



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**FREQUÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-A E
ANTI-B EM DOADORES DE SANGUE DO GRUPO
“O” DO HEMOCENTRO DE CRUZ ALTA - RS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aline Noal Borghetti

**Santa Maria, RS, Brasil
2012**

**FREQUÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-A E ANTI-B EM
DOADORES DE SANGUE DO GRUPO “O” DO
HEMOCENTRO DE CRUZ ALTA - RS**

Aline Noal Borghetti

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. José Edson Paz da Silva

Santa Maria, RS, Brasil

2012

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

A comissão examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**FREQUÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-A E ANTI-B
EM DOADORES DE SANGUE DO GRUPO “O” DO
HEMOCENTRO DE CRUZ ALTA - RS**

elaborada por
Aline Noal Borghetti

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:

**José Edson Paz da Silva, Dr.
(Presidente / Orientador)**

Sandra Trevisan Beck, Dra. (UFSM)

Adriana Dornelles Carpes, Dra. (UNIFRA)

Santa Maria, outubro, 2012.

Dedico este trabalho à minha família, em especial aos meus pais Helvio e Marilú que me ensinaram a arte de amar o conhecimento, e a minha filha Manoela e ao meu esposo Cristiano pelo amor, apoio e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e pelas oportunidades que tenho, por ser o meu porto seguro nos momentos de angústia e indecisão, por me ajudar a superar as dificuldades e seguir em frente.

Ao professor Dr. José Edson Paz da Silva, por acreditar na minha capacidade, pela oportunidade, orientação, sabedoria transmitida e pela dedicação ao Curso de Farmácia, a Pós-Graduação da UFSM e aos seus alunos. Muito obrigada!

À professora Dra. Sandra Trevisan Beck, pelo apoio fundamental e inicial deste sonho, pela qualificação do projeto, conhecimentos transmitidos, pelos anos dedicados à UFSM e aos seus alunos.

À professora Dra. Adriana Dornelles Carpes, por aceitar o convite para compor a banca examinadora desta dissertação.

À UFSM, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e aos demais professores (as), pela oportunidade de realizar este curso.

Aos meus pais Helvio e Marilú que sempre me estimularam nos estudos e educaram com amor, sabedoria, princípios éticos, dedicação e respeito. Obrigada por me apoiarem, rezarem por mim, incentivarem e darem força nas minhas escolhas, estando ao meu lado em todos os momentos.

Aos meus irmãos Andressa, Alessandra e Helvio Jr. que sempre torceram por mim, compartilhando não somente das minhas alegrias, como também das minhas angústias e decisões.

Ao meu esposo Cristiano, pelas palavras de incentivo e amor, por desejar a minha realização profissional, pelo companheirismo, apoio financeiro e moral, pela compreensão da minha ausência, cuidado e preocupação com as minhas inúmeras viagens à Cruz Alta e Santa Maria. Esta conquista é nossa.

À minha filha Manoela, pelo abraço apertado após cada reencontro, pelas palavras de saudade, amor, carinho e compreensão da minha ausência.

À minha sogra Marlene, pelas orações e sábias palavras de apoio, pelo conhecimento de vida que sempre me transmitiu.

Aos meus cunhados Andréia e Carlos Eduardo pela colaboração e auxílio prestado para a realização deste trabalho.

À tata Edite, pelo amor e dedicação com a minha filha e pela organização e funcionamento da minha casa, na minha ausência.

Às minhas amigas Magali, Cristiane, Leslie, Mara, Adriana pelo entusiasmo nas minhas conquistas, pelas palavras de incentivo, amizade e conselhos. Em especial à amiga e colega Michele, pelas dicas e sugestões, por estar sempre pronta a ajudar.

À minha colega farmacêutica Deborah Dietrich, pelas palavras de estímulo e pelas trocas de turno no trabalho em prol dos meus estudos.

À Carla Tatiana dos Santos Coelho, ex-diretora do Hemocentro de Cruz Alta e às farmacêuticas do Hemocentro, Danieli Sausen Lunkes e Daniela Trombeta Pires pela oportunidade da pesquisa, conhecimentos transmitidos, estando sempre dispostas a ajudar.

À equipe de técnicos e enfermeiros do Hemocentro de Cruz Alta, pelo apoio e auxílio na realização deste trabalho.

Aos doadores de sangue, pessoas voluntárias que aceitaram participar desta pesquisa, contribuindo com o conhecimento.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

FREQUÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-A E ANTI-B EM DOADORES DO GRUPO “O” DO HEMOCENTRO DE CRUZ ALTA - RS

Autora: Aline Noal Borghetti

Orientador: José Edson Paz da Silva

Data e Local de defesa: Santa Maria, 31 de outubro de 2012.

O uso de hemocomponentes do grupo sanguíneo “O” em transfusões não-isogrupo pode acarretar reações transfusionais, caso as aglutininas anti-A e anti-B presentes no soro/plasma do doador, apresentem títulos elevados com escore igual ou superior a 100. As reações transfusionais mais relatadas com anticorpos de altos títulos são ocasionadas por concentrado de plaquetas, devido à presença de plasma neste hemocomponente. Considerando a pequena quantidade de estudos sobre as hemolisinas anti-A e anti-B e a importância desses anticorpos na prática transfusional, o objetivo deste trabalho foi verificar a frequência dessas hemolisinas e a associação a gênero e fator Rh em 500 amostras de soros dos doadores tipo “O” cadastrados no Hemocentro de Cruz Alta, RS. Os resultados mostraram que a frequência dos doadores de sangue do grupo “O” considerados perigosos foi de 11,6% (58), e de não-perigosos 88,4% (442). Constatou-se uma predominância entre os perigosos, de 50% (29) reativos para hemolisina anti-A, 37,9% (22) anti-B e 12,1% (7) para aglutininas anti-A e anti-B. A amostragem dos doadores não foi homogênea quanto ao sexo e nem quanto ao tipo de fator sanguíneo, prevalecendo homens 65% (325), Rh positivo 80,4% (402). Não houve correlação entre a Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI) com a Pesquisa dos Anticorpos Regulares anti-A e anti-B. Também não existiu prevalência na associação entre as variáveis gênero, fator sanguíneo Rh e anticorpo anti-A e anti-B. Percebeu-se que o anticorpo anti-A apresenta título maior de reação em comparação com o anti-B pois, ambos reagem em 100% dos casos até 1/16 porém, anti-A diminui seu percentual de reação a partir de 1/128 enquanto que anti-B em 1/32. A faixa etária de prevalência de doadores perigosos para anti-A foi entre 33 a 46 anos, anti-B entre 16 a 25 anos e para ambos anticorpos entre 25 e 33 anos. Os resultados desta pesquisa podem servir para mensurar a prevalência destas hemolisinas e prevenir riscos de episódios transfusionais incompatíveis, visto que na prática transfusional ocorre maior disponibilidade de doadores do grupo “O” e estes ainda não são classificados como doadores “O” perigosos. Assim, na busca pela prática transfusional com excelência e, sobretudo, com eficácia, torna-se imprescindível a padronização da Pesquisa de Anticorpos Regulares.

Palavras-chaves: Hemolisinas; Doador “O” perigoso. Reação transfusional. Aglutininas.

ABSTRACT

Dissertation of Master's Degree
Graduation Program of Pharmaceutical Sciences
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

ANTI-A AND ANTI-B AGGLUTININS FREQUENCY IN BLOOD GROUP "O" DONORS FROM THE BLOOD CENTER OF CRUZ ALTA - RS

Author: Aline Noal Borghetti
Advisor: José Edson Paz da Silva
Place and Date: Santa Maria, October 31, 2012.

The use of hemocomponents from blood group "O" in transfusions among different blood groups may lead to transfusion reactions if the anti-A and anti-B agglutinins, present in the donor's serum / plasma, show high titers scores equal to or higher than 100. The transfusion reactions most reported with antibodies of high titers are caused by platelet concentrate, due to the presence of plasma in this hemocomponent. Considering the small number of studies on the anti-A and anti-B hemolysins and the importance of these antibodies in transfusion practice, the goal of this work was to verify the frequency of these hemolysins and their association to genre and Rh factor in 500 serum samples of type "O" registered donors at the Blood Center of Cruz Alta, RS. The results showed that the frequency of donor blood group "O" considered dangerous was 11.6% (58), and non-dangerous 88.4% (442). There was a predominance between the dangerous 50% (29) to reactive anti-A hemolysin , 37.9% (22) anti-B and 12.1% (7) for agglutinins anti-A and anti-B. Sampling of donors was not homogeneous regarding sex and not the type of blood factor, prevailing men 65% (325), Rh positive. There was no correlation between antibody screening Irregulars (PAI) with regular search antibody anti-A and anti-B. Also there was no association between the prevalence in the variables gender, blood Rh factor anti anti-A and anti-B. It was noticed that the anti-A shows reaction under great in comparison with the anti-B thus both react in 100% of cases to 1/16 however, the anti-A decreases its percentage from 1/128 whereas anti-B 1/32. The age prevalence of dangerous donors for anti-A was between 33 to 46 years, anti-B from 16 to 25 years and for both antibodies between 25 and 33 years. The results of this research can be used to measure the prevalence of these hemolysins and prevent risks of incompatible transfusion events, since in transfusion practice there is greater availability of group "O" donors and these are not classified as risk-donor "O" yet. Thus, in the search for excellence in transfusion practice and, above all, effectiveness, it is essential to standardize the Regular Antibodies Research.

Keywords: Hemolysins. Risk-donor "O". transfusion reaction. Agglutinins.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A.A.B.B.	American Association of Blood Banks/ Associação Americana de Bancos de Sangue
Ac	Anticorpo
Ac. Anti-HCV	Anticorpo contra vírus da Hepatite C
Ac. Anti T. Cruzi,	Anticorpo contra <i>Trypanosoma cruzi</i>
Ac. HTLV – I/II	Anticorpo contra vírus T - linfotrópicos humanos tipo I/II
AC. Anti-HBc Total/IgM,IgG	Anticorpo contra vírus da Hepatite B de fase aguda e de fase crônica
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
C.E.P	Comitê de Ética em Pesquisa
C.A.A.E	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CIVD	Coagulação intravascular disseminada
DHRN	Doença hemolítica do recém-nascido
EDTA	Ácido Etilenoaminotetraacético
HBsAg	Antígeno Austrália/ Antígeno da Hepatite B
Hm	Hemácia
Ig	Imunoglobulina
IRA	Insuficiência renal aguda
ISBT	International Society for Blood Transfusion/ Sociedade Internacional de Transfusão Sanguínea
Lues	Sífilis
Rh	Sistema Rh
rpm	Rotação por minuto
T.C.L.E.	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
µL	Microlitro
mL	Mililitro
PAI	Pesquisa de Anticorpos Irregulares
PC	Prova Cruzada ou Prova de compatibilidade
UFMS	Universidade Federal de Santa Maria

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	63
APÊNDICE B - Termo de Confidencialidade.....	65

LISTA DE QUADROS E GRÁFICOS

QUADRO 1 – Planilha modelo para os resultados da titulação do anticorpo-A e anticorpo-B e dados dos doadores	34
QUADRO 2 - Graduação e Interpretação de Intensidade de Aglutinação AABB	38
GRÁFICO 1 - Associação entre anticorpo anti-A, faixa etária, doador perigoso e não perigoso.....	44
GRÁFICO 2 - Associação entre anticorpo anti-B, faixa etária, doador perigoso e não perigoso.....	45
GRÁFICO 3 - Associação entre anticorpo anti-A e anti-B, faixa etária, doador perigoso e não perigoso	45
GRÁFICO 4 - Frequência dos títulos de anti-A e anti-B das 500 amostras tituladas com hemácias A1 e B.....	46

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Resumo de relatos de casos de hemólise devido transfusão de plaquetas contendo plasma incompatível.....	26
Figura 2 – Representação ilustrativa da titulação do anticorpo-A	36
Figura 3 – Representação ilustrativa da titulação do anticorpo-B	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados esperados na fenotipagem do Sistema ABO.....	22
Tabela 2 – Reações Transfusionais Agudas	24
Tabela 3 – Reações Transfusionais Tardias	24
Tabela 4 – Freqüência de doadores de sangue perigosos e não-perigosos do grupo sangüíneo "O" do Hemocentro de Cruz Alta-RS	41
Tabela 5 – Freqüência de hemolisinas anti-A e anti-B entre os doadores perigosos do Hemocentro de Cruz Alta – RS	42
Tabela 6 – Distribuição dos doadores de sangue do grupo "O" do Hemocentro de Cruz Alta-RS, quanto ao sexo, fator Rh e Pesquisa de Anticorpo Irregular (PAI)	42
Tabela 7 – Associação entre anti-A, gênero e fator Rh.....	43
Tabela 8 – Associação entre anti-B, gênero e fator Rh.....	43
Tabela 9 – Associação entre anti-A e anti-B, gênero e fator Rh.....	44
Tabela 10 – Média dos escores do anticorpo anti-A e o desvio padrão de cada titulação.....	47
Tabela 11 – Média dos escores do anticorpo anti-B e o desvio padrão de cada titulação.....	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3 OBJETIVOS	30
3.1 Objetivo geral	31
3.2 Objetivos específicos	31
4 MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 Amostras e dados	33
4.1.1 Critérios de exclusão	34
4.1.2 Critérios de classificação	34
4.2 Metodologia	35
4.3 Análise estatística	39
4.4 Aspectos éticos	39
5 RESULTADOS	40
5.1 Análise da presença de hemolisina anti-A e anti-B	41
5.2 Análise dos títulos das hemolisinas	46
6 DISCUSSÃO	48
7 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
APÊNDICES	62

A transfusão de sangue é parte essencial da moderna assistência à saúde, pois, se usada corretamente, pode salvar vidas e melhorar a saúde. Contudo, como em todas as terapias, na transfusão de sangue, podem ocorrer complicações agudas ou tardias, ocasionando riscos de sensibilizações futuras, que podem levar a reações hemolíticas intravasculares, lesão de órgãos, seguida de alterações imunológicas e bioquímicas e conseqüente morte do paciente (OLIVEIRA; COZAC 2003).

A hemoterapia, no mundo, passou por várias fases e teve dois períodos distintos: um empírico, que vai até 1900, e outro científico, de 1900 em diante (BORDIN; JUNIOR; COVAS, 2007). Esse período foi marcado por muitas mortes devido à falta de conhecimento científico, e dúvidas quanto à quantidade de sangue a ser coletado. Normalmente, doadores ficavam anêmicos na doação de sangue e os receptores com hipervolemia, após a transfusão. Os grupos sanguíneos não eram conhecidos e não havia provas de compatibilização (OLIVEIRA, 2003).

A fase científica iniciou em 1900, com a descoberta dos grupos sanguíneos, pelo médico pesquisador Karl Landesteiner, após observar reação de aglutinação ao misturar soro com hemácias de diferentes indivíduos. Com base nos padrões de aglutinação, denominou os antígenos encontrados, utilizando as duas primeiras letras do alfabeto “A” e “B”. Hemácias que não fossem aglutinadas por ambos os soros como “C” eram usualmente chamados “não-A, não-B” e, posteriormente, referidas como “O” (BORDIN; JUNIOR; COVAS, 2007). Landesteiner observou somente dois antígenos (aglutinogênios), A e B, e dois anticorpos (aglutininas) anti-A e anti-B. O quarto e mais raro grupo, AB, que apresenta ambos os antígenos na hemácia, e no soro não apresenta nenhum anticorpo, foi descrito um ano mais tarde por Decastello e Sturli (WATKINS, 2001).

Com a descrição do Sistema Rh, em 1939, por Levine e Stetson, e do Soro de Coombs, em 1945, por Coombs, Mourant e Race, novos avanços ocorreram no conhecimento de grupos sanguíneos (VERRASTRO; LORENZI; NETO, 2005).

O termo “grupo sanguíneo” não se refere somente ao sistema de antígenos dos eritrócitos, mas também à diversidade imunológica, expressa por outros constituintes sanguíneos (DAVEY; HENRY, 1999). Os antígenos ABO não estão restritos apenas à membrana dos eritrócitos, podendo ser encontrados também em uma grande variedade de células como linfócitos, plaquetas, endotélio capilar venular e arterial, células sinusoidais do baço, medula óssea, mucosa gástrica, além

de secreções e outros fluídos como saliva, urina e leite (SCHENKEL-BRUNNER, 1982). Este termo foi inicialmente utilizado na classificação ABO para indicar o conjunto de antígenos com características sorológicas similares. Com o desenvolvimento da imunohematologia, novos antígenos foram descobertos e agrupados em sistemas, coleções e séries (BRASIL, 2001).

Assim, além dos Sistemas de grupos sanguíneos ABO e Rh, são conhecidos e descritos atualmente, mais de 30 sistemas de grupos sanguíneos, de acordo com a ISBT (International Society for Blood Transfusion): Sistemas Kell, MNS, Kidd, Duffy, Lutheram, Lewis e Diego, entre outros (DANIELS; FLETCHER; GARRATTY; HENRY; JØRGENSEN; JUDD, 2004).

Os sistemas de grupos sanguíneos caracterizam-se pela expressão de antígenos protéicos e carboidratos na membrana eritrocitária, os quais são identificados por anti-soros específicos (BONINI-DOMINGOS et al., 2003). Os antígenos de grupos sanguíneos são resultantes de variabilidades genéticas que ocorrem nos componentes da membrana celular, que podem ser proteínas, glicoproteínas ou glicolipídios. Os anticorpos eritrocitários são imunoglobulinas (Ig), produzidas pelos plasmócitos, após ativação do sistema imune, em resposta aos antígenos eritrocitários. Estes aloanticorpos que reconhecem os antígenos de grupos sanguíneos são de ocorrência natural ou devido à aloimunização, que é a uma resposta imune, provocada pela exposição a antígenos não próprios, em decorrência de transfusão de hemocomponente incompatíveis ou gravidez (MELO; SANTOS, 1996).

A classificação, em diferentes grupos de sangue, permitiu estabelecer as compatibilidades e incompatibilidades entre os indivíduos, estruturando-se a base para a utilização do sangue como agente terapêutico (VERRASTRO; LORENZI; NETO, 2005).

Contudo, o Sistema ABO descoberto no ano de 1900, permanece até hoje como sendo o sistema mais importante dentro da prática transfusional. Por serem produtos genéticos facilmente detectáveis, os antígenos deste sistema constituem excelentes marcadores genéticos (HERMÁNDEZ et al., 1997).

Os anticorpos no sistema sanguíneo ABO podem ser classificados de acordo com o estímulo: naturais, imunes, regulares e irregulares. Os anticorpos de ocorrência natural começam a aparecer no soro cerca de três a seis meses após o nascimento, e sua produção máxima se dá entre cinco a dez anos, sendo que, após

os 65 anos o título desses anticorpos diminui (GIRELLO; KÜHN, 2002). O surgimento aparentemente natural desses anticorpos pode ser explicado por estímulos passivos, particularmente da flora bacteriana intestinal, onde as bactérias saprófitas possuem em suas membranas celulares, açúcares semelhantes aos açúcares imunodominantes dos antígenos A e B. Essas bactérias, assim como outras substâncias presentes na natureza (poeira, pólen, alimentos, etc.), vão estimular a formação dos anticorpos anti-A em indivíduos que portam antígeno B e/ou anti-B em indivíduos que portam antígeno A em suas hemácias, sendo classificados, portanto, como naturais e regulares, pois sua ocorrência é esperada. Esses anticorpos naturais representam uma mistura com maior quantidade de imunoglobulinas da classe M (IgM) do que imunoglobulinas da classe G (IgG), reagem melhor entre 4°C e 22 °C, não atravessam a barreira placentária e são hábeis em ativar o sistema complemento (GIRELLO; KUHN, 2002; GIRELLO; KUHN, 2007).

Dependendo da tipagem sangüínea de um indivíduo, a IgM anti-A e/ou o anti-B presentes no soro podem constituir uma barreira para as transfusões de sangue e para o transplante de órgãos ABO incompatíveis (OLSSON et al.,2001).

Os anticorpos irregulares (Sistemas Kell, MNS, Lewis, Duffy, Kidd e outros) se desenvolvem em decorrência de gestações ou transfusões incompatíveis, não sendo encontrados normalmente na circulação sanguínea, ou seja, sua ocorrência não é esperada (BAPTISTA-GONZÁLEZ et al., 1991).

Os anticorpos ABO imunes são evocados por aloimunizações prévias, que podem ocorrer por duas vias: a primeira através de heteroimunização por substâncias de origem animal ou bacteriana, como na soroterapia antidiftérica ou antitetânica, e a segunda por aloimunização por gestação ou transfusão ABO incompatível. Esses anticorpos são usualmente referidos como hemolisinas e/ou aglutininas (MELO; SANTOS, 1996).

Na isoimunização ou aloimunização materna, existe a exposição destes antígenos estranhos e como resposta ocorre a formação de anticorpos. Este contato com o sangue fetal pode ser devido a uma transfusão feto-materna fisiológica durante a gestação. A isoimunização se eleva com o avanço da idade gestacional, devido ao aumento da área de superfície placentária, com maior risco de transporte de eritrócitos fetais para a circulação materna. A freqüência de transfusão é de 7%,

16% e 29%, respectivamente no primeiro, segundo e terceiro trimestre de gestação (GOLLIN; COPEL, 1995).

A incompatibilidade ABO materno-fetal é descrita como de ocorrência quase exclusiva nos casos onde a mãe é do grupo sanguíneo "O" e o recém-nascido, "A" ou "B". Este fenômeno curioso é atribuído a produção de anticorpos anti-A e anti-B nestas mães do grupo sanguíneo "O", cujas classes de imunoglobulina são IgG com passagem transplacentária. As outras mães, de grupo sanguíneo A ou B, produzem anticorpos anti-B e anti-A, respectivamente, da classe IgM, sem passagem à barreira placentária (ZIPURSKY; BOWMAN, 1993).

A maioria das hemolisinas é da classe IgG, sendo ativas a 37°C. Têm capacidade de ativar o sistema complemento e atravessar a placenta, portanto, podem causar a doença hemolítica do recém-nascido (DHRN). Muito embora, esses casos sejam menos graves que incompatibilidade por Rh, pois, no caso ABO geralmente os sintomas e a evolução são menos acentuados (GIRELLO; KUHN, 2002; GIRELLO; KUHN, 2007).

Devido à presença regular dos anticorpos naturais hemolíticos no sistema ABO, é regra básica não transfundir hemácias portadoras de antígenos que possam ser reconhecidos pelos anticorpos do receptor. Assim, deve-se realizar, sempre que possível transfusão de isogrupo (doador e receptor de mesmo grupo sanguíneo). Quando esta condição não for possível, deve-se realizar transfusão entre heterogrupos respeitando o esquema clássico de compatibilidade: não transfundir hemácias portadoras de antígenos que possam ser reconhecidos pelos anticorpos do receptor (POPOVSKY, 2001).

Os anticorpos ABO ou aglutininas podem ser das classes IgM e IgG e 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 e IgA. Diferentemente dos indivíduos do grupo sanguíneo "O", cuja classe dominante é IgG e mais eventualmente, IgM e IgA (GIRELLO; KUHN, 2002; GIRELLO; KUHN, 2007). Também, indivíduos do grupo "O" possuem títulos elevados de anticorpos anti-A e anti-B no soro/plasma, quando comparados a indivíduos do tipo sanguíneo A e B (RAVEL, 1997). 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 doação de

hemocomponentes para outro indivíduo não isogrupo, pode ocasionar reações transfusionais sérias. Principalmente, se o doador apresentar títulos elevados de aglutininas (superior 1/100), considerando indivíduo “perigoso” para transfusões em receptores de outros grupos sanguíneos (FERNANDES et al., 2008).

Na prática transfusional, por vezes é necessária a transfusão de concentrado de plaquetas de grupo sanguíneo “O” para receptores não-O, especialmente no suporte transfusional em emergências e urgências, bem como nas situações em que há limitação nos estoques de hemocomponentes. Tanto pelo fato da vida útil do concentrado de plaqueta ser limitada a cinco dias, como pela frequência e disponibilidade dos doadores do grupo “O” na população em geral ser maior que as dos outros grupos sanguíneos (RAVEL, 1997). Incrementa-se a isto, o fato da dose indicada na transfusão plasmática terapêutica ser de 1 (uma) unidade para cada 5 a 10 kg de peso do receptor, fato que ocasiona a utilização de muitas unidades e de diferentes doadores (SLICHTER et al., 2005; CASTRO, 2007; BRASIL, 2004; HOD; SCHWARTZ, 2008).

A transfusão de hemocomponentes com incompatibilidade ABO menor (plasma do doador versus hemácias do receptor) é geralmente considerada de baixo risco para reação hemolítica. Porém, nas últimas décadas, o uso crescente de transfusão de plaquetas trouxe novamente a preocupação com a concentração de anti-A e Anti-B nesses hemocomponentes (GAMBERO et al., 2004). Embora as transfusões com pequenas quantidades de plasma incompatível sejam geralmente consideradas uma prática segura, alguns casos de reações hemolíticas por plasma incompatível são descritos na literatura (OLIVEIRA; COZAC, 2003). Ainda que a transfusão realizada seja de concentrado de hemácias, sempre haverá certa quantidade de plasma presente neste hemocomponente (HARMENIMG, 1992).

Independente do hemocomponente em uso, toda a transfusão traz em si um risco, seja imediato ou tardio, devendo, portanto ser criteriosamente indicada (BRASIL, 2004). Por isso, é de fundamental importância clínica, a detecção da incompatibilidade ABO na rotina pré-transfusional (GIRELLO; KUHN, 2002; GIRELLO; KUHN, 2007). Diante disso, algumas pesquisas sobre titulação de anti-A e anti-B foram realizadas com o intuito de detectar os doadores de grupo “O” elevadas concentrações plasmáticas desses anticorpos, também chamados doadores “O” perigosos (LEVINE; MABEE, 1923; GAMBERO et al., 2004).

A maior parte das transfusões resulta em reposição temporária, efetiva e segura de hemocomponentes. Como outras intervenções médicas, entretanto, as transfusões são associadas a certos riscos, e somente quando os benefícios esperados sobrepõem os riscos potenciais, a transfusão deve ser indicada. Assim, a administração do sangue com fins terapêuticos só pode ser realizada quando o médico do paciente solicitar o procedimento, responsabilizando-se pelo ato (BRASIL, 2011).

Nas últimas décadas, a hemoterapia brasileira sofreu extraordinárias transformações na qualidade e quantidade de suas atividades. O impacto representado pela epidemia de AIDS transfusional, que ocorreu na década de 1980, contribuiu, de certa forma, para estas transformações, à medida que recursos materiais e humanos foram disponibilizados, no curso de poucos anos, para garantir a segurança transfusional (BORDIN; JUNIOR; COVAS, 2007).

Hoje, a terapia de componentes de sangue apropriados proporciona tratamento mais efetivo e o uso mais completo dos derivados do sangue. Pode-se selecionar o componente específico para as necessidades particulares do paciente, pois uma unidade de sangue pode ser fracionada em: concentrado de hemácias, plaquetas e outros fatores de coagulação como o fator anti-hemofílico crioprecipitado e plasma (HARMENIN, 1992). Além disso, a imunohematologia dispõe de testes laboratoriais capazes de oferecer maior segurança na transfusão, através da fenotipagem, e ainda, quando necessário, aconselhamento genético aos familiares de pacientes e doadores (BRASIL, 2001).

Durante a preparação dos componentes sanguíneos nos Hemocentros, as bolsas de sangue total coletadas, são processadas para a obtenção de um ou mais dos seguintes componentes: eritrocitários, plasmáticos e plaquetários. São os eritrócitos que permanecem na bolsa, depois que esta é centrifugada, e o plasma extraído para uma bolsa-satélite. Os eritrócitos podem ser separados do plasma em qualquer momento antes da data de expiração do sangue. Esses componentes também podem ser coletados por aférese. A esterilidade do componente deve ser mantida durante o processamento mediante o emprego de métodos assépticos, equipos e soluções estéreis, livres de pirógenos (HARMENING, 1992). A transferência de componente de uma bolsa-satélite para a outra deve ser realizada em circuito fechado e as manipulações dos hemocomponentes que exijam a abertura do circuito devem ser feitas sob fluxo laminar. Se o circuito for aberto

durante o processamento e não for utilizado em 24 horas, os componentes devem ser descartados. Desta forma, fica garantida a esterilidade das unidades doadoras e possíveis reações provenientes da contaminação durante a produção de hemocomponentes (BRASIL, 2004).

Os testes de compatibilidade sanguínea pré-transfusionais são importantes para reduzir os riscos imunológicos inerentes às transfusões. São realizados nas amostras de sangue do receptor e doador e incluem as classificações ABO e RhD. O Sistema ABO é o único em que a fenotipagem consiste, além da Prova Direta, que pesquisa o antígeno na superfície da hemácia; a Prova Reversa, que pesquisa a ausência ou presença dos anticorpos anti-A e anti-B no soro/plasma do paciente. Essa particularidade refere-se ao fato de que, necessariamente, deve haver aglutinina quando da ausência do correspondente antígeno. Ambas as provas são obrigatórias e devem ser concordantes para interpretações do fenótipo. A tabela 1 mostra os resultados esperados na fenotipagem ABO (BORDIN; JUNIOR; COVAS, 2007).

Tabela 1- Resultados esperados na fenotipagem ABO.

PROVA DIRETA			PROVA RESERSA		FENÓTIPO ABO
ANTI-A	ANTI-B	ANTI-AB	Hm A1	Hm B	
0	0	0	+	+	O
+	0	+	0	+	A
0	+	+	+	0	B
+	+	+	0	0	AB

Fonte: BORDIN; JUNIOR; COVAS, 2007.

Além da fenotipagem do grupo sanguíneo do doador e receptor, fazem parte dos testes de compatibilidade sanguínea pré-transfusionais: a exclusão do D fraco em doadores e receptores RhD negativos, a Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI) empregando-se métodos que evidenciem anticorpos clinicamente significativos e o Teste de Compatibilidade também chamado de Prova Cruzada (PC). Este é realizado entre as hemácias do doador e o soro do receptor e é definido como o

procedimento para excluir a incompatibilidade entre eles ou reduzir a possibilidade de reação transfusional (BORDIN; JUNIOR; COVAS, 2007).

Porém, mesmo depois de realizada a PAI e a PC, testes até então padronizados pela ANVISA, pois são regulamentados por norma federal, com determinação de realização obrigatória (BRASIL, 2010); ainda é possível ocorrer reação, embora um tipo sanguíneo compatível seja usado na transfusão (MARTINS et al, 2008).

As causas das reações transfusionais são múltiplas e podem ser classificadas em agudas ou tardias, imunológicas e não imunológicas. A tabela 2 e 3 mostram as reações agudas e tardias, imunológicas e não imunológicas (OLIVEIRA; COZAC, 2003).

A Reação Hemolítica Aguda é conseqüente à transfusão de concentrado de hemácias ABO, incompatível, na maioria dos casos. É temida na prática transfusional devido a sua gravidade e alto índice de mortalidade. Ocorre, principalmente, devido a erros de identificação de amostras de pacientes (JENNER; HOLLAND, 1996). Os anticorpos de ocorrência natural anti-A, Anti-B e Anti-A,B do paciente reagem com as hemácias A, B ou AB do doador, causando hemólise intravascular das hemácias transfundidas, e parte das hemácias do próprio paciente. O quadro é composto por dor no tórax, no local de infusão, abdômen e/ou flancos, hipotensão grave, febre e hemoglobinúria. Pode evoluir para insuficiência renal aguda (IRA) devido a três fatores: vasoconstrição por liberação de catecolaminas, hipotensão sistêmica e formação de trombos intravasculares (POPOVSKY, 2001).

A coagulação intravascular disseminada (CIVD) é uma complicação comum devido à circulação de estroma celular (hemólise), promovendo a ativação do Fator XII da coagulação. É importante ressaltar que as manifestações da CIVD podem ser o único indício de reação hemolítica aguda, nos pacientes anestesiados. Sempre que houver suspeita de reação hemolítica aguda, a transfusão deverá ser imediatamente suspensa, realizada a checagem da identificação da bolsa e do paciente (nome do paciente, registro, ABO do paciente, identificação da bolsa, ABO da bolsa) para evidenciar provável troca de amostra/paciente (OLIVEIRA; COZAC, 2003).

Tabela 2: Reações agudas imunológicas e não-imunológicas.

Tipos de Reação	Causa Principal
Imunológicas	
Hemolítica	Incompatibilidade ABO
Anafilática	Anticorpo do paciente contra IgA do plasma do doador
Febril não hemolítica	Anticorpo do paciente contra antígeno leucocitário do doador
Urticariforme	Anticorpo do paciente contra proteínas plasmáticas do doador
TRALI	Anticorpo do doador contra leucócitos do paciente
Não imunológicas	
Sobrecarga de volume	Volume excessivo em pacientes com ICC
Contaminação bacteriana	Contaminação do Hemocomponente por bactérias
Embolia gasosa	Infusão endovenosa de ar
Hipotermia	Infusão rápida de hemocomponente frio
Hipercalemia	Infusão rápida de várias unidades de sangue estocado
Hipocalcemia	Transfusão maciça de sangue citratado

Adaptado a partir de Oliveira, Cozac, 2003.

Tabela 3: Reações tardias imunológicas e não-imunológicas.

Tipos de Reação	Causa Principal
Imunológicas	
Hemolítica tardia	Resposta amnésica ao antígeno eritrocitário transfundido
DEVH-PT	Linfócitos funcionais no hemocomponente transfundido
Púrpura pós-transfusional	Desenvolvimento de anticorpo antiplaquetário (anti-HPA-1a)
Não imunológicas	
Sobrecarga de ferro	Múltiplas transfusões
Doenças infecciosas	Hepatites (principalmente B e C) Infecções por HIV Infecções por Citomegalovírus Malária Infecções pelo HTLV/II, Bruceloso, Babesiose, Doença de Chagas, Parvovirose e Sífilis

Adaptado a partir de Oliveira, Cozac, 2003.

A primeira descrição sobre o efeito hemolítico da transfusão de plasma de grupo "O" em receptores de grupo sanguíneo não-O positivo foi feita por Ebert e Emerson em 1946, estudando 265 combatentes da Segunda Grande Guerra. Os autores descreveram que 1,1% dos doadores de sangue daquele estudo apresentaram altos títulos de isoglutininas (consideraram elevados títulos de anti-A, anti-B > 1/500). Em 1950, Ervin & Young relataram que puderam detectar anti-A com capacidade para hemolisar hemácias de grupo A em 12 % dos doadores; e posteriormente, Crawford et al. (1952) concluíram que a titulação *in vitro* de hemolisinas anti-A seria um bom indicador para prever a sua capacidade de destruir hemácias de grupo A *in vivo*. O termo hemolisina é usado quanto à capacidade de um agente ou anticorpo de causar hemólise pela ativação da cascata do complemento. Anticorpos Anti-A e anti-B tanto da classe IgG como IgM podem causar hemólise. Dentre os fatores conhecidos que podem afetar a hemólise *in vitro*, ressalta-se o tempo de armazenamento do sangue (hemácias armazenadas são mais facilmente hemolisadas do que hemácias recentemente coletadas) e o tempo de coleta do soro a ser testado, pois, a atividade hemolítica diminui progressivamente após a coleta do sangue (NOVARETTI, 2008).

Em 1978, Inwood e Zuliani descreveram uma reação hemolítica em um paciente do grupo A que recebeu uma única transfusão de concentrado de hemácias contendo resíduos de plasma com elevado título anti-A. Já em 1982, McLeod e colaboradores também relataram uma transfusão de concentrado de plaquetas com pequenas quantidades de plasma incompatível, seguido de reação hemolítica.

A utilização de plaquetas ABO compatíveis com o receptor é aconselhável, porém não é obrigatória, podendo haver uso de plaquetas não idênticas e assim não sendo necessária a realização dos testes de compatibilidade pré-transfusionais. (FONTÃO-WENDEL; SILVA; SAVIOLO; PRIMAVERA; WENDEL, 2007).

Vários casos de reações hemolíticas por transfusão de hemocomponentes provenientes de doadores de grupo "O" são encontrados na literatura americana, principalmente envolvendo doadores de plaquetas do grupo "O" e receptores de grupos "A" (COOLING et al., 2008).

Em recente publicação, Fung et al, 2007 revisou casos de hemólise por transfusão de plaquetas contendo plasma incompatível ocorridas nos EUA no período de 1975 a 2005. A Figura 1 mostra o resumo destes casos de hemólise.

Figura 1: Resumo de relatos de casos de hemólise devido a transfusões de plaquetas contendo plasma incompatível, nos EUA.

Source, y	Recipient Group	Donor Group	Component Transfused	Reaction	Anti-A or Anti-B Titer	Age of Recipient
Lundberg and McGinniss, ³³ 1975	A ₂ B	O	Pooled platelets (4 donors); received 60–80 mL intraoperatively	Severe hemolysis with Hgb loss of 1 g/dL per d from postoperative day 2–6	64 and 128 anti-A from 2 donors†	40 y
Zoes et al, ³⁴ 1977	A _{rh} B	O	10 U of platelet concentrates	No reaction until patient received 20 mL of A ₁ B RBC transfusion; developed chills, fever, and hemoglobinemia	256 anti-A 64 anti-B (pool of all donations)‡	44 y
McLeod et al, ³⁵ 1982	A	O	2 platelet concentrates with high antibody titers	Significant hemolysis; Hgb drop from 14 to 8 g/dL	10 240 (IAT) for both donors Hemolysin titers of 32 and 64	45 y
Siber et al, ³⁶ 1982	A	O	4 platelet units from same donor; received 199 mL	Acute hemolysis with hemoglobinemia, hemoglobinuria, and shaking chill; hematocrit drop from 0.22 to 0.16	8192 (IAT) Strong hemolysis on routine reverse typing with A ₁ cells	20 y
Conway and Scott, ³⁷ 1984	A	O	Apheresis platelets; received 200 mL	Severe hemolysis with DIC and renal failure	8192 (saline) 4096 (DTT treated)§	15 y
Pierce et al, ³⁸ 1985	A	O	Apheresis platelets	Severe hemolysis with DIC and death; Hgb dropped from 11.5 to 5.7 g/dL	Weak positive at 50 (saline) 512 (saline at 37°C) 32 000 (IAT) Hemolysin positive at titer of 1:4	2.5 y
Pierce et al, ³⁸ 1985	B	O	1 platelet concentrate with high antibody titer	No acute reaction; Hgb dropped from 14.3 to 8.2 g/dL in 7 d	512 (saline at RT) 2048 (saline at 37°C) 16 384 (IAT)	58 y
Ferguson, ³⁹ 1988	A	O	1 platelet concentrate with high antibody titer	Acute hemolysis with hemoglobinemia, hemoglobinuria, and back pain; Hgb dropped 2.6 g/dL in 5 h	256 (saline at RT) >4000 (IAT)	66 y
Reis and Coovadia, ⁴⁰ 1989	B	O	Apheresis platelets	Severe hemolysis; drop in Hgb from 11.3 to 5.2 g/dL	Anti-B 4096 (IAT)	56 y
Murphy et al, ⁴¹ 1990	A	O	2 HLA-matched apheresis platelets from same donor (255 mL transfused first and then 448 mL 25 d later)	No acute reaction with first transfusion; with second transfusion: severe hemolysis, drop in Hgb from 11.4 to 6.0 g/dL, and acute renal failure; effects attributed to greater plasma volume	First donation: 512 (saline), 2048 (IAT) Second donation: 256 (saline), 1024 (IAT) Hemolysin positive at titer of 1:4	30 y
Chow et al, ⁴² 1991	AB	O	Apheresis and pooled platelets; 1.2 L of plasma	Progressive hemolysis, Hgb declined approximately 5 g/dL	1024 (saline) for both anti-A and anti-B in patient	18 y
Mair and Benson, ⁴³ 1998	A	O	Apheresis platelets	Severe hemolysis, drop in Hgb from 8.4 to 5.8 g/dL in 24 h	128 (saline)	28 y
SHOT Steering Group, ⁴³ 2000	A	O	Apheresis platelets	Intravascular hemolysis and positive DAT result	High-titer hemolysin excluded (saline at 37°C) but 20 000 (IAT)	36 y
Duguid et al, ⁴⁴ 1999	A	O	2 platelet concentrates	No acute reaction; infant undergoing cardiac surgery; drop in Hgb from 13.6 to 9.1 g/dL at 48 h	Not reported	5 wk
McManigal and Sims, ⁴⁵ 1999	AB	O	Apheresis platelets	Chills, dyspnea, flank pain with hemoglobinuria	Not tested	72 y
Larsson et al, ⁴⁶ 2000	A	O	Apheresis platelets	Back pain, hemoglobinuria, hemoglobinemia	16 384 (saline)	44 y
Valbonesi et al, ⁴⁶ 2000	A	O	Split apheresis platelet unit to 2 patients	First patient: Hypotension and shock requiring red cell exchange with O RBCs	>8000 with hemolysis at RT; 128 at 37°C (methods not described)	51 y
	A			Second patient: Hypotension and hemolysis requiring 2 RBC exchanges and renal dialysis; patient subsequently died		16 y

