiti Population. **Med Princ Pract**.v.14,n.4, p.230-4, 2005.
2. BAUER,M.P. et al. Clinical predictors of alloimmunization after red blood cell transfusion.**Transfusion**. v. 47,n. 11,p.2066-71,2007.
3. FLUIT, R. et al. Incidence of red cell antibodies after multiple blood transfusion. **Transfusion**.v. 30,n. 6,532-35, 1990.
4. GIRELLO A.L.; KUN, T.I.B..**Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária** 2^a Ed. São Paulo: Senac,2007.
5. HARMENING, D.M. **Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão**.4^a Ed.Rio de janeiro: Revinter,2006.
6. ISSID, P.D., ANSTEE, D.J. **Applied blood group serology**. 4th ed. Durham, NC: Montgomery Scientific Publications, 1998.
7. LEVINE, D.M., BERENSON, M.L; STEPHAN, D. **Estatística: teoria e aplicações usando o Microsoft excel em português**.Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, Editora S.A. 2000 p. 437-440.
8. MARTINS, P.R.J. *et al.* Frequência de anticorpos irregulares em politransfundidos no Hemocentro regional de Uberaba-MG, de 1997 a 2005. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**.v. 30, n.4, p. 272-76, 2008.

9. REDMAN M. *et al.* Prospective study of the incidence of red cell allo-immunisation following transfusion. **Vox Sanguinis**.v.71, n.4,p. 216-20, 1996.
10. REID, E.M.;LOMAS-FRANCIS, C.**The blood group antigen facts book.** San Diego, Califórnia:Academic Press,1997.
11. SANTOS F.W.R. *et al.* Aloimunização pós-transfusão de hemácias em pacientes com doenças agudas e emergências médicas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**.v.29, n.4 ,p. 369-72,2007.
12. SCHONEVILLE, H.*et al.* Alloimmunization after blood transfusion im patients with hematologic and oncologic diseases.**Transfusion**.v.39, n.7, p.763-71,1999.
13. SCHONEVILLE, H. *et al.* Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease patients in Uganda.**Transfusion**.v.50, n.1 , p. 20-5, 2010.
14. SCHONEVILLE, H.*et al.* A.Prevalaence and specificities of red blood cell alloantibodies in transfused Ugandans with different diseases.**Vox Sanguinis**.v.98,n. 2, p.167-71,2010.
15. SCHONEVILLE,H. *et al.* Red blood cell alloantibodies after transfusion: factors influencing incidence and especificity. **Transfusion**.v.46, n. 2, p. 250-56,2006.
16. SEYFRIED, H. *et al.* Analisis of immune response to red blood cell antigens in multitransfused patients with different diseases. **Mater Med Pol.** v. 22, n.1, p. 21-5,1990.
17. STIEGLER, G.*et al.*Red cell antibodies in frequently transfused patients with myelodysplastic syndrome.**Ann Hematol** .v. 80,n. 6, p. 330-3,2001.
18. TORMEY, C.A. *et al.*Red blood cell alloantibody frequency,specificity,and properties in a population of male military veterans.**Transfusion**.v.48, n. 10,p. 2069-76,2008.
19. WALKER, R.H.*et al.* Alloimmunization following blood transfusion.**Arch Pathol Lab Med**.v.113, n. 3, p. 254-61,1989.
20. WANG, Q. *et al.*Frequency of RBC Alloantibodies in Chinese Surgical Patients.**Transfus Med Hemother**.v.39, n.12, p. 283-86, 2012.
21. WINTERS, J.L. *et al.* RBC alloantibody specificity and antigen potency in Olmsted County, Minnesota.**Transfusion**.v. 41, n. 11,p. 1413-20,2001.