

UNILEÃO  
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

JULIA MARIA INACIO LEITE

**ANÁLISE DA CLASSIFICAÇÃO SANGUÍNEA ABO/Rh EM FONÇÃO DO TEMPO,  
ARMAZENAGEM E MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO**

Juazeiro do Norte – CE  
2018

JULIA MARIA INACIO LEITE

**ANÁLISE DA CLASSIFICAÇÃO SANGUÍNEA ABO/Rh EM FUNÇÃO DO TEMPO,  
ARMAZENAGEM E MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção parcial do grau de bacharel em Biomedicina.

**Orientador:** Prof. Esp. Wenderson Pinheiro de Lima

Juazeiro do Norte – CE  
2018

JULIA MARIA INACIO LEITE

**ANÁLISE DA CLASSIFICAÇÃO SANGUÍNEA ABO/Rh EM FONÇÃO DO TEMPO,  
ARMAZENAGEM E MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção parcial do grau de bacharel em Biomedicina.

**Orientador:** Prof. Esp. Wenderson Pinheiro de Lima

**Data de aprovação:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Esp. Wenderson Pinheiro de Lima  
**Orientador**

---

Prof<sup>ª</sup>. Ma. Ana Ruth Sampaio Grangeiro  
**Examinador 1**

---

Prof. Ma. Amanda Karine de Sousa  
**Examinador 2**

# ANÁLISE DA DETERMINAÇÃO DA CLASSIFICAÇÃO SANGUÍNEA ABO/Rh EM FONÇÃO DO TEMPO, ARMAZENAGEM E MÉTODOS

Julia Maria Inácio Leite <sup>1</sup>, Wenderson Pinheiro De Lima <sup>2</sup>

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do tempo e métodos de determinação na classificação sanguínea ABO/Rh. Para isso, foram coletadas amostras biológicas de 50 indivíduos aparentemente saudáveis, de ambos os sexos, maiores de 18 anos de idade, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), e o Termo de Consentimento Pós Esclarecido (TCPE). Foi realizada a coleta de sangue venoso em tubo contendo EDTA e, dessas amostras biológicas, foram realizadas as classificações sanguíneas através de metodologias em tubo e em lâmina, de amostras armazenadas em temperaturas ambiente e refrigerada (2-8°C), imediatamente após a coleta, após 24h e uma semana após a coleta, em triplicata. Após isso os resultados foram comparados entre si. Nas análises realizadas não houve discrepância entre os resultados, em nenhum dos dois métodos utilizados. Entretanto, há diminuição na intensidade da aglutinação, mas que não prejudicou a liberação adequada do resultado, no método em lâmina no tempo de uma semana após a coleta.

**Palavras-chave:** Classificação sanguínea. EDTA. Interferências

## ANALYSIS OF BLOOD CLASSIFICATION ABO/Rh BY TIME, STORAGE AND METHODS THE DETERMINATION

## ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the effect of time and methods of determination on blood classification ABO/ Rh. Thereunto, biological samples were collected from 50 apparently healthy individuals of both sexes, over 18 years old, after signed an Informed Consent Form (ICF), and the post informed consent form (PICF). Blood venous samples were collected by tube containing EDTA and of these biological samples was realized blood classifications by tube and blade, of samples stored at ambient and refrigerated temperatures (2-8 ° C), immediately after collection, after 24h, and a week after collection, in triplicate. After that the results were compared to each other. In the analyzes realized there was no discrepancy between the results, in neither method used. However, it showed a less agglutination in the time of one week after the collection, in the blade method.

**Keywords:** Blood classification. EDTA. Interferences.

<sup>1</sup>Discente do curso de graduação em Biomedicina, UNILEÃO, [vitorino07@hotmail.com](mailto:vitorino07@hotmail.com)

<sup>2</sup>Docente da UNILEÃO, [wenderson@leaosampaio.edu.dr](mailto:wenderson@leaosampaio.edu.dr)

## 1 INTRODUÇÃO

A tipagem sanguínea é realizada para classificação dos grupos sanguíneos. Nessa determinação são encontrados os antígenos de maior importância clínica, sendo eles os pertencentes aos grupos ABO e Rh. A classificação sanguínea é dada em função de presença ou ausência de antígenos específicos das células sanguíneas. Desse modo, é crucial o conhecimento desses grupos principalmente na transfusão de sangue, pois se o doador não for compatível com o receptor, poderá ocorrer uma reação hemolítica, podendo colocar a vida do receptor em perigo (SILVA et al., 2011).