Continued						
Source, y	Recipient Group	Donor Group	Component Transfused	Reaction	Anti-A or Anti-B Titer	Age of Recipient
SHOT Steering Group, ⁴⁷ 2002	A	O	Pooled platelets	3 cases that led to either a hemolytic transfusion reaction or subsequent cross-matching problems	High-titer antibody excluded in 1 case and not tested in the other 2 cases	Not stated
	A	O	Pooled platelets			
	A	O	Apheresis platelets			
SHOT Steering Group, ⁴⁸ 2004	A	O	Apheresis platelets	Significant hemolysis (elevated bilirubin, falling Hgb, decreased renal function)	>1024 (saline) >8192 (IAT)	31 y
Josephson et al, ¹¹ 2004	A	O	Apheresis platelets	Both patients had hemoglobinemia and hemoglobinuria, rigors and back pain	256 (IgM) 8192 (IgG)	Not stated
	A	O	Apheresis platelets			
Fauzie et al, ²⁶ 2004	A	O	Apheresis platelets	Severe back pain and fall in Hgb	1024 (IgG) 32 (saline) 32 (IAT)	Not stated
	A	O	Apheresis platelets			
	A	O	Apheresis platelets			
Sapatnekar et al, ⁴⁹ 2005	A	O	Apheresis platelets; received 145 mL	Shock and marked intravascular hemolysis with drop in Hgb of at least 4 g/dL	2048 (saline) 16 384 (IAT)	2 y
Reinhardt et al, ²⁰ 2005	A	O	Apheresis platelets	Severe hemolysis	512 (saline)	Not stated
Novotny and Brand, ⁵¹ 2005	AB	O	Apheresis platelets	Severe hemolytic reaction	Not reported	Child
MacLennan, ⁵² 2005	A	O	7 aliquots of platelets	Free plasma Hgb of 316 g/L within 24 h of platelet transfusion	<20	3 mo

* Saline agglutination titers at room temperature unless otherwise indicated. Hgb indicates hemoglobin; RBC, red blood cell; IAT, indirect antiglobulin testing; DIC, disseminated intravascular coagulation; DTT, dithiothreitol; RT, room temperature; SHOT, Serious Hazards of Transfusion; and Ig, immunoglobulin.

† Antibody titer unknown for other 2 donors. Titer method not reported. Anti-B titer not reported. Stimulation of endogenous production of anti-A₁ could not be excluded from earlier A₁B or A₁ RBC transfusions (patient was A₂B).

‡ Anti-A and anti-B titer determined by IAT method after neutralization of saline reactive anti-A and anti-B with neutralizing A,B substance.

§ Presumed to be IAT with dithiothreitol-treated serum.

Fonte: Fung et al, 2007.

Em 1999, Duguid et al., relataram casos de crianças inglesas que receberam plasma fresco e/ou plaquetas do grupo sanguíneo “O”, e mostraram evidências clínicas e laboratoriais de reações hemolíticas após transfusão. Há 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 (BARJAS-CASTRO; LOCATELLI; CARVALHO; GILLI; CASTRO, 2003).

Abordando a importância de aplicar políticas de proteção e segurança transfusional, pode-se citar um importante estudo realizado no Departamento de Patologia e Laboratório de Medicina da Universidade de Emory em Atlanta, estado da Geórgia nos Estados Unidos, em 2004. A pesquisa revelou um número significativo de plaquetas derivadas de pacientes com grupo “O” com altos títulos de anti-A, após observar dois casos de hemólise aguda seguida de morte nestes tipos

de transfusões. Foram testadas 100 amostras de bolsas de plaquetas obtidas por aférese de doador único do grupo "O". Os títulos revelaram-se altos e críticos para anticorpo anti-A: IgM (28%) e IgG (39%). O risco de incompatibilidade ABO seguida de hemólise intravascular durante a transfusão de plaquetas do grupo "O" para pacientes do grupo "A" é alto. Com base nestes dados, o serviço instituiu uma política que determina os títulos de anti-A e anti-B antes das transfusões (JOSEPHSON; MULLIS; VAN DEMARK; HILLYER, 2004).

O Colégio Americano de Medicina Transfusional fez uma pesquisa, em 2007, envolvendo 3.156 laboratórios, que faziam transfusão sanguínea nos EUA. Questionou os participantes, se existia uma política para o uso racional de plaquetas contendo plasma ABO-incompatível e que elementos faziam parte desta política. Dos entrevistados, 2.623 tinham uma política, destes apenas 53 laboratórios faziam triagem para titulação de anti-A ou anti-B. Os 529 laboratórios restantes indicaram que não tinham nenhuma política. No estudo, a maioria dos laboratórios tinha uma política, mas a maioria não incluía um método para limitar o risco de hemólise, caso as plaquetas contendo plasma ABO-incompatível fossem transfundidas. Também, não havia consenso entre os laboratórios do país, de um método específico para minimizar a transfusão de anti-A ou anti-B (FUNG et al., 2007).

Atualmente, a maneira de melhorar a segurança de plaquetas do grupo "O" tem-se centrado na definição de um nível seguro de anticorpos, reduzindo o volume de plasma incompatível. Como mostra o estudo de Romphruk e colaboradores em 2002, a preparação de plaquetas de doador único, com baixos níveis de anticorpos para todos os pacientes representa uma das maneiras de se evitar hemólise intravascular.

No Brasil, devido à falta de pesquisas em nossa população, a frequência de doadores de grupo "O" perigoso não foi estabelecida, até porque não existe a exigência da ANVISA. A Portaria nº 1.353, de 13 de junho de 2011, do Ministério da Saúde, que aprova o Regulamento Técnico para os Procedimentos Hemoterápicos, apenas sugere a titulação das hemolisinas como sendo importante para a segurança transfusional.

No período de março a setembro de 2002, Gambero et al. verificaram a frequência das hemolisinas em doadores de sangue do Hemocentro da Unesp de Botucatu. Foram analisadas 600 amostras de soros de doadores do grupo "O" para presença ou ausência das hemolisinas anti-A e anti-B. Desses doadores, 77 (12,8%)

foram classificados como perigosos por apresentarem em seu soro altos títulos de hemolisinas e 523 (87,2%) como não perigosos por apresentarem baixos títulos. No grupo dos doadores perigosos, 45 (58,4%) foram reativos para hemolisina anti-A, 11 (14,2%) reativos para hemolisina anti-B e 21 (27,2%) reativos para ambas.

Em 2008, Fernandes et al. apresentam interessante estudo retrospectivo realizado nas cidades de Itapeva e Ourinhos, estado de São Paulo, onde encontraram doadores classificados como grupo "O" perigosos em 3,8% das amostras testadas. Detectaram ainda uma diferença na prevalência de doadores de grupo sanguíneo "O" perigoso entre homens e mulheres nas duas cidades investigadas, com risco relativo de 1,82 para sexo masculino na cidade de Ourinhos, enquanto na cidade de Itapeva foi mais comum em doadores do sexo feminino.

Campos et al., em 2009, realizaram estudos compreendendo populações diversas e demonstraram faixa ampla de doadores de grupo "O" perigoso (de 3% a 60%), sendo que, na maioria dos estudos, cerca de 10% a 20% dos doadores de grupo "O" têm altos títulos de anti-A e anti-B.

Esses achados são instigantes, podendo ser característicos das populações estudadas ou, em parte, estar relacionados com a técnica empregada (microplaca), com o tipo de leitura (se manual ou automatizada), com o tempo decorrido entre a coleta e a testagem, com a calibração de pipetas e equipamentos utilizados ou ainda, com a temperatura de armazenamento das amostras previamente à detecção de hemolisinas (CAMPOS et al., 2009).

Quanto às diferenças étnicas observadas na análise da freqüência de hemolisinas, os resultados são controversos na literatura internacional. Enquanto em um estudo dos Estados Unidos o anti-A lítico foi mais encontrado em brancos, outros autores relataram que títulos de hemolisinas foram mais elevados em negros e em asiáticos (FUNG et al., 2007; KLEIN et al., 2006; WILLIANSO, 1999). Publicações em diferentes regiões africanas demonstraram que há também grandes variações na freqüência de doadores de grupo "O" perigoso entre etnias africanas, de 20,4% a 60,2% (OKAFOR; ENEBE, 1985; ADEWUI; GWANZURA; MVERE, 1994).

Tendo em vista a pequena quantidade de estudos na literatura sobre as hemolisinas anti-A e anti-B e considerando a importância que esses anticorpos têm na prática transfusional, há necessidade da implantação de protocolos transfusionais específicos que padronizem a pesquisa desses anticorpos de altos títulos, tornando a prática transfusional ainda mais segura.

3.1 Objetivo geral

Avaliar o perfil dos doadores de sangue do grupo "O" do Hemocentro de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, quanto à presença de hemolisinas anti-A e anti-B.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar o nível de anti-A e anti-B em doadores de sangue do grupo O;
- Padronizar a pesquisa e titulação desses anticorpos tornando a prática transfusional mais segura;
- Demonstrar a importância da padronização destes testes;
- Verificar a importância das variáveis sexo, idade, fator Rh nos doadores "O" perigosos.

4.1 Amostras e dados

Essa pesquisa foi realizada com 500 amostras de doadores de sangue do grupo “O” independente do fator Rh, do Hemocentro de Cruz Alta, no município de Cruz Alta, RS, no período de fevereiro a junho de 2012.

Foram analisadas somente as amostras dos doadores voluntários que durante a entrevista prévia a doação, aceitaram participar desta pesquisa. No momento da entrevista, procedimento padrão do Hemocentro, antes da coleta sanguínea, o doador assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A). O não consentimento à pesquisa pelo doador, não o prejudicou de nenhuma forma, visto que o seu sangue foi analisado de acordo com procedimentos e protocolos estabelecidos no Hemocentro para doação de sangue.

De cada doador, foram coletadas duas amostras de sangue venoso em tubos à vácuo diferentes: um contendo EDTA e o outro com gel separador para obtenção de soro; sendo que não foi realizada nenhuma coleta adicional às normalmente realizadas pelo Hemocentro em sua rotina. Na amostra de soro são realizados os exames imunohematológicos de triagem: pesquisa de Ac. HIV, pesquisa de HBsAg, pesquisa de Ac. Anti-HCV, Sorologia para Leus (Sífilis), pesquisa para Ac. Anti T. Cruzei, pesquisa de Ac. HTLV – I/II, pesquisa de AC. Anti-HBc Total. Os tubos com EDTA foram encaminhados ao laboratório de imuno-hematologia do Hemocentro, 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. Após a realização destes exames, os tubos que foram coletados sem EDTA, contendo o soro de doadores já identificados como “O” independente do fator Rh, foram separados para a realização das titulações.

Os dados referentes a sexo e idade foram obtidos a partir das informações fornecidas pelo próprio doador durante entrevista obrigatória prévia à doação. Estes registros encontram-se no cadastro de cada doador.

Os dados coletados foram descritos numa planilha do programa Microsoft Office Excel 2007 (Quadro 1).

Nº DO DOADOR			TITUL.	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	Resultado
Sexo		Idade	A												
Abo + Rh			Escore												
Data de Nascimento			B												
PAI			Escore												

Quadro 1 – Planilha modelo para preenchimento dos resultados da titulação do anticorpo-A, anticorpo-B e dados dos doadores.

4.1.1 Critério de exclusão

Foram excluídos indivíduos com outra tipagem sanguínea que não “O”, bem como aqueles que não assinaram o TCLE.