Através do sistema ABO, os tipos sanguíneos são classificados como A, B, AB ou O. Além disso, destaca-se também o sistema Rh, em que a presença ou ausência da proteína D determina se o paciente é Rh positivo ou negativo, respectivamente. Assim como o sistema ABO, o mesmo é de crucial importância na clínica transfusional. Se um indivíduo Rh negativo receber sangue de um doador Rh positivo, isso poderá causar uma anemia hemolítica, na qual o sistema imunológico pode estimular a produção de anticorpos anti-Rh, a partir do antígeno D (SILVA et al., 2010).

Nesse contexto, é importante chamar a atenção para os possíveis métodos de determinação da classificação sanguínea. Os métodos existentes são Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), cartão gel-teste, tubo de ensaio e lâmina. Entretanto, os mais utilizados no Brasil são métodos em tubo e em lâmina, porém o método em lâmina não é preciso, por ter mais chances de contaminações. Por outro lado, o método em tubo de ensaio é considerado padrão ouro (CAVALCANTE, 2017)

Para a coleta da amostra biológica para os testes é utilizado o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), que se trata do anticoagulante mais utilizado na hematologia, principalmente para realização do hemograma, pois preserva a morfologia das células sanguíneas. Porém, quando a amostra biológica é submetida a alta concentração do EDTA ou à exposição prolongada, alterações significativas podem ser vistas nos resultados. Outras alterações observadas estão relacionadas com a temperatura de armazenamento (SENVIV et al., 2017).

As alterações geradas pelo excesso de EDTA causam diminuição no Volume Corpuscular Médio (VCM) e do hematócrito. Ao passar do tempo ocorrem alterações morfológicas significativas nos leucócitos (OLIVEIRA, 2009). Em temperatura ambiente, ocorrem alterações qualitativas no hemograma 24 horas após a coleta. Em amostras refrigeradas entre 2 a 8°C, ocorrem alterações no hemograma em apenas 1 hora, com destaque

para o aumento da viscosidade do sangue. Por outro lado, amostras aquecidas (situação decorrente do transporte inadequado da amostra, do local de coleta para o laboratório) podem causar alterações artefatuais (DALANHOL, 2010).

A verificação de alterações na classificação sanguínea ABO/Rh em função do tempo de exposição ao EDTA e de diferentes temperaturas de armazenamento é de alta relevância para liberação de resultados fidedignos para o paciente, principalmente nos bancos de sangue e em alguns laboratórios que tem postos de coleta distantes. No que diz respeito à tipagem sanguínea, ainda não se tem estudos específicos que determinam que alterações podem ocorrer nestas situações. Assim, o presente estudo objetivou avaliar se ocorrem alterações na determinação da classificação sanguínea ABO/Rh em função do tempo de exposição ao EDTA, da temperatura de armazenamento das amostras biológicas e, também, do método empregado na determinação.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

Tratou-se de uma pesquisa quantitativa e longitudinal prospectiva. Participaram da pesquisa 50 indivíduos, voluntários, aparentemente saudáveis, de ambos os sexos e com idade mínima de 18 anos. Foram coletados 8 ml de sangue venoso de cada paciente, através de punção venosa com agulha e seringa. As amostras biológicas obtidas foram transferidas para tubos de tampa roxa, contendo EDTA. Foram coletados 2 tubos de cada indivíduo (4mL de sangue em cada um). Um deles foi armazenado em temperatura ambiente e o outro em geladeira (2-8°C).

Os participantes da pesquisa foram convidados a participar da mesma e, após a explicação dos objetivos do estudo e da total compreensão por parte dos voluntários, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e o Termo de Consentimento Pós Esclarecido (TCPE). Além disso, a pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), através da Plataforma Brasil, em conformidade com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº466/12 e encontra-se em apreciação ética (CAAE 89434618.2.0000.5048).