4.1.2 Critérios de classificação

Os 500 doadores voluntários de sangue do grupo “O” do Hemocentro de Cruz Alta – RS foram classificados em:

- doador “O” não-perigoso: doador de sangue do grupo “O” com escore total menor que 100, tanto para anticorpo anti-A quanto anticorpo anti-B. Doador com título baixo tanto para anticorpo anti-A, como para anticorpo anti-B e considerado não-perigoso para qualquer receptor, independente do grupo sanguíneo.
- doador perigoso para A: doador de sangue do grupo “O” com escore maior e igual a 100 para anticorpo anti-A e escore total menor que 100 para anticorpo anti-B. Doador com título alto para anticorpo anti-A e considerado perigoso para ser utilizado em transfusão de sangue para receptores de grupo “A”.
- doador perigoso para B: doador de sangue do grupo “O” com escore total maior e igual a 100 para anticorpo anti-B e escore total menor que 100 para anticorpo anti-A. Doador com título alto para anticorpo anti-B e

considerado perigoso para ser utilizado em transfusão de sangue para receptores de grupo “B”.

- doador perigoso para AB: doador de sangue do grupo “O” com escore total maior e igual a 100, tanto para anticorpo anti-A como para anticorpo anti-B. Doador com título alto para anticorpo anti-A e anticorpo anti-B e considerado perigoso para qualquer outro tipo sanguíneo que não for do grupo “O”.

Para a análise da faixa etária, a variável idade foi dividida em quartis (4 partes) e padronizada:

- de 16 (mínimo) a 25 anos;
- de 25 a 33 anos;
- de 33 a 46 anos;
- de 46 a 65 (máximo) anos.

4.2 Metodologia

A metodologia utilizada para pesquisa de anticorpos anti-A e anti-B, baseou-se na Técnica de Hemaglutinação em tubo, com amostras sanguíneas armazenadas em geladeira (4°C) até 72 horas. As amostras foram submetidas a 37°C e imediatamente utilizadas em temperatura ambiente. As análises foram realizadas por diluições seriadas do soro do doador “O” em solução salina estéril a 0,9%, a partir de 1:1 até 1:1024, em volumes de 100µL.

No tubo número 1 foram colocados 100 µL de soro do doador em estudo. Nos tubos de número 2 a 11 foram primeiramente colocados 100 µL de solução salina estéril a 0,9%. Com uma pipeta volumétrica foram adicionados, ao poço 2, 100µL de soro do doador, o qual foi homogeneizado à salina e transferido o volume de 100 µL desta mistura do tubo 2 para o tubo 3, desprezando-se a ponteira após cada transferência. Com outra ponteira estéril foram misturados os reagentes do tubo 3 e transferido o volume de 100 mL desta mistura para o poço 4, desprezando-se novamente a ponteira. Este procedimento foi repetido sucessivamente até o tubo 11 e em duplicata para as diferentes hemácias A₁ e B para cada doador. Do último tubo 11, foram desprezados 100 µL para igualar o volume da reação entre os tubos. Após

as diluições, foram acrescentados 50 μ L da suspensão de hemácias A₁ e B em solução salina 3% em todos os tubos (Figura 1 e 2). Então, as amostras foram centrifugadas a 3.400 rpm durante 15 segundos e o título estabelecido.

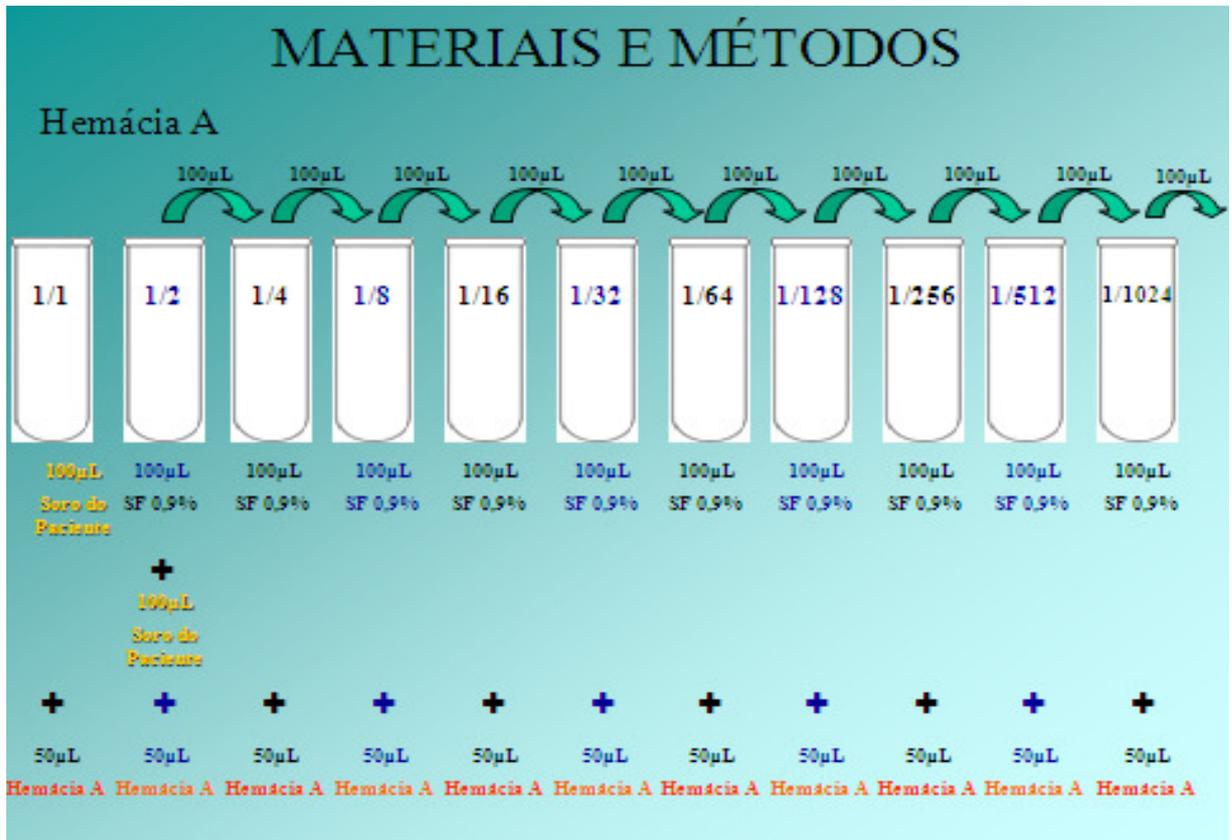


Figura 2 - Representação ilustrativa da titulação do anticorpo-A

Intensidade (cruzes)	Score	Interpretação da leitura
4+	12	Aglutinado único, ausência de hemácias livres (fundo límpido)
4+W / 3+S	11	Aglutinado sólido e pequenos aglutinados livres, ausência de hemácias livres (fundo límpido)
3+	10	Aglutinados sólidos e presença moderada de grandes aglutinados livres, ausência de hemácias livres (fundo límpido)
3+W / 2+S	9	Presença abundante de grandes e médios aglutinados livres, presença de hemácias livres (fundo límpido)
2+	8	Presença de grandes e médios aglutinados livres, presença de hemácias livres (fundo levemente róseo)
2+W	7	Presença moderada de médios e pequenos aglutinados livres, presença de hemácias livres (fundo levemente róseo)
1+S	6	Presença abundante de médios e pequenos aglutinados livres, presença de hemácias livres (fundo róseo)
1+	5	Presença de pequenos aglutinados livres, presença de hemácias livres (fundo róseo)
1+W / W+	4	Presença abundante de pequenos aglutinados livres, grande quantidade de hemácias livres (fundo róseo)
W	3	Granulosidade fraca na suspensão de hemácias (fundo fortemente róseo)
W-	2	Reação macroscópica aparentemente negativa, raros aglutinados pequenos (fundo fortemente róseo)
0	0	Ausências de aglutinados

Quadro 2: Graduação e interpretação da intensidade de aglutinação (AABB,1999).

A determinação do grupo sanguíneo ABO foi realizada pelas técnicas direta e reversa, com o emprego de soros monoclonais anti-A e anti-B, procedentes da

Biotest AG® (Dreieich, Alemanha) e suspensão de hemácias, a 3%, dos grupos sanguíneos A1 e B, procedentes da Biotest S/A Comércio e Indústria® (São Paulo, Brasil). A tipagem RhD foi realizada com soro policlonal anti-D (Biotest S/A, Brasil).

4.3 Análises estatísticas

Foi realizada uma análise estatística descritiva, com determinação do percentual para as variáveis categóricas (sexo, Rh, faixa etária) e média de desvio padrão para as variáveis contínuas. Além disso, para a verificação da existência de associação entre as variáveis foi utilizado o Teste do Qui-quadrado e Teste exato de Fischer, quando as frequências esperadas eram menores que 5%.

4.4 Aspectos éticos

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFSM, em seus aspectos éticos e metodológicos e está de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde, sob o registro no C.A.A.E.: 0291.0.243.000-11.

A coleta de dados teve início somente após a aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP, e os dados foram mantidos em confidencialidade conforme o Termo Apêndice B, estabelecido pelos pesquisadores.

5.1 Análise da presença de hemolisina anti-A e anti-B entre os doadores com grupo sanguíneo “O”

A presença de isohemaglutinina (anti-A e/ou Anti-B) capaz de reagir com hemácias do receptor no momento da transfusão de um hemocomponente, pode ser um procedimento de risco, dependendo do título deste anticorpo.

A freqüência de doadores do grupo sanguíneo “O”, que poderão vir a ser classificados como doação de risco, foi determinada a partir quantidade de aglutininas anti-A e anti-B presente no plasma destes doadores. Foram considerados perigosos os doadores onde a quantidade destes anticorpos demonstrou uma reação com intensidade (escore) maior ou igual a 100 (tabela 4).

Tabela 4 – Freqüência de doadores de sangue perigosos e não-perigosos do grupo sanguíneo “O” do Hemocentro de Cruz Alta-RS

Doador	Freqüência		P-valor
	Número	Frequência	
Não-perigoso	442	88,4%	<0,0001
Perigoso	58	11,6%	
Total	500	100%	

Teste qui-quadrado, com 5% de significância.

Como visto na tabela 5, a maioria dos doadores estudados foi classificado como não perigoso em relação à presença de aglutininas naturais.

Entre estes doadores com altos títulos de anticorpos Anti-A e Anti-B, foi analisada individualmente a freqüência destas hemolisinas (Tabela 5).

Tabela 5 – Freqüência das hemolisinas anti-A e anti-B entre os doadores perigosos do Hemocentro de Cruz Alta-RS

Doadores do Grupo sanguíneo "O"			
Isohemaglutinina	Número	Frequência (%)	P-valor
Hemolisina anti-A	29	50%	<0,0001
Hemolisina anti-B	22	37,9%	<0,0001
Hemolisinas anti-A e anti-B	7	12,1%	<0,0001
Total	58	100%	

Teste qui-quadrado, com 5% de significância.

Na tabela 6, pode-se observar entre os 58 doadores com altos títulos de hemolisina, houve diferença entre o tipo de hemolisina presente, sendo menos freqüente a presença associada dos dois anticorpos.

A partir de dados registrados no Hemocentro de Cruz Alta, foi verificado o perfil dos doadores de sangue do grupo "O", em relação a Sexo, Fator Rh e PAI. (tabela 6).

Tabela 6 – Distribuição dos doadores de sangue do grupo "O" do Hemocentro de Cruz Alta-RS, quanto ao gênero, fator Rh e Pesquisa de Anticorpo Irregular (PAI).

Variáveis	Freqüência (n)	%	P-valor
Sexo			
Feminino	175	35,0	<0,0001
Masculino	325	65,0	
Rh			
Negativo	98	19,6	<0,0001
Positivo	402	80,4	
PAI*			
Negativa	498	99,6	<0,0001
Positiva	2	0,4	

* pesquisa de anticorpos irregulares

** Teste qui-quadrado, com 5% de significância.

Os resultados expressos na tabela 6 mostram que, em relação ao gênero dos doadores, a maioria (65%) são homens. Em relação ao fator Rh, predomina o fator Rh positivo (80,4%). A amostragem dos doadores não é homogênea quanto ao sexo e nem quanto ao tipo de fator sanguíneo, prevalecendo homens, com PAI negativa.

Analisando o perfil dos doadores do grupo sanguíneo “O” que apresentam apenas hemolisina anti-A, percebemos que não existe prevalência na associação entre as variáveis gênero (0,123) e fator sanguíneo Rh (0,196). O sexo masculino e o fator Rh negativo tiveram um percentual menor entre os perigosos com anticorpo anti-A, porém não significativo (Tabela 7).

Tabela 7 – Associação entre anticorpo anti-A, gênero e fator Rh.

Variáveis	Anticorpo anti-A		p-valor
	Não perigoso N (%)	Perigoso N (%)	
Gênero			
Feminino	161 (92,0)	14 (8,0)	0,123*
Masculino	310 (95,4)	15 (4,6)	
RH			
Negativo	95 (96,9)	3 (3,1)	0,196*
Positivo	376 (93,5)	26 (6,5)	

Teste Exato de Fischer

Analisando o perfil dos doadores do grupo sanguíneo “O” que apresentam apenas hemolisina anti-B, verificou-se que não existe prevalência na associação entre as variáveis gênero ($p=0,437$) e fator sanguíneo Rh (0,705) e o anticorpo-B. O sexo feminino e o fator Rh positivo tiveram um percentual menor entre os perigosos com anticorpo anti-B, porém sem significância estatística (tabela 8).

Tabela 8 – Associação entre anticorpo anti-B, gênero e fator Rh.