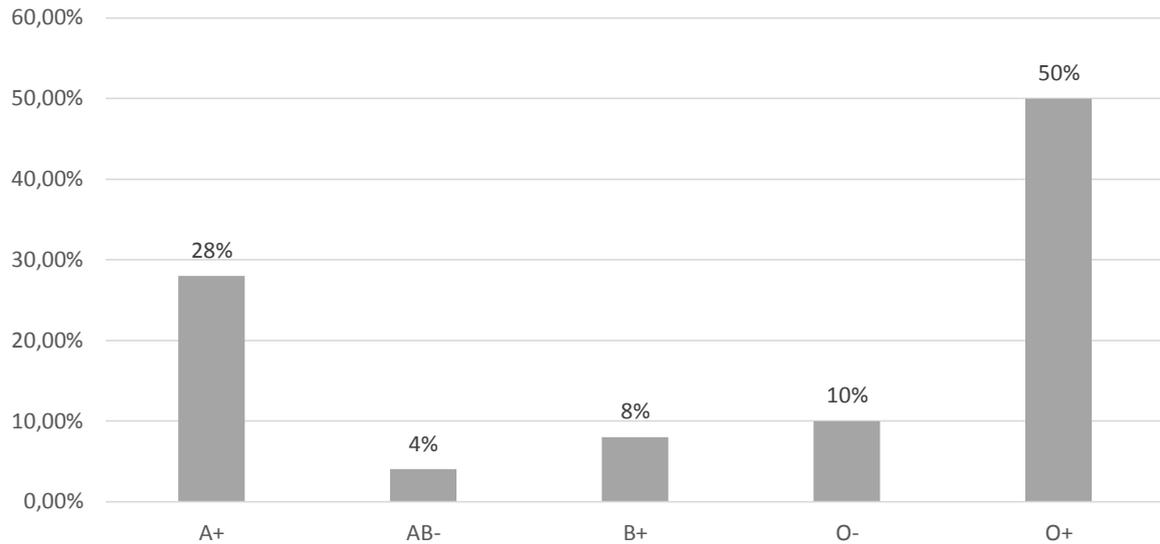
De cada amostra biológica, foi realizada a avaliação da classificação sanguínea em tubo de ensaio e em lâmina, tanto das amostras armazenadas em temperatura ambiente quanto daquelas armazenadas em refrigeração. Essas metodologias foram realizadas, imediatamente após a coleta, após 24 horas, e após 1 semana. Todas as análises foram realizadas em triplicata. As determinações procederam da seguinte maneira:

- Em lâmina: utilizando uma lâmina de vidro, pipetou-se 30  $\mu\text{L}$  de sangue. Sobre cada gota foram adicionados 30  $\mu\text{L}$  dos reagentes Anti-A, Anti-B e Anti-D (anticorpos monoclonais Prothemo® - um em cada gota). Após homogeneização da lâmina por 2 minutos, observou-se a presença ou ausência de aglutinação a olho nu.
- Em tubo: consistiu em adicionar 900  $\mu\text{L}$  de solução salina (0,9%) e 100  $\mu\text{L}$  de sangue em um tubo de ensaio; foram realizadas 6 lavagens, utilizando a centrífuga, por 15 segundos, à 3500 rpm; após a 6ª lavagem, as hemácias foram ressuspensas com 900  $\mu\text{L}$  de solução salina (0,9%). Após isso, 100  $\mu\text{L}$  da suspensão foram adicionados a 3 tubos (300  $\mu\text{l}$  no total); em cada tubo, foram adicionadas 2 gotas dos reagentes Anti-A, Anti-B e Anti-D (anticorpos monoclonais Prothemo® - um em cada tubo). Os tubos foram submetidos à centrifugação por 15 segundos, à 3500 rpm. Após homogeneização dos tubos, observou-se a presença ou ausência de aglutinação a olho nu.

Após concluídas as análises laboratoriais, os resultados foram tabulados em grupos e comparados entre si.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Das 50 amostras biológicas testadas em todos os tempos após a coleta, em ambas as temperaturas de armazenamento e em ambos os métodos de análise, não houve discrepância em nenhum dos casos. O gráfico a seguir mostra a distribuição dos tipos sanguíneos que foram avaliados.

**Gráfico 1:** Determinação dos tipos sanguíneos entre os indivíduos testados

Fonte: primária.

Segundo estudo da CONTROL LAB (2005), há vários métodos para realizar a tipagem sanguínea, sendo eles em tubo de ensaio, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), gel centrifugação e em lâmina. Entretanto, a metodologia em lâmina não pode ser utilizada como método conclusivo para tipagem, por ter mais chance de interferências nos resultados, principalmente por contaminação bacteriana. Porém, a utilização da mesma não é descartada, mas para liberar resultados fidedignos preconiza-se a utilização de um método adicional, sendo o método em tubo considerado o padrão ouro.

No artigo de Liu (2012) que realizou a avaliação de discrepância entre os métodos de tubo de ensaio e cartão gel-teste houve discrepância em 0,22% dos casos. O autor não soube explicar, entretanto, a razão dessas discrepâncias, mas poderiam ter sido provocadas por contaminação bacteriana, por inadequabilidade das quantidades que foram distribuídas para realizar cada teste, tempo de homogeneização ou demora para interpretação de cada teste.