Variáveis	Anticorpo anti-B		p-valor
	Não perigoso N (%)	Perigoso N (%)	
Gênero			
Feminino	169 (96,6)	6 (3,4)	0,437*
Masculino	309 (95,1)	16 (4,9)	
RH			
Negativo	93 (94,9)	5 (5,1)	0,705*
Positivo	385 (95,8)	17 (4,2)	

Teste Exato de Fischer

Quando analisado o perfil dos doadores que apresentavam as duas hemolisinas, verificou-se que não existiu prevalência entre as variáveis gênero ($p=0,247$), fator sanguíneo (0,188) e os anticorpo anti-A e anti-B. O sexo feminino e os doadores com fator Rh negativo tiveram um percentual menor entre os perigosos com ambos anticorpo anti-A e anti-B, porém sem significância estatística (tabela 9).

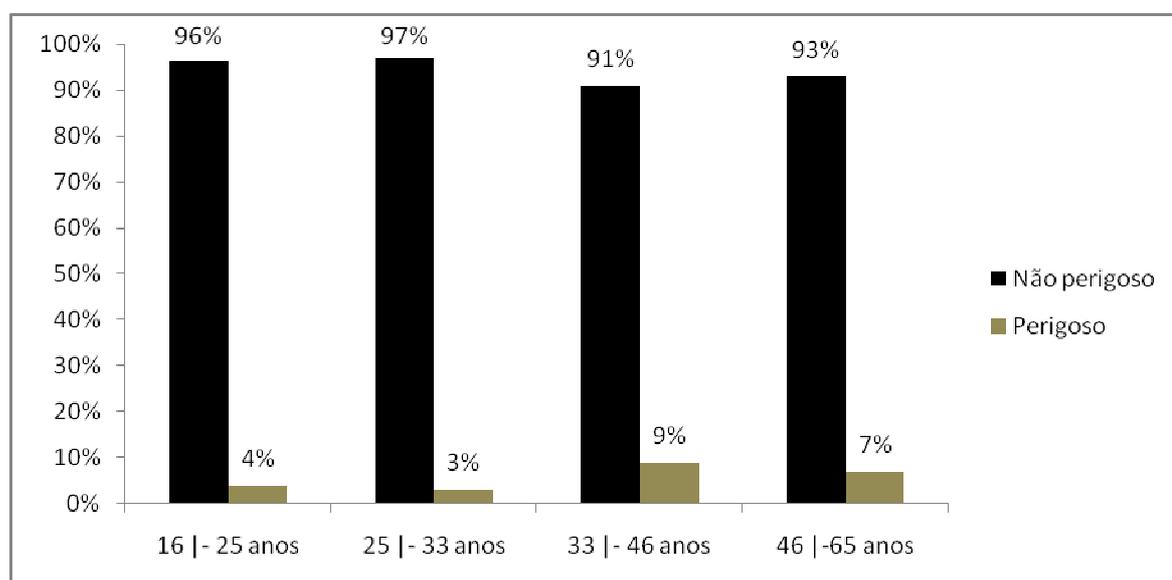
Tabela 9 - Associação entre anticorpo anti-A e anti-B, gênero e fator Rh.

Variáveis	Anticorpo anti-A e anti-B		p-valor
	Não perigoso N (%)	Perigoso N (%)	
Gênero			
Feminino	174 (99,4)	1 (0,6)	0,247*
Masculino	319 (98,2)	6 (1,8)	
RH			
Negativo	98 (100)	0 (0,0)	0,188*
Positivo	395 (98,3)	7 (1,7)	

Teste Exato de Fischer

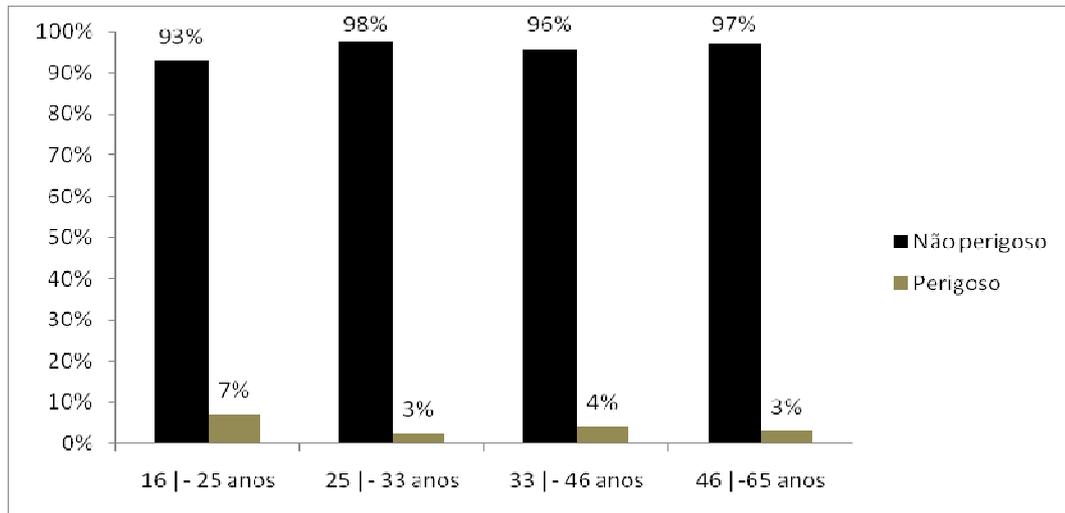
Quanto à faixa etária de prevalência de doadores perigosos, nos doadores que apresentaram maior frequência do anticorpo anti-A, a faixa etária prevalente foi entre 33 a 46 anos (gráfico 1).

Gráfico 1 – Associação entre anticorpo anti-A, faixa etária doador perigoso e não perigoso.



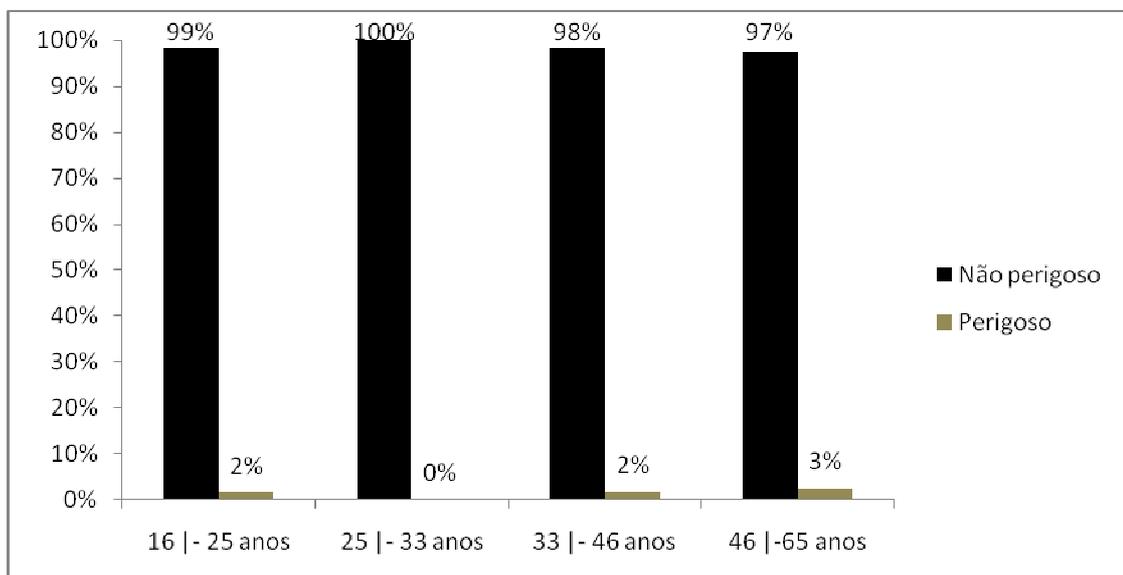
Nos doadores com maior frequência de anti-B, a faixa etária prevalente foi entre 16-25 anos (gráfico 2).

Gráfico 2 – Associação entre anticorpo anti-B, faixa etária doador perigoso e não perigoso.



Nos pacientes que apresentaram tanto anti-A quanto anti-B elevados, não houve a presença de doadores perigosos na faixa etária entre 25 e 33 anos (gráfico 3).

Gráfico 3 – Associação entre anticorpo anti-A e anti-B, faixa etária doador perigoso e não perigoso.



5.2 Análise dos títulos de hemolisina anti-A e anti-B entre os doadores do grupo sanguíneo “O”

A partir da análise da reatividade das hemolisinas, podemos perceber que até a diluição 1/16, tanto o anticorpo anti-A como o anticorpo anti-B reagem em 100% dos casos; a partir da diluição 1/32, o anti-B reage em 97% e vai decaindo esse percentual conforme aumenta a diluição do soro.

O anticorpo anti-A reage em 100% dos casos até a diluição 1/64, a partir de 1/128 começa a decair o percentual de reação. Analisando o gráfico 4, pode-se perceber que o anticorpo anti-A apresenta título maior de reação em comparação ao anticorpo-B. Também, através das tabelas 10 e 11, pode-se perceber que a média dos escores dos 500 doadores para cada título do anti-A foi maior que a média dos escores para anti-B.

Gráfico 4 – Frequência dos títulos de anti-A e anti-B das 500 amostras tituladas com hemácias A₁ e B.

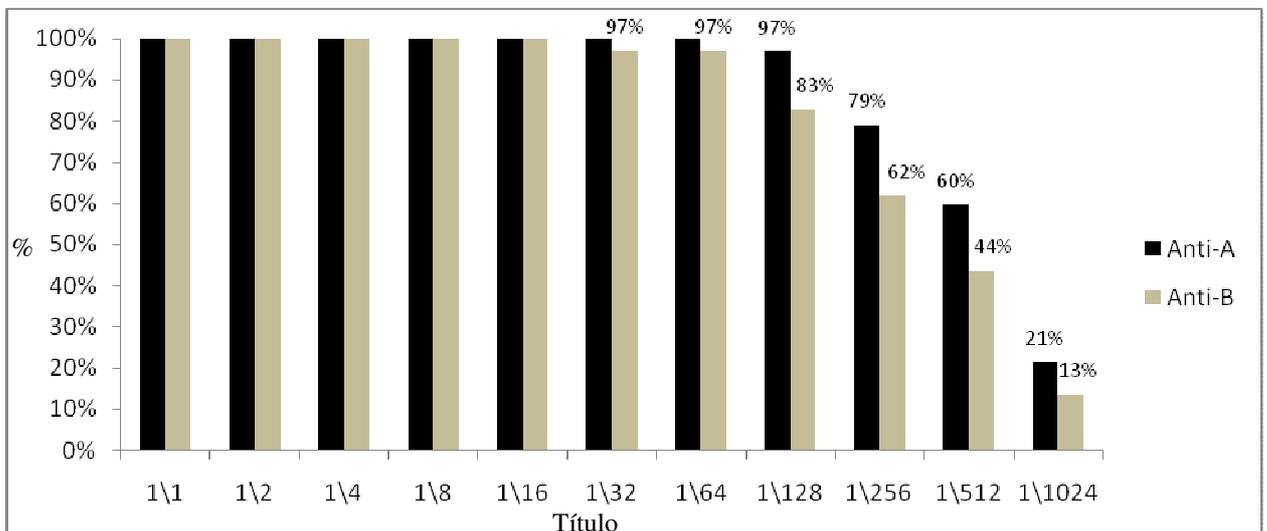


Tabela 10 – Média dos escores dos 500 doadores para anticorpo anti-A e o desvio padrão de cada titulação.

Título	Média do Escore	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
1/1A	11,60	0,52	10	12
1/2A	11,08	0,76	10	12
1/4A	10,18	1,09	8	12
1/8A	9,29	1,32	7	12
1/16A	8,23	1,57	6	12
1/32A	7,17	1,70	3	12
1/64A	5,74	2,06	2	11
1/128A	4,56	2,20	0	11
1/256A	3,02	2,20	0	10
1/512A	1,80	1,85	0	8
1/1024A	0,66	1,46	0	6

Tabela 11 – Média dos escores dos 500 doadores para anticorpo anti-B e o desvio padrão de cada titulação.

Título	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
1/1B	11,244	1,132709	4	12
1/2B	10,478	1,216749	5	12
1/4B	9,52	1,459404	3	12
1/8B	8,564	1,716916	2	12
1/16B	7,292	2,081201	2	12
1/32B	5,984	2,242722	0	12
1/64B	4,738	2,273256	0	11
1/128B	3,612	2,503196	0	10
1/256B	2,342	2,387559	0	10
1/512B	1,318	1,829637	0	8
1/1024B	0,414	1,187191	0	7

Entre os 500 doadores de sangue do grupo "O" selecionados para este estudo, 442 (88,4%) foram classificados como não-perigosos por apresentarem em seus soros, baixos títulos das hemolisinas A (anti-A) e B (anti-B) e 58 (11,6%) como perigosos, por apresentarem em seu soro altos títulos dessas hemolisinas. Do total de doadores perigosos, 29 (5,8%) foram doadores reativos para a hemolisina A, 22 (4,4%) foram reativos para a hemolisina B e 7 (1,4%) foram reativos para ambas. As freqüências das hemolisinas pesquisadas foram: 50% para hemolisina A, 37,9% para hemolisina B e 12,1% para as hemolisinas A e B.

Também, percebeu-se que até a diluição 1/16, tanto o anticorpo anti-A como o anti-B reagem em 100% das diluições; a partir da diluição 1/32 o anti-B decai o percentual de reação (97%) conforme aumenta a diluição do soro. O anticorpo anti-A reage em 100% até a diluição 1/64, a partir de 1/128 começa a decair seu percentual de reação. Comparando as aglutininas, percebe-se que o anticorpo anti-A apresenta título maior de reação em comparação ao anti-B.

Os resultados encontrados demonstraram porcentagens mais baixas dessas hemolisinas, quando comparados ao estudo feito por De Bartolo et al., (1977) que utilizaram amostra numericamente semelhante (504) em um centro transfusional na Itália. Neste estudo, os autores mostraram que 27,7% dos doadores "O" eram perigosos e que 17,2% apresentavam anticorpos hemolíticos em título superior a 1/200.

Em estudos realizados com 509 doadores do tipo "O" da Nigéria por Okafor e Enebe, em 1985, mostraram uma freqüência de 53,6% de hemolisinas anti-A, 62,7% de hemolisinas anti-B e 47,9% de ambas (anti-A e anti-B), o que mostrou uma diferença significativa em relação às hemolisinas anti-B e anti-A, B quando comparadas aos resultados do Hemocentro de Cruz Alta, RS. O alto nível de hemolisinas encontrado na população nigeriana pode estar relacionado com a alta incidência de doenças hemolíticas do recém-nascido e/ou elevado número de transfusões de hemocomponentes nestas localidades.

Em 1994, Adewuyi et al., testaram 296 soros de doadores negros do Zimbábue, pertencentes ao grupo "O" para a presença de hemolisinas anti-A e anti-B. Aproximadamente 1/5 desses soros foram considerados perigosos para A, B ou ambos. Em 43 casos (14,5%) foram detectados anticorpos anti-A hemolíticos e em 84 casos (28,3%) anticorpos anti-B hemolíticos. Mais de 60% dos soros fortemente hemolíticos apresentaram títulos ≥ 64 . O que difere do estudo do Hemocentro de

Cruz Alta, que encontrou uma freqüência maior de hemolisina A em comparação com a hemolisina B.

No Brasil, a pesquisa, titulação e freqüência de hemolisinas anti-A e anti-B ainda não fazem parte dos testes de triagem dos Hemocentros e por isso os dados são restritos, segregados à pesquisas internas dos Hemocentros e característicos de cada população estudada. Dentre as poucas pesquisas existentes, Fernandes e colaboradores, em 2008, apresentaram interessante estudo retrospectivo realizado nas cidades de Itapeva e Ourinhos, no estado de São Paulo. Os dados levantados nessa pesquisa mostram que, entre os 4.447 doadores de sangue do grupo "O" selecionados para esse estudo, 171(3,8%) foram classificados como perigosos por apresentarem em seu soro elevados títulos de hemolisinas A (anti-A) e B (anti-B). Os resultados dessa pesquisa demonstraram porcentagens mais baixas dessas hemolisinas, em relação à pesquisa do Hemocentro de Cruz Alta, RS.

Os resultados observados no presente estudo assemelham-se aos dados obtidos no estudo conduzido por Gambero e colaboradores em 2004, no Hemocentro de Botucatu, onde 12,8% dos doadores foram considerados perigosos e 87,5% como não-perigosos. Porém, no estudo de Botucatu, foram encontradas as seguintes freqüências: 58,4% de doadores reativos para hemolisinas A, 14,2% reativos para hemolisinas B e 27,2% reativos para ambas hemolisinas, o que difere dos resultados obtidos neste estudo, no qual 37,9% foram reativos para anti-B e 12,1% reativos para anti-A e anti-B. A reatividade para anti-A do Hemocentro de Cruz Alta, RS foi de 50%, a que mais se assemelhou com o valor encontrado em Botucatu.

Em 2004, Rosa e colaboradores realizaram um estudo semelhante no Serviço de Hemoterapia de São José dos Campos, São Paulo, utilizando o método de aglutinação em tubo. Num período de 8 meses, com 6.210 doadores, revelaram a presença de 13,6% dos doadores de grupo "O" com títulos elevados de hemolisinas. Valor esse, normalmente encontrado em pesquisas tanto internacionais quanto brasileiras, incluindo os observados neste trabalho.

O Hemonúcleo de Guarapuava, em 2009, no Paraná, avaliou a freqüência dos títulos de aglutininas anti-A e anti-B em 564 amostras de soro de doadores de sangue do grupo "O" e determinou o sexo e a faixa etária predominante. Entre os 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 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. A reatividade das aglutininas anti-A, anti-B e anti-AB, no Hemonúcleo de Guarapuava, está de acordo com a encontrada, neste estudo, ou seja, para a maioria dos doadores anti-A foi mais expressivo que anti-B e estes mais elevados que anti-A e anti-B juntos. A prevalência do sexo masculino também coincide com o presente estudo, visto que, em relação ao gênero masculino e feminino e fator Rh positivo e negativo, os resultados revelaram que 175 (35%) eram mulheres e 325 (65%) homens. O sistema Rh teve a seguinte frequência: 98 (19,6%) Rh negativo e 402 (80,4%) Rh positivo. A amostragem dos doadores não foi homogênea quanto ao sexo e nem quanto ao tipo de fator sanguíneo, prevalecendo homens, Rh positivo, o que é característico das amostras usualmente encontradas nos Hemocentros Brasileiros.

A Pesquisa de Anticorpos Irregulares foi negativa para 99,6% (498) dos doadores e em 0,4% (2) dos doadores ela foi positiva, não tendo significância, nem correlação com a frequência das hemolisinas anti-A e anti-B pesquisadas.

Quanto à faixa etária, verificou-se que, para os doadores com títulos altos de hemolisinas anti-A, não houve discrepâncias entre as faixas etárias, porém, homens, Rh negativos tiveram menor porcentagem entre os perigosos com anti-A elevado. A faixa etária de prevalência entre os doadores perigosos com anti-A elevado ficou entre 33 a 46 anos.

Nos doadores perigosos com anti-B alto, também não houve consideráveis diferenças entre os sexos. Porém, mulheres, Rh positivas tiveram porcentagem menos expressivas que os demais. A faixa etária prevalente nestes doadores foi maior entre os 16 e 25 anos. Quando ambas hemolisinas A e B estavam elevadas, as mulheres Rh negativas não contribuíram com percentual de positividade e a faixa que não teve nenhum doador com anticorpo anti-A e anti-B elevado, foi a de 25 a 33 anos. No entanto, o estudo realizado por Gambero e colaboradores, em 2004, não foram encontradas diferenças entre gênero e idade e a prevalência de hemolisinas.

Na pesquisa realizada nas cidades de Itapeva e Ourinhos, existiu maior prevalência de positividade para hemolisinas nos doadores do gênero masculino na cidade de Ourinhos, porém na cidade de Itapeva, a prevalência foi maior no gênero feminino. Em síntese, estes dados revelaram que existe uma diferença significativa

entre os Hemocentros estudados quanto à prevalência de hemolisinas e a relação entre gênero masculino e feminino.

Em 2011, De França e colaboradores, avaliaram 603 amostras de doadores de sangue do grupo "O" por meio de titulação de anticorpos ABO utilizando a técnica de tubo convencional à temperatura ambiente. Consideraram que níveis de anticorpos ABO, maior que 1/64 eram perigosos. Utilizando o Teste Exato de Fisher e Kruskal-wallis, obtiveram os seguintes resultados: a maioria dos doadores do Banco de Sangue de São Paulo, no estado de São Paulo, Brasil, foram homens 65,7%. As estimativas da prevalência dos títulos foram: anti-A (9,29%), anti-B (4,81%) e anti-A, B (2,16%). Altos níveis de anticorpo anti-B foram encontrados em mulheres jovens ($p=0,002$) e um dado ainda não revelado nas pesquisas brasileiras, mostrou que foram encontrados baixos títulos em homens com mais de 50 anos de idade, que poderiam ser selecionados como doadores de sangue em situações de transfusão ABO entre não-isogrupos.

Segundo Girello e Kuhn (2007), é esperado que o título de anticorpos diminua com o passar da idade. Seria uma estratégia do banco de sangue, identificar as bolsas dos doadores homens com idade superior a 50 anos, na tentativa de minimizar os efeitos biológicos do anticorpos ABO, visto que existem apenas pesquisas limitadas e básicas dentro desta área, associada a uma falta de padronização de protocolos clínicos e política de segurança transfusional.

As diferenças encontradas entre as pesquisas e freqüências de hemolisinas podem estar relacionadas com a técnica empregada, com o tipo de leitura (se manual ou automatizada), com o tempo decorrido entre a coleta e a testagem, com a calibração de pipetas e equipamentos utilizados, ou, ainda, com a temperatura de armazenamento das amostras previamente à detecção das hemolisinas. Estes fatores podem explicar as diferenças encontradas na detecção da presença de hemolisinas nos diversos Hemocentros citados.

Também, não há consenso sobre qual título pode ser considerado crítico e não há uniformização de método ideal para a titulação de anti-A e anti-B. Segundo Girello e Kuhn, o título de aglutininas superior a 1\100 considera o doador "O" perigoso.

Além disso, diversos métodos podem ser utilizados para a detecção de anticorpos, dos quais destacam-se a técnica de aglutinação em tubo, em microplaca ou em gel-teste, o método de Elisa e a citometria de fluxo. A escolha do método para

a triagem de hemolisinas deve levar em conta a rapidez, facilidade da técnica, reprodutibilidade, sensibilidade e custo (NOVARETTI, 2008).

A variabilidade nas opções de metodologia, de padronização de título crítico e de técnicas contribui para a diversidade de resultados apresentados e representam desafios a serem enfrentados pela Hemoterapia no país.

Na medicina transfusional, a compatibilidade do Sistema ABO e Sistema Rh, entre doadores e receptores, é fundamental para a prevenção das reações transfusionais. O conhecimento das bases genéticas dos polimorfismos dos grupos sanguíneos, adquirido nos últimos anos, permitiu o desenvolvimento de diversos protocolos para deduzir o fenótipo eritrocitário correto e com isso evitar e previr reações indesejáveis.

As pesquisas avançaram muito nas diversas áreas da hemoterapia, usando técnicas de biologia molecular, com aplicação na prática transfusional. Contudo, existe uma falha na triagem básica dos doadores nos Hemocentros. A pesquisa de anticorpos regulares anti-A e anti-B ainda não é regulamentada e obrigatória no país.

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

- A Pesquisa de aglutininas anti-A e anti-B em doadores do grupo sanguíneo "O", mostrou ser extremamente relevante, uma vez que 11,6% apresentaram níveis de isohemaglutininas considerados perigosos para o receptor de grupo sanguíneo diferente do doador.
- Não existiu prevalência na associação entre as variáveis gênero, fator sanguíneo e os anticorpos anti-A e anti-B e também não houve correlação entre a pesquisa de anticorpo irregular (PAI) com a pesquisa de anticorpo regular anti-A e anti-B.
- O anticorpo anti-A apresentou título maior de reação em comparação ao anti-B, como também se encontra em maior frequência que o anti-B, podendo-se inferir que seja de forma mais freqüente responsável pelas reações causadas por isohemaglutininas.
- Este estudo mostra que mesmo a técnica mais simples por aglutinação em tubo pode ser utilizada com sucesso em bancos de sangue, no esclarecimento de alguns casos de reações transfusionais não detectáveis pelos testes rotineiramente padronizados. Ela representa um teste a mais na triagem, de fácil manipulação e metodologia simples, porém, de grande valia para a segurança transfusional.

ADEWUI, J.O.; GWANZURA C.; MVERE, D. Characteristics of anti-A and anti-B in black Zimbabweans. **Vox Sang**, v.3, p.307-309, 1994.

AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANKS. **Technical manual**, 13th ed., A.A.B.B., Bethesda, v. 1, chap. 27: 577-600, 1999, chap. 28: 601-634, 1999.

BAPTISTA-GONZÁLEZ, H.A.; ROSENFELD-MANN, F.; PÉREZ-PÉREZ, J.D.; QUINTANARGARCIA E. Anticuerpos irregulares antieritrocitarios fuera del sistema ABO en el periodo perinatal. **Bol Med Hosp Infant**, México, v.11, p.814-819, 1991.

BARJAS-CASTRO, M. L.; LOCATELLI, M. F.; CARVALHO, M. A.; GILLI, S. O.; CASTRO, V. Severe immune haemolysis in a group A recipient of a group O red blood cell unit. **Transfusion Medicine**, v.13, p.239-241, 2003.

BONINI-DOMINGOS C.; FERRAR, F.; MATTOS, L.; ALVES, R. Avaliação do polimorfismo de grupos sanguíneo e fenótipo de hemoglobinas em um grupo de universitários de São José d'Ório Preto. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v.25, n.1, p.65-71, 2003.

BORDIN, J.O.; JUNIOR, D.M.L.; COVAS, D.T. **Hemoterapia fundamentos e Práticas**. São Paulo: Atheneu, v.1, p. 128-130 2007.

BRASIL. ANVISA. **RDC nº 153**, de 14 de junho de 2004. Brasília, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. RDC nº 57 de 16 de dezembro de 2010. Determina o Regulamento Sanitário para Serviços que desenvolvem atividades relacionadas ao ciclo produtivo do sangue humano e componente e procedimentos transfusionais. Diário Oficial da União. Poder Executivo. 17 de dezembro de 2010. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/connect/...>>. Acesso em 22 de dez.2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Portaria nº 1.353, de 13 de junho de 2011. Aprova o Regulamento Técnico para os Procedimentos Hemoterápicos. Diário Oficial da União. Poder Executivo. 14 de junho de 2011. Disponível em <http://www.legisweb.com.br/legislacao/?legislacao=57786>.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Conselho Nacional de Saúde**. Resolução 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos. Brasília, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Educação à distância**. Manual Telelab-Imunohematologia: Testes Pré-transfusionais. Brasília: MS, 2001.