De acordo com Bonmann et al. (2014), a maior concentração da amostra no método em lâmina e principalmente o fato que, na lâmina, a homogeneização pode ocorrer de modo diferente de um paciente para outro, são os principais fatores que podem levar a uma diferença no Rh deste método para o padrão ouro em tubo de ensaio.

No presente estudo, que tratou da análise da tipagem nos métodos em lâmina e em tubo de ensaio, não houve discrepância entre os resultados. A ausência de discrepância pode ter acontecido em virtude da metodologia empregada para a tipagem em lâmina, que aconteceu em tempos controlados, com utilização de materiais estéreis, com quantidades padronizadas de amostra para cada teste, com o mesmo tempo de homogeneização para todos

e rápida interpretação de cada um deles. Além disso, tendo em vista que no presente estudo a tipagem em lâmina foi realizada com material biológico coletado em tubo de ensaio, e não por punção digital, a probabilidade de contaminação bacteriana (flora presente na pele) é mínima.

A única discrepância observada no presente estudo foi no método em lâmina, nas amostras avaliadas uma semana após a coleta, em ambas as temperaturas de armazenamento. Nesta situação, a aglutinação observada nas amostras Rh positivas foi mais sutil do que em outras avaliações, mas que não impossibilitou a emissão correta do resultado. As imagens a seguir mostram a aglutinação no tempo inicial e após uma semana após a coleta.

**Figura 1:** Aglutinação para o fator Rh em tempo inicial em ambas temperaturas.



**Figura 2:** Aglutinação do Fator Rh uma semana após a coleta em ambas temperaturas.



Fonte: Primária.

Este fato pode ter ocorrido devido a exposição prolongada ao EDTA. Causando uma alteração na forma da hemácia, conseqüentemente deformando a membrana plasmática da mesma, onde se encontram as antígenos. Desse modo, com essa alteração na membrana plasmática do eritrócito, diminui a ligação antígeno anticorpo (OLIVEIRA, 2009).

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Diante das análises realizadas, não houve discrepância entre as classificações sanguíneas em ambas temperaturas e métodos empregados. Entretanto, há diminuição na intensidade da aglutinação, mas que não prejudicou a liberação adequada do resultado, no método em lâmina no tempo de uma semana após a coleta. É importante ressaltar que os métodos podem ser realizados desde que haja o correto manuseio e materiais adequados.

## REFERÊNCIAS

- BONMANN, T. J. et al. **Tipagem sanguínea ABO/Rh: discrepâncias entre a técnica em tubo e em lâmina**. Rio grande do sul, 2014. Disponível em: <https://home.unicruz.edu.br/seminario/anais.pdf>
- BRASIL, MINISTERIO DA SAUDE. Imuno-Hematologia laboratorial. **Portaria nº 2.712, publicado pela coordenação-Geral de Documentação e Informação – Editora MS**. Brasília-DF, 2014.
- CAVALCANTE, M. M. S. Aplicação da Análise de Componentes Principais na Identificação de Tipos Sanguíneos em Tubos de Ensaios. **Programa de pós-graduação em engenharia eletrônica**. João pessoa-PB, 2017.
- CONTROL LAB. **Imunohematologia: sistema ABO e sistema Rhesus-Rh (D)**. Rio de Janeiro, 2005. Disponível em: [file:///C:/Users/admin/Downloads/instrucao\\_tc\\_ih.pdf](file:///C:/Users/admin/Downloads/instrucao_tc_ih.pdf)
- DALANHOL, M. et al. Efeitos quantitativos da estocagem de sangue periférico nas determinações do hemograma automatizado. **Revista Brasileira de hematologia e hemoterapia**. Paraná: Cascavel, 2010.
- OLIVEIRA, A. C. **Influência da concentração da EDTA, tempo, temperatura e armazenamento sobre parâmetros hematológico de cães no hemograma automatizado e manual**. Minas Gerais, 2009. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/4986>
- LIU, I. P. Análise de resultados da tipagem sanguínea antes e após a implantação da técnica de semiautomação. **Instituto de ciências básicas da saúde**. Porto alegre, 2012.
- SENV, L. et al. Análise da temperatura do tempo e da relação sangue/ anticoagulante no hemograma. **Revista brasileira de análises clínica**. Paraná, 2017.
- SILVA, R. A. et al. Variabilidade dos sistemas de grupos sanguíneos ABO e Rh em mulheres doadoras de sangue em primavera do leste-MT. **Revista biodiversidade**. Mato Grasso, 2011.
- SILVA, R. A. et al. Mapeamento dos sistemas de grupo sanguíneos ABO e Rh dos doadores de sangue em primavera do leste-MT. **Revista biodiversidade**. Mato Grasso, 2010.