BRASIL. **Resolução RDC nº 129, Aprova as Diretrizes para a Transfusão de Plaquetas, e recomendações para indicação do uso do hemocomponente de 24 de maio de 2004**. Publicada no D.O.U. de 25/05/2004.

CAMPOS, A. S.; CANOS, S. M. U.; SANTOS, N. A. P. dos; JESUS, D. A. de; LIRA, S. M. C.; MELO, D. B.; MELO, C. M. T. P. Correlação entre hemólise e título de anti-

A e anti-B em doadores de sangue no Serviço de Hematologia e Hemoterapia de São José dos Campos. **Rev. Bras. Hematologia e Hemoterapia**, v.31, p. 340, 2009.

CASTRO, V. Aloantígenos Plaquetários Humanos. In: BORDIN, J.O.; JÚNIOR, D.M.L.; COVAS, D.T. **Hemoterapia: Fundamentos e Prática**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, p. 193-200, 2007.

COOLING, L. L.; DOWNS, T. A.; BUTCH, S. H.; DAVENPORT, R. D. Anti-A and anti-B titers in pooled group O platelets are comparable to apheresis platelets. **Transfusion**, v.48, p.2106–2113, 2008.

CRAWFORD, H; CUTBUSH, M.; MOLLISON, P. L. **Formation of immune A iso-antibodies, with special reference to heterogenetic stimuli**. *Lancet*, v.2, p.219-223, 1952.

DANIELS, G.L.; FLETCHER, A.; GARRATTY G.; HENRY, S.; JØRGENSEN, J.; JUDD, W.J. Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens. **Vox Sanguinis**, v.87, n.4, p.304-316, 2004.

DAVEY, F.R.; HENRY, J.B. Hematologia, Coagulação e Medicina Transfusional. In: HENRY, J.B. **Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais**. 19 ed. São Paulo: Manole, p.549-846, 1999.

DE BARTOLO, M.; GIORDANO, F.; VIOLANTE, A.; BONOMI, P. Laboratory testes applied to transfusion problems. Identification of dangerous universal donors and their frequency. **Ann Sclavo**, v.1.p.092-102, 1977.

DE FRANCA, 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.33, n.4, p. 259-262, 2011.

EBERT, R. V.; EMERSON, C. P. A Clinical Study of transfusion reactions: the hemolytic effect of group-O blood and pool end plasma containing incompatible isoagglutinins. **J. Clin. Invest.**, v.25, n.4, p.627-638, 1946.

FERNANDES, V. C.; BORGATTO, A. F.; BARBERATO, S. F.; TOLEDO, M. I.; LOPES, L. C. Frequência de hemolisinas anti-A e anti-B em doadores de sangue de Itapeva e Ourinho. **Revista Brasileira Hematologia e Hemoterapia**, v.6, p.453-456, 2008.

FONTÃO-WENDEL R.; SILVA, L. C.; SAVIOLO, C. B.; PRIMAVERA, B.; WENDEL, S. Incidence of transfusion-induced platelet-reactive antibodies evaluated by specific assays for the detection of human leucocyte antigen and human platelet antigen antibodies. **Vox Sanguinis**, v.93, p.241-249, 2007.

FRANÇA, N. D. G.; POLI, M. C. C.; RAMOS, P. G. A.; BORSOI, C. R. S.; VIEIRA, S. D.; COLELLA, R. Pré-transfusional procedure for group O donations at São Paulo. **Rev. Bras. Hematologia e Hemoterapia**, v.31 n.5, p. 271-274, 2009.

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, n. 6, 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 Hematologia e Hemoterapia**, v.26, n.1, 2004.

GIRELLO, A. L.; KÜHN, T. I. B. B. **Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária**. São Paulo: Ed. Senac, 2002.

GIRELLO, A. L.; KÜHN, T. I. B. B. **Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária**. São Paulo: Ed. Senac, 2007.

GOLLIN, Y.G.; COPEL, J.A. **Management of the Rh sensitized mother**. Clin Perinatol n.22: p. 545-559, 1995.

HARMENING, D.; CALHOEM, L.; POLESKY, H.F. **Técnicas modernas em banco de sangue e transfusões**. 2.ed. Rio de Janeiro: Revinter, p.81-106, 1992.

HERMÁNDEZ, A.B. et al. Frecuencia de los grupos sanguíneos A1, A2, Aint, Ael, B y O em donates de sangre. **Rev Cubana Hematol Immunol Hemoter**. Cuba: v. 13, n.2, p. 122-123, 1997.

HOD, E.; SCHWARTZ, J. Platelet transfusion refractoriness. **Br J Haematol**. Vol.5 p.348-360, 2008.

INWOOD, M.J.; ZULIANI, B. Anti-A hemolytic transfusion with packed O cells. **Ann Intern Med**. v.4, p.515-516, 1978.

JENNER, P. W.; HOLLAND, P.V. Diagnosis and management of transfusion reactions. In: PETZ, L.A.; KLEINMAN, S.; SWISHER, S.N.; SPENCE, R.K.;

STRAUSS, R.G. **Clinical practice of transfusion medicine**, 3. ed., New York: Churchill Livingstone, p. 905-929, 1996.

JOSEPHSON, C.D.; MULLIS, N.C.; VAN DEMARK, C.; 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.805-808, 2004.

KLEIN, H.; ANSTEE, D. M. **Blood transfusion in Clinical Medicine**, 11nd ed., p.912, 2006.

LEVINE P.; MABEE, J.A. Dangerous "universal donor" detected by the indirect matching of bloods. **J. Immunology**, v. 8, p.425-431, 1923.

MARTINS, P. R. J.; MARTINS, R. N.; PEREIRA, G. A.; MORAES-SOUZA, H. Frequência de anticorpos antieritrocitários irregulares em politransfundidos no

Hemocentro Regional de Uberaba-MG. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.30, p.272-276, 2008.

MCLEOD, B. C.; SASSETTI, R. J.; WEENS, J. H.; VAITHIANATHAN, T. Haemolytic transfusion reaction due to ABO incompatible plasma in platelet concentrate. **The Scandinavian Journal of Haematology**, v.28, p.193-196, 1982.

MELO, L.; SANTOS, J. A. **Imunohematologia eritrocitária: Sistema ABO, Hh e Lewis**. Belo Horizonte (MG). Editora Instituto de Engenharia Aplicada, v.4, p.81-104, 1996.

NOVARETTI, M. C. Z. Hemolisinas anti-A e anti-B na prática transfusional. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.30, p. 435-436, 2008.

OKAFOR, L.A.; ENEBE, S. Anti-A e anti-B haemolysins, dangerous universal blood donors and the risk of ABO antagonism in a Nigerian community. **Trop Geogr Med**, v.3, p.270-272, 1985.

OLIVEIRA, L.C.O.; COZAC, A. P. C. N. C. **Reações transfusionais: Diagnóstico e tratamento**. Medicina, Ribeirão Preto, v.36, p.431-438, 2003.

OLIVEIRA, R.R. **Imunohematologia e Transfusões Sanguíneas**. Monografia (Especialização em Imunologia Clínica) – Academia de Ciências e Tecnologia, São Paulo, 2003.

OLSSON, M.L.; IRSHAID, N.M.; HOSSEINI-MAAF, B.; HELBERG, A.; MOULDS, M.K.; SARENEVA, H.; CHESSER, A. Genomic analysis of clinical samples with serologic ABO blood grouping discrepancies: identification of 15 novel A and B subgroup alleles. **Blood**, v.5, p.1585-1593, 2001.

POPOVSKY, M. A. Transfusion and lung injury. **Transfus ClinBiol.**, v.8, p. 272-277, 2001.

RAVEL, R. **Laboratório Clínico: Aplicações clínicas dos dados laboratoriais**. 6. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

ROMPHRUK, A.V.; CHEUNTA, S.; PAKOATE, L.; KUMPEERA, P.; SRIPARA, P.; PAUPAIROJ, C.; ROMPHRUK A. Preparation of single donor platelet with low antibody titers for all patients. **Transfus Apher Sci**, v.46, n.2, p.125-128, 2012.

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.

SCHENKEL-BRUNNER.H. Studies on Blood-Groups A1 and A2-further Evidence for the predominant influence of Quantitative Differences in the number of A antigenic

sites present on A1 and A2 erythrocytes. **Eur. Journal Biochem.**, v.122, p. 511-514, 1982.

SLICHTER, S. J.; DAVIS, K.; ENRIGHT, H.; BRAINE, H.; GERNSHEIMER, T.; KAO, K. Factors affecting post-transfusion platelet increments, platelet refractoriness, and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients. **Blood**, p.4106-4114, 2005.

VERRASTRO.T.; LORENZI T.F.; NETO, S.W. **Hematologia e Hemoterapia-Fundamentos da Morfologia Fisiologia, Patologia e Clínica**. São Paulo: Atheneu, 2005.

WATKINS, W.M. The ABO blood group system: Historical Background. **Transfusion Medicine**, London, v. 11, p. 243-265, 2001.

WILLIANSO, M. L. Systems contributing to the assurance of transfusions safety in the United Kingdom. **Vox Sanguinis**, v.77, p.82-87, 1999.

ZIPURSKY, A.; BOWMAN, J.M. Isoimmune hemolytic diseases. In: Nathan D.G.; OSKI, F.A. **Hematology of infancy and childhood**. 4.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, p.44-73, 1993.

APÊNDICE A



Universidade Federal de Santa Maria
Centro De Ciências Da Saúde
Programa De Pós-Graduação Em Ciências Farmacêuticas

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Título do projeto:

Pesquisador responsável:

Instituição/Departamento:

Telefone para contato (inclusive a cobrar):

Pesquisadores participantes:

Telefones para contato:

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Para isto, você tem que permitir que seja realizado no sangue que você vai doar, mais um teste, além dos que são realizados normalmente.

Para seu sangue ser doado, vários testes laboratoriais são realizados de rotina. Esta pesquisa pretende fazer a determinação da presença de um fator (anticorpos anti-A e anti-B) que é normal estar no seu sangue e que para você não causa risco algum. Contudo, quando em excesso, pode prejudicar o indivíduo que recebe o seu sangue. Então o indivíduo diretamente beneficiado com esta pesquisa será o receptor do seu sangue. Você não receberá benefício financeiro por ter colaborado com esta pesquisa. Apenas terá a satisfação de ter colaborado para a realização de uma transfusão segura para o paciente.

Este teste só vai ser realizado se sua tipagem sangüínea determinada for do grupo O. Caso o teste seja realizado no seu sangue, você terá acesso ao resultado, através de solicitação a pesquisadora responsável. O não consentimento, não lhe prejudicará de nenhuma forma, e seu sangue vai ser analisado como o padronizado para todos os doadores de sangue. Caso você desejar, pode retirar o consentimento para esta pesquisa em qualquer momento, sem prejuízo algum aos procedimentos de doação.

Não existe risco e desconforto além do que você vai ter para doar o seu sangue, pois a análise vai ser feita na mesma amostra coletada para os exames de rotina.

Todos os dados pessoais (nome, idade, sexo, endereço) serão mantidos em sigilo, utilizados apenas de forma anônima, em publicação científica.

Eu, _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo de Freqüência de aglutininas Anti-A e Anti-B em doadores do grupo O do Hemocentro de cruz Alta-RS. Fui suficientemente informado a respeito das informações que li a respeito da pesquisa. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os

procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Concordo voluntariamente em participar deste estudo.

Local e data _____

Nome e Assinatura do sujeito: _____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste sujeito de pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo.

Santa Maria _____, de _____ de 20____

Pesquisador responsável

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato: Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM - Cidade Universitária - Bairro Camobi, Av. Roraima, nº1000 - CEP: 97.105.900 Santa Maria – RS. Telefone: (55) 3220-9362 – Fax: (55)3220-8009 Email: comiteeticapesquisa@smail.ufsm.br. Web: www.ufsm.br/cep

APÊNDICE B

**TERMO DE CONFIDENCIALIDADE**

Título do projeto: FREQUÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-A E ANTI-B NOS DOADORES DE SANGUE DO GRUPO “O” DO HEMOCENTRO DE CRUZ ALTA

Pesquisador responsável: Prof. Dr. José Edson Paz da Silva

Instituição/Departamento: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

Telefone para contato: (55)99760000 / (55)32208346

Local da coleta de dados: Serviço de Hemoterapia do Hemocentro de Cruz Alta

Os pesquisadores do presente projeto se comprometem a preservar a privacidade dos pacientes cujos dados serão coletados junto ao Serviço de Hemoterapia do Hemocentro de Cruz Alta, RS. Concordam, igualmente, que estas informações serão utilizadas única e exclusivamente para execução do presente projeto. As informações somente poderão ser divulgadas de forma anônima e serão mantidas por um período de cinco anos no arquivo do doador, sob a responsabilidade do Hemocentro de Cruz Alta, juntamente com os dados fornecidos pelo próprio doador durante entrevista prévia à doação. Após este período, os dados serão destruídos.

Este projeto de pesquisa foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFSM em 05/01/2012, com o número do C.A.A.E.: 0291.0.243.000-11

Santa Maria, novembro de 2011.

.....
Prof. Dr. José Edson Paz da Silva